บทที่ 1
ความเป็นมาและวัตถุประสงค์ของโครงการ

ความสำคัญ และที่มาของปัญหา

การผสมเทียม (Artificial Insemination, AI) เข้ามามีบทบาทอย่างสูงในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศในปัจจุบันนี้ การผสมเทียมสุกรใช้น้ำเชื้อสดที่นำมาเจือจาง (extended fresh semen) และผสมเทียมโดยใช้ท่อผสมเทียมชนิดที่ปล่อยน้ำเชื้อบริเวณคอมดลูก การผสมเทียมแต่ละครั้งใช้น้ำเชื้อสดที่เจือจางลงประมาณ 5-20เท่าตัว ในปริมาตร 80-100 มิลลิลิตร และมีจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 2-3 พันล้านตัว วิธีนี้สามารถลดจำนวนพ่อสุกรลงได้ถึง 4-5 เท่าตัว เปรียบเทียบกับการผสมธรรมชาติ อย่างไรก็ดี จากการวิจัยพบว่าการผสมเทียมสุกรแบบปัจจุบัน≥90% ของตัวอสุจิสูญเสียไปก่อนที่จะเข้าถึงบริเวณที่มีการปฏิสนธิภายในท่อนำไข่ (Mburu et al., 1996; Sumransap et al., 2007) โดยเนื่องจากการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อ (Steverink et al., 1998) และจากกระบวนการเก็บกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เกิดภายในมดลูกเอง (Kaeoket et al., 2002) ด้วยเหตุนี้การพัฒนาปรับปรุงวิธีการผสมเทียมสุกรให้มีศักยภาพสูงขึ้นจึงเป็นเรื่องน่าสนใจ

ปัจจุบันมีการพัฒนาประสิทธิภาพของการผสมเทียมในสุกร ด้วยการพยายามลดจำนวนตัวอสุจิต่อการผสมแต่ละครั้งลง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้พ่อสุกร และเตรียมพร้อมสำหรับการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสุกรที่ผ่านการแช่แข็งและคัดแยกเพศ (Roca et al. 2003) การผสมเทียมสุกรโดยใช้จำนวนตัวอสุจิปริมาณน้อยได้มีการทดลองมานานกว่า 10 ปี แล้ว โดย Kruger et al.(1999) ทำการผสมเทียมสุกรโดยผ่าตัดและปล่อยน้ำเชื้อที่บริเวณใกล้กับช่วงต่อของปีกมดลูกกับท่อนำไข่ (uterotubal junction, UTJ) ซึ่งเป็นแหล่งกักเก็บอสุจิเพื่อรอการตกไข่ (sperm reservior) จากการทดลองพบว่าน้ำเชื้อที่มีจำนวนตัวอสุจิเพียง 10 ล้านตัว ก็เพียงพอเมื่อเทียบกับการผสมเทียมตามปกติ (ผสมเทียมปกติใช้น้ำเชื้อ 3,000 ล้านตัว) ลดลง 300 เท่าตัว แสดงว่าสุกรมีความต้องการอสุจิเพียง 0.3% ของปริมาณที่ใช้ในปัจจุบัน การศึกษาดังกล่าวนี้ยืนยันว่าจำนวนอสุจิที่อยู่ภายในแหล่งกักเก็บอสุจินี้มีความสำคัญต่ออัตราการผสมติด และจำนวนลูกต่อครอกในสุกร

ผลการวิจัยต่างๆ ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมาบ่งชี้ว่า การผสมเทียมสุกรแบบปกติที่ใช้ในปัจจุบันยังไม่เหมาะสมที่จะใช้กับน้ำเชื้อสุกรที่มีมูลค่าสูงและมีความอ่อนแอ เช่น น้ำเชื้อพ่อพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ น้ำเชื้อที่ผ่านการแช่แข็งและน้ำเชื้อที่ผ่านการคัดแยกเพศการผสมเทียมแบบใหม่จึงได้มีการปรับปรุงขึ้นโดยใช้วิธีการสอดท่อผ่านคอมดลูกเพื่อนำน้ำเชื้อไปปล่อยที่ในตัวมดลูก เรียกว่า "intrauterine insemination" (IUI) หรือสอดผ่านไปจนถึงส่วนต้นของปีกมดลูก เรียกว่า "deep

intrauterine insemination" (DIUI) โดยไม่ต้องทำการผ่าตัด ปัจจุบันเทคโนโลยีการผสมเทียมสุกรทั้ง 2 วิธี ได้เริ่มมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรในประเทศไทยแล้วการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเทคนิคในการผสมเทียมแบบใหม่นี้ยังมีน้อยมากในประเทศไทย (Sumransap et al., 2007; Tummaruk et al., 2007; Tummaruk and Tienthai, 2010; Tummaruk et al., 2010)และมีความจำเป็นที่ควรต้องพัฒนาเพื่อเพิ่มศักยภาพการผสมเทียมสุกร และรองรับการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสุกรแช่แข็ง

ในช่วง 2-3 ปีที่ผ่านมา การผสมเทียมสุกรด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งมีการพัฒนาและใช้งานในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรอย่างรวดเร็วในสหรัฐอเมริกา ยุโรป และประเทศไทย (Buranaumnuay et al., 2008; Chanapiwat et al., 2009) อุตสาหกรรมการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง ในประเทศไทยยังขาดข้อมูลพื้นฐานหลายด้านที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิต ขั้นตอน และเทคนิคการผลิต จนถึงเทคนิคการผสมพันธุ์ อย่างไรก็ดีผู้เลี้ยงสุกรยังต้องนำเข้าพันธุกรรมสุกรจากต่างประเทศ เพื่อใช้พัฒนาพันธุกรรมของสุกรในประเทศไทยให้มีศักยภาพการผลิตสูงขึ้น ลดต้นทุนการผลิตสุกร และสามารถแข่งขันกับต่างประเทศได้

ในแม่สุกรภายหลังการผสมเทียม อสุจิจะถูกขนส่งผ่านท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์เพศเมียไปยังส่วนกักเก็บอสุจิซึ่งอยู่บริเวณส่วนรอยต่อระหว่างมดลูกและท่อนำไข่ บริเวณนี้เรียกว่า "sperm reservoir" ตัวอสุจิจะใช้เวลาเดินทางเพียงไม่กี่นาที และไม่เกินชั่วโมงเพื่อไปยัง sperm reservoir จำนวนตัวอสุจิที่พบใน sperm reservoir ขึ้นกับจำนวนตัวอสุจิที่ใช้ผสมเทียม พบว่า sperm reservoir มีหน้าที่ในการรักษาสภาพอสุจิให้มีชีวิตอยู่ คงความสามารถในการปฏิสนธิ และเป็นที่หลบจากการถูกเก็บกินโดยเซลล์เม็ดเลือดขาวภายในมดลูกในช่วงเวลาที่ยังไม่มีการตกไข่ (Rodriguez-Martinez et al., 2005) หลังจากนั้น ตัวอสุจิจะถูกปล่อยจากบริเวณ sperm reservoir ช้าๆ เพื่อไปยังบริเวณท่อนำไข่ส่วน ampullary-isthmic junction เพื่อปฏิสนธิกับไข่ การปล่อยอสุจิออกมาจาก sperm reservoir เกิดจากการเหนี่ยวนำโดยสารเคมีจากท่อนำไข่ส่วนแอมพูลล่าในเวลาใกล้ตกไข่ การปลดปล่อยอสุจิออกมาจาก sperm reservoir จะเกิดขึ้นสอดคล้องกับเวลาในการตกไข่ การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการผสมเทียมด้วยเทคนิค IUI และ DIUI โดยใช้จำนวนตัวอสุจิลดลง 3 และ 20 เท่าตัว สามารถตรวจพบตัวอสุจิภายใน sperm reservoir ได้ไม่แตกต่างจากการผสมเทียมแบบเดิมที่ใช้จำนวนตัวอสุจิมากกว่า (Sumransap et al. 2007; Tummaruk et al., 2007; Tummaruk and Tienthai, 2010)

ในการศึกษาก่อนหน้านี้ในประเทศไทยโดยคณะผู้วิจัย (Tummaruk et al., 2007) พบว่าการผสมเทียมสุกรด้วยวิธี DIUI มีอัตราการผสมติดสูงถึง 5/8 ตัว โดยใช้จำนวนตัวอสุจิเพียง 150 ล้านตัว และพบตัวอ่อนทั้งสองข้างของปีกมดลูกโดยเฉลี่ย 11.4 ตัว ซึ่งอยู่ในระดับที่น่าพอใจ แสดงให้เห็นว่า เทคนิคการผสมเทียมแบบ DIUI น่าจะสามารถพัฒนาต่อไปเพื่อใช้กับน้ำเชื้อสุกรแช่แข็ง และน้ำเชื้อที่ผ่านการ

คัดแยกเพศ และการย้ายฝากตัวอ่อนได้ อย่างไรก็ตาม การศึกษาการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิบนเยื่อบุของ sperm reservoir หลังการผสมพันธุ์ โดยการใช้น้ำเชื้อสุกรแช่แข็ง ยังต้องการการวิจัยเพิ่มเติมในระดับโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาของ sperm reservoir ในระดับจุลกายวิภาคศาสตร์หรือจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเพิ่มเติมเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันที่บริเวณเยื่อบุผนังมดลูกเป็นส่วนหนึ่งของ mucosal immune system แบ่งการทำงานออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ non-specific และ specific immune response การศึกษาครั้งนี้จะทำการตรวจสภาวะปกติของเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันในมดลูก เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างการผสมเทียมแบบปกติและแบบใหม่ซึ่งมีการสอดท่อผ่านคอมดลูก และมีการกระทบผนังมดลูกมากกว่าการผสมเทียมแบบเดิม การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันบริเวณเยื่อบุผนังมดลูก ได้มีการศึกษามาแล้วทั้งในแม่สุกรที่มีวงรอบการเป็นสัดปกติ และภายหลังการผสมเทียม (Kaeoket et al., 2002, 2003) ในสุกร sperm reservoir อยู่บริเวณตำแหน่งรอยต่อระหว่างปีกมดลูกและท่อนำไข่และส่วนท่อนำไข่ส่วนอิสมัสส่วนท้าย ปริมาณของเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันในบริเวณนี้ในสุกรปกติภายหลังการผสมเทียมทั้ง 3 แบบ ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน การศึกษาวิจัยเพื่อหาข้อมูลส่วนนี้เป็นพื้นฐานที่สำคัญต่อทั้งการวินิจฉัยพยาธิสภาพ และอธิบายลักษณะการเปลี่ยนแปลงในระดับจุลกายวิภาคปกติของ sperm reservoir มากยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาแนวทางในการการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้ามดลูกและเข้าปีกมดลูกในแม่สุกรหย่านมด้วยน้ำเชื้อสุกรแช่แข็ง
2. เพื่อศึกษาการกำหนดเวลาในการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อพ่อสุกรแช่แข็ง
3. เพื่อศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของแหล่งกักเก็บอสุจิหลังการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง
4. เพื่อศึกษาการขนส่งอสุจิหลังการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสุกรแช่แข็ง
5. เพื่อศึกษาการตอบสนองของเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันในมดลูกและตัวรับฮอร์โมนเพศเมียหลังการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง
6. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างเยื่อบุผิวของ sperm reservoir ภายหลังการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสุกรแช่แข็ง