บทที่ 4

วิจารณ์และสรุปผล

การศึกษาน้ำเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการคัดเลือกตัวอสุจิ และการทดสอบเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา

ในการศึกษาการทดสอบการปฏิสนธิของตัวอสุจิในหลอดทดลอง (in vitro) สภาวะแวดล้อมมีความสำคัญสำหรับกระบวนการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ของตัวอสุจิ (Capacitation และ acrosome reaction) และความสามารถของตัวอสุจิในการปฏิสนธิกับไข่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำเพาะเลี้ยงที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงตัวอสุจิ ซึ่งมีหลายชนิด และแต่ละชนิดก็มีส่วนประกอบที่แตกต่างกันไป ในการศึกษาครั้งนี้ใช้น้ำเพาะเลี้ยง 3 ชนิดคือ Ham's F-10, BWW และ TMPA จากผลการทดลองครั้งนี้ ซึ่งพบว่า การแยกตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ได้ออกจาก seminal fluid โดยวิธี swim-up ในน้ำเพาะเลี้ยงทั้ง 3 ชนิด ได้ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ได้ในปริมาณความเข้มข้นที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การแยกตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ได้โดยวิธี swim-up นี้สามารถทำได้โดยใช้น้ำเพาะเลี้ยงชนิดใดชนิดหนึ่งใน 3 ชนิดนี้ได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Vijayakumar และคณะ (1987) ที่ใช้น้ำเพาะเลี้ยง Ham's F-10, Whittingham's Tyrode medium และ BWW ในการศึกษาแยกตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ได้ออกจาก seminal fluid โดยวิธี swim-up แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า ภายหลังอบเลี้ยงตัวอสุจิไว้นาน 18-20 ชั่วโมง ก่อนนำมาผสมกับไข่แฮมสเตอร์ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิที่อบเลี้ยงไว้ในน้ำเพาะเลี้ยง Ham's F-10, BWW และ TMPA ลดลงเพียงเล็กน้อยและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเทียบกับเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิที่อบเลี้ยงไว้เพียง 1 ชั่วโมง และอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ในน้ำเพาะเลี้ยง BWW ไม่แตกต่างจากของตัวอสุจิที่อบเลี้ยงในน้ำเพาะเลี้ยง Ham's F-10 ($P>0.05$) แต่สูงกว่าของตัวอสุจิที่อบเลี้ยงในน้ำเพาะเลี้ยง TMPA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.01$) เป็นที่น่าสังเกตว่า องค์ประกอบต่างๆ ในน้ำเพาะเลี้ยงน่าจะมีผลต่อการส่งเสริมการเคลื่อนไหว และความสามารถในการปฏิสนธิของตัวอสุจิ

จากการศึกษาพบว่า Ca^{2+} เป็นสารประกอบเกลืออนินทรีย์ที่สำคัญตัวหนึ่งที่จำเป็นสำหรับการเกิด acrosome reaction และการเพิ่มความสามารถในการปฏิสนธิของตัวอสุจิ (Barros, 1974; Singh และคณะ, 1978, 1980; Garbers และ Kopf, 1980; Hons และคณะ, 1984) นอกจากนี้ Ca^{2+} ยังมีส่วนส่งเสริมการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิด้วย (Fakih และคณะ, 1983; Breitbart และคณะ, 1985) ส่วนความเข้มข้นของ Ca^{2+} ในน้ำเพาะเลี้ยงอยู่ระหว่าง 1.7-3.4 mM. ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกับความเข้มข้นใน follicular fluid และ blood serum ของคน และระดับ Ca^{2+} ที่ต่ำหรือสูงกว่านี้จะไม่มีผลต่อการส่งเสริมการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ (Jamill และ White, 1981)

Guerin และ Czyba (1979) รายงานว่า น้ำเพาะเลี้ยงที่มี high Na^+ : K^+ ratio (25:1) สามารถเพิ่มความเร็วในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ในขณะที่ low Na^+ : K^+ ratio ทำให้ความเร็วของการเคลื่อนที่ลดลง และยังพบว่าความเข้มข้นของ K^+ เป็นตัวควบคุมการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิด้วย (Johnson และ Overstreet, 1982) โดยไปมีผลกระตุ้นการทำงานของ Na-K ATPase ในส่วน midpiece และส่วนหางของตัวอสุจิ (McGrady, 1979) จากการคำนวณ Na^+ : K^+ ratio ในน้ำเพาะเลี้ยง Ham's F-10, BWW และ TMPA เท่ากับ 25:1, 15:1 และ 40:1 ตามลำดับ ในขณะที่ใน seminal plasma มี Na^+ : k^+ ratio เท่ากับ 1.8:1 (Mann และ Lutwak-Mann, 1981) จึงน่าเป็นเหตุผลที่อธิบายว่าทำไมตัวอสุจิที่อยู่ในน้ำเพาะเลี้ยง จึงมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ดีกว่าตัวอสุจิที่อยู่ใน seminal plasma.

สำหรับสารประกอบที่เป็นแหล่งให้พลังงานแก่ตัวอสุจินั้น Rogers และ Yanagimachi (1975) ศึกษาในตัวอสุจิของหนูตะเภาพบว่า เมตาบอลิซมของไพรูเวท และ/หรือ แลคเตท มีความจำเป็นต่อการเกิดกระบวนการ capacitation และ acrosome reaction นอกจากนี้ยังพบว่าไพรูเวทและแลคเตท ช่วยลดเวลาของการเกิด capacitation จาก 2 ชั่วโมงในน้ำเพาะเลี้ยงที่ไม่มีไพรูเวทและแลคเตท เหลือ 1 ชั่วโมงเมื่อมีไพรูเวทและแลคเตทอยู่ด้วย จากการศึกษาองค์ประกอบใน fallopian tubal fluid ในสัตว์หลายชนิด พบว่า มีความเข้มข้นของกรดไพรูวิค และกรดแลคติค สูงมาก (Rabbit : Bishop, 1957;ewe: Hamner, 1973; monkey:Brackett และ Mastroianni, 1974; human:Lippes และคณะ, 1972) ส่วนกลูโคสนั้นพบว่ามีผลทำให้การเกิด capacitation และ acrosome reaction

ช้าลง โดยไปรบกวนกลไกการ uptake ของ Ca^{2+} ผ่าน membrane ของตัวอสุจิ

สารประกอบโปรตีนที่ใช้เติมในน้ำเพาะเลี้ยงเพื่อใช้ศึกษาคุณสมบัติของตัวอสุจิ โดยทั่วไปได้จากการเตรียม human serum albumin (HSA) (Yanagimacln และคณะ, 1976; Barros และคณะ, 1979; Wickings และคณะ, 1982; May และคณะ, 1986;Kyono,1987) หรือ Bovine serum albumin (BSA) (Menge และ Black, 1979; Hall, 1981; Cohen และคณะ, 1982) Davis (1976) รายงานว่า ตัวอสุจิที่อบเลี้ยงในน้ำเพาะเลี้ยงที่มี albumin อยู่ด้วย จะมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่และอัตราการปฏิสนธิสูงกว่าในน้ำเพาะเลี้ยงที่มีโปรตีนชนิดอื่นอยู่ด้วย (Ovalbumin, α และ β -globulin, hemoglobin) โดยเชื่อว่า albumin เป็นตัวชักนำให้เกิดกระบวนการ capacitation และ acrosome reaction โดยทำหน้าที่เป็น lipid-solubilizing protein และ steroid receptor

นักวิจัยส่วนใหญ่นิยมใช้ทั้ง HPS และ HSA ใน human in vitro fertilization program (Lopata และคณะ, 1980; Marrs และคณะ, 1982; Leung และคณะ, 1984) แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Liu และคณะ (1986) พบว่าการเติม 20% หรือ 30% HPS ลงในน้ำเพาะเลี้ยง Ham's F-10 สามารถ maintain sperm motility ได้ดีกว่าน้ำเพาะเลี้ยง Ham's F-10 อย่างเดียว หรือน้ำเพาะเลี้ยง Ham's F-10 ที่เติม 1% HSA เนื่องจาก 20% HPS และ 1% HSA นั้นมีปริมาณความเข้มข้นของอัลบูมินเท่ากัน ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าผลต่อการ maintain sperm motility ของ 20% HPS นั้นมาจากส่วนประกอบอื่นที่อยู่ใน serum ซึ่งจากการศึกษาโดยใช้ Charcoal extraction ของ serum พบว่ามีส่วนประกอบที่เป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (มากกว่า 18,000 dalton) ซึ่งแตกต่างไปจากสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ที่มีผลกระตุ้น sperm molility (เช่น Taurine และ hypotaurine) ตามที่มีรายงานกันมา (Mrsny และคณะ, 1979;Meizel และคณะ, 1980) ด้วยเหตุผลดังกล่าวมานี้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงใช้ 20% HPS ที่ได้จากหญิงที่มาเข้าโปรแกรม human in vitro fertilization ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ แทนการใช้ HSA โดยทำให้สาร complements ต่าง ๆ ที่อยู่ใน ซีรั่ม เกิด inactivation ด้วยความร้อน 56 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 30-45 นาที การที่เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิที่อบเลี้ยง

ในน้ำเพาะเลี้ยงทั้ง 3 ชนิด ลดลงเพียงเล็กน้อยภายหลังอบเลี้ยงไว้ 18-20 ชั่วโมงนี้ น่าจะเป็นผลมาจาก การ maintain sperm motility ของ HPS ที่เติมลงในน้ำเพาะเลี้ยงด้วย แต่อย่างไรก็ตามกลไกที่ HPS ไปมีผลต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ของตัวอสุจินั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด และยังมีการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้น้อย.

จากการที่พบว่าตัวอสุจิที่อบเลี้ยงในน้ำเพาะเลี้ยง BWW มีอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์สูงกว่าในน้ำเพาะเลี้ยงชนิดอื่น (41.61 ± 14.86) ทั้งนี้เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าตัวอสุจิต้องผ่านกระบวนการ capacitation และ acrosome reaction ก่อนจึงจะสามารถเจาะผ่าน zona pellucida หรือ vitelline membrane ของไข่ได้ ซึ่งตัวอสุจิต้องการ Ca^{2+}, Mg^{2+} และ ATP เป็นตัวช่วยเร่งให้เกิดกระบวนการทั้ง 2 นี้เร็วขึ้น (Hyne และ Garbers, 1979; Breitbart และคณะ, 1983) และพบว่าตัวอสุจิในคนที่สามารถมีบุตรได้จะมีระดับของ ATP สูงกว่าตัวอสุจิของคนที่ไม่สามารถมีบุตรได้ (Vilar, และคณะ, 1980;Bilgeri และคณะ, 1987) ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่า ตัวอสุจิต้องการสารอาหารที่เป็นแหล่งให้พลังงานที่อยู่ในน้ำเพาะเลี้ยงเป็นจำนวนมาก ซึ่งในน้ำเพาะเลี้ยง BWW มีทั้งไพรูเวท, แลคเตท และกลูโคส เป็นจำนวนมาก จึงช่วยให้ตัวอสุจิสามารถเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ได้มากขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงใช้น้ำเพาะเลี้ยง BWW ศึกษาความสามารถในการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ของตัวอสุจิในคนที่สามารถมีบุตรได้และคนที่ไม่สามารถมีบุตรได้ตลอดการทดลอง

<u>การศึกษาความสามารถในการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์และความสัมพันธ์กับคุณลักษณะต่าง ๆ ของตัวอสุจิในคนที่สามารถมีบุตรได้และคนที่ไม่สามารถมีบุตรได้</u>

ผลการศึกษาการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา ในการประเมินภาวะการมีบุตรได้ของคนในครั้งนี้พบว่า ค่าเฉลี่ยของอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ของตัวอสุจิจากชายที่สามารถมีบุตรได้ (กลุ่มควบคุม) (40.63 ± 12.59) มีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ยของอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ของตัวอสุจิจากชายที่มีปัญหามีบุตรยากหรือไม่มีบุตร (กลุ่มศึกษา) (6.43 ± 8.09) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) ผลการทดลองนี้คล้ายคลึงกับที่ได้มีผู้ทำการศึกษากันมาก่อนหน้านี้ (Rogers และคณะ, 1979; Tyler และคณะ, 1981; Martin และ Taylor, 1982; Stenchever และคณะ, 1982) ซึ่งรายงานว่า ตัวอย่างน้ำอสุจิจากผู้ป่วยที่

ไม่สามารถมีบุตรได้ ไม่ว่าจะมีผลของการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์เป็นปกติหรือไม่ก็ตาม โดยทั่วไปแล้วพบว่า มีอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ต่ำกว่าของตัวอย่างน้ำอสุจิจากคนที่สามารถมีบุตรได้ การศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า ตัวอสุจิจากกลุ่มควบคุม มีอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 20 ในขณะที่ในกลุ่มศึกษามีอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ต่ำกว่าค่านี้เป็นส่วนใหญ่ (ภาคผนวก ค และ ง) นักวิจัยหลายท่านศึกษาพบว่า อัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ในคนปกติมีพิสัยกว้างมาก (14%-100%:Rogers และคณะ, 1979;20%-100% : Hall, 1981;15%-100%:Karp และคณะ, 1981) แต่อย่างไรก็ตาม การทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์นี้ยังไม่มีค่าปกติที่เป็นมาตรฐานเดียวกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากนักวิจัยแต่ละท่านใช้วิธีการศึกษาที่แตกต่างกัน และมีปัจจัยต่าง ๆ มากมายที่มีผลกระทบต่ออัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ เช่น คุณภาพของไข่แฮมสเตอร์, ช่วงเวลาห่างของการหลั่งน้ำอสุจิ, ช่วงเวลาในการอบเลี้ยงตัวอสุจิก่อนผสมกับไข่แฮมสเตอร์และความเข้มข้นของตัวอสุจิที่ให้ผสมกับไข่แฮมสเตอร์ เหล่านี้เป็นต้น จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องควบคุมปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นจริงมากที่สุด

สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ ใช้สัตว์ทดลองที่ควบคุมสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อวงจรการเป็นสัด เช่น แสงสว่าง, อุณหภูมิ, น้ำและอาหาร (Mizoguchi และ Dukelow, 1980) และเก็บไข่จากแฮมสเตอร์เพศเมียที่มีระบบสืบพันธุ์เจริญเต็มที่แล้วโดยการกระตุ้นด้วยฮอร์โมน PMSG และ hCG ซึ่ง Berger และคณะ (1983) รายงานว่า ช่วงเวลาห่างของการฉีด PMSG และ hCG ระหว่าง 48 ชั่วโมงกับ 56 ชั่วโมงนั้นให้ผลการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ไม่แตกต่างกัน แต่พบว่าถ้าไข่เจริญใน in vivo เป็นเวลานานมากกว่า 4-10 ชั่วโมง ภายหลังจากที่มีการตกไข่แล้วจะทำให้อัตราการปฏิสนธิลดลง (Yanagimachi และ Chang, 1961)

ส่วนการเก็บตัวอย่างน้ำอสุจินั้นช่วงเวลาของการงดเว้นการหลั่งน้ำอสุจิมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์เป็นอย่างมาก พบว่าช่วงเวลาที่เหมาะสมคือระหว่าง 2-5 วัน ซึ่ง Mortimer และคณะ (1982) รายงานว่า ช่วงเวลาการงดเว้นการหลั่งน้ำอสุจิในเวลาดังกล่าวนี้จะทำให้ได้น้ำอสุจิที่มีลักษณะที่คงที่มากกว่าช่วงเวลาการงดเว้นการหลั่งน้ำอสุจิที่ถี่หรือห่างมากกว่านี้ ช่วงเวลาของการอบเลี้ยงตัวอสุจิก่อนผสมกับไข่แฮมสเตอร์ (Preincubation period) ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้เวลาในการอบเลี้ยงตัวอสุจิก่อนนำมาผสมกับไข่แฮมสเตอร์ เป็นเวลานาน 18-20 ชั่วโมง Rogers

(1978) พบว่า ตัวอสุจิคนจะสามารถเจาะทะลุ zona pellucida ที่ล้อมรอบไข่ของคน และ/หรือ ไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนาได้ภายหลังจากอบเลี้ยงไว้เป็นเวลานานอย่างน้อย 4-8 ชั่วโมง ดังนั้นเพื่อให้เวลาของการเก็บตัวอย่างน้ำอสุจิและการเก็บไข่แฮมสเตอร์สอดคล้องกัน จึงใช้ช่วงเวลาการอบเลี้ยงตัวอสุจิไว้นาน 18-20 ชั่วโมงก่อนผสมไข่แฮมสเตอร์ โดยจะเก็บตัวอย่างน้ำอสุจิในช่วงบ่าย (14:00-16:00 น.) ของวันแรก อบเลี้ยงตัวอสุจิค้างคืนไว้ และผสมกับไข่แฮมสเตอร์ในเช้าวันต่อมา (08:00-10:00 น.) ซึ่งนักวิจัยบางท่านรายงานว่าอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์โดยตัวอสุจิที่อบเลี้ยงไว้นาน 19-20 ชั่วโมง มีค่าสูงกว่าของตัวอสุจิจากตัวอย่างเดียวกันนี้ แต่อบเลี้ยงไว้ 6-7 ชั่วโมงก่อนผสมกับไข่แฮมสเตอร์ (Perreault และ Rogers, 1982; Johnson และ Alexander, 1984) นอกจากนี้แล้วปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ ความเข้มข้นของตัวอสุจิที่ใช้ผสมกับไข่แฮมสเตอร์ ซึ่งยังมีรายงานเกี่ยวกับผลของความเข้มข้นของตัวอสุจิต่ออัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์น้อยมาก Binor และคณะ (1980) รายงานว่าอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ลดลงเป็น 0 เมื่อความเข้มข้นของตัวอสุจิน้อยกว่า $6x10^5$ ตัว/มล. ต่อมา Martin และ Taylor (1983) ศึกษาอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์โดยใช้ความเข้มข้นของตัวอสุจิตั้งแต่ $5x10^5$ ตัว/มล. ถึง 10^7 ตัว/มล. พบว่ายิ่งเพิ่มความเข้มข้นของตัวอสุจิ อัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ก็เพิ่มขึ้นด้วย ในการศึกษาครั้งนี้จึงใช้ความเข้มข้นของตัวอสุจิในแต่ละตัวอย่างน้ำอสุจิประมาณ $5-10x10^6$ ตัว/มล. การศึกษาครั้งนี้ ใช้ตัวอย่างน้ำอสุจิจากชายที่ภรรยากำลังตั้งครรภ์ภายในระยะ 12 สัปดาห์แรกของการตั้งครรภ์ เป็นกลุ่มควบคุม ทั้งนี้เนื่องจากการสร้างตัวอสุจิของคนในแต่ละวงจรใช้เวลาประมาณ 68-74 วัน (Johnson and Everitt, 1983) ซึ่งการกำหนดเงื่อนไขของกลุ่มควบคุมนี้สามารถชี้ให้เห็นว่า ตัวอสุจิที่ใช้ในการศึกษาการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์นี้ถือว่าเป็นตัวอสุจิที่อยู่ในวงจรเดียวกันกับตัวอสุจิที่สามารถปฏิสนธิกับไข่ของคนได้ ซึ่งบ่งบอกถึงภาวะการมีบุตรได้แน่นอน

ถึงแม้ว่าในกลุ่มควบคุมจะมีค่าของอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่มีพิสัยกว้างมาก (20.4%-68.5%) แต่พบว่า ผลการทดสอบในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มศึกษา มีค่าของอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่มีการเหลื่อมล้ำกันน้อยมาก (มีเพียง 1 รายเท่านั้นในกลุ่มศึกษาที่มีอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์สูงมากกว่า 20%) ในขณะที่ผลของการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์ในทั้ง 2 กลุ่มนี้มีความแตกต่างกันน้อยมาก (ตารางที่ 3.6) สิ่งนี้แสดงให้เห็นว่า

การทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์นี้น่าจะมีประโยชน์ใช้ในการวินิจฉัยภาวะที่ไม่สามารถมีบุตรได้ในคนที่มีผลการวิเคราะห์น้ำอสุจิเป็นปกติ หรือฝ่ายหญิงไม่มีความผิดปกติทางด้านระบบสืบพันธุ์ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาคุณลักษณะต่าง ๆ ของตัวอสุจิโดยการวิเคราะห์น้ำอสุจิเป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า ความเข้มข้นของตัวอสุจิเป็นค่าพารามิเตอร์ที่สำคัญตัวหนึ่งที่บ่งชี้ถึงภาวะการมีบุตรได้ในผู้ชาย พบว่าความเข้มข้นของตัวอสุจิที่น้อยกว่า 10-20x10^6 ตัว/มล. โอกาสที่จะสามารถมีบุตรได้มีน้อยมาก (McLead และ Gold, 1951; Zuckerman, 1977) แต่จากการศึกษาของ Davis และคณะ (1979) พบว่า 3% ของคนที่สามารถมีบุตรได้ มีความเข้มข้นของตัวอสุจิน้อยกว่า 10x10^6 ตัว/มล. และ 25% ของคนที่ไม่สามารถมีบุตรได้ มีความเข้มข้นของตัวอสุจิมากกว่า 100x10^6/มล. นอกจากนี้ยังพบอีกว่า คุณลักษณะอื่น ๆ (เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่และเปอร์-เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีรูปร่างปกติ) ในคนที่มีค่าเหล่านี้ต่ำกว่าปกติก็สามารถมีบุตรได้เช่นกัน (Rehan และคณะ, 1975) จึงเป็นจุดเริ่มต้นให้นักวิจัยสนใจศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการปฏิสนธิและคุณลักษณะต่างๆ ของตัวอสุจิที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่ง Rogers และคณะ (1979) เป็นกลุ่มแรกที่ศึกษาความสัมพันธ์นี้ แต่ไม่พบว่า มีความสัมพันธ์กันเลย เช่นเดียวกันกับนักวิจัยอีกหลายท่านที่ศึกษาพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา และการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิ (Tyler และคณะ, 1981; Tang และคณะ, 1984) แต่นักวิจัยบางคณะกลับพบว่า อัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของตัวอสุจิ, เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวและเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีรูปร่างปกติ (Rogers และคณะ, 1979; Hall, 1981; Berger และคณะ, 1982) สำหรับผลการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าในกลุ่มควบคุม อัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์มีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหว (r=0.588) และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิเป็น (r=0.509) ส่วนในกลุ่มศึกษาพบว่าอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของตัวอสุจิ (r=0.499) การที่พบความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์กับความเข้มข้นของตัวอสุจิในกลุ่มศึกษา แต่ไม่พบความสัมพันธ์นี้ในกลุ่มควบคุม อาจเนื่องมาจากการกำหนดให้กลุ่มศึกษามีความเข้มข้นของตัวอสุจิน้อยกว่าหรือเท่ากับ 40x10^6 ตัว/มล. จึงทำให้มีความแตกต่างของความเข้มข้นของตัวอสุจิน้อยกว่า เมื่อเทียบกับในกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้กำหนดความเข้มข้นของตัวอสุจิ แต่อย่างไรก็ตาม ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์และผลการวิเคราะห์น้ำอสุจิเหล่านี้เป็นความสัมพันธ์ระดับปานกลางถึงระดับน้อยมาก. (ตารางที่ 3.7 และ 3.8) นอกจากนี้ยังพบว่า ในกลุ่มควบคุม 4 ใน 15 ราย ที่มีอัตราการเจาะทะลุไข่

แฮมสเตอร์สูง แต่มีความเข้มข้นของตัวอสุจิต่ำกว่าระดับปกติ (ภาคผนวก ค) และในกลุ่มศึกษาพบว่า 5 ใน 15 คน ที่มีผลการวิเคราะห์น้ำอสุจิอยู่ในระดับปกติ แต่ให้ผลลบต่อการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ (ภาคผนวก ง) ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า ค่าปกติต่าง ๆ ที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิ ไม่ได้แสดงว่าตัวอสุจิจะสามารถปฏิสนธิกับไข่ได้เสมอไป การที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์กับผลการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิส่วนใหญ่อาจเนื่องมาจาก การทดสอบทั้ง 2 วิธีนี้ เป็นการตรวจสอบคุณสมบัติทางด้านสรีรวิทยาของตัวอสุจิที่แตกต่างกัน การตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิอาจจะเพียงแต่บ่งชี้ถึงความสามารถในการมีชีวิตรอดของตัวอสุจิหรือการเคลื่อนที่เข้าไปยังตำแหน่งของการปฏิสนธิในท่อสืบพันธุ์เพศหญิง ส่วนการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา สามารถบอกให้ทราบถึงคุณสมบัติของตัวอสุจิที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการปฏิสนธิกับไข่ เช่น ความสามารถในการผ่านกระบวนการ capacitation และ acrosome reaction และการเจาะทะลุผ่าน ooplasm แต่อย่างไรก็ตามภาวะที่ไม่สามารถมีบุตรได้ในผู้ชาย อาจมีสาเหตุมาจากความผิดปกติอื่น ๆ ที่เกิดขึ้นภายหลังการปฏิสนธิระหว่างไข่กับตัวอสุจิ ซึ่งได้แก่ ความผิดปกติในการสร้าง pronucleus, ความล้มเหลวในการแบ่งเซลล์ และความผิดปกติของ male chromosome เป็นต้น ซึ่งการวิเคราะห์น้ำอสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์เพียงลำพังไม่สามารถที่จะใช้ประเมินความผิดปกติเหล่านี้ได้ แม้ว่าการใช้การทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนานี้ จะเป็นวิธีการทดสอบที่สิ้นเปลืองทั้งเวลาและค่าใช้จ่ายก็ตาม แต่ก็เป็นวิธีเดียวที่สามารถแสดงให้เห็นได้ว่าตัวอสุจิสามารถเจาะทะลุไข่ได้หรือไม่ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญในกระบวนการปฏิสนธิในร่างกาย

โดยสรุปจากการศึกษาครั้งนี้ สามารถศึกษาพบความสัมพันธ์ระหว่างคุณลักษณะบางอย่างของตัวอสุจิที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำอสุจิกับความสามารถในการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา แต่เป็นความสัมพันธ์ที่ไม่มากนัก จึงยังเป็นปัญหาว่า การตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิจะสามารถนำมาใช้ในการประเมินความสามารถในการปฏิสนธิกับไข่ได้หรือไม่ แต่อย่างไรก็ตาม การตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิก็เป็นการตรวจสอบที่ทำได้ง่าย และสามารถใช้ประเมินปริมาณและคุณภาพของตัวอสุจิที่สามารถเคลื่อนที่เข้าไปยังตำแหน่งของการปฏิสนธิในท่อสืบพันธุ์ของเพศหญิง ส่วนการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา สามารถแสดงให้เห็นถึงความสามารถของตัวอสุจิในการเจาะผ่าน vitelline membrane ของไข่ และการเกิด decondensation ที่นิวเคลียสของตัวอสุจิ ซึ่งเป็นขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการปฏิสนธิ ดังนั้นการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์จึง

เป็นวิธีการทดสอบที่สามารถใช้ประเมินภาวะการมีบุตรได้ของคน โดยเฉพาะในกรณีที่ไม่พบความผิดปกติของฝ่ายหญิง หรือฝ่ายชายมีผลการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิเป็นปกติ และไม่ทราบสาเหตุของการมีบุตรยาก แต่ในทางปฏิบัติ การวิเคราะห์น้ำอสุจิยังมีความสำคัญและเหมาะสมในการประเมินคุณภาพของน้ำอสุจิ จึงน่าใช้การทดสอบทั้งสองนี้ร่วมกันในการประเมินภาวะการมีบุตรยากในผู้ชาย และจากการที่การทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์และการปฏิสนธิในหลอดทดลองมีความสัมพันธ์กันสูงมาก การทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์นี้จึงสามารถนำมาใช้เป็น pretest สำหรับประเมินอัตราการปฏิสนธิในหลอดทดลองของตัวอสุจิคน.