บทที่ 5
วิจารณ์

การแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนบนตัวอสุจิสุกร

พบการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนชนิด อัลฟ่า ที่บริเวณ mid-piece และหางของตัวอสุจิ ตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนชนิดเบต้า ที่บริเวณ acrosomeของตัวอสุจิ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ragoและคณะ (2007) การแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน ชนิดอัลฟ่า ที่บริเวณ mid-piece และหางของตัวอสุจิอาจมีความเกี่ยวข้องกับการมีชีวิตรอดและการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (Aquila et al., 2004) ส่วนการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน ชนิดเบต้า ที่บริเวณ acrosome อาจมีความเกี่ยวข้องกับการปฏิสนธิ เนื่องจากส่วนของ acrosomeเป็นส่วนที่เกิดการ exocytosisที่บริเวณโอโอไซต์ก่อนเกิดการปฏิสนธิ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าฮอร์โมนเอสโตรเจนมีบทบาทในกระบวนการ capacitation และ acrosome reaction เช่นเดียวกับตัวอสุจิของคน (Aquila et al., 2003)สำหรับตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีการแสดงออกที่บริเวณ mid-piece ของตัวอสุจิซึ่งต่างจากตำแหน่งของตัวรับฮอร์โมนบนตัวอสุจิของคน ที่พบการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่บริเวณ acrosome ของตัวอสุจิ (Gadkar et al., 2002)ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิสุกร

ความสัมพันธ์ระหว่างตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนบนตัวอสุจิ กับคุณภาพน้ำเชื้อสุกร

ความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนทั้งสองชนิด ตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน กับการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของตัวอสุจิ ความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มอสุจิ ความสมบูรณ์ของ acrosomeและตัวอสุจิที่ยังไม่เกิด capacitation ซึ่งสนับสนุนสมมติฐานเกี่ยวกับบทบาทของฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนที่มีต่อการมีชีวิตรอด การเคลื่อนที่ กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการปฏิสนธิ ได้แก่ การเกิด capacitation และ acrosome reaction(Gadkar et al., 2002; Rago et al., 2007) โดยในตัวอสุจิของคนพบว่าการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มอสุจิ และรูปร่างที่ปกติของตัวอสุจิ (Meizel and Turner, 1991) ในขณะที่ตัวอสุจิที่มีรูปร่างผิดปกติของคนจะมีตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนน้อยกว่าตัวอสุจิที่มีรูปร่างปกติ (Gadkar et al., 2002) เช่นเดียวกับหนูเม้าส์ที่ไม่มีตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน ชนิดอัลฟ่า ซึ่งมีการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิลดลง (Korach, 2000)

ผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในขั้นตอนของการแช่แข็งน้ำเชื้อที่มีต่อการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน และโปรเจสเตอโรนบนตัวอสุจิสุกร

จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนชนิด อัลฟ่า ชนิดเบต้า และโปรเจสเตอโรน ในน้ำเชื้อที่ผ่านการทำละลาย ซึ่งบ่งบอกว่าการลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็วในช่วงเวลาของการแช่แข็งนั้นมีผลกระทบต่อการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรน รวมไปถึงทำให้คุณภาพน้ำเชื้อลดต่ำลงในทุกพารามิเตอร์ ซึ่งสาเหตุของคุณภาพน้ำเชื้อที่ต่ำลงจากกระบวนการแช่แข็ง อาจเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น การเกิด cold shock สูญเสียความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มตัวอสุจิ ความสามารถในการเคลื่อนที่ลดลง (Simpson and White, 1986; Robertson et al., 1990) การเกิดกระบวนการ capacitation ภายหลังจากการละลาย (Maxwell and Johnson, 1997) การเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระ (Aitken and Clarkson, 1988) เมื่อคุณภาพน้ำเชื้อลดต่ำลงทำให้การแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน และโปรเจสเตอโรนลดต่ำลงตามไปด้วย เนื่องจากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับคุณภาพน้ำเชื้อในทุกพารามิเตอร์

ผลของความเข้มข้นของ L-cysteineที่มีต่อการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนทั้งสองชนิดบนตัวอสุจิสุกร

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน และโปรเจสเตอโรนบนตัวอสุจิสุกร ไม่มีความแตกต่างกันเมื่อมีการเติมสารต้านอนุมูลอิสระ L-cysteine ที่ความเข้มข้นต่างๆกันในแต่ละช่วงเวลา ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระไม่มีผลต่อการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรน อย่างไรก็ตามในกลุ่มของ L-cysteine ที่ความเข้มข้น 10 mM นั้นให้ผลด้านความสมบูรณ์ของ acrosome สูงกว่าในกลุ่มควบคุม และกลุ่มความเข้มข้น 15 mM ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kaeoket และคณะ (2008) ที่มีการเติม L-cysteine ที่ความเข้มข้น 5 mM ลงในสารละลายน้ำเชื้อ พบว่าน้ำเชื้อสุกรกลุ่มที่มีการเติม L-cysteine มีความสมบูรณ์ของ acrosome การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มอสุจิสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีการเติม L-cysteine ลงในสารละลายน้ำเชื้อ นอกจากนี้กลุ่มของน้ำเชื้อที่มีการเติม L-cysteine ที่ความเข้มข้น 10 mM มีแนวโน้มว่าจะมีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มอสุจิ และตัวอสุจิที่ยังไม่เกิด capacitation สูงกว่าน้ำเชื้อกลุ่มอื่นๆ ดังนั้นความเข้มข้นที่ 10 mM ของ L-cysteine น่าจะเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการใช้สำหรับเติมลงในสารละลายน้ำเชื้อสุกร เพื่อเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็งสุกร

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาพบว่าการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระ (L-cysteine ความเข้มข้น 10 mM) ลงในสารละลายน้ำเชื้อ มีแนวโน้มในการเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อสุกรให้ดีขึ้น การแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน ทั้งสองชนิด และตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีความสัมพันธ์กับคุณภาพน้ำเชื้อ และกระบวนการแช่แข็งส่งผลให้การแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน และโปรเจสเตอโรนลดลง ซึ่งน่าจะมีผลมาจากการที่คุณภาพน้ำเชื้อที่ลดต่ำลง

ซึ่งควรทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงความสามารถในการปฏิสนธิของตัวอสุจิสุกรหลังจากการแช่แข็งและทำละลายต่อไป เพื่อทราบถึงความสัมพันธ์ของการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน และโปรเจสเตอโรนกับการปฏิสนธิ

เอกสารอ้างอิง

Aitken, R.J. and Clarkson, J.S. 1988. Significance of reactive oxygen species and antioxidants in defining the efficacy of sperm preparation techniques. J Andro. 9: 367-376.

Aquila, S., Sisci, D., Gentile, M., Carpino, A., Middea, E., Catalano, S., Rago, V. and Andó, S. 2003. Towards a physiological role for cytochrome P450 aromatase in ejaculated human sperm. Hum Reprod. 18: 1650-1659.

Aquila, S., Sisci, D., Gentile, M., Middea, E., Catalano, S., Carpino, A., Rago, V. and Andó, S. 2004. Estrogen receptor (ER) alpha and ER beta are both expressed in human ejaculated spermatozoa: evidence of their direct interaction with phosphatidylinositol-3-OH kinase/Akt pathway. J Clin Endocrinol Metab. 89: 1443-14445.

Buhr, M.M., Curtis, E.F. and Kakuda, N.S. Composition and behavior of head membrane lipids of fresh and cryopreserved boar sperm. Cryobiology. 31: 224-238.

Cerolini, S., Maldjian, A., Pizzi, F. and Gliozzi, T.M. 2001. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. Reproduction. 121: 395-401.

Contreras, H.R. and Llanos, M.N. 2001. Detection of progesterone receptors in human spermatozoa and their correlation with morphological and functional properties. Int J Andro. 24: 246-252.

Cross, N.L. 1998. Role of cholesterol in sperm capacitation.Biol Reprod. 59: 7-11.

Gadkar, S., Shah, C.A., Sachdeva, G, Samant, U. and Puri, C.P. 2002. Progesterone receptor as an

indicator of sperm function. Biol Reprod. 67: 1327-1336.

Hammerstedt, R.H., Graham, J.K. and Nolan, J.P. 1990. Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. J Andro. 11: 73-88.

Kaeoket, K., Persson, E., Dalin, A.M., 2002. The influence of pre- and post-ovulatory insemination on sperm distribution in the oviduct, accessory sperm to the zona pellucida, fertilization rate and embryo development in sows. Anim. Reprod. Sci. 71 239-248.

Kaeoket, K., Tantiparinyakul, K., Kladkaew, W., Chanapiwat, P. and Techakumphu, M. 2008. Effect of different antioxidants on quality of cryopreserved boar semen in different breeds.

Thai J Agric Sci. 41: 1-9.

Kim, J.G and Parthasarathy, S. 1998. Oxidation and the spermatozoa. Semin Reprod Med.

16: 235-339.

Korach, K.S. 2000. Estrogen receptor knock-out mice: molecular and endocrine phenotypes. J Soc Gynecol Invest. 7: S16-17.

Maxwell, W.M. and Johnson, L.A. 1997. Chlortetracycline analysis of boar spermatozoa after incubation, flow cytometric sorting, cooling or cryopreservation. Mol Reprod Dev. 46: 408-418.

Meizel, S. and Turner, K. 1991. Progesterone acts at the plasma membrane of human sperm.

Molecular and Cellular Endocrinology. 11: R1-R5.

Osman, R.A., Andria, M.L., Jones, A.D. and Meizel, S. 1989. Steroid induced exocytosis: the human sperm acrosome reaction. Biochem Biophy Res Commun. 160: 828-833.

Rago, V., Aquila, S., Panza, R. and Carpino, A. 2007. Cytochrome P450arom, androgen and estrogen receptors in pig sperm. Reprod Bio and Endocrin. 5: 23.

Robertson, L., Bailey, J.L. and Buhr, M.M. 1990. Effects of cold shock and phospholipase A_2 on intact boar spermatozoa and sperm heas plasma membranes. Mol Reprod Dev. 26: 143-149.

Roca, J., Carvajal, G., Lucas, X., Vazquez, J.M., Martinez, E.A., 2003. Fertility of weaned sows after deepintrauterine insemination with a reduced number of frozen-thawed spermatozoa.

Theriogenology.60:77-87.

Sheweita, S.A., Tilmisany, A.M. and Al-Sawaf, H. 2005. Mechanisms of male infertility: role of antioxidants. Curr Drug Metab. 6: 495-501.

Simpson, A.M. and White, I.G. 1986. Effect of cold shock and cooling rate on calcium uptake of ram spermatozoa. Anim Reprod Sci. 12: 131-143.

Sirivaidyapong, S., Bevers, M.M. and Colenbrander, B. 1999. Acrosome reaction in dog sperm is induced by a membrane-localized progesterone receptor. J Andro. 20: 537-544.

Solakidi, S., Psarra, A-M.G., Nikolaropoulos, S. and Sekeris, C.E. 2005. Estrogen receptors α and β (ERα and ERβ) and androgen receptor (AR) in human sperm: localization of ERβ and AR in mitochondria of the midpiece. Hum Reprod. 20: 3481-3487.

Stegink, L.D., Bell, E.F., Filer Jr, L.J., Ziegler, E.E., Andersen, D.W. and Seligsonaz, F.H. 1986. Effects of equimolar doses of L-Methionine, D-Methionine and L-Methionine-*dl*-Sulfoxide on plasma and urinary amino acid level in normal adult human. J Nutri.116: 1185.

Visconti, P. and Kopf, G. 1998. Regulation of protein phosphorylation during sperm capacitation. Biol Reprod. 59: 1-6.

Vishwanath, R. and Shannon, P. (1997) Do sperm cells age?a review of the physiological changes in sperm during storage at ambient temperature Reprod Fertil Develop. 9:321-331

Wassarman, P. 1999. Zona pellucid glycoprotein mZP3: a versatile player during mammalian fertilization. J Reprod Fertil. 116: 211-216.

Waterhouse, K.E., Hofmo, P.O., Tverdal, A. and Miller Jr, R.R. 2006. Within and between breed differences in freezing tolerance and plasma membrane fatty acid composition of boar sperm. Reproduction. 131: 887-894.

Wongtawan, T., Saravia, F., Margareta, W., Caballero, I. and Rodriguez-Martinez, H. 2006.Fertility after deep intra-uterine artificial insemination of concentrated low-volume boar semen doses.Theriogenology. 65: 773-787

Yanagimachi, R. 1994. Mammalian fertilization. In: The physiology of reproduction, 2nd ed (eds E. Knobil and J.D. Neil), Raven Press, New York, USA. pp. 189-317.

Yang, J., Serre, C., Philibert, D., Roberl, P., Baulieu, E. and Jouannet, P. 1994. Progesterone and RU486 on human sperm: inverse effect. Proceeding of the National Academy of Science USA. 91: 529-533.

Zaneveld, L., De Jonge, C., Anderson, R. and Marck, S. 1991. Human sperm capacitation and the acrosome reaction. Hum Reprod. 6: 1265-1274.