ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะตัวอสุจิของคนกับความสามารถในการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา

นางสาว พรภิมล ตั้งชัยสิน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สหสาขาวิชาสรีรวิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ.2531

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ISBN 974-569-537-8

014486

THE CORRELATION OF HUMAN SPERM CHARACTERISTICS AND ITS ABILITY IN ZONA-FREE HAMSTER EGG PENETRATION

Miss. Pornpimon Tangchaisin

A thesis submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Inter-Department of Physiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1988

ISBN 974-569-537-8

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะตัวอสุจิของคนกับความสามารถในการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา
โดย	นางสาว พรภิมล ตั้งชัยสิน
ภาควิชา	สหสาขาสรีรวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ประมวล วีรุตมเสน
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. วิทยา ยศยิ่งยวด

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ประภา ลอยเพ็ชร)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ชุมพล ผลประมูล)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิทยา ยศยิ่งยวด)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นพ.ประมวล วีรุตมเสน)

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มรกิมล ตั้งชัยสิน : ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะตัวอสุจิของคนกับความสามารถในการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา (THE CORRELATION OF HUMAN SPERM CHARACTERISTICS AND ITS ABILITY IN ZONA-FREE HAMSTER EGG PENETRATION) อจ.ที่ปรึกษา: รศ.นพ.ประมวล วีรุตมเสน, อจ.ที่ปรึกษาร่วม: รศ.ดร.วิทยา ยศยิ่งยวด, 113 หน้า

เพื่อศึกษาความเหมาะสมของน้ำเพาะเลี้ยงในการคัดเลือกตัวอสุจิและความสามารถในการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ของตัวอสุจิคน โดยใช้น้ำเพาะเลี้ยงชนิดต่าง ๆ 3 ชนิด (Ham's F-10, BWW และ TMPA) ที่มีความเข้มข้นของ Human Preovulatory Serum (HPS) ร้อยละ 20 พบว่าตัวอสุจิเคลื่อนไหวได้ดีและมีอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์สูงในน้ำเพาะเลี้ยง BWW +20% HPS มากกว่าในน้ำเพาะเลี้ยงชนิดอื่น จึงเลือกใช้น้ำเพาะเลี้ยง BWW +20% HPS ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะต่าง ๆ ที่พบจากการวิเคราะห์น้ำอสุจิกับการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา

ผลการวิจัยพบว่า ค่าเฉลี่ยของอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ของตัวอสุจิที่ได้จากชายที่ภรรยากำลังตั้งครรภ์ภายใน 12 สัปดาห์ (กลุ่มควบคุม) (40.63±12.59) มีค่าสูงกว่าของตัวอสุจิที่ได้จากชายที่มีบุตรยาก (กลุ่มศึกษา) (6.43±8.90) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) และพบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ .05 ระหว่างอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์กับ 3 ค่าพารามิเตอร์ของการวิเคราะห์น้ำอสุจิ : เปอร์เซ็นต์ของการเคลื่อนไหว ($r=0.588$), เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิเป็น ($r=0.509$) และความเข้มข้นของตัวอสุจิ ($r=0.499$) แต่ความสัมพันธ์เหล่านี้ค่อนข้างน้อยมาก

ภาควิชา ศัลยศาสตร์ศีรษะและคอ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา -

ปีการศึกษา 2531 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

PORNPIMON TANGCHAISIN : THE CORRELATION OF HUMAN SPERM CHARACTERISTICS AND ITS ABILITY IN ZONA-FREE HAMSTER EGG PENETRATION. THESIS ADVISOR:ASSO. PROF. PRAMAUN VIRUTAMASEN, THESIS CO-ADVISOR:ASSO. PROF. VITHAYA YODYINGYOUD, 113 PP.

Three different culture media (Ham's F-10, BWW and TMPA) supplemented with 20% Human Preovulatory Serum (HPS) were tested for theirs suitability in sperm-washed procedure and penetrating ability of human spermatozoa. It was found that BWW + 20% HPS yeilded higher percentage of sperm motility and penetration rates than the other. BWW medium was then used for the study of the correlation between the different parameters of routine semen analysis and the zona-free hamster egg penetration assay.

It was found that the mean penetration rate of sperm from men whose wives were pregnant during 12 weeks (control group) (40.63±12.59) was significantly higher ($p<0.001$) than that of the voluntary men from the infertile clinic (study group) (6.43±8.09). The correlation ($p<0.05$) between the penetration rate and three parameters of the semen analysis:the percentage of sperm motility, the percentage of viability and the concentration were r=0.588, 0.509 and 0.499 respectively.

ภาควิชา สูตินรีเวชศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา .....

ปีการศึกษา 2531 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากอาจารย์และบุคคลต่าง ๆ ผู้ศึกษาขอกราบขอบพระคุณ รพ.นพ. ประมวล วีรุตมเสน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รศ.ดร.วิทยา ยศยิ่งยวด อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ซึ่งท่านได้ให้คำปรึกษาแนะนำข้อคิดเห็นต่าง ๆ ตลอดจนตรวจแก้ไขข้อบกพร่องของการศึกษาวิจัยนี้ด้วยดีมาตลอด

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ นายแพทย์ วิสุทธิ์ บุญเกษมสันติ และอาจารย์ รังสรรค์ พาลพ่าย ที่กรุณาให้ความรู้ทางด้านเทคนิคต่าง ๆ และจัดหาตัวอย่างเพื่อทำการศึกษาทดลองในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.สพญ. ประภา ลอยเพ็ชร และ รศ.ดร. ชุมพล ผลประมูล ที่กรุณาเป็นกรรมการในการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

การศึกษาครั้งนี้ยังได้รับความร่วมมือจากเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการหน่วยชีววิทยาการสืบพันธุ์ ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และเนื่องจากทุนการวิจัยครั้งนี้บางส่วนได้รับจากทุนอุดหนุนการวิจัยของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จึงขอขอบพระคุณมา ณ. ที่นี้ด้วย

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา ซึ่งสนับสนุนในด้านการเงินและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

พรภิมล ตั้งชัยสิน

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบาญ..... ช

สารบาญตาราง..... ญ

สารบาญรูปภาพและกราฟ..... ฏ

บทที่

1. บทนำ..... 1

- การใช้ไข่ที่ไม่มีโซนาเพลลูซิดาในการศึกษาขบวนการปฏิสนธิของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม..... 7
- การใช้ Zona-free hamster egg ในการทดสอบความสามารถในการปฏิสนธิของตัวอสุจิคน..... 9
- ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา..... 12
- การประเมินภาวะ fertility และ infertility ด้วยการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์..... 18
- ความสัมพันธ์ระหว่างการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์กับการเจาะผ่านเยื่อมูกปากมดลูก..... 19
- ความสัมพันธ์ระหว่างการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์กับการปฏิสนธิในหลอดทดลอง..... 20
- การนำการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์มาใช้ประโยชน์ในการศึกษาอื่น ๆ 20
- วัตถุประสงค์ของการวิจัยและความสำคัญและประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 23

หน้า

2. วิธีดำเนินการวิจัย..... 24
- สัตว์ทดลอง, Ovarian cycle of hamster..... 24
- ห้องปฏิบัติการ และอุปกรณ์..... 26
- สารเคมี..... 31
- น้ำเพาะเลี้ยง..... 32
- การเตรียมน้ำเพาะเลี้ยง..... 33
- การเตรียม Heat-inactivated human preovulatory serum..... 37
- การเลือกกลุ่มตัวอย่างน้ำอสุจิ..... 37
- การเก็บตัวอย่างน้ำอสุจิและการวิเคราะห์น้ำอสุจิ..... 38
- การศึกษาน้ำเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์โดยตัวอสุจิที่ได้จากอาสาสมัครกลุ่มที่ 1 41
- การเตรียมไข่และการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์..... 43
- การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์กับคุณลักษณะของตัวอสุจิ..... 45
- การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ..... 51
3. ผลการทดลอง
- ผลการศึกษาน้ำเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการคัดเลือกตัวอสุจิและการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา..... 51
- ผลการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์โดยตัวอสุจิที่ได้จากชายที่มีบุตรได้และชายที่มีปัญหามีบุตรยากในน้ำเพาะเลี้ยง BWW + 20% HPS..... 61
- ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์กับคุณลักษณะต่าง ๆ ของตัวอสุจิ..... 63

หน้า

4. วิจารณ์และสรุปผล..... 66
- การศึกษาน้ำเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการคัดเลือกตัวอสุจิ และการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา..... 75
- การศึกษาความสามารถในการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์และความสัมพันธ์กับคุณลักษณะต่าง ๆ ของตัวอสุจิในคนที่สามารถมีบุตรได้และคนที่ไม่สามารถมีบุตรได้..... 69

เอกสารอ้างอิง..... 75

ภาคผนวก ก 99

ภาคผนวก ข 101

ภาคผนวก ค 106

ภาคผนวก ง 110

ประวัติผู้เขียน 114

สารบาญตาราง

ตารางที่ หน้า

1.1 แสดงเวลาที่ใช้ในการเกิด capacitation ของตัวอสุจิ ในสัตว์ชนิดต่าง ๆ 2

1.2 แสดงผลการศึกษาการเจาะทะลุไข่ที่มีมีโซนาโดยตัวอสุจิ ชนิดเดียวกันและต่างชนิดกัน 10

1.3 แสดงอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์โดยตัวอสุจิจากคนปกติ 13

1.4 แสดงอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์หลังจากย่อยสลาย โซนาเพลลูซิดา ด้วยสารชนิดต่าง ๆ 16

1.5 แสดงอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์โดยตัวอสุจิที่อยู่ในส่วน ต่าง ๆ ของ epididymis 22

2.1 แสดงระยะเวลาของ Reproductive cycle ของแฮมสเตอร์ สีทองเพศเมีย 25

2.2 แสดงส่วนประกอบของน้ำเพาะเลี้ยงที่ใช้ในการทดสอบ การเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ 34

2.3 แสดงการให้คะแนนระดับความเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ 39

3.1 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิของตัวอย่างน้ำอสุจิที่ได้จาก อาสาสมัครจำนวน 15 คน 53

3.2 แสดงความเข้มข้นของตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ได้ ภายหลังการแยก ตัวอสุจิออกจากน้ำอสุจิโดยวิธี swim-up ในน้ำเพาะเลี้ยง 3 ชนิด คือ Ham's F-10, BWW แล TMPA 54

3.3 แสดงเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิที่อบเลี้ยงในน้ำเพาะเลี้ยง 3 ชนิดคือ Ham's F-10, BWW และ TMPA เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง 56

3.4 แสดงเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิที่อบเลี้ยงในน้ำเพาะเลี้ยง 3 ชนิดคือ Ham's F-10, BWW และ TMPA เป็นเวลานาน 18-20 ชั่วโมง 57

ตารางที่ หน้า

3.5 แสดงอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ของตัวอสุจิที่อบเลี้ยงในน้ำเพาะเลี้ยง 3 ชนิดคือ Ham's F-10, BWW, และ TMPA 59

3.6 แสดงการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของตัวอสุจิจากชายที่สามารถมีบุตรได้ (กลุ่มควบคุม) กับของตัวอสุจิจากชายที่มีบุตรยากหรือไม่มีบุตร (กลุ่มศึกษา) 62

3.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคุณลักษณะตัวอสุจิของคนกับการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ โดยตัวอสุจิจากชายที่มีบุตรได้ (กลุ่มควบคุม) 64

3.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคุณลักษณะตัวอสุจิของคนกับการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์โดยตัวอสุจิจากชายที่มีบุตรยาก (กลุ่มศึกษา) 65

สารบาญรูปภาพและกราฟ

รูปที่		หน้า
1.1	แสดงลักษณะของตัวอสุจิที่เจริญเต็มที่แล้ว	3
1.2	แสดงการเกิดขบวนการ acrosome reaction	5
1.3	แสดงขบวนการปฏิสนธิระหว่างตัวอสุจิกับไข่	6
1.4	แสดงถึงขบวนการต่าง ๆ ที่สำคัญที่เกิดขึ้นก่อนและระหว่างการปฏิสนธิของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม	8
2.1	แสดงเครื่องมือผ่าตัดและอุปกรณ์ในการเตรียมไข่แฮมสเตอร์	29
2.2	แสดงวิธีการดึง plasteur pipette ให้ปลายเรียวเล็ก	30
2.3	แสดงการวิเคราะห์น้ำอสุจิด้วย Makler counting chamber	40
2.4	แสดงการแยกตัวอสุจิออกจากน้ำอสุจิโดยวิธี swim-up	42
2.5	แสดงการตัดแยกท่อนำไข่ออกจากรังไข่และมดลูก	44
2.6	แสดงลักษณะของไข่แฮมาสเตอร์ก่อนผสมกับตัวอสุจิคน	46
2.7	แสดงลักษณะไข่แฮมสเตอร์ภายหลังผสมกับตัวอสุจิคนแล้ว	48
3.1	แสดงความเข้มข้นของตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ได้ ภายหลังจากการแยกตัวอสุจิออกจากน้ำอสุจิโดยวิธี swim-up ในน้ำเพาะเลี้ยง 3 ชนิด คือ Ham's F-10, BWW และ TMPA	55
3.2	แสดงเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิที่อบเลี้ยงในน้ำเพาะเลี้ยง 3 ชนิดคือ Ham's F-10, BWW และ TMPA เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง และ 18-20 ชั่วโมง	58
3.3	แสดงเปอร์เซ็นต์ของการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ โดยตัวอสุจิที่อบเลี้ยงในน้ำเพาะเลี้ยง 3 ชนิด คือ Ham's F-10, BWW และ TMPA โดยอบเลี้ยงไว้ในน้ำเพาะเลี้ยงแต่ละชนิดเป็นเวลานาน 18-20 ชั่วโมง ก่อนผสมกับไข่แฮมสเตอร์	60