บทที่ 2

ทบทวนผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

"การปฏิสนธิ" เป็นจุดเริ่มต้นของสิ่งมีชีวิตทั้งมวล แต่กระบวนการและกลไกต่างๆ ที่เกิดขึ้นทั้งหมดในการปฏิสนธินั้นยังไม่เป็นที่ทราบกันอย่างแน่นอน แม้ว่าจะมีตำราและงานวิจัยต่างๆ ที่ศึกษากันอย่างมากมายก็ตาม อย่างไรก็ดี กระบวนการที่สำคัญที่สุดคือการปฏิสัมพันธ์ระหว่างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้เพศเมียและขั้นตอนที่เกิดขึ้นตามลำดับของการปฏิสนธิ ลำดับขั้นตอนดังกล่าวนี้รวมถึงกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ การเจริญสมบูรณ์ของเซลล์สืบพันธุ์ โดยขั้นตอนเหล่านี้ต้องรับรองว่าเซลล์สืบพันธุ์ของทั้งเพศผู้และเพศเมียจะประสบความสำเร็จในการปฏิสนธิในตำแหน่งที่มีการปฏิสนธิเกิดขึ้นภายหลังการผสมพันธุ์ ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมส่วนใหญ่ การปฏิสนธิเกิดขึ้นภายใน "ท่อนำไข่" (oviduct, uterine tube, Fallopian tube) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง จะเกิดขึ้นบริเวณรอยต่อของท่อนำไข่ส่วนอิสธ์มัสและแอมพูลลาซึ่งเรียกว่า "ampullary-isthmic junction" (AIJ) ท่อนำไข่ของโคและกระบือเป็นอวัยวะที่ค่อนข้างเรียบง่าย ประกอบด้วยชั้นต่างๆ 3 ชั้นคือ ชั้นนอกสุดเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเรียกว่า mesosalpinx ชั้นกลางเป็นกล้ามเนื้อเรียบเรียกว่า myosalpinx และชั้นในสุดที่ติดกับช่องว่างภายในที่เรียกว่า endosalpinx ซึ่งชั้นนี้ประกอบด้วยเยื่อบุของท่อนำไข่ และชั้นใต้เยื่อบุเรียกว่า lamina propria (Yaniz et al., 2000) จากการศึกษาที่ผ่านมาเร็วๆ นี้ พบว่า เยื่อบุผิวท่อนำไข่ของกระบือไทยมีลักษณะเป็น simple columnar epithelium โดยส่วนใหญ่และประกอบด้วยเซลล์ 2 ชนิดคือ เซลล์ที่มีซีเลีย (ciliated cells) และเซลล์คัดหลั่ง (secretory cells) (Tienthai et al., 2008) เช่นเดียวกับที่พบในสัตว์เคี้ยวเอื้องชนิดอื่น เป็นที่ทราบว่า ท่อนำไข่มีบทบาทสำคัญหลายประการก่อนที่จะมีการปฏิสนธิเกิดขึ้น คือ การขนส่งโอโอไซต์ภายหลังการตกไข่ โดยลำเลียงผ่านอินฟันดิบูลัมและแอมพูลลา จนกระทั่งถึงส่วน AIJ เพื่อปฏิสนธิ นอกจากนี้ ท่อนำไข่ยังมีบทบาทในการขนส่ง กักเก็บ และกระบวนการคาปาซิเตชั่นของเซลล์อสุจิ ซึ่งกลไกดังกล่าวเกิดขึ้นเพื่อช่วยรักษาความสามารถในการเคลื่อนที่ การมีชีวิตรอด และประสิทธิภาพในการเข้าปฏิสนธิของเซลล์อสุจิ (Pollard et al., 1991; Lefebvre et al., 1995) ดังนั้น ท่อนำไข่จึงทำหน้าที่หลักในการจัดการสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมสำหรับการปฏิสนธิ รวมทั้งสำหรับการเจริญของตัวอ่อนในระยะแรกซึ่งยังคงอยู่ในช่องว่างของท่อนำไข่เป็นเวลา 3-4 วัน ก่อนที่ตัวอ่อนจะเข้าไปฝังตัวในปีกมดลูกเพื่อเจริญเติบโตต่อไป มีรายงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางด้านโครงสร้างของเยื่อบุ รวมทั้งส่วนประกอบอื่นๆ ของท่อนำไข่ส่วนต่างๆ อยู่มากมายในสัตว์เคี้ยวเอื้องชนิดต่างๆ เช่น แกะ (Murray, 1997) แพะ (Abe et al., 1999) และโค (Abe and Oikawa, 1993) ข้อมูลดังกล่าวสามารถนำมาประยุกต์ใช้สำหรับงานวิจัยขั้นสูงอื่นๆ อีกมากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งและการกระจายตัวของตัวอสุจิภายในท่อนำไข่ (Flechon and Hunter, 1981; Lefebvre et al., 1995) รวมทั้งการเจริญพัฒนาของโอโอไซต์จากของเหลวหรือเซลล์ที่ได้จากท่อนำไข่ (Schmidt et al., 1997) และการปฏิสนธิภายนอกร่างกายทั้งในมนุษย์ (Goldberg et al., 1991) และสัตว์ต่างๆ (Kim et al., 1996; Bureau et al., 2000) ถึงแม้ว่าความก้าวหน้าของเทคโนโลยีชีวภาพในการผลิตสัตว์ต่างๆ รวมทั้งกระบือปลัก จะมีการพัฒนาอย่างมากจนถึงการฝากย้ายตัวอ่อน (Techakumphu et al., 2001) และการโคลนนิ่ง (Kitiyanant et al., 2001) แต่กระบวนการดังกล่าวนั้น มีความจำเป็นต้องใช้สารหรือน้ำยาที่มีประสิทธิภาพดีเพียงพอในการเพาะเลี้ยงโอโอไซต์ และเหมาะสมสำหรับ

การใช้เตรียมเซลล์อสุจิให้มีความสมบูรณ์พร้อมในกระบวนการปฏิสนธินอกร่างกายและการเพาะเลี้ยงตัวอ่อน ซึ่งต้องใช้ความรู้พื้นฐานที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติระหว่างเซลล์สืบพันธุ์และอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย

ในระหว่างการผสมพันธุ์ เมื่อพ่อพันธุ์มีการหลั่งน้ำเชื้อแล้ว พบว่า เซลล์อสุจิจะมีช่วงชีวิตอยู่อย่างจำกัด แน่นอนว่า เซลล์อสุจินั้นมีหน้าที่หลักในการนำโครโมโซมจากพ่อพันธุ์ที่ดีถ่ายทอดไปยังลูกหลานที่จะเกิดขึ้นหลังจากที่การปฏิสนธิประสบความสำเร็จ มีรายงานการวิจัยพบว่า เซลล์อสุจิของโคจะต้องเข้าปฏิสนธิภายใน 12 ชั่วโมงหลังการตกไข่ (Brackett et al., 1980) กลไกที่เกิดขึ้นหลังจากการหลั่งน้ำเชื้อของสัตว์ที่ผสมพันธุ์ตามธรรมชาตินั่นคือ เซลล์อสุจิจะเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วผ่านช่องคลอดและมดลูก เพื่อเข้าไปในโครงสร้างแรกที่ต่อกับท่อนำไข่คือ ส่วนรอยต่อของปีกมดลูกกับท่อนำไข่ (utero-tubal junction) หรือ UTJ ซึ่งจะครอบคลุมไปถึงส่วนท้ายๆ ของอิสธ์มัสด้วย บริเวณดังกล่าวนี้จะทำหน้าที่เป็นที่กักเก็บเซลล์อสุจิหรือ sperm reservoir โดยบริเวณ UTJ ทำหน้าที่ควบคุมจำนวนของเซลล์อสุจิที่จะเข้าไปสู่ท่อนำไข่ การศึกษาในโค พบว่า มีจำนวนของเซลล์อสุจิประมาณ 100 เซลล์เท่านั้นที่สามารถผ่านเข้าไปสู่ท่อนำไข่ได้ (Larsson and Larsson, 1985)‘ กลไกในการจำกัดจำนวนเซลล์อสุจินี้ เป็นการป้องกันการเข้าปฏิสนธิของเซลล์อสุจิหลายเซลล์ต่อหนึ่งโอโอไซต์ (polyspermic fertilization หรือ polyspermia) ขณะที่กลไกดังกล่าวนี้สามารถรักษาโอกาสในการเข้าปฏิสนธิของเซลล์อสุจิได้ตามปกติ (Hunter and Leglise, 1971) และที่สำคัญการเกิด polyspermia นำไปสู่ความล้มเหลวในกระบวนการปฏิสนธิของสัตว์ ดังนั้น ในขณะที่เซลล์อสุจิจำนวนหนึ่งที่จะผ่านเข้าไปสู่ท่อนำไข่ จะต้องผ่านโครงสร้างที่เป็นช่องแคบที่เต็มไปด้วยเมือกข้นเหนียวตามที่มีรายงานการวิจัยในกระต่าย (Jansen, 1978) สุกร (Johansson et al., 2000) และโค (Suarez et al., 1997) ช่องว่างที่มีลักษณะแคบดังกล่าวนี้ จะแคบลงมากขึ้นเนื่องจากภาวะการบวมน้ำที่เกิดขึ้นในชั้น lamina propria ซึ่งมีสาเหตุมาจากระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนที่สูงขึ้นในระยะเอสตรัส (Hunter et al., 1991) โครงสร้างที่เป็นช่องแคบและความเหนียวข้นของเมือกที่อยู่ภายในบริเวณดังกล่าวนี้ทำให้เซลล์อสุจิที่ผ่านเข้ามาเคลื่อนที่ช้าลง ทั้งยังเพิ่มโอกาสให้บริเวณส่วนหัวของเซลล์อสุจิได้เข้าไปสัมผัสหรือเข้าจับกับพื้นผิวของเซลล์เยื่อบุท่อนำไข่ ซึ่งการเข้าจับนั้นอาจเกิดขึ้นจากปัจจัยต่างๆ มากมาย ขั้นตอนเหล่านี้ทำให้เซลล์อสุจิได้พักชั่วระยะหนึ่งและเป็นกลไกเบื้องต้นในการสร้างบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิ (sperm reservoir) (Suarez, 1998; Suarez, 2002) มีรายงานการวิจัยได้มีการศึกษาการเข้าจับของเซลล์อสุจิกับเซลล์เยื่อบุท่อนำไข่ในสัตว์หลายชนิด ระบุว่าปัจจัยดังกล่าวเกิดจากการจดจำของสารประเภทคาร์โบไฮเดรต (Suarez, 2001) และการสนับสนุนของสารประเภทไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ (GAGs) (Johansson et al., 2000; Tienthai et al., 2000)

ดังที่ได้กล่าวแล้วว่า หน้าที่หลักของบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิเกี่ยวข้องกับการรักษาความสามารถและประสิทธิภาพในการเข้าปฏิสนธิของเซลล์อสุจิ ซึ่งจะเกี่ยวกับกลไกการเกิดคาปาซิเตชั่น โดยให้กลไกดังกล่าวนี้เกิดขึ้นเป็นจังหวะสอดคล้องกับช่วงเวลาของการตกไข่ และควบคุมการปลดปล่อยเซลล์อสุจิเข้าสู่ท่อนำไข่ส่วน AIJ เพื่อการปฏิสนธิต่อไป (Suarez, 2002) พบว่า เซลล์อสุจิกลุ่มดังกล่าวจะเคลื่อนที่ออกจากบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิพร้อมๆ กับการตกไข่ ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องการสัญญาณในการปลดปล่อยเซลล์อสุจิเหล่านี้ ให้หลุดออกจากผิวของเซลล์เยื่อบุท่อนำไข่ยังไม่มีการรายงานอย่างชัดเจน อย่างไรก็ดี มีรายงานว่า follicular fluid ที่เข้ามาภายในท่อนำไข่หลังการตกไข่อาจมีบทบาทต่อกลไกนี้ และอิทธิพลของฮอร์โมนที่

สัมพันธ์กับการทำงานของรังไข่ ซึ่งมีผลกระทบต่อท่อนำไข่ส่วนอิสธ์มัส อาจช่วยปรับเปลี่ยนสารประกอบของของเหลวภายในท่อนำไข่ และช่วยกระตุ้นการปลดปล่อยเซลล์อสุจิเช่นกัน (Hunter et al., 1999) ทั้งยังมีรายงานว่า ในระหว่างที่เกิดการปลดปล่อยเซลล์อสุจิจากเยื่อบุนั้น มีส่วนสัมพันธ์กับกลไกการเกิดคาปาซิเตชั่นภายในบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิ (Lefebvre and Suarez, 1996) โดยส่วนประกอบของของเหลวที่คัดหลั่งภายในท่อนำไข่ที่สำคัญอย่างหนึ่งคือ ซัลเฟตไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ (sulphated glycosaminoglycans, S-GAGs) มีบทบาทในการช่วยปลดปล่อยเซลล์อสุจิออกจากบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิ (Talevi and Gualtieri, 2001) ด้วยเหตุนี้ เหตุการณ์หรือกลไกบางอย่างที่ทำให้ส่วนประกอบบางชนิดของของเหลวภายในท่อนำไข่เปลี่ยนแปลง อาจจะมีส่วนร่วมในกระบวนการสร้างบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิซึ่งรวมถึงการจับและปลดปล่อยเซลล์อสุจิจากพื้นผิวของเซลล์เยื่อบุท่อนำไข่ ดังนั้น บทบาทที่แท้จริงของท่อนำไข่ต่อหน้าที่ของเซลล์อสุจิกระบือปลัก จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องศึกษาบทบาท หน้าที่ และกลไกการทำงานเบื้องต้นของบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิในกระบือปลักเพศเมียเป็นอันดับแรก

การศึกษาวิจัยที่เกี่ยวกับการเกิดกระบวนการคาปาซิเตชั่นซึ่งสัมพันธ์กับกลไกของบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิมีอยู่จำนวนมาก นักวิจัยบางกลุ่มระบุว่า กระบวนการเกิดคาปาซิเตชั่นเกิดขึ้นภายในบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิ (Grippo et al., 1995; Lefebvre and Suarez, 1996; Fazeli et al., 1999) ในทางตรงกันข้ามนักวิจัยบางกลุ่มระบุว่า บริเวณ sperm reservoir โดยเฉพาะในระยะก่อนการตกไข่ (pre-ovulation) มีส่วนในการป้องกันการเกิดคาปาซิเตชั่น และกระบวนการดังกล่าวจะเกิดขึ้นในช่วงที่มีการปลดปล่อยเซลล์อสุจิ และเคลื่อนที่ขึ้นไปที่ตำแหน่งที่มีการปฏิสนธิ (Smith, 1998; Tienthai et al., 2004) ความแตกต่างนี้อาจเป็นเพราะว่า บริเวณที่เกิดกระบวนการคาปาซิเตชั่นในสัตว์ขณะที่มีชีวิตเป็นสิ่งที่ยากจะศึกษา และอาจต้องใช้เทคนิคหรือวิธีในการ ศึกษาที่ซับซ้อน ดังนั้น การศึกษาเบื้องต้นควรมุ่งประเด็นในเรื่องของสารประกอบต่างๆ ที่เซลล์เยื่อบุท่อนำไข่ผลิตขึ้นมา ซึ่งสารประกอบดังกล่าวต้องมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นตลอดวงรอบการเป็นสัด โดยเฉพาะสารที่น่าสนใจนี้ต้องมีการปรากฏอย่างเด่นชัดในช่วงก่อนการตกไข่ ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาหลายทศวรรษ ได้มีการศึกษาสารประกอบต่างๆ มากมายที่มีผลในการเหนี่ยวนำการเกิดคาปาซิเตชั่นในห้องปฏิบัติการ Parrish และคณะ (1988) รายงานว่า "เฮพาริน" มีบทบาทวนในการเหนี่ยวนำการเกิดคาปาซิเตชั่นในเซลล์อสุจิของโคได้อย่างชัดเจน จากนั้นเป็นต้นมา จึงได้นำเฮพารินมาใช้อย่างแพร่หลายในการเตรียมเซลล์อสุจิเพื่อการปฏิสนธินอกร่างกาย ช่วงเวลาต่อมา ได้มีรายงานเพิ่มเติมว่า ซัลเฟตไกลโคคอนจูเกตส์ และซัลเฟตไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ มีผลเหนี่ยวนำการเกิดคาปาซิเตชั่นเช่นเดียวกับเฮพารินในระดับที่แตกต่างกันไป (Parrish et al., 1989) การศึกษาการปรากฏของไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ได้มีรายงานการพบในระบบสืบพันธุ์เพศเมียของสัตว์ชนิดต่างๆ รวมทั้งในโค (Lee et al., 1986; Varner et al., 1991; Tienthai et al., 2000) รวมทั้งได้มีรายงานพบว่าของเหลวได้เก็บได้จากท่อนำไข่มี ไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์เป็นส่วนประกอบอยู่เป็นจำนวนมาก (Kawakami et al., 2000; Tienthai et al., 2000) ไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ มีโครงสร้างเป็น amino-polysaccharide ที่เป็นโซ่ยาว ไม่มีแขนง ประกอบด้วย 2 กลุ่มหลัก คือกลุ่มที่ไม่มีซัลเฟตและกลุ่มที่มีซัลเฟต โดยกลุ่มที่ไม่มีซัลเฟตจะมีเพียงไฮยาลูโรแนนหรือที่เรียกกรดไฮยาลูโรนิก (hyaluronan, hyaluronic acid) เท่านั้น ที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ (Hileman et al., 1998) แต่กลุ่มที่มีซัลเฟต (S-GAGs) จะประกอบไปด้วย 1) เฮพาแรนซัลเฟต (heparan sulphates) ซึ่งกลุ่มนี้รวมถึงเฮพาริน 2) คอนดรอ

ยดินซัลเฟต (chondroitin sulphates) และ 3) เคอราตานซัลเฟต (keratin sulphates) (Cao et al., 1997) โดยทั่วไปแล้ว S-GAGs จะเชื่อมต่อกับโปรตีน เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างเป็นโปรตีโอไกลแคน (proteoglycan) (Kjellen and Lindahl, 1991) กลุ่มหนึ่งของโปรตีโอไกลแคนที่มีเฮพาแรนซัลเฟตเป็นส่วนประกอบอยู่คือ ซินดิแคนส์ (syndecans) (Gallagher et al., 1986) นอกจากนี้ จากคุณสมบัติเฉพาะตัวของไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ซึ่งเป็น hydropholic อย่างสูงและมีขั้วเป็นลบซึ่งจะดึงดูด cations ทำให้เกิดสภาวะออสโมติกสูงขึ้นและเปลี่ยนเป็นสารที่มีความข้นเหนียวมากขึ้น ซึ่งสารที่มีคุณบัติดังกล่าวนี้ก็คือ ไฮยาลูโรแนน ที่มีความสามารถในการปรับสภาพเป็นวุ้นเหนียวได้ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำ (Toole, 2004) โดยไฮยาลูโรแนนพบได้ทั่วร่างกาย และมีรายงานว่าเซลล์คิวมูลัสที่อยู่รอบๆ โอโอไซต์สามารถสร้างไฮยาลูโรแนนได้เป็นอย่างดี (Ball et al., 1982) ในการเตรียมสารสำหรับเพาะเลี้ยงตัวอ่อนของหนู สุกร และโค เพื่อให้เจริญสมบูรณ์เต็มที่ ถ้ามีการเติมไฮยาลูโรแนนเพิ่มลงไปจะทำให้สารสำหรับการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Furnus et al., 1998; Gardner et al., 1999; Miyoshi et al., 1999) มีรายงานการวิจัยตรวจพบไฮยาลูโรแนนในเมือกข้นจากคอมดลูก และของเหลวในท่อนำไข่ของสุกรและโค (Lee and Ax, 1984; Tienthai et al., 2000) ในขณะที่ S-GAGs ได้มีการตรวจพบในเมือกข้นจากคอมดลูกในระดับความเข้มข้นที่สูงกว่าที่พบในมดลูกและท่อนำไข่ของโค ตรงกันข้ามกับไฮยาลูโรแนนซึ่งตรวจพบภายในท่อนำไข่ในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับมดลูกและคอมดลูกในช่วงเป็นสัด (Lee and Ax, 1984) นอกจากนี้ การศึกษาในห้องปฏิบัติการมีรายงานว่าไฮยาลูโรแนนในความเข้มข้นที่เหมาะสม ช่วยทำให้การเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิของโคมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Huszar et al., 1990) และควบคุมการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิในกระบวนการคาปาซิเตชั่น (Rodriguez-Martinez, 1997; Tienthai et al., 2004) การปฏิสัมพันธ์ของไฮยาลูโรแนนกับผิวของเซลล์จะเกิดขึ้นผ่านทางโปรตีนตัวรับซึ่งเรียกโดยรวมว่า hyaluronan-binding proteins (HABPs) เช่น ตัวรับ CD44 ซึ่งเป็นตัวรับของไฮยาลูโรแนนที่พบโดยทั่วไป (Ponta et al., 1998) CD44 มีความสามารถในการเข้าจับกับไฮยาลูโรแนนและตรวจพบได้ที่เซลล์เยื่อบุเป็นส่วนใหญ่ (Alho and Underhill, 1989) ซึ่งรวมถึงเซลล์เยื่อบุของท่อทางเดินสืบพันธุ์เพศเมียของมนุษย์และสุกร (Behzad et al., 1994; Tienthai et al., 2003) การปรากฏของ CD44 ยังพบได้ที่โอโอไซต์และตัวอ่อนระยะแรกของโค (Furnus et al., 2003) และเซลล์คิวมูลัสของสุกร (Yokoo et al., 2002) CD44 มีส่วนร่วมในหน้าที่ต่างๆ ของเซลล์อย่างกว้างขวาง เช่น การส่งสัญญาณของเซลล์ การเพิ่มจำนวนของเซลล์ การยึดเกาะระหว่างเซลล์กับเซลล์หรือระหว่างเซลล์กับสารที่อยู่รอบๆ เซลล์ การเคลื่อนย้ายของเซลล์และการเปลี่ยนลักษณะรูปร่างของเซลล์ รวมทั้ง กลไลในการเพิ่มขึ้นและการลดลงของไฮยาลูโรแนน (Underhill, 1992) สำหรับการลดลงของไฮยาลูโรแนนนั้น พบว่าไฮยาลูโรแนนต้องเข้าจับกับ CD44 ซึ่งทำให้เกิดการ endocytosis ของไฮยาลูโรแนน ส่งผลให้มีการย่อยสลายไฮยาลูโรแนนโดยเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase) เพื่อการนำไฮยาลูโรแนนกลับเข้าสู่ร่างกายและนำไปใช้ใหม่ (Culty et al., 1990) การศึกษาวิจัยเท่าที่ผ่านมาในสัตว์ปศุสัตว์นั้น พบว่าได้มีการศึกษาการปรากฏของไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ในสุกรและโคเป็นส่วนใหญ่ ยังไม่มีรายงานการวิจัยใดเลยเกี่ยวกับสารดังกล่าวนี้ในท่อทางเดินสืบพันธุ์เพศเมียของกระบือในระยะต่างๆ ตลอดวงรอบการเป็นสัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในท่อนำไข่ ดังนั้น การศึกษาการปรากฏของไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ทั้งชนิดที่มีซัลเฟต

และไม่มีซัลเฟตภายในเยื่อบุท่อนำไข่ของกระบือปลักซึ่งสัมพันธ์กับเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย จึงเป็นความรู้ขั้นพื้นฐานที่สำคัญนำไปสู่การประยุกต์ใช้ต่อยอดในเทคโนโลยีทางชีวภาพของกระบือปลักต่อไป

นอกจากสารต่างๆ ภายในท่อนำไข่ ที่มีประโยชน์และช่วยรักษาการมีชีวิตรอดของเซลล์สืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมีย นักวิจัยยังได้พยายามศึกษาและเชื่อว่ายังมีกลไกอื่นๆ ที่มีส่วนทำให้ท่อนำไข่มีความพิเศษแตกต่างจากท่อทางเดินสืบพันธุ์เพศเมียส่วนอื่นๆ เช่น ในมดลูก พบว่าเซลล์อสุจิถูกเก็บกินเป็นจำนวนมากโดยเซลล์เม็ดเลือดขาว (polymorphonuclear leukocytes) ต่างจากท่อนำไข่ที่ยินยอมให้เซลล์อสุจิมีชีวิตอยู่ในช่วงเวลาหนึ่ง (Rodriguez-Martinez et al., 1990) พบว่า seminal plasma ที่อยู่บนเซลล์อสุจิเป็นตัวกระตุ้นที่เหนี่ยวนำให้เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันภายในมดลูกทำงาน และเป็นปัจจัยที่ทำให้เซลล์อสุจิส่วนใหญ่ถูกทำลายภายในบริเวณมดลูก (Robertson, 2005) จึงอาจเป็นไปได้ว่า ท่อนำไข่อาจจัดอยู่ในกลุ่มของอวัยวะที่เรียกว่า "immune privileged organ" (Cardenas et al., 1998) เป็นที่ทราบกันดีว่า ระบบภูมิคุ้มกันภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต ทำหน้าที่ในการทำลายสิ่งแปลกปลอมจากภายนอกร่างกายเพื่อปกป้องตัวเองไม่ให้ได้รับอันตรายโดยการเหนี่ยวนำทำให้เกิดการอักเสบขึ้น แต่บางครั้งกลไกการทำลายสิ่งแปลกปลอมจากภายนอกของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน จะส่งผลกระทบต่อเซลล์ที่อยู่รอบๆ ได้ ซึ่งอวัยวะส่วนใหญ่ภายในร่างกายสามารถที่จะทนต่อการอักเสบที่เกิดขึ้นได้ แต่บางอวัยวะ เช่น ดวงตา และอัณฑะ ไม่สามารถที่จะทนต่อกระบวนการดังกล่าวนี้ (Nagata, 1997; Koji et al., 2001) อวัยวะที่มีความไวต่อการถูกทำลายได้ง่ายเหล่านี้ จึงได้มีกลไก immune privilege ช่วยป้องกันไม่ให้ได้รับผลกระทบจากการอักเสบที่เกิดจากระบบภูมิคุ้มกันภายในร่างกาย (Green and Ferguson, 2001) immune privilege เป็นกลไกภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่ทำหน้าที่ในการปกป้องเนื้อเยื่อ หรืออวัยวะบริเวณที่มีความไวต่อการถูกทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันของตัวเองไม่ให้มีผลกระทบ โดยกลไกนี้ทำให้เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันสูญเสียคุณสมบัติในการทำงานบางอย่าง เพื่อป้องกันไม่ให้เซลล์ระบบภูมิคุ้มกันไปทำอันตรายต่อเซลล์ที่อยู่รอบๆ ทำให้อวัยวะที่มีความไวต่อการถูกทำลายสามารถมีชีวิตรอดพ้นจากการถูกทำลายได้ (Arck et al., 2008) ในปัจจุบันได้มีการนำเอาคุณสมบัติของอวัยวะที่มีการทำงานแบบ immune privilege มาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ทางด้านเทคโนโลยีการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อ เช่น การปลูกถ่ายกระจกตา ซึ่งพบว่าภายในดวงตาได้มีกลไกที่ใช้ในการควบคุม การแสดงออกของเซลล์ภูมิคุ้มกันนั่นคือการทำงานของระบบ Fas-FasL (Fas-FasL system) (Stein-Streilien, 2008) พบว่า Fas (CD95) จัดเป็น protein membrane type I อยู่ในกลุ่มของ tumor necrosis factor (TNF) ซึ่งเป็นโปรตีนตัวรับที่อยู่บนผิวหน้าของเซลล์ โดยทำหน้าที่เป็นสื่อกลางในการเหนี่ยวนำให้เกิดรูปแบบการตายของเซลล์ขึ้นเมื่อจับกับแขนของ FasL (Nagata, 1997) โครงสร้างของ Fas ประกอบไปด้วย cysteine และมีจำนวนของ intracellular death domain ประมาณ 80 หมู่กรดอะมิโน ซึ่งทำหน้าที่เป็นเหมือนสื่อกลางในการส่งสัญญาณให้เกิดรูปแบบการตายของเซลล์ (Oconnell, 2001) เมื่อได้รับการกระตุ้นจาก FasL โปรตีนจำนวนมากจะมารวมตัวกันที่บริเวณ death domain ใน Fas เพื่อสร้างสัญญาณในการเหนี่ยวนำให้การตายของเซลล์หรือ death-inducing signaling complex (DISC) ขึ้นมา (Medema et al., 1997) ภายใน DISC นั้น Fas-associated death domain protein (FADD) จะสร้างสะพานเชื่อมระหว่าง Fas ที่ได้รับการกระตุ้นแล้วกับเอนไซม์ pro-caspase-8 เข้าด้วยกัน FADD จะเป็นตัวกลางในการรวบรวมเอ็นไซม์ pro-caspase-8 ไปยัง Fas ที่ได้รับการกระตุ้นแล้ว ซึ่งจะทำให้เอ็นไซม์ pro-caspase-8 กลายเป็นเอ็นไซม์ caspase-8 ที่อยู่ในสภาพ

พร้อมทำงานหรือที่เรียกว่า Fas-linked interleukin-1ß (IL-1ß)-concerting enzyme like protease (FLICE) (Chinnaiyan et al., 1995) เอ็นไซม์ caspase ที่เกิดกระบวนการ proteolysis กับโปรตีนที่มีความจำเพาะจะเป็นจุดศูนย์กลางที่นำให้เกิดรูปแบบการตายของเซลล์ (Martin and Green, 1995) กระบวนการทำงานของระบบ Fas-FasL สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดรูปแบบการตายของเซลล์ขึ้นมาโดยการจับกันระหว่าง FasL กับ Fas ซึ่งเป็นตัวรับที่อยู่บนผิวของเซลล์นั้นๆ (Nagata, 1997) และเป็นตัวรับที่สามารถพบได้ตามระบบภูมิคุ้มกัน ดังนั้น หาก FasL สามารถเข้าไปจับกับ Fas ที่อยู่บนบริเวณผิวหน้าของเซลล์เม็ดเลือดขาวได้ จะทำให้เกิดรูปแบบการตายของเซลล์เม็ดเลือดขาวขึ้นได้ จึงทำให้ FasL เป็นกลไกชนิดหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมการทำงาน T-cells ภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ การพบ FasL ในระบบสืบพันธุ์เพศผู้ของหนู โดยมีการแสดงออกที่ spermatogonia นั้นเกี่ยวข้องกับการลดจำนวนเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ในอัณฑะของหนู ขณะที่เกิดกระบวนการสร้างเซลล์อสุจิในสภาวะปกติ (Lee et al., 1997) จากการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้พบว่ากระบวนการเสื่อมตายของเซลล์อสุจิภายในอัณฑะของมนุษย์จะชัดเจนมาก ในช่วงที่มีการสร้างเซลล์อสุจิ ซึ่งกระบวนการนี้มีส่วนเกี่ยวข้องกับระบบ Fas-FasL (Pentikainen et al., 1999; Francavilla et al., 2000) ในระบบสืบพันธุ์เพศเมีย พบรูปแบบการตายของเซลล์เกิดขึ้นที่บริเวณ theca interna ของฟอลลิเคิลภายในรังไข่ ทำให้เกิดการล่าช้าในการฝ่อตัวของฟอลลิเคิล (follicular regression) (Isobe and Yoshimura, 1999) นอกจากนี้ บริเวณ granulosa cell ก็มีรูปแบบการเสื่อมตายของเซลล์เกิดขึ้นเช่นเดียวกัน พบว่าเป็นผลมาจากกระบวนการทำงานของระบบ Fas-FasL เหนี่ยวนำให้เกิดรูปแบบการตายของ granulosa cells นั่นเอง รวมทั้งระงับการสร้างซีรั่มที่บริเวณดังกล่าวทำให้โอโอไซต์ที่ยังอ่อนอยู่เกิดการฝ่อตัวเช่นกัน ส่งผลทำให้โอโอไซต์เหล่านี้ส่วนใหญ่ไม่พัฒนาจนถึงขั้นตอนในการตกไข่ (Hu et al., 2001) นอกจากจะส่งผลดังกล่าวแล้ว ช่วงที่มีการพัฒนาของเซลล์คิวมูลัสของโคพบว่า การทำงานของระบบ Fas-FasL และฮอร์โมน FSH มีส่วนเหนี่ยวนำให้เกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ที่เซลล์คิวมูลัสด้วย (Rubio Pomar et al., 2004) การทดลองในห้องปฏิบัติการยังพบอีกว่า กระบวนการทำงานของระบบ Fas-FasL ภายในรังไข่ของคน หนู และโค ค่อนข้างมีความไวสูงมากต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการตายดังกล่าวของเซลล์ (Quirk et al., 1998) ในช่วงที่มีการเจริญของตัวอ่อน การแสดงออกของ FasL มีบทบาทสำคัญอย่างมากในการช่วยปกป้องตัวอ่อนในระยะฟีตัส จากการทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันที่มีอยู่ในระบบสืบพันธุ์เพศเมีย (Hunt et al., 1997) นอกจากนี้ บริเวณที่พบการกระจายตัวของ FasL อยู่หนาแน่นคือ decidual cells ของมดลูกในช่วงที่มีการตั้งท้อง และจากการที่ trophoblast มีความสามารถที่จะเหนี่ยวนำ FasL เข้ามาเพื่อทำให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์ขึ้นได้อย่างอิสระ จึงชี้ให้เห็นว่าระบบ Fas-FasL มีบทบาทสำคัญต่อการปกป้องตัวอ่อนจากระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายของแม่สัตว์ (Kauma et al., 1999) มีรายงานการวิจัยที่ผ่านมาไม่นานนี้ศึกษาในท่อนำไข่ของโครบุว่า กลไกนี้อาจช่วยป้องกันเซลล์อสุจิให้รอดพ้นจากการถูกทำลายโดยเซลล์เม็ดเลือดขาว (Bergqvist et al., 2005) กระบวนการทางภูมิคุ้มกันวิทยาที่สำคัญอีกกระบวนการหนึ่งที่การทำงานของระบบ Fas-FasL เข้าไปมีบทบาทสำคัญคือ การทำหน้าที่เป็น immune privilege ซึ่งเป็นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในลักษณะที่เซลล์บางเซลล์ได้รับการยกเว้นไม่ถูกทำลายจากระบบภูมิคุ้มกันที่มีอยู่แล้ว กระบวนการนี้จะทำหน้าที่จำกัดกระบวนการอักเสบที่จะเกิดขึ้น และยับยั้งการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันเพื่อความอยู่รอดในการดำรงชีวิตในแต่ละเซลล์ ในบริเวณอวัยวะที่มีความไวต่อการรับสัมผัสรูปแบบต่างๆ เช่น นัยน์ตา และในเนื้อเยื่อของระบบ

สืบพันธุ์บางอวัยวะเป็นตำแหน่งที่ไม่สามารถทนต่อการถูกทำลายเนื้อเยื่อที่เกิดจากการอักเสบจากการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน อวัยวะเหล่านี้จึงได้มีกระบวนการในการยับยั้งการอักเสบที่เกิดขึ้น หนึ่งในกระบวนการเหล่านั้นก็คือการทำงานของระบบ Fas-FasL (Oconnell, 2001) ยังไม่มีรายงานการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับระบบ Fas-FasL ในท่อนำไข่ของกระบือ ดังนั้น การศึกษาระบบ Fas-FasL และการศึกษาการปรากฏไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจอย่างยิ่ง และอาจช่วยสนับสนุนบทบาทหน้าที่ของบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิในท่อนำไข่กระบือไทยได้เป็นอย่างดี และพร้อมที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในเทคโนโลยีทางชีวภาพต่อไปในอนาคต