บทที่ 2
วรรณกรรมปริทัศน์

2.1 ลักษณะทั่วไปของหมาใน

หมาในมีชื่อสามัญว่า Dhole หรือ Asiatic wild Dog หรือ Indian wild dog หรือ Red dog เป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจัดอยู่ใน Order: Carnivora Family: Canidae Genus: Cuon Species: alpinus และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cuon alpinus* (Pallas, 1811) หมาในโตเต็มวัยจะมีขนาดความยาวลำตัวและหัวประมาณ 80-90 เซนติเมตร ความยาวหางประมาณ 30.5-34.5 เซนติเมตร น้ำหนักตัวเพศผู้ประมาณ 15-20 กิโลกรัม และน้ำหนักเพศเมียประมาณ 10-13 กิโลกรัม รูปร่างลักษณะของหมาในมีจมูกสั้น ใบหูกลมมีขนาดใหญ่ ขนลำตัวมีสีน้ำตาลแดง สีขนบริเวณท้องส่วนใหญ่จะเห็นเป็นสีขาว หางยาวเป็นพวง ปลายหางมีสีเทาเข้มหรือดำ (รูป 2.1 และรูป 2.2) หมาในมักอาศัยอยู่รวมกันเป็นฝูงใหญ่และมีความเป็นสัตว์สังคมสูงมากโดยอยู่รวมกันตั้งแต่ 3-20 ตัว มีจำนวนเพศผู้มากกว่าเพศเมีย ในกลุ่มของหมาในที่อยู่รวมกันจะมีการแบ่งลำดับชั้น (hierarchies) ของแต่ละตัวอย่างชัดเจนอาจจะมีเพศผู้หรือเพศเมียที่เป็นจ่าฝูง (dominant) (4) การสื่อสารของหมาในภายในกลุ่มเดียวกันใช้การส่งเสียงแหลมผ่านป่าทึบเพื่อเป็นการส่งสัญญาณให้รู้ว่าจะมีการล่าเหยื่อเกิดขึ้นหรืออาจจะส่งเสียงร้องเพื่อเป็นการเตือนให้สมาชิกในกลุ่มรู้ว่ามีศัตรูเช่น เสือหรือมนุษย์เข้ามาบุกรุกบริเวณที่พวกมันอาศัยอยู่ เพราะฉะนั้นหมาในจึงได้ชื่อว่าเป็น whistling hunters (6) นอกจากนี้หมาในยังมีการสื่อสารกันภายในสมาชิกในกลุ่มโดยใช้อุจจาระหรือปัสสาวะเพื่อบอกการแบ่งลำดับชั้นสถานะทางเพศ (sexual status) และการแบ่งอาณาเขต (territorial) ซึ่งภายในกลุ่มสมาชิกตั้งแต่ 2-3 ตัว จะออกล่าเหยื่อในเวลากลางวัน บางครั้งอาจล่าเหยื่อในช่วงเช้าตรู่หรือตอนเย็น อาหารของหมาในได้แก่ สัตว์กินพืชขนาดใหญ่ เช่น กวางป่า เก้ง กระต่ายป่า และหญ้าหรือต้นไม้บางชนิด (4) พบว่าในสถานการณ์ที่ไม่สามารถหาเยื่อได้ หมาในจะมีการกินซากสัตว์เป็นอาหารและบางครั้งอาจกินลูกเป็นอาหารได้ (7)

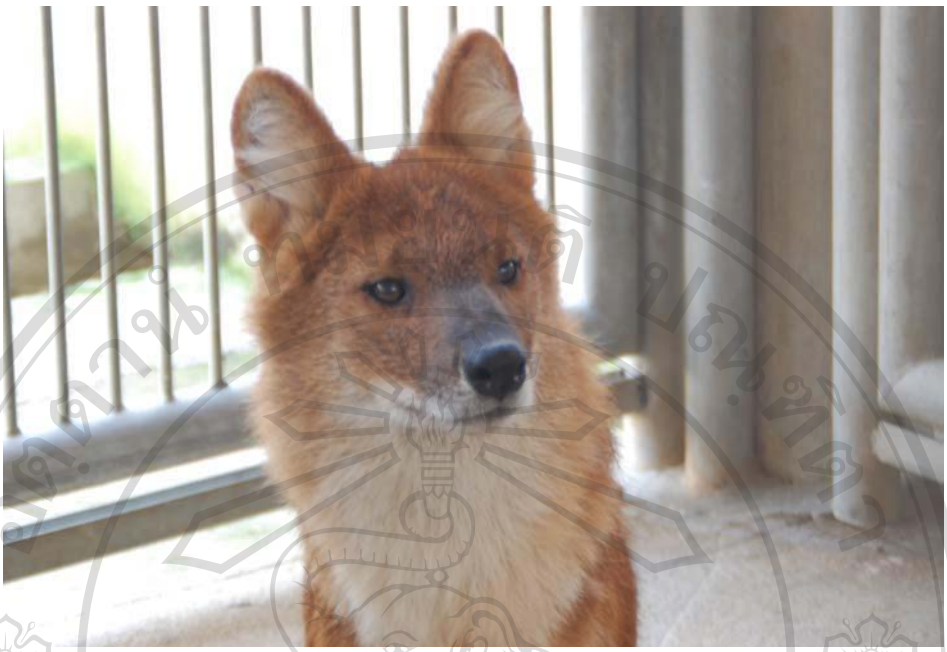
การศึกษาของ Sosnovskii (1967) ในเชิงพฤติกรรมพบว่าหมาในเป็นสัตว์ที่ออกลูกปีละ 1 ครั้ง และตั้งท้องประมาณ 9 สัปดาห์เท่านั้น (4) มีการศึกษาในเชิงพฤติกรรมของหมาในที่เลี้ยงในสวนสัตว์ของประเทศอินเดีย พบว่าหมาในจะผสมพันธุ์กันตามฤดูกาลในระหว่างเดือนสิงหาคมและเดือนธันวาคม (8) และการศึกษาในเชิงพฤติกรรมของหมาในในประเทศอินเดียพบว่ามีการผสมพันธุ์กันในระหว่างเดือนพฤศจิกายนและเดือนเมษายน แต่พบว่าหมาในที่เลี้ยงในเกาะชวาของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประเทศอินโดนีเซียมีการผสมพันธุ์กันในช่วงเดือนมกราคมถึงพฤษภาคม (4) จากการสังเกตเชิงพฤติกรรมพบว่าหมาในเพศเมียมีการผสมพันธุ์ตามฤดูกาลและจะผสมพันธุ์หลายๆ ครั้งในฤดูกาล ผสมพันธุ์เรียกว่า seasonal polyestrus ซึ่งจะผสมพันธุ์กันทุก 4-6 สัปดาห์ (4) ดังนั้นจึงเป็นลักษณะที่แตกต่างจากสัตว์ชนิดอื่นในตระกูล Canidae เนื่องจากสัตว์ชนิดอื่นในตระกูล Canidae เช่น maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) จะมีการผสมพันธุ์ 1 ครั้งในฤดูกาลผสมพันธุ์เรียกว่า seasonal monoestrus (9, 10) ปกติเพศเมียที่เด่นที่สุดในกลุ่ม (alpha female) จะเป็นตัวที่ถูกผสมพันธุ์ นอกจากนี้พบว่าหมาในเพศเมียที่ออกมาอยู่ตัวเดียวนอกกลุ่มจะให้จำนวนลูกต่อครอกน้อยกว่าหมาในเพศเมียที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (4) หมาในจะออกลูกครั้งละประมาณ 5-10 ตัว จากการสังเกตในสวนสัตว์บางครั้งหมาในอาจออกลูกได้สูงสุดถึง 12 ตัว ลูกหมาในที่เกิดใหม่จะมีขนสีเทา มีน้ำหนักแรกเกิดประมาณ 200-350 กรัม ความยาวของลำตัวประมาณ 340 มิลลิเมตร ลูกหมาในจะดูดนมแม่จนถึงอายุ 3 สัปดาห์ หลังจากนั้นจะเริ่มรับอาหารจากการขย้อนของหมาในที่เป็นสมาชิกในกลุ่ม และหย่านมเมื่ออายุ 6-7 สัปดาห์ แต่จากการสังเกตในสวนสัตว์พบว่าจะหย่านม 8-9 สัปดาห์ เมื่อหมาในอายุได้ 3 เดือนจะออกล่าเหยื่อโดยการตามหมาในที่ตัวเต็มวัยซึ่งมีอายุประมาณ 15 เดือน ส่วนหมาในเพศผู้ที่มีลักษณะเด่นรองจากตัวที่เป็นจ่าฝูงบางครั้งจะแสดงพฤติกรรมทางเพศเพื่อดึงดูดความสนใจจากหมาในเพศเมีย หมาในเพศเมียจะผสมพันธุ์ครั้งแรกเมื่ออายุประมาณ 3 ปี แต่การสังเกตในสวนสัตว์ของประเทศอินเดียพบว่าหมาในทั้งเพศผู้และเพศเมียสามารถผสมพันธุ์ได้ตั้งแต่อายุ 2 ปี (4)

รูป 2.1 หมาในที่เกิดในประเทศไทยเลี้ยงในกรงเลี้ยง ณ เชียงใหม่ไนท์ซาฟารี จังหวัดเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



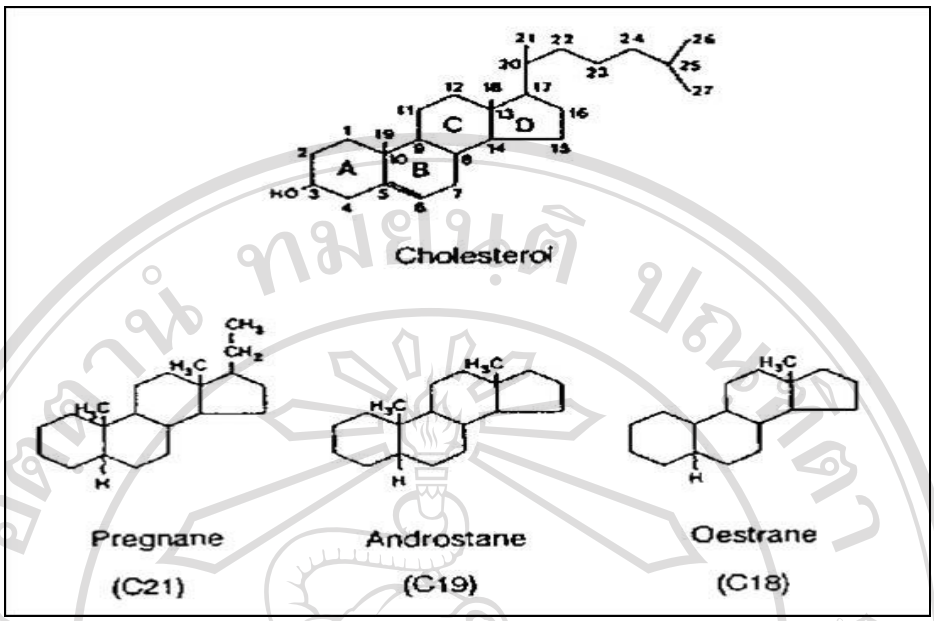
รูป 2.2 หมาในที่นำมาจากทวีปยุโรปเลี้ยงในกรงเลี้ยง ณ เชียงใหม่ไนท์ซาฟารี จังหวัดเชียงใหม่

2.2 เมตาบอลิซึมของฮอร์โมนเพศ

ฮอร์โมนเพศเป็นฮอร์โมนสเตียรอยด์ที่ถูกเปลี่ยนมาจากคอเลสเตอรอลและมีแกนของโมเลกุลเป็น cyclopentanophenanthrene ring (11) คอเลสเตอรอลเป็นสารต้นกำเนิดของฮอร์โมนในกลุ่มสเตียรอยด์ ส่วนใหญ่คอเลสเตอรอลถูกเปลี่ยนมาจากไลโปโปรตีน (lipoprotein) ในเลือดโดยอาศัยเอนไซม์ต่างๆ ชนิด และเก็บอยู่ภายในเซลล์ เมื่อใดที่เซลล์ถูกกระตุ้นสเตียรอยด์จะถูกสร้างขึ้นและเคลื่อนผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ออกสู่กระแสเลือดได้ทันที เพราะสเตียรอยด์สามารถละลายได้ดีในไขมัน สเตียรอยด์ที่เก็บอยู่ในเซลล์ต้นกำเนิดจึงมีน้อย (12) หน้าที่หลักของฮอร์โมนเพศคือ การตอบสนองร่วมกันระหว่างสรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์และพฤติกรรมทางเพศของสัตว์ ดังนั้นฮอร์โมนเพศจากอวัยวะสืบพันธุ์จึงมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์และยังสามารถควบคุมการแสดงออกของพฤติกรรมทางเพศของสัตว์ได้ (13)

ฮอร์โมนสเตียรอยด์แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ 1) กลุ่มเพร็กเนน (pregnanes) ประกอบด้วยคาร์บอน 21 อะตอม (C21) ได้แก่ ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone) และฮอร์โมนคอร์ติโคสเตียรอยด์ (corticosteroids) 2) กลุ่มแอนโดรสเทน (androstanes) ประกอบด้วยคาร์บอน 19 อะตอม (C19) ได้แก่ ฮอร์โมนแอนโดรเจน (androgen) 3) กลุ่มเอสเทรน (estranes) ประกอบด้วยคาร์บอน 18 อะตอม (C18) ได้แก่ ฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) (11, 13) (รูป 2.3)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



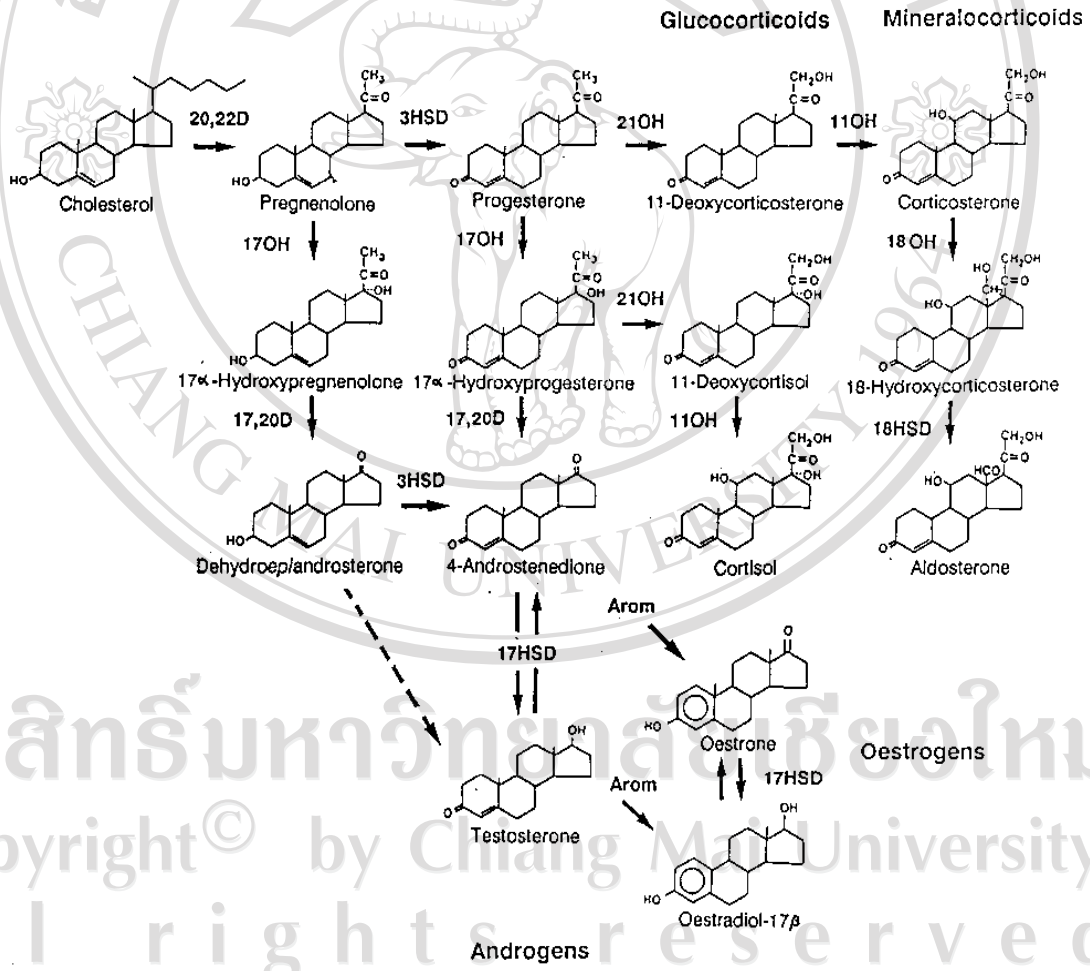
รูป 2.3 โครงสร้างของฮอร์โมนสเตียรอยด์ (13)

การสังเคราะห์ฮอร์โมนเพศ

คอเลสเตอรอลเป็นสารต้นกำเนิดของฮอร์โมนเพศในกลุ่มสเตียรอยด์ คอเลสเตอรอลจะถูกเปลี่ยนเป็น pregnenolone โดยการควบคุมของฮอร์โมน luteinizing hormone (LH) จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า และการทำงานของเอนไซม์ P-450 หรือ 20,22-desmolase ดังนั้น pregnenolone สามารถเปลี่ยนเป็นโปรเจสเตอโรน (progesterone) แล้วสามารถเข้าสู่วิถีทางการสร้างฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์ (glucocorticoid) และฮอร์โมนแอนโดรเจน (androgen) หรือฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) หรืออาจจะเปลี่ยนเป็น 17α-hydroxypregnenolone สำหรับวิถีทางการสร้างฮอร์โมนแอนโดรเจนและฮอร์โมนเอสโตรเจน การสร้างฮอร์โมนแอนโดรเจนในต่อมหมวกไตมีข้อจำกัดในการสร้าง แต่ในอัณฑะส่วนของ Leydig cell มีเอนไซม์ 17β-hydroxysteroid dehydrogenase (17HSD) ซึ่งอยู่ภายใต้การควบคุมของฮอร์โมน LH จะกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (testosterone) ส่วนการสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจนจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ P-450 นั่นคือ aromatase complex หรือ P-450aro สารตั้งต้นของ estrone คือ androstenedione และสารตั้งต้นของ estradiol คือ เทสโทสเตอโรน estrone และ estradiol สามารถเกิดปฏิกิริยาแปรผันกลับได้ (reversible) และ androstenedione สามารถเกิดปฏิกิริยาแปรผันกลับกับเทสโทสเตอโรนได้เช่นเดียวกันโดยการทำงานของเอนไซม์ 17HSD (13) (รูป 2.4)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในสัตว์เพศเมียฮอร์โมน LH จับกับตัวรับ (receptor) บน theca cell ของรังไข่ บริเวณนี้จะกระตุ้นการสร้าง androstenedione และเทสโทสเตอโรน รวมทั้งมีเอนไซม์ aromatase ทำหน้าที่เปลี่ยนเป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน เอนไซม์ aromatase เป็นเอนไซม์ที่พบในรังไข่ เอนไซม์นี้จะเกี่ยวข้องกับเกิดการ aromatization ของ A ring ของฮอร์โมนแอนโดรเจน การทำงานของเอนไซม์ aromatase พบใน granulasa cell ซึ่งเซลล์นี้จะถูกกระตุ้นโดยฮอร์โมน follicle stimulating hormone (FSH) ในขณะที่ granulosa cell เจริญเต็มที่จะมีการพัฒนาของ LH receptor เป็นจำนวนมาก และจะมีการตอบสนองต่อฮอร์โมน LH เพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้น จึงทำให้มีการผลิตฮอร์โมนเอสโตรเจนในปริมาณที่เพิ่มขึ้น (11)



รูป 2.4 วิถีทางการสังเคราะห์ฮอร์โมนสเตียรอยด์ (13)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การหมดฤทธิ์และการกำจัดสเตียรอยด์ออกจากกระแสเลือด

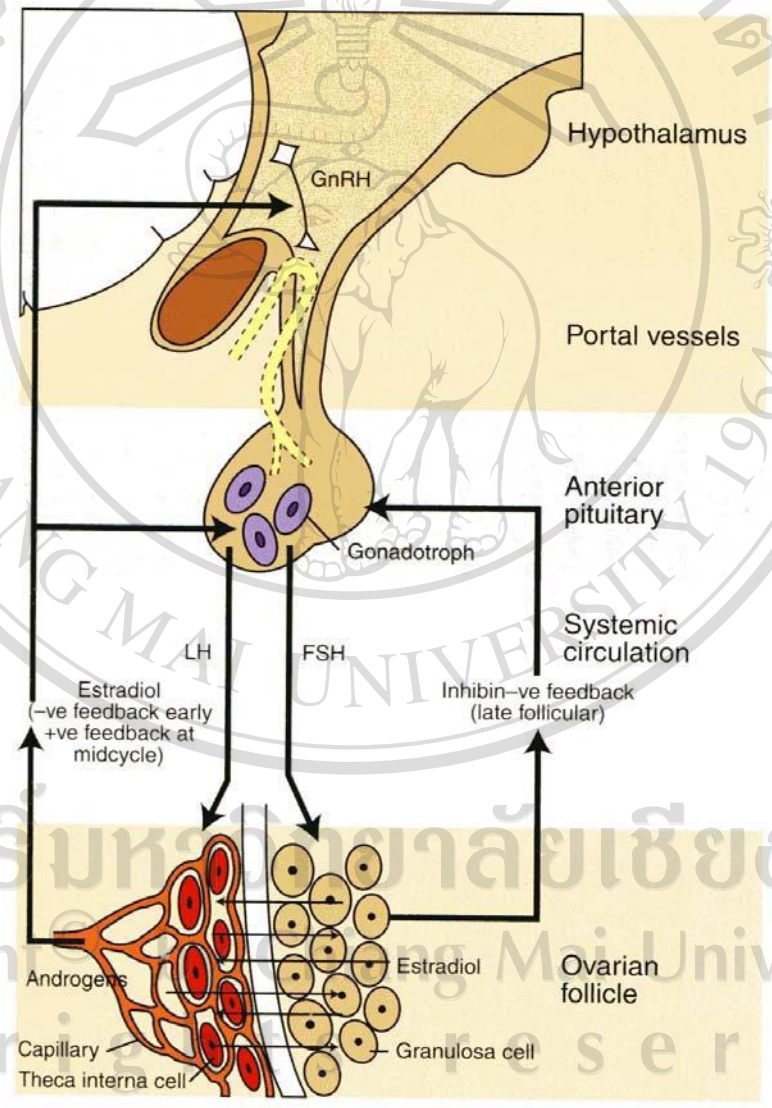
ฮอร์โมนสเตียรอยด์ถูกทำให้หมดฤทธิ์ โดยกระบวนการเมตาบอลิซึมที่ตับและที่ไต เมื่อเมตาบอไลต์ที่ตับแล้วจะผ่านทางน้ำดีในรูปของ conjugated ฮอร์โมนสเตียรอยด์ส่วนใหญ่ถูก deconjugated โดยแบคทีเรียในลำไส้ (intestinal bacteria) และบางส่วนของฮอร์โมนสเตียรอยด์จะถูกดูดกลับ (reabsorb) จากลำไส้ไปสู่ตับ (enterohepatic circulation) ฮอร์โมนสเตียรอยด์ที่ไม่ถูกดูดกลับจะถูกกำจัดออกจากร่างกายทางอุจจาระ (14) ไตเป็นอีกอวัยวะหนึ่งที่ทำหน้าที่เมตาบอไลต์ฮอร์โมนสเตียรอยด์ ฮอร์โมนที่หมดฤทธิ์จะขับออกทางปัสสาวะในรูปของ conjugated กับ glucoronides ปฏิกิริยานี้ต้องอาศัย uridine diphosphoglucuronic acid (UDPGA) และ glucuronyl transferase โดยที่ glucuronic acid จะจับกับหมู่ HO บนโมเลกุลของสเตียรอยด์ และการ conjugated กับ sulphates ปฏิกิริยานี้ต้องอาศัยเอนไซม์ sulphokinase ซึ่งจะเกิดขึ้นในไซโตซอล (cytosol) ของตับ การกำจัดฮอร์โมนสเตียรอยด์ออกจากร่างกายจำเป็นต้องมีการเปลี่ยนให้อยู่ในรูปสารประกอบที่ละลายได้ในน้ำเพื่อทำให้ฮอร์โมนสเตียรอยด์สามารถละลายได้ในของเหลวของร่างกาย (13) ในสัตว์หลายชนิดเมตาบอไลต์ของสเตียรอยด์ในอุจจาระไม่ได้ถูกขับออกมาในรูป conjugated form ยกเว้นสัตว์ตระกูล Felids นอกจากนี้สัดส่วนของฮอร์โมนสเตียรอยด์ที่ถูกขับออกทางปัสสาวะหรืออุจจาระปกติมีความจำเพาะในสัตว์แต่ละชนิด เช่น สัตว์ตระกูล Felid จะมีการขับออกของเมตาบอไลต์ของฮอร์โมนสเตียรอยด์ในอุจจาระประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สัตว์ตระกูล Canidea จะมีการขับออกของเมตาบอไลต์ของฮอร์โมนสเตียรอยด์ในอุจจาระประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ (15)

2.3 สรีรวิทยาของวงจรเป็นสัด

สรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์เพศเมียในวงจรเป็นสัดถูกควบคุมโดยฮอร์โมนจากไฮโปธาลามัส (hypothalamus) ต่อมใต้สมองส่วนหน้า (anterior pituitary) และรังไข่ (ovary) ไฮโปธาลามัสทำหน้าที่หลั่งเปปไทด์ฮอร์โมนคือ โกนาโดโทรฟิน รีลีสซิงฮอร์โมน (gonadotrophin releasing hormone, GnRH) ซึ่งมีความสำคัญต่อการควบคุมการทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้า เปปไทด์ฮอร์โมนนี้จะผ่านทาง vascular portal system ไปยังต่อมใต้สมองส่วนหน้า (16) จากนั้นต่อมใต้สมองส่วนหน้าจะสร้างโปรตีนฮอร์โมนซึ่งมีความสำคัญต่อการสืบพันธุ์คือ โกนาโดโทรฟินฮอร์โมน (gonadotrophin hormone) ได้แก่ ฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมน (follicle stimulating hormone, FSH) และ ลูทีไนท์ซิงฮอร์โมน (luteinizing hormone, LH) โดยฮอร์โมน FSH มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลในรังไข่ ส่วนฮอร์โมน LH มีบทบาทสำคัญต่อขั้นตอนการตกไข่และการสร้างคอปัสลูเทียม ทั้งฮอร์โมน FSH และฮอร์โมน LH ถูกหลั่งสูงสุดใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ระยะก่อนการตกไข่เรียกการหลั่งช่วงนี้ว่า preovulatory surge หน้าที่หลักของฮอร์โมน LH คือ การเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่ (ovulation) โดยที่ก่อนการตกไข่ระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนในกระแสเลือดที่สูงขึ้นจะไปกระตุ้นให้ต่อมใต้สมองส่วนหน้าหลั่งฮอร์โมน LH เป็นอย่างเด่นชัด เรียกว่า LH surge ฮอร์โมน LH นี้จะทำให้ฟอลลิเคิลที่เจริญเต็มที่เกิดการตกไข่ หลังจากการตกไข่ฟอลลิคูลาเซลล์ (follicular cells) จะเปลี่ยนแปลงเป็นลูเทียลเซลล์ (luteal cell) ของคอปัสลูเทียม หน้าที่สำคัญของฮอร์โมน LH คือ กระตุ้นให้คอปัสลูเทียมสร้างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (17) (รูป 2.5)



รูป 2.5 การทำงานร่วมกันของไฮโปธาลามัส ต่อมใต้สมองส่วนหน้า และรังไข่ในระยะ follicular phase (16)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วงจรเป็นสัดของสุนัข

วงจรเป็นสัดของสุนัขสามารถแบ่งได้เป็น 4 ระยะ คือ

1 ระยะ proestrus

ระยะ proestrus นับจากวันแรกของการมีสิ่งคัดหลั่งเป็นเลือด (bloody discharge) ออกจาก vulva ไปจนถึงวันแรกที่ยอมรับการผสมพันธุ์จากสุนัขเพศผู้ เฉลี่ยประมาณ 9 วัน การเริ่มต้นของระยะ proestrus มาจากการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคศาสตร์และพฤติกรรมทางเพศโดยการกระตุ้นของ gonadotrophin และจะเกิดการพัฒนาของฟอลลิเคิลโดยอิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจนในช่วงท้ายของระยะ anestrus (18) ในระยะ proestrus สุนัขเพศเมีย vulva มีลักษณะบวม (swollen) สุนัขจะตื่นเต้น กระวนกระวาย และอาจจะไม่กินอาหารแต่จะกินน้ำมากและจะปัสสาวะบ่อยขึ้น สุนัขเพศเมียจะเป็นที่ดึงดูดหรือเป็นที่สนใจของสุนัขเพศผู้ สุนัขเพศผู้อาจจะเลียอวัยวะเพศของสุนัขเพศเมีย แต่จะสุนัขเพศเมียจะไม่ยอมให้สุนัขเพศผู้ผสมพันธุ์และอาจจะคำรามใส่สุนัขเพศผู้ (18-21)

2 ระยะ estrus

เป็นระยะที่ยอมรับการผสมพันธุ์จากสุนัขเพศผู้โดยการยืนนิ่ง และการเกิดการติดกัน (copulatory lock) กับสุนัขเพศผู้ ระยะ estrus เฉลี่ยประมาณ 10 วัน (18) ในระยะ estrus สุนัขเพศเมียจะมีการเบี่ยงและยกหางไปข้างใดข้างหนึ่งเพื่อผสมพันธุ์ (20, 21) ในระยะนี้สุนัขเพศเมียจะพยายามหาสุนัขเพศผู้เพื่อผสมพันธุ์ ในขณะที่การเข้าสู่ระยะ estrus ของสุนัขเพศเมียกำลังดำเนินไป การบวมของ vulva เริ่มบวมน้อยลงและสิ่งคัดหลั่งเริ่มเป็นน้ำหรือเป็นสีแดงเรื่อ หรืออาจเป็นสีเหลืองเรื่อ (18)

3 ระยะ diestrus

เริ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดระยะ estrus และเมื่อสุนัขเพศเมียปฏิเสธการผสมพันธุ์ซึ่งระยะนี้คอปัสลูเทียมจะมีการเจริญจนถึงขนาดใหญ่ที่สุดและจะทำหน้าที่อย่างเต็มที่ ระยะ diestrus เฉลี่ยประมาณ 65 วัน (18) ในระยะนี้ลักษณะของ vulva จะบวมลดลงและมีสิ่งคัดหลั่งลดลงอย่างรวดเร็ว สุนัขเพศเมียจะนอนพักผ่อนมากขึ้น (18, 19) ถ้าในระยะ estrus มีการผสมพันธุ์เกิดขึ้นจะเกิดการตั้งท้องในระยะ diestrus ส่วนสุนัขเพศเมียที่ไม่มีการผสมพันธุ์หรือสุนัขเพศเมียที่มีการผสมพันธุ์กับสุนัขเพศผู้ที่เป็นหมันจะมีโอกาสพบภาวะท้องเทียม (false pregnancy) หรือที่เรียกว่า pseudopregnancy (18)

4 ระยะ anestrus

เป็นระยะที่ต่อมาจากระยะ diestrus ระยะนี้เป็นระยะที่ไม่มีกิจกรรมทางเพศและเป็นระยะที่ไม่มีการทำงานของรังไข่ (ovarian inactivity) (18, 19) ระยะ anestrus เฉลี่ยประมาณ 120 วัน (18)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การตกไข่และการปฏิสนธิ

การตกไข่ปกติจะเกิดขึ้นได้เองภายใน 5 วัน หลังจากเข้าสู่ระยะเริ่มต้นของระยะ estrus โดยประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ การตกไข่จะเกิดขึ้นภายใน 2 วันแรกของระยะ estrus และประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ จะเกิดขึ้นภายใน 3 วันแรกของระยะ estrus (รูป 2.6) สุนัขเพศเมียมีความพิเศษตรงที่สามารถยอมรับการผสมจากสุนัขเพศผู้อย่างต่อเนื่องในหลายๆ วัน หลังจากที่มีการตกไข่เกิดขึ้น การตกไข่เกิดขึ้นประมาณ 40-80 ชั่วโมง หลังจากการเกิด LH surge และโอโอไซต์ทั้งหมดจะถูกขับออกมาภายใน 24 ชั่วโมง ของการตกไข่ครั้งแรก (รูป 2.6) ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะมีค่าสูงขึ้นเรื่อยๆ ในสุนัขเพศเมียที่มีการตกไข่ ในสัตว์หลายชนิดการปฏิสนธิของโอโอไซต์จะลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากมีการตกไข่ แต่โอโอไซต์ของสุนัขจะมีชีวิตอยู่ได้หลายวัน และโอโอไซต์ที่ไม่ถูกปฏิสนธิจะสามารถอยู่ได้นาน 2 ถึง 3 วัน หลังการตกไข่ในท่อนำไข่ ในสุนัขแต่ละโอโอไซต์ในระยะ primary oocyte (prophase) ถูกหลั่งจากฟอลลิเคิลก่อนการเกิด meiosis แบบสมบูรณ์ การหลั่ง primary oocyte ที่เกิดขึ้นนี้เป็นลักษณะเฉพาะของสัตว์ในตระกูล Canidae เช่นในสุนัข (dogs) และสุนัขป่า (foxes) (18, 22)

รูปแบบของฮอร์โมนเพศในวงจรเป็นสัด

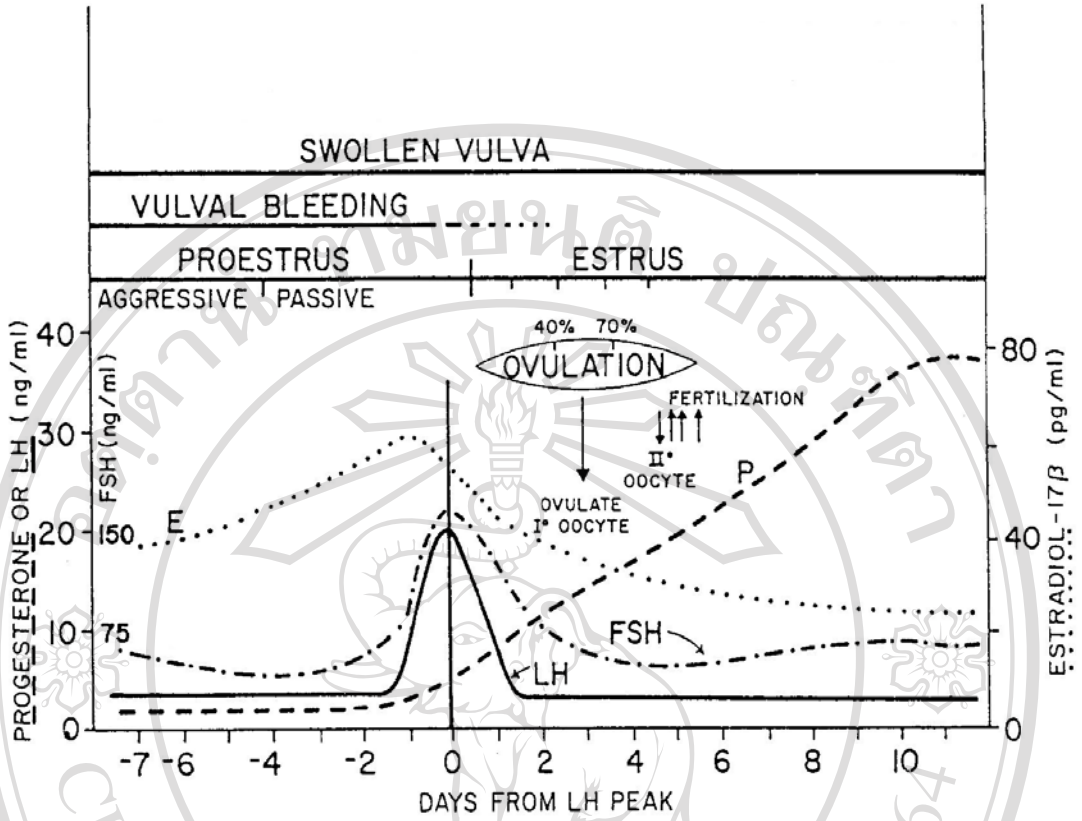
รูปแบบของฮอร์โมนในวงจรเป็นสัดแสดงในรูป 2.6 โดยจะแสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนในกระแสเลือดและการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในระยะ follicular phase และการเริ่มต้นของระยะ luteal phase ของวงจรเป็นสัดของสุนัขเพศเมีย

ระยะ proestrus และวันแรกของระยะ estrus จนถึงก่อนการตกไข่ เรียกระยะนี้ว่า follicular phase ซึ่งจะมีการเจริญของฟอลลิเคิลและมีการหลั่งฮอร์โมนจากฟอลลิเคิล ระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจนจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจากระดับ basal line ไปจนถึงระดับสูงสุด (peak) ในระหว่าง 2 วันหลังจากระยะ proestrus และระดับฮอร์โมน FSH และฮอร์โมน LH จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและสัมพันธ์กันไปจนถึงระดับสูงสุดจนสิ้นสุดระยะ proestrus การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของฮอร์โมน LH ในกระแสเลือดเห็นได้ชัดเจนกว่าฮอร์โมน FSH และระดับของฮอร์โมน FSH มีแนวโน้มว่าจะต่ำในระยะ proestrus เมื่อเปรียบเทียบกับระยะท้ายของระยะ anestrus นอกจากนี้ยังพบว่าในระยะ proestrus มีการหลั่งของฮอร์โมน LH และฮอร์โมน FSH เป็นจังหวะ (palsatile) จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า ฮอร์โมน LH มีการหลั่งเป็นจังหวะและจะทำงานร่วมด้วยกับฮอร์โมน FSH โดยจะกระตุ้นการเจริญในระยะสุดท้ายของฟอลลิเคิล การหลั่งของฮอร์โมนเอสโตรเจนโดยฟอลิเคิลอาจจะถูกกระตุ้นให้เกิดการหลั่งโดยฮอร์โมน inhibin อย่างไรก็ตาม ฮอร์โมน inhibin และฮอร์โมนเอสโตรเจนจะมีการควบคุมแบบย้อนกลับไปยับยั้งการหลั่งของฮอร์โมน FSH จากต่อมใต้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สมองส่วนหน้า การเกิด ovulatory surge ของฮอร์โมน LH จะเกิดขึ้นในสุนัขเพศเมียในช่วงท้ายของระยะ proestrus 2 วันและช่วง 2 วันแรกของการยืนนิ่งของระยะ estrus สุนัขเพศเมียการตกไข่จะเกิดขึ้นภายใน 48 ชั่วโมง หลังจากเกิด LH surge และระดับของฮอร์โมน LH จะลดลงอย่างรวดเร็วสู่ระดับ basal line ในขณะที่ฮอร์โมนเอสโตรเจนเพิ่มขึ้น สุนัขเพศเมียจะมีการเปลี่ยนแปลงของอาการภายนอกและการตอบสนองของอวัยวะสืบพันธุ์และระบบประสาทซึ่งจะสัมพันธ์กับการกระตุ้นของฮอร์โมนเอสโตรเจน ซึ่งประกอบด้วยการบวมของ vulva การมีสิ่งคัดหลั่งเป็นเลือด การยอมรับการผสมพันธุ์จากสุนัขเพศผู้เพิ่มขึ้น และการเป็นที่สนใจของสุนัขเพศผู้ เมื่อสิ้นสุดระยะ proestrus การเพิ่มขึ้นของฮอร์โมน LH จะกระตุ้นให้ฟอลลิเคิลเกิดการ luteinization และเป็นผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือด ในขณะที่ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ผลิตโดย luteinized follicle เพิ่มขึ้น ระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจนในกระแสเลือดจะลดลง ซึ่งจะเกิด LH surge และการตกไข่ตามมาทำให้มีการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจากการพัฒนาของคอปัสลูเทียม การเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมในสุนัขเพศเมียจะเปลี่ยนจากการปฏิเสธในระยะ proestrus เป็นการยืนนิ่งและการยอมรับการผสมพันธุ์จากสุนัขเพศผู้ หลังการตกไข่คอปัสลูเทียมจะมีการหลั่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนภายใต้การกระตุ้นของฮอร์โมน LH แม้ว่าสุนัขเพศเมียจะตั้งท้องหรือไม่ตั้งท้องคอปัสลูเทียมจะหลั่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนประมาณ 50 ถึง 70 วัน หลังจากการตกไข่ ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในระยะ luteal phase ในสุนัขที่ไม่ตั้งท้องจะไม่คงที่ โดยระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะลดลงสู่ระดับ basal line ประมาณ 70 ถึง 80 วัน หลังจากการเกิด LH surge ถ้าสุนัขมีภาวะท้องเทียม (pseudopregnancy) การหลั่งของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะยาวนานกว่า 80 วัน ในสุนัขที่ตั้งท้องระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะลดลงอย่างรวดเร็วทันทีหลังคลอดและไม่สามารถตรวจวัดได้หลังจากวันคลอด (18, 21)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูป 2.6 รูปแบบของฮอรโมนเพศและพฤติกรรมในวงจรเป็นสัดของสุนัขเพศเมีย (E = estradiol-17-β; P = progesterone) (18)

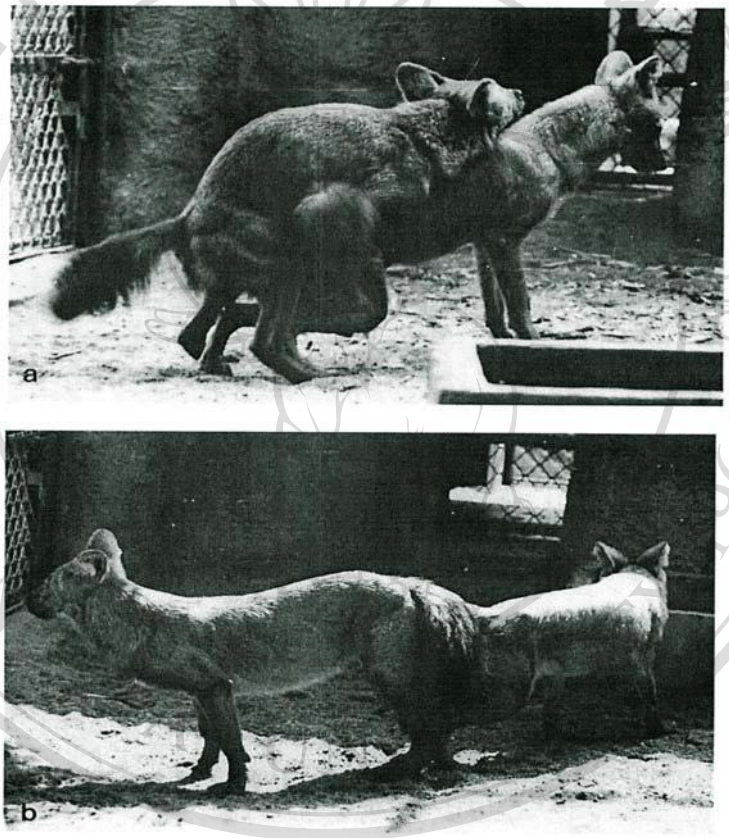
2.4 พฤติกรรมทางเพศ

พฤติกรรมการเกี้ยวพาราสี (Courtship Behavior)

ในสุนัขจะแสดงพฤติกรรมทางเพศในระยะ proestrus ของวงรอบการเป็นสัด แต่การแสดงพฤติกรรมดังกล่าวจะลดลงในระยะ estrus สุนัขเพศเมียจะวิ่งเล่นกับสุนัขเพศผู้ สุนัขเพศเมียจะดมและเลียลำตัว เลียอวัยวะเพศสุนัขเพศผู้ สุนัขเพศเมียจะปัสสาวะบ่อยขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเข้าสู่ระยะ estrus และมักจะใช้ท่าถ่ายปัสสาวะที่เรียกว่า squat-raise (นั่งยองๆ และยกขาหลังขึ้น) ในระยะ proestrus สุนัขเพศเมียจะไม่ยอมให้สุนัขเพศผู้ผสมพันธุ์โดยจะทำเสียงคำราม สุนัขเพศเมียในระยะนี้จะเป็นที่สนใจของสุนัขเพศผู้ ระยะ estrus สุนัขเพศเมียจะยอมให้สุนัขเพศผู้เข้าใกล้จนถึงช่วงท้ายของระยะ estrus และเมื่อสุนัขเพศผู้เข้ามาจะแตะตรง vulva ของสุนัขเพศเมียจากนั้นสุนัขเพศเมียจะงอลำตัวลง ในขณะที่สุนัขเพศผู้จะกระแทก (thrusting) การกระแทกจะเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นจะเกิดการติดกัน (copulatory lock) สุนัขจะหันหลังชนกัน (back to back posture) และจะเกิดการหดตัว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ของกล้ามเนื้อของช่องคลอดตามมา (20, 21) มีการศึกษาเกี่ยวกับพฤติกรรมการผสมพันธุ์ของหมาในในประเทศอินเดียพบว่าเมื่อหมาในจะมีพฤติกรรมการเกี้ยวพาราสีโดยการปัสสาวะ (urine marking) มีการส่งเสียงร้องทั้งหมาในเพศผู้และเพศเมีย มีการดมกลิ่นปัสสาวะ หมาในเพศเมียจะเลียบริเวณอวัยวะเพศและจะขึ้นขี่หมาในเพศผู้ หมาในผสมพันธุ์แบบหันหลังชนกันเช่นเดียวกับสุนัขทั่วไปดังรูป 2.7 (8)



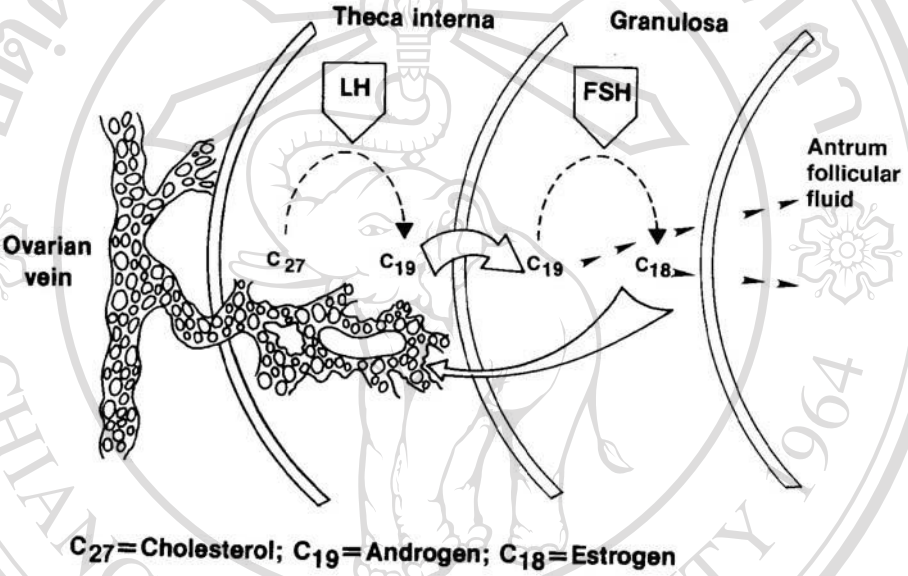
รูป 2.7 ท่าทางการผสมพันธุ์ของหมาใน (a) และการติดกัน (copulatory lock) ของหมาใน (b) (8)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.5 แหล่งผลิตของฮอร์โมนเอสโตรเจน

ฮอร์โมนเอสโตรเจนจัดเป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมน ฮอร์โมนที่สำคัญในกลุ่มเอสโตรเจนได้แก่ estrone estrodiol-17-β และ estriol ฮอร์โมนในกลุ่มนี้จะแตกต่างกันที่โครงสร้างของโมเลกุล estrodiol-17-β เป็นชนิดที่แสดงฤทธิ์ของเอสโตรเจนที่แรงที่สุด รังไข่และรกเป็นแหล่งผลิตฮอร์โมนเอสโตรเจนที่สำคัญที่สุด เอสโตรเจนถูกสร้างจาก theca interna และ granulosa cell ของฟอลลิเคิลซึ่งอยู่ภายใต้การทำงานร่วมกันของฮอร์โมน FSH และฮอร์โมน LH โดยจะพบ LH

receptor บน theca cell และ granulosa cell ส่วน FSH receptor จะพบบน granulosa cell โดยฮอร์โมน LH จะกระตุ้น theca cell ให้สร้างฮอร์โมนแอนโดรเจนจากคอเลสเตอรอลต่อมาแอนโดรเจนจะแพร่ผ่านจาก basement membrane ของชั้นฟอลลิเคิล และจะถูกเปลี่ยนเป็นเอสโตรเจนใน granulosa cell ภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมน FSH ฮอร์โมนเอสโตรเจนที่สร้างขึ้นจะถูกสะสมไว้ในช่องว่างภายในฟอลลิเคิล (follicular antrum) และสามารถแพร่เข้าสู่ร่างกายสัตว์ทางระบบไหลเวียนเลือดโดยผ่านทางเส้นเลือดฝอย (รูป 2.8)



รูป 2.8 การสังเคราะห์ฮอร์โมนเอสโตรเจนในฟอลลิเคิล (18)

2.6 แหล่งผลิตของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเป็นฮอร์โมนในกลุ่มฮอร์โมนสเตียรอยด์ ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนถูกสร้างจากคอปัสลูเทียมบนรังไข่ รก และต่อมหมวกไตชั้นนอก แหล่งผลิตที่สำคัญคือคอปัสลูเทียม ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนถูกควบคุมการสร้างโดยฮอร์โมน LH และฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีความสำคัญต่อการตั้งท้องในสัตว์หลายชนิด ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสัมพันธ์กับการเจริญและการฝ่อตัวของคอปัสลูเทียมในระยะต่างๆ ของวงจรเป็นสัด ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะมีระดับสูงตลอดการตั้งท้องและใกล้คลอด แต่ถ้าสัตว์ผสมไม่ติดฮอร์โมนจะถูกผลิตออกมาในช่วงเวลาหนึ่งหลังจากนั้นคอปัสลูเทียมจะฝ่อไป และฮอร์โมนจะลดลงจนอยู่ในระดับปกติ จากนั้นสัตว์จะเข้าสู่วงจรเป็นสัดต่อไป ซึ่งกระบวนการนี้เกิดขึ้นในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทุกชนิดโดยเฉพาะสุนัขฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะมีระดับสูงตลอดในระยะ diestrus (18, 19, 22)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.7 เทคนิคเอนไซม์อิมมูโนแอสเซ (Enzyme Immunoassays : EIA) หรือเทคนิคเอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนแอสเซ (Enzyme Linked Immunosorbent Assay : ELISA)

เทคนิคที่อาศัยหลักการทางวิทยาภูมิคุ้มกัน (Immunological Technique) เช่น เทคนิคเรดิโออิมมูโนแอสเซ (Radioimmunoassays: RIA) และเทคนิคเอนไซม์อิมมูโนแอสเซ (Enzyme Immunoassays : EIA) เทคนิค RIA เป็นเทคนิคที่ใช้ตรวจหาฮอร์โมนปริมาณน้อยๆ ได้ เป็นเทคนิคที่มีความไวสูงมาก และใช้กันมากในการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน (23) อย่างไรก็ตาม ห้องปฏิบัติการ RIA จำเป็นต้องได้รับอนุญาตสำหรับการใช้สารกัมมันตรังสี เช่น ไอโอดีน (iodine ^{125} : ^{125}I) คาร์บอน (carbon ^{14}: ^{14}C) และ ตรีเตียม (tritium ^{3}: ^{3}H) นอกจากนี้เครื่องมือในการวัดปริมาณรังสีและสารกัมมันตรังสียังมีราคาแพง รวมทั้งสารกัมมันตรังสีมีอายุการใช้งานสั้น มีอันตรายต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม ในขณะที่เทคนิค EIA ไม่จำเป็นต้องใช้สารกัมมันตรังสี เครื่องมือมีราคาถูก สารเคมีสามารถเตรียมได้ง่าย และมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม เทคนิค EIA หลายๆ เทคนิคในปัจจุบันมีความไวใกล้เคียงกับเทคนิค RIA จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้เทคนิค EIA เริ่มเป็นที่นิยมและนำมาใช้มากขึ้นในปัจจุบัน (13, 23)

หลักการของ EIA

เทคนิค EIA หรือที่รู้จักกันอีกชื่อคือ ELISA เป็นวิธีที่มีหลักการคล้ายกับวิธี RIA จะแตกต่างกันตรงที่เทคนิค EIA จะเป็นการนำเอาเอนไซม์มาใช้เป็นตัวติดตามปฏิกิริยาแทนสารกัมมันตรังสีในปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน (Antigen: Ag) และแอนติบอดี (Antibody: Ab) แต่เทคนิค RIA นั่นอาศัยหลักการของปฏิกิริยาการจับกันของ Ag กับ Ab โดยใช้สารกัมมันตรังสีเป็นตัวติดตามปฏิกิริยา (13, 23, 24)

องค์ประกอบที่สำคัญของเทคนิค EIA (13, 24)

Solid phase เป็นพื้นผิวตัวกลางที่สามารถดูดติด Ag หรือ Ab ได้เช่น polystyrene

Antibody หรืออิมมูโนโกลบินมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยโปรตีนและมีความจำเพาะต่อ Ag

Coating buffer ใช้สำหรับการละลาย Ab เพื่อทำให้ Ab เกิดการเกาะติดในหลุมของเพลทได้ดี

Wash solution การล้างเป็นการเอาส่วนของ Ag หรือ Ab ที่ไม่ทำปฏิกิริยากันออกไป

Enzyme conjugate (tracer) เป็นการนำเอาเอนไซม์เชื่อมเข้ากับ Ab เพื่อใช้เป็นตัวติดตามปฏิกิริยาและเพื่อบอกความเข้มข้นของ Ag เมื่อเอนไซม์ทำปฏิกิริยากับ substrate จะเกิดการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เปลี่ยนแปลงสีเกิดขึ้น ใน single antibody EIA มักใช้ enzyme conjugate เป็นฮอร์โมนที่เชื่อมติดกับ horseradish peroxidase (HRP) สำหรับ double antibody sandwich EIA นิยมใช้ biotin ติดฉลากกับฮอร์โมนซึ่งจะจับกับ peroxidase-labeled streptavidin

Assay buffer ส่วนมากนิยมใช้ phosphate หรือ Tris buffer

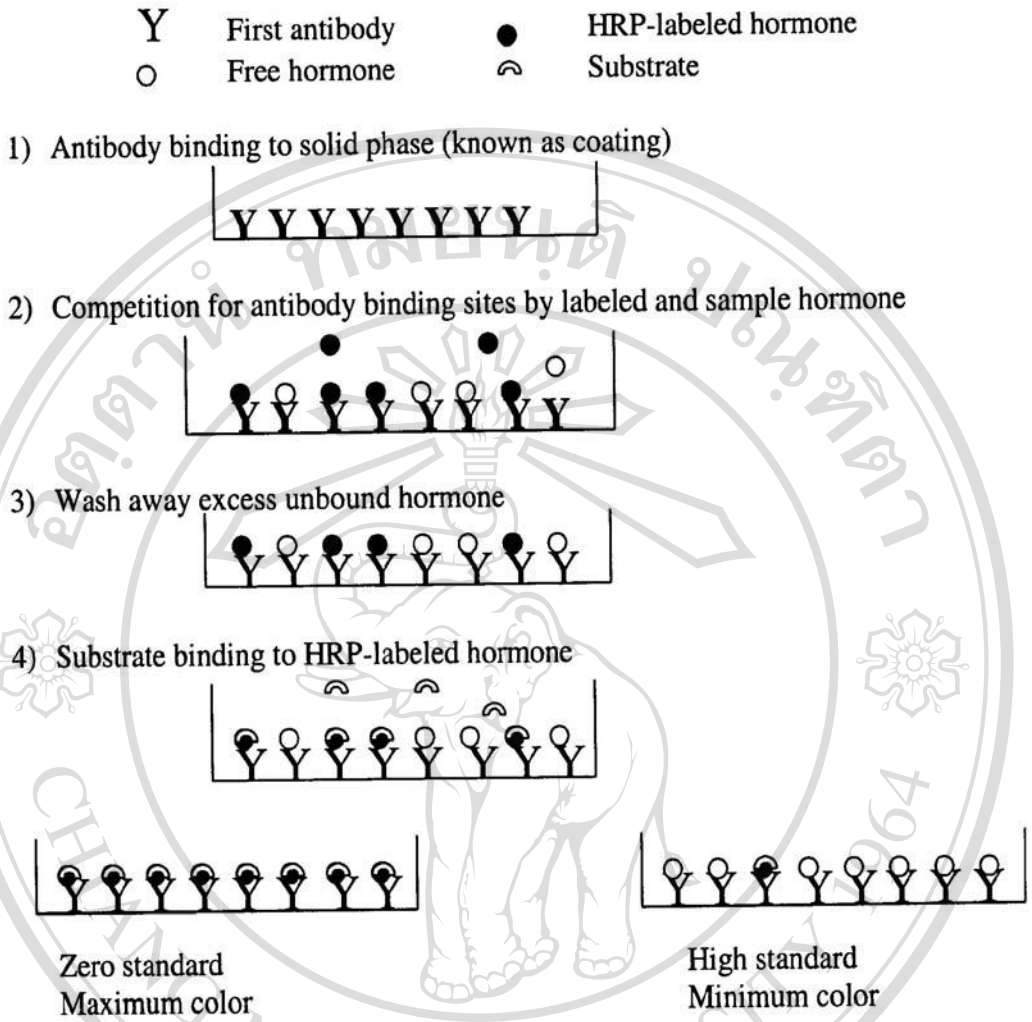
Standard หรือ Unlabeled Antigen standard ที่ใช้ปกติจะมีลักษณะหรือโครงสร้างคล้ายกับ Ag ดังนั้นจึงสามารถเกิดปฏิกิริยาข้าม (crossreact) กับ Ab ตัวแรกได้ standard นั้นเราจะทราบความเข้มข้น ในขณะที่ Ag นั้นเราไม่ทราบความเข้มข้น ดังนั้นจึงนำ standard มาใช้ในการวัดและการคำนวณความเข้มข้นของ Ag

Substrate เป็นสารที่จะทำปฏิกิริยากับ enzyme conjugate และเกิดการเปลี่ยนแปลงสี

Stop solution เป็นสารละลายที่ใช้สำหรับการหยุดปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับ substrate ทำให้หยุดการเปลี่ยนแปลงของสีเมื่อต้องการอ่านผล

เทคนิค EIA เป็นเทคนิคที่ใช้เอนไซม์เป็นตัวติดตามปฏิกิริยาแทนสารกัมมันตรังสี โดยนำ Ag หรือ Ab ติดบนพื้นผิวตัวกลาง (solid phase) เทคนิคนี้อาศัยหลักการคือ เป็นปฏิกิริยาของ Ag กับ Ab และปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับ substrate โดยเป็นการแข่งขันกันระหว่าง Ag ที่มีเอนไซม์ติดฉลากอยู่กับ Ag ที่ไม่ได้ติดฉลากนั่นคือ สารละลายมาตรฐานหรือจากตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณเพื่อที่จะแย่งที่กันจับกับ Ab หลังจากนั้นจะทำการล้างส่วนที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออกแล้วทำการเติม substrate ลงไปเพื่อดูปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่าง substrate กับ enzyme conjugate โดยจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีเกิดขึ้น แล้วนำมาวัดความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้น ถ้าภายในหลุมมีสีเข้มแสดงว่ามี enzyme conjugate มากในการทำปฏิกิริยา นั่นคือมีฮอร์โมนน้อย ซึ่งความสัมพันธ์ของสีที่เกิดขึ้นกับความเข้มข้นของฮอร์โมนจะเป็นสัดส่วนที่ผกผันกัน เมื่อต้องการทราบปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนให้นำค่าความเข้มข้นของสีของตัวอย่างที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟของค่ามาตรฐาน (13) (รูป 2.9)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูป 2.9 องค์ประกอบและหลักการของเทคนิค Single Antibody EIA (13)

2.8 เครื่องไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (High performance liquid chromatography : HPLC) หรือ โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

High performance liquid chromatography : HPLC หรือ โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารตัวอย่างออกเป็นหลายๆ ส่วน และทำการวัด หรือบ่งชี้ว่าแต่ละส่วนเป็นสารใด โดยอาศัยความแตกต่างของการกระจายของสารตัวอย่างไประหว่างสองเฟสคือ เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) กับ เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) โดยที่เฟสอยู่กับที่ทำหน้าที่ในการแยกสารหรือองค์ประกอบของสารตัวอย่างออกจากกัน เฟสเคลื่อนที่ทำหน้าที่ในการชะล้าง (eluted) หรือพาสารเคลื่อนที่ผ่านเฟสอยู่กับที่ ขณะที่เฟสเคลื่อนที่เคลื่อนผ่านเฟสอยู่กับที่องค์ประกอบหรือสารชนิดต่างๆ ในสารตัวอย่างจะมีการเคลื่อนที่ผ่านเข้าและออกระหว่างเฟสทั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สองหลายๆ ครั้ง หรือมีการหน่วงเหนี่ยว (retaintion) ไว้ในเฟสอยู่กับที่ ซึ่งจะขึ้นกับคุณสมบัติขององค์ประกอบหรือสารแต่ละชนิดที่อยู่ในสารตัวอย่าง ที่มีค่าจำเพาะเจาะจงต่อเฟสทั้งสอง จากความแตกต่างนี้ทำให้สารแต่ละชนิดเคลื่อนที่ผ่านเฟสอยู่กับที่ในอัตราความเร็วที่แตกต่างกัน ทำให้มีการแยกเกิดขึ้น (13, 25)

HPLC ได้ถูกนำมาใช้ในการแยกเมตาบอไลต์ของสเตียรอยด์ฮอร์โมนโดยใช้การแยกที่เรียกว่า โครมาโทกราฟีเฟสผันกลับ (reversed phase chromatography) ในการแยกแบบ reversed phase นั้นจะใช้เฟสอยู่กับที่ไม่มีสภาพขั้ว (non polar stationary phase) หรือมีสภาพขั้วต่ำซึ่งคอลัมน์จะบรรจุด้วยสารไฮโดรคาร์บอน และใช้เฟสเคลื่อนที่มีสภาพขั้ว (polar mobile phase) เช่น เมทานอล (methanol) น้ำ อะเซโทไนไทรต์ (acetonitrite) และเอทานอล ดังนั้นสารที่ไม่มีขั้วจะถูกหน่วงเหนี่ยวได้ดีบนคอลัมน์ในเฟสอยู่กับที่และจะถูกแยกออกโดยการละลายล้าง (elute) หรือชะออกมาช้ากว่าสารมีขั้ว โดยตัวถูกละลายที่มีสภาพขั้วสูงสุดจะหลุดออกมาก่อน และเรียงลำดับการแยกออกโดยการละลายล้างตามการลดลงของสภาพขั้วของตัวถูกละลายนั้น (13)

2.9 วิธีการเก็บตัวอย่างแบบไม่ทำอันตรายต่อสัตว์เพื่อติดตามการทำงานของฮอร์โมน (Non-invasive hormone monitoring)

การทำความเข้าใจเกี่ยวกับการทำงานพื้นฐานของระบบต่อมไร้ท่อมีความสำคัญ เพราะระบบสืบพันธุ์ถูกควบคุมโดยฮอร์โมนโดยตรง การศึกษารูปแบบของสเตียรอยด์ฮอร์โมนของระบบสืบพันธุ์ในกระแสเลือดได้มีการใช้มานานเพื่อศึกษาวงจรเป็นสัด ผลของฤดูกาลและการวินิจฉัยความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์ อย่างไรก็ตาม การเก็บตัวอย่างเลือดในทางปฏิบัตินั้นไม่เหมาะสมกับสัตว์ป่าและทำให้สัตว์ได้รับความเครียด (26) ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อผลการตรวจวัดระดับฮอร์โมนของระบบสืบพันธุ์ได้ วิธีการเก็บตัวอย่างแบบ non-invasive จึงถูกนำมาเป็นอีกทางเลือกในการติดตามการทำงานของฮอร์โมนในอวัยวะสืบพันธุ์ (27) การเก็บตัวอย่างปัสสาวะเพื่อการวิเคราะห์เมตาบอไลต์ของสเตียรอยด์ฮอร์โมนจึงเป็นอีกทางเลือกที่ได้รับความสนใจ (28) แต่การเก็บตัวอย่างปัสสาวะมีปัญหาในการเข้าไปเก็บตัวอย่างปัสสาวะในสัตว์บางชนิด และสัตว์บางชนิดเมตาบอไลต์ของสเตียรอยด์ฮอร์โมนส่วนใหญ่มีการขับออกมาทางอุจจาระมากกว่าในปัสสาวะ ดังนั้นการวิเคราะห์เมตาบอไลต์ของสเตียรอยด์ฮอร์โมนจากตัวอย่างอุจจาระจึงได้รับความนิยมมากที่สุดสำหรับการศึกษาทางด้านระบบต่อมไร้ท่อ (14, 27-29) วิธีการเก็บตัวอย่างแบบ non-invasive ได้มีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างมากในการใช้เทคนิคต่างๆ เพื่อช่วยพัฒนาระบบสืบพันธุ์เช่น เทคนิคการผสมเทียม การย้ายฝากตัวอ่อน ซึ่งการผสมเทียมนั่นจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องรู้วันที่สัตว์แสดงอาการเป็นสัดที่แน่นอน เพื่อให้ได้วันที่เหมาะสมที่สุดในการผสมเทียม ดังนั้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จำเป็นต้องเก็บตัวอย่างซ้ำๆ ซึ่งการเก็บตัวอย่างซ้ำโดยการเจาะเลือดกระทำได้ยากในสัตว์ป่า ดังนั้น การเก็บตัวอย่างอุจจาระจึงเป็นทางเลือกที่เหมาะสมและใช้กันอย่างกว้างขวางในการติดตามการทำงานของอวัยวะสืบพันธุ์ นอกจากนี้การวิเคราะห์เมตาบอไลต์ของสเตียรอยด์ฮอร์โมนในตัวอย่างอุจจาระยังสามารถใช้ในการตรวจการตั้งท้องในสัตว์หลายชนิดได้ (29)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved