การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ และระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ภายหลังการคลอด ในแม่ม้าลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองของไทย

น.ส. ศศิธร พนโสภณกุล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2547
ISBN 974-17-6225-9
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A STUDY OF POSTPARTUM OVARIAN ACTIVITY AND SERUM ESTRADIOL-17 BETA LEVEL IN THAI CROSSBRED NATIVE MARE

Miss Sasithorn Panasophonkul

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Theriogenology
Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction
Faculty of Veterinary Science
Chulalongkorn University

Academic Year 2004

ISBN 974-17-6225-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ และระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ภายหลังการคลอดในแม่ม้าลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองของไทย
โดย	นางสาว ศศิธร พนโสภณกุล
สาขาวิชา	วิทยาการสืบพันธุ์สัตว์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. สุดสรร ศิริไวทยพงศ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ชัยณรงค์ โลหชิต

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. อรรณพ คุณาวงษ์กฤต)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. สุดสรร ศิริไวทยพงศ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. ชัยณรงค์ โลหชิต)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ. ชนินทร์ กัลล์ประวิทธ์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. กัมปนาท สุนทรวิภาต)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศศิธร พนโสภณกุล : การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ และ ระดับฮอร์โมนเอสตร้า-ไดอัล-17เบต้า ภายหลังการคลอด ในแม่ม้าลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองของไทย (A STUDY OF POSTPARTUM OVARIAN ACTIVITY AND SERUM ESTRADIOL-17 BETA LEVEL IN THAI CROSSBRED NATIVE MARE) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.น.สพ.ดร. สุดสรร ศิริไวทย-พงศ์ , อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ.น.สพ.ดร. ชัยณรงค์ โลหชิต, 60 หน้า.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อตรวจหาการแสดงลักษณะของการเป็นสัดแรกหลังคลอด รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของลักษณะรังไข่ และระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในแม่ม้าหลังคลอด โดยศึกษาในแม่ม้าลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองของไทย จำนวน 30 ตัว แม่ม้าทุกตัวจะได้รับการตรวจการเป็นสัดทุกวัน และตรวจหาการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิลบนรังไข่โดยการล้วงตรวจร่วมกับการใช้เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงผ่านทางทวารหนัก วันเว้นวัน ตั้งแต่วันที่ 5 หลังคลอดจนกระทั่งแสดงอาการเป็นสัด แล้วจึงเปลี่ยนเป็นทำการตรวจทุกวันจนกระทั่งมีการตกไข่ ยกเว้นแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดจะทำการตรวจวันเว้นวันจนถึงวันที่ 21 หลังคลอด ทั้งนี้ในช่วงเวลาดังกล่าวจะทำการเก็บตัวอย่างเลือด เพื่อตรวจหาระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ผลการศึกษาจาก 25 ตัวพบว่า แม่ม้าจำนวน 23 ตัว (92%) มีการตกไข่ภายใน 20 วันหลังคลอด ซึ่งมีเพียง 10 ตัว (40%) ที่แสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอด โดยมีค่าเฉลี่ยของช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงแสดงการเป็นสัดแรก และ ช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนกระทั่งตกไข่เท่ากับ 10.30±2.95 และ 13.39 ±2.61 วัน ตามลำดับ ในกลุ่มนี้พบว่ามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลก่อนตกไข่มากกว่ากลุ่มของแม่ม้าที่ไม่แสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (43.54±6.67 และ 38.55±2.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ; $P<0.05$) ผลการตรวจวัดระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า พบว่ามีค่าสูงขึ้นอย่างชัดเจน ที่ 5 วันก่อนตกไข่ (7.01±2.96 พิโครกรัม/มิลลิลิตร) และมีค่าสูงสุดที่ 2 วันก่อนตกไข่ (10.79±3.3 พิโครกรัม/มิลลิลิตร) โดยพบว่ากลุ่มของแม่ม้าที่แสดงอาการเป็นสัดมีระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 2 วันก่อนตกไข่สูงกว่าในกลุ่มของแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (11.95±3.72 และ 8.45±2.28 พิโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ; $P<0.05$) และพบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุด กับ ระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 5 วัน และ 2 วันก่อนตกไข่ ในแม่ม้าทั้งสองกลุ่ม ($P<0.05$) จากผลดังกล่าวแสดงว่า การจัดการผสมพันธุ์แม่ม้าที่หลังคลอดโดยการตรวจหาวันตกไข่ด้วยวิธีต่างๆ นั้น สามารถเพิ่มจำนวนครั้งในการผสมพันธุ์ได้ อีกทั้งยังช่วยทำให้โอกาสของการผลิตลูกม้าต่อแม่สูงขึ้นด้วย

ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา วิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา 2547 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4575567531 : MAJOR THERIOGENOLOGY
KEY WORD : OVARIAN ACTIVITY / POSTPARTUM / FOAL HEAT / THAI CROSSBRED NATIVE MARE / ESTRADIOL-17 BETA
SASITHORN PANASOPHONKUL : A STUDY OF POSTPARTUM OVARIAN ACTIVITY AND SERUM ESTRADIOL-17 BETA LEVEL IN THAI CROSSBRED NATIVE MARE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUDSON SIRIVAIDYAPONG, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : ASSOC. PROF. CHAINARONG LOHACHIT, Ph.D. 60 pp.

The objectives of this study were to investigate the ovarian activity and changing of serum estradiol-17beta (E_2) for detection of first postpartum estrus. Thirty Thai crossbred native mares were used in the study. All mares were teased daily and their ovarian follicular changes were monitored using ultrasonography and rectal palpation every other day from day 5^{th} postpartum until the mare showed estrous signs, then, daily examined until the ovulation occurred. Whereas , the mares that failed to show an overt estrus were examined every other day until ovulation or until day 21^{st} postpartum. Blood samples were taken from all mares, at examination time, for radioimmunoassay E_2 analysis. The results of twenty-five mares showed that ovulation occurred within 20 days postpartum in 23 (92%) mares but only 10 (40%) mares showed first postpartum estrus. Interval of foaling to first estrus and to first ovulation from these mares were 10.30$\pm$2.95 and 13.39$\pm$2.61 days, respectively. The mares that showed postpartum estrus had a significant higher in the diameters of preovulatory follicles than those of the mares failed to show the first postpartum estrus (43.54$\pm$6.67 vs 38.55$\pm$2.38 mm., respectively; $P<0.05$). Serum E_2 increased from 7.01$\pm$2.96 pg/ml. to a peak of 10.79$\pm$3.3 pg/ml. 2 days before ovulation. The peak of E_2 in the mares, with postpartum estrus, was significantly higher than that in the mares without estrus signs (11.9$\pm$3.72 vs 8.45$\pm$2.28 pg/ml., respectively; $P< 0.05$) . A significant correlation were found between the size of largest follicle and the maximum concentration of serum E_2 in both groups ($P<0.05$). These results demonstrated that the postpartum breeding management by careful examination of ovarian activity with various method may be able to increase breeding performance and foal production.

Department of Obstetrics Gyneacology and Reproduction Student's signature……..……
Field of study Theriogenology Advisor's signature…….……
Academic year 2004 Co-advisor's signature……..…….

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือ และคำแนะนำเป็นอย่างดีจากรองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. สุดสรร ศิริไวทยพงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ชัยณรงค์ โลหชิต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม จึงขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองท่านไว้ ณ โอกาสนี้

กราบขอบพระคุณ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ที่กรุณาสละเวลาในการให้คำแนะนำต่างๆ ที่มีประโยชน์ ซึ่งช่วยทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีคุณค่าและความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

กราบขอบพระคุณ พันโท นายสัตวแพทย์ ชำนาญ ตรีณรงค์ หัวหน้าสาขาวิชาคลินิกม้า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้โอกาสในการศึกษาต่อ รวมไปถึงคณาจารย์และบุคลากรทุกท่านของคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความช่วยเหลือในทุกด้าน

ขอขอบคุณ กองการสัตว์และเกษตรกรรมที่ 3 ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์แม่ม้าสำหรับใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนนายทหารทุกท่านที่ได้ช่วยเหลือจนทำให้การปฏิบัติงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณจันทร์เพ็ญ สุวิมลธีระบุตร นักวิทยาศาสตร์ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณวรรณวิภา สุทธิไกร และนักวิทยาศาสตร์ประจำศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยช่วยเหลือและให้คำปรึกษาในการตรวจหาระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ครั้งนี้

ท้ายสุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ-คุณแม่ และทุกคนในครอบครัวที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจให้เสมอมา ตลอดระยะเวลาของการศึกษาครั้งนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย……ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ……จ
กิตติกรรมประกาศ……ฉ
สารบัญ……ช
สารบัญตาราง……ฎ
สารบัญรูป……ฎ

บทที่

1. บทนำ……1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา……1
1.2 ความมุ่งหมาย และวัตถุประสงค์ของการศึกษา……3
1.3 คำถามการวิจัย……3
1.4 คำสำคัญ……4
1.5 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย……4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย……4
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง……6
2.1 ระยะหรือวัยเจริญพันธุ์ในม้าเพศเมีย……6
2.2 วงรอบการเป็นสัดในม้าเพศเมีย……7
2.3 สรีรวิทยาทางระบบสืบพันธุ์ของวงรอบการเป็นสัดในม้าเพศเมีย……8
2.4 การเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า
ต่อการเจริญของฟอลลิเคิลบนรังไข่……10
2.5 การแสดงการเป็นสัดแรกภายหลังคลอด……12
2.5.1 การแสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอด……12
2.5.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการแสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอด……13
2.6 เทคนิคที่ใช้ตรวจม้าเพศเมียที่แสดงการเป็นสัดในช่วงฤดูผสมพันธุ์……15
3. ระเบียบวิธีวิจัย……20
3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง……20

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย.....22

3.3 การรวบรวมข้อมูลและประเมินผล.....26

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล.....26

4. ผลการศึกษา.....27

4.1 ผลการตรวจหาการแสดงลักษณะของอาการสัดแรกหลังคลอด และค่าตัวแปรต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง โดยศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมที่แสดง และลักษณะของรังไข่ภายหลังคลอด.....27

4.2 ผลการเปรียบเทียบค่าตัวแปรต่างๆ ที่เกี่ยวข้องต่อการแสดงลักษณะอาการของสัดแรกหลังคลอด ในแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงลักษณะอาการของสัดแรกหลังคลอด.....29

4.3 ผลการตรวจหาการแสดงลักษณะอาการของสัดแรกหลังคลอด และการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ โดยศึกษาจากระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในซีรั่มของแม่ม้าหลังคลอด 31

4.4 ผลความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ กับ ระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ก่อนตกไข่ ในแม่ม้าหลังคลอดที่แสดงและไม่แสดงการเป็นสัด.....35

5 สรุปผลการวิจัย อภิปราย และข้อเสนอแนะ.....37

5.1 การตรวจหาการแสดงลักษณะของอาการสัดแรกหลังคลอด และค่าตัวแปรต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง โดยศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมที่แสดง และลักษณะของรังไข่ภายหลังคลอด.....37

5.2 การเปรียบเทียบค่าตัวแปรต่างๆ ที่เกี่ยวข้องต่อการแสดงลักษณะอาการของสัดแรกหลังคลอด ในแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงอาการเป็นสัด.....39

5.3 การตรวจหาการแสดงลักษณะอาการของสัดแรกหลังคลอด และการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ โดยศึกษาจากระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในซีรั่มของแม่ม้าหลังคลอด.....40

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.4 การหาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิล
ที่ใหญ่ที่สุด และระดับสูงสุดของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า
ก่อนตกไข่ ในแม่ม้าหลังคลอดที่แสดงและไม่แสดงการเป็นสัด……41
สรุป…….....42
ข้อเสนอแนะ……43
รายการอ้างอิง……44
ภาคผนวก……50
ก. เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาระดับฮอร์โมน……51
ข. วิธีการตรวจวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า……54
ค. ค่าความน่าเชื่อถือได้ของการวิเคราะห์ระดับฮอร์โมน
เอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในซีรั่มแม่ม้า……56
ง. การทดสอบความขนานกันระหว่างฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า
ในซีรั่มแม่ม้า และฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้ามาตรฐาน……59
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์……60

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 แสดงระดับและลักษณะความสมบูรณ์ของร่างกายในม้าเพศเมีย.....21

2 จำนวนและร้อยละของแม่ม้าหลังคลอดที่แสดงและไม่แสดงลักษณะอาการของสัดแรกหลังคลอด.....28

3 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าพิสัย ของช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงแสดงอาการของสัดแรก ระยะเวลาที่แสดงอาการเป็นสัด ช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ครั้งแรก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ 5 วัน และ 1 วันก่อนตกไข่ และอัตราการเจริญของฟอลลิเคิลในช่วง 5 วันก่อนตกไข่ ในแม่ม้าหลังคลอดจำนวน 25 ตัว.....29

4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ครั้งแรก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ 5 วัน และ 1 วันก่อนตกไข่ และอัตราการเจริญของฟอลลิเคิลในช่วง 5 วันก่อนตกไข่ ระหว่างแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงอาการของสัดแรกหลังคลอด ในแม่ม้าจำนวน 23 ตัว.....30

5 ระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าที่ 5 วัน และที่ระดับสูงสุดก่อนเกิดการตกไข่ ในแม่ม้าหลังคลอด จำนวน 25 ตัว.....35

6 การเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 5 วัน และ 2 วันก่อนตกไข่ ระหว่างแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงอาการของสัดแรกหลังคลอด.....35

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	แสดงลักษณะรังไข่ของม้าเพศเมียในช่วงวัยเจริญพันธุ์	6
2	แสดงลักษณะวงรอบการเป็นสัดของม้าเพศเมียในระยะเวลา 1 ปี	8
3	กลไกการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเมลาโตนินที่มีผลต่อระบบสืบพันธุ์ของม้าเพศเมีย	9
4	แสดงการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า จากสารตั้งต้นโคเลสเตอรอล	10
5	รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17 เบต้า ในกระแสเลือดของม้าเพศเมียที่เข้าสู่วงรอบการเป็นสัด	12
6	แสดงการหันส่วนท้ายของลำตัวแม่ม้า (ก) และ การเปิดปิดของปากช่องคลอดเผยให้เห็นส่วนของคลิตอริส (ข) ในแม่ม้าที่แสดงการเป็นสัด	16
7	แสดงลักษณะของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ทั้งก่อน และหลังเกิดการตกไข่บนรังไข่ของแม่ม้า; (ก) ฟอลลิเคิลขนาด 40 มิลลิเมตรขึ้นไป ที่ 3 วันก่อนตกไข่; (ข) ที่ 24 ชั่วโมงก่อนตกไข่ และ (ค) ลักษณะของคอร์ปัส ลูเทียม ที่เกิดหลังตกไข่	18
8	แสดงลักษณะความสมบูรณ์ของร่างกายในแม่ม้าหลังคลอด ; ก) และ ข) ที่ระดับคะแนน 5 ขึ้นไป ; ค) และ ง) ที่ระดับคะแนนต่ำกว่า 5	22
9	การสอดหัวตรวจ transducer ขนาดความถี่ 5 เมกะเฮริต์ ผ่านทางทวารหนักเพื่อทำการดูลักษณะการเจริญของรังไข่	24
10	การวัดขนาดของฟอลลิเคลในแต่ละวัน โดยใช้ค่าเฉลี่ยโดยประมาณของการวัดในแนวระนาบและแนวตั้งฉากกับแนวระนาบของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุด	24
11	แสดงค่าเฉลี่ยของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ช่วงก่อนและหลังตกไข่ ในแม่ม้าหลังคลอด จำนวน 25 ตัว	32
12	แสดงค่าเฉลี่ยของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ช่วงก่อนและหลังตกไข่ ระหว่างแม่ม้าที่แสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอด จำนวน 10 ตัว (FH) และแม่ม้าที่ไม่แสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอด จำนวน 13 ตัว (SH)	33

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

12ก-ข แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิล และ
ระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 5 วันก่อนตกไข่ ในแม่ม้าหลังคลอด;
ก) ที่แสดงการเป็นสัด และ ข) ที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด……..……...35

12ค-ง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่
และระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 2 วันก่อนตกไข่ ในแม่ม้า
หลังคลอด; ค) ที่แสดงอาการเป็นสัดและ ง) ที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด……..36

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1. ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา

ม้า เป็นสัตว์เลี้ยงที่ปัจจุบันมีผู้คนและหน่วยงานราชการในประเทศนิยมเลี้ยงกันมาก โดยมีวัตถุประสงค์ของการเลี้ยงที่แตกต่างกันไป ได้แก่ เลี้ยงไว้เพื่อเป็นเพื่อนและใช้ขี่เล่น เพื่อใช้แข่งขันในการกีฬาทั้งระดับประเทศและระดับโลก หรือแม้กระทั่งในงานพระราชพิธีสวนสนามของทางราชการ รวมทั้งเลี้ยงไว้เพื่อใช้ผลิตม้าสำหรับทำเซรุ่มแก้พิษงู เป็นต้น จึงทำให้การเพาะพันธุ์ม้าในประเทศได้รับความสนใจและเริ่มมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว

บริเวณทางตอนเหนือของประเทศไทย นับเป็นแหล่งสำคัญแห่งหนึ่งที่สนับสนุนให้มีการเพาะและขยายพันธุ์ม้า โดยพันธุ์ม้าที่นิยมเลี้ยงกันมาก คือ ม้าลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองของไทย ซึ่งเชื่อว่ามีสายพันธุ์มาจากม้าฉานของพม่า ลักษณะทั่วไปคล้ายม้าแกลบ คือ มีขนาดตัวเล็ก สูงไม่เกิน 13 แฮนด์ (1 แฮนด์ ≈ 4 นิ้วฟุต) ศีรษะมักจะโต หน้าตรง ปลายจมูกเรียวงาม คอสั้น ขนสั้นเกรียน ผิวหนังบางและมักเห็นเส้นเลือดชัดเจน กีบเท้ามีรูปร่างดีขาทั้ง 4 บางแต่แข็งแรง ขาหลังบริเวณกระดูกข้อน่องแหลมมักหันเข้าหากันทางด้านใน มีความอดทนสูง เฉลียวฉลาด และมีความว่องไว จึงวิ่งเรียบได้ดีและเร็ว (ทองฑีฆายุ , 2001) เหมาะต่อการใช้งานในแถบที่มีสภาพภูมิประเทศเป็นภูเขาสูง และมีพื้นที่บางส่วนเป็นหุบเขาสลับกับที่ราบเช่นทางตอนเหนือของไทย ลักษณะของการใช้งานมักใช้ม้าเหล่านี้เพื่อเป็นพาหนะในงานแบกหามทั่วไปของชาวเขาที่อยู่บนภูเขาสูงและตามพื้นที่ที่เป็นหุบเขา ในส่วนของหน่วยงานราชการนั้น ได้จัดตั้งสถานีเลี้ยงและเพาะพันธุ์ม้าขึ้นเพื่อใช้ในการผสมพันธุ์กับพ่อลาให้ได้ลูกล่อสำหรับใช้ประโยชน์ในการทหาร และเป็นสัตว์ต่างบรรทุกของตามชายแดนที่มีสภาพเป็นภูเขาสูงชัน นอกจากนี้ยังมีการนำม้าพื้นเมืองดังกล่าวมาใช้ในการลากรถม้าเพื่อให้นักท่องเที่ยวนั่งชมเมืองอีกด้วย

ม้าส่วนใหญ่ที่นำมาใช้เป็นแม่พันธุ์ มักเริ่มทำการผสมที่อายุประมาณ 3 ปีขึ้นไป และมีอายุการใช้งานทั่วไปเฉลี่ยที่ 12-15 ปี (Samper, 2000) แต่เนื่องจากแม่ม้าเป็นสัตว์ที่มีช่วงระยะเวลาในการตั้งท้องที่ยาวนาน เฉลี่ยประมาณ 11 เดือน และในช่วงที่มีการเลี้ยงลูกแม่ม้าบางตัวจะไม่กลับเข้าสู่วงรอบการเป็นสัดให้เห็นอย่างน้อย 4-6 เดือน จึงมักเป็นสาเหตุทำให้จำนวนลูกม้าที่ผลิตได้ต่อแม่นั้นค่อนข้างต่ำ และส่งผลต่อเศรษฐกิจการเลี้ยงม้าเป็นอย่างมาก

ในช่วงหลายสิบปีที่ผ่านมา หลายประเทศจึงเริ่มหันมาให้ความสนใจที่จะทำการเพิ่มโปรแกรมการผสมแม่ม้าที่หลังคลอด เพราะสามารถช่วยลดระยะของการท้องว่างให้สั้นลง และทำให้ผลผลิตลูกม้าต่อแม่เพิ่มมากขึ้น อีกทั้งการกลับเข้าสู่วงรอบการเป็นสัดและเกิดการตกไข่ยังมีความชัดเจนและแน่นอนกว่าเมื่อเทียบกับการแสดงการเป็นสัดในรอบถัดไป และไม่ทำให้ประสิทธิภาพของการให้ผลผลิตลดลง (Lieux, 1980) ภายหลังคลอดแม่ม้ามักจะแสดงอาการเป็นสัดให้เห็นในช่วงวันที่ 5-18 หลังคลอด (Matthew,1967; England,1996; Blanchard et. al.,1998; Samper,2000) การแสดงลักษณะการเป็นสัดแรกที่หลังคลอดนี้ โดยทั่วไปเรียกว่า “foal heat“ ซึ่งพบว่ามีจำนวนของแม่ม้าหลังคลอดมากกว่า 90% ที่แสดงลักษณะดังกล่าว และ 95% ของแม่ม้าที่แสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอดนั้น จะมีช่วงระยะเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงตกไข่อยู่ในช่วงตั้งแต่ 6-20 วันหลังคลอด (Loy, 1980) ทั้งนี้อาจพบว่าแม่ม้าหลังคลอดบางตัวไม่แสดงอาการเป็นสัดให้เห็นแต่มีการทำงานของรังไข่ตามปกติ หรือที่เรียกว่า “เป็นสัดเงียบ” ได้เช่นกัน

ในการเจริญของรังไข่และการแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดนั้นพบว่า ฮอร์โมนที่มีบทบาทสำคัญ คือ ฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า (17β-estradiol ; E_2) ซึ่งเป็นสเตอรอยด์เอสโตรเจนที่สร้างจากรังไข่ โดยพบว่าระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า จะเพิ่มขึ้นในวันที่เริ่มแสดงการเป็นสัด และจะมีระดับสูงสุดที่ประมาณ 24-48 ชั่วโมง ก่อนตกไข่ จากนั้นระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า จะค่อยๆ ลดลงจนกระทั่งมีการตกไข่ และจะอยู่ที่ระดับต่ำสุดในวันที่สิ้นสุดการเป็นสัด (Nett et.al.,1975; Hillman and Loy,1975; Palmer and Terqui,1977)

จะเห็นได้ว่า การแสดงลักษณะการเป็นสัดแรกหลังคลอดนี้มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการเพาะพันธุ์ม้าอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตลูกม้าและลูกล่อสำหรับใช้ในหน่วยงานราชการ แต่เนื่องจากการผสมพันธุ์ม้าในประเทศไทยยังพบว่ามีปัญหาในเรื่องของการจัดการ โดยเฉพาะที่การแสดงสัดแรกหลังคลอด ซึ่งมักจะกำหนดวันผสมพันธุ์โดยใช้การนับจำนวนวันที่หลังคลอด มากกว่าทำการตรวจดูการเจริญของรังไข่ จึงทำให้ช่วงวันที่ตกไข่มีโอกาสคลาดเคลื่อนได้สูง และอาจพบว่าแม่ม้าบางตัวไม่มีการกลับเป็นสัดอีกเลยนานหลายเดือน หากพลาดการผสมพันธุ์ที่การแสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอดนี้

ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงจัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาการแสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอดจากการเปลี่ยนแปลงของลักษณะรังไข่ และ การเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในแม่ม้าลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองของไทย สำหรับใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาทำการผสมแม่ม้าที่หลังคลอดต่อไป

1.2. ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. หาค่าเฉลี่ยของตัวแปรต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องจากการแสดงลักษณะของการเป็นสัดแรกในแม่ม้าหลังคลอด ได้แก่ ช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงแสดงอาการเป็นสัดครั้งแรก (intervals from foaling to the first overt oestrus) ระยะเวลาที่แสดงอาการเป็นสัดครั้งแรกจนถึงตกไข่ (duration of oestrus) และช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนกระทั่งมีการตกไข่ครั้งแรก (intervals from foaling to the first ovulation)

2. หาค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุด และระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ก่อนมีการตกไข่ในแม่ม้าหลังคลอด

3. หาค่าเฉลี่ยของอัตราการเจริญของฟอลลิเคิลที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละช่วงวันตลอดช่วงระยะที่แสดงการเป็นสัดจนถึงก่อนตกไข่

4. เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนกระทั่งมีการตกไข่ครั้งแรก เส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลในวันก่อนตกไข่ และอัตราการเจริญของฟอลลิเคิลที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละช่วงวัน ในแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังคลอด

5. เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 5 วัน และ 2 วันก่อนตกไข่ ในแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังคลอด

6. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดบนรังไข่จากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง และการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 5 วัน และ 2 วันก่อนตกไข่ ในแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงการเป็นสัดหลังคลอด

1.3 คำถามการวิจัย

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ และ การเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า มีความสัมพันธ์กับการแสดงและไม่แสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอด และสามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาเลือกผสมแม่ม้าพันธุ์พื้นเมืองของไทยได้หรือไม่

1.4 คำสำคัญ

Thai crossbred native mare	postpartum	ovarian activity
แม่ม้าลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองของไทย	ภาวะหลังคลอด	การเจริญของรังไข่
foal heat	17beta-estradiol	
การแสดงสัดแรกหลังคลอด	เอสตร้าไดอัล-17เบต้า	

1.5 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย

1. ระยะเวลาที่ทำการวิจัย และเก็บรวบรวมข้อมูล 13 เดือน
2. แผนการดำเนินโครงการ

เดือน	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
พ.ศ. 25..													
ทบทวนเอกสาร	*	*											
วางแผนงานวิจัย		*											
ปฏิบัติงาน			*	*	*	*	*	*	*	*			
วิเคราะห์และสรุปผล										*	*		
เขียนรายงาน												*	*

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1) ทำให้ทราบการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ และ ระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่มีผลต่อการแสดงอาการเป็นสัดแรกหลังคลอด เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาทำการผสมในแม่ม้าหลังคลอด

2) สามารถนำความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า และการเจริญของฟอลลิเคิล ที่ช่วงระยะเวลาตั้งแต่ 5 วันก่อนตกไข่จนกระทั่งเกิดการตกไข่มาใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาทำการผสมแม่ม้าหลังคลอด ที่มีการเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล- 1 7เบต้า แต่ไม่พบการแสดงของสัดแรกภายหลังคลอด

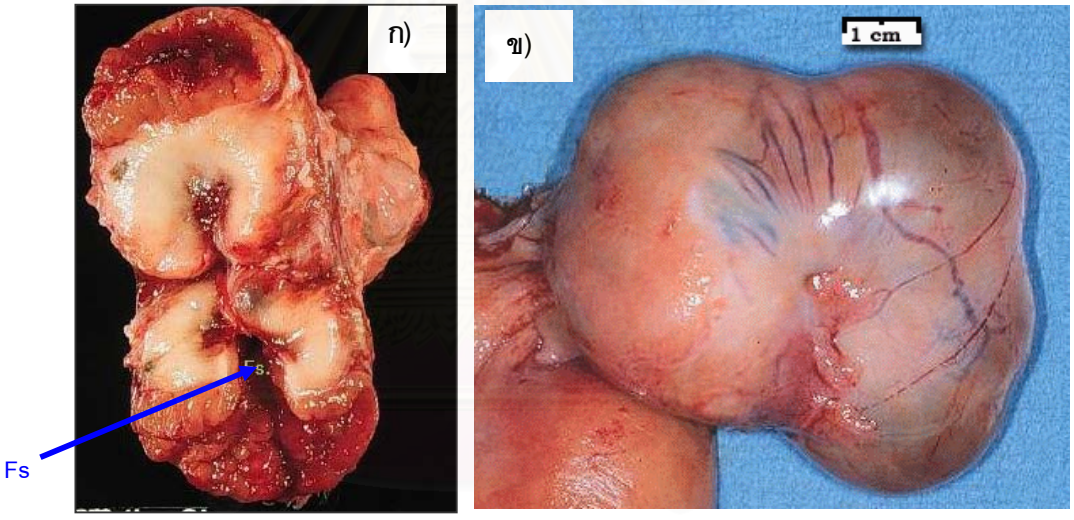
3) สามารถนำความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของขนาดฟอลลิเคิลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่การแสดงการเป็นสัดแรกในแม่ม้าหลังคลอด มาเป็นแนวทางหนึ่งในการใช้ตรวจหาระยะของการเกิดสัดแรกหลังคลอดได้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ระยะหรือวัยเจริญพันธุ์ในม้าเพศเมีย (puberty of mare)

ม้าเพศเมียจะเริ่มเข้าสู่ช่วงวัยเจริญพันธุ์เมื่อมีอายุเฉลี่ยที่ประมาณ 18 เดือน (12-24 เดือน) (Darling and Giffin, 1999; Davies-Morel, 1999) โดยจะพบว่ารังไข่ทั้ง 2 ข้างมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากลักษณะที่สมมาตรกัน (symmetrical structures) เป็นรังไข่ที่มีลักษณะคล้ายรูปไต (kidney-shaped structures) และพบมีการสร้างของแอ่งที่มีการตกไข่ (ovulation fossa) พร้อมทั้งมีการเจริญของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่และมีการตกไข่ครั้งแรกเกิดขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 แสดงลักษณะรังไข่ของม้าเพศเมียในช่วงวัยเจริญพันธุ์ ; ก) แอ่งที่มีการตกไข่ (Fs) ข) ฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ที่พบก่อนมีการตกไข่ และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 30 มิลลิเมตร ขึ้นไป

อย่างไรก็ตาม โดยทั่วไปจะนิยมทำการผสมพันธุ์ม้าเพศเมียเมื่อมีอายุเฉลี่ยตั้งแต่ 3 ปีขึ้นไป เนื่องจากพบว่าเป็นช่วงที่ระบบสืบพันธุ์มีการเจริญและสามารถทำหน้าที่ได้อย่างสมบูรณ์ (Samper, 2000) จากการศึกษาของ Mitchell และ Allen (1975) พบว่า หากทำการผสมพันธุ์ม้าเพศเมียที่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์และมีอายุน้อยกว่า 3 ปีนั้น มีผลทำให้เกิดการแท้งในช่วงกลางของการ

ตั้งท้องถึงร้อยละ 45 ของม้าทั้งหมดที่ตั้งท้อง ทั้งนี้ช่วงอายุที่เหมาะสมในการใช้เป็นแม่พันธุ์ควรอยู่ในช่วงอายุตั้งแต่ 6-15 ปี ซึ่งเป็นช่วงที่พบว่ามีประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์ดีที่สุด (Lewis, 1995)

2.2 วงรอบการเป็นสัดในม้าเพศเมีย (estrous cycle of mare)

ม้าเพศเมีย เป็นสัตว์เลี้ยงที่มีวงรอบการเป็นสัดแบบ long-day seasonal polyestrus คือ มีการแสดงวงรอบการเป็นสัดได้หลายครั้งในระหว่างช่วงระยะเวลาหนึ่งของปีและมีผลของฤดูกาลเข้ามาเกี่ยวข้อง โดยจะแสดงวงรอบการเป็นสัดได้ดีในช่วงฤดูที่มีกลางวันยาวนานกว่ากลางคืน คือ ในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง ตุลาคม (Ginther, 1974; England, 1996) สำหรับในประเทศไทยได้มีการสำรวจพบว่าม้าเพศเมียส่วนใหญ่แสดงอาการเป็นสัดได้ดีในช่วงปลายเดือนมีนาคมจนถึงต้นเดือนกันยายน แต่ก็สามารถพบการเป็นสัดของม้าเพศเมียได้ตลอดทั้งปีเช่นกัน

วงรอบการเป็นสัดทั่วไปในม้าเพศเมียสามารถแบ่งได้เป็น 3 ช่วงใหญ่ๆ ได้แก่ ช่วงฤดูผสมพันธุ์หรือฤดูที่มีการตกไข่ ช่วงฤดูที่ไม่มีการตกไข่หรือระยะพัก และช่วงที่อยู่ระหว่างฤดูที่มีการตกไข่และฤดูที่ไม่มีการตกไข่ ดังแสดงในรูปที่ 2

- *ช่วงฤดูผสมพันธุ์หรือฤดูที่มีการตกไข่ (breeding season หรือ ovulatory season)*

ในช่วงนี้ ม้าเพศเมียจะมีการเข้าสู่วงรอบการเป็นสัดได้หลายครั้ง แต่ละวงรอบจะมีระยะเวลาประมาณ 21 วัน (21±2 วัน) (Lewis, 1995; Davies-Morel, 1999) โดยจะเริ่มนับตั้งแต่หลังมีการตกไข่ของรอบนั้น ๆ ไปจนถึง มีการตกไข่ในรอบถัดไป ในแต่ละวงรอบประกอบด้วย 2 ระยะ คือ ระยะที่แสดงอาการเป็นสัดและมีการสร้างของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ โดยมีขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ 35 มิลลิเมตร (follicular phase; estrus) ซึ่งเป็นผลมาจากมีฮอร์โมนที่มีผลต่อระบบสืบพันธุ์อยู่ในระดับสูง ระยะนี้กินเวลาประมาณ 4-7 วัน ซึ่งการตกไข่ในแม่ม้าจะเกิดขึ้นได้เองภายใน 24-48 ชั่วโมงก่อนหมดสัดโดยไม่ต้องถูกกระตุ้น (spontaneous ovulation) และระยะที่มีการคงอยู่ของคอร์ปัส ลูเทียมหลังตกไข่ (luteal phase; diestrus) ประมาณ 15-16 วัน (Hughes et.al., 1972; Back et.al., 1974; England, 1996)

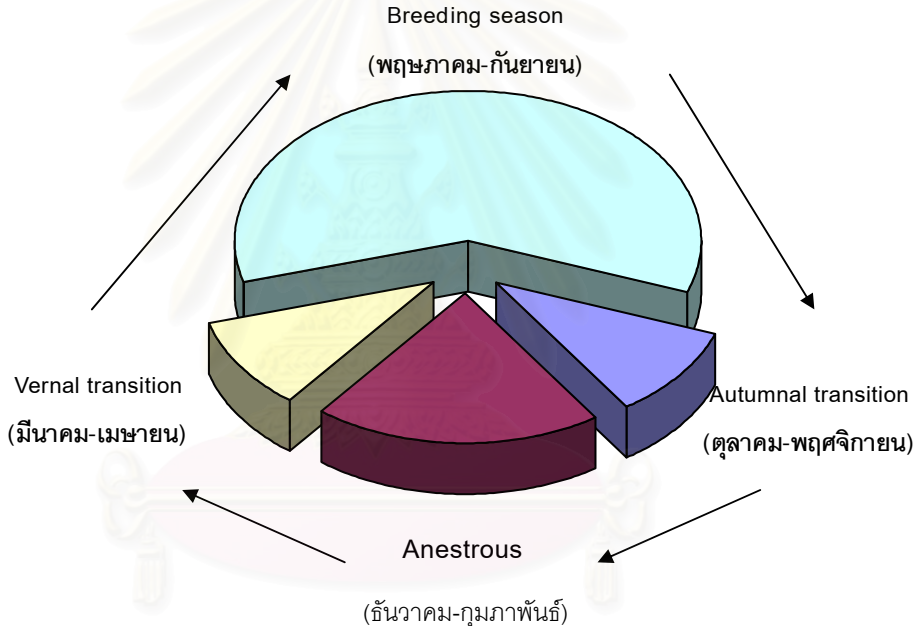
- *ช่วงฤดูที่ไม่มีการตกไข่ หรือระยะพัก (anovulatory season หรือ anestrous)*

ช่วงนี้จะไม่พบการสร้างของฟอลลิเคิล หรืออาจพบได้แต่มีขนาดเล็ก โดยมีขนาดเล็ก

กว่า 20 มิลลิเมตร ไม่มีการตกไข่ และไม่แสดงอาการเป็นสัดให้เห็น เนื่องจากฮอร์โมนที่มีผลต่อระบบสืบพันธุ์อยู่ในระดับต่ำ

- *<u>ช่วงที่อยู่ระหว่างฤดูที่มีการตกไข่และฤดูที่ไม่มีการตกไข่</u> (transitional phase)*

เป็นช่วงที่จะพบมีการสร้างของฟอลลิเคิลหลายขนาด เนื่องจากมีฮอร์โมนที่มีผลต่อระบบสืบพันธุ์อยู่ในระดับที่สูงกว่าในช่วงฤดูที่ไม่มีการตกไข่ แต่ระดับฮอร์โมนที่เพิ่มขึ้นนี้ยังไม่สูงพอที่จะทำให้มีการตกไข่เกิดขึ้น ช่วงนี้สามารถแบ่งได้เป็น 2 ช่วงย่อย คือ ช่วงตั้งแต่หลังฤดูตกไข่จนถึงระยะพัก (autumnal transition) และช่วงจากระยะพักจนถึงฤดูตกไข่ (vernal transition)



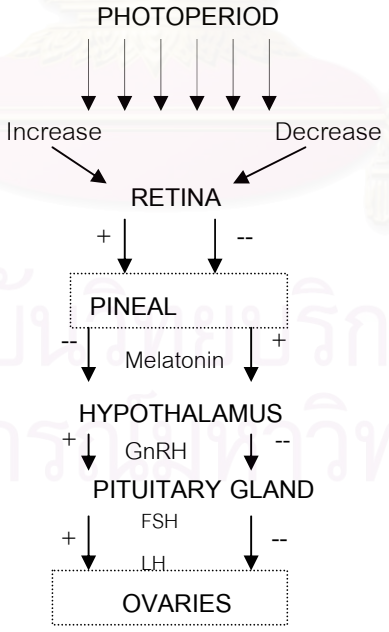
รูปที่ 2 แสดงลักษณะวงรอบการเป็นสัดของม้าเพศเมียในช่วงระยะเวลา 1 ปี (Ginther, 1974)

2.3 สรีรวิทยาทางระบบสืบพันธุ์ของวงรอบการเป็นสัดในม้าเพศเมีย (Reproductive Physiology of the Mare Estrous Cycle)

เนื่องจากการเข้าสู่วงรอบการเป็นสัดของม้าเพศเมียนั้น จำเป็นต้องมีผลของฤดูกาลเข้ามาเกี่ยวข้อง โดยพบว่าอิทธิพลของสิ่งแวดล้อม อาทิเช่น ระยะเวลาของแสง ชนิดและปริมาณของอาหาร อุณหภูมิ และอื่นๆ มีผลกระทบโดยตรงกับระดับฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ ซึ่งใน

ปัจจุบันพบว่าฮอร์โมนที่มีผลเกี่ยวข้องกับฤดูกาลหรือสิ่งแวดล้อม และมีผลต่อฮอร์โมนทางระบบสืบพันธุ์ คือ ฮอร์โมนเมลาโตนิน (Melatonin)

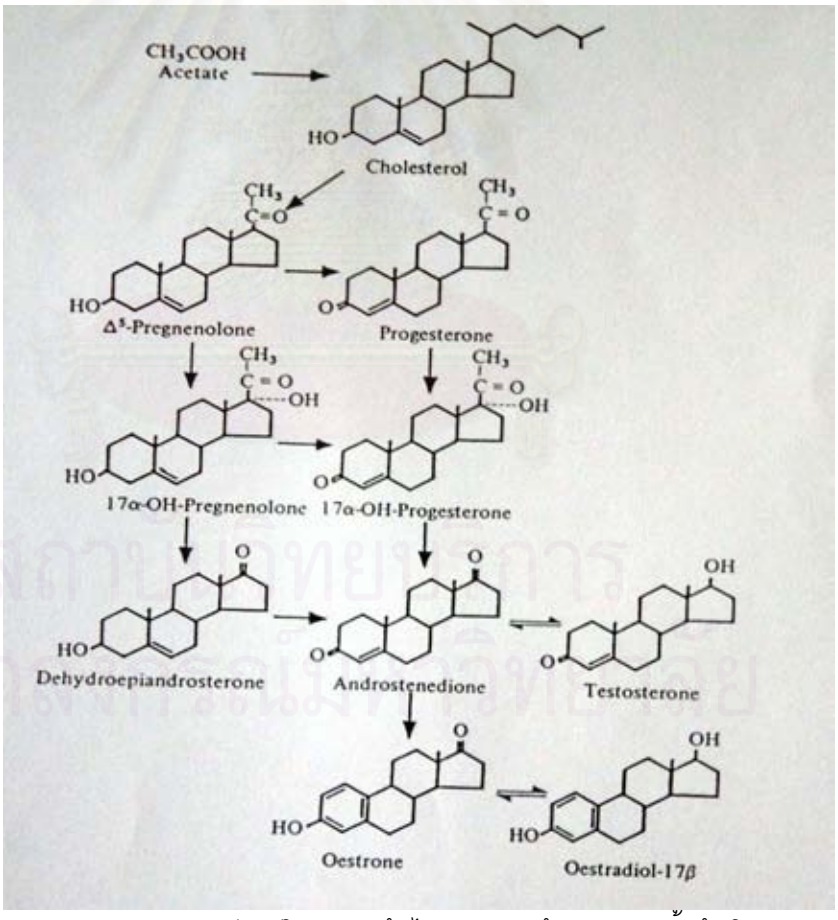
ฮอร์โมนเมลาโตนิน ถูกสร้างมาจากต่อมไพเนียล (pineal gland) ในสมอง เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของความยาวแสงในแต่ละช่วงวัน เซลล์รับแสง (light receptor) ที่บริเวณเรตินา (Retina) จะทำหน้าที่ในการรับแสงและส่งผ่านข้อมูลไปยังต่อมไพเนียล โดยในช่วงที่มีแสงมากหรือในช่วงที่มีกลางวันยาวนานกว่ากลางคืน ต่อมไพเนียลจะถูกควบคุมให้มีการหลั่งฮอร์โมนเมลาโตนินลดลง การลดลงนี้ส่งผลให้ต่อมไฮโปทาลามัส (hypothalamus gland) หลั่งโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่ง ฮอร์โมน (gonadotrophin releasing hormone; GnRH) ออกมา ซึ่งมีผลไปกระตุ้นต่อมใต้สมองส่วนหน้า (anterior pituitary gland) ให้หลั่งฮอร์โมนที่จำเป็นต่อการสร้างและเจริญของฟอลลิเคิล รวมทั้งการตกไข่เพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้ามต่อมไพเนียลจะถูกควบคุมให้มีการหลั่งฮอร์โมนเมลาโตนินเพิ่มขึ้น หากมีการลดลงของแสงหรือในช่วงที่มีกลางวันสั้นกว่ากลางคืน และส่งผลให้มีการยับยั้งการหลั่งของโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่ง ฮอร์โมน ทำให้ระดับของฮอร์โมนที่จำเป็นต่อการสร้างและเจริญของฟอลลิเคิล รวมทั้งการตกไข่ลดต่ำลง (Ginther, 1992; Sharp and Cleaver, 1993; Threlfall, 1997) ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 กลไกการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเมลาโตนินที่เกิดจากสิ่งกระตุ้นภายนอก และมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ของม้าเพศเมีย (Blanchard et.al., 1998)

2.4 การเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ต่อการเจริญของฟอลลิเคิลบนรังไข่

ฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล –17 เบต้า เป็นสเตอรอยด์เอสโตรเจนชนิดธรรมชาติ (natural estrogen) ตัวหนึ่งที่จัดอยู่ในกลุ่มของอันคอนจูเกทด์ เอสโตรเจน (unconjugated estrogen) ประกอบด้วยคาร์บอน 18 อะตอม ซึ่งมีสารตั้งต้นเป็นโคเลสเตอรอล (cholesterol) โดยจะมีการเปลี่ยนรูปเป็นฮอร์โมนแอนโดรสตินิไดโอน (androstenedione) และ เทสโทสเตอโรน (testosterone) ก่อนจะเปลี่ยนรูปเป็นฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า (มณฑิรา, 1983; นิมิต, 2000) ดังแสดงในรูปที่ 4 ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ของฮอร์โมนเอสโตรเจนที่สร้างจากรังไข่ของแม่ม้า เป็นฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า (Kindahl, 1996) ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลในสตรีวัยเจริญพันธุ์ ที่พบว่า กว่าร้อยละ 95 ของฮอร์โมนที่พบในกระแสเลือดเป็นฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่สร้างจากรังไข่ (Lloyd et.al.,1971)

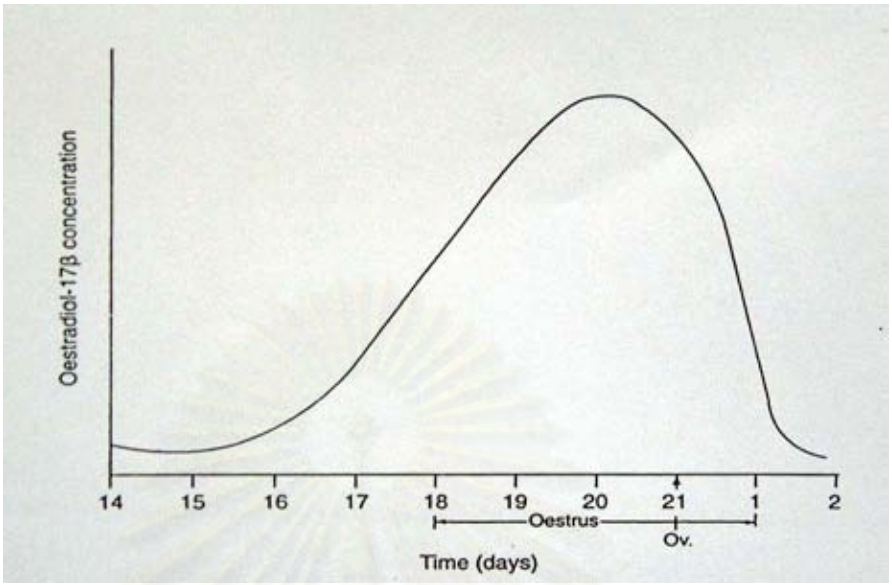


รูปที่ 4 แสดงการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า จากสารตั้งต้นโคเลสเตอรอล (McKinnon and Voss, 1993)

ฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า นั้น ถูกสร้างขึ้นจากเซลล์แกรนูโลซา (granulosa cells) ของฟอลลิเคิลที่เจริญบนรังไข่ และ มีการทำงานอยู่ภายใต้การควบคุมของฟอลลิเคิล สติมูเลติง ฮอร์โมน หรือ ฮอร์โมนเอฟเอสเอช (follicle stimulating hormone; FSH) จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Nett, 1993; มงคล, 2000) ในแม่ม้าที่ไม่มีการตั้งท้อง และเข้าสู่วงรอบการเป็นสัด จะพบมีการหลั่งของฮอร์โมนชนิดนี้มากที่สุด โดยพบว่ามีความสัมพันธ์ต่อการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรม และระบบสืบพันธุ์ โดยเฉพาะที่รังไข่ซึ่งมีผลต่อการเจริญของฟอลลิเคิล และการตกไข่ (Stabenfeldt et.al.,1972; Noden et.al.,1975) การหลั่งของฮอร์โมนดังกล่าว ส่งผลให้แม่ม้าแสดงพฤติกรรมการเป็นสัด และมีการเปลี่ยนแปลงของระบบสืบพันธุ์ โดยเฉพาะที่รังไข่ ซึ่งพบว่ามีผลกระตุ้นการสร้างของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ที่พร้อมจะเกิดการตกไข่ (dominant follicle) ภายหลังจากมีการเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมนลูทิไนซิง หรือ แอลเอช (luteinizing hormone; LH) นอกจากนี้ยังมีผลทำให้ปากมดลูกและช่องคลอดเกิดการหย่อนตัวมากขึ้น มีหลอดเลือดและต่อมต่างๆ ในเยื่อบุมดลูกเพิ่มขึ้นและหนาตัวขึ้น มีผลต่อการบวมแดงที่บริเวณปากช่องคลอด รวมทั้งเพิ่มการหลั่งของสารคัดหลั่งที่ปากมดลูกและช่องคลอดอีกด้วย

การเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า จะเริ่มพบที่ประมาณ 3 และ 2 วัน ก่อนแสดงการเป็นสัด (Noden et.al., 1975) และจะมีระดับสูงขึ้นเรื่อยๆ ในช่วงที่แม่ม้าแสดงการเป็นสัด โดยจะมีระดับสูงสุดที่ประมาณ 24-48 ชั่วโมงก่อนตกไข่ ซึ่งระดับที่พบจะมีความผันแปรมากในแต่ละการศึกษา คือ มีช่วงตั้งแต่ 10-141 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร (Nett et.al., 1973; Pattison et.al., 1974; Nett et.al., 1975; Nelson et.al., 1985; Davies-Morel, 1999) จากนั้นฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า จะค่อยๆ ลดระดับลงจนกระทั่งมีการตกไข่ โดยจะมีค่าอยู่ที่ระดับต่ำสุดในวันสุดท้ายของการเป็นสัด และจะคงอยู่ที่ระดับดังกล่าวตลอดจนถึงช่วงกลางของระยะที่มีการสร้างคอร์ปัสลูเตียมบนรังไข่ (luteal phase หรือ diestrus) (Hillman and Loy,1975; Palmer and Terqui,1977) ดังแสดงในรูปที่ 5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5 รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17 เบต้า ในกระแสเลือดของม้าเพศเมียที่เข้าสู่วงรอบการเป็นสัด (Davies-Morel, 1999)

2.5 การแสดงการเป็นสัดแรกภายหลังคลอด

2.5.1 การแสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอด

หลังการผสมพันธุ์ ม้าเพศเมียจะเข้าสู่ช่วงของการตั้งท้อง โดยจะพบว่ามีระยะเวลาของการตั้งท้องค่อนข้างยาวนาน คือ เฉลี่ยอยู่ที่ 335-340 วัน แต่อาจพบว่ามีช่วงเวลาตั้งแต่ 340-370 วัน ขึ้นกับความผันแปรในแม่ม้าแต่ละตัว และพบว่าระบบสืบพันธุ์ของแม่ม้าหลังคลอดนั้นมีการเปลี่ยนแปลงและปรับตัวให้เข้าสู่สภาพปกติได้อย่างรวดเร็วซึ่งแตกต่างจากสัตว์เลี้ยงชนิดอื่น โดยเฉพาะการทำงานของรังไข่ ซึ่งเป็นอวัยวะสืบพันธุ์ที่สำคัญและใช้เป็นเกณฑ์ในการกำหนดวันผสมพันธุ์ ม้าเพศเมียที่อยู่ในช่วงตั้งท้องจะพบว่ารังไข่ถูกพักการทำงานชั่วคราว และจะถูกกระตุ้นให้มีการทำงานทันทีอีกครั้งภายหลังคลอด การสร้างของฟอลลิเคิลจะเริ่มขึ้นประมาณวันที่ 2-3 หลังคลอด และแม่ม้ามักจะแสดงอาการเป็นสัดให้เห็นในช่วงวันที่ 5-18 หลังคลอด (Matthew,1967; England,1996; Blanchard et. al.,1998; Samper,2000) โดยจะพบว่ามีการเจริญของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ (largest follicle) ที่ประมาณ 4-7 วันก่อนตกไข่ (Pieason, 1993;

McDonald, 1980) และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ที่ 29.4±0.8 มิลลิเมตร ซึ่งจะมีการขยายขนาดขึ้นเรื่อยๆ ประมาณ 3-5 มิลลิเมตรต่อวัน จนกระทั่งมีการตกไข่เกิดขึ้น (Neely,1983; Pierson and Ginther,1985) การแสดงลักษณะของการเป็นสัดแรกที่หลังคลอดนี้โดยทั่วไปมักเรียกว่า " foal heat " ซึ่งพบว่ามีจำนวนของแม่ม้าหลังคลอดมากกว่าร้อยละ 90 ที่แสดงลักษณะดังกล่าว

มีผู้ทำการศึกษาหาค่าเฉลี่ยของวันที่เริ่มแสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอด พบว่ามีค่าอยู่ที่ประมาณ 8.6 วัน (Nishikawa,1959) และ 9.8 วัน (Badi et. al.,1981) โดยพบว่ามีระยะเวลาที่แสดงอาการเป็นสัดสั้นกว่าวงรอบปกติในม้าเพศเมียที่ไม่ได้ตั้งท้อง (Loy, 1980) และจากรายงานที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่า 95%ของแม่ม้าที่แสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอดนั้น จะมีช่วงระยะเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงตกไข่อยู่ในช่วงตั้งแต่ 6-20 วันหลังคลอด หรือเฉลี่ยอยู่ที่ 10.2 ± 2.4 วัน (Loy, 1980) และ 17.8 ± 1.6 วัน (Nagy et. al., 1998) แต่อย่างไรก็ตาม อัตราการตั้งท้อง (45%) ภายหลังการผสมแม่ม้าที่มีการเจริญของรังไข่และแสดงการเป็นสัดแรกให้เห็นก่อนวันที่ 10 หลังคลอด จะต่ำกว่าอัตราการตั้งท้อง (59%) ในกลุ่มของแม่ม้าที่แสดงการเป็นสัดแรกหลังวันที่ 10 (Loy, 1980) แม่ม้าหลังคลอดบางตัวอาจไม่แสดงอาการเป็นสัดให้เห็นแต่พบว่ามีการทำงานของรังไข่ตามปกติ หรือที่เรียกว่า "เป็นสัดเงียบ" ซึ่งพบได้ประมาณ 20-25% ของแม่ม้าทั้งหมดที่พบมีการตกไข่ครั้งแรกภายใน 20 วันหลังคลอด (Volkmann et.al.,1992 ; Nagy et. al.,1998)

2.5.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการแสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอด

จากผลการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าการแสดงการเป็นสัดแรกและการเจริญของรังไข่ในแม่ม้าหลังคลอดแต่ละตัวจะต่างกัน หากได้รับปัจจัยทั้งจากภายในและภายนอกแตกต่างกัน โดยพบว่าปัจจัยจากฤดูกาลที่ให้ลูกเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลกระทบต่อตัวแปรต่างๆ ของการแสดงการเป็นสัดแรก และการเจริญของฟอลลิเคิลบนรังไข่ ได้แก่ ช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงแสดงอาการเป็นสัดหลังคลอด (intervals from foaling to the first overt oestrus) ช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนกระทั่งมีการตกไข่ครั้งแรก (intervals from foaling to the first ovulation) ระยะเวลาที่แสดงอาการเป็นสัด (duration of oestrus) ตลอดจนขนาดของฟอลลิเคิลที่ใกล้ตกไข่ (preovulatory follicle) โดยจะมีผลกับแม่ม้าที่อาศัยอยู่ในประเทศบริเวณทางตอนเหนือและใต้ของโลก (Northern และ Westhern hemisphere) ที่มีสภาพภูมิอากาศหนาวเย็น และมีความแตกต่างของช่วงความยาวของวันเด่นชัดกว่าแม่ม้าที่อาศัยอยู่ในภูมิประเทศที่มีอากาศร้อนชื้นดังเช่นประเทศไทย จาก

การศึกษาของ Nagy และคณะ(1998) ที่ทำการทดลองในแม่ม้าหลังคลอดจำนวน 107 ตัว จากทั้งหมด 5 ฟาร์ม ในประเทศฮังการี พบว่า 64-83% ของแม่ม้าที่ให้ลูกในช่วงก่อนเข้าฤดูใบไม้ผลิ (ต้นเดือนมกราคมถึงปลายเดือนมีนาคม) จะมีช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงแสดงการเป็นสัด ระยะเวลาที่แสดงอาการเป็นสัด และช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนกระทั่งมีการตกไข่ครั้งแรก ยาวนานกว่ากลุ่มของแม่ม้าที่ให้ลูกในช่วงหลังเข้าฤดูใบไม้ผลิ (ต้นเดือนเมษายนถึงปลายเดือนกรกฎาคม) โดยที่ 91%ของแม่ม้าที่ให้ลูกในช่วงหลังเข้าฤดูใบไม้ผลิ พบว่ามีการตกไข่ก่อนวันที่ 20 หลังคลอด และอาจพบลักษณะของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่มีการตกไข่มากกว่า 2 ฟอลลิเคิล (double ovulation) ได้สูงกว่าเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่เคยมีการรายงาน (Ginther,1979; Koskinen,1991) แต่ไม่พบความแตกต่างดังกล่าวในแม่ม้าที่อาศัยอยู่ในประเทศเขตร้อนชื้น (Quintero et. al.,1996) นอกจากนี้ยังพบว่า ผลการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในระหว่างวันสามารถส่งผลต่อการแสดงพฤติกรรม การเป็นสัดในแม่ม้าได้ โดยข้อมูลจากการศึกษาของ Asdell (1964) ที่ทดลองดูผลการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ และพฤติกรรมการเป็นสัดของแม่ม้าในช่วงฤดูใบไม้ผลิก่อนเข้าฤดูผสมพันธุ์ และในช่วงฤดูฝน ชี้ให้เห็นว่าแม่ม้าที่เลี้ยงในช่วงฤดูฝน ซึ่งมีความยาวของช่วงวันสั้น และมีอุณหภูมิต่ำกว่า มีการแสดงพฤติกรรมการเป็นสัด และการเจริญของฟอลลิเคิลบนรังไข่น้อยกว่าแม่ม้าที่เลี้ยงในฤดูใบไม้ผลิ อย่างไรก็ตามยังมีปัจจัยอีกหลายอย่างที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ และการแสดงการเป็นสัดแรกที่หลังคลอด อาทิเช่น ช่วงอายุ จำนวนการตั้งท้องของแม่ม้า ความสมบูรณ์ของร่างกายในช่วงก่อนและหลังคลอด และการเลี้ยงลูก เป็นต้น

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า แม่ม้าท้องแรกที่มีอายุเฉลี่ยที่ประมาณ 6 ปี และให้ลูกในช่วงก่อนเข้าฤดูใบไม้ผลิ จะมีช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงแสดงการเป็นสัด และช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนกระทั่งมีการตกไข่ครั้งแรกยาวนานกว่าแม่ม้าที่มีอายุเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 12 ปี และให้ลูกตั้งแต่ 2 ท้องขึ้นไป (Nagy et.al.,1998) มีรายงานหลายฉบับกล่าวว่าปัจจัยจากสภาพความ-สมบูรณ์ของร่างกายนั้น (Body condition) สัมพันธ์กับการแสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอด โดยพบว่าหากแม่ม้าก่อนและหลังคลอดมีคะแนนความสมบูรณ์ของร่างกายอยู่ที่ 5 หรือมากกว่า จะไม่ส่งผลต่อช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงแสดงการเป็นสัด และช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนกระทั่งมีการตกไข่ครั้งแรก เมื่อเทียบกับกลุ่มของแม่ม้าที่มีคะแนนความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำกว่า 5 ทั้งก่อนและหลังคลอด (Henneke et. al.,1984, Hines et.al.,1987) ในการเลี้ยงลูกของแม่ม้า พบว่าอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้แม่ม้าไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังคลอด หรือที่เรียกว่า “ lactational anestrus “ ซึ่งจากการศึกษาของ Ginther และคณะ (1972) โดยการแยกลูกม้าออกจากแม่ที่หลังคลอด และทำการตรวจดูลักษณะของรังไข่ พบว่าแม่ม้ากลุ่มที่ทำการแยกลูกออกนั้นมีการเจริญของรังไข่

มากกว่ากลุ่มที่มีการเลี้ยงลูกตามปกติ สอดคล้องกับผลการศึกษาต่อมาของ Henneke และ Kreider (1979) ที่ทดลองควบคุมระยะเวลาในการให้ลูกม้าดูดนมตั้งแต่คลอดจนกระทั่งมีการตกไข่ครั้งแรก โดยแบ่งการให้เป็น 4 ช่วงเท่าๆกัน และแต่ละช่วงจะนานประมาณ 1 ชั่วโมง ซึ่งพบว่ามีการกลับสัดและตกไข่ภายหลังคลอดเร็วกว่าแม่ม้าที่ให้ลูกดูดนมตามปกติ อย่างไรก็ตามการย้ายลูกม้าออกหลังคลอดหากทำเพียงในช่วงสั้นๆ พบว่าผลที่ได้นั้นไม่แตกต่างจากกลุ่มที่มีการเลี้ยงลูกตามปกติ (Sargent et.al., 1988)

การจัดการผสมพันธุ์แม่ม้าที่หลังคลอดนั้นพบว่า สามารถช่วยลดระยะเวลาของการท้องว่างให้สั้นลง และทำให้ผลผลิตลูกม้าต่อจำนวนแม่ 1 ตัวเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งยังพบว่าการกลับเข้าสู่วงรอบการเป็นสัดและตกไข่ที่หลังคลอดนี้ มีความชัดเจนและแน่นอนกว่าเมื่อเทียบกับการแสดงอาการเป็นสัดในรอบถัดไป โดย Lieux (1980) พบว่าประสิทธิภาพของการให้ผลผลิตระหว่างแม่ม้าที่ทำการผสมที่สัดแรกหลังคลอดและที่สัดถัดๆไปไม่แตกต่างจากกลุ่มของแม่ม้าที่ทำการผสมในสัดที่สองหลังคลอดและที่สัดถัดๆไป (66.44% และ 66.19% ตามลำดับ) ทั้งๆ ที่อัตราการผสมติดและอัตราการตั้งท้อง ในกลุ่มแม่ม้าที่ทำการผสมที่สัดแรกหลังคลอดต่ำกว่า

2.6 **เทคนิคที่ใช้ตรวจม้าเพศเมียในช่วงฤดูที่มีการผสมพันธุ์**

เทคนิคพื้นฐานที่สะดวก และนิยมใช้ตรวจดูลักษณะการเปลี่ยนแปลงของระบบสืบพันธุ์ในช่วงที่กลับเข้าสู่วงรอบการเป็นสัด หรือ ในช่วงฤดูผสมพันธุ์ ได้แก่ การตรวจการเป็นสัดในม้าเพศเมีย โดยใช้ม้าเพศผู้เป็นตัวล่อ (teasing) เพื่อดูลักษณะของพฤติกรรมที่เปลี่ยนไปทั้งในม้าเพศเมียและม้าเพศผู้ การล้วงตรวจผ่านทางทวารหนัก (rectal palpation) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ตรวจดูการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์ที่สำคัญ ได้แก่ รังไข่และมดลูก และการตรวจด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงที่ใช้สำหรับสอดผ่านทางทวารหนัก (ultrasound) เทคนิคนี้ปัจจุบันนิยมใช้กันมากร่วมกับการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนักเนื่องจากมีความแม่นยำสูง มักใช้ตรวจดูลักษณะการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิลและมดลูกในช่วงที่ม้าเพศเมียแสดงอาการเป็นสัด ซึ่งจะช่วยให้เห็นลักษณะ ขนาด และ ขอบเขตของฟอลลิเคิลและมดลูกได้อย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังช่วยทำนายการตกไข่จากลักษณะของคอร์ปัส เฮโมราจิคั่ม หรือ คอร์ปัส ลูเทียม ที่พบหลังการตกไข่อีกด้วย

- *การตรวจการเป็นสัดในม้าเพศเมีย*

ในช่วงแรกทีม้าเพศเมียเริ่มแสดงอาการเป็นสัด หรือ เข้าสู่ช่วงที่มีการสร้างของฟอลลิเคิล ม้าเพศเมียจะแสดงอาการสนใจพ่อม้าด้วยการหันส่วนท้ายของลำตัวให้ จากนั้นจะพบมีการเปิดปิดของปากช่องคลอดเผยให้เห็นส่วนของคลิตอริส (clitoris flashing , evert clitoris) ดังแสดงในรูปที่ 6 พร้อมทั้งมีการยกหาง ย่อตัวลง และ กางหรือถ่างข้อต่อส่วนข้อน่องแหลม (hock joint) ออกเพื่อปล่อยปัสสาวะที่มีสารฟีโรโมนปนอยู่ออกมา ม้าเพศผู้เมื่อได้สัมผัสกับกลิ่นของสารฟีโรโมนที่ถูกปล่อยออกมา มักจะมีการตอบสนองโดยการเผยอส่วนของริมฝีปากบนและแหงนหน้าสูดดมกลิ่นดังกล่าวเข้าไป (fleshmen reaction)

หลังการตกไข่และไม่แสดงอาการเป็นสัด หรือ ที่เรียกว่าเข้าสู่ช่วงที่มีการสร้างคอร์ปัสลูเทียม ม้าเพศเมียจะมีลักษณะของพฤติกรรมที่คล้ายกับระยะพัก หรือ ช่วงฤดูที่ไม่มีการตกไข่ คือ แสดงอาการก้าวร้าว ไม่สนใจตัวผู้ และเตะเมื่อถูกรบกวนจากตัวผู้

รูปที่ 6 แสดงการหันส่วนท้ายของลำตัวม้าเพศเมีย (ก) และ การเปิดปิดของปากช่องคลอดเผยให้เห็นส่วนของคลิตอริส (ข) ในม้าเพศเมียที่แสดงอาการเป็นสัด (Ginther, 1992)

- *การล้วงตรวจผ่านทางทวารหนัก*

<u>รังไข่</u> : ขนาดของรังไข่ในช่วงที่ม้าเพศเมียแสดงอาการเป็นสัด จะพบว่ามีการขยายใหญ่

อย่างมาก ซึ่งต่างจากระยะ diestrus และช่วง anestrus เนื่องจากมีการเจริญของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่อยู่ภายใน เนื้อสัมผัสของฟอลลิเคิลในรังไข่จะมีลักษณะเต่ง และไม่ยืดหยุ่น (turgid texture) ซึ่งอาจพบได้ในขณะล้วงตรวจ จนกระทั่งก่อนตกไข่ประมาณ 24-48 ชั่วโมง ฟอลลิเคิลที่ใกล้ตกไข่ (preovulatory follicle) จะมีเนื้อสัมผัสที่เปลี่ยนไป โดยจะมีลักษณะอ่อนนิ่มลง (soft texture) และแม่ม้าอาจแสดงอาการเจ็บขณะคลำ หลังเกิดการตกไข่ขนาดของรังไข่จะลดลงอย่างรวดเร็ว คลำพบรอยบุ๋มตรงบริเวณที่เกิดการตกไข่ มีลักษณะนิ่ม และยืดหยุ่น (flaccid) (Shideler, 1993) เนื่องมาจากมีการแทรกของเลือดเข้ามาแทนที่ เกิดเป็นลักษณะของก้อนเลือดที่เรียกว่า คอร์ปัส เฮโมราจิคั่ม (corpus hemorrhagicum : CH) ซึ่งจะเปลี่ยนรูปเป็นก้อนเนื้อที่เรียกว่าคอร์ปัส ลูเทียม (corpus luteum : CL) หลังตกไข่แล้วประมาณ 4-5 วัน และไม่สามารถตรวจพบได้จากการคลำ (Pierson and Ginther, 1985)

<u>มดลูก</u> ลักษณะที่พบจากการคลำในช่วงที่ม้าเพศเมียแสดงอาการเป็นสัด จะพบมีการขยายขนาดของมดลูกมากขึ้นเนื่องมาจากอิทธิพลของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ทำให้เยื่อบุมดลูกเกิดการบวมน้ำ และการหย่อนตัวตามมา เนื้อสัมผัสของมดลูกจะค่อนข้างนิ่ม (soft texture หรือ fair tone) แต่ไม่มากเท่าในช่วง anestrus หลังเข้าสู่ระยะ diestrus ลักษณะของมดลูกจะเปลี่ยนไป คือ ขนาดเล็กลง เนื่องจากไม่มีการบวมน้ำของเยื่อบุมดลูก เนื้อสัมผัสค่อนข้างแข็ง (firm texture หรือ good tone) และสามารถรู้สึกได้จากการคลำ (Davies-Morel, 1999)

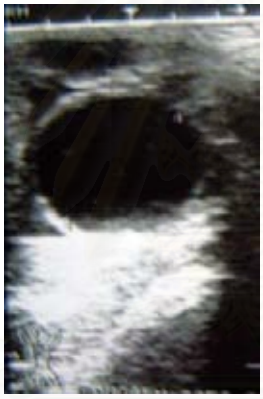
- *การตรวจด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง*

<u>รังไข่</u> : ลักษณะโครงสร้างของฟอลลิเคิลที่พบจะปรากฏเป็น anechoic หรือ non-echogenicity ที่แสดงออกมาเป็นภาพสีดำและมีรูปร่างทรงกลมบนรังไข่ (spherical shape) โดยฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่ที่สุดมักจะมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 30 มิลลิเมตรขึ้นไป (Mair et. al.,1998) ที่ประมาณ 24-48 ชั่วโมงก่อนตกไข่จะพบว่า ฟอลลิเคิลที่ใกล้ตกไข่ส่วนใหญ่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 35-50 มิลลิเมตร หรือเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 45 มิลลิเมตร แต่อาจจะพบว่ามีขนาดเล็กกว่า 35 มิลลิเมตรได้ในแม่ม้าที่เกิดการตกไข่หลายใบ (multiple ovulation) ซึ่งร้อยละของการเกิดจะแตกต่างกันในแม่ม้าแต่ละพันธุ์ โดยพบว่าเกิดกับสายพันธุ์ม้าใช้งาน (draft horse) มากที่สุด ส่วนสายพันธุ์โพนี่ (pony) เกิดน้อยสุด (25% และ <2% ตามลำดับ) (Ginther, 1986) ฟอลลิเคิลที่ใกล้ตกไข่มักจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากทรงกลมเป็นรูปร่างที่ไม่สม่ำเสมอ หรือมีรูปร่างคล้ายลูกแพร์ (irregular or pear shape) ซึ่งพบได้ถึงร้อยละ 85 ของฟอลลิเคิลที่มีการพัฒนาทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบลักษณะขอบเขตที่ไม่เรียบ ผนังของฟอลลิเคิลบางลงและเริ่ม

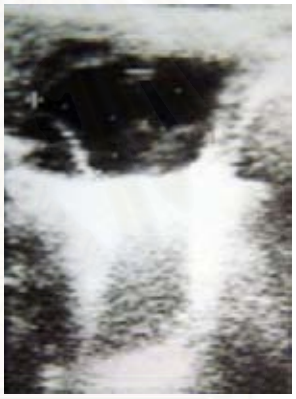
แยกตัวออกมาจากเนื้อของรังไข่ (Squires et. al.,1988; Pierson and Ginther,1985) ส่วนลักษณะของคอร์ปัส เฮโมรา-จิคั่ม ที่พบหลังเกิดการตกไข่แล้ว จะมีโครงสร้างเป็นแบบ non-homogeneous hypoechoic ที่แสดงออกมาเป็นภาพสีขาวจางๆ ลักษณะไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ขอบเขตไม่เรียบ และมีแถบของไฟบริน (fibrin strand) แทรกตัวอยู่ ส่วนลักษณะของคอร์ปัส ลูเทียม จะมีโครงสร้างเป็นแบบ dense hypoechoic ที่แสดงออกมาเป็นภาพสีขาว และมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน ดังแสดงในรูปที่ 7(ก-ค)

<u>มดลูก</u> : ลักษณะของมดลูกที่พบจะเป็นภาพของปีกมดลูกตัดขวางที่มีลักษณะคล้ายล้อ-เกวียนหรือผลส้มผ่าครึ่ง (spoke-like structure หรือ sliced-orange structure) โดยบริเวณของเยื่อบุมดลูกที่เกิดการบวมน้ำ จะเห็นเป็นลักษณะของโครงสร้างแบบ non-echogenicity แต่หลังมีการตกไข่ลักษณะโครงสร้างของปีกมดลูกที่พบจะเปลี่ยนเป็นแบบ uniform echogenicity ร่วมกับลักษณะ white หรือ diestrus line ปรากฏอยู่ตรงกลางระหว่างเยื่อบุมดลูกทั้งสองด้าน

ก)



ข)



ค)

รูปที่ 7 ลักษณะของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ทั้งก่อน และหลังเกิดการตกไข่บนรังไข่ของม้าเพศเมีย
(ก) ลักษณะฟอลลิเคิลขนาด 35 มิลลิเมตรขึ้นไป ที่ 3 วันก่อนตกไข่;
(ข) ลักษณะฟอลลิเคิลที่เปลี่ยนรูป 24 ชั่วโมงก่อนตกไข่ และ
(ค) ลักษณะคอร์ปัส ลูเทียม ที่เกิดขึ้นหลังตกไข่ (McKinnon and Voss, 1993)

การแสดงลักษณะของสัดแรกหลังคลอดนี้ นับได้ว่ามีความสำคัญต่ออุตสากรรมการเพาะพันธุ์ม้า โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตลูกม้าและลูกล่อสำหรับใช้ในหน่วยราชการของไทยที่จำเป็นต้องผลิตจำนวนลูกต่อแม่ม้าให้ได้สูงสุดเพื่อให้เพียงพอต่อการใช้งาน

ดังนั้นการทดลองครั้งนี้ จึงจัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาการแสดงสัดแรกหลังคลอดจากลักษณะการเจริญของรังไข่ และ การเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17 เบต้าในแม่ม้าลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองทางตอนเหนือของไทย สำหรับใช้เป็นเกณฑ์หนึ่งในการพิจารณาทำการผสมแม่ม้าที่หลังคลอดเพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีและมีประสิทธิภาพสูงสุดต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1. การเตรียมสัตว์ทดลอง

ทำการคัดเลือกแม่ม้าพันธุ์พื้นเมือง ที่มีช่วงอายุตั้งแต่ 4-12 ปี และให้ลูกในช่วงเดือนเมษายน ถึง กรกฎาคม จำนวน 30 ตัว โดยการสุ่มจากฝูงแม่ม้าหลังคลอดทั้งหมด 45 ตัว ในอำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ แม่ม้าทุกตัวจะปล่อยให้มีการเลี้ยงลูกตามปกติอย่างน้อยประมาณ 4 เดือน และมีลักษณะความสมบูรณ์ของร่างกายที่หลังคลอดจากการสังเกตด้วยตาเปล่าอยู่ในระดับ 5 ขึ้นไป จากทั้งหมด 9 ระดับ (Lewis, 1995) ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยลักษณะเริ่มต้นที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณา ประกอบด้วย บริเวณส่วนหลังต้องแบนเป็นระนาบเดียวกับแนวสันหลัง โดยสังเกตไม่เห็นส่วนนูนของกระดูกสันหลังยื่นขึ้นมา และต้องสังเกตไม่พบส่วนโค้งเว้าของกระดูกชี่โครงจากภายนอก ช่วงไหล่และลำคอต้องกลมกลืนแนบขนานไปกับส่วนของลำตัว รวมทั้งที่บริเวณโคนหางควรมีลักษณะค่อนข้างกลม มน และหนา ดังแสดงในรูปที่ 8 อาหารที่จัดให้ในแต่-ละวันประกอบด้วย อาหารเม็ดผสมข้าวเปลือก อย่างละ 1 กิโลกรัม แบ่งให้วันละ 2 ครั้ง เช้า-บ่าย โดยในช่วงเช้าจะทำการปล่อยแปลงให้แทะเล็มหญ้าสด และช่วงบ่ายจะได้รับหญ้าสดและหญ้าแห้งตามขนาดตัวของแม่ม้าแต่ละตัว ทั้งนี้แม่ม้าทุกตัวจะได้รับน้ำดื่มสะอาดตลอดเวลา

แม่ม้าทั้งหมดจะต้องมีสุขภาพแข็งแรง ไม่แสดงลักษณะอาการป่วยทางคลินิก และตรวจไม่พบความผิดปกติต่างๆ ของรังไข่ อาทิเช่น มีการคงอยู่ของก้อนเหลืองคอร์ปัส ลูเทียม (persistant corpus luteum) และลักษณะถุงน้ำ (cysts) หรือ เนื้องอกที่รังไข่ (tumors) เป็นต้น รวมทั้งไม่พบปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ทั้งก่อนและหลังคลอด ซึ่งได้แก่ ลักษณะของการคลอดยาก ภาวะรกค้างหลังคลอดนานเกิน 3 ชั่วโมง และการตาย หรือ อ่อนแอของลูกแรกเกิด โดยหากพบว่าแม่ม้าตัวใดแสดงอาการป่วย และมีความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์ อาทิเช่น มีการติดเชื้อที่บริเวณปากช่องคลอด หรือ ภาวะมดลูกอักเสบ ในขณะที่ทำการศึกษาจะถูกคัดออกจากการศึกษา

ตารางที่ 1 แสดงระดับและลักษณะความสมบูรณ์ของร่างกายในแม่ม้าปกติ (Lewis, 1995)

ระดับ	ลักษณะที่สังเกตพบ
1 (ขาดสารอาหาร)	- พบส่วนนูนของกระดูกสันหลัง (spinous processes) ซี่โครง และโคนหาง อย่างชัดเจน รวมทั้งปุ่มนูนของ tuber coxae และ tuber ischii - กระดูกบริเวณ wither หัวไหล่ และ คอ สังเกตเห็นได้ชัดเจน - ไม่มีการสะสมของเนื้อเยื่อไขมันตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย - พบร่องลึกบริเวณทางด้านในของก้น
2 (ผอมมาก)	- ลักษณะคล้าย ระดับ 1 แต่พบมีการสะสมของเนื้อเยื่อไขมันเล็กน้อย ตามแนวกระดูกสันหลังส่วนต่างๆ ตามซี่โครง โคนหาง tuber coxae และบริเวณ wither หัวไหล่ และคอ
3 (ผอม)	- คลำไม่พบแนวปีกของกระดูกสันหลัง (transverse process) แต่ส่วนนูนของกระดูกสันหลังบริเวณหลัง สะโพก และโคนหางยังสังเกตเห็นได้ - บริเวณซี่โครงมีการแทรกของชั้นไขมันเพิ่มขึ้น แต่ยังมองเห็นด้วยตาเปล่า
4 (ค่อนข้างผอม)	- ลักษณะคล้าย ระดับ 3 แต่ส่วนนูนของกระดูกสันหลังเห็นไม่ชัดเจน - ส่วนของซี่โครงยังสังเกตเห็นแต่ไม่ชัด
5 (ปานกลาง)	- ส่วนหลังแบนเป็นระนาบเดียวกับแนวสันหลัง ไม่พบส่วนนูนของกระดูกสันหลัง ส่วนโคนหางค่อนข้างกลม มน และนิ่ม - สังเกตไม่พบส่วนโค้งเว้าของกระดูกซี่โครง แต่ยังรู้สึกได้จากการคลำ - ช่วงไหล่ และลำคอ กลมกลืนแนบขนานไปกับส่วนของลำตัว
6 (ค่อนข้างมีเนื้อ)	- ลักษณะคล้าย ระดับ 5 และเริ่มสังเกตเห็นร่องบริเวณกระดูกสันหลังช่วงท้ายของลำตัว และส่วนโคนหางกลม หนาขึ้น - ส่วน wither หัวไหล่ และลำคอ เริ่มหนาตัวจากการสะสมของชั้นไขมัน
7 (ค่อนข้างอ้วน)	- ลักษณะคล้าย ระดับ 6 แต่สังเกตเห็นร่องบริเวณกระดูกสันหลังช่วงท้ายลำตัวชัดเจนขึ้น และมีการสะสมของชั้นไขมันตามส่วนต่างๆมากขึ้น
8 (อ้วน)	- เห็นร่องบริเวณกระดูกสันหลังช่วงท้ายลำตัวชัดเจน และคลำไม่พบส่วนของกระดูกซี่โครง และเริ่มมีการสะสมของไขมันที่ด้านในของต้นขาหน้า
9 (อ้วนมาก)	- คล้ายระดับ 8 แต่เห็นร่องบริเวณกระดูกสันหลังส่วนท้ายลึกมากขึ้น และมีการสะสมของไขมันบริเวณแก้มก้นมากขึ้น - ส่วนของ wither หัวไหล่ และ ลำคอ ใหญ่ และ หนาอย่างชัดเจน

รูปที่ 8 แสดงลักษณะความสมบูรณ์ของร่างกายในแม่ม้าหลังคลอด ; ก) และ ข) ที่ระดับคะแนน 5 ขึ้นไป ; ค) และ ง) ที่ระดับคะแนนต่ำกว่า 5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

แบ่งการดำเนินการวิจัยออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1. การตรวจสัด และลักษณะการเจริญของรังไข่

ขั้นตอนที่ 2. การเก็บตัวอย่างซีรั่ม

ขั้นตอนที่ 3. การวิเคราะห์หาระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล 17-เบต้า ในซีรั่ม

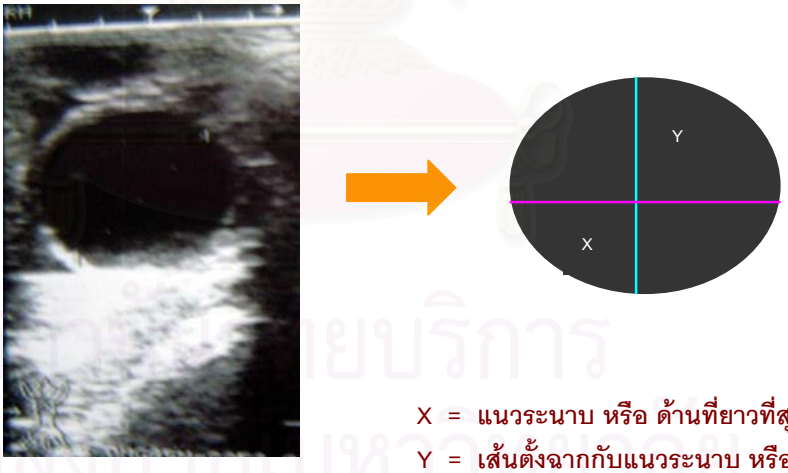
ขั้นตอนที่ 1 : การตรวจสัด และลักษณะการเจริญของรังไข่

แม่ม้าทุกตัวจะได้รับการตรวจสัดทุกวัน ตั้งแต่วันที่ 5 หลังคลอด จนถึงวันที่ 18 หลังคลอด ด้วยการใช้พ่อม้าเป็นตัวล่อในการตรวจการเป็นสัด โดยใช้เกณฑ์ในการพิจารณาดังนี้ แม่ม้าที่เข้าสู่ช่วงการเป็นสัดจะแสดงอาการสนใจม้าเพศผู้ และหันส่วนท้ายของลำตัวให้ มีการเปิดปิดของปากช่องคลอด พร้อมทั้งมีการยกหาง ย่อตัวลง และกางข้อต่อส่วน hock joint ออกเพื่อปล่อยปัสสาวะที่มีสารฟีโรโมนปนอยู่ออกมา ซึ่งถือว่าแม่ม้าแสดงอาการเป็นสัด ส่วนกรณีที่แม่ม้าแสดงอาการก้าวร้าว ไม่สนใจตัวผู้ และเตะเมื่อถูกรบกวนจากตัวผู้ หรือ ไม่แสดงอาการเป็นสัดข้างต้น จะถือว่าแม่ม้าไม่แสดงอาการเป็นสัด

ทำการตรวจหาลักษณะการเจริญของรังไข่และขนาดของฟอลลิเคิลที่เปลี่ยนไปโดยการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนัก ร่วมกับการใช้เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงสำหรับสอดผ่านทางทวารหนัก (transrectal ultrasonography) ชนิด real time B mode พร้อมหัวตรวจแบบ linear-array ที่ความถี่ 5 เมกะเฮิรต์ (MHz) ดังแสดงในรูปที่ 9 แบบวันเว้นวัน โดยเริ่มตั้งแต่วันที่ 5 หลังคลอด จนกระทั่งเริ่มแสดงอาการเป็นสัด (day 1) ซึ่งจะเปลี่ยนจากวันเว้นวันเป็นทำการตรวจทุกวัน จนกระทั่งเกิดการตกไข่ ยกเว้นในแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดให้เห็นจะทำการตรวจแบบวันเว้นวันจนถึงวันที่ 21 หลังคลอด หรือจนกว่าจะพบลักษณะของฟอลลิเคิลที่มีการตกไข่แล้วจากเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงสำหรับสอดผ่านทางทวารหนัก

รังไข่ข้างที่ตรวจพบว่ามีการเจริญจะถูกทำการบันทึกด้วยเครื่องพิมพ์ภาพที่ต่อเข้ากับเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง พร้อมทั้งขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในวันที่ทำการตรวจ ซึ่งฟอลลิเคิลส่วนใหญ่มักมีลักษณะเป็นทรงกลม ดังนั้นการวัดขนาดของฟอลลิเคิลจะใช้ค่าเฉลี่ยโดยประมาณของการวัดในแนวระนาบและแนวตั้งฉากกับแนวระนาบของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุด ยกเว้นในกรณีที่ฟอลลิเคิลไม่อยู่ในลักษณะที่เป็นทรงกลม จะทำการพิจารณาวัดจากด้านที่มีความกว้าง และความยาวมากที่สุด แล้วจึงนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยโดยประมาณภายหลัง (Pierson and Ginther, 1988) ดังแสดงในรูปที่ 10 ในการดูลักษณะของฟอลลิเคิลด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงนั้นจะทำการตรวจซ้ำ 2 ครั้ง เพื่อให้ได้ลักษณะที่ถูกต้องและแม่นยำมากที่สุด

รูปที่ 9 การสอดหัวตรวจ transducer ขนาดความถี่ 5 เมกะเฮริต์ ผ่านทางทวารหนัก เพื่อทำการดูลักษณะการเจริญของรังไข่



X = แนวระนาบ หรือ ด้านที่ยาวที่สุด

Y = เส้นตั้งฉากกับแนวระนาบ หรือ ด้านที่กว้างที่สุด

$$\text{ค่าเฉลี่ยโดยประมาณ} = \frac{X + Y}{2}$$

รูปที่ 10 การวัดขนาดของฟอลลิเคลในแต่ละวัน โดยใช้ค่าเฉลี่ยโดยประมาณของการวัดในแนวระนาบและแนวตั้งฉากกับแนวระนาบของฟอลลิเคลที่ใหญ่ที่สุด

(Pierson and Ginther, 1988)

ขั้นตอนที่ 2 : การเก็บตัวอย่างซีรั่ม

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดแม่ม้าทุกตัว โดยจะทำการเก็บแบบวันเว้นวัน ตั้งแต่วันที่ 5 จนถึงวันที่ 21 หลังคลอด ยกเว้นในกรณีที่แม่ม้าเริ่มแสดงอาการเป็นสัด (day 1) จะเปลี่ยนเป็นทำการเก็บทุกวันจนกระทั่งเกิดการตกไข่ โดยทำการเก็บจากเส้นเลือด Jugular vein ในปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเกิดการแข็งตัว แล้วนำมาปั่นด้วยเครื่องเซนตริฟิวส์ ที่ 2000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เพื่อแยกส่วนของซีรั่มออกมา โดยส่วนของซีรั่มที่ได้นั้นจะถูกเก็บรักษาไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส เพื่อรอทำการวิเคราะห์หาระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าด้วยวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเสย์ (Radioimmunoassay; RIA) (Pattison et.al., 1974; Kamonpatana et al., 1976; Reimers et.al., 1991) ต่อไป

ขั้นตอนที่ 3 : การวิเคราะห์หาระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า

ในการวิเคราะห์ เลือกใช้การตรวจด้วยวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเสย์ตามวิธีของ Kamonpatana et al. (1976) โดยทำการวิเคราะห์ ณ ห้องปฏิบัติการเรดิโออิมมูโนเอสเสย์ของศูนย์วิจัยละพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความเข้มข้นของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า แอนติบอดี ที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ครั้งนี้ คือ ค่าความเข้มข้นที่มีเปอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวสมบูรณ์อยู่ที่ 50 เท่ากับ 1:150,000 และมีค่าความจำเพาะเจาะจงของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17 เบต้า แอนติบอดี กับ ฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17แอลฟา เอสโตรน เอสไตรอัล และฮอร์โมนในกลุ่มอื่น อยู่ที่ 100, 0.48, 8.40, 0.48 และ < 0.03-1.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนค่าความแม่นยำของการตรวจวัดมีค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปรในการทดลองเดียวกัน และระหว่างครั้งการทดลอง น้อยกว่าร้อยละ 10 และ 20 ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์ของการวิเคราะห์ได้ (% recovery) มีค่าเท่ากับร้อยละ 91.78 ทั้งนี้ประสิทธิภาพต่ำสุดที่ทำการวัดได้จากกราฟมีค่าอยู่ที่ 1 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในภาคผนวก ค

3.3 การรวบรวมข้อมูลและประเมินผล

ในการศึกษาลักษณะการเจริญของรังไข่ และระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่มีผลต่อการแสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอดนั้น ส่วนของข้อมูลที่ทำการเก็บในแม่ม้าแต่ละตัวประกอบไปด้วย

- วันที่คลอด วันที่เริ่มและหยุดแสดงอาการเป็นสัด และวันที่มีการตกไข่ เพื่อคำนวณหาช่วงเวลาตั้งแต่หลังคลอดจนกระทั่งแสดงอาการเป็นสัดครั้งแรก ระยะเวลาที่แสดงอาการเป็นสัด และระยะเวลาตั้งแต่คลอดจนกระทั่งตกไข่ครั้งแรก
- ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดในแต่ละวันที่ทำการตรวจ
- ระดับการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ตั้งแต่วันที่ 5 หลังคลอด จนถึงวันที่ 21 วันหลังคลอด

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลที่ได้จากการประเมินมาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) ของตัวแปรต่างๆ ที่เกี่ยวกับการแสดงสัดแรกหลังคลอด อัตราการเจริญและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิล และทำการเปรียบเทียบค่าตัวแปรต่างๆ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิล และระดับการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในแม่ม้าที่แสดง และไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังคลอด โดยใช้ unpaired T-test รวมทั้งหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่บนรังไข่ และระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 5 วัน และ 2 วันก่อนตกไข่ ในแม่ม้าที่แสดง และไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังคลอด โดยวิธี linear regression

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการศึกษา

ผลของการศึกษาครั้งนี้ เป็นผลที่ได้จากการศึกษาแม่ม้าจำนวน 25 ตัว จากทั้งหมด 30 ตัว โดยแม่ม้าจำนวน 5 ตัว ที่ไม่มีผลของการศึกษานั้น เนื่องจากภายหลังการคัดเลือกแล้วได้ทำการตรวจร่างกายและซักประวัติ ซึ่งพบว่าเกิดการแท้งในช่วงกลางและช่วงท้ายของการตั้งท้อง จึงถูกคัดออกจากการศึกษาครั้งนี้

4.1 ผลการตรวจหาการแสดงลักษณะของอาการสัดแรกหลังคลอด และ ค่าตัวแปรต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง โดยศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมที่แสดงและลักษณะของรังไข่ภายหลังคลอด

จากการศึกษาพบว่า รังไข่ของแม่ม้าทุกตัว (100%) มีการเจริญและเกิดการตกไข่ภายหลังคลอด โดยร้อยละ 92 ของแม่ม้าทั้งหมด (23/25 ตัว) มีการตกไข่ก่อนวันที่ 20 หลังคลอด แม่ม้า 23 ตัวที่มีการตกไข่ก่อนวันที่ 20 หลังคลอดนั้นพบว่ามีเพียง 10 ตัว(40%) ที่แสดงลักษณะของอาการสัดแรกหลังคลอดอย่างชัดเจนจนกระทั่งมีการตกไข่ และ 11 ตัว (44%) ไม่แสดงอาการของสัดแรกหลังคลอดให้เห็น ส่วนแม่ม้า 2 ตัวที่เหลือ (8%) พบว่ามีทั้ง 2 ลักษณะร่วมกัน คือ แสดงอาการของสัดแรกหลังคลอดเพียง 2 วัน จากนั้นไม่แสดงอาการเป็นสัดอีกเลยจนกระทั่งมีการตกไข่ ส่วนแม่ม้าที่เหลือ 2 ตัว (8%) มีการตกไข่หลังวันที่ 20 หลังคลอด และไม่แสดงอาการของสัดแรกหลังคลอดให้เห็น ดังแสดงในตารางที่ 2

ค่าเฉลี่ยของช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงแสดงอาการของสัดแรก (Intervals from foaling to the first overt oestrus) และระยะเวลาที่แสดงอาการเป็นสัด (Duration of oestrus) ในแม่ม้าที่แสดงอาการของสัดแรกหลังคลอดอย่างชัดเจนอยู่ที่ 10.30±2.95 วัน และ 4.60±1.35 วัน ตามลำดับ (ค่าพิสัย = 7-17 วัน และ 3-7 วัน ตามลำดับ)

ส่วนช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ครั้งแรก (Intervals from foaling to the first ovulation) ของแม่ม้าที่มีการตกไข่ก่อนวันที่ 20 หลังคลอดนั้น มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 13.39±2.61 วัน (± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; ค่าพิสัย = 10-20 วัน) จากผลการตรวจดูการเจริญของฟอลลิเคิลบน

รังไข่พบว่า มีการสร้างของฟอลลิเคิลในแม่ม้าทุกตัว และมักพบลักษณะของฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่ที่สุดซึ่งจะเจริญไปเป็นฟอลลิเคิลที่เกิดการตกไข่ต่อไป ร่วมกับฟอลลิเคิลขนาดเล็กและขนาดกลาง โดยจะเริ่มพบการสร้างของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ที่สุดที่ประมาณ 5 วันก่อนตกไข่ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ที่ 30.19 ± 5.48 มิลลิเมตร และพบว่าขนาดของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดนั้นจะเริ่มขยายขนาดขึ้นเรื่อยๆ จนถึง 1 วันก่อนตกไข่ โดยมีอัตราการเจริญอยู่ที่ประมาณ 2-4 มิลลิเมตรต่อวัน หรือเฉลี่ยเท่ากับ 2.74 ± 0.59 มิลลิเมตรต่อวัน ส่วนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ 1 วันก่อนตกไข่นั้น พบว่ามีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 41.11 ± 5.31 มิลลิเมตร ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 2 จำนวนและร้อยละของแม่ม้าหลังคลอดที่แสดงและไม่แสดงลักษณะอาการของสัดแรกหลังคลอด

	จำนวนแม่ม้า (n=25 ตัว)	คิดเป็น (%)
● การตกไข่		
- ก่อนวันที่ 20 หลังคลอด	23	92
- แสดงอาการสัดแรกหลังคลอด	10(23)	40
- ไม่แสดงอาการสัดแรกหลังคลอด	11(23)	44
- มีทั้ง 2 ลักษณะร่วมกัน	2(23)	8
- หลังวันที่ 20 หลังคลอด และไม่แสดงอาการสัดแรกหลังคลอด	2	8

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ ค่าพิสัยของช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงแสดงอาการของสัดแรก ระยะเวลาที่แสดงอาการเป็นสัด ช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดที่ 5 วัน และ 2 วันก่อนตกไข่ และอัตราการเจริญ ของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดตั้งแต่วันที่ 5 จนถึง วันที่ 1 ก่อนตกไข่ในแม่ม้าหลังคลอด จำนวน 25 ตัว

	จำนวนแม่ม้า (n=25)	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าพิสัย
● ช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงแสดงอาการของสัดแรก (วัน)	10	10.30 ± 2.95	7-17
● ระยะเวลาที่แสดงอาการเป็นสัด (วัน)	10	4.6 ± 1.35	4-7
● ช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ครั้งแรกก่อนวันที่ 20 หลังคลอด [n](วัน)	23	13.39 ± 2.61	10-20
● ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุด (มิลลิเมตร)			
- ที่ 5 วันก่อนตกไข่	25	30.19 ± 5.48	22.8-43.4
- ที่ 1 วันก่อนตกไข่	25	41.11 ± 5.31	35-54.7
● อัตราการเจริญของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดตั้งแต่วันที่ 5 จนถึงวันที่ 1 ก่อนตกไข่ (มิลลิเมตร)	25	2.74 ± 0.59	1.75-3.87

[n] แม่ม้า 2 ตัวมีการตกไข่หลังวันที่ 20 หลังคลอด

4.2 ผลการเปรียบเทียบค่าตัวแปรต่างๆ ที่เกี่ยวข้องต่อการแสดงลักษณะอาการของสัดแรกหลังคลอด ในแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงลักษณะอาการของสัดแรกหลังคลอด

จากผลการศึกษาค่าตัวแปรต่างๆ ที่เกี่ยวข้องนั้น ค่าเฉลี่ยของตัวแปรที่สามารถนำมาเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มของแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงอาการของสัดแรกหลังคลอด คือ ช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ครั้งแรก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดที่ 5 วัน และ 1 วันก่อนตกไข่ รวมทั้งอัตราการเจริญของฟอลลิเคิลที่เปลี่ยนไปในแต่ละช่วงวันตั้งแต่วันที่ 5 จนถึงวันที่ 1 ก่อนตกไข่ พบว่ากลุ่มของแม่ม้าที่แสดงอาการของสัดแรก

หลังคลอดอย่างชัดเจนจนกระทั่งมีการตกไข่ มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดที่ 1 วันก่อนตกไข่ สูงกว่ากลุ่มของแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการของสัดแรกหลังคลอดให้เห็นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (43.54 $\pm$ 6.67 และ 38.55 $\pm$ 2.39 มิลลิเมตร ตามลำดับ; $P<0.05$) แต่ค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดที่ 5 วันก่อนตกไข่ ช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ครั้งแรก และอัตราการเจริญของฟอลลิเคิลที่เปลี่ยนไปในแต่ละช่วงวันตั้งแต่วันที่ 5 จนถึงวันที่ 1 ก่อนตกไข่ระหว่างแม่ม้าทั้ง 2 กลุ่มพบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้งนี้ผลที่ได้คิดจากแม่ม้าหลังคลอดจำนวน 23 ตัว จากทั้งหมด 25 ตัว แม่ม้า 2 ตัวที่เหลือพบว่ามีการแสดงการเป็นสัดแรกไม่ชัดเจน คือ แสดงทั้งอาการเป็นสัดและไม่เป็นสัดในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา ดังนั้นจึงไม่นำมาทำการศึกษาร่วม ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ครั้งแรกภายในวันที่ 20 หลังคลอด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ 5 วัน และ 2 วันก่อนตกไข่ และอัตราการเจริญของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดตั้งแต่วันที่ 5 จนถึงวันที่ 1 ก่อนตกไข่ ระหว่างแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงอาการของสัดแรกหลังคลอด จำนวน 23 ตัว *

	กลุ่มที่แสดงการเป็นสัด (จำนวน 10 ตัว)	กลุ่มที่ไม่แสดงการเป็นสัด (จำนวน 13 ตัว)
• ช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ครั้งแรกภายในวันที่ 20 หลังคลอด (วัน)	14.10 $\pm$ 3.07	12.27 $\pm$ 1.74 **
• ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุด (มิลลิเมตร)		
- ที่ 5 วันก่อนตกไข่	32.64 $\pm$ 6.49	27.86 $\pm$ 4.03
- ที่ 1 วันก่อนตกไข่	43.54 $\pm$ 6.67 [a]	38.55 $\pm$ 2.59 [b]
• อัตราการเจริญของฟอลลิเคิลที่เปลี่ยนไปในแต่ละช่วงวัน (วันที่ 5 -วันที่ 1 ก่อนตกไข่ (มิลลิเมตรต่อวัน)	2.77 $\pm$ 0.48	2.66 $\pm$ 0.68

* แม่ม้า 2 ตัว ไม่ถูกนำมาศึกษา เนื่องจากพบว่าแสดงทั้งอาการเป็นสัดและไม่เป็นสัดให้เห็น

** แม่ม้า 2 ตัวในกลุ่มที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด มีการตกไข่หลังวันที่ 20 ของการคลอด

[a,b] แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น เท่ากับ 0.05

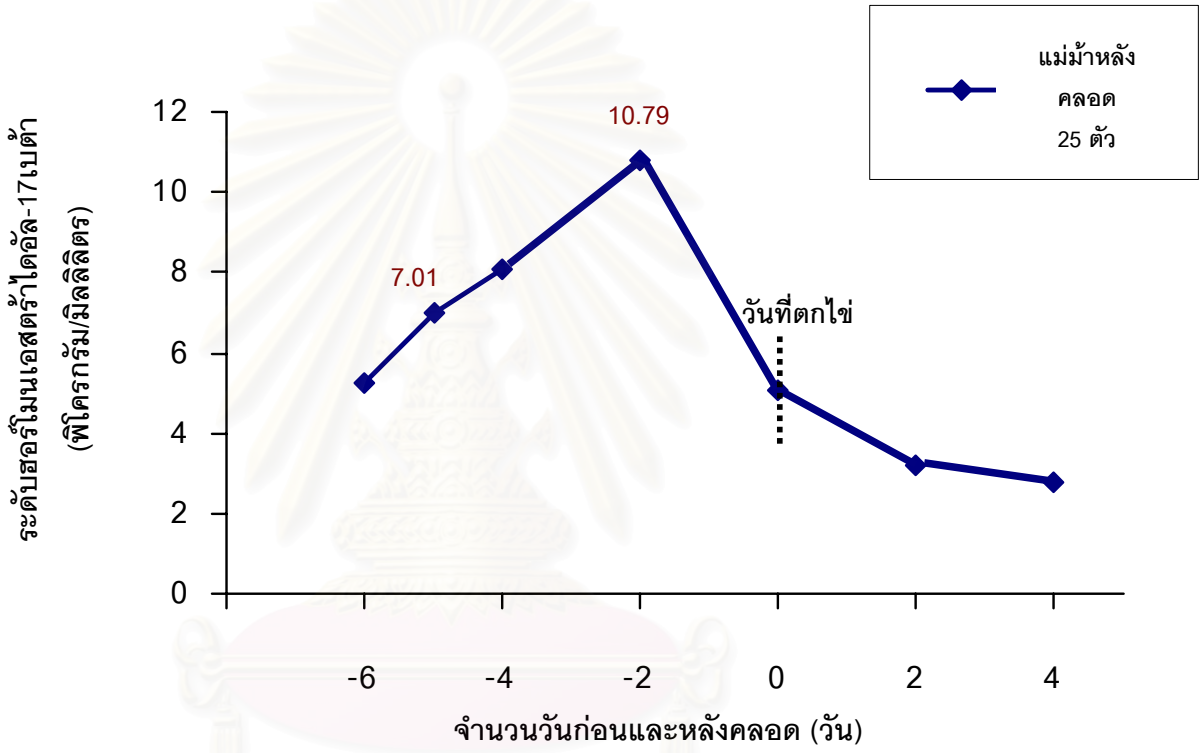
ค่าที่แสดง เป็น ค่าเฉลี่ย และ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.3 ผลการตรวจหาการแสดงลักษณะอาการของสัดแรกหลังคลอด และ การเปลี่ยนแปลงของรังไข่ โดยศึกษาจากระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17 เบต้า ในซีรั่มของแม่ม้าหลังคลอด

จากการตรวจวัดระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล -17เบต้า พบว่าระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าในแม่ม้าส่วนใหญ่เริ่มมีการเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่วันที่ 5 หลังคลอด และเพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจนในช่วง 5 วันก่อนตกไข่ โดยมีระดับเฉลี่ยอยู่ที่ 7.01 ± 2.96 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร (พิสัย = 3-14 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า นั้นจะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ จนมีระดับสูงสุดที่ประมาณ 2 วันก่อนตกไข่ เฉลี่ยเท่ากับ 10.79 ± 3.3 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร (พิสัย = 6-18 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ดังแสดงในตารางที่ 5 หลังจากนั้นระดับของเอสตร้าไดอัล-17เบต้า จะค่อยๆ ลดลง จนกระทั่งมีการตกไข่ และเข้าสู่ระดับ base line หลังเกิดการตกไข่ โดยจะคงระดับเช่นนี้จนกระทั่งเข้าสู่ช่วงกลางของระยะ luteal แต่ในแม่ม้าบางตัวพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมนดังกล่าวในช่วง 5-6 วันหลังตกไข่ ดังแสดงในรูปที่ 11

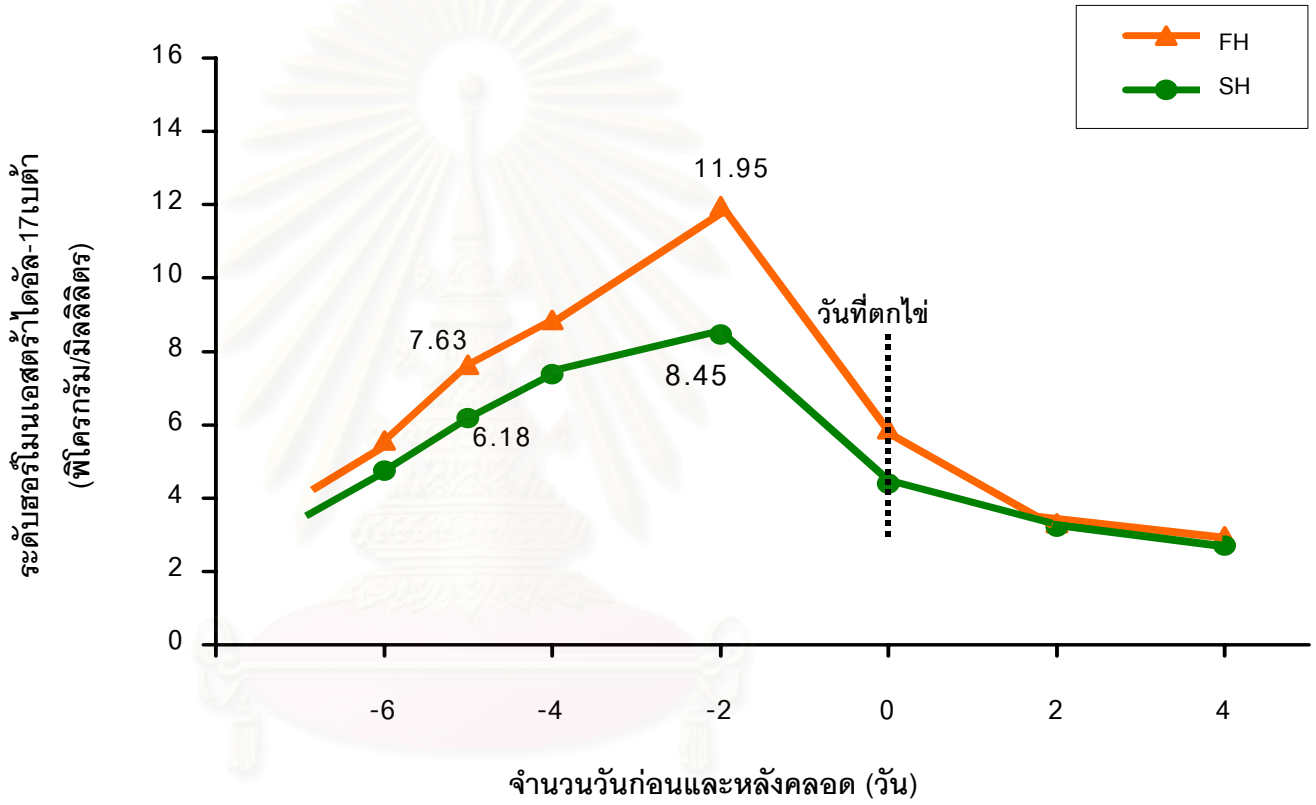
เมื่อทำการเปรียบเทียบระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 5 วัน และ 2 วันก่อนตกไข่ ระหว่างกลุ่มของแม่ม้าที่แสดงอาการเป็นสัด และ กลุ่มของแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังคลอด ดังแสดงในรูปที่ 12 พบว่าระดับของฮอร์โมนดังกล่าวที่ 5 วันก่อนตกไข่ ระหว่างแม่ม้าทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (7.63 $\pm$ 3.53 และ 6.18 $\pm$ 2.4 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ; $P>0.05$) แต่มีความแตกต่างของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าที่ 2 วันก่อนตกไข่ในแม่ม้าทั้งสองกลุ่ม โดยพบว่าแม่ม้าที่แสดงอาการเป็นสัดมีระดับของฮอร์โมนดังกล่าวสูงกว่ากลุ่มของแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (11.95 $\pm$ 3.72 และ 8.45 $\pm$ 2.28 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ; $P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 6

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 11 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในช่วงวันที่ 5 และวันที่ 2 ก่อนตกไข่ในแม่ม้าหลังคลอด จำนวน 25 ตัว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล- 1 7เบต้า ในช่วงวันที่ 5 และวันที่ 2 ก่อนตกไข่ ระหว่างแม่ม้าที่แสดงอาการเป็นสัดหลังคลอดจำนวน 10 ตัว (FH) และ แม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังคลอด จำนวน 13 ตัว (SH)

ตารางที่ 5 ระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าที่ 5 วัน และ ที่ 2 วันก่อนเกิดการตกไข่ในแม่ม้าหลังคลอด จำนวน 25 ตัว

	จำนวนแม่ม้า	ค่าเฉลี่ย ±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าพิสัย
• ระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าที่ 5 วันก่อนตกไข่ (พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	25	7.01±2.96	3-14
• ระดับสูงสุดของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 2 วันก่อนตกไข่ (พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	25	10.79±3.3	6-18

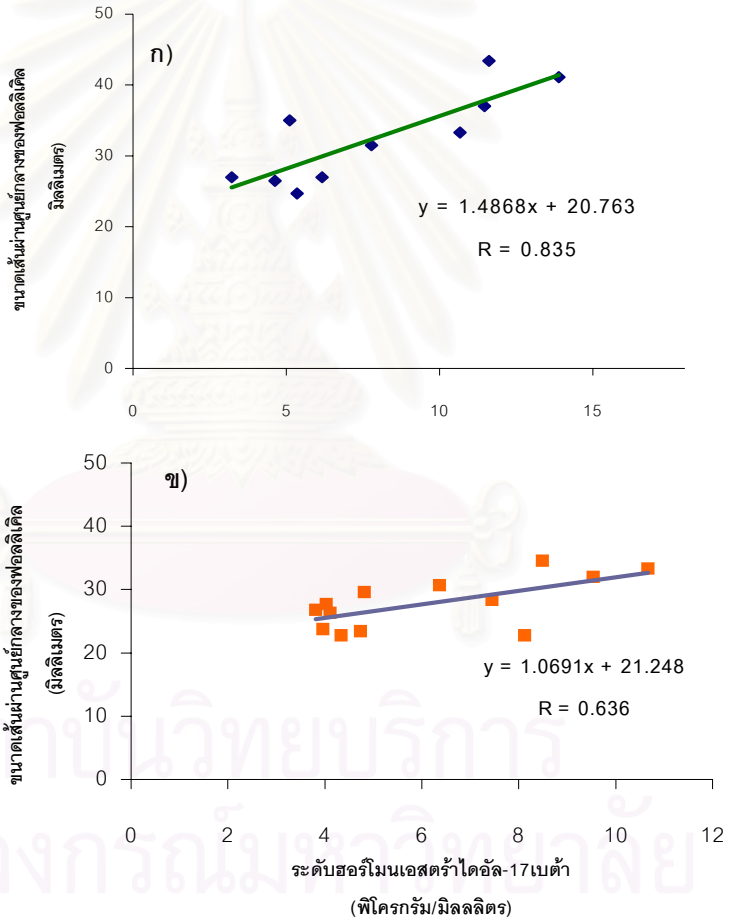
ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 5 วัน และที่ 2 วันก่อนตกไข่ระหว่างแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงอาการของสัดแรกหลังคลอด

	กลุ่มที่แสดงการเป็นสัด (จำนวน 10 ตัว)	กลุ่มที่ไม่แสดงการเป็นสัด (จำนวน 13 ตัว)
• ระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าที่ 5 วันก่อนตกไข่ (พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	7.63 ± 3.53	6.18 ± 2.4
• ระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าที่ 2 วันก่อนตกไข่ (พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	11.95 ± 3.72 [a]	8.45. ± 2.28 [b]

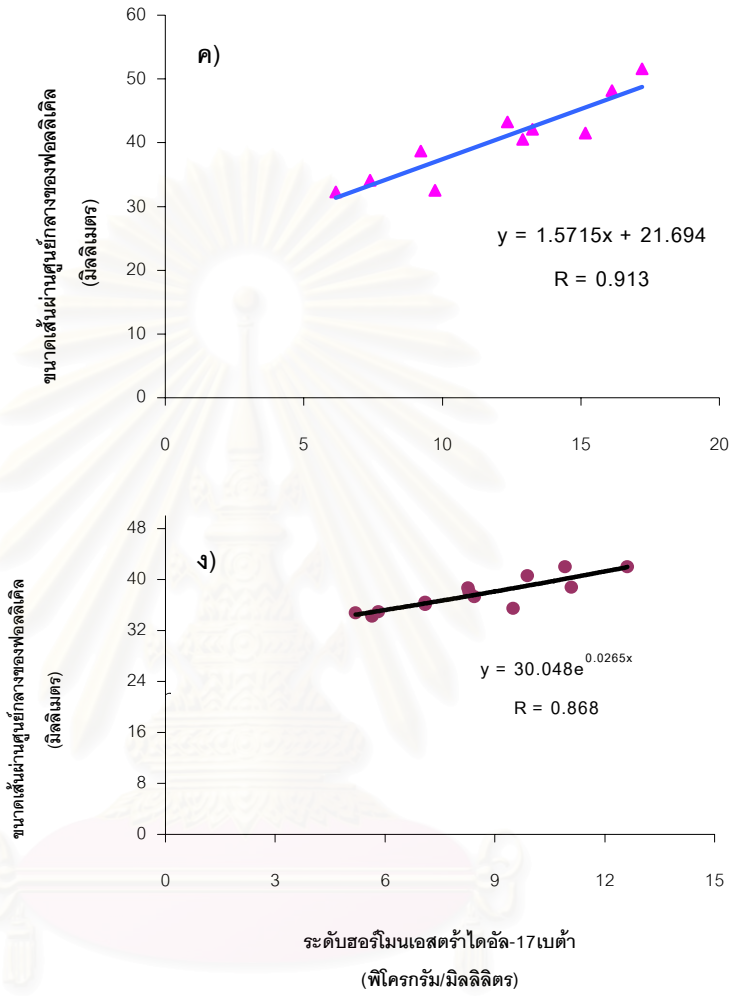
a,b แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น เท่ากับ 0.05

4.4 ผลความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ กับระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ก่อนตกไข่ ในแม่ม้าหลังคลอดที่แสดงและไม่แสดงการเป็นสัด

จากการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุด กับ ระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 5 วัน และที่ 2 วันก่อนตกไข่ ในแม่ม้าหลังคลอดที่แสดงและไม่แสดงการเป็นสัด โดยใช้ linear regression ดังแสดงในรูปที่ 12 (ก-ง) พบว่า ที่ 5 วัน และ 2 วันก่อนตกไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่มีความสัมพันธ์กับระดับ



รูปที่ 12 ก-ข แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิล และ ระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 5 วันก่อนตกไข่ ในแม่ม้าหลังคลอด; ก) ที่แสดงอาการเป็นสัด และ ข) ที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด



รูปที่ 12 ค-ง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่และระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 2 วันก่อนตกไข่ ในแม่ม้าหลังคลอด; ค) ที่แสดงอาการเป็นสัด และ ง) ที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด

ของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในแม่ม้าทั้งสองกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยพบว่า วันที่ 5 ก่อนตกไข่ มีค่าความสัมพันธ์ (R) ในแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงการเป็นสัดอยู่ที่ 0.835 และ 0.636 ตามลำดับ และ ที่ 2 วันก่อนตกไข่ มีค่าเท่ากับ 0.913 และ 0.868 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าความสัมพันธ์ในช่วงวันที่ 5 ก่อนตกไข่ ต่ำกว่าในช่วงวันที่ 2 ก่อนตกไข่ โดยเฉพาะในกลุ่มของแม่ม้าที่ไม่แสดงการเป็นสัดหลังคลอด

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปราย และข้อเสนอแนะ

5.1 ผลการตรวจหาการแสดงลักษณะของอาการสัดแรกหลังคลอด และ ค่าตัวแปรต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง โดยศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมที่แสดงและลักษณะของรังไข่ภายหลังคลอด

ผลการศึกษาพบว่า แม่ม้าทุกตัว (100%) มีการเจริญของรังไข่และเกิดการตกไข่ภายหลังคลอด และมีถึงร้อยละ 92 ของแม่ม้าทั้งหมดที่รังไข่เกิดการตกไข่ก่อนวันที่ 20 หลังคลอด ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลที่เคยมีการศึกษาในต่างประเทศว่า แม่ม้าหลังคลอดส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 95 จะมีการเจริญของรังไข่และเกิดการตกไข่ขึ้นภายใน 20 วันหลังคลอด (Loy, 1980; Koskinen, 1991; Quintero ,1996) และพบว่าร้อยละ 92 ของแม่ม้าที่มีการตกไข่ก่อนวันที่ 20 หลังคลอดนั้น มีเพียงร้อยละ 40 ที่แสดงอาการเป็นสัด โดยร้อยละ 44 ของแม่ม้าหลังคลอดทั้งหมดที่พบ ไม่มีการแสดงลักษณะของอาการเป็นสัดดังกล่าว ซึ่งใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Volkmann และคณะ (1992) ที่ศึกษาดูลักษณะการเป็นสัดและการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ ในแม่ม้า pony จำนวน 23 ตัว พบว่า มีแม่ม้าที่แสดงอาการของสัดแรกหลังคลอดประมาณร้อยละ 43 และไม่แสดงอาการดังกล่าวประมาณร้อย 43 เช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของ Nagy และคณะ (1998) พบว่ามีความแตกต่างกัน โดยพบว่ามีแม่ม้าที่ตกไข่ภายใน 20 วันหลังคลอดและแสดงอาการเป็นสัดประมาณร้อยละ 54 และมีเพียงร้อยละ 27 ที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าผลจากสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสภาพอากาศที่ผันแปรในช่วงที่มีการคลอด เป็นผลทำให้ช่วงความยาวแสงและอุณหภูมิในช่วงวันลดลง (Asdell, 1964; Ginther et.al.,1972) ซึ่งในช่วงที่ทำการศึกษาผู้วิจัยได้ทำการเก็บข้อมูลในส่วนของอุณหภูมิและความผันแปรของสภาพอากาศในแต่ละวัน พบว่าสภาพอากาศในช่วงต้นเดือนพฤษภาคมจนถึงต้นเดือนกรกฎาคมมีความผันแปรค่อนข้างมาก โดยมีความผันแปรมากสุดในช่วงกลางเดือนพฤษภาคม จนถึงท้ายเดือนมิถุนายน คือ มีอุณหภูมิค่อนข้างต่ำและมีฝนตกตลอดทั้งเดือน ซึ่งมีผลต่อแสงสว่างในช่วงเวลากลางวัน โดยพบว่าในช่วงดังกล่าวมีจำนวนของแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังคลอดมากสุด ถึง 11 ตัว จากแม่ม้าที่คลอดลูกในช่วงดังกล่าวทั้งหมด 17 ตัว คิดเป็นร้อยละ 65 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sharp และ Ginther (1975) ที่ทำการศึกษาดูผลการเจริญของรังไข่ และการแสดงอาการเป็นสัดในแม่ม้า pony 2 กลุ่ม โดยแบ่งเป็นกลุ่มทดลองที่มีการควบคุมปริมาณของแสงและอุณหภูมิ และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับปัจจัยดังกล่าว พบว่าแม่ม้าทุกตัวในกลุ่ม

ทดลองมีการแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดให้เห็น แต่ไม่พบลักษณะดังกล่าวในกลุ่มควบคุมตลอดช่วงที่ทำการศึกษา นอกจากนี้ยังพบว่า ผลจากสภาพจิตใจของแม่ม้าในขณะมีการเลี้ยงลูกก็อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งเสริมให้การแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดไม่ชัดเจน หรือ ไม่มีการแสดงอาการเป็นสัดให้เห็น (Stabenfeldt and Hughes, 1980; Volkkmann et.al., 1992) และการศึกษาของ Henneke และ Kreider (1979) ที่ทำการควบคุมระยะเวลาในการเลี้ยงลูกของแม่ม้าตั้งแต่คลอดจนกระทั่งมีการตกไข่ครั้งแรก โดยแบ่งการควบคุมออกเป็น 4 ช่วงเท่าๆ กัน นานประมาณ 1 ชั่วโมง พบว่ามีผลทำให้แม่ม้าแสดงการกลับสัดและตกไข่ได้เร็วกว่าในแม่ม้าที่ให้เลี้ยงลูกตลอดเวลาตามปกติ

เมื่อทำการพิจารณาถึงค่าตัวแปรต่างๆ ที่เกี่ยวข้องต่อการแสดงการเป็นสัดแรกหลังคลอด พบว่าช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงแสดงการเป็นสัดจากการศึกษาครั้งนี้มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 10.3 ± 2.95 วัน หรือมีช่วงเวลาตั้งแต่ 7-17 วัน ซึ่งใกล้เคียงกับที่เคยมีการรายงานไว้ของ Badi (1981) คือ เฉลี่ยที่ประมาณ 9.8 ± 2.34 วัน และมีช่วงเวลาอยู่ที่ 5-18 วัน (Matthew, 1967; Blanchard et.al.,1998; Samper, 2000) ส่วนช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ครั้งแรกนั้น มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 13.39±2.61 วัน ซึ่งสูงกว่าที่เคยมีรายงานในการศึกษาของ Loy (1980) และ Koskinen (1991) เล็กน้อย โดยพบว่าค่าเฉลี่ยของช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ครั้งแรกมีค่าอยู่ที่ 10.2 ± 2.4 วัน และ 11.7 ± 3.4 วัน ตามลำดับ ทั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากสภาพความสมบูรณ์ของร่างกายที่ลดลงในช่วงระหว่างที่มีการเลี้ยงลูก โดยพบว่าแม่ม้าบางส่วนที่ใช้ทำการศึกษาในครั้งนี้มีคะแนนความสมบูรณ์ของร่างกายลดลงจากระดับ 5-5.5 อยู่ที่ 4-4.5 ภายหลังคลอดได้ประมาณ 6-8 วัน ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่ชี้ให้เห็นว่าแม่ม้าที่มีความสมบูรณ์ของร่างกายทั้งก่อนและหลังคลอดต่ำกว่าระดับ 5 จะมีช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนกระทั่งตกไข่ครั้งแรกและครั้งที่สองช้ากว่าแม่ม้าที่มีความสมบูรณ์ของร่างกายเท่ากับหรือมากกว่าระดับ 5 ขึ้นไป (Henneke et.al.,1984; Hines et.al., 1987) อย่างไรก็ตามความปรวนแปรของสภาพอากาศในช่วงเวลาที่ทำการศึกษาก็นับเป็นปัจจัยร่วมหนึ่งที่น่าจะมีผลต่อช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนกระทั่งตกไข่ครั้งแรกของการศึกษาครั้งนี้

ผลจากการสำรวจการเจริญของขนาดฟอลลิเคิลบนรังไข่ ตั้งแต่วันที่ 5 จนถึงวันที่มีการตกไข่ พบว่า บนรังไข่ของแม่ม้าส่วนใหญ่เริ่มมีการเจริญของฟอลลิเคิลหลายขนาดตั้งแต่วันที่ 5 หลังคลอด ฟอลลิเคิลที่พบมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 10-25 มิลลิเมตร โดยพบว่าฟอลลิเคิลขนาดกลางที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 25 มิลลิเมตร จะเปลี่ยนแปลงเป็นฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ ที่

ประมาณ 5 วันก่อนตกไข่ ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่เคยมีรายงานไว้ว่า ในช่วงประมาณ 4-6 วันก่อนตกไข่ จะพบว่าเริ่มมีการเจริญของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ซึ่งจะกลายเป็นฟอลลิเคิลที่เกิดการตกไข่ต่อไป (McDonald, 1980) และยังใกล้เคียงกับที่ Pierson และ Ginther (1985) ได้ทำการศึกษาดูการเจริญของฟอลลิเคิลในช่วงก่อนตกไข่ จำนวน 79 ครั้ง ในแม่ม้า 40 ตัว พบว่าฟอลลิเคิลในช่วงก่อนตกไข่จะมีการเปลี่ยนเป็นฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ที่ประมาณ 7 วันก่อนตกไข่ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ที่ 29.4 ± 0.8 มิลลิเมตร ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาครั้งนี้ที่มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 30.19 ± 5.48 มิลลิเมตร นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราการเจริญของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดในช่วง 7 วันก่อนตกไข่นั้น มีค่าเท่ากับ 2.7 มิลลิเมตรต่อวัน สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 2.74 ± 0.59 มิลลิเมตรต่อวัน และจากการศึกษาพบว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่1 วันก่อนตกไข่นั้นมีขนาดตั้งแต่ 35-55 มิลลิเมตร ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงเดียวกับข้อมูลที่ได้เคยมีการรายงานไว้ในต่างประเทศ (Hughes et.al., 1975; Pierson and Ginther,1985; Ginther, 1986; Squires et.al., 1988)

5.2 การเปรียบเทียบค่าตัวแปรต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องต่อการแสดงลักษณะอาการของสัดแรกหลังคลอด ในแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงอาการเป็นสัด

จากผลการเปรียบเทียบค่าตัวแปรต่างๆ ที่เกี่ยวข้องต่อการแสดงลักษณะการเป็นสัดในแม่ม้าหลังคลอดที่แสดงและไม่แสดงอาการเป็นสัด โดยทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ครั้งแรกภายใน 20 วันหลังคลอด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดที่ 5 วัน และ 1 วันก่อนตกไข่ รวมถึงอัตราการเจริญที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละช่วงวันของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดตั้งแต่วันที่ 5 จนถึงวันที่ 1 ก่อนตกไข่ พบว่า ค่าตัวแปรต่าง ๆ ที่ทำการเปรียบเทียบในแม่ม้าทั้งสองกลุ่มนั้น ไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) ยกเว้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดที่ 1 วันก่อนตกไข่ โดยพบว่าในกลุ่มของแม่ม้าที่แสดงอาการเป็นสัดภายหลังคลอดมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่กว่ากลุ่มของแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คือ 43.54 ± 6.67 และ 38.55 ± 2.59 มิลลิเมตร ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Nelson และคณะ (1985) ที่เปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ 2 และ 1 วันก่อนตกไข่ในแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงอาการเป็นสัด พบว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ 2 วันก่อนตกไข่นั้นไม่ต่างกัน แต่พบความแตกต่างของเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ 1 วันก่อนตกไข่ โดยมีขนาดอยู่ที่ 45.6 ± 2.1 และ 35.8 ± 4.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ ทั้งนี้แม้ว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดที่ 5 วันก่อนตกไข่ และ

อัตราการเจริญที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละช่วงวันของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดตั้งแต่วันที่ 5 จนถึงวันที่ 1 ก่อนตกไข่ จะไม่ต่างกันแต่ก็พบว่าในกลุ่มของแม่ม้าที่แสดงอาการเป็นสัดภายหลังคลอดมีแนวโน้มของค่าตัวแปรทั้งสองสูงกว่ากลุ่มของแม่ม้าที่ไม่แสดงการเป็นสัดให้เห็น (32.64 ± 6.49 และ 27.86 ± 4.03 มิลลิเมตร กับ 2.77 ± 0.48 และ 2.66 ± 0.68 มิลลิเมตรต่อวัน ตามลำดับ) อย่างไรก็ตามพบว่า ผลการเปรียบเทียบค่าตัวแปรของช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ครั้งแรกภายใน 20 วันหลังคลอดในกลุ่มของแม่ม้าที่แสดงอาการเป็นสัดนั้นนานกว่าในกลุ่มของแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดเล็กน้อย (14.10±3.07 และ 12.27±1.74 วัน ตามลำดับ) ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าผลดังกล่าวอาจเกิดเนื่องจากปัจจัยภายในตัวของแม่ม้าแต่ละตัว โดยเฉพาะปัจจัยจากจำนวนครั้งของการตั้งท้อง ซึ่งกลุ่มของแม่ม้าที่มีช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงมีการตกไข่ครั้งแรกภายใน 20 วันหลังคลอด ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จำนวน 23 ตัว พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ของแม่ม้าที่เคยให้ลูกครั้งแรกสูงถึงร้อยละ 48 โดยจากแม่ม้าในกลุ่มนี้ พบว่าเป็นกลุ่มแม่ม้าที่แสดงการเป็นสัดภายหลังคลอดมากกว่ากลุ่มแม่ม้าที่ไม่แสดงการเป็นสัด (60% และ 40% ตามลำดับ) ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่พบว่าค่าของช่วงเวลาการตกไข่ครั้งแรกหลังคลอดในแม่ม้าที่เคยให้ลูกครั้งแรกจะนานกว่าแม่ม้าที่เคยให้ลูกมาแล้วหลายครั้ง ซึ่งแม่ม้าที่เคยให้ลูกครั้งแรกส่วนใหญ่มักมีอายุเฉลี่ยไม่เกิน 7 ปี (Nagy et.al.,1998) และยังสอดคล้องกับผลการศึกษาที่เคยมีรายงานในสัตว์อื่นอีกด้วย (Huszenicza et.al.,1987; Huszenicza et.al.,1988)

5.3 การตรวจหาการแสดงลักษณะอาการของสัดแรกหลังคลอด และการเปลี่ยนแปลงของรังไข่โดยศึกษาจากระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในซีรั่มของแม่ม้าหลังคลอด

ก่อนการตรวจวัดหาระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในซีรั่มแม่ม้าที่ใช้ทำการศึกษา ได้ทำการทดสอบค่าความจำเพาะของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า แอนติบอดี ค่าความแม่นยำของการตรวจวัด และ ความถูกต้องของการตรวจวัดแล้วพบว่า ค่าที่ได้จากการตรวจวัดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน

ผลจากการตรวจวัดระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า พบว่ามีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าทั้งในช่วงก่อนและหลังเกิดการตกไข่ สอดคล้องกับข้อมูลที่เคยมีรายงานไว้ (Pattison et.al., 1972; Nett et.al., 1975; Noden and Oxender,1978; Nelson et.al., 1985) โดยระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าจะเพิ่มสูงขึ้น

ในช่วง 5 วันก่อนตกไข่ และจะมีระดับสูงสุดประมาณ 2 วันก่อนตกไข่ โดยเฉลี่ยอยู่ที่ 10.79 ± 3.3 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Noden และ คณะ (1975) ที่พบว่าระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่วัดได้นั้นมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 11.5 ± 2.5 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้นระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า จะค่อยๆ ลดลง จนกระทั่งมีการตกไข่ และเข้าสู่ระดับต่ำหลังเกิดการตกไข่ อย่างไรก็ตามพบว่าแม่ม้าบางตัวมีการเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในช่วง 5-6 วันหลังตกไข่ ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าในช่วงกลางของระยะ diestrus หรือในระหว่างวันที่ 5 และ 6 หลังตกไข่ เกิดมีการเจริญของฟอลลิเคิลขนาดเล็กขึ้นใหม่จำนวนหนึ่ง ซึ่งเป็นผลทำให้สามารถพบการเพิ่มของระดับฮอร์โมนดังกล่าวได้ (Palmer and Terqui, 1977; Lasley et.al.,1990; Daels et.al., 1991)

ในส่วนของการเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าที่ 5 วัน และ ที่ 2 วันก่อนตกไข่ ระหว่างกลุ่มของแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงการเป็นสัดที่หลังคลอดนั้น พบว่าระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าที่ 2 วันก่อนตกไข่ ในกลุ่มของแม่ม้าที่แสดงอาการเป็นสัดสูงกว่าในกลุ่มแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดอย่างเด่นชัด โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 11.95 ± 3.72 และ 8.45 ± 2.28 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สอดคล้องกับข้อมูลที่ชี้ให้เห็นว่าแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด หรือเป็นสัดเงียบนั้น จะมีระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ต่ำกว่าในแม่ม้าที่แสดงอาการเป็นสัดให้เห็น (Nett et.al., 1973; Nelson et.al.,1985) และยังพบว่าสอดคล้องกับที่มีรายงานในสุกร (Guthrie et.al.,1972) โค (Kanchev et.al., 1976) แกะ และ แพะ (Hulet and Shelton, 1980) เช่นกัน แม้ว่าจะไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า เมื่อเวลา 5 วันก่อนตกไข่ ระหว่างแม่ม้าทั้งสองกลุ่ม แต่ในกลุ่มของแม่ม้าที่แสดงอาการเป็นสัดพบว่ามีแนวโน้มของระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า สูงกว่ากลุ่มของแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด (7.63 ± 3.53 และ 6.18 ± 2.4 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

5.4 การหาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดและระดับสูงสุดของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าก่อนตกไข่ ในแม่ม้าหลังคลอดที่แสดงและไม่แสดงอาการเป็นสัด

ผลการศึกษาพบว่า มีความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ที่สุด และ ระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ที่ 5 วัน และ 2 วันก่อนตกไข่ ในแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงอาการเป็นสัดให้เห็น สอดคล้องกับข้อมูลที่ทำการศึกษาในแม่ม้าที่ไม่ได้ตั้งท้อง ซึ่ง

พบว่าระดับการเพิ่มสูงขึ้นของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า นั้น มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของขนาดฟอลลิเคิลในช่วงที่แม่ม้าเข้าสู่วงรอบการเป็นสัด และพบว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวจะเกิดขึ้นในช่วงวันที่ 5 ก่อนตกไข่ จนถึงวันที่มีการตกไข่ (Noden et.al., 1975; Nelson et.al., 1985)

สรุป

การศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ และ ระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในแม่ม้าพันธุ์ผสมพื้นเมืองทางภาคเหนือของประเทศไทย ภายหลังจากการคลอดนั้น มีการเจริญของรังไข่และเกิดการตกไข่ทุกตัว โดยร้อยละ 92 ของแม่ม้าทั้งหมด มีการตกไข่ภายใน 20 วันหลังคลอด ซึ่งมีถึงร้อยละ 44 ที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด และมีเพียงร้อยละ 40 ที่แสดงอาการเป็นสัด ทั้งนี้มีค่าเฉลี่ยของช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงแสดงอาการเป็นสัดครั้งแรก ระยะเวลาที่แสดงอาการเป็นสัด ช่วงเวลาตั้งแต่คลอดจนกระทั่งมีการตกไข่ครั้งแรก ขนาดฟอลลิ-เคิลที่ใหญ่ที่สุดที่ 5 และ 1 วันก่อนมีการตกไข่ อัตราการเจริญของฟอลิเคิลในช่วง 5 วันก่อนตกไข่ และ ระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าสูงสุด ที่ 5 และ 2 วันก่อนตกไข่ อยู่ที่ 10.3±2.95 วัน , 4.6±1.35 วัน , 13.39±2.61 วัน , 30.19±5.48 และ 41.11±5.31 มิลลิเมตร , 2.74±0.59 มิลลิเมตรต่อวัน และ 7.01±2.96 และ 10.79±3.3 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยพบว่าขนาดของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดที่ 1 วันก่อนตกไข่ และระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17 เบต้าสูงสุดที่ 2 วันก่อนตกไข่ ในแม่ม้าที่แสดงการเป็นสัดมีค่าสูงกว่าในแม่ม้าที่ไม่แสดงการเป็นสัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ค่าตัวแปรอื่น ๆ ในกลุ่มแม่ม้าที่แสดงการเป็นสัด ยังพบว่ามีแนวโน้มสูงกว่าในแม่ม้าที่ไม่แสดงการเป็นสัดเช่นกัน และเมื่อทำการหาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของฟอล-ลิเคิลขนาดใหญ่ และ ระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17 เบต้า ที่ 5 วัน และ 2 วันก่อนตกไข่ พบว่า มีความสัมพันธ์กันทั้งในแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงการเป็นสัดที่หลังคลอด

จากการสรุปดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ผลของการศึกษาครั้งนี้สามารถนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการเลือกพิจารณาแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงอาการเป็นสัดที่หลังคลอดได้ ซึ่งจะช่วยในการกำหนดวันผสมพันธุ์แม่ม้าที่หลังคลอดของไทยได้ โดยควรพิจารณาทำการผสมที่ 2 วันก่อนตกไข่ ซึ่งค่าเฉลี่ยของช่วงเวลาตกไข่ในการศึกษาครั้งนี้มีค่าอยู่ที่ 13.39 วัน ดังนั้นจึงควรทำการผสมพันธุ์ตั้งแต่วันที่ 11 หลังคลอด โดยทำการผสมวันละ 1 ครั้ง วันเว้นวัน ในแม่ม้าที่แสดงอาการเป็นสัดจนกว่าจะหยุดแสดงอาการดังกล่าว หรือทำการผสมพันธุ์ในแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด วันละ 1 ครั้ง วันเว้นวัน อย่างน้อย 2-3 ครั้ง ทั้งนี้พบว่าช่วงวันดังกล่าวสอดคล้องกับข้อมูลที่เคยมีรายงานว่า

การผสมพันธุ์แม่ม้าที่มีการตกไข่หลังวันที่ 10 ของการคลอด จะทำให้มีอัตราในการผสมติด และอัตราการตั้งท้องสูงกว่าทำการผสมพันธุแม่ม้าที่มีการตกไข่ก่อนวันที่ 10 หลังคลอด (Loy, 1980; Ginther, 1992; Darling and Giffin, 1999) เนื่องจากสภาพมดลูกในช่วงดังกล่าวมีการปรับตัวให้พร้อมต่อการฝังตัวของตัวอ่อน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gomez-Cuetara และคณะ (1995) ที่ทำการศึกษาดูการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคของเยื่อบุมดลูกในแม่ม้าหลังคลอด พบว่าการเข้าอู่ของมดลูกนั้นจะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ได้เร็วที่สุดภายใน 10 วันหลังคลอด

อย่างไรก็ตาม ช่วงวันที่กำหนดวันผสมพันธุ์ดังกล่าวเป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้นที่ใช้ในการพิจารณา ซึ่งอาจมีความผันแปรได้ในแม่ม้าแต่ละตัว นอกจากนี้อาจมีผลจากทั้งปัจจัยภายในและภายนอกเข้ามาเกี่ยวข้อง ทำให้ช่วงวันดังกล่าวคลาดเคลื่อนได้ ดังนั้นจึงควรคำนึงถึงการจัดการทั่วไป อาทิเช่น การใช้แสงเทียม (Artificial light) ความสมบูรณ์ของร่างกาย ระยะเวลาของการเลี้ยงลูก เป็นต้น และควรพิจารณาเลือกใช้เทคนิคพื้นฐานที่เหมาะสมต่างๆ ซึ่งได้แก่ การตรวจดูพฤติกรรมการเป็นสัด โดยการตรวจสัดให้นานขึ้นและบ่อยขึ้น หรือ มีการสับเปลี่ยนม้าเพศผู้ที่ใช้ในการตรวจสัด การล้วงตรวจดูการเจริญของรังไข่ การใช้เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงสำหรับล้วงตรวจผ่านทางทวารหนัก โดยการดูลักษณะเนื้อสัมผัส ขนาด และรูปร่างของฟอลลิเคิลที่เจริญอยู่ภายในรังไข่ รวมทั้งการตรวจวัดระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในช่วงที่รังไข่มีการเจริญของฟอลลิ-เคิลขนาดใหญ่ในแม่ม้าที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด เข้ามาช่วยในการประเมินลักษณะของระบบสืบพันธุ์ เพื่อช่วยให้การเลือกช่วงเวลาของการผสมพันธุ์มีความถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น อย่างไรก็ตามการตรวจวัดค่าระดับฮอร์โมนดังกล่าวโดยทำการตรวจในห้องปฏิบัติการเป็นวิธีที่ค่อนข้างยุ่งยากสำหรับใช้ในการปฏิบัติทางคลินิก อีกทั้งยังมีค่าที่เฉพาะในแต่ละห้องปฏิบัติการ ดังนั้นอาจพิจารณาเลือกใช้ชุดตรวจวัดระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า แทน ซึ่งจะต้องมีการศึกษาต่อไป

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการนำผลการศึกษาที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในแม่ม้าหลังคลอด โดยควรมีการศึกษาถึงอัตราการผสมติด เปอร์เซ็นต์การตั้งท้อง รวมถึงจำนวนของลูกม้าทั้งหมดที่ได้หลังจากการผสมที่สัดแรกหลังคลอด โดยอาจทำการเปรียบเทียบค่าดังกล่าวในกลุ่มของแม่ม้าที่แสดงและไม่แสดงการเป็นสัดร่วมด้วย หรืออาจศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสภาพเยื่อบุมดลูกภายหลังคลอด ด้วยการ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตรวจทางจุลกายวิภาค ร่วมกับการตรวจโดยใช้เครื่องเอ็นโดสโคป เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาทำการผสมพันธุ์แม่ม้าที่หลังคลอด ร่วมกับการเจริญของรังไข่ที่ได้ทำการศึกษาไว้แล้วข้างต้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

นิมิต เตชไกรชนะ. (2543). เอสโตรเจนในฮอร์โมนทดแทน. ฮอร์โมนทดแทนในวัยหมดระดู. กรุงเทพมหานคร. บียอนด์ เอ็นเทอร์ไพรซ์, หน้า 36-41.

ทองฑีฆายุ ทองใหญ่ ม.ล. (2544). พันธุ์ม้าต่างๆ. ตำราม้าของเก่ากับตำราลักษณ์ม้า . พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร. จงเจริญการพิมพ์, หน้า 76-77.

มงคล เตชะกำพุ. (2543). การสร้างและการควบคุมการเจริญของฟอลลิเคิล. เทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ในปศุสัตว์. กรุงเทพมหานคร. บริษัทด่านสุทธาการพิมพ์, หน้า 34-35.

มณฑิรา ตัณฑ์เกยูร. (2526). ฮอร์โมนจากต่อมเพศ. เภสัชวิทยาของฮอร์โมน และยาต้านฤทธิ์ฮอร์โมน. กรุงเทพมหานคร. ฤทธิศรีการพิมพ์, หน้า 164-167.

ภาษาอังกฤษ

Asdell, S.A. (1964). Patterns of Mammalian Reproduction. New York: Comstock Publishing Association, pp. 516

Back, D.G., Pickett, B.W., Voss, J.L. and Seidel, G.E. (1974). Observations on the sexual behavior of nonlactating mares. J. Am. Vet. Med. Assoc. 165:717-720.

Badi, A.M., O' Byrne, T.M. and Cunningham, E.P. (1981). An analysis of reproductive performance in Thoroughbred mares. Ir. Vet.J. 35: 1-12.

Blanchard, T.L., Varner, D.D. and Schumacher, J. (1998). Management of the pregnant mare. Manual of equine reproduction. St. Louis: Mosby-Year Book, pp.34,45,208.

Daels, P.F. et.al. (1991). Urinary and plasma estrogen conjugates, estradiol and estrone concentrations in non-pregnant and early pregnant mares. Theriogenology. 35: 1001-1017.

Daels,P.F. and Hughes, J.P.(1993). The normal estrous cycle. Equine Reproduction. McKinnon, A.O. and Voss, J.L. (ed.). Philadelphia: Lea & Febiger, pp.121-132.

Darling, K. and Giffen, J.M. (1999). The breeding mare. Veterinary guide to horse

breeding. New York: Howell book house, pp.15.

Davies-Morel, M.C.G. (1999). Endocrine control of reproduction in the mare. Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud management. UK: CABI Publishing, pp. 37-38.

Davies-Morel, M.C.G. (1999). Selection of the mare and stallion for breeding. Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud management. UK: CABI Publishing, pp. 151,166.

England, G.C.W. (1996). Endocrinology of the oestrous cycle and puberty. Allen's fertility and obstetrics in the horse. 2nd ed. Sutton, J.B., and Swift, S.T. London: Blackwell Science, pp. 9.

England, G.C.W. (1996). Post-partum events. Allen's fertility and obstetrics in the horse. 2nd ed. Sutton, J.B., and Swift, S.T. London : Blackwell Science, pp.74-75.

Ginther, O.J., Whitmore, H.L. and Squires, E.L. (1972). Characteristics of estrus, diestrus, and ovulation in mares and effects of season and nursing. Am. J. Vet. Res. 33:1935-1939.

Ginther, O.J. (1974). Occurrence of Anestrus, Estrus, Diestrus, and Ovulation over a 12-Month Period in Mares. Am. J. Vet. Res. 35(9): 1173-1179.

Ginther, O.J. (1979). Reproductive biology of the mare. Basic and applied aspects. Michigan: Williams & Wilkins, pp. 224.

Ginther, O.J. (1986). Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare. USA: Equiservices WI, pp. 378.

Ginther O.J. (1992). Reproductive Biology of the Mare. 2nd ed. Winconsin: Equiservices, p. 59-82.

Guthrie, H.D., Henricks, D.M. and Handlin, D.L. (1972). Estrogen, progesterone, and luteinizing hormone prior to estrus and during early pregnancy in pigs, Endocrin.91: 675-679.

Henneke, D.R. and Kreider, J.L. (1979). Effects of restrictive suckling on postpartum reproductive performance in mares. Am. J. Vet. Res. 40:1281-1284.

Henneke, D.R., Potter, B.D. and Kreider, J.L. (1984). Body condition during pregnancy

and lactation and reproductive efficiency of mares. Theriogenology. 21: 897-909.

Hines, K.K., Hodge, S.L., Kreider, J.L., Potter, G.D. and Harms, P.G. (1987). Relationship between body condition and levels of serum LH in postpartum mares. Theriogenology. 28(6): 815-825.

Hillman, R.B. and Loy, R.G. (1975). Oestrogen excretion in mare in relation to various reproductive states. J. Reprod. Fertil. Suppl. 23: 223-230.

Hughes, J.P., Stabenfeldt, G.H. and Evans, J.W. (1975). The oestrous cycle of the mare. J.Reprod. Fertil. Suppl. 23: 161-166.

Hughes, J.P., Stabenfeldt, G.H. and Evans, J.W. (1972). Clinical and endocrine aspects of the estrus cycle of the mare. Proc. Am. Assoc. Equine Pract. p. 119-148.

Hulet, C.V. and Shelton, M. (1980). Sheep and Goats. Reproduction in Farm Animals. Hafez, E.S.E., (ed.). Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 346-357.

Huszenicza , Gy., Molnár, L., Solti, L. and Haraszti, J. (1987). Postpartal ovarian function in Holstein and crossbred cows on large scale farms in Hungary. J. Vet. Med. Ass. 34:249-263.

Huszenicza , Gy., Haraszti, J. Ekés, K., Yaro, A.C., Molnár, L., Zöldág, L., Szenci, O. and Solti, L. (1988). Characteristics of genital and metabolic functions of suckling beef cows at the beginning of the breeding season in large scale farms in Hungary. J. Vet. Med. Ass. 35: 761-769.

Johnson, M.H. and Everitt, B.J. (1988). The Sex Steriods. Essential Reproduction. London: S.T.Blackwell science, pp.35-37.

Kamonpatana, M., Luvira, Y., Bodhipaksha, P. and Kunawongkrit, A. (1976). Serum progesterone, 17-Hydroxyprogesterone and 17-beta oestradiol during oestrous cycle in swamp buffalo in Thailand. On Nuclear Techniques in Animal Production and Health as Related to the Soil-plant System. IAEA. Vienna. pp. 569-578.

Kanchev, L.N., Dobson, H., Ward, W.R. and Fitzpatrick, R.J. (1976). Concentrations of steroids in bovine peripheral plasma during the oestrus cycle and the effect of betamethasone treatment, J. Reprod. Fert. 48: 341-345.

Kindahl, H. (1996). Reproductive physiology in the mare. Compendium in equine

Reproduction. 2nd ed. Uppsala, Sweden. pp. 18.

Koskinen, E. (1991). Post-Partum Ovarian activity in Finnhorse mares with special reference to seasonal effects. Acta. Vet. Scand. 32: 313-318.

Lasley, B. et. al. (1990). Estrogen conjugate concentrations in plasma and urine reflect estrogen secretion in the non-pregnant and pregnant mare: A review. J. Equine Vet. Sci. 10: 444-448.

Lewis, L.D. (1995). Broodmare feeding and care. Feeding and care of the horse. 2nd ed. USA: Williams & Wilkins, pp.236-237.

Lieux, P. (1980). Comparative results of breeding on the first and second post-foaling heat periods. Proc. Am. Assoc. Equine Pract., Atlanta:129-132.

Lloyd, C.W., Lobotsky J., Weisz, J., Baird, D.T., McCracken, J.A., Pupkin, M., et.al. (1971). Concentration of unconjugated estrogens, androgens and gestagens in ovarian and peripheral venous plasma of woman : the normal menstrual cycle. J. Clin. Endocrinol. Metab. 32:155-166.

Loy, R.G. (1968). Effects of Artificial lighting Regimes on Reproductive Patterns in Mares. Proc. 14th Ann. Con. Am. Ass. Equine Practitioners.: 159-169.

Loy, R.G. (1980). Characteristics of post partum reproduction in mares. Vet. Clin. North Am. Large Anim. Pract. 2: 345-359.

Matthews, R.G., Rophia, R.T. and Butterfield, R.M. (1967). The phenomenon of foal heat in mares. Aust. Vet. J. 43: 579-582.

McDonald, L.E. (1980). Reproductive Pattern of Horses. Veterinary Endocrinology and Reproduction. 3rd ed. Philadelphia : Lea & Febiger, pp.403.

Mitchell, D. and Allen, W.R. (1975). Observation on reproductive performance in the yearling mare. J. Reprod. Fertil. Suppl. 23: 531.

Nagy, P., et.al. (1998). Factors influencing ovarian activity and sexual behavior of post partum mares under farm conditions. Theriogenology. 50: 1109-1119.

Neely, D.P. (1983). Reproduction endocrinology and fertility in the mare. Equine Reproduction. Neely, D.P., Liu, I.K.M., Hillman, R.B. and Hughes, J.P.(ed.). USA : Veterinary Learning Systems, pp.15.

Nelson, E.M., Kiefer, B.L., Roser, J.F. and Evans, J.W. (1985). Serum estradiol-17β

concentrations during spontaneous silent estrus and after prostaglandin treatment in the mare. Theriogenology 23(2) :241-262.

Nett, T.M., Holtan, D.W. and Estergreen, V.L. (1973). Plasma estrogens in pregnant and post-partum mares. J. Anim. Sci. 37: 962-970.

Nett, T.M., Holtan, D.W. and Estergreen, V.L. (1975). Levels of LH, Prolactin and oestrogens in the serum of post-partum mares. J. Reprod. Fert. Suppl. 23: 201-206.

Nett, T.M. (1993). Estrogens. Equine Reproduction. McKinnon, A.O. and Voss, J.L.,(ed.). Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 65-68.

Nishikawa, Y. (1959). Studies on reproduction in horses. Japan Racing Association, Minatoku, Tokyo, Japan: 43-48.

Noden, P.A., Oxender, W.D. and Hafs, H.D. (1975). The cycle of oestrus, ovulation and plasma levels of hormones in the mare. J. Reprod. Fertil. Suppl. 23: 189-192.

Noden, P.A. and Oxender, W.D. (1978). Plasma Luteinizing hormone, Progesterones, and Estrogens in Mares During Gestations, Parturition and First Postpartum Estrus (Foal estrus). Am. J. Vet. Res. 39: 1964-1967.

Oxender, W.D., Noden, P.A. and Hafs, H.D. (1977). Estrus, ovulation, and serum progesterone, estradiol and LH concentrations in mares after increased photoperiod during winter. Am. J.Vet. Res. 38: 203-207.

Palmer, E. and Terqui, M. (1977). The measurement of total plasma oestrogens during the follicular phase of the mare's oestrous cycle. Theriogenology. 7 : 331-338.

Pattison, M.L., Chen, C.L., Kelley, S.T. and Brandt, G.W. (1974). Luteinizing hormone and estradiol in peripheral blood of mares during estrous cycles. Biol. Reprod. 11 : 245-250.

Pierson, R.A. and Ginther, O.J. (1985). Ultrasonic evaluation of the preovulatory follicle in the mare. Theriogenology. 24(3): 359-368.

Pierson, R.A. and Ginther, O.J. (1988). Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. Theriogenology. 29(1): 21-37.

Pierson, R.A. (1993). Folliculogenesis and ovulation. Equine reproduction. McKinnon, A.O. and Voss, J.L. (ed.). Philadelphia : Lea & Febiger, pp.164.

Quintero, B., Manzo, M., Diaz, T., Verde, O., Benacchio, N. and Sifontes, L. (1996). Characteristics of postpartum ovarian activity in thoroughbred mares in a tropical environment. Proc 13th Int. Congr. Anim. Reprod. AI. 3: 17-23.

Reimers, T.J., Lamb, S.V., Barlett, S.A., Matamoros, R.A., Cowan, R.G. and Engle, J.S. (1991). Effects of hemolysis and storage on quantification of hormones in blood samples from dogs, cattle, and horses. Am. J. Vet. Res. 52(7): 1075-1080.

Samper, J.C. (2000). Anatomy and Physiology of the mare, Feeding management of the problem mare. Equine breeding management and artificial insemination. Philadelphia: W.B. Saunders, pp.153, 147-158, 210-211.

Sargent, G.F., Pope, N.S. and Kesler, D.J. (1988). Postpartum LH profile characteristics, estrus and ovulation: The influence of short-term foal removal. Equine Vet. Sci. 8 (2): 156-160.

Sharp, D.C. and Ginther, O.J. (1975). Stimulation of follicular activity and estrous behavior in anestrous mares with light and temperature. J Ani Sci 41(5):1368-1372.

Sharp, D.C. and Cleaver, B.D. (1993). Melatonin. Equine Reproduction. McKinnon, A.O. and Voss, J.L,(ed.). Philadelphia: Lea & Febiger, pp.100-108.

Shideler, R.K. (1993). Rectal palpation. Equine Reproduction. McKinnon, A.O. and Voss, J.L,(ed.). Philadelphia: Lea & Febiger, pp.204-210.

Squires, E.L., McKinnon, O.A. and Shideler, R.K. (1988). Use of Ultrasonography in reproductive management of mare. Theriogenology. 29(1): 55-70.

Stabenfeldt, F.H., Hughes, J.P., Evans, J.W. (1972). Ovarian activity during the estrous cycle of the mare. Endocrinology (90): 1379-1384.

Stabenfeldt, G.H. and Hughes, J.P. (1980). Diagnostic endocrinology of the horse. Vet. Clin. North Am.: Lg. Anim. Pract. 2: 225-239.

Threlfall, W.R. (1997). Equine theriog enology. Current therapy in Large Animal theriogenology. Youngquist, R.S., (ed.). Philadelphia: WB. Saunders, pp.1-213.

Volkmann, D.H., Bertschinger, H.J. and Westlin, L.M.(1992). Characterization of postpartum anoestrus in pony mares. Proc12thInt. Congr. Anim. Reprod. (4):1930-1932.

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก.

3.1.2. เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์

- เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงสำหรับสอดผ่านทางทวารหนัก ชนิด real time B mode พร้อมหัวตรวจแบบ linear-array ที่ความถี่ 5 MHz (Aloka SSD-500DX , Aloka Incoporated , Japan)
- Ultrasound printer
- Beta counter (LKB-Wallac 1216 Rackbeta LKB, Wallac, Finland)
- Gamma counter (LKB-Wallac 1280 Ultragramma LKB, Wallac, Finland)
- Micropipette (Finnpipette Ky, Helsinki, Finland)
- Microsyringe (Hamilton syringe dispenser : LT 1500 Hamilton Bonadez, Switzerland)
- Mixer (Lab-line instrument, USA.)
- PH-meter (Orion model 720 A, Orion Research Incoporated, USA.)
- Refrigerated centrifuge (MSE coolspin scientific Instruments, England)

3.1.3. สารเคมี

3.1.3.1. ฮอร์โมนและแอนติบอดี

ฮอร์โมนและแอนติบอดี	**แหล่งที่ผลิต**
[2,4,6,7-^{3}H] Oestradiol	Amersham, UK.
Standard Oestradiol 17-β	Merck, Germany

3.1.3.2. เคมีภัณฑ์

ชื่อสารเคมี	**แหล่งที่ผลิต**
Dextran T-60	Serva Feinbiochemical GmbH & Co.,Germany
Absolute Ethanol	Merck, Germany

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Diethyl Ether	Merck, Germany
Toluene	Merck, Germany
$Na_2HPO_4.H_2O$	Merck, Germany
$Na_2HPO_4.7H_2O$	Merck, Germany
Gelatin	Serva Feinbiochemical GmbH & Co.,Germany
Merthiolate	Serva Feinbiochemical GmbH & Co.,Germany
Norit A	Serva Feinbiochemical GmbH & Co.,Germany
Sodium Chloride	Merck, Germany
Sodium hydroxide	BDH Chemical UK
[1-4,bis-2-(4-Methyl-5phenyloxazoly) -benzene (dimethyl-POPOP)	
P-Terphenyl	Sigma, USA.

3.1.3.3. สารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- *ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0* : ประกอบด้วยสารละลาย 3 ชนิด ซึ่งมีส่วนผสมดังนี้
  - สารละลาย ก. โซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้น 0.50 โมลาร์ (M.) เตรียมโดยการชั่งสารโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต โมโนไฮเดรต จำนวน 69.005 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 1 ลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวน
  - สารละลาย ข. โซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้น 0.10 โมลาร์ (M.) เตรียมโดยการชั่งสารได-โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต เฮปตะไฮเดรต จำนวน 26.81 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 1 ลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวน
  - สารละลาย ค. โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.04 โมลาร์ (M.) เตรียมโดยการชั่งสารโซเดียมคลอไรด์ จำนวน 61.425 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 1 ลิตร เติม เมอไทโอเลต จำนวน 0.75 กรัม ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวน

วิธีเตรียม

ทำการตวงสารละลาย ก. ปริมาตร 6.66 มิลลิลิตร สารละลาย ข. ปริมาตร 66.07 มิลลิลิตร และ สารละลาย ค. ปริมาตร 133.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวน เติมสารละลายเจลาติน 0.1 เปอร์เซ็นต์ แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร จากนั้นนำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้ได้พีเอช 7.0

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข.

<u>วิธีการตรวจวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล 17-เบต้า ในซีรั่ม</u>

แบ่งการวิเคราะห์ออกเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> การสกัดแยกฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล 17-เบต้า ออกจากซีรั่มตัวอย่าง

1. ปิเปตซีรั่มตัวอย่าง ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 20 x 175 มิลลิลิตร ตัวอย่างละ 1 หลอด
2. ปิเปตพลาสม่าควบคุมคุณภาพ ที่มีระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล 17-เบต้า มาตรฐาน ที่ 5, 10 และ 25 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 20 x 175 มิลลิลิตร โดยทำตัวอย่างละ 3 หลอด
3. เตรียมหลอด blank เช่นเดียวกับข้อ 1 แต่ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 แทนซีรั่มตัวอย่าง
4. เติมไดเอทธิล อีเธอร์ลงในหลอดทดลองทุกหลอด หลอดละ 12 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 6,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 1.5 นาที
5. นำไปทำให้เย็นจนซีรั่มแข็งตัวด้วยน้ำแข็งแห้ง แล้วแยกส่วนน้ำใสใส่ลงในขวดขนาด 20 มิลลิลิตร
6. ระเหยไดเอทธิล อีเธอร์ ด้วยเครื่องทำให้แห้งด้วยสูญญากาศ
7. เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 ลงในขวดขนาด 20 มิลลิลิตรทุกขวด ขวดละ 1.2 มิลลิลิตร แล้วเขย่าจนฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล 17-เบต้า ที่แห้งติดขวดละลายอยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ เพื่อนำไปทดลองในขั้นตอนที่ 2 ต่อไป

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> การวิเคราะห์หาระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า

1. ปิเปตสารละลายที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 12 x 75 มิลิลิตร โดยทำตัวอย่างละ 2 หลอด ในขณะที่ ขวดพลาสม่าควบคุมคุณภาพและ blank ให้ทำตัวอย่างละ 4 หลอด

2. ปิเปตสารละลายฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า มาตรฐาน ที่มีความเข้มข้น 0 0.625 1.25 2.5 5 10 25 50 100 250 และ 500 พิโครกรัมต่อ 0.5 มิลลิลิตร และหลอดศูนย์ที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร อย่างละ 3 หลอด

3. เติมสารละลายฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า แอนติบอดี ลงในหลอดทดลองข้อ 2 ปริมาตรหลอดละ 0.1 มิลลิลิตรทุกหลอด ยกเว้นหลอดศูนย์เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 แทน เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

4. เติมสารละลายฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ติดสลากสารกัมมันตรังสีตริเตียมลงในหลอดข้อ 3 ปริมาตรหลอดละ 0.1 มิลลิลิตร ทุกหลอด ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 18 ชั่วโมง

5. เติมสารละลายถ่านดูดซับที่กวนให้เข้ากันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ลงในทุกหลอดที่ถูกแช่อยู่ในอ่างน้ำแข็ง ทำการผสมให้เข้ากันแล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปปั่นแยกส่วนด้วยเครื่องปั่นที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

6. เทแยกส่วนน้ำใสลงในขวดสำหรับตรวจวัดปริมาณรังสีเบต้า และเติมสารก่อประกายรังสีปริมาตร 4 มิลลิลิตร ทุกขวด ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 10 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำไปวัดหาปริมาณรังสีเบต้าด้วยเครื่องวัดรังสีเบต้า ผลที่ได้จะเป็นจำนวนนับปริมาณรังสีต่อนาที นำค่าที่ได้มาหาความเข้มข้นเทียบจากกราฟ ระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้ามาตรฐาน โดยมีหน่วยเป็นพิโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค.

ค่าความเชื่อถือได้ของการวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในซีรั่มแม่ม้า

การหาค่าความเชื่อถือได้ของการวิเคราะห์ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้พลาสม่าของม้าเพศเมียที่มีระดับของฮอร์โมนดังกล่าวอยู่ในระดับต่ำกว่า 1 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมคุณภาพของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า โดยนำมาเติมฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าที่ปริมาณสูง กลาง และ ต่ำ (25, 10 และ 5 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ตามวิธีการของ Kamonpatana และคณะ (1976) ทั้งนี้พบว่า การใช้ส่วนของซีรั่มหรือพลาสม่าเป็นชุดควบคุมคุณภาพนั้นให้ผลไม่แตกต่างกัน เนื่องจากการยึดเกาะ (binding) ของสเตอรอยด์ฮอร์โมนนั้นขึ้นอยู่กับสารโปรตีนชนิดอัลบูมิน (albumin) และ โกลบูลิน (globulin) เท่านั้น แต่ส่วนที่ทำให้เกิดการแข็งตัวของเลือดที่พบในพลาสม่า ซึ่งได้แก่ ไฟบริโนเจน (fibrinogen) และ โปรทรอมบิน (prothrombin) นั้น ไม่มีการยึดเกาะของฮอร์โมนดังกล่าว (Johnson and Everitt, 1988) จึงสามารถใช้พลาสม่าเป็นตัวควบคุมคุณภาพในการศึกษาครั้งนี้ได้

- *ความจำเพาะเจาะจง (specificity) ของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า แอนติบอดี*

จากการทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ cross reaction กับฮอร์โมนสเตอรอยด์อื่นๆ ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน พบว่ามี cross reaction กับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17แอลฟา เอสโตรน และ เอสไตรอัล มีค่า cross reaction อยู่ที่ 0.48, 8.40 และ 0.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนฮอร์โมนในกลุ่มอื่นๆ อาทิเช่น โปรเจสเตอโรน เทสโทสเตอโรน ฯลฯ มีค่าอยู่ระหว่าง < 0.03-1.68 เปอร์เซ็นต์

- *ความถูกต้องของการตรวจวัด (accuracy)*

หาได้จากการเติมฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ปริมาณ 5 10 และ 25 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในพลาสม่าแม่ม้าที่มีระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าต่ำ โดยทำความเข้มข้นละ 5 หลอด และนำค่าที่ตรวจวัดได้จากการวิเคราะห์มาหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปอร์เซ็นต์การวิเคราะห์ได้ (% recovery) ดังแสดงในตารางที่ 8 ซึ่งพบว่าปริมาณเอสตร้าไดอัล-17เบต้าที่ตรวจวัดได้จากวิธีการนี้ เท่ากับ 4.55±0.25 9.22±0.95 และ 23.57±1.66 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์การวิเคราะห์ได้ มีค่าเท่ากับ 91.08 92.23 และ 94.30

เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพต่ำสุดที่วัดได้จากกราฟฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า มาตรฐานนั้น พบว่ามีค่าอยู่ที่ 1 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร

- *ความแม่นยำของการตรวจวัด (precision)*

จากค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (coefficient of variation; CV) ของการทำซ้ำตัวอย่างละ 4 หลอด ในการทดลอง 4 ครั้ง ของพลาสม่าควบคุมคุณภาพ (plasma control) ที่มีระดับฮอร์โมนค่าสูง กลาง และต่ำ (25, 10 และ 5 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) พบว่าได้ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปรในการทดลองเดียวกัน (Intraassay) และระหว่างครั้งการทดลอง (Interassay) ดังแสดงในตารางที่ 7 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปรในการทดลองเดียวกัน เท่ากับ 2.70 4.93 และ 3.53เปอร์เซ็นต์ และระหว่างครั้งการทดลอง เท่ากับ 4.86 13.63 และ 6.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางแสดงความถูกต้องของการวัดระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในซีรั่ม

ปริมาณฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17 เบต้า ที่เติม (พคก./มล.)	จำนวนหลอด (n)	ปริมาณที่ตรวจวัดได้ (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	% Recovery
0	5	BS	-
5	5	4.55 ± 0.25	91.08
10	5	9.22 ±0.95	92.23
25	5	23.57 ± 1.66	94.30

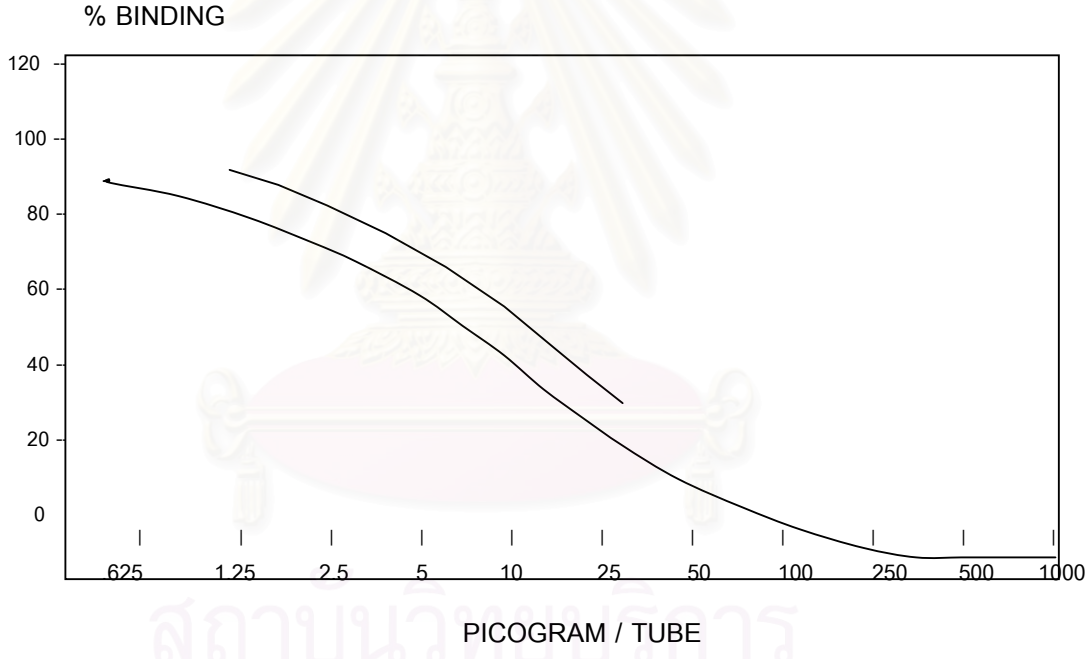
ตารางแสดงค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปรของการตรวจวัดระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17 เบต้า ในพลาสม่าแม่ม้าในการทดลองเดียวกัน และระหว่างการทดลอง

การทดลองครั้งที่	**ปริมาณ E2 ในพลาสม่า (5 พคก/มล.)**	**%CV**	**ปริมาณ E2 ในพลาสม่า (10 พคก/มล.)**	**%CV**	**ปริมาณ E2 ในพลาสม่า (25 พคก/มล.)**	**%CV**
1	3.50	4.05	10.15	3.85		5.01
	3.65		10.34			
	3.51		9.53			
	3.50		9.68			
2	3.68	2.93	8.43	3.33		2.36
	3.79		8.02			
	3.89		8.69			
	3.93		8.42			
3	4.17	3.03	10.34	6.60		1.76
	4.02		12.15			
	3.88		11.53			
	3.97		11.68			
4	3.87	4.10	9.23	5.94		1.69
	3.56		8.56			
	3.66		8.54			
	3.54		9.63			
ในการทดลองเดียวกัน		3.53		4.93		2.70
ระหว่างครั้งการทดลอง		6.25		13.63		4.86

ภาคผนวก ง.

การทดสอบความขนานกันระหว่างฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในซีรั่มแม่ม้าและฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้ามาตรฐาน

นำซีรั่มแม่ม้าที่อยู่ในช่วงแสดงอาการเป็นสัด มาเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน แล้วนำมาตรวจวัดระดับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า จากนั้นนำค่าที่วัดได้มาเขียนกราฟเปรียบเทียบกับระดับของฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้ามาตรฐาน ซึ่งจากกราฟพบว่าฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้าในซีรั่มนั้นมีความขนานกับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้ามาตรฐาน



กราฟแสดงความขนานกันระหว่างฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้า ในซีรั่มแม่ม้าที่แสดงอาการเป็นสัด เจือจางอย่างอนุกรม 2 4 8 และ 16 เท่า (+) เทียบขนานกับฮอร์โมนเอสตร้าไดอัล-17เบต้ามาตรฐาน ในสารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 (.)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวศศิธร พนโสภณกุล เกิดเมื่อวันที่ 18 ตุลาคม พ.ศ. 2518 ที่เขตบางรัก กรุงเทพมหานคร จบการศึกษาระดับชั้นประถมศึกษา และมัธยมศึกษาตอนต้น จากโรงเรียนอัสสัมชัญศึกษา กรุงเทพ ฯ เมื่อปี พ.ศ. 2536 จบการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสตรีมหาพฤฒาราม ในพระบรมราชินูปถัมภ์ และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตรบัณฑิต จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2543 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ที่คณะเดียวกัน ในปีการศึกษา 2545

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย