บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1

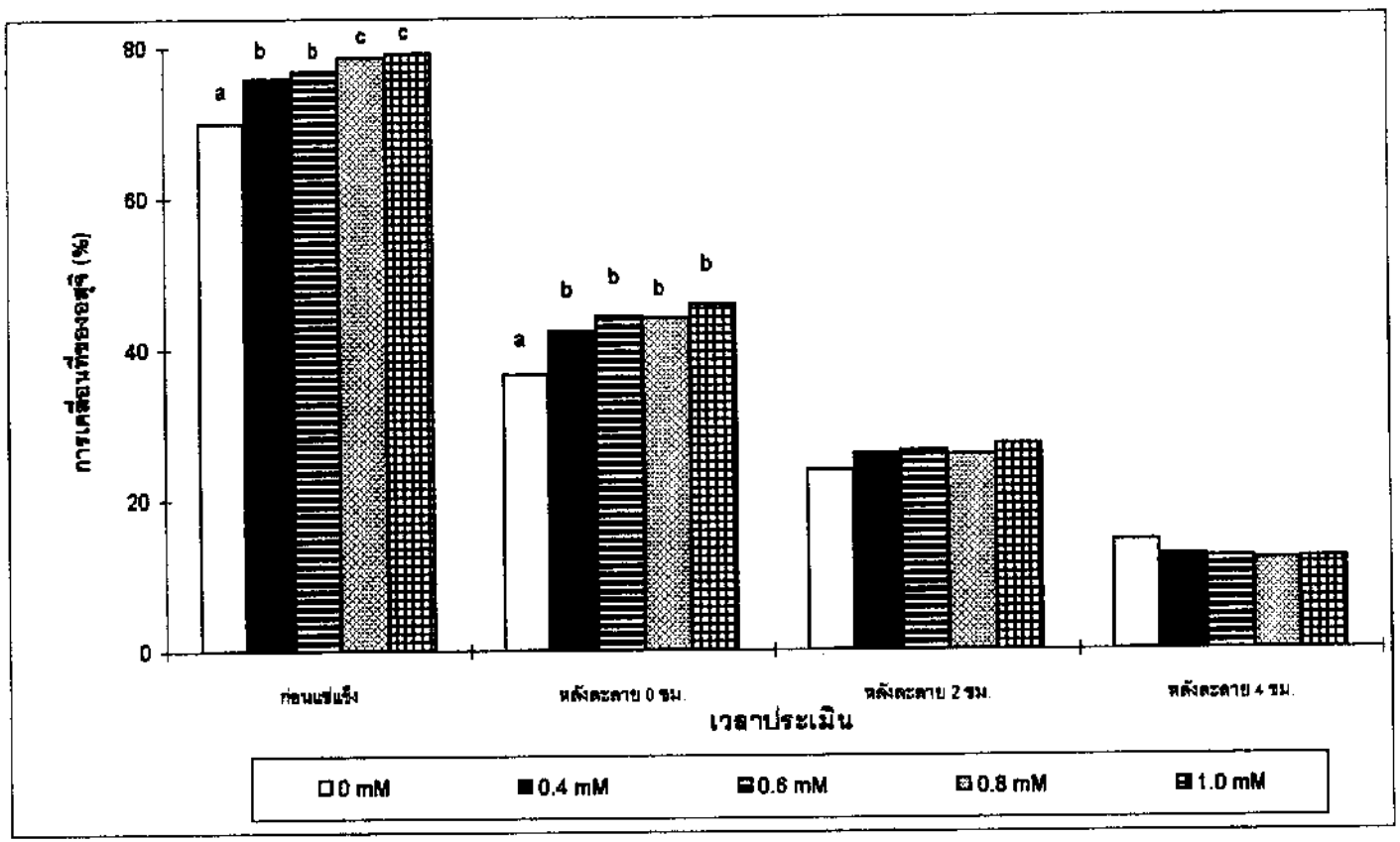
ทำการศึกษาผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการเคลื่อนที่ (motility) การเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้า (progressive motility) การมีชีวิตของเซลล์อสุจิ (live spermatozoa) อสุจิที่มีอะโครโซมปกติ (normal apical ridge) ทั้งก่อนการแช่แข็ง (prefreezing) หรือหลังการเติมคาเฟอีนและออกซิโตซิน 1 ชั่วโมง และหลังการละลาย (post-thawing) น้ำเชื้อที่ผ่านการแช่แข็ง (frozen semen) แล้ว 24 ชั่วโมง โดยศึกษาผลหลังการละลายที่ 0, 2 และ 4 ชั่วโมง

4.1.1 การเคลื่อนที่ของอสุจิ

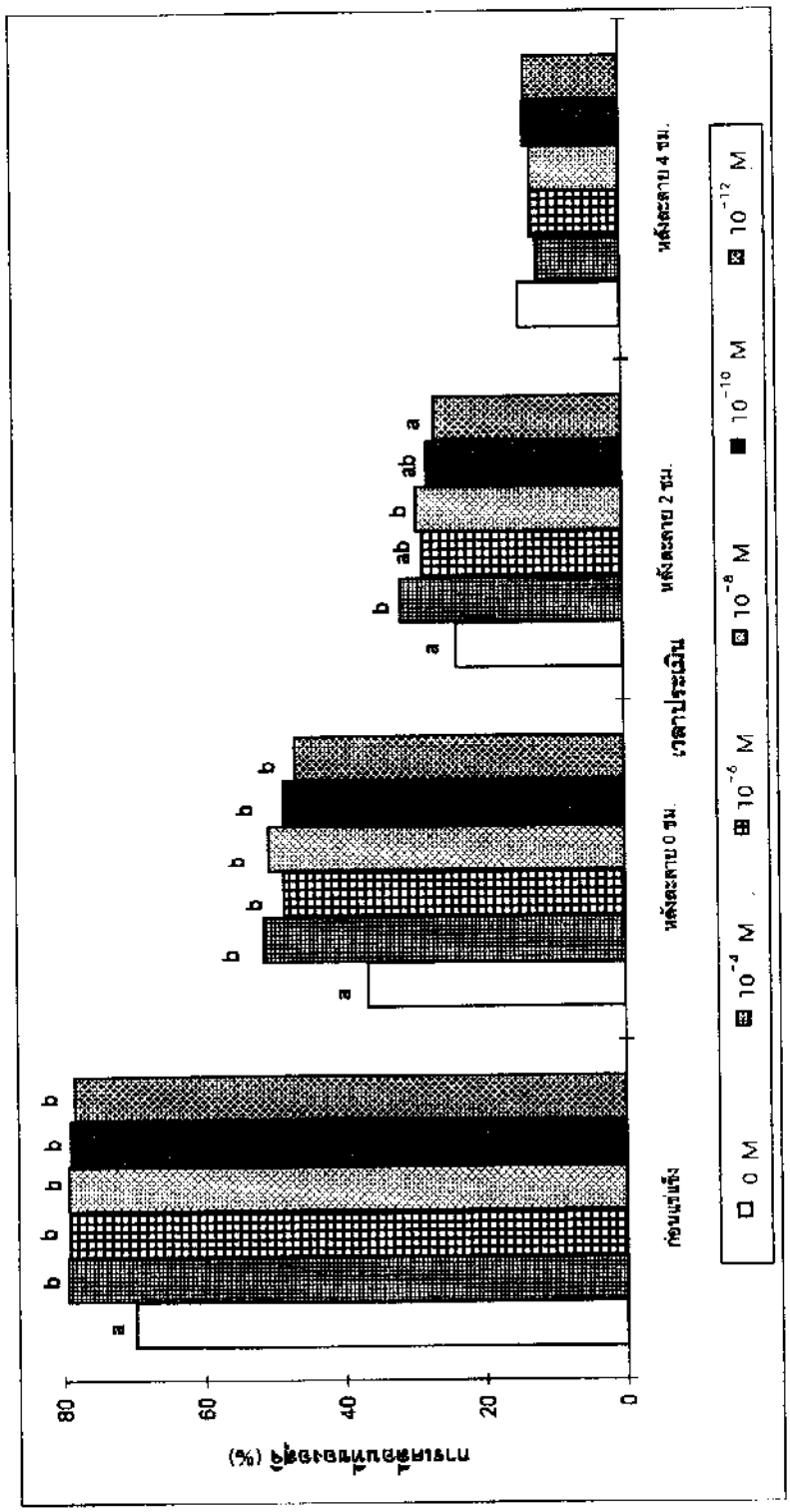
4.1.1.1 ก่อนการแช่แข็ง

อิทธิพลของคาเฟอีน: พบว่ากลุ่มที่เติมคาเฟอีนระดับความเข้มข้น 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีการเคลื่อนที่ของอสุจิดังนี้คือ 69.88, 75.75, 76.75, 78.63 และ 79.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กลุ่มที่เติมคาเฟอีนมีการเคลื่อนที่ของอสุจิโดยเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีคาเฟอีน 7.69 หน่วยเปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) คาเฟอีนระดับ 0.4 และ 0.6 มิลลิโมล ให้ผลการเคลื่อนที่ของอสุจิไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ทั้ง 2 ระดับมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิต่ำกว่ากลุ่มที่เติมระดับ 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล อย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P<0.05$) และการเคลื่อนที่ของอสุจิเพิ่มขึ้นแบบเส้นตรงตามการเพิ่มขึ้นของระดับความเข้มข้นของคาเฟอีน ($P<0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 7

อิทธิพลของออกซิโตซิน: กลุ่มทดลองที่เติมออกซิโตซินระดับความเข้มข้น 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล พบว่ามีการเคลื่อนที่ของอสุจิดังนี้คือ 69.88, 79.38, 79.13, 79.25, 79.00 และ 78.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 8 กลุ่มที่เติมออกซิโตซินมีการเคลื่อนที่ของอสุจิโดยเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีออกซิโตซิน 9.15 หน่วยเปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และการเคลื่อนที่ของอสุจิเพิ่มขึ้นแบบเส้นตรงตามระดับการเพิ่มความเข้มข้นออกซิโตซิน ($P<0.05$)



ภาพที่ 7 ผลของคาเฟอีนต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิ



ภาพที่ 8 ผลของอนุภาคไมโครเคลือบน้ำของยูรี

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิก่อนการแช่แข็งพบว่าค่าเฉลี่ยการเคลื่อนที่ของคาเฟอีน (77.57 เปอร์เซ็นต์) ต่ำกว่ากลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (79.03 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4

4.1.1.2 หลังการละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง

อิทธิพลของคาเฟอีน: ที่ 0 ชั่วโมงหลังการละลาย (0 h, post-thawing) พบว่าระดับความเข้มข้นของคาเฟอีน 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล อสุจิมีการเคลื่อนที่ดังนี้ 36.38, 42.25, 44.13, 43.88 และ 45.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กลุ่มที่เติมคาเฟอีนมีการเคลื่อนที่ของอสุจิโดยเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีคาเฟอีน 7.62 หน่วยเปอร์เซ็นต์ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ระดับความเข้มข้นของคาเฟอีน 0.4-1.0 มิลลิโมล ให้ผลการเคลื่อนที่ของอสุจิสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เติมอย่างมีนัยสำคัญกันในทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 7

อิทธิพลของออกซิโตซิน: ที่ 0 ชั่วโมงหลังการละลาย (0 h, post-thawing) พบว่าระดับความเข้มข้นของออกซิโตซิน 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีการเคลื่อนที่ของอสุจิดังนี้ 36.38, 51.38, 48.38, 50.62, 48.50 และ 46.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของการกลุ่มที่เติมออกซิโตซินสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีออกซิโตซิน 12.75 หน่วยเปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) การเคลื่อนที่ของอสุจิเพิ่มมากขึ้นแบบเส้นตรงตามระดับการเพิ่มความเข้มข้นของออกซิโตซิน ($P<0.05$) ดังภาพที่ 8

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิหลังการละลายที่ 0 ชั่วโมง พบว่าการเคลื่อนที่โดยเฉลี่ยของกลุ่มที่เติมคาเฟอีน (44.00 เปอร์เซ็นต์) ต่ำกว่ากลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (49.13 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4

อิทธิพลของคาเฟอีน: ที่ 2 ชั่วโมงหลังการละลาย (2 h, post-thawing) พบว่าคาเฟอีนระดับความเข้มข้น 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีการเคลื่อนที่ของอสุจิดังนี้คือ 23.75, 25.88, 26.25, 25.63 และ 27.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) ถึงแม้กลุ่มที่เติมคาเฟอีนระดับความเข้มข้น 0.4-1.0 มิลลิโมล จะมีการเคลื่อนที่ของอสุจิโดยเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีคาเฟอีนก็ตาม ดังแสดงในภาพที่ 7

อิทธิพลของออกซิโตซิน: ที่ 2 ชั่วโมงหลังการละลาย (2 h, post-thawing) พบว่าออกซิโตซินระดับความเข้มข้น 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีการเคลื่อนที่ของอสุจิดังนี้คือ 23.75, 31.37, 28.38, 29.13, 27.63 และ 26.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กลุ่มที่เติมออกซิโตซินมีการเคลื่อนที่ของอสุจิโดยเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีออกซิโตซิน 4.88 หน่วยเปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ออกซิโตซินระดับความเข้มข้น 10^{-4} และ 10^{-8} โมล มีความแตกต่างทางสถิติกับออกซิโตซินระดับอื่นๆ ($P<0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 8

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิหลังการละลายที่ 2 ชั่วโมง พบว่าการเคลื่อนที่โดยเฉลี่ยของกลุ่มที่เติมคาเฟอีน (26.22 เปอร์เซนต์) ต่ำกว่ากลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (28.63 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

อิทธิพลของคาเฟอีน: ที่ 4 ชั่วโมงหลังการละลาย (4 h, post-thawing) พบว่าคาเฟอีนระดับความเข้มข้น 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีการเคลื่อนที่ของอสุจิดังนี้คือ 14.38, 12.38, 12.13, 11.88 และ 12.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 7

อิทธิพลของออกซิโตซิน: ที่ 4 ชั่วโมงหลังการละลาย (4 h, post-thawing) พบว่าออกซิโตซินระดับความเข้มข้น 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีการเคลื่อนที่ของอสุจิดังนี้คือ 14.38, 11.88, 12.63, 12.62, 13.50 และ 13.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 8 และทุกระดับความเข้มข้นของออกซิโตซินไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิหลังการละลายที่ 4 ชั่วโมง พบว่าการเคลื่อนที่โดยเฉลี่ยของกลุ่มที่เติมคาเฟอีน (13.00 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (12.80 เปอร์เซ็นต์) ($P>0.05$)

4.1.2 การเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของเซลล์อสุจิ

4.1.2.1 ก่อนการแช่แข็ง

อิทธิพลของคาเฟอีน:พบว่าคาเฟอีนที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิดังนี้คือ 80.94, 81.72, 82.21, 82.85 และ 82.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 9 อย่างไรก็ตาม กลุ่มที่เติมคาเฟอีนมีการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิโดยเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีคาเฟอีน 1.47 หน่วยเปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

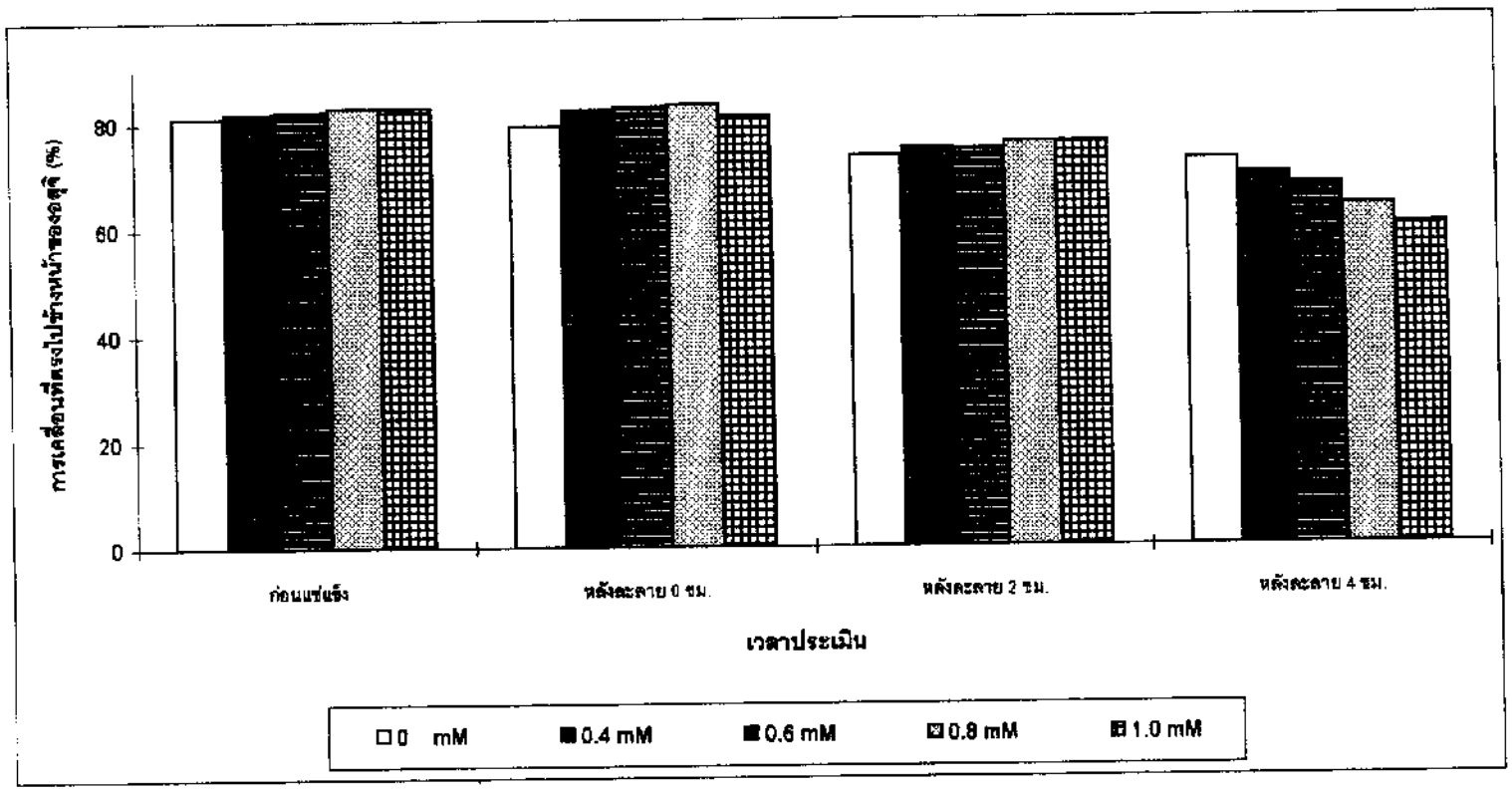
อิทธิพลของออกซิโตซิน: ก่อนการแช่แข็งพบว่าออกซิโตซินระดับความเข้มข้น 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล ให้ผลการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิดังนี้คือ 80.94, 84.46, 83.50, 84.66, 83.92 และ 84.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของออกซิโตซินที่ 10^{-12}-10^{-4} โมล มีการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของเซลล์อสุจิสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เติมอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงในภาพที่ 10 และกลุ่มที่เติมออกซิโตซินมีการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าโดยเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีออกซิโตซิน 3.22 หน่วยเปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิก่อนการแช่แข็งพบว่า การเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของกลุ่มที่เติมคาเฟอีนโดยเฉลี่ย (82.41 เปอร์เซ็นต์) ต่ำกว่ากลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (84.16 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

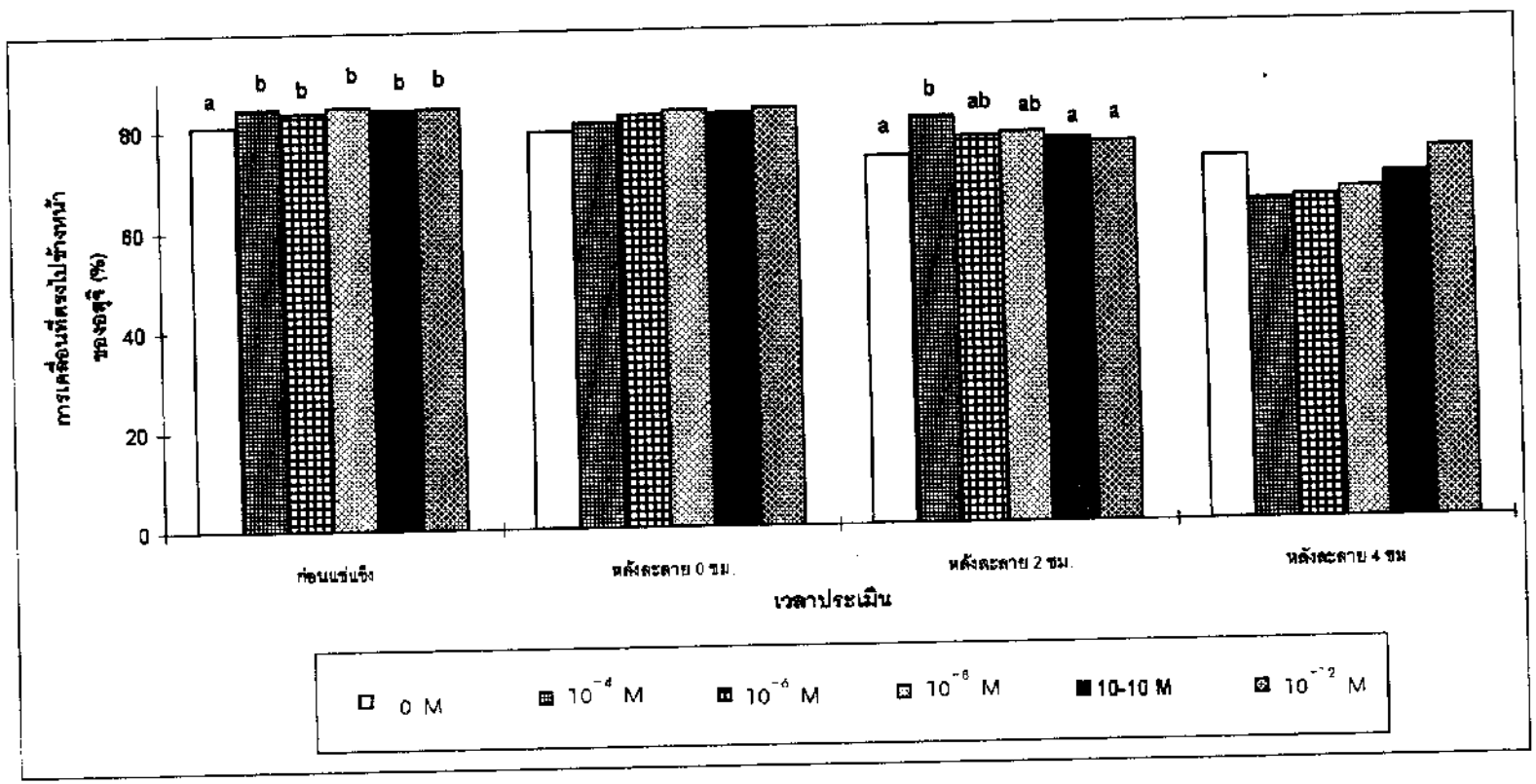
4.1.1.2 หลังการละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง

อิทธิพลของคาเฟอีน: หลังการละลายที่ 0 ชั่วโมง พบว่าคาเฟอีนที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิดังนี้คือ 79.29, 82.29, 82.90, 83.20 และ 81.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 9

คิทธิพลของออกซิโตซิน: หลังการละลายที่ 0 ชั่วโมง พบว่าออกซิโตซินที่ระดับความเข้มข้น 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของ



ภาพที่ 9 ผลของคาเฟอีนต่อการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิ



ภาพที่ 10 ผลของออกซิโตซินต่อการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิ

อสุจิดังนี้คือ 79.29, 80.96, 82.23, 83.24, 82.53 และ 83.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของออกซิโตซินไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 10

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิหลังการละลายที่ 0 ชั่วโมง พบว่าการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของกลุ่มที่เติมคาเฟอีนโดยเฉลี่ย (82.37 เปอร์เซนต์) ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับกลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (82.45 เปอร์เซ็นต์) (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

อิทธิพลของคาเฟอีน: ที่ 2 ชั่วโมงหลังการละลาย คาเฟอีนที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.4,0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิดังนี้คือ 73.43, 74.88, 74.51,75.71 และ 75.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 9

อิทธิพลของออกซิโตซิน: ที่ 2 ชั่วโมงหลังการละลาย พบว่ากลุ่มที่เติมออกซิโตซินระดับความเข้มข้น 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้าของอสุจิดังนี้คือ 73.43, 81.01, 77.09, 77.73, 76.45 และ 75.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ออกซิโตซินระดับความเข้มข้น 10^{-4} โมล มีผลต่อการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้าของอสุจิมากกว่าระดับอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ (P<0.05) แต่ระดับความเข้มข้นของออกซิโตซิน 10^{-6}-10^{-12} โมล ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 10

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิหลังการละลายที่ 2 ชั่วโมง พบว่าการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้าของอสุจิในกลุ่มที่เติมคาเฟอีนโดยเฉลี่ย (75.26 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (77.59 เปอร์เซ็นต์) (P>0.05)

อิทธิพลของคาเฟอีน: ที่ 4 ชั่วโมงหลังการละลาย พบว่าคาเฟอีนที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิดังนี้คือ 72.41, 69.70, 67.58, 63.60 และ 60.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 9 และทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05)

อิทธิพลของคอกซิโตซิน: ที่ 4 ชั่วโมงหลังการละลาย พบว่าออกซิโตซินระดับ 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิดังนี้คือ 72.41, 63.58, 64.29, 65.66, 68.69 และ 73.57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของออกซิโตซินไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 10

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิหลังการละลายที่ 4 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิในกลุ่มที่เติมคาเฟอีน (65.22 เปอร์เซนต์) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (67.16 เปอร์เซ็นต์) (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

4.1.3 เซลล์อสุจิที่มีชีวิต

4.1.3.1 ก่อนการแช่แข็ง

อิทธิพลของคาเฟอีน: พบว่าคาเฟอีนระดับความเข้มข้น 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีเซลล์อสุจิที่มีชีวิตดังนี้คือ 64.57, 64.88, 64.97, 64.94 และ 65.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 11

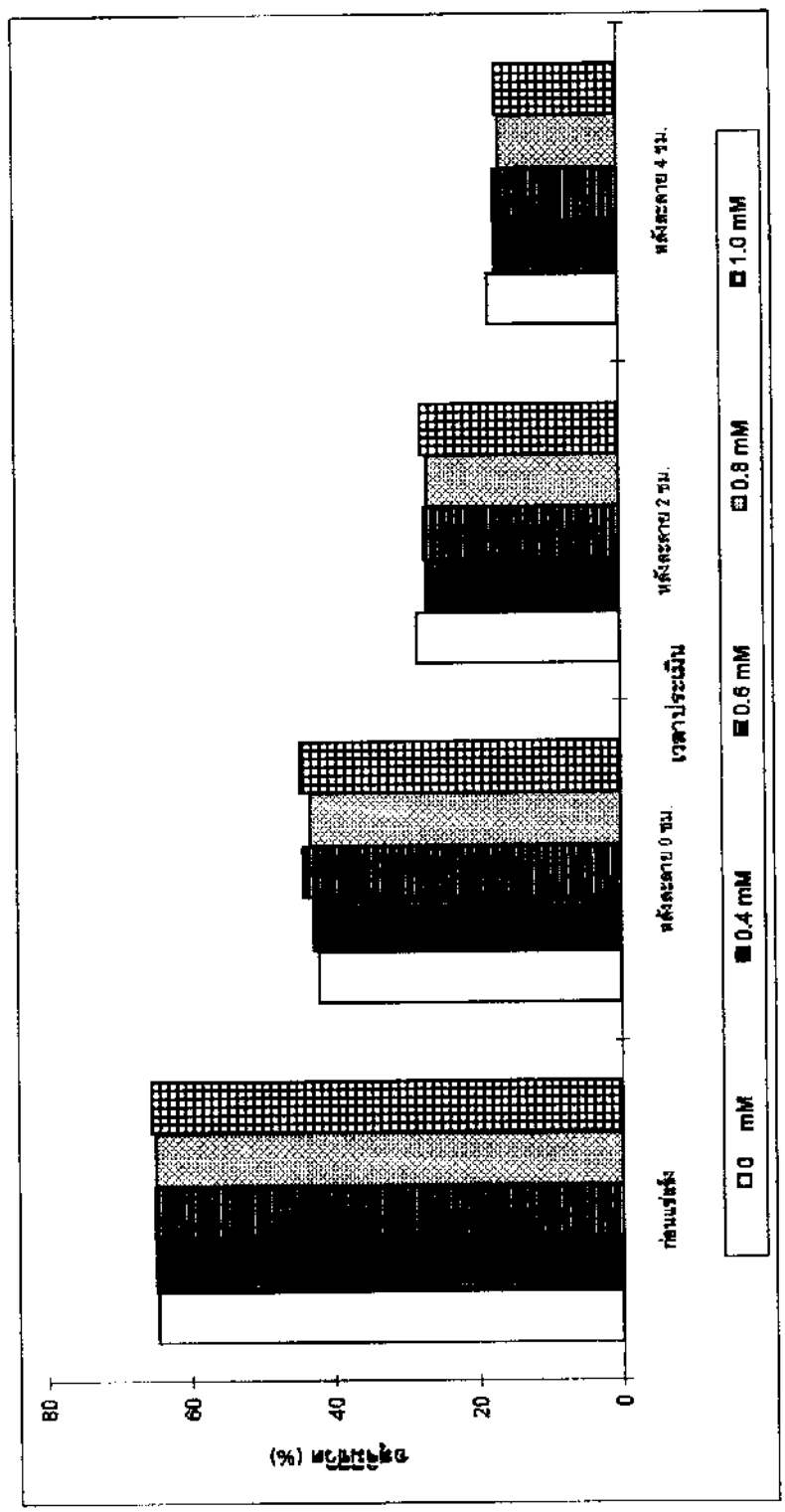
อิทธิพลของออกซิโตซิน: พบว่าออกซิโตซินระดับ 0, 10^{-4}, 10^{-6},10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีเซลล์อสุจิที่มีชีวิตดังนี้คือ 64.57, 66.17, 66.63, 67.38, 66.82 และ 66.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของออกซิโตซินไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 12

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการมีชีวิตของอสุจิก่อนการแช่แข็งพบว่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของอสุจิโดยเฉลี่ยของกลุ่มที่เติมคาเฟอีน (65.05 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (66.74 เปอร์เซ็นต์) (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

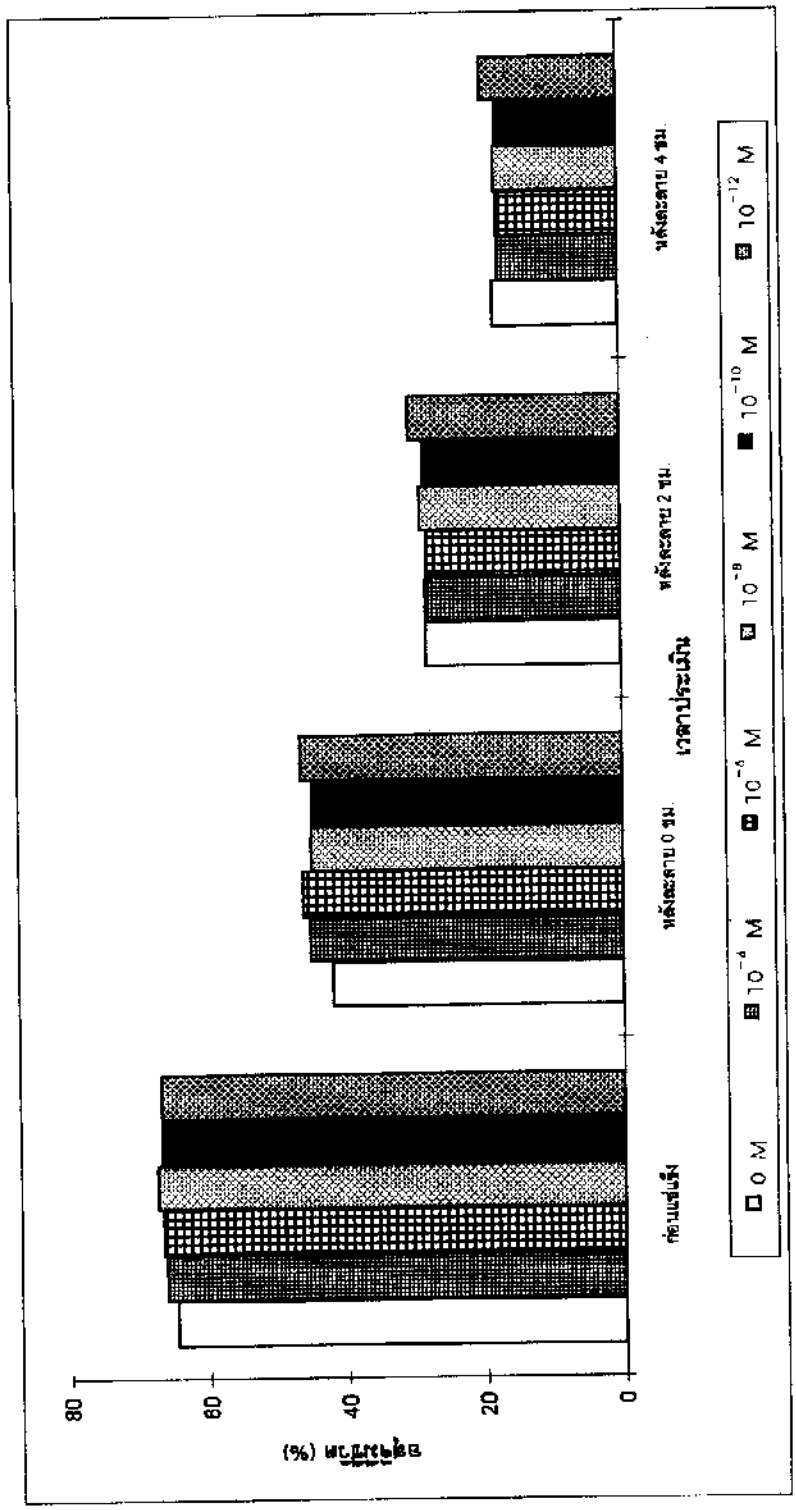
4.1.3.2 หลังการละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง

อิทธิพลของคาเฟอีน: หลังการละลาย 0 ชั่วโมง พบว่าคาเฟอีนระดับความเข้มข้น 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีเซลล์อสุจิที่มีชีวิตดังนี้คือ 41.59, 42.49, 43.60, 42.83 และ 43.94 เปคร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 11

อิทธิพลของออกซิโตซิน: หลังการละลาย 0 ชั่วโมง พบว่าออกซิโตซินระดับความเข้มข้น 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีเซลล์อสุจิที่มีชีวิตดังนี้คือ



ภาพที่ 11 ผลของความเข้มข้นต่อการมีชีวิตของตุ่ม



ภาพที่ 12 ผลของยาชาเฉพาะที่ต่อการมีชีวิตของอสุจิ

41.59, 44.57, 45.65, 44.49, 44.13 และ 45.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของออกซิโตซินไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 12

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการมีชีวิตของอสุจิหลังละลายที่ 0 ชั่วโมง พบว่าการมีชีวิตอสุจิโดยเฉลี่ยของกลุ่มที่เติมคาเฟอีน (43.22 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (44.94 เปอร์เซ็นต์) (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

อิทธิพลของคาเฟอีน: ที่ 2 ชั่วโมงหลังการละลาย พบว่าคาเฟอีนระดับความเข้มข้น 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีเซลล์อสุจิมีชีวิตดังนี้คือ 28.12, 26.80, 27.13, 26.66 และ 27.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 11

อิทธิพลของออกซิโตซิน: ที่ 2 ชั่วโมงหลังการละลายพบว่าออกซิโตซินที่ระดับความเข้มข้น 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีเซลล์อสุจิมีชีวิตดังนี้คือ 28.12, 28.03, 27.93, 28.81, 28.33 และ 30.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของออกซิโตซินไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 12

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการมีชีวิตของอสุจิหลังละลายที่ 2 ชั่วโมง พบว่าการมีชีวิตโดยเฉลี่ยของกลุ่มที่เติมคาเฟอีน (27.04 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับกลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (28.68 เปอร์เซ็นต์) (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

อิทธิพลของคาเฟอีน: ที่ 4 ชั่วโมง หลังการละลายพบว่าคาเฟอีนระดับความเข้มข้น 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีเซลล์อสุจิที่มีชีวิตดังนี้คือ 18.01, 17.01, 17.17, 16.44 และ 16.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 11

อิทธิพลของออกซิโตซิน: ที่ 4 ชั่วโมง หลังการละลาย พบว่าออกซิโตซินระดับ 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีเซลล์อสุจิที่มีชีวิตดังนี้คือ 18.10, 17.33, 17.43, 17.65, 17.44 และ 19.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของออกซิโตซินไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 12

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการมีชีวิตของอสุจิหลังละลายที่ 4 ชั่วโมง พบว่าการมีชีวิตโดยเฉลี่ยของกลุ่มที่เติมคาเฟอีน (16.87 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (17.89 เปอร์เซ็นต์) (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

4.1.4 เซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติ (normal apical ridge)

4.1.4.1 ก่อนการแช่แข็ง

อิทธิพลของคาเฟอีน: พบว่ากลุ่มที่เติมคาเฟอีนระดับความเข้มข้น 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีอสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติดังนี้คือ 80.38, 79.26, 79.32, 79.65 และ 79.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 13

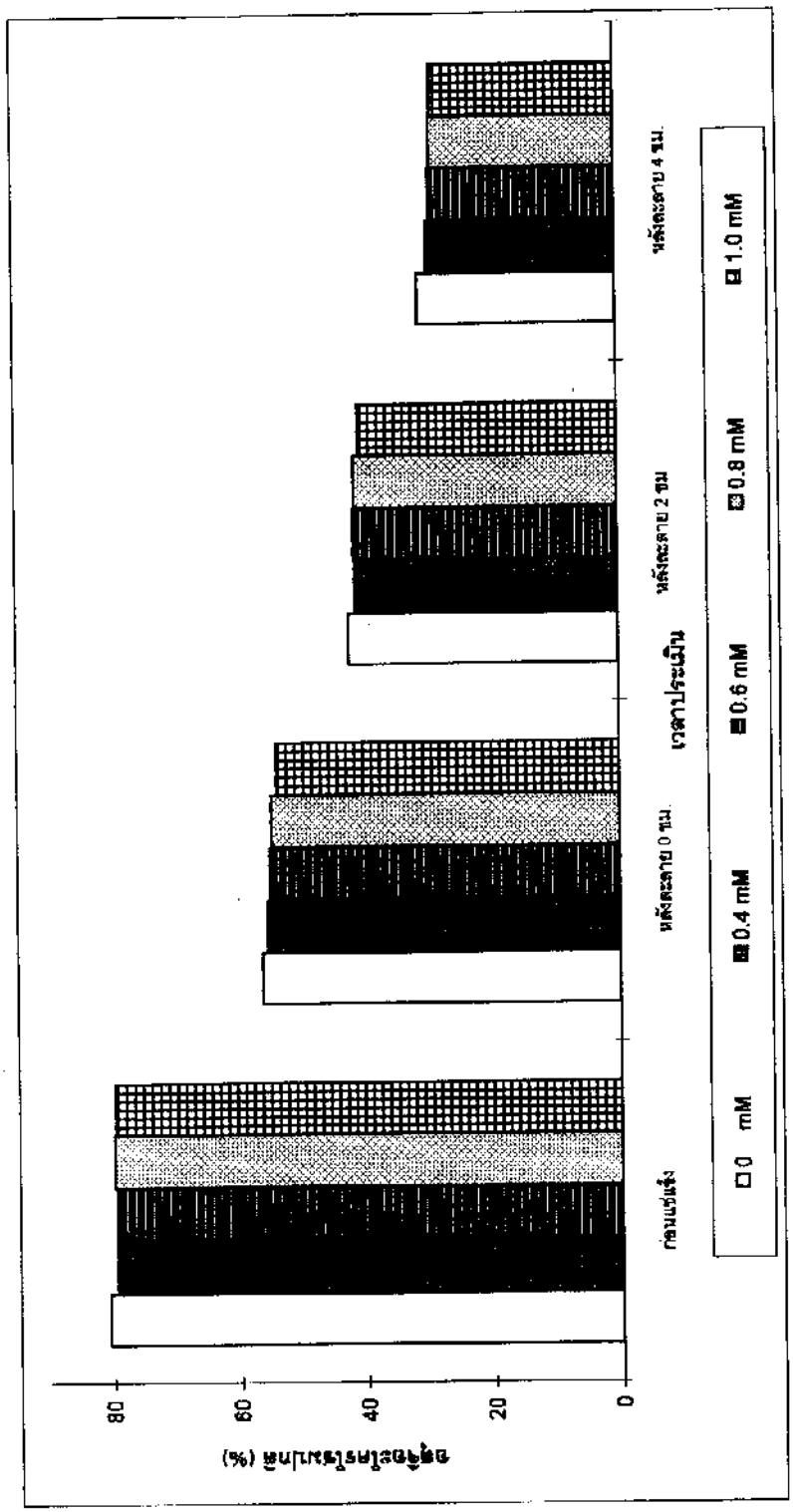
อิทธิพลของออกซิโตซิน: พบว่ากลุ่มทดลองที่เติมออกซิโตซินระดับความเข้มข้น 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติดังนี้คือ 80.38, 79.61, 79.75, 79.61, 80.10 และ 80.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของออกซิโตซินไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 14

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติก่อนการแช่แข็ง พบว่าค่าเฉลี่ยเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติของคาเฟอีน (79.41 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับออกซิโตซิน (79.90 เปอร์เซ็นต์) (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

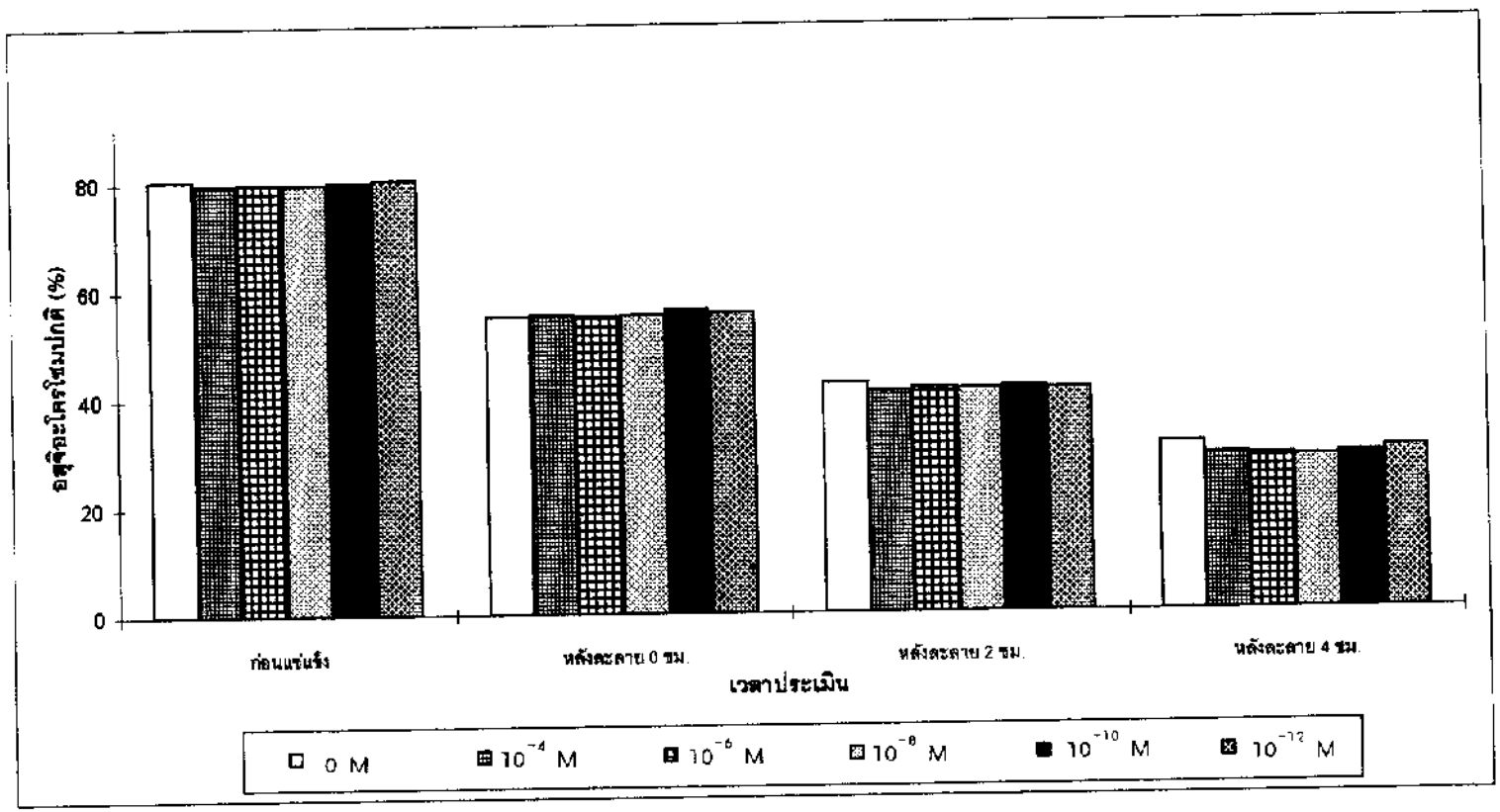
4.1.4.2 หลังการละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง

อิทธิพลของคาเฟอีน: ที่ 0 ชั่วโมง หลังการละลาย พบว่ากลุ่มที่เติมคาเฟอีนระดับความเข้มข้น 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีเซลล์อสุจิที่มีอะโครโซมปกติดังนี้คือ 56.07, 55.28, 54.93, 54.50 และ 53.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 13

อิทธิพลของออกซิโตซิน: ที่ 0 ชั่วโมง หลังการละลาย พบว่ากลุ่มที่เติมออกซิโตซินระดับ 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติดังนี้คือ 56.07, 55.33, 55.04, 55.10, 56.18 และ 55.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของออกซิโตซินไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 14



ภาพที่ 13 ผลของความเข้มข้นต่างๆของสารไดเมทธิลซัลฟอกไซด์ต่อการเคลื่อนไหวปกติ



ภาพที่ 14 ผลของออกซิโตซินต่อจำนวนอสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติ

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติหลังการละลายที่ 0 ชั่วโมง พบว่าเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติโดยเฉลี่ยของกลุ่มที่เติมคาเฟอีน (54.61 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (55.43 เปอร์เซ็นต์) (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

อิทธิพลของคาเฟอีน: ที่ 2 ชั่วโมง หลังการละลาย พบว่ากลุ่มที่เติมคาเฟอีนระดับ 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมสภาพปกติดังนี้คือ 42.18, 41.18, 41.29, 41.14 และ 40.39 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 13

อิทธิพลของออกซิโตซิน: ที่ 2 ชั่วโมง หลังการละลาย พบว่ากลุ่มที่เติมออกซิโตซินระดับความเข้มข้น 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติดังนี้คือ 42.18, 4.78, 41.24, 41.00, 41.84 และ 41.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของออกซิโตซินไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 14

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติหลังการละลายที่ 2 ชั่วโมง พบว่าเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติโดยเฉลี่ยของกลุ่มที่เติมคาเฟอีน (41.00 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (41.12 เปอร์เซ็นต์) (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

อิทธิพลของคาเฟอีน: ที่ 4 ชั่วโมง หลังการละลาย พบว่ากลุ่มที่เติมคาเฟอีนระดับ 0, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมล มีเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมสภาพปกติดังนี้คือ 30.88, 29.36, 29.01, 28.93 และ 28.72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 13

อิทธิพลของออกซิโตซิน: ที่ 4 ชั่วโมง หลังการละลาย พบว่ากลุ่มที่เติมออกซิโตซินระดับ 0, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10} และ 10^{-12} โมล มีเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติดังนี้คือ 30.88, 28.85, 28.51, 28.14, 28.74 และ 29.72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกระดับความเข้มข้นของออกซิโตซินไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในภาพที่ 14

เมื่อเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติหลังการละลายที่ 4 ชั่วโมง พบว่าเซลล์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติโดยเฉลี่ยของกลุ่มที่เติมคาเฟอีน (29.01 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่เติมออกซิโตซิน (28.79 เปอร์เซ็นต์) (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของกลุ่มที่เติมคาเฟอีนและออกซิโตซินในระดับต่างๆ (Mean±S.E.M)

	กลุ่มควบคุม	เติมคาเฟอีน	เติมออกซิโตซิน
การเคลื่อนไหว(%)			
ก่อนการแช่แข็ง	69.88±0.55^a	77.57±0.59^b	79.03±0.40^c
ที่ 0 ชม. หลังละลาย	36.38±1.23^a	44.00±1.42^b	49.13±1.41^c
ที่ 2 ชม. หลังละลาย	23.75±1.31^a	26.22±1.89^b	28.63±1.49^c
ที่ 4 ชม. หลังละลาย	14.38±1.12	13.00±1.02	12.80±1.11
การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (%)			
ก่อนการแช่แข็ง	80.94±0.77^a	82.41±0.80^b	84.16±0.59^c
ที่ 0 ชม. หลังละลาย	79.29±0.80^a	82.37±1.11^b	82.45±1.13^c
ที่ 2 ชม. หลังละลาย	73.43±1.19	75.26±1.51	77.59±1.44
ที่ 4 ชม. หลังละลาย	72.41±4.46	65.22±5.32	67.16±5.13
เซลล์อสุจิที่มีชีวิต (%)			
ก่อนการแช่แข็ง	64.57±1.00	65.05±0.99	66.74±0.94
ที่ 0 ชม. หลังละลาย	41.59±1.13	43.22±1.34	44.94±1.30
ที่ 2 ชม. หลังละลาย	28.12±1.13	27.04±1.24	28.68±1.22
ที่ 4 ชม. หลังละลาย	18.10±1.04	16.87±1.15	17.89±1.15
เซลล์อสุจิที่อะโครโซมปกติ (%)			
ก่อนการแช่แข็ง	80.38±0.70	79.41±0.60	79.90±0.66
ที่ 0 ชม. หลังละลาย	56.07±0.82	54.61±0.76	55.43±0.78
ที่ 2 ชม. หลังละลาย	42.18±0.56	41.00±0.57	41.12±0.59
ที่ 4 ชม. หลังละลาย	30.88±1.01	29.01±1.12	28.79±1.46

a,b,c ค่าเฉลี่ยบนบรรทัดเดียวกันมีอักษรแตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

4.2 การทดลองที่ 2

4.2.1 อัตราการตั้งท้อง

จากการฉีด $PGF_{2\alpha}$ ตัวละ 15 มิลลิกรัม พบว่ามีโค 10 ตัวจาก 23 ตัว ที่แสดงอาการเป็นสัดภายใน 5 วันหลังการฉีด หรือคิดเป็นร้อยละ 43.48 เท่านั้น และโดยเฉลี่ยจำนวนวันที่ทำการผสมเทียมหลังการฉีด $PGF_{2\alpha}$ เท่ากับ 39.18 $\pm$ 4.77 ดังแสดงในตารางที่ 5

ทำการศึกษาการผสมติดโดยเลือกเอาทรีทย์เมนต์ที่คุณภาพน้ำเชื้อหลังแช่แข็งดีที่สุดทั้งของกลุ่มที่เติมคาเฟอีนและกลุ่มที่เติมออกซิโตซินจากการทดลองที่ 1 และได้ใช้ทรีทย์เมนต์ที่ 5 คือระดับคาเฟอีน 1.0 มิลลิโมล และทรีทย์เมนต์ที่ 8 คือระดับออกซิโตซิน 10^{-8} โมล และใช้ทรีทย์เมนต์ที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ทำการผสมเทียมให้กับโคพื้นเมืองที่เคยผ่านการให้ลูกมาแล้วอย่างน้อยหนึ่งครั้ง และผ่านการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย $PGF_{2\alpha}$ จำนวน 23 ตัว และหลังการผสม 60 วัน ล้วงตรวจการตั้งท้องทางทวารหนักและตรวจอีกครั้งที่ 90 วัน และจากการทดลองที่ 2 พบว่าโคตัวเมียที่ได้รับการผสมจากน้ำเชื้อที่ไม่มีทั้งคาเฟอีนและออกซิโตซิน (กลุ่มควบคุม) ตั้งท้อง 2 ตัว จากการผสมทั้งหมด 7 ตัว คิดเป็นร้อยละ 25 ส่วนโคที่ได้รับการผสมจากน้ำเชื้อที่มีคาเฟอีนระดับ 1.0 มิลลิโมล และออกซิโตซินระดับ 10^{-8} โมล ตั้งท้องจำนวน 3 ตัว จากทั้งหมด 8 ตัว คิดเป็นร้อยละ 37.5 ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 5 จำนวนวันที่ทำการผสมเทียมหลังการฉีด $PGF_{2\alpha}$ (Mean±S.D)

กลุ่มทดลอง	วันที่ฉีด $PGF_{2\alpha}$	จำนวนโคที่เป็นสัดภายใน 5 วันหลังฉีด $PGF_{2\alpha}$	จำนวนวันที่ผสมหลังฉีด $PGF_{2\alpha}$
กลุ่มควบคุม	28 ส.ค	3 (7)	33.86±5.27
1.0 mM คาเฟอีน	28 ส.ค	4 (8)	44.75±4.40
10^{-8} M ออกซิโตซิน	28 ส.ค	3 (8)	39.13±4.64

ตารางที่ 6 อัตราการผสมติดจากการผสมเทียมครั้งแรก (Means ± S.E.M)

กลุ่มที่ศึกษา	จำนวนโค (ตัว)	จำนวนโคที่ผสมติด (ตัว)	อัตราการตั้งท้องจากการผสมครั้งแรก (%)
กลุ่มควบคุม	7	2	25.0^{ns}
คาเฟอีน 1.0 mM	8	3	37.5^{ns}
ออกซิโตซิน 10^{-8} M	8	3	37.5^{ns}

^{ns} ค่าเฉลี่ยบนคอลัมท์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)