

อิทธิพลความเข้มข้นของ Transforming Growth Factor-beta (TGF-β) ในน้ำกามสุกรต่อคุณลักษณะของคุณภาพน้ำเชื้อ

Influence of concentration transforming growth factor-beta (TGF-β) in porcine
seminal plasma on semen quality characteristic

สุรพงษ์ ทองเรือง^{1*}, ยุพิน ผาสุก¹, เทวินทร์ วงษ์พระลับ¹, วัชรภรณ์ สีมูลโท¹,
วัชรพงษ์ สิงห์โสภ¹, ศุกรี อยู่สุข², วรศิลป์ มาลัยทอง² และ พิชิตร์ วรรณคำ²

Surapong Tongrueng^{1*}, Yupin Phasuk¹, Thevin Vongphalub¹, Watcharaporn Srimoolcho¹,
Watcharapong singsopa¹, Sukree Yoosuk², Worasin Malaithong² and Pichit wonnakom²

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของ Transforming growth factor-beta (TGF-β) ใน
น้ำกามของพ่อสุกรต่อคุณลักษณะคุณภาพน้ำเชื้อ โดยระดับความเข้มข้นของ TGF-β อยู่ระหว่าง 8.94-588.24
pg/mL. จากพ่อพันธุ์จำนวน 12 ตัว การศึกษาในครั้งนี้ใช้การวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ ผลการศึกษาพบว่า ค่าความ
เข้มข้นของ TGF-β พบค่าสหสัมพันธ์ในเชิงบวกต่อ ปริมาตรน้ำเชื้อที่รีด (0.070), ความเข้มข้น (0.626), อสุจิที่
เคลื่อนที่ (0.068), อสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า (0.074), และอสุจิที่มีชีวิต (0.054).

คำสำคัญ: คุณภาพน้ำเชื้อสุกร, transforming growth factor-beta (TGF-β)

ABSTRACT: : The objective of this study was to correlation of concentration transforming growth
factor-beta (TGF-β) in semen boar on semen quality characteristic. The concentration of TGF-β a
wide variation (range 8.94-588.24 pg/mL.). Using retrospective breeding data for 12 boars (Duroc
breed), were correlation concentration of TGF-β to semen volume (0.070), concentration (0.626),
sperm motility (0.068), progressive (0.074), and viability (0.054).

Keyword: semen quality, sperm motility, transforming growth factor-beta (TGF-β)

¹ สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

Division of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon kaen University, Khon kaen 40002, Thailand

² สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ จ.แพร่ 54140

Division Animal Production Technology Maejo University-Phrae campus, Phrae 54140, Thailand

* Corresponding author: tongrueng_s@hotmail.com

บทนำ

Transforming growth factor-beta (TGF- β) จัดเป็นสารในกลุ่ม cytokine ที่ผลิตจากต่อมร่วมในระบบสืบพันธุ์ของพ่อสุกร และหลั่งออกมาพร้อมกับน้ำเชื้อ รายงานของ Jiwakanon and Dalin (2012) พบว่า TGF- β ใน seminal plasma (SP) ของสุกรมีความเข้มข้นประมาณ 20.4-766.5 pg./mL. สอดคล้องกับ O'Leary et al. (2011) พบว่าในสุกรมีความเข้มข้นของ TGF- β ประมาณ 150 ng./mL. จากการศึกษาถึงความสำคัญของสาร TGF- β ที่ส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์เพศเมียพบว่า TGF- β จะทำหน้าที่กระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในระบบสืบพันธุ์ และเข้าไปมีผลต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการสังเคราะห์สารที่ก่อให้เกิดการอักเสบ ได้แก่ GM-CSF, IL-6, และสาร chemokines การสังเคราะห์สาร chemokines กระตุ้นเซลล์อักเสบใน endometrium มดลูก ได้แก่ macrophages, dendritic, granulocytes macrophages, dendritic cells ซึ่งทำให้เกิดการปรับเปลี่ยนเยื่อโพรงมดลูก และกระตุ้นภูมิคุ้มกันของแม่เพื่อการยอมรับการฝังตัว (preimplantation) ที่มากยิ่งขึ้น (Robertson, 2007) นอกจากนี้ยังจัดเป็น growth factor ที่มีความสำคัญต่อกระบวนการ angiogenesis โดย macrophage/monocyte ส่งผลต่อการโยกย้าย tumor necrosis factor alpha และเกิดการสร้าง vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF) เพื่อควบคุมกลไกการสร้างเส้นเลือดใหม่อีกด้วย (Yoshida et al., 1997) นอกจากนี้ O'Leary et al. (2011) ได้ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของ TGF- β ต่อเพศเมีย พบว่าไม่พบสหสัมพันธ์ต่ออัตราการผสมติด อัตราการเข้าคลอด ลูกแรกคลอดมีชีวิต ลูกสุกรตายแรกคลอด แต่พบสหสัมพันธ์ในเชิงบวกปานกลางต่อปริมาณที่หลั่งน้ำเชื้อ และความเข้มข้นของน้ำเชื้อที่วัดได้ แต่ทั้งนี้พบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าจะไม่พบรายงานว่า TGF- β มีสหสัมพันธ์กับคุณภาพน้ำเชื้ออย่างชัดเจน แต่ก็ยังมีรายงานหลายฉบับที่ยืนยันถึงการทำงาน และ

หน้าที่ของ TGF- β ที่มีผลต่อระบบสืบพันธุ์ในเพศเมียอย่างชัดเจน การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสหสัมพันธ์ของ TGF- β ที่อยู่ในน้ำกามของพ่อสุกรสายพันธุ์ดуроคต่อคุณลักษณะคุณภาพน้ำเชื้อ ว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างไร เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาพัฒนาไปสู่การเสริม TGF- β น้ำเชื้อ ejaculate ของพ่อสุกร และนำไปสู่การเพิ่มประสิทธิภาพการผสมเทียมในสุกรต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการศึกษานี้ใช้พ่อสุกรสายพันธุ์ดуроค (Duroc) จำนวน 12 ตัว มีอายุระหว่าง 1.5-2 ปี โดยศึกษาระดับความเข้มข้นของ TGF- β ในน้ำเชื้อพ่อสุกรด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) เพื่อทำการหาความเข้มข้นของ TGF- β โดยพบว่า ค่าความเข้มข้นของ TGF- β มีค่าระหว่าง 8.94-588.24 pg/mL.

การรีดน้ำเชื้อสุกรและตรวจคุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้น ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป computer analyser iSperm® และตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ ได้แก่ ปริมาตร (volume) ความเข้มข้น (concentration) อสุจิที่เคลื่อนที่ได้ (motility) อสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า (progressive) อสุจิที่มีชีวิต (viability) อสุจิที่เคลื่อนที่ทั้งหมด (total sperm motility) ประเมินอสุจิที่มีชีวิต โดยการย้อมสีอีโอซิน (eosin) และ สีนีโกรซิน (nigrosin) และตรวจการเคลื่อนที่ของอสุจิ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป computer analyser iSperm® ขั้นตอนการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อสุกรปฏิบัติตามคู่มือปฏิบัติการผสมเทียมในสุกร (ศรีสุวรรณ, 2542) การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ค่าสหสัมพันธ์ (Correlation) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS Software (SAS Inst. Inc., Cary, NC,) สถานที่ทำการทดลอง สถานที่ทำการทดลอง ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อสุกรขอนแก่น บริษัทเบทาโกร อ.กระนวน จ.ขอนแก่น และ ห้องปฏิบัติการกายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยาสัตว์เลี้ยง สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผลการศึกษา

สหสัมพันธ์ของ transforming growth factor-beta (TGF- β) ในน้ำกามสุกรต่อคุณลักษณะคุณภาพน้ำเชื้อ พบว่า ค่าการกระจายตัวของความเข้มข้น TGF- β พบค่าระหว่าง 8.94-588.24 pg/mL. ปริมาณน้ำเชื้อที่รีดได้มีค่าระหว่าง 210-450 มิลลิลิตร, ความเข้มข้น 254-473 ล้านตัว/มิลลิลิตร,

ร้อยละอสุจิที่เคลื่อนไหวที่ 93-97, ร้อยละอสุจิที่เคลื่อนไหวที่ไปข้างหน้า 45-56 และร้อยละอสุจิที่มีชีวิต 85-93 เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ของความเข้มข้นของ TGF- β ต่อคุณภาพน้ำเชื้อพบว่า ค่าความเข้มข้นของ TGF- β พบค่าสหสัมพันธ์ในเชิงบวกต่อปริมาณน้ำเชื้อที่รีด (0.070), ความเข้มข้น (0.626), อสุจิที่เคลื่อนไหวที่ (0.068), อสุจิที่เคลื่อนไหวที่ไปข้างหน้า (0.074), และอสุจิที่มีชีวิต (0.054) Table 1

Table 1 Correlation of TGF- β on semen quality

Parameter	Concentration of TGF- β		
	Range	Correlation (r)	P value
Volume (ml.)	210-450	0.070	0.827
Concentration (10^6 /ml.)	254-473	0.626	0.290
Sperm motility (%)	93-97	0.068	0.833
Sperm progressive (%)	45-56	0.074	0.817
Viability (%)	85-93	0.054	0.066

วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้พบว่า พอสสุกรมีค่าความเข้มข้นของ TGF- β ที่แตกต่างกันโดยมีค่าตั้งแต่ 8.94-588.24 pg/mL. ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ระดับความเข้มข้นของพอสแต่ละตัวมีความแปรปรวนสูงเมื่อนำมาวิเคราะห์หาสหสัมพันธ์ (correlation) พบว่า ค่าความเข้มข้นของ TGF- β มีค่าสหสัมพันธ์ในเชิงบวกในระดับกลางต่อคุณลักษณะของคุณภาพจากการศึกษาของ Jiwakanon and Dalin (2012) พบว่า ระดับความเข้มข้น TGF- β จะมีความผันแปรตามพอสพันธุ์แต่ต้องประกอบแต่ละส่วนของน้ำเชื้อรวมทั้งรูปแบบในการเก็บรักษาซึ่งส่งผลต่อการคงอยู่ของความเข้มข้นของ TGF- β สอดคล้องกับการศึกษาของ O' Leary et al. (2011) รายงานว่า ระดับความเข้มข้นของ TGF- β ขึ้นอยู่กับพอสพันธุ์แต่ละตัวจำนวนครั้งในการรีด รวมทั้งส่วนของน้ำเชื้อที่รีดได้ โดยพบว่า การรีดครั้งที่ 1 มีความเข้มข้นของ TGF- β สูงที่สุด และจะลดลงเมื่อทำการรีดในครั้งถัดไปตามลำดับ นอกจากนี้ ความเข้มข้นของ TGF- β ยังมีค่าความสัมพันธ์ต่อ ความเข้มข้น และปริมาณน้ำเชื้อของพอสสุกร แต่ไม่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนลูกสุกรแรกคลอด จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต

อย่างไรก็ตามยังมีการรายงานถึงบทบาท และกลไกการทำงานที่ชัดเจนของ TGF- β มีผลโดยตรงต่อการทำงานของระบบสืบพันธุ์เพศเมีย และเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในระบบสืบพันธุ์ ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายกระตุ้นการปรับสภาพภายในระบบสืบพันธุ์เพศเมียให้มีความเหมาะสมต่อการฝังตัวของตัวอ่อนที่สูงขึ้น (Bromfield, 2016) ถึงแม้ว่าจะไม่มีการรายงานถึงสหสัมพันธ์ของ TGF- β ต่อคุณภาพน้ำเชื้อในสุกรอย่างกว้างขวาง แต่การศึกษาครั้งนี้ให้ผลการทดลองที่สามารถนำไปสู่การศึกษาในอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถศึกษาต่อไปในระดับที่มีความละเอียดมากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งต่อการพัฒนาการวิจัยองค์ความรู้ด้านโปรตีนในกลุ่ม cytokine นี้มาประยุกต์ใช้ร่วมกับเทคนิคด้านการผสมเทียมเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรต่อไป

สรุปผลการทดลอง

ความเข้มข้นของ Transforming Growth Factor-beta (TGF- β) ในน้ำกามของพอสสุกร มีความแปรปรวนค่อนข้างน้อยพอสสุกรแต่ละตัว เมื่อนำค่าความเข้มข้นนี้มาทำการวิเคราะห์หาค่าสห

สัมพันธ์ พบว่า มีผลในเชิงบวกต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่รีดได้ ปริมาณน้ำเชื้อที่รีด ความเข้มข้น อสุจิที่เคลื่อนที่ อสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอสุจิที่มีชีวิต ดังนั้น จึงแสดงให้เห็นว่า ค่าความเข้มข้นของ TGF- β จึงเป็นดัชนีตัวชี้วัดหนึ่งที่สามารถนำไปสู่การประเมินความสัมพันธ์ต่อคุณลักษณะคุณภาพน้ำเชื้อได้

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยภายใต้แผนงานเสริมสร้างศักยภาพและพัฒนา นักวิจัยรุ่นใหม่ ตามทิศทางการยุทธศาสตร์การวิจัยและนวัตกรรมประเภททุนบัณฑิตศึกษา จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2562 สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี โครงการพัฒนาศักยภาพบุคคลากร STEM (Science, Technology Engineering, and Mathematics) เพื่อการวิจัยและพัฒนาสำหรับภาคอุตสาหกรรม ประจำปี 2561, ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อสุกรขอนแก่น สำนักงานภาควิชาออกเฉียงเหนือตอนบน บริษัทเบทาโกรเกษตรอุตสาหกรรม จำกัด , ตลอดจนบริษัท โปรเกรสซีฟ จำกัด, ห้องปฏิบัติการกายวิภาคศาสตร์ และสัตววิทยาสัตว์เลี้ยง ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น และสาขาวิชา กัญชาวิทยาและโรคพืชวิทยา

เอกสารอ้างอิง

ศรีสุวรรณ ชมชัย. 2542. คู่มือปฏิบัติการผสมเทียมในสุกร. พิมพ์ครั้งที่ 1. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 285 น.

- Bromfield, J. J. 2016. A role for seminal plasma in modulating pregnancy outcomes in domestic species. *Reproduction*. 152:223-232.
- Jiwakanon, J. and A. M. Dalin. 2012. Short communication: Concentration of TGF- β 1, IL-10 and IL-6 in boar seminal plasma and TGF- β 1 level in different fractions of ejaculates. *Anim. Reprod. Sci.* 131:194-198.
- O'Leary, S., D. T. Armstrong and S. A. Robertson. 2011. Transforming growth factor-beta (TGF-beta) in porcine seminal plasma. *Reprod. Fertil. Develop.* 23:748-758.
- Robertson, S. A. 2007. Seminal fluid signaling in the female reproductive tract: lessons from rodents and pigs. *J. Anim. Sci.* 85:33-44.
- Yoshida, S., M. Ono, T. Shono, H. Izumi, T. Ishibashi, H. Suzuki and M. Kuwano. 1997. Involvement of interleukin-8, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblast growth factor in tumor necrosis factor α -dependent angiogenesis. *Mol. Cell. Biol.* 17: 4015-4023.