

บทบาทของท่อนำไข่กับการขนส่งและการคาปาซิเตชันของตัวอสุจิในสุกร

ไพศาล เทียนไทย*

Abstract

Paisan Tienthai*

THE FUNCTION OF THE OVIDUCT IN RELATION TO SPERM TRANSPORT AND CAPACITATION IN SWINE

In the pig, sperm transport is regulated, to facilitate normal fertilization of the ovulated oocytes, by the oviduct which contains a particular segment, the sperm reservoir. The main function of the sperm reservoir is to ensure that stored spermatozoa have maintained viability and fertilizing capacity. The process of sperm capacitation is delayed in the sperm reservoir, during the lengthy pre-ovulatory estrus by interactions between the spermatozoa, the oviduct epithelium and secretion products. Sperm capacitation seems to be facilitated by the tubal fluid in the upper segment of the oviduct releasing sperm from the reservoir in relation to the time of ovulation. One of the roles of the oviduct is to reduce the numbers of fertile spermatozoa being released from the reservoir before they encounter the oocytes, thus decreasing the chances of polyspermy. The function of the oviduct depends on the concerted action of its smooth muscle wall, lining epithelium and tubal fluid which bathe the gametes and embryos. Such interactions are modulated by a suitable hormonal interplay and any deviations combine to impair fertilization, allowing lethal polyspermy or asynchrony in embryo transport, eventually resulting in infertility. This review of the oviduct structure and function particularly addresses sperm capacitation and fertilization *in vivo*, in an attempt to describe some possible reasons behind failures seen during *in vitro* fertilization (IVF), a substantial problem in reproductive biotechnology in farm animals.

Keywords : oviduct, capacitation, spermatozoa, pig

Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330

*Corresponding author

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

*ผู้รับผิดชอบบทความ

บทคัดย่อ

ไพศาล เทียนไทย*

บทบาทของท่อนำไข่กับการขนส่งและการคาปาซิเตชันของตัวอสุจิในสุกร

ท่อนำไข่ของสุกรเป็นอวัยวะที่สำคัญในการควบคุมการขนส่งตัวอสุจิเพื่อนำไปปฏิสนธิกับโอโอไซต์ ซึ่งท่อนำไข่มีบริเวณจำเพาะที่เรียกว่า sperm reservoir ซึ่งมีหน้าที่กักเก็บตัวอสุจิไว้โดยรักษาการมีชีวิตรอดและประสิทธิภาพในการปฏิสนธิ นอกจากนี้ยังพบว่า sperm reservoir สามารถชะลอกระบวนการคาปาซิเตชันของตัวอสุจิในระยะก่อนการตกไข่ของวงรอบการเป็นสัด ซึ่งกลไกเกิดขึ้นจากการปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวอสุจิกับเซลล์เยื่อบุและของเหลวที่คั่งหลังในท่อนำไข่ กระบวนการคาปาซิเตชันของตัวอสุจิจะเกิดได้ง่ายขึ้นเมื่อตัวอสุจิสัมผัสกับของเหลวจากท่อนำไข่ส่วนบนและกระบวนการนี้มีความสัมพันธ์กับการตกไข่ด้วย บทบาทที่สำคัญอีกประการหนึ่งของท่อนำไข่ คือการลดจำนวนตัวอสุจิที่เคลื่อนออกจาก sperm reservoir ให้เหมาะสมกับจำนวนโอโอไซต์ เพื่อลดอัตราการเข้าปฏิสนธิจากตัวอสุจิหลายตัว หน้าที่ของท่อนำไข่นี้ขึ้นอยู่กับการทำงานร่วมกันของผนังกล้ามเนื้อเรียบ เซลล์เยื่อบุท่อ รวมทั้งของเหลวที่คั่งหลังจากเซลล์เยื่อบุที่อยู่รอบเซลล์สืบพันธุ์ โดยฮอร์โมนจะควบคุมความสัมพันธ์และกระบวนการต่างๆ เหล่านี้ ความไม่สมดุลของฮอร์โมนจะมีผลทำให้ประสิทธิภาพของการปฏิสนธิลดลง อัตราการเข้าผสมของตัวอสุจิหลายตัวต่อโอโอไซต์สูงขึ้น รวมทั้งเกิดภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการขนส่งตัวอ่อนซึ่งนำไปสู่ปัญหาการผสมไม่ติดในสุกร บทความปริทัศน์นี้จะกล่าวถึงโครงสร้างและหน้าที่ของท่อนำไข่ครั้งนี้ จะมุ่งเน้นในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการคาปาซิเตชันของตัวอสุจิและการปฏิสนธิในร่างกายของสุกร ทำให้เกิดความเข้าใจถึงความล้มเหลวที่พบขณะทำการปฏิสนธินอกอวัยวะหรือไอวีเอฟ ซึ่งเป็นปัญหาสำหรับการพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพการสืบพันธุ์ของสัตว์ปศุสัตว์ที่ยังไม่สามารถแก้ไขได้

คำสำคัญ: ท่อนำไข่ การคาปาซิเตชัน ตัวอสุจิ สุกร

บทนำ

ท่อนำไข่ (Fallopian tube, oviduct, uterine tube) ได้มีการศึกษาครั้งแรกโดย Gabriel Fallopius ประมาณปี ค.ศ. 1561 ซึ่งอธิบายว่าท่อนำไข่เป็นเพียงอวัยวะที่อยู่ระหว่างรังไข่และมดลูก โดยไม่ได้กล่าวถึงบทบาทหน้าที่และความสำคัญของท่อนำไข่เป็นเวลาหลายศตวรรษที่ผ่านมา (Hunter, 1988) ทั้งที่จริงแล้ว ท่อนำไข่ เป็นอวัยวะสืบพันธุ์ที่มีการเปลี่ยนแปลงทางพลวัตตลอดวงรอบการเป็นสัด (estrous cycle) โดยทำหน้าที่ในขั้นตอนสุดท้ายของการขนส่งตัวอสุจิก่อนการปฏิสนธิจะเกิดขึ้น ซึ่งตัวอสุจิจะมารวมตัวในระยะหนึ่ง ก่อนเคลื่อนออกจากที่กักเก็บตัวอสุจิที่เรียกว่า “sperm reservoir” (Hunter, 1981) นอกจากนี้ ท่อนำไข่ยังมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการคาปาซิเตชันของตัวอสุจิ (sperm capacitation) การเก็บรับโอโอไซต์หลังการตกไข่ (oocyte pick-up) การขนส่งและสร้างความพร้อมให้กับโอโอไซต์ (oocyte transport and maturation) และเป็นอวัยวะที่นำตัวอสุจิมาพบกับโอโอไซต์

จนมีการปฏิสนธิเกิดขึ้น ท้ายที่สุด ท่อนำไข่ยังช่วยในการพัฒนาการเจริญของไซโกต (zygote) ก่อนที่จะเข้าไปฝังตัวในมดลูก (Hunter, 1991; Rodriguez-Martinez et al., 2001) หน้าที่ต่างๆ ที่กล่าวมานี้เกิดจากการทำงานร่วมกันของเนื้อเยื่อต่างๆ ที่ประกอบรวมกันเป็นท่อนำไข่ โดยเฉพาะเยื่อบุของท่อนำไข่ ของเหลวที่คั่งหลังจากเซลล์เยื่อบุของท่อนำไข่แต่ละส่วนและกล้ามเนื้อเรียบที่ผนังท่อนำไข่ ซึ่งทั้งหมดอยู่ภายใต้อิทธิพลการควบคุมของระบบฮอร์โมนเพศ (Hunter, 1995)

ปัจจุบันนี้ กระบวนการคาปาซิเตชันของตัวอสุจิสามารถทำได้ในสภาพนอกร่างกาย (in vitro) ภายในห้องปฏิบัติการซึ่งมีประสิทธิภาพเพียงพอในการเข้าปฏิสนธิกับโอโอไซต์ สามารถนำไซโกตที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในน้ำยาและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมที่จะเจริญเป็นตัวอ่อนที่สมบูรณ์ และนำไปย้ายฝากในสัตว์ตัวรับ เพื่อให้ได้ลูกสัตว์ตามที่ต้องการซึ่งประสบความสำเร็จดีพอสมควร อย่างไรก็ตาม กระบวนการที่เกิดขึ้นในห้องปฏิบัติการนี้ไม่ได้อยู่ในสถานะที่ดีที่สุดเหมือนที่เกิดขึ้นตาม

ธรรมชาติ ปัญหาที่เกิดขึ้น ตัวอย่างเช่น สภาพที่ไม่สมบูรณ์ของโอโอไซต์และการเข้าปฏิสนธิจากตัวอสุจิหลายตัว (polyspermy) ยังคงเป็นปัญหาสำคัญสำหรับการปฏิสนธิในร่างกาย (*in vitro fertilization, IVF*) ที่พบในสุกร (Funahashi and Day, 1997) กล่าวคือ สภาพแวดล้อมของตัวอสุจิและโอโอไซต์ระหว่างการเตรียมพร้อมสำหรับการปฏิสนธิทั้งใน (*in vivo*) และนอกในร่างกายนั้นมีผลกระทบที่แตกต่างกันต่อการเจริญของตัวอ่อนในระยะแรก (Rodriguez-Martinez et al., 2001) ในบทความปริทัศน์นี้จะกล่าวถึงบทบาทความสำคัญของ sperm reservoir ที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมพร้อมของตัวอสุจิในกระบวนการคาปาซิเตชันซึ่งมีความจำเป็นอย่างมากก่อนที่การปฏิสนธิตามปกติจะเกิดขึ้น

ส่วนประกอบต่างๆ ของท่อนำไข่

ท่อนำไข่เป็นอวัยวะที่ดูเรียบง่าย ไม่มีความซับซ้อน ท่อนำไข่ของสุกรที่โตเต็มที่แล้วมีความยาวประมาณ 25-30 ซม. ประกอบไปด้วยชั้น endosalpinx ซึ่งเป็นชั้นที่ปกคลุมไปด้วยเยื่อที่มีเซลล์ชนิดที่มีซิเลีย (ciliated cell) และเซลล์คัดหลั่ง (secretory cell) เป็นส่วนใหญ่ ชั้นถัดมา คือ myosalpinx ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบสองชั้น และชั้นสุดท้าย คือ serosa ที่รวมไปถึง mesosalpinx หรือเยื่อยึดท่อนำไข่ ทางด้านกายวิภาคศาสตร์สามารถแบ่งท่อนำไข่ออกเป็นส่วนๆ ดังนี้คือ utero-tubal junction (UTJ) ซึ่งเป็นบริเวณที่อยู่ระหว่างมดลูกและท่อนำไข่ ส่วนที่ต่อมาจาก UTJ เรียกว่า isthmus มีลักษณะเป็นท่อแคบๆ และมีชั้นกล้ามเนื้อเรียบหนามาก ถัดมาก็คือ ampulla เป็นท่อที่กว้างกว่าและผนังของกล้ามเนื้อเรียบบางกว่า isthmus รอยต่อระหว่างสองส่วนนี้เรียกว่า ampullary-isthmic junction (AIJ) และปลายสุดของท่อนำไข่จะขยายกว้างที่สุด เรียกว่า infundibulum ซึ่งบริเวณด้านบนสุดปกคลุมไปด้วย fimbria ที่ยื่นเข้าไปในช่องท้องและบริเวณนี้จะมีเยื่อยึดท่อนำไข่จัดตัวเพื่อหุ้มรอบรังไข่อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นลักษณะที่พบได้ในสุกร (Dyce et al., 1996) ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของท่อนำไข่ พบว่าผนังของท่อมีการเปลี่ยนแปลงตลอดแนวตั้งแต่ด้านมดลูกมาจนถึงรังไข่ สภาพการเรียงตัวของรอยพับเยื่อท่อนำไข่ที่ยื่นเข้าไปภายในท่อจะซับซ้อนมากขึ้น จากระดับ primary เป็น secondary และ tertiary ตามลำดับ เริ่มจาก isthmus ไปจนถึง infundibulum จำนวนเซลล์ที่มีซิเลียจะเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วยเช่นกัน ขณะที่กล้ามเนื้อเรียบชนิดเรียงเป็นวงชั้นใน จะมีความหนาลดลงจนกระทั่งหายไปในส่วนตรงส่วนท้ายของ infundibulum

(Rodriguez-Martinez et al., 1985)

ส่วนประกอบต่างๆ ของท่อนำไข่เหล่านี้ มีความสัมพันธ์กับการขนส่งตัวอสุจิ การเก็บโอโอไซต์ การขนส่งโอโอไซต์ การปฏิสนธิ และการขนส่งตัวอ่อนระยะแรก เพื่อเข้าไปฝังตัวในมดลูก กล่าวคือ “UTJ และ caudal isthmus” ทำหน้าที่เป็น sperm reservoir ตำแหน่งของการปฏิสนธิในสุกรเกิดขึ้นที่ “ampullary-isthmic junction” ส่วน “fimbria” บน infundibulum ทำหน้าที่เก็บรับโอโอไซต์ และ “กล้ามเนื้อเรียบของ isthmus” มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการขนส่งของตัวอ่อนหลังการปฏิสนธิ (Rodriguez-Martinez, 1983) จะเห็นได้ว่า โครงสร้างของท่อนำไข่เหล่านี้ปรับตัวเพื่อทำหน้าที่ที่เหมาะสม สร้างสภาพแวดล้อมที่ดีที่สุดเพื่อเตรียมตัวให้เซลล์สืบพันธุ์ (gametes) พร้อมสำหรับการปฏิสนธิและช่วยเหลือการเจริญของไซโกตในระยะแรก ทั้งหมดนี้เกิดจากการปฏิสัมพันธ์ระหว่างเซลล์สืบพันธุ์กับเซลล์เยื่อบุท่อและของเหลวที่คัดหลั่งในท่อนำไข่ รวมทั้งกล้ามเนื้อเรียบในชั้น myosalpinx ด้วย

สภาพของตัวอสุจิในช่องทางเดินสืบพันธุ์เพศเมีย

น้ำเชื้อของสุกรประมาณ 200-250 มล. ที่หลั่งออกมาขณะสืบพันธุ์จะไปตั้งอยู่ในช่องของคอมดลูก และมากกว่าร้อยละ 70-95 ของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดนั้นจะถูกขับออกทางช่องคลอด หลังจากผสมพันธุ์ (Viring and Einarsson, 1981) และถูกกำจัดโดยการเก็บกินของเม็ดเลือดขาวในมดลูก (Rodriguez-Martinez et al., 1990; Rozeboom et al., 2000) ส่วนตัวอสุจิที่รอดจะเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วจากการบีบรัดของกล้ามเนื้อมดลูกเข้าไปในท่อนำไข่ ซึ่งเป็นขั้นตอนหนึ่งในการขนส่งตัวอสุจิที่เรียกว่า “rapid phase of sperm transport” จากนั้นตัวอสุจิเหล่านี้ประมาณ 10^5 - 10^8 ตัวจะรวมตัวกันที่ UTJ และบริเวณใกล้เคียงอย่างรวดเร็ว จัดเป็นขั้นที่สองของการขนส่งตัวอสุจิหรือ “second phase of sperm transport” (Einarsson, 1985) เห็นได้ชัดว่าจำนวนตัวอสุจิลดลงอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนตัวอสุจิที่หลั่งออกมาในช่วงแรกซึ่งมากกว่า 30×10^9 ตัว และจำนวนตัวอสุจิที่ใช้ในการผสมเทียมซึ่งมีประมาณ $2-5/10^9$ พบว่าโครงสร้างของตัวอสุจิส่วนใหญ่ที่อยู่ใน UTJ และบริเวณใกล้เคียงไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพ (รูปที่ 1) มากกว่า 24 ชั่วโมงในสุกร (Mburu et al., 1996) โดยส่วนใหญ่ตัวอสุจิเหล่านี้จะเกาะยึดหรือสัมผัสผนังและฝังตัวอยู่ในของเหลวที่คัดหลั่งภายในท่อนำไข่ ระยะสุดท้ายของการขนส่งตัวอสุจิหรือ

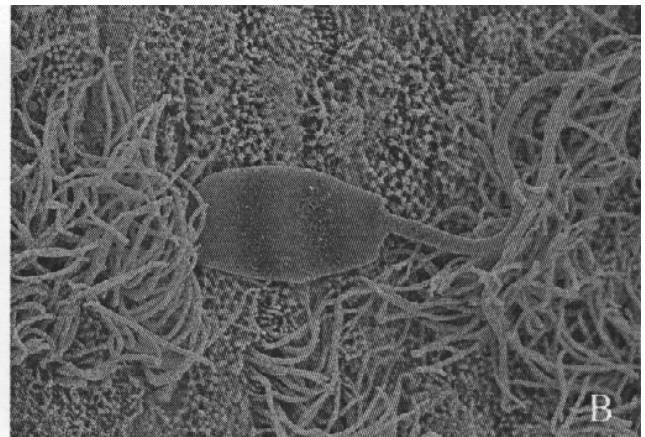
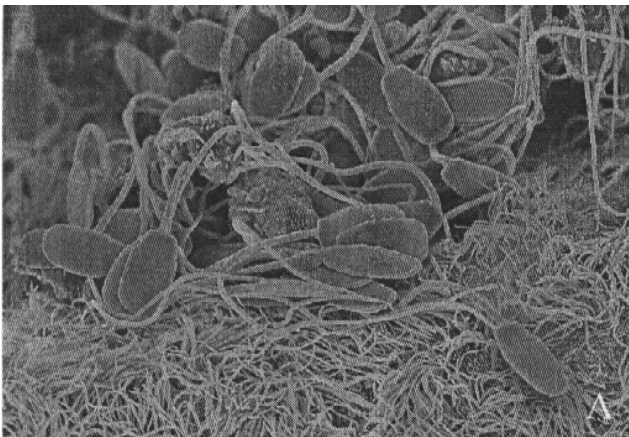
“third phase of sperm transport” คือการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิที่สมบูรณ์ในจำนวนน้อยแต่เกิดขึ้นอย่างช้าๆ และต่อเนื่องออกจาก sperm reservoir ไปยังตำแหน่งที่มีการปฏิสนธิซึ่งกลไกนี้มีความสัมพันธ์อย่างมากกับการตกไข่ (Einarsson, 1980; Hunter, 1981)

Sperm reservoir กับการมีชีวิตรอดของตัวอสุจิ

โครงสร้างโดยทั่วไปและสภาพการมีชีวิตอยู่รอดของตัวอสุจิที่อยู่ในมดลูกนั้น มีความแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิงกับตัวอสุจิที่เข้าไปรวมกันใน sperm reservoir จากการศึกษพบว่า ลักษณะโครงสร้างของตัวอสุจิที่อยู่ในบริเวณร่องลึกของเยื่อท่อนำไข่ UTJ มีสภาพปกติเมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Rodriguez-Martinez et al., 1990; Hunter et al., 1991) รวมทั้งตัวอสุจิที่อยู่ในส่วนลึกของรอยพับเยื่อชนิด primary mucosal fold บริเวณ isthmus ส่วนท้าย (Mburu et al., 1997) การศึกษาของ Rodriguez-Martinez et al. (1990) พบว่าตัวอสุจิที่รวมตัวกันเป็นกลุ่มนั้นใช้บริเวณด้านหน้าของส่วนหัวสัมผัสกับเยื่อและลักษณะของหางส่วนใหญ่จะตรงหรือเอียงเล็กน้อย (รูปที่ 1) อย่างไรก็ตาม ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของตัวอสุจิที่อยู่ใน sperm reservoir จะมีความแตกต่างกันตามลักษณะและวิธีการเก็บรักษาตัวอย่าง โดยพบว่าชิ้นเนื้อของ UTJ จากแม่สุกรหลังจากผสมพันธุ์ที่เก็บรักษาใน glutaraldehyde ซึ่งเป็นน้ำยาคงที่ที่ใช้เตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาค้นกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนทั่วไป จะพบว่าบริเวณด้านหน้าของหัวตัวอสุจิจะสัมผัสกับเยื่อของท่อนำไข่ แต่ถ้าเก็บ UTJ โดยไม่ผ่านน้ำยาคงที่และศึกษาด้วยวิธีการใช้ความเย็นกับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่เรียกว่า cryo-scanning electron microscopy จะพบตัวอสุจิฝังอยู่ใน amorphous matter ในช่องว่างของท่อนำไข่ที่แข็งเนื่องจากความเย็นและแยกออกมาจากเยื่อ ซึ่ง amorphous matter นี้ก็คือของเหลวคล้ายเมือกเหนียวที่พบในท่อนำไข่สุกรในระยะก่อนตกไข่ (pre-ovulation) โดยให้ผลบวกเมื่อย้อมสี periodic acid shift (PAS) และ alcian blue (Johansson et al., 2000) ผลการทดสอบนี้เกิดขึ้นเฉพาะกับตัวอย่างที่เก็บโดยวิธีแช่แข็งและตัวอย่างที่เก็บโดยไม่ผ่านกระบวนการทางเคมี Tienthai et al. (2000) พบว่า glycosaminoglycans ทั้งชนิดที่มีซัลเฟตและไม่มีซัลเฟต เป็นส่วนประกอบหลักในของเหลวจากท่อนำไข่สุกรที่เก็บอย่างต่อเนื่องด้วยวิธีฝังท่อ มีรายงานการวิจัยพบว่าของเหลวที่คัดหลังจากท่อนำไข่ส่วนอิสมนั้นมีผลต่อกระบวนการคาปาซิเตชันของตัวอสุจิในสุนัข

(Kawakami et al., 2000) และสุกร (Kim et al., 1997) ขณะที่รายงานอื่นทำการทดลองโดยใช้การเพาะเลี้ยงเยื่อท่อนำไข่ของโค และนำตัวอสุจิลงไปทดสอบบนเยื่อของท่อนำไข่พบว่า ตัวอสุจิก่อนที่สัมผัสกับเซลล์เยื่อสามารถรักษาการเคลื่อนไหว และประสิทธิภาพในการปฏิสนธิได้ดีกว่ากลุ่มของตัวอสุจิที่ไม่ได้สัมผัสกับเซลล์เยื่อ (Lefebvre and Suarez, 1996) การศึกษาลักษณะเดียวกันในสุกร บ่งชี้ว่าตัวอสุจิที่เกาะยึดกับเยื่อมีชีวิตรอดยาวนานกว่าปกติ (Fazeli et al., 1999; Petrunina et al., 2001)

งานวิจัยหลายฉบับบ่งชี้ว่า sperm reservoir เกิดจากหลายปัจจัย เช่น ลักษณะพื้นฐานทั่วไปทางกายวิภาคศาสตร์ นั่นคือ UTJ เป็นบริเวณแรกสุดที่ตัวอสุจิเคลื่อนที่มาพบก่อนเข้าสู่ท่อนำไข่ (Lefebvre et al., 1995) สภาพร่องลึกของเยื่อ (Rodriguez-Martinez et al., 1990) ภาวะการบวมตัวของชั้น lamina propria จากอิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจนทำให้ท่อนำไข่มีขนาดช่องว่างแคบลง (Hunter, 1984) การปรากฏของของเหลวที่มีลักษณะเป็นเมือกขึ้น (Johansson et al., 2000) และความสามารถของตัวอสุจิที่เกาะยึดกับเยื่อท่อนำไข่ (Lefebvre and Suarez, 1997) ปัจจัยต่างๆ เหล่านี้มีผลทำให้ตัวอสุจิเคลื่อนที่ช้าลง (Suarez et al., 1992) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่ทำให้สิ่งแวดล้อมของ sperm reservoir เปลี่ยนแปลงไป ตัวอย่างเช่น อุณหภูมิที่ต่ำกว่าปกติเมื่อเปรียบเทียบกับท่อนำไข่ส่วนอื่น (Hunter and Nichol, 1986) สภาพแวดล้อมที่มีไอออนที่จำเพาะจำพวกโบคาร์บอเนต (Rodriguez-Martinez et al., 1990) หรือแม้กระทั่งกลไกการป้องกันการเคลื่อนที่ของแคลเซียมผ่านเข้าสู่เยื่อหุ้มตัวอสุจิ (sperm plasma membrane) โดยการคัดเลือกของเยื่อท่อนำไข่ (Dobranski et al., 1997) ดังนั้น sperm reservoir จะเกิดขึ้นได้นั้นขึ้นอยู่กับส่วนประกอบและการทำงานร่วมกันของปัจจัยต่างๆ ที่ได้กล่าวแล้วข้างต้นมากกว่าที่จะมาจากปัจจัยเดียวเท่านั้น เป็นที่ทราบกันดีว่า สภาพแวดล้อมภายในมดลูกนั้นจะเปลี่ยนแปลงในลักษณะที่จะทำลายและเป็นผลร้าย เมื่อน้ำเลี้ยงเชื้อ (seminal plasma) และตัวอสุจิเคลื่อนที่เข้าไป ตรงกันข้ามกับสภาพแวดล้อมใน sperm reservoir ซึ่งเป็นบริเวณที่ปลอดจากเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ทำหน้าที่เก็บกินสิ่งแปลกปลอม (Rodriguez-Martinez et al., 1990) รวมทั้งเป็นบริเวณที่ตัวอสุจิจะได้รับอาหารและพลังงานในช่วงเวลาหนึ่งด้วย เหตุผลที่เห็นได้ชัดอีกประการ คือ การผสมเทียมหรือการผสมตามธรรมชาติตามปกตินั้นจะดำเนินการเมื่อสุกรตัวเมียแสดงการเป็นสัดนิ่ง ซึ่งอยู่ในระยะก่อนตกไข่ ดังนั้นหน้าที่ของ sperm



รูปที่ 1 ตัวอสุจิของสุกรจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (A) การรวมตัวกันเป็นกลุ่มของตัวอสุจิที่เกาะอยู่บนเยื่อของ UTJ (x1500) และ (B) ตัวอสุจิของสุกรในสภาพที่สมบูรณ์ (intact spermatozoa) ที่เกาะอยู่บนเซลล์คiliated และเซลล์ที่มีซีเลียของเยื่อใน UTJ (x3500)

reservoir ในระยะที่สำคัญนี้ทำให้แน่ใจได้ว่ามีจำนวนตัวอสุจิที่สมบูรณ์และมีประสิทธิภาพเพียงพออยู่ พร้อมทั้งจะปฏิสนธิ เมื่อมีการตกไข่เกิดขึ้น

การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิจาก sperm reservoir ไปยังตำแหน่งของการปฏิสนธิ

ดังที่กล่าวมาแล้วว่า จำนวนตัวอสุจิจะลดลงเป็นลำดับระหว่างการเคลื่อนที่ภายในท่อทางเดินสืบพันธุ์เพศเมีย จากจำนวนตัวอสุจิมากมายเหลือเพียงไม่กี่พันตัวที่สามารถขึ้นไปถึง isthmus และเพียงจำนวนเล็กน้อยเท่านั้นที่ไปถึงบริเวณ AIJ ซึ่งเป็นตำแหน่งของการปฏิสนธิในสุกร (Larsson and Larsson, 1986; Mburu et al., 1996) อัตราการลดลงเช่นนี้เพื่อลดการเสี่ยงของปรากฏการณ์ที่ตัวอสุจิลายตัวเข้าไปบริเวณรอบๆ โอโอไซต์และนำไปสู่การเข้าปฏิสนธิของตัวอสุจิลายตัว (Hunter and Leglise, 1971) การศึกษาของ Mburu et al. (1996, 1997) เกี่ยวกับจำนวนตัวอสุจิในท่อทางเดินสืบพันธุ์เพศเมียของแม่สุกร ระบุว่าจำนวนตัวอสุจิลดลงอย่างมีลำดับและมีรูปแบบตั้งแต่ช่วงสุดท้ายของระยะการเป็นสัดจนถึงช่วงการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิออกจาก sperm reservoir และพบว่าการลดลงของตัวอสุจิสัมพันธ์กับการตกไข่ อย่างไรก็ตามก็ได้อธิบายที่เกี่ยวเนื่องกับความสัมพันธ์นี้ยังต้องการพิสูจน์ในอนาคตต่อไป แม้ว่าจะมีรายงานการวิจัยชี้แจงว่า ความสัมพันธ์นี้เกิดขึ้นจากปริมาณของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่สูงขึ้นหลังตกไข่เป็นสัญญาณกระตุ้น (Hunter et al., 1999) รวมทั้งยังมีงานวิจัยที่ระบุอีกว่าฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสามารถกระตุ้นการคาปาซิเตชัน และลดการเกิดปฏิกริยาอะโครโซม

ของตัวอสุจิในสัตว์บางชนิดในห้องปฏิบัติการ (Roldan et al., 1994) ปัจจุบันนี้ยังไม่มีข้อสรุปใดๆ ในการศึกษากระบวนการนี้ที่เกิดขึ้นในร่างกาย นอกจากนี้ ยังมีปัจจัยหรือกลไกอื่นที่ช่วยให้ตัวอสุจิเคลื่อนเข้าสู่บริเวณที่สูงกว่า isthmus ได้ง่ายขึ้น เช่น การลดลงและเปลี่ยนแปลงของเมือกเหนียวในท่อนำไข่ (Johansson et al., 2000) การไหลของของเหลว และการโบกพัดของซีเลียที่มีทิศทางเข้าสู่ท่อนำไข่ส่วน ampulla การบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบในชั้น myosalpinx (Rodriguez-Martinez, 1983) และอาจเป็นไปได้ว่าการเคลื่อนไปข้างหน้าของตัวอสุจิในท่อนำไข่นี้ขึ้นอยู่กับกลไกการเคลื่อนไหวยาวในของตัวอสุจินั่นเอง

กระบวนการคาปาซิเตชันของตัวอสุจิที่โหนและอย่างไร

การศึกษาของ Yanagimachi (1994) ระบุว่ากระบวนการคาปาซิเตชันเป็นปรากฏการณ์เตรียมความพร้อมที่สำคัญของตัวอสุจิสำหรับการปฏิสนธิในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้เวลาและมีหลายขั้นตอน เริ่มต้นจากการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มตัวอสุจิ มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในส่วนอื่นๆ ตามมา ตัวอย่างเช่น การย้ายออกของโปรตีนที่มาจาก epididymis และน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิที่เกาะยึดอยู่บนเยื่อหุ้มของตัวอสุจิ การย้ายออกของโปรตีนบางชนิดที่อยู่ภายในเยื่อหุ้มของตัวอสุจิ (intrinsic sperm membrane proteins) การย้ายออกของคลอเลสเทอรอลเนื่องจากจัดตัวที่ไม่เป็นระเบียบของไขมัน มีผลทำให้มีการซึมผ่านของสารเข้าในเซลล์มากขึ้น (Harrison, 1996) นอกจากนี้ พบว่า glycosaminoglycans และ glycoproteins สามารถส่งสัญญาณบางอย่าง

กระตุ้นการเกิดคาปาซิเตชันได้ (Rodriguez-Martinez et al., 1998) รวมทั้งค่าพีเอชและแคลเซียม ก็มีส่วนร่วมในกลไกการกระตุ้นการเกิดกระบวนการนี้เช่นกัน (Dube et al., 2003) การศึกษาดังกล่าวนี้นั้น ส่วนใหญ่เป็นการศึกษานอกร่างกายสัตว์ และบางรายงานเป็นการเก็บข้อมูลระหว่างที่ตัวอสุจิเคลื่อนผ่านท่อทางเดินสืบพันธุ์เพศเมีย ปรากฏชัดว่า ไบคาร์บอเนตเป็นตัวกระตุ้นให้ไขมันในเยื่อหุ้มตัวอสุจิของสุกรจัดตัวไม่เป็นระเบียบซึ่งถือว่าการเปลี่ยนแปลงในช่วงแรกของกระบวนการคาปาซิเตชัน (Harrison, 1996; 1997; Gadella and Harrison, 2000) หลังจากนั้น จะมีการเหนี่ยวนำให้เกิดการเคลื่อนย้ายของแคลเซียมและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิแบบเส้นตรงเป็นการเคลื่อนไหวแบบสะบัดหางที่เรียกว่า “hyperactivated motility” ในที่สุด กระบวนการ exocytosis ของเยื่อหุ้มตัวอสุจิบริเวณอะโครโซมที่อยู่บนส่วนหัวของตัวอสุจิจะเกิดขึ้น ซึ่งจะนำไปสู่ปฏิกิริยาอะโครโซม โดยปกติแล้วจะเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเมื่อตัวอสุจิเข้าไปสัมผัสกับ zona pellucida ของโอโอไซต์ (Berger et al., 1989)

กระบวนการคาปาซิเตชันอาจใช้เวลาเป็นนาทีภายใต้สภาวะนอกร่างกาย (Harrison, 1996; 1997) แต่สภาวะภายในร่างกายสัตว์อาจใช้เวลา 1 ถึง 2 ชั่วโมงหรือมากกว่านั้น ขึ้นอยู่กับสถานภาพของตัวอสุจิ ชนิดหรือวิธีการเตรียมอสุจิ เช่น การแช่เย็น รวมทั้งตำแหน่งหรือระยะเวลาของตัวอสุจิที่อยู่ในท่อทางเดินสืบพันธุ์เพศเมีย (Rodriguez-Martinez et al., 2001) ดังที่กล่าวแล้วว่า sperm reservoir ช่วยรักษาให้ตัวอสุจิมีชีวิตอยู่รอด ป้องกันการเคลื่อนไหวที่มากเกินไปของตัวอสุจิ และมีส่วนในการควบคุมกระบวนการคาปาซิเตชันด้วยการชะลอการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มตัวอสุจิที่อยู่ใน sperm reservoir สามารถยืดระยะการมีชีวิตรอดและประสิทธิภาพในการปฏิสนธิด้วยตัวอสุจิใน sperm reservoir จะไม่เกิดการคาปาซิเตชัน จนกว่าจะมีสัญญาณกระตุ้นจากบางสิ่งบางอย่างซึ่งมีความสัมพันธ์กับการตกไข่ เพื่อให้ตัวอสุจิเคลื่อนที่จากสภาพแวดล้อมใน sperm reservoir ไปสู่สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการคาปาซิเตชันในท่อนำไข่ส่วนบนต่อไป (Murray and Smith, 1997)

ข้อมูลที่เก็บรวบรวมจากการทดลองนอกร่างกาย แสดงให้เห็นว่า การสัมผัสกับเยื่อท่อนำไข่และพันธะโดยการจดจำของคาร์โบไฮเดรต (Suarez, 1998) สามารถรักษาสมดุลของเยื่อหุ้มตัวอสุจิโดยการป้องกันการไหลเข้ามาของแคลเซียมและรักษาแคลเซียมที่อยู่ในเซลล์ให้อยู่ในระดับ

ต่ำเพื่อชะลอการคาปาซิเตชัน (Dobrinski et al., 1997; Parrish et al., 1999) การศึกษาของ Tienthai et al. (2004) ทดลองชะล้างตัวอสุจิใน sperm reservoir ของแม่สุกรในระยะก่อนตกไข่ ขณะตกไข่ และทันทีหลังจากตกไข่ จากนั้นนำไปย้อมด้วยสีจำเพาะนั้นคือ Merocyanine-540/YOPRO-1 และวิเคราะห์โดยวิธี flow cytometry พบว่าประชากรส่วนใหญ่ของตัวอสุจิยังไม่เกิดการคาปาซิเตชัน อย่างไรก็ตาม ตัวอสุจิเหล่านี้จะเกิดการคาปาซิเตชันก็ต่อเมื่อสัมผัสกับไบคาร์บอเนตที่มีความเข้มข้นใกล้เคียงกับความเข้มข้นของไบคาร์บอเนตที่วัดได้ในของเหลวที่เก็บได้จากท่อนำไข่ส่วน AIJ กล่าวได้ว่า มีบางสิ่งควบคุมกลไกในการป้องกันไม่ให้ตัวอสุจิเกิดการคาปาซิเตชันก่อนกำหนด เมื่อตัวอสุจิอยู่ในของเหลวที่คัดหลังจากเซลล์เยื่อท่อนำไข่หรือสัมผัสโดยตรงกับเซลล์เยื่อท่อนำไข่ การศึกษาในโคพบว่า เมื่อกลุ่มของตัวอสุจิเคลื่อนที่จาก sperm reservoir และสัมผัสกับ heparin การรักษาสมดุลของเยื่อหุ้มตัวอสุจิจะเปลี่ยนแปลง (Lane et al., 1999) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้เกิดขึ้นในทำนองเดียวกันเมื่อตัวอสุจิของสุกรสัมผัสกับไบคาร์บอเนต (Harrison, 1997) อย่างไรก็ตาม ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าระดับไบคาร์บอเนตใน AIJ นั้นเพียงพอสำหรับการกระตุ้นกระบวนการคาปาซิเตชันหรือไม่ เพียงแต่กระบวนการนี้เกิดขึ้นได้เมื่อตัวอสุจิสัมผัสกับของเหลวที่เก็บได้จากท่อนำไข่ส่วน AIJ นอกจากนี้ยังพบว่า heparin ช่วยให้ตัวอสุจิของโคที่เกาะยึดกับเยื่อเคลื่อนที่ออกมาซึ่งเป็นการทดลองกับเยื่อท่อนำไข่ที่เพาะเลี้ยงภายนอก ร่างกาย สรุปได้ว่า heparin ช่วยให้ตัวอสุจิมีการเคลื่อนไหวมากขึ้นโดยปราศจากการเกิดปฏิกิริยาอะโครโซม (Bosch et al., 2001)

ตัวอสุจิของโคและสุกรโดยส่วนใหญ่ที่ยึดเกาะกับเยื่อท่อนำไข่ที่เพาะเลี้ยงนอกร่างกายนั้น จะอยู่ในสภาพปกติ และไม่มีกระบวนการคาปาซิเตชันเกิดขึ้น ขณะที่ตัวอสุจิที่ไม่ได้สัมผัสกับเซลล์เยื่อท่อนำไข่หรือหลุดออกมา ก่อนจะเกิดกระบวนการอย่างชัดเจน เมื่อทดสอบโดยการย้อมด้วย Chlortetracycline (CTC staining) และการตรวจสอบรูปแบบการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (Fazeli et al., 1999) แสดงว่า ตัวอสุจิที่หลุดออกมาจากเซลล์เยื่อ สามารถเคลื่อนไหวไปข้างหน้าและสามารถเข้าไปปฏิสนธิได้ ถึงขณะนี้ ยังไม่มีข้อมูลยืนยันที่แน่นอนเกี่ยวกับปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในร่างกายและมีความเป็นไปได้ว่าตัวอสุจิที่เคลื่อนออกจาก sperm reservoir มีศักยภาพเฉพาะตัวในการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเยื่อหุ้มที่ต่างกัน บางตัวพร้อมที่จะเกิดการคาปาซิเตชันทันที แต่บางตัวนั้นอาจ

ต้องใช้เวลามากกว่าปกติและต้องการสภาพแวดล้อมที่มีไบคาร์บอเนตเพิ่มขึ้นใน AU ดังที่กล่าวข้างต้นว่า ขั้นตอนท้ายของกระบวนการคาปาซิเตชันคือการเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วแบบสลับทางของตัวอสุจิ Shalgi และคณะ (1992) รายงานว่าของเหลวที่เก็บจากท่อนำไข่ในช่วงขณะตกไข่สามารถกระตุ้นตัวอสุจิที่หลังออกมาใหม่ ๆ ให้มีการเคลื่อนไหวแบบนี้ได้ในการทดลองภายนอกร่างกาย

เมื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพของ sperm reservoir ในสุกร พบว่าตัวอสุจิบางกลุ่มไม่ได้สัมผัสโดยตรงกับเยื่ออุทอนำไข่ (Rodriguez-Martinez et al., 1990; Mburu et al., 1997) ทำให้เกิดคำถามว่าของเหลวที่อยู่ในท่อนำไข่มีบทบาทสำคัญอย่างไรต่อกระบวนการคาปาซิเตชัน ของเหลวที่เก็บจากท่อนำไข่สุกรประกอบไปด้วย glycosaminoglycans เป็นหลักและมีปริมาณสูงสุดในระยะก่อนตกไข่ของวงจรการเป็นสัด นอกจากนี้ Tienthai et al. (2000) ตรวจพบ hyaluronan ซึ่งเป็น glycosaminoglycans ชนิดที่ไม่มีซัลเฟตในของเหลวที่เก็บได้จากท่อนำไข่ส่วน isthmus และเมื่อตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี จะพบสารนี้ปรากฏชัดเจนขึ้นเยื่อของ UTJ และ isthmus ที่อยู่ติดกัน (ซึ่งทั้งสองส่วนนี้คือตำแหน่งของ sperm reservoir) และปรากฏเด่นชัดมากตรงบริเวณที่ตัวอสุจิรวมกันและยังสามารถตรวจพบตัวรับที่จำเพาะของ hyaluronan ที่มีชื่อว่า "CD44" ในเยื่ออุทอนำไข่ได้ (Tienthai et al., 2003a) รวมทั้งค้นพบว่าเซลล์เยื่อของ sperm reservoir มีเอ็นไซม์ที่สังเคราะห์ hyaluronan นั่นคือ "hyaluronan synthase-3" ปรากฏอยู่ด้วยเมื่อตรวจสอบด้วยวิธี RT-PCR โดยเฉพาะในเซลล์เยื่อที่เก็บได้ระยะก่อนการตกไข่ (Tienthai et al., 2003^b) จากการทดลองเติม hyaluronan ลงในตัวอสุจิแช่แข็งของสุกรที่ผ่านการทำละลาย (frozen-thawed spermatozoa) เพื่อเตรียมสำหรับการปฏิสนธิภายนอกร่างกาย พบว่า hyaluronan สามารถเหนี่ยวนำการคาปาซิเตชันได้โดยปราศจากการเกิดปฏิกิริยาอะโครโซม (Suzuki et al., 2002) และลดอุบัติการณ์ของการเข้าปฏิสนธิของตัวอสุจิหลายตัวได้ (Suzuki et al., 2000) นอกจากนี้ Pena และคณะ (2004) รายงานว่า hyaluronan สามารถรักษามีชีวิตรอดและรักษาสภาพที่สมดุลของเยื่อหุ้มของตัวอสุจิสุกรที่ผ่านการแช่แข็งได้เป็นอย่างดี การชะล้างตัวอสุจิจาก sperm reservoir ในระยะก่อนตกไข่จากแม่สุกรและนำตัวอสุจิที่ได้มาสัมผัสกับไบคาร์บอเนตในอัตราส่วนที่เหมาะสม พบว่าตัวอสุจิส่วนใหญ่ทนต่อการเหนี่ยวนำการเกิดคาปาซิเตชันได้ เช่นเดียวกับผลการทดลองที่ได้นำตัวอสุจิมาเตรียมด้วย hyaluronan หรือ

ของเหลวที่เก็บมาจากท่อนำไข่ส่วน isthmus ในระยะก่อนตกไข่ (Tienthai et al., 2004) จากการศึกษาเหล่านี้ สามารถระบุว่าของเหลวที่กักหลังจากเซลล์เยื่อใน sperm reservoir ช่วยรักษามีชีวิตรอดของตัวอสุจิและชะลอการเกิดคาปาซิเตชันได้ขณะหนึ่ง สมมุติฐาน คือ ปริมาณและคุณสมบัติของ hyaluronan ที่พบในของเหลวที่ผลิตจากท่อนำไข่นั้นมีผลกระทบต่อการทำงานหรือการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มตัวอสุจิของสุกร

บทสรุป

หน้าที่ของ sperm reservoir ในระยะก่อนตกไข่ของสุกร คือการชะลอการเกิดคาปาซิเตชันของตัวอสุจิ มากกว่าไปกระตุ้นกระบวนการนี้ โดยมีขั้นตอนเป็นลำดับดังนี้ กระบวนการคาปาซิเตชันจะเกิดขึ้นเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มตัวอสุจิ และเมื่อตัวอสุจิถูกจับให้ติดอยู่ใน sperm reservoir ด้วยของเหลวที่เป็นเมือกเหนียวซึ่งเต็มไปด้วย glycosaminoglycans และโปรตีนในบริเวณท่อแคบๆ สารเหล่านี้จะช่วยชะลอและป้องกันการเกิดคาปาซิเตชันได้ขณะหนึ่ง (Boquest et al., 1999) การชะลอนี้สามารถเกิดขึ้นได้เพราะการยึดเกาะกัน ระหว่างตัวอสุจิกับเยื่ออุทอด้วยเช่นกัน หลังจากนั้น เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมภายในท่อนำไข่ ซึ่งมีสาเหตุจากสภาวะของฮอโมนหรือปัจจัยอื่นๆ ทำให้ตัวอสุจิจำนวนหนึ่งหลุดออกจากการยึดเกาะและเคลื่อนที่จาก sperm reservoir ตรงไปยัง ampullary-isthmic junction เพื่อปฏิสนธิกับโอโอไซต์ (Hunter et al., 1999) ขั้นตอนต่างๆ เหล่านี้ที่เกิดขึ้นใน sperm reservoir เพื่อรับประกันว่าตัวอสุจิยังมีชีวิตรอดและมีประสิทธิภาพในการปฏิสนธิกับโอโอไซต์ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง ก่อนการตกไข่จะเกิดขึ้นตามปกติซึ่งใช้เวลาประมาณ 24-48 ชั่วโมง หลังจากการเป็นสัดนึ่งในสุกร (Mburu et al., 1996) หลังจากนั้นตัวอสุจิในจำนวนที่เพียงพอจะเคลื่อนที่ไปยังส่วนบนของท่อนำไข่ เกิดการคาปาซิเตชันตามสัทยภาพที่แตกต่างกันของตัวอสุจิแต่ละตัว เมื่อการคาปาซิเตชันเสร็จสิ้น ตัวอสุจิจะพบกับโอโอไซต์เพื่อการปฏิสนธิโดยปราศจากการเสี่ยงต่อการเข้าปฏิสนธิจากตัวอสุจิหลายตัว

เอกสารอ้างอิง

- Berger, T.D., Turner, D.O., Meizel, S. and Heidrick, J.L. 1989. The zona pellucida induced acrosome reaction in boar sperm. *Biol. Reprod.* 40: 525-530.
- Boquest, A.C., Smith, J.F., Briggs, R.M., Duganzich, D.M. and Summers, P.M. 1999. Effects of bovine oviductal proteins on bull spermatozoal function. *Theriogenology*. 51: 583-595.
- Bosch, P., de Avila, J.M., Ellington, J.E. and Wright, Jr., R.W. 2001. Heparin and Ca^{2++} -free medium can enhance release of bull sperm attached to oviductal epithelial cell monolayers. *Theriogenology*. 56: 247-260.
- Dobranski, I., Smith, T.T., Suarez, S.S. and Ball, B.A. 1997. Membrane contact with oviductal epithelium modulates the intracellular calcium concentration of equine spermatozoa *in vitro*. *Biol. Reprod.* 56: 861-869.
- Dube, C., Tardif, S., Leclerc, P. and Bailey, J.L. 2003. Importance of calcium in the appearance of p32, a boar sperm tyrosine phosphoprotein, during boar sperm capacitation. *J. Androl.* 24: 727-733.
- Dyce, K.M., Sack, W.O. and Wensing, C.J.G. 1996. The Pelvis and Reproductive organs of the Pig. In : *Textbook of Veterinary Anatomy*. 2nd edition. W.B. Philadelphia: Saunders. 799-808.
- Einarsson, S. 1980. Site, transport and fate of inseminated semen. *Proceedings of the 9th International Congress of Animal Reproduction and Artificial Insemination*. Madrid, Spain. June 15-19: 147-158.
- Einarsson, S. 1985. Transport of boar semen in the female reproductive tract. *Proceedings of the 1st International Conference on Deep Freezing of Boar Semen*. L.A. Johnson and K. Larsson (eds.), Uppsala, Sweden. August 25-27: 189-197.
- Fazeli, A., Duncan, A.E. Watson, P.F. and Holt, W.V. 1999. Sperm-oviduct interaction: induction of capacitation and preferential binding of uncapacitated spermatozoa to oviductal epithelial cells in porcine species. *Biol. Reprod.* 60: 879-886.
- Funahashi, H. and Day, B.N. 1997. Advances in *in vitro* production of pig embryos. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 52: 271-283.
- Gadella, B.M. and Harrison, R.A.P. 2000. The capacitation agent bicarbonate induces protein kinase A-dependent changes in phospholipid transbilayer behaviour in the sperm plasma membrane. *Development*. 127: 2407-2420.
- Harrison, R.A.P. 1996. Capacitation mechanisms, and the role of capacitation as seen in eutherian mammals. *Reprod. Fertil. Dev.* 8: 581-594.
- Harrison, R.A.P. 1997. Sperm plasma membrane characteristics and boar semen fertility. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 52: 195-211.
- Hunter, R.H.F. 1981. Sperm transport and reservoirs in the pig oviduct in relation to the time of ovulation. *J. Reprod. Fert.* 63: 109-117.
- Hunter, R.H.F. 1984. Preovulatory arrest and periovulatory redistribution of competent spermatozoa in the isthmus of the pig oviduct. *J. Reprod. Fert.* 72: 203-211.
- Hunter, R.H.F. 1988. Discovery of the Fallopian tubes and subsequent historical landmarks. In : *The Fallopian Tubes: Their role in fertility and infertility*. Berlin: Springer-Verlag. 1-10.
- Hunter, R.H.F. 1991. Oviduct function in pigs, with particular reference to the pathological condition of polyspermia. *Mol. Reprod. Dev.* 29: 385-391.
- Hunter, R.H.F. 1995. Ovarian endocrine control of sperm progression in the Fallopian tubes. *Oxford Rev. Reprod. Biol.* 17: 85-124.
- Hunter, R.H.F. and Leglise, P.C. 1971. Polyspermic fertilization following tubal surgery in pigs with particular reference to the role of the isthmus. *J. Reprod. Fert.* 24: 233-246.
- Hunter, R.H.F. and Nichol, R. 1986. A preovulatory temperature gradient between the isthmus and ampulla of pig oviducts during the phase of sperm storage. *J. Reprod. Fert.* 77: 599-606.

- Hunter, R.H.F., Petersen, H.H. and Greve, T. 1999. Ovarian follicular fluid, progesterone and calcium²⁺ ion influences on sperm release from the fallopian tube reservoir. *Mol. Reprod. Dev.* 54: 283-291.
- Johansson, M., Tienthai, P. and Rodriguez-Martinez, H. 2000. Histochemistry and ultrastructure of the intraluminal mucus in the sperm reservoir of the pig oviduct. *J. Reprod. Dev.* 46: 183-192.
- Kawakami, E., Arai, T., Oishi, I., Hori, T. and Tsutsui, T. 2000. Induction of dog sperm capacitation by glycosaminoglycans and glycosaminoglycan amounts of oviductal and uterine fluids in bitches. *J. Vet. Med. Sci.* 62: 65-68.
- Kim, N.H., Day, B.N., Lim, J.G., Lee, H.T. and Chung, K.S. 1997. Effects of oviductal fluid and heparin on fertility and characteristics of porcine spermatozoa. *Zygote*. 5: 61-65.
- Lane, M., Therien, I., Moreau, R. and Manjunath, P. 1999. Heparin and high-density lipoprotein mediate bovine sperm capacitation by different mechanisms. *Biol. Reprod.* 60: 169-175.
- Larsson, B. and Larsson, K. 1986. Sperm localization in the oviducts of artificially inseminated dairy cattle. *Acta Vet. Scand.* 27: 303-312.
- Lefebvre, R., Chenoweth, P.J., Drost, M., LeClear, C.T., MacCubbin, M., Dutton, J.T. and Suarez S.S. 1995. Characterization of the oviductal sperm reservoir in cattle. *Biol. Reprod.* 53: 1066-1074.
- Lefebvre, R. and Suarez, S.S. 1996. Effect of capacitation on bull sperm binding to homologous oviductal epithelium. *Biol. Reprod.* 54: 575-582.
- Lefebvre, R. and Suarez, S.S. 1997. Bovine sperm binding to oviductal epithelium involves fucose recognition. *Biol. Reprod.* 56: 1198-1204.
- Mburu, J.N., Einarsson, S., Lundeheim, N. and Rodriguez-Martinez, H. 1996. Distribution, number and membrane integrity of spermatozoa in the pig oviduct in relation to spontaneous ovulation. *Anim. Reprod. Sci.* 45: 109-121.
- Mburu, J.N., Rodriguez-Martinez, H. and Einarsson, S. 1997. Changes in sperm ultrastructure and localization in the porcine oviduct around ovulation. *Anim. Reprod. Sci.* 47: 137-148.
- Murray, S.C. and Smith, T.T. 1997. Sperm interaction with Fallopian tube apical membrane enhances sperm motility and delays capacitation. *Fertil. Steril.* 68: 351-357.
- Parrish, J.J., Susko-Parrish, J.L. and Graham, J.K. 1999. In vitro capacitation of bovine spermatozoa: role of intracellular calcium. *Theriogenology*. 51: 461-472.
- Pena, F.J., Johannisson, A., Wallgren, M. and Rodriguez-Martinez, H. 2004. Effect of hyaluronan supplementation on boar sperm motility and membrane lipid architecture status after cryopreservation. *Theriogenology*. 61: 63-70.
- Petrunkina, A.M., Gehlhaar, R., Drommer, W., Waberski, D. and Topfer-Petersen, E. 2001. Selective sperm binding to pig oviductal epithelium *in vitro*. *Reproduction*. 121: 889-896.
- Rodriguez-Martinez, H. 1983. Studies on the control mechanisms of the pig oviductal motility. Doctoral thesis (dissertation), Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), Uppsala, Sweden. 152 pp.
- Rodriguez-Martinez, H., Ekwall, H. and Ploen, L. 1985. Ultrastructure and innervation of smooth muscle in the porcine oviduct. *Zbl. Vet. Med. C.* 14: 33-46.
- Rodriguez-Martinez, H., Nicander, L., Viring, S., Einarsson, S. and Larsson, K. 1990. Ultrastructure of the utero-tubal junction in preovulatory pigs. *Anat. Histol. Embryol.* 19: 16-36.
- Rodriguez-Martinez, H., Larsson, B., Pertoft, H. and Kjellen, L. 1998. GAGs and spermatozoon competence *in vivo* and *in vitro*. In : Gametes: Development and Function. Lauria, A. et al. (eds). Rome: Sereno Symposia. 239-274.
- Rodriguez-Martinez, H., Tienthai, P., Suzuki, K., Funahashi, H., Ekwall, H. and Johansson, A. 2001. Involvement of oviduct in sperm capacitation and

- oocyte development in the pig. *Reproduction*. Suppl. 58: 129-145.
- Roldan, E.R.S., Murase, T. and Shi, Q. 1994. Exocytosis in spermatozoa in response to progesterone and zona pellucida. *Science*. 266: 1578-1581.
- Rozeboom, K.J., Troedsson, M.H.T. and Crabo, B.G. 2000. AI in swine: The impact of inseminations on the uterine environment. In: *Boar Semen Preservation IV*. L.A. Johnson and H.D. Guthrie (eds.), Lawrence: Allen Press. 177-184.
- Shalgi, R., Smith, T.T. and Yanagimachi, R. 1992. A quantitative comparison of the passage of capacitated and uncapacitated hamster spermatozoa through the uterotubal junction. *Biol. Reprod.* 46: 419-424.
- Suarez, S.S. 1998. The oviductal sperm reservoir in mammals: Mechanisms of formation. *Biol. Reprod.* 58: 1105-1107.
- Suarez, S.S., Dai, X.B., DeMott, R.P., Redfern, K. and Mirando, M.A. 1992. Movement characteristics of boar sperm obtained from the oviduct or hyperactivated *in vitro*. *J. Androl.* 13: 75-80.
- Suzuki, K., Eriksson, B., Shimizu, H., Nagai, T. and Rodriguez-Martinez, H. 2000. Effect of hyaluronan on monospermic penetration of porcine oocytes fertilized *in vitro*. *Int. J. Androl.* 23: 13-21.
- Suzuki, K., Asano, A., Eriksson, B., Niwa, K., Shimizu, H., Nagai, T. and Rodriguez-Martinez, H. 2002. Capacitation status and *in vitro* fertility of boar spermatozoa: Effects of seminal plasma, cumulus-oocytes-complexes-conditioned medium and hyaluronan. *Int. J. Androl.* 25:84-93.
- Tienthai, P., Kjellen, L., Pertoft, H., Suzuki, K. and Rodriguez-Martinez, H., 2000. Localization and quantitation of hyaluronan and sulphated glycosaminoglycans in the tissues and intraluminal fluid of the pig oviduct. *Reprod. Fert. Dev.* 12: 173-182.
- Tienthai, P., Yokoo, M., Kimura, N., Heldin, P., Sato, E. and Rodriguez-Martinez, H. 2003^a. Immunolocalization and expression of the hyaluronan receptor CD44 in the epithelium of the porcine oviduct during oestrus. *Reproduction*. 125: 119-132.
- Tienthai, P., Kimura, N., Heldin, P., Sato, E. and Rodriguez-Martinez, H. 2003^b. Expression of hyaluronan synthase-3 in porcine oviductal epithelium during oestrus. *Reprod. Fertil. Dev.* 15: 99-105.
- Tienthai, P., Johannisson, A. and Rodriguez-Martinez, H. 2004. Sperm capacitation in the porcine oviduct. *Anim. Reprod. Sci.* 80: 131-146.
- Viring, S. and Einarsson, S. 1981. Sperm distribution within the genital tract of naturally inseminated gilts. *Nord. Vet. Med.* 33:145-149.
- Yanagimachi, R. 1994. Mammalian fertilization. In: *The Physiology of Reproduction*. E. Knobil and J.D. Neill (eds.) New York: Raven Press. 189-317.