บทที่ 5

อภิปรายผล สรุป และข้อเสนอแนะ

ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับสารชนิดต่างๆ ที่ส่งผลกระทบต่อเซลล์สืบพันธุ์ของเพศผู้และเพศเมีย รวมทั้งตัวอ่อนในระยะแรก มีความจำเป็นอย่างมากที่จะทำให้เกิดความรู้ความเข้าใจที่ดียิ่งขึ้นสำหรับกลไกในกระบวนการสืบพันธุ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนที่เกิดขึ้นภายในท่อนำไข่ และข้อมูลที่ได้ดังกล่าว จะทำให้ทราบถึงความผิดปกติที่อาจพบได้ภายในท่อนำไข่ซึ่งมีผลทำให้เกิดภาวะผสมไม่ติด ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาปัจจัยที่อาจเกี่ยวข้องในการรักษาการมีชีวิตของเซลล์สืบพันธุ์ การขนส่งเซลล์สืบพันธุ์ การคาปาซิเตชันของเซลล์อสุจิ การปฏิสนธิ รวมทั้งการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนในระยะแรกที่เกิดขึ้นภายในของเหลวและเซลล์เยื่อบุผิวของท่อนำไข่กระบือปลักไทย

รายงานการวิจัยที่ผ่านมาจำนวนมาก ได้มีการนำเซลล์เยื่อบุท่อนำไข่มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการพร้อมกับการตรวจสอบคุณสมบัติต่างๆ ของเซลล์อสุจิที่ได้สัมผัสกับผิวของเซลล์เยื่อบุท่อนำไข่ พบว่า กลุ่มของเซลล์อสุจิที่จะมีประสิทธิภาพเพียงพอในการปฏิสนธิกับโอโอไซต์ได้ต้องมีการยึดติดกับเซลล์เยื่อบุผิวของท่อนำไข่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับเซลล์เยื่อบุผิวของท่อนำไข่ในส่วนที่ทำหน้าที่เป็นบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจินั่นคือ บริเวณรอยต่อของปีกมดลูกและท่อนำไข่ (uterotubal junction, UTJ) และส่วนท้ายของอิสธ์มัส (Pollard et al., 1991; Lefebvre et al., 1995) นอกจากนี้ ยังมีการนำของเหลวที่เก็บได้จากท่อนำไข่ไปผสมในน้ำยาที่ใช้ในการคัดเลือกเซลล์อสุจิโค ซึ่งมีผลทำให้เซลล์อสุจิดังกล่าวมีประสิทธิภาพดีขึ้นในการปฏิสนธิ (Parrish et al., 1989) แสดงให้เห็นว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการกระตุ้นให้เซลล์อสุจิมีประสิทธิภาพดีขึ้น ประกอบด้วยการยึดติดบริเวณผิวของเซลล์เยื่อบุท่อนำไข่ และการสัมผัสกับของเหลวภายในท่อนำไข่ ซึ่งของเหลวดังกล่าวนี้ส่วนใหญ่มีการคัดหลั่งมาจากเซลล์เยื่อบุของท่อนำไข่ รายงานการวิจัยที่ผ่านมาระบุว่า ส่วนประกอบหลักที่พบภายในของเหลวของท่อนำไข่ประกอบด้วย "ไฮยาลูโรแนน" ซึ่งเป็นไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ชนิดที่ไม่มีซัลเฟต สามารถพบได้ในท่อนำไข่สุกร (Tienthai et al., 2000) และท่อนำไข่โค (Bergqvist et al., 2005a) โดยไฮยาลูโรแนน มีบทบาทในการทำหน้าที่เป็นสารคัดเลือกเซลล์อสุจิที่สามารถพิสูจน์ได้ในห้องปฏิบัติการ (Shamsuddin et al., 1993) อย่างไรก็ดี ไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์กลุ่มที่มีซัลเฟต ก็ยังสามารถตรวจพบได้ในท่อนำไข่ของสุกร (Tienthai et al., 2000) และโค (Bergqvist and Rodriguez-Martinez et al., 2006) ได้เช่นเดียวกัน ดังนั้น สารประกอบดังกล่าวทั้งสองกลุ่มจึงน่าจะมีบทบาทต่อเซลล์สืบพันธุ์ และการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนในรูปแบบหรือลักษณะที่แตกต่างกันไปในท่อนำไข่สุกรและโค แน่นอนว่า ยังไม่ได้มีรายงานการศึกษาวิจัยใดๆ ในการศึกษาสารทั้งสองชนิดนี้ในกระบือปลักไทย

การปรากฏของไกลโคสอะมิไกลแคนส์ชนิดที่ไม่มีซัลเฟต หรือที่เรียกว่าไฮยาลูโรแนน ในท่อนำไข่ของกระบือปลักของการศึกษาครั้งนี้ พบว่า มีการแสดงออกของไฮยาลูโรแนนอย่างชัดเจนภายในชั้นใต้เซลล์เยื่อบุหรือ lamina propria ของท่อนำไข่กระบือปลักทุกส่วน ซึ่งพบได้ทั้งสองระยะของวงรอบการเป็นสัดเช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมาในโค (Ulbrich´et al., 2004; Bergqvist et al., 2005a) และสุกร (Tienthai et al., 2000) โดยทั่วไปนั้น การปรากฏของไฮยาลูโรแนนสามารถตรวจพบได้ชัดเจนใน extracellular matrix ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดหลวม (loose connective tissue) ของอวัยวะต่างๆ ภายในร่างกาย (Laurent and Fraser, 1992) ซึ่งเนื้อเยื่อใต้เยื่อบุคือ lamina propria เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดหลวม จึงไม่น่าแปลกใจที่จะพบไฮยาลูโรแนนอย่างชัดเจนในชั้นดังกล่าวนี้ของท่อนำไข่กระบือปลัก แต่ที่สำคัญคือ การปรากฏของไฮยาลูโรแนนภายในชั้นเซลล์เยื่อบุผิวและ/หรือบนขอบชั้นบนของเซลล์เยื่อบุ ในการศึกษานี้จะพบไฮยาลูโรแนนได้

เด่นชัดใน UTJ และอิสธ์มัส โดยเฉพาะระยะฟอลลิคูลาร์ สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาในท่อนำไข่สุกร (Tienthai et al., 2000) และในท่อนำไข่โค (Bergqvist et al., 2005a) ขณะที่ Ulbrich และคณะ (2004) ไม่พบการปรากฏของไฮยาลูโรแนนในชั้นเยื่อบุท่อนำไข่โคทุกส่วน ความแตกต่างที่พบดังกล่าวนี้ อาจเกิดขึ้นเนื่องจากการใช้น้ำยาดอง (fixative) ในการเก็บรักษาท่อนำไข่ก่อนดำเนินการทดลอง ตามที่ Lin และคณะ (1997) ได้ระบุว่าการปรากฏของไฮยาลูโรแนน โดยเฉพาะในเยื่อบุผิวนั้นมีความแตกต่างกันไปตามชนิดของสารที่ใช้ในการเก็บรักษาเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะเมื่อนำมาใช้กับ biotinylated HABP สำหรับผลการศึกษาครั้งนี้ที่พบการปรากฏของไฮยาลูโรแนนในบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิ อาจบ่งบอกถึงหน้าที่ที่สำคัญบางประการของสารดังกล่าวนี้ต่อการทำหน้าที่ของบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิ โดยเฉพาะในระยะฟอลลิคูลาร์ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่มีการเดินทางของเซลล์อสุจิเข้ามา ถ้าสัตว์นั้นได้รับการผสมพันธุ์ เป็นที่ทราบดีว่า การปฏิสนธิระหว่างเซลล์สืบพันธุ์จะประสบความสำเร็จได้เป็นอย่างดี ต่อเมื่อเซลล์อสุจิต้องอยู่ท่ามกลางสิ่งแวดล้อม ที่สามารถเก็บรักษาการมีชีวิตอยู่รอดของเซลล์อสุจิภายในบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิ จนกระทั่งถึงช่วงเวลาของการตกไข่ (Rodriguez-Martinez et al., 2005) นอกจากนี้ หน้าที่หลักอย่างอื่นที่อาจพบบริเวณกักเก็บเซลล์อสุจิยังประกอบด้วย การควบคุมกลไกการคาปาซิเตชั่น และการควบคุมการปลดปล่อยเซลล์อสุจิเพียงจำนวนหนึ่งให้เคลื่อนที่ขึ้นไปถึงบริเวณท่อนำไข่ส่วนแอมพูลลา ซึ่งเป็นบริเวณที่เกิดการปฏิสนธิเพื่อป้องกันการเกิด polyspermic fertilization (Hunter and Rodriguez-Martinez, 2004) แน่นอนว่า มีเซลล์อสุจิเพียงจำนวนเล็กน้อยเท่านั้นที่สามารถเคลื่อนที่ผ่านอิสธ์มัสไปได้ จนถึงส่วนแอมพูลลาในระยะตกไข่ เปรียบเทียบกับเซลล์อสุจิจำนวนมากที่ใช้ในการผสมพันธุ์ทั้งผสมเทียมและผสมโดยใช้พ่อพันธุ์ รายงานการวิจัยระบุว่า ของเหลวที่คัดหลั่งมาจากท่อนำไข่มีสารหรือปัจจัยที่ช่วยคัดเลือกเซลล์อสุจิโคให้เคลื่อนที่ต่อเนื่องในกระบวนการปฏิสนธิ (Parrish et al., 1989; Grippo et al., 1995) ยังมีรายงานอื่นๆ สนับสนุนอีกว่า สภาวะการยึดติดกันของเซลล์อสุจิกับเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่นั้น เป็นตำแหน่งที่มีการคัดเลือกเซลล์อสุจิ (sperm selection) เกิดขึ้น (Lefevbre et al., 1995) ผลการศึกษาครั้งนี้ ระบุได้ถึงการปรากฏของไฮยาลูโรแนนว่า ไม่เพียงแต่จะพบอย่างชัดเจนในชั้น lamina propria ใต้เยื่อบุเท่านั้น แต่ยังปรากฏพบได้อย่างชัดเจนโดยเฉพาะในร่องหรือหลืบ (crypt) ของบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิคือ UTJ และ อิสธ์มัส อีกด้วย ข้อมูลที่ได้ดังกล่าวนี้ กล่าวได้ว่า ไฮยาลูโรแนนอาจมีบทบาทในการทำหน้าที่เป็นสารที่คัดเลือกเซลล์อสุจิ (sperm selector) ตามธรรมชาติภายในท่อนำไข่ ซึ่งมีรายงานจำนวนหนึ่ง ระบุถึงประสิทธิภาพที่ดีของไฮยาลูโรแนน ซึ่งผสมในน้ำยาที่ใช้คัดเลือกเซลล์อสุจิในกระบวนการปฏิสนธินอกร่างกาย (*in vitro* fertilization, IVF) (Huszar et al., 1990; Shamsuddin et al., 1993) นอกจากนี้ การปรากฏของไฮยาลูโรแนนในเซลล์เยื่อบุของท่อนำไข่กระบือปลัก อาจมีการสังเคราะห์มาจาก hyaluronan synthesizing enzymes (HAS) ภายในเซลล์เยื่อบุของท่อนำไข่ได้เอง เช่นเดียวกับท่อนำไข่สุกรที่มีการตรวจพบ HAS ภายในเซลล์เยื่อบุของท่อนำไข่สุกร (Tienthai et al., 2003a) ซึ่งการศึกษาหาการแสดงออกของเอ็นไซม์ HAS ซึ่งทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ไฮยาลูโรแนน จึงจะทำให้ทราบถึงที่มาของไฮยาลูโรแนนภายในท่อนำไข่กระบือปลักได้เป็นอย่างดี

การศึกษาถึงการทำหน้าที่ของไฮยาลูโรแนนภายในท่อนำไข่กระบือปลักไทยอย่างสมบูรณ์แบบนั้น มีความจำเป็นต้องศึกษาเกี่ยวกับตัวรับของไฮยาลูโรแนน โดยไฮยาลูโรแนนจะมีการทำงานได้โดยผ่านตัวรับที่ปรากฏอยู่ที่ผนังของเซลล์หรืออยู่ภายในเซลล์ ซึ่งตัวรับดังกล่าวประกอบด้วย RHAMM, PH-20, HARE และ CD44 ซึ่งเป็นตัวรับที่สำคัญของไฮยาลูโรแนน (Alho and Underhill, 1989; Stojkovic et al., 2003) โดยพบว่า CD44 มีส่วนร่วมกับไฮยาลูโรแนนในการทำหน้าที่ต่างๆ ของเซลล์อย่างกว้างขวาง เช่น การส่งสัญญาณของเซลล์ การเพิ่มจำนวนของเซลล์ การยึดเกาะระหว่างเซลล์กับเซลล์หรือระหว่างเซลล์กับสารที่อยู่รอบๆ เซลล์ การเคลื่อนย้ายของเซลล์และการเปลี่ยนลักษณะรูปร่างของเซลล์ รวมทั้ง กลไลในการเพิ่มขึ้นและ

การลดลงของไฮยาลูโรแนน (Underhill, 1992) พบว่าไฮยาลูโรแนนต้องเข้าจับกับ CD44 ซึ่งทำให้เกิดการ endocytosis ส่งผลให้มีการย่อยสลายไฮยาลูโรแนนโดยเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase) เพื่อการนำไฮยาลูโรแนนกลับเข้าสู่ร่างกายและนำไปใช้ใหม่ (Culty et al., 1990) ในรายงานการวิจัยฉบับนี้ ได้ศึกษาการปรากฏของ CD44 โดยผลการวิจัยพบว่า การปรากฏของ CD44 ภายในท่อนำไข่ของกระบือปลักซึ่งพบที่บริเวณ supranuclear domain ของเซลล์เยื่อบุ มีลักษณะใกล้เคียงกับการปรากฏของ CD44 ในท่อนำไข่ของสุกร (Tienthai et al., 2003b) และท่อนำไข่ของโค (Bergqvist et al., 2005b) โดยผลดังกล่าวอาจระบุได้ถึงการ endocytosis ของไฮยาลูโรแนนโดยเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสเพื่อการนำไฮยาลูโรแนนกลับเข้าสู่ร่างกายและนำไปใช้ใหม่ ดังที่ได้กล่าวแล้วข้างต้น เนื่องจากบริเวณที่พบการติดสีบวกคือ supranuclear domain เป็นบริเวณที่พบออร์กาเนลล์คือ Golgi apparatus และเป็นบริเวณที่พบ lysosomes ซึ่งทำหน้าที่ในการย่อยสลายภายในเซลล์ (Culty et al., 1990) อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองในกระบือปลักครั้งนี้ มีความแปรปรวนของการติดสีบวกเป็นอย่างมาก โดยพบว่า ท่อนำไข่ในระยะเดียวกันบางตัวอย่างมีการติดสีบวก ขณะที่บางตัวอย่างไม่พบการติดสีเลย โดยเฉพาะท่อนำไข่ส่วนรอยต่อของปีกมดลูกกับท่อนำไข่ และอิสธ์มัสในระยะฟอลลิคูลาร์ ซึ่งคาดหวังว่าจะพบการติดสีอย่างชัดเจน แต่การติดสีบวกอยู่ในระดับอ่อนเมื่อเปรียบเทียบกับการติดสีบวกที่เกิดขึ้นในท่อนำไข่ส่วนแอมพูลลาและอินฟันดิบูลัม รวมทั้ง ไม่พบการติดสีบวกในระดับเข้มเลยในท่อนำไข่ทุกส่วนและทุกระยะ เมื่อใช้ความเข้มข้นของ CD44 แอนติบอดี้ในระดับ 1:50 ดังนั้น มีความเป็นไปได้ว่า ชนิดของ CD44 แอนติบอดี้ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้อาจยังไม่เหมาะสมกับการประยุกต์ใช้กับท่อนำไข่กระบือปลัก หรืออาจเป็นไปได้ว่า CD44 ที่ปรากฏภายในเซลล์เยื่อบุของอวัยวะต่างๆ นั้นมีอยู่หลากหลาย isoform (Terpe et al., 2004) ดังนั้น การศึกษาเกี่ยวกับตัวรับของไฮยาลูโรแนนภายในท่อนำไข่กระบือปลักนั้น จึงจำเป็นต้องมีการปรับเปลี่ยนชนิดของ CD44 แอนติบอดี้ให้เหมาะสมกับชนิดของสัตว์และ isoform รวมทั้งจะต้องศึกษาถึงตัวรับชนิดอื่นๆ ของไฮยาลูโรแนนในอนาคตต่อไป

สำหรับการปรากฏของไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ชนิดที่มีซัลเฟตในการศึกษาครั้งนี้ ได้ตรวจการแสดงออกของ "เฮพาแรนซัลเฟตโปรติโอไกลแคนส์ หรือ syndecans" ซึ่งประกอบด้วย syndecan-1 และ syndecan-2 ผลการศึกษาพบว่า syndecans ทั้งสองชนิดจะปรากฏตลอดแนวของเยื่อบุผิวท่อนำไข่ทุกส่วนของกระบือปลักไทย โดยไม่พบความแตกต่างของความเข้มในการติดสีบวกในการปรากฏของ syndecan-1 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างระยะฟอลลิคูลาร์และระยะลูเทียลช่วงกลาง ขณะที่การปรากฏของ syndecan-2 ซึ่งตรวจพบได้ตลอดแนวความยาวของท่อนำไข่เช่นเดียวกัน แต่กลับพบว่า ความเข้มในการติดสีบวกจะเห็นได้ชัดเจนมากในระยะฟอลลิคูลาร์เมื่อเปรียบเทียบกับระยะลูเทียลช่วงกลางของวงรอบการเป็นสัด การศึกษาในครั้งนี้เกี่ยวกับการปรากฏของ syndecan-1 และ syndecan-2 นี้ มีทั้งความสอดคล้องและแตกต่างกับการศึกษาในท่อนำไข่ของโค (Bergqvist and Rodriguez-Martinez, 2006) กล่าวคือ การปรากฏของ syndecan-1 ติดสีบวกตลอดแนวของเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่ ซึ่งพบได้ทั้งในไซโตพลาสมและบริเวณขอบด้านบนของผิวเซลล์ โดยเฉพาะในส่วน UTJ และอิสธ์มัส โดยไม่พบความแตกต่างของระดับความเข้มในการติดสีบวกระหว่างระยะของวงรอบการเป็นสัด ขณะที่การปรากฏของ syndecan-2 ในท่อนำไข่กระบือปลักของการศึกษานี้มีความแตกต่างโดยพบเด่นชัดในท่อนำไข่ทุกส่วน โดยเฉพาะในส่วน UTJ และอิสธ์มัส และมีความแตกต่างระหว่างระยะของวงรอบการเป็นสัด โดยความแตกต่างนี้ไม่ปรากฏพบในท่อนำไข่ของโค ความแตกต่างเบื้องต้นของการศึกษานี้ในท่อนำไข่กระบือปลัก และการศึกษาที่ผ่านมาในท่อนำไข่คือแอนติบอดี้ที่ใช้ในการศึกษา โดยการวิจัยครั้งนี้ใช้ syndecans ชนิด monoclonal mouse anti-human antibody ทั้ง syndecan-1 และ syndecan-2 ในขณะที่ การศึกษาวิจัยในโคโดย Bergqvist และ Rodriguez-Martinez (2006) ใช้ rabbit anti-human และ rabbit anti-rat polyclonal antibody ดังนั้น ผลของการศึกษาในท่อนำไข่

กระบือปลักครั้งนี้ จึงมีความแตกต่างกัน และมีความน่าเชื่อถือมากกว่าเนื่องจากการใช้ polyclonal antibody จะให้ผลในการติดสีกับแอนติเจนชนิดที่ไม่จำเพาะได้

เมื่อพิจารณาถึงระดับความเข้มในการปรากฏของ syndecan-1 ในเยื่อบุผิวของท่อนำไข่กระบือปลัก ซึ่งไม่พบความแตกต่างในแต่ละระยะของวงรอบการเป็นสัด แสดงให้เห็นว่าการปรากฏของ syndecan-1 ไม่ได้ขึ้นอยู่กับอิทธิพลของฮอร์โมนเพศเมียที่ผลิตมาจากรังไข่ ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงตลอดช่วงของวงรอบการเป็นสัด สอดคล้องกับการศึกษาการปรากฏของ syndecans-1 ในท่อทางเดินของระบบสืบพันธุ์ของมนุษย์ ที่มีความผันแปรในความเข้มของการติดสีที่ไม่แน่นอน มีรายงานการวิจัยถึงระดับการแสดงออกของ syndecan-1 ในเยื่อบุผิวของปากมดลูกมีระดับของความเข้มที่ไม่แตกต่างกันระหว่างรอบเดือน (Inki et al., 1994) ขณะที่การปรากฏที่พบในเยื่อบุช่องคลอดที่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นตลอดระยะของรอบเดือน (Inki, 1997) ซึ่งการศึกษาเหล่านี้ระบุว่า การปรากฏของ syndecan-1 ที่เกิดขึ้นในระบบสืบพันธุ์ขึ้นอยู่กับอิทธิพลของ growth factors มากกว่าอิทธิพลในการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเพศเมีย (Inki, 1997; Subramanian et al.,1997) และเป็นไปได้ว่าปริมาณของ growth factors ที่มีอยู่ภายในเนื้อเยื่อของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียมีความแตกต่างกัน โดยท่อนำไข่นั้นจะมีปริมาณ growth factors ที่จะไปกระตุ้นให้มีการเปลี่ยนแปลงต่อการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของ syndecan-1 เพียงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับท่อทางเดินสืบพันธุ์ส่วนอื่นๆ ซึ่งชนิดของ growth factors ที่มีความสัมพันธ์กับ syndecan-1 ในท่อนำไข่จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต ในทางตรงกันข้าม การปรากฏของ syndecan-2 ซึ่งพบได้ชัดเจนบริเวณ apical part ของเซลล์เยื่อบุโดยกระจายตลอดแนวของเยื่อบุผิวท่อนำไข่ทุกส่วน โดยเฉพาะในส่วนที่ทำหน้าที่เป็นที่กักเก็บเซลล์อสุจิ และมีระดับความเข้มที่ชัดเจนมากในระยะฟอลลิคูลาร์ ระบุถึงอิทธิพลของฮอร์โมนเพศเมียคือ ฮอร์โมนเอสโตรเจนมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของ syndecan-2 อย่างแน่นอน สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาเร็วๆ นี้ ของ Kousidou และคณะ (2008) ที่ระบุว่าเอสโตรเจนสามารถกระตุ้นการแสดงออกของ syndecan-2 ภายในเนื้อเยื่อของต่อมน้ำนมได้ ถึงแม้ว่า โครงสร้างเคมีที่เรียกว่า ectodomain ของ syndecan-1 และ syndecan-2 จะมีความแตกต่างกันและมีรูปแบบในการปรากฏในท่อนำไข่ที่แตกต่างกัน แต่การปรากฏของ syndecans ทั้งสองชนิดในท่อนำไข่กระบือปลักบ่งบอกถึงหน้าที่ที่สำคัญบางประการที่เกี่ยวข้องกับเซลล์สืบพันธุ์ของทั้งเพศผู้และเพศเมียที่ขณะที่มีการเคลื่อนที่เพียงชั่วคราวภายในท่อนำไข่ ดังที่กล่าวแล้วว่า ซินดิแคนส์หรือเฮพาแรนซัลเฟตโปรติโอไกลแคนส์ คือไกลโคสอะมิโนไกลไกลแคนส์ชนิดที่มีซัลเฟตซึ่งไปจับกับโปรตีน (Kjellen and Lindahl, 1991) โดยพบว่าเฮพาแรนซัลเฟตและซัลเฟตไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์นั้น มีส่วนเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นกระบวนการคาปาซิเตชั่นของเซลล์อสุจิในโค (Parrish et al., 1989; Bergqvist et al., 2007) นอกจากนี้ Talevi และ Gualtieri (2001) ระบุว่าความเข้มข้นที่เพิ่มสูงขึ้นของซัลเฟตไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์มีส่วนเกี่ยวข้องกับการปลดปล่อยเซลล์อสุจิ ให้หลุดออกจากการยึดเกาะจากเยื่อบุของบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิ และตามที่มีการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของเฮพาแรนซัลเฟตจากของเหลวภายในท่อนำไข่ส่วนต่างๆ ของโค พบว่า ของเหลวที่ผลิตมาจากท่อนำไข่มีเฮพาแรนซัลเฟต เป็นส่วนประกอบอยู่ในอัตราความเข้มข้นที่สูงอย่างมีนัยสำคัญโดยเฉพาะในระยะเอสตรัส เมื่อเปรียบเทียบกับระยะไดเอสตรัส (Bergqvist and Rodriguez-Martinez, 2006) จากข้อมูลดังกล่าวเบื้องต้นนี้ บ่งชี้ถึงการทำหน้าที่ของเฮพาแรนซัลเฟตในการเหนี่ยวนำกระบวนการคาปาซิเตชั่น รวมทั้งการปลดปล่อยเซลล์อสุจิให้หลุดออกจากการยึดเกาะบนผิวของเซลล์เยื่อบุท่อนำไข่ ในส่วนที่ทำหน้าที่เป็นที่กักเก็บเซลล์อสุจิที่สามารถเกิดขึ้นได้ในท่อนำไข่กระบือปลัก อย่างไรก็ตาม มีความจำเป็นที่จะต้องตรวจหาอัตราความเข้มข้นของทั้งไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ชนิดที่ไม่มีซัลเฟต (ไฮยาลูโรแนน) และชนิดที่มีซัลเฟต (เช่น เฮพาแรนซัลเฟต) ในของเหลวที่เก็บได้จากท่อนำไข่กระบือปลักในอนาคตต่อไป

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

เนื่องจากเซลล์อสุจิและตัวอ่อนระยะแรก จะประกอบไปด้วยโปรตีนแปลกปลอมต่อระบบภูมิคุ้มกันของระบบสืบพันธุ์เพศเมีย และเป็นไปได้ว่าการปรากฏของสิ่งแปลกปลอมดังกล่าวนี้จะไปกระตุ้นทำให้ท่อนำไข่มีกลไกในการตอบสนองเกิดขึ้นเช่นเดียวกับที่เกิดภายในมดลูก เช่นในกรณีที่มีการเคลื่อนที่เข้าไปของเซลล์อสุจิภายหลังจากการหลั่งน้ำเชื้อ เซลล์อสุจิจะไปกระตุ้นให้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด polymorphonuclear leukocytes เคลื่อนที่เข้ามาที่เยื่อบุผิว ซึ่งพบได้ในมดลูกสุกร (Rodriguez-Martinez et al., 1990) และมดลูกม้า (Katila, 2001) อย่างไรก็ตาม พบว่า การตอบสนองของภูมิคุ้มกันของเซลล์เม็ดเลือดขาวดังกล่าวในมดลูกกลับไม่พบในบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิในท่อนำไข่สุกร (Rodriguez-Martinez et al., 1990) และโค (Hunter, 1995) ข้อมูลที่ได้นี้ สนับสนุนว่าท่อนำไข่อาจมีกลไกพิเศษในการเลือกกำจัดเซลล์เม็ดเลือดขาว เป็นไปได้ว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นของระบบ Fas-FasL อาจทำให้เกิดกลไกดังกล่าวนี้ โดยกลไกของระบบ Fas-FasL จะไปกำจัดเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด cytotoxic T lymphocytes และ Natural killer (NK) cells ภายในท่อนำไข่ ซึ่งเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งสองชนิดจะมีตัวรับ Fas ปรากฏอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์อย่างชัดเจน เพื่อไม่ให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเหล่านี้เข้ามาเก็บกินหรือทำลายเซลล์อสุจิหรือตัวอ่อนระยะแรก การแสดงออกของระบบ Fas-FasL ภายในท่อนำไข่กระบือปลักในการศึกษานี้ จัดเป็นข้อมูลใหม่ที่สำคัญ ที่จะทำให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกการทำงานภายในท่อนำไข่ในระหว่างการปฏิสนธิได้เป็นอย่างดี

ผลการศึกษาด้วยอิมมูนโนฮิสโตเคมีในการวิจัยครั้งนี้ ระบุว่าโปรตีน Fas และ FasL ปรากฏในเซลล์เยื่อบุของท่อนำไข่กระบือปลักไทย โดยความเข้มของโปรตีน Fas ปรากฏให้เห็นได้ชัดเจนในท่อนำไข่ทุกส่วน และไม่พบความแตกต่างในระดับความเข้มระหว่างส่วนต่างๆ ของท่อนำไข่ และระยะของวงรอบการเป็นสัด ขณะที่ การปรากฏของโปรตีน FasL ปรากฏได้อย่างชัดเจนมากในส่วนที่ทำหน้าที่เป็นบริเวณกักเก็บเซลล์อสุจินั่นคือ UTJ และท่อนำไข่ส่วนอิสธ์มัส โดยเฉพาะในระยะฟอลลิคูลาร์ซึ่งเป็นช่วงก่อนการตกไข่ (pre-ovulatory stage) สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาที่พบการปรากฏของ FasL ตลอดแนวของท่อนำไข่โค ในระยะเอสตรัส (estrous stage) ของวงรอบการเป็นสัด (Bergqvist et al., 2005c) ที่สำคัญ การปรากฏของโปรตีน FasL สัมพันธ์กับการแสดงออกของ FasL mRNA โดยใช้วิธี RT-PCR โดยการศึกษานี้พบการแสดงออกของ FasL mRNA ในท่อนำไข่ทุกส่วน แต่สัดส่วนความเข้มที่สูงขึ้นอย่างเด่นชัดจะพบโดยเฉพาะในส่วนที่ทำหน้าที่กักเก็บเซลล์อสุจิในระยะฟอลลิคูลาร์ ซึ่งเป็นระยะที่มีการสะสมของเซลล์อสุจิถ้ามีการผสมพันธุ์เกิดขึ้น ดังนั้น การปรากฏของ FasL ในท่อนำไข่ ทั้งวิธีอิมมูนโนฮิสโตเคมี และวิธี RT-PCR ระบุได้เป็นอย่างดีว่า นอกจากการทำหน้าที่ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเลือกกำจัดเซลล์เม็ดเลือดขาว cytotoxic T lymphocytes และ NK cells แล้ว บทบาทของระบบ Fas-FasL อาจมีส่วนในการกระตุ้นให้มีการเสื่อมตาย (apoptosis) ของเซลล์เยื่อบุผิว ที่มีการผลัดเปลี่ยนสัดส่วนระหว่างเซลล์คัดหลั่งและเซลล์ที่มีซีเลียให้เหมาะสมสำหรับการทำหน้าที่จำเพาะ ซึ่งสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนตลอดวงรอบการเป็นสัด อย่างไรก็ดี การแสดงออกของระบบ Fas-FasL และการเสื่อมตายของเซลล์เยื่อบุผิวโดยใช้วิธี TUNEL analysis (ผลการศึกษาเบื้องต้นที่ยังไม่ได้รายงานผล) ไม่พบความสัมพันธ์ที่เกี่ยวข้องกัน ซึ่งจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

การปรากฏของโปรตีน Fas และ FasL ในระยะฟอลลิคูลาร์และระยะลูเทียลช่วงกลางในการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาที่ได้พบในมดลูกของมนุษย์ ซึ่งระบุว่าการปรากฏของโปรตีน Fas และ FasL ตลอดวงรอบของการมีประจำเดือน (Yamashita et al., 1999) และท่อนำไข่ของโค (Bergqvist et al., 2005c) ซึ่งปรากฏเด่นชัดมากบริเวณเซลล์เยื่อบุ แต่ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อบุ จะพบได้น้อยมาก งานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า ภายในต่อมน้ำเหลืองของมนุษย์พบการแสดงออกของโปรตีน Fas (Xerri et al., 1997) และ FasL (Verbeke et al., 1999) สอดคล้องกับการแสดงออกของโปรตีนทั้งสองชนิดนี้ในต่อมน้ำเหลืองที่ใช้เป็นสไลด์

ควบคุมบวก การแสดงออกของโปรตีน FasL ในท่อนำไข่กระบือปลัก มีลักษณะที่สำคัญคือ ตำแหน่งของการติดสีจะพบบริเวณด้านบนของเซลล์เยื่อบุ (apical part of epithelial cells) สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาภายในมดลูกและท่อนำไข่ของหนู ที่พบการแสดงออกในลักษณะคล้าย granules บริเวณด้านบนของเซลล์เยื่อบุผิว ซึ่งพบว่าเป็น vesicles ที่ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์โปรตีน FasL (Imarai et al., 2005) การสังเคราะห์และผลิตโปรตีน FasL ภายใน vesicles ยังพบได้ภายในเซลล์เนื้องอก (Andreola et al., 2002) และในมดลูกมนุษย์ (Yamashita et al., 1999) โดยโปรตีน FasL ที่อยู่ในสภาพสมบูรณ์ภายใน vesicles เหล่านั้น เมื่อปลดปล่อยออกมาจะอยู่ในสภาพที่พร้อมทำงาน และสามารถเหนี่ยวนำทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเกิดการเสื่อมตายได้ (Andreola et al., 2002) พบว่านิวโทรฟิลและแมคโครฟาจต่างมีการแสดงออกของโปรตีน Fas ซึ่งมีความไวรับต่อการเกิดการเสื่อมตายของเซลล์ที่เกิดจากการจับกับโปรตีน FasL โดยเฉพาะอย่างยิ่งนิวโทรฟิลจะมีความไวรับมากเป็นพิเศษ (Iwai., 1994) รวมถึงลิมโฟไซต์ชนิด T-cell ภายในมดลูกเช่นกัน (Imarai et al., 2005) และพบว่าลิมโฟไซต์กลุ่ม T helper cell ชนิด Th1 มีความไวต่อการถูกทำลายโดยการทำงานของระบบ Fas-FasL มากกว่า T helper cell ชนิด Th2 (Zhang et al., 1997) ระบุได้ว่าเซลล์เม็ดเลือดขาวมีกลไกการควบคุมจำนวนด้วยกันเองโดยอาศัยการทำงานของระบบ Fas-FasL นอกจากนี้ พบว่า T-cell ที่มีการแสดงออกของ FasL จะทำหน้าที่กำจัดแมคโครฟาจบางส่วนที่อยู่ภายในผนังเยื่อบุช่องท้องที่มีการแสดงออกของโปรตีน Fas (Ashany et al., 1995) และการควบคุมเซลล์เม็ดเลือดขาวโดยการทำงานของระบบ Fas-FasL ของ T-cell สามารถพบได้ใน B-cell ด้วยเช่นกัน โดยการส่งสัญญาณผ่านทางโปรตีน Fas ที่อยู่บน B-cell ภายในไขกระดูก ต่อมน้ำเหลืองและม้าม (Ju et al., 1994)

ผลการศึกษาในส่วนของการปรากฏของโปรตีน FasL และการแสดงออกของ FasL mRNA ที่ปรากฏเด่นชัดในระยะฟอลลิคูลาร์นั้น อาจมีความเกี่ยวข้องกับอิทธิพลของฮอร์โมนจากรังไข่ เป็นที่ทราบดีว่าฮอร์โมนเอสโตรเจนทำหน้าที่หลักในระยะฟอลลิคูลาร์ และมีการศึกษาพบว่า เอสโตรเจนส่งผลกระทบต่อการปรากฏของโปรตีน FasL โดยเอสโตรเจนสามารถกระตุ้นให้ stromal cells และ glandular cells ทำให้มีการปรากฏของ FasL มากขึ้น ในขณะที่โปรเจสเตอโรนสามารถกระตุ้นการแสดงออกของโปรตีน FasL ได้เช่นกัน แต่จะมีอิทธิพลต่อการแสดงออกน้อยกว่าเอสโตรเจน (Selam et al., 2001) มีการศึกษาในเซลล์พบว่าฮอร์โมนเอสโตรเจนกระตุ้นให้โมโนไซต์ให้มีการปรากฏของโปรตีน FasL และมีการแสดงออกของ FasL mRNA มากขึ้น (Mor et al., 2003) รวมทั้งใน osteoblast (Krum et al., 2008), human coronary artery endothelial cells (Seli et al., 2006) และเซลล์ในเนื้อเยื่อของเต้านม (Mor et al., 2000) นอกจากนี้ ในเซลล์เยื่อบุของรังไข่ (ovarian epithelial cells) พบการปรากฏของโปรตีน FasL ในระยะที่เป็นสัดหรือเอสตรัสมากกว่าในระยะเมทเอสตรัส และค่อยๆ ลดลงในระยะไดเอสตรัส (Sapi et al., 2002) ดังนั้น การปรากฏของโปรตีน FasL และการแสดงออกของ FasL mRNA ที่มากขึ้น จึงอาจเกิดขึ้นจากการอิทธิพลของออร์โมนเอสโตรเจน ซึ่งเกี่ยวข้องกับการควบคุมสมดุลระหว่างการเสื่อมตายของเซลล์และการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Soong et al., 2002; Havelka et al., 2005) สอดคล้องกับผลการศึกษาครั้งนี้

การศึกษาที่ผ่านมาในรกและมดลูกพบว่า การทำงานของระบบ Fas-FasL มีบทบาทสำคัญต่อการอยู่รอดของตัวอ่อนในช่วงตั้งท้อง ซึ่งทำหน้าที่ปกป้องตัวอ่อนโดยการทำลายเซลล์ในระบบภูมคุ้มกัน เพื่อช่วยให้การตั้งท้องมีโอกาสประสบความสำเร็จมากขึ้น (Hunt et al., 1997; Kauma et al., 1999) การอธิบายดังกล่าวข้างต้นนี้สัมพันธ์กับการศึกษาที่เกี่ยวกับการกระจายตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยพบว่าเซลล์เม็ดเลือดขาวภายใน endometrium ของมดลูกมีจำนวนลดลงในช่วงแรกของการตั้งท้อง (Pace et al., 1991)

ในขณะที่การปรากฏของ FasL ในช่วงที่ไม่มีการตั้งท้องพบว่า มีการเสื่อมตายของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันเกิดขึ้นทันทีที่มีการแทรกซึมเข้าสู่ภายในเนื้อเยื่อมดลูก (Imarai et al., 2005) ดังนั้น การแสดงออกของโปรตีน FasL ที่เกิดขึ้นในท่อนำไข่ อาจเกี่ยวข้องกับการทำงานในร่างกายแบบ immune privilege โดยผ่านทางการทำงานของระบบ Fas-FasL เพื่อช่วยทำหน้าที่ในการจำกัดขอบเขตความเสียหายที่อาจจะเกิดขึ้นจากการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกัน โดยทำให้เกิดการเสื่อมตายของเซลล์ชนิดต่างๆ ในระบบภูมิคุ้มกัน (Ferguson et al., 2002) การศึกษาในครั้งนี้ พบว่า ท่อนำไข่ส่วน UTJ และอิสธ์มัส พบการแสดงออกของโปรตีน FasL และ FasL mRNA อย่างเด่นชัดในระยะฟอลลิคูลาร์เมื่อเปรียบเทียบกับระยะลูเตียลช่วงกลางและเปรียบเทียบกับแอมพูลลาและอินฟันดิบูลัม จึงบ่งบอกได้ว่า ระบบ Fas-FasL มีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรงกับการทำหน้าที่เป็น immune privilege organ ของบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิ นั่นคือในบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิคือ UTJ และอิสธ์มัส โดยการทำหน้าที่ดังกล่าวจะเกิดขึ้นเฉพาะในระยะฟอลลิคูลาร์เท่านั้น

นอกจากนี้ ยังมีประเด็นที่สำคัญในการศึกษาครั้งนี้คือ การปรากฏของ Fas ซึ่งเป็นโปรตีนตัวรับที่สามารถพบได้ในเซลล์ทั่วๆ ไป จึงสามารถปรากฏได้โดยไม่จำเพาะเจาะจง ขณะที่การปรากฏของ FasL ต้องอาศัยสภาพจำเพาะมากกว่าและจะปรากฏในรูปแบบที่จำกัดภายในเซลล์บางชนิดเท่านั้น เช่น เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน และที่สำคัญคือเซลล์ภายในอวัยวะที่มีการทำงานแบบ immune privilege (Lettau et al., 2008) เช่น รก (Kauma et al., 1999) กระจกตา (Stuart et al., 1997) และอัณฑะ (Lee et al., 1997) การปรากฏของ FasL ดังกล่าว เป็นการแสดงออกเพื่อส่งเสริมการอยู่รอดของเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายจากระบบภูมิคุ้มกันภายในร่างกาย ดังนั้น การปรากฏของโปรตีน FasL ที่เด่นชัดในท่อนำไข่ส่วน UTJ และอิสธ์มัสของกระบือปลักในครั้งนี้ อาจเกี่ยวข้องโดยตรงกับการทำงานของระบบ Fas-FasL เพื่อช่วยสนับสนุนการอยู่รอดของเซลล์อสุจิในช่วงที่มีการกักเก็บเซลล์อสุจิเกิดขึ้น เป็นที่ทราบดีว่า ท่อนำไข่เป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่สำคัญมากมาย เช่น การเดินทางของเซลล์อสุจิ (Suarez and Pacey, 2006) การคาปาซิเตชั่น (Rodriguez-Martinez, 2007) การกักเก็บเซลล์อสุจิ (Suarez, 2002) จนกระทั่งปฏิสนธิกับโอโอไซต์ แต่การที่เซลล์อสุจิซึ่งบรรจุโปรตีนแปลกปลอมจากภายนอก (โดยเฉพาะจาก seminal plasma) ได้รุกล้ำเข้ามาภายในท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์เพศเมีย ทำให้เกิดการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันเกิดขึ้น มีการศึกษาพบว่าเซลล์อสุจิที่เดินทางเข้ามามีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันภายในมดลูก โดยกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยเซลล์เม็ดเลือดขาวเข้ามาทำลายเซลล์อสุจิ (Katila, 2001) การศึกษาภายในชั้นเยื่อบุของมดลูกสุกรเกี่ยวกับการกระจายตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวในระยะต่างๆ ของวงรอบการเป็นสัด โดยพบว่า ลิมโฟไซต์ นิวโทรฟิล และแมคโครฟาจ มีปริมาณมากที่สุดในระยะโปรเอสตรัสและระยะเอสตรัส (Kaeoket et al., 2002) และลิมโฟไซต์โดยเฉพาะ T-cell มีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นหลังจากที่มีการผสมพันธุ์เกิดขึ้น (Tunon et al., 1999) โดยเซลล์ทั้งหมดนี้ มีการแสดงออกของโปรตีน Fas อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ (Iwai et al., 1994) ในทางตรงกันข้าม การศึกษาภายในท่อนำไข่ส่วน UTJ และอิสธ์มัส ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการกักเก็บเซลล์อสุจิกลับพบว่า การตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันดังกล่าวเกิดขึ้นน้อยมากในท่อนำไข่ทั้งสองส่วนนี้ โดยไม่พบปรากฏของนิวโทรฟิลภายใน UTJ และอิสธ์มัสหลังการผสมพันธุ์ (Rodriguez-Martinez et al., 1990) นอกจากนี้ ยังพบว่า เซลล์อสุจิที่รอดพ้นจากการถูกเก็บกินโดยเซลล์เม็ดเลือดขาวภายในมดลูก มีความเสียหายเกิดขึ้นมากที่บริเวณ plasma membrane ในขณะที่เซลล์อสุจิส่วนใหญ่ภายใน UTJ อยู่ในสภาพที่สมบูรณ์ (Rodriguez-Martinez et al., 1990)

สอดคล้องกับการศึกษาในท่อนำไข่ของสุกรในช่วงหลังการตกไข่หลังการผสมพันธุ์ ที่ไม่พบการปรากฏของนิวโทรฟิลเลยในเนื้อเยื่อทุกชั้นของท่อนำไข่ส่วนอิสธ์มัส (Jiwakanon et al., 2006) ขณะที่ภายในท่อนำไข่ส่วนแอมพูลลาและอินฟันดิบูลัมในระยะโปรเอสตรัสและเอสตรัส พบจำนวนนิวโทรฟิลและลิมโฟไซต์เป็นจำนวนมาก (Jiwakanon et al., 2005) แสดงให้เห็นว่าภายในท่อนำไข่ส่วน UTJ ซึ่งอยู่ติดกับท่อนำไข่ส่วนอิสธ์มัสอาจมีการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันที่แตกต่างจากมดลูกและท่อนำไข่ส่วนแอมพูลลาและอินฟันดิบูลัม ซึ่งอาจใช้โปรตีน FasL ในการควบคุมปริมาณของเซลล์เม็ดเลือดขาว คล้ายกับการทำงานที่พบในลำไส้ส่วน colon ที่มีการปรากฏของเซลล์มะเร็ง ซึ่งมีการแสดงออกของโปรตีน FasL เพื่อเหนี่ยวนำให้ T-cell เกิดการเสื่อมตายและสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ (Zhang et al., 2005) ดังนั้น การทำงานของโปรตีน FasL ภายในท่อนำไข่จะทำหน้าที่ในการกำจัดเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันเพื่อช่วยเพิ่มโอกาสในการปฏิสนธิ นอกจากนี้ การศึกษาเกี่ยวกับการกักเก็บเซลล์อสุจิพบว่า เซลล์อสุจิจะเข้าไปยึดติดกับเยื่อบุภายในท่อนำไข่ส่วน UTJ และอิสธ์มัสในช่วงก่อนการตกไข่โดยเฉพาะบริเวณหลืบของ UTJ และอิสธ์มัส (Suarez, 1987) ซึ่งการแสดงออกโปรตีน FasL บริเวณด้านบนของเซลล์เยื่อบุ อาจเกี่ยวข้องในการทำลายเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันเพื่อให้เซลล์อสุจิสามารถเข้ามายึดจับกับเยื่อบุของท่อนำไข่ได้

จากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า โปรตีน Fas เป็นโปรตีนตัวรับที่มีอยู่ตลอดเวลาในการส่งสัญญาณให้เกิดการเสื่อมตายในบริเวณที่มีการแสดงออก เพื่อการรักษาสมดุลระหว่างการเสื่อมตายของเซลล์ และการเพิ่มจำนวนของเซลล์ในช่วงของวงรอบการเป็นสัด ซึ่งเห็นได้ชัดเจนจากการเสื่อมตายที่เกิดขึ้นในปีกมดลูกแต่อาจไม่มีการแสดงออกชัดเจนนักภายในท่อนำไข่ สำหรับโปรตีน FasL จะมีความสำคัญมากกว่า เนื่องจากจะมีการแสดงออกที่จำเพาะเจาะจงกว่าทั้งปริมาณและช่วงเวลาที่ปรากฏในวงรอบการเป็นสัด ซึ่งแตกต่างกันระหว่างระยะฟอลลิคูลาร์และระยะลูเทียลช่วงกลาง โดยเฉพาะในท่อนำไข่กระบือปลักในบริเวณกักเก็บเซลล์อสุจิ ซึ่งเป็นการทำหน้าที่ภายในร่างกายแบบ immune privilege จึงเป็นไปได้ว่า การปรากฏของโปรตีน FasL มีส่วนทำหน้าที่ในการช่วยเหลือไม่ให้เซลล์อสุจิถูกทำลายและมีชีวิตรอด ก่อนที่เซลล์อสุจิจะเคลื่อนที่ไปยังท่อนำไข่บริเวณที่มีการปฏิสนธิเกิดขึ้น และสนับสนุนการศึกษาที่ผ่านมาเกี่ยวกับกลไกดังกล่าว อย่างไรก็ตาม มีความจำเป็นที่ต้องศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตเพื่อค้นหาถึงความสัมพันธ์ระหว่างการทำงานของระบบ Fas-FasL ที่มีต่อการเสื่อมตายของเซลล์เม็ดเลือดขาวภายในท่อนำไข่ ที่อาจมีผลต่อความสำเร็จของกลไกการกักเก็บเซลล์อสุจิในอนาคตต่อไป

จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า

-ไฮยาลูโรแนน พบได้ในเยื่อบุผิวของท่อนำไข่กระบือปลัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วน UTJ และ อิสธ์มัส ซึ่งทำหน้าที่เป็นบริเวณกักเก็บเซลล์อสุจิ (sperm reservoir) ในระยะฟอลลิคูลาร์ ระบุถึงการทำหน้าที่ของไฮยาลูโรแนนในการรักษาการมีชีวิตรอดของเซลล์อสุจิในช่วงก่อนการตกไข่ รวมทั้งอาจเกี่ยวข้องกับกระบวนการคาปาซิเตชั่นและการปลดปล่อยของเซลล์อสุจิในขณะที่มีการตกไข่เกิดขึ้น

-ซัลเฟตไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ในการศึกษานี้คือ syndecan-1 และ syndecan-2 สามารถตรวจพบได้ในท่อนำไข่กระบือปลักทุกส่วนเช่นเดียวกับไฮยาลูโรแนน แต่มีข้อสังเกตว่า เฉพาะ syndecan-2 เท่านั้นที่พบได้เด่นชัดในระยะฟอลลิคูลาร์เมื่อเปรียบเทียบกับระยะลูเทียลช่วงกลาง ระบุว่า syndecan-2 อาจเป็น

ปัจจัยร่วมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการคาปาซิเตชั่นและการปลดปล่อยของเซลล์อสุจิเช่นกัน แต่ syndecan-1 อาจมีบทบาทอย่างอื่นที่เกี่ยวข้องสรีรวิทยาของท่อนำไข่กระบือ

-พบการปรากฏของ CD44 ซึ่งเป็นตัวรับชนิดหนึ่งของไฮยาลูโรแนน ระบุได้ว่าไฮยาลูโรแนนอาจมีการจับกับ CD44 เพื่อให้มีปฏิสัมพันธ์ในการทำหน้าที่ต่างๆ ที่เกิดขึ้นภายในท่อนำไข่กระบือปลัก โดยเฉพาะการทำหน้าที่ภายในบริเวณที่กักเก็บเซลล์อสุจิ แต่เนื่องจากการปรากฏของ CD44 มีความแปรปรวนเกิดขึ้น จึงจำเป็นต้องมีศึกษาต่อไป

-พบการปรากฏของโปรตีน Fas และ FasL โดยวิธีอิมมูนโนฮิสโตเคมีและการแสดงออกของ FasL mRNA โดยวิธี RT-PCR ในเยื่อบุผิวท่อนำไข่ของกระบือปลักทุกส่วน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในท่อนำไข่ที่ทำหน้าที่เป็นที่กักเก็บเซลล์อสุจิในระยะฟอลลิคูลาร์ การค้นพบการปรากฏของ Fas-FasL ในท่อนำไข่กระบือปลัก ระบุได้ว่าท่อนำไข่กระบือปลักอาจจัดเป็นอวัยวะที่อยู่ในกลุ่ม immune privileged organ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงเวลาก่อนการตกไข่ ซึ่งเป็นช่วงที่เซลล์อสุจิเดินทางมาสะสมรวมกันกัน เพื่อรอการเคลื่อนที่ขึ้นไปปฏิสนธิหลังมีการตกไข่

ข้อเสนอแนะที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้

-การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ทั้งชนิดที่มีซัลเฟตและไม่มีซัลเฟต มีความจำเป็นที่จะต้องเก็บของเหลวที่หลั่งออกมาอย่างต่อเนื่องภายในท่อนำไข่ของกระบือปลัก ในแต่ละช่วงของวงรอบการเป็นสัด เพื่อวิเคราะห์หาความเข้มข้นที่อาจมีความแตกต่างกันตลอดช่วงของวงรอยการเป็นสัด และเป็นการสนับสนุนยืนยันถึงการสร้างสารไกลโคสอะมิโนไกลแคนส์ภายในท่อนำไข่ที่อาจเกิดขึ้นจากเซลล์เยื่อบุผิว

-เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ ได้ตรวจพบการปรากฏของไฮยาลูโรแนนอย่างชัดเจนในท่อนำไข่ที่ทำหน้าที่เป็นที่กักเก็บเซลล์อสุจิ ดังนั้น เพื่อเป็นการพิสูจน์ถึงการทำงานของเซลล์เยื่อบุในการสร้างหรือผลิตสารดังกล่าว จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการตรวจสอบหาเอ็นไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์สารดังกล่าว โดยเฉพาะในส่วนของไฮยาลูโรแนนซึ่งมีเอ็นไซม์ที่ชื่อว่า hyaluronan synthase-1, -2 และ -3 (HAS-1, HAS-2, HAS-3) โดยการวิเคราะห์ตรวจหา HAS-1, HAS-2, HAS-3 mRNA ด้วยวิธี RT-PCR รวมทั้ง การศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับตัวรับที่จำเพาะอื่นๆ ของไฮยาลูโรแนน เช่น RHAMM และ PH-20 เป็นต้น

-เพื่อที่จะทำให้การศึกษาถึงระบบการทำงานของ Fas-FasL สมบูรณ์แบบมากขึ้น จำเป็นต้องมีการตรวจสอบการเสื่อมตายของเซลล์ (apoptosis) ที่เกิดขึ้นภายในท่อนำไข่ส่วนต่างๆ ของกระบือปลักไทยโดยเปรียบเทียบในระยะฟอลลิคูลาร์และระยะลูเทียล เพื่อที่จะได้ทราบถึงชนิดของเซลล์ที่เกิดการเสื่อมตาย และอัตราการเสื่อมตายที่เกิดขึ้นภายในท่อนำไข่กระบือปลัก