

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 ลักษณะทั่วไปของสัตว์ปีก

สัตว์ปีกเป็นสัตว์ที่มีลักษณะแตกต่างจากสัตว์มีกระดูกสันหลังชนิดอื่นๆ โดยมีลักษณะภายนอกคือ มีขา 2 ขา มีเกล็ดที่ขาและนิ้วเท้า มีปีก 2 ปีก มีขนเป็นแผงแบบขนนก ขนปกคลุมทั่วทั้งลำตัว เป็นสัตว์เลือดอุ่นจึงรักษาอุณหภูมิของร่างกายไว้ได้คงที่ประมาณ 40 องศาเซลเซียส สัตว์ปีกหายใจด้วยปอด โดยปอดเป็นอวัยวะแลกเปลี่ยนก๊าซ นอกจากนี้มีถุงลมที่บริเวณส่วนต่างๆ ของร่างกาย เช่น ที่ฐานของคอ ที่ท้อง ที่ทรวงอก ช่วยเก็บอากาศเพื่อส่งไปแลกเปลี่ยนก๊าซที่ปอด และถุงลมในร่างกายยังช่วยให้ร่างกายมีน้ำหนักเบา ทำให้ลอยตัวอยู่ในอากาศได้ดี เท้าและขาของสัตว์ปีกพบว่ามีลักษณะเป็นเกล็ดปกคลุม สัตว์ปีกไม่มีฟัน แต่มีจงอยปาก อาหารที่สัตว์กินเข้าไปจะเคลื่อนผ่านหลอดอาหารลงสู่กระเพาะพักเพื่อเก็บสะสม แล้วจึงส่งต่อไปให้กระเพาะจริง เรียกว่า กระเพาะบดหรือกิน ช่วยบดอาหารให้ละเอียด โดยใช้เม็ดกรวดและทรายที่สัตว์พวกนี้จิกกินเข้าไป จากนั้นส่งต่อไปให้ลำไส้เล็กเพื่อย่อยจนสามารถดูดซึมสารอาหารไปใช้ได้ เหลือกากอาหารจะถูกขับออกทางทวารหนักพร้อมปัสสาวะ (คลังปัญญาไทย, 2555) การสืบพันธุ์เป็นแบบอาศัยเพศ มีการปฏิสนธิภายใน โดยออกลูกเป็นไข่ วางไข่บนบก ไข่มีเปลือกแข็งหุ้ม สามารถแบ่งสัตว์กลุ่มนี้ตามลักษณะการบินได้ 2 พวก คือ พวกบินได้ กับพวกบินไม่ได้

พวกบินได้ ส่วนใหญ่มีปีกเจริญดี สามารถใช้ในการบินไปมาในอากาศได้อย่างรวดเร็ว แต่มีบางพวกปรับโครงสร้างของร่างกายให้เหมาะสมกับสถานที่อยู่อาศัย จึงบินได้ต่ำ เช่น ไก่ เป็ด นกขุนทอง แต่พวกบินไม่ได้นั้นมีปีกขนาดเล็กมาก จึงไม่สามารถบินได้ การเคลื่อนที่ที่อาศัยขาเดินและวิ่งอย่างรวดเร็ว เช่น นกกระจกเทศ นกอีมู และนกเพนกวิน

ไก่ (Chicken) จัดอยู่ในประเภทสัตว์ปีกจำพวกนก ชื่อวิทยาศาสตร์ *Gallus gallus* มีหลายวงศ์บินได้ในระยะสั้นหากินและอาศัยอยู่ตามพื้นดินไม่เหมือนนกที่อาศัยอยู่ตามต้นไม้ ตกไข่ก่อนแล้ว

จึงฝึกเป็นตัว ตัวผู้หงอนใหญ่และเดือยยาว ไก่มีมากมายหลากหลายสายพันธุ์ บางพันธุ์เลี้ยงเพื่อเอาเนื้อ ไก่มาทำเป็นอาหารของมนุษย์ บางพันธุ์เลี้ยงเพื่อเอาไข่ ไก่มาทำเป็นอาหารและบางสายพันธุ์เลี้ยงไว้ เพื่อนำไปชนกับไก่ตัวอื่นในเกมนกกีฬา (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2555)

2.2 การจำแนกชั้นทางวิทยาศาสตร์

อาณาจักร : Animalia

ไฟลัม : Chordata

ชั้น : Aves

อันดับ : Galliformes

วงศ์ : Phasianidae

สกุล : *Junglefowl*

สปีชีส์ : *G. gallus*

Subspecies : *Gallus gallus domesticus*

2.3 พันธุ์ไก่ไข่

พันธุ์ไก่ไข่ที่นิยมเลี้ยงในประเทศไทยในปัจจุบันส่วนมากเป็นพันธุ์ที่นำมาจากต่างประเทศ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ได้มีการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์มาเป็นอย่างดีแล้ว เช่น ไข่ฟองโต และให้ไข่ทน พันธุ์ไก่ไข่ที่มีการเลี้ยงกันมากในขณะนี้ แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่

2.3.1 ไก่พันธุ์แท้

ไก่พันธุ์แท้ เป็นไก่ที่ได้รับการคัดเลือกและผสมพันธุ์มาเป็นอย่างดีของนักผสมพันธุ์จนลูกหลานในรุ่นต่อๆ มา มีลักษณะรูปร่าง ขนาด สี และอื่นๆ เหมือนบรรพบุรุษไก่พันธุ์แท้ สำหรับไก่ไข่พันธุ์แท้ที่ยังเลี้ยงกันอยู่ในประเทศไทย มีดังนี้

- 1) โร้ดไอส์แลนด์แดง (Rhode Island Red) หรือ ไก่โร้ด เป็นไก่ที่มีการเลี้ยงมากกว่า 100 ปี โดยได้รับการผสมและคัดเลือกพันธุ์มาจากพันธุ์มาเลย์แดง ไก่เซียงไฮ้แดง ไก่เล็กฮอร์นสีน้ำตาล ไก่ไวอันดอทท์ และไก่บราห์มาส์ ไก่พันธุ์โร้ดไอส์แลนด์แดงมี 2 ชนิด คือ ชนิดหงอนกุหลาบและชนิดหงอนจักรแต่ที่นิยมเลี้ยงกันแพร่หลายเป็น

ชนิดหงอนจักร ไก่โร้ดไอส์แลนด์แดงหงอนจักรมีรูปร่างค่อนข้างยาวและเล็กเหมือนสีเหลี่ยมยาว ขนมีสีน้ำตาลแกมแดง หงอนจักร ผิวหนังและแข้งสีเหลืองแผ่นหุ้มสีแดง เปลือกไข่มีสีน้ำตาล สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี เริ่มให้ไข่เมื่ออายุระหว่าง 5½ - 6 เดือน ให้ไข่ปีละประมาณ 280 - 300 ฟอง น้ำหนักตัวเมื่อโตเต็มที่ เพศผู้หนัก 3.1 - 4.0 กิโลกรัม เพศเมียหนัก 2.2 - 4.0 กิโลกรัม ในปัจจุบันนิยมเลี้ยงเป็นไก่ต้นพันธุ์ในการผลิตไข่ลูกผสมทางการค้าเพื่อให้ได้ลูกผสมที่สามารถคัดเพศได้เมื่ออายุ 1 วัน โดยดูความแตกต่างของสีขน



ภาพที่ 2.1 ไก่ไข่พันธุ์โร้ดไอส์แลนด์แดง (Rhode Island Red).

- 2) บาร์พลีมัทร็อก (Barred Plymouth Rock) หรือ ไก่บาร์ เป็นไก่พันธุ์ที่มีขนสีดำสลับกับขาวตามขวางของขน หงอนจักร ผิวหนังสีเหลือง ให้ไข่เปลือกสีน้ำตาล เริ่มให้ไข่เมื่ออายุประมาณ 5½ - 6 เดือน เป็นพันธุ์ที่ได้รับการผสมระหว่างไก่ตัวผู้พันธุ์โคมินิคกับไก่ตัวเมียพันธุ์โคชินดำ หรือ จาวรด้า ปัจจุบันใช้เป็นสายแม่ผสมกับไก่ตัวผู้พันธุ์โร้ดไอส์แลนด์แดงหรือพันธุ์นิวแฮมเชอร์ ลูกผสมที่ได้จะสามารถคัดเพศเมื่ออายุ 1 วันได้ โดยลูกผสมตัวเมียจะมีขนสีดำและให้ไข่ดก ส่วนลูกผสมตัวผู้มีสีบาร์ ปัจจุบันไก่บาร์พลีมัทร็อกนิยมใช้เป็นสายแม่ผสมกับไก่ตัวผู้โร้ดไอส์แลนด์แดงเพื่อผลิตลูกผสมชนิดคัดเพศได้เมื่อแรกเกิด โดยดูจากสีของขน



ภาพที่ 2.2 ไก่ไข่พันธุ์บาร์พลีมัทร็อค (Barred Plymouth Rock).

- 3) เล็กฮอร์นขาวหงอนจักร (White Leghorn) จัดเป็นไก่พันธุ์ที่นิยมเลี้ยงกันแพร่หลายที่สุดในบรรดาไก่เล็กฮอร์นด้วยกัน เป็นพันธุ์ที่มีขนาดเล็ก ขนสีขาว ให้ไข่เร็ว ให้ไข่มาก ไข่เปลือกสีขาว มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนอาหารค่อนข้างสูง เพราะมีขนาดเล็ก ทนต่อสภาพอากาศร้อนได้ดี เริ่มให้ไข่เมื่ออายุ 4 ½ - 5 เดือน ให้ไข่ปีละประมาณ 300 ฟอง น้ำหนักเมื่อโตเต็มที่เพศผู้หนัก 2.2 - 2.9 กิโลกรัม เพศเมียหนัก 1.8 - 2.2 กิโลกรัม ปัจจุบันนิยมใช้ไก่พันธุ์เล็กฮอร์นขาวหงอนจักรผสมข้ามสายพันธุ์ตั้งแต่สองสายพันธุ์ขึ้นไปเพื่อผลิตเป็นไก่ไข่ลูกผสมเพื่อการค้า



ภาพที่ 2.3 ไก่ไข่พันธุ์เล็กฮอร์นขาวหงอนจักร (ประทุม, 2556).

2.3.2 ไก่ลูกผสม

ไก่ลูกผสม เป็นไก่ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างไก่พันธุ์ 2 พันธุ์ โดยมีจุดประสงค์เพื่อให้ได้ไก่ที่ให้ไข่มาก ซึ่งช่วยให้การผลิตไข่มีต้นทุนที่ต่ำ การผสมไก่ประเภทนี้ลูกผสมที่ได้ส่วนใหญ่จะมีลักษณะที่ดีกว่าพ่อแม่พันธุ์ โดยเฉพาะความทนทานต่อโรค ไก่ลูก

ผสมที่มีผู้นิยมเลี้ยงส่วนใหญ่ได้แก่ ไก่ลูกผสมระหว่างพ่อโร้ดไอส์แลนด์แดง + แม่บาร์พลิมัทรีอ็อค, พ่อบาร์พลิมัทรีอ็อค + แม่โร้ดไอส์แลนด์แดง, พ่อเล็กฮอร์น + แม่โร้ดไอส์แลนด์แดง, พ่อโร้ดไอส์แลนด์แดง + แม่ไฮบริด และลูกผสม 3 สายเลือด คือ ลูกตัวเมียที่ได้จากลูกผสมพ่อโร้ดไอส์แลนด์แดง + แม่บาร์พลิมัทรีอ็อค นำไปผสมกับพ่อไก่อุ ลูกผสมที่ได้มีเนื้อดี โตเร็วและให้ไข่ดีพอสมควร เหมาะสำหรับนำไปเลี้ยงเป็นรายได้เสริม

นอกจากนี้ยังมีไก่อีกสายพันธุ์หนึ่งที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์กบินทร์บุรี อำเภอกบินทร์บุรี จังหวัดปราจีนบุรี ได้ปรับปรุงพันธุ์ไก่ไข่พันธุ์ใหม่เพื่อนำมาใช้ในประเทศ และทดแทนการนำเข้าพันธุ์ไก่ไข่บางส่วน (สวัสดีและคณะ, 2556) นั่นคือ ต้นพันธุ์ (GGP) สาย C หรือ ไทยพลิมัทรีอ็อค เป็นไก่พันธุ์ใหม่ที่กลายพันธุ์มาจากพันธุ์บาร์พลิมัทรีอ็อค รูปร่างลักษณะปรากฏให้เห็นภายนอก (Phenotype) ของต้นพันธุ์สาย C ลักษณะประจำพันธุ์ขนลำตัวสี ขาว คอลาย ปลายหางดำ เริ่มไข่ อายุ 168 วัน น้ำหนักตัวเมื่อเริ่มไข่ 1,976 กรัม ไข่สีน้ำตาล เพศผู้โตเต็มที่ 3.0 กิโลกรัม เพศเมียโตเต็มที่ 2.3 กิโลกรัม ลูกไก่แรกเกิดเพศผู้ 99 % มีขนลำตัวสีขาวและขนรอบคอสีเหลืองอ่อน เพศเมียขนขาวและมีจุดหรือแถบสีดำที่หัวและลำตัว (Genetic marker) เมื่อนำแม่พันธุ์ไปผสมข้ามกับพ่อโร้ดไอส์แลนด์แดง ลูกเกิดมาสามารถแยกเพศได้



ภาพที่ 2.4 ต้นพันธุ์ (GGP) สาย C หรือไทยพลิมัทรีอ็อค (สวัสดีและคณะ, 2556).

2.3.3 ไก่ไฮ – บริด

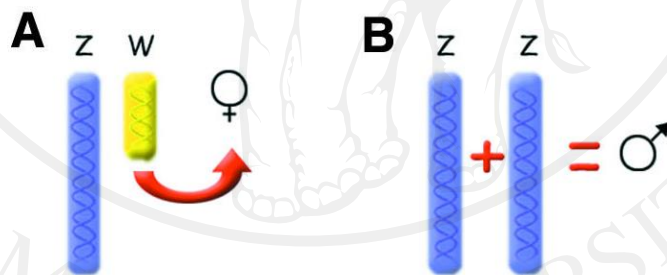
ไก่ไฮ – บริด เป็นไก่พันธุ์ไข่ที่มีผู้นิยมเลี้ยงกันมากที่สุดในปัจจุบัน ซึ่งไก่สายพันธุ์นี้เป็นไก่ที่ผสมขึ้นมาเป็นพิเศษ โดยบริษัทผู้ผลิตลูกไก่พันธุ์ไข่จำหน่ายได้มีการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ให้ได้ไก่พันธุ์ที่ให้ผลผลิตไข่สูง และมีคุณภาพตามความต้องการของตลาด คือ ให้ไข่ดก เปลือกไข่สีน้ำตาล ไข่ฟองโตและไข่ทน นอกจากนี้ไก่ไฮ – บริด ยังมีลักษณะเด่นประจำพันธุ์ เช่น มีอัตราการเจริญเติบโต

ที่เร็ว เปอร์เซ็นต์การให้ไข่สูง ระยะเวลาในการให้ไข่นาน ขนาดของแม่ไก่ก่อนข้างใหญ่ มีอัตราการเลี้ยงรอดค่อนข้างสูง ฟองไข่มีขนาดใหญ่ สีของเปลือกไข่มีสีน้ำตาล อัตราการแลกอาหารเป็นผลผลิตดี เป็นต้น อย่างไรก็ตามไก่ไข่-บริด นี้ต้องเลี้ยงด้วยอาหารที่มีคุณภาพสูง มีการจัดการที่ถูกต้อง เช่น การควบคุมน้ำหนักตัว การควบคุมการกินอาหาร การควบคุมแสงสว่าง ตลอดจนการสุขาภิบาลและการป้องกันโรคที่ดี จึงจะสามารถให้ผลผลิตที่ดี ไก่ไข่-บริด มีชื่อแตกต่างกันออกไปตามแต่บริษัทผู้ผลิตลูกไก่พันธุ์ไข่จะตั้งขึ้น ที่นิยมเลี้ยงกันในประเทศไทยได้แก่ ดีคาร์บ, ซุปเปอร์ฮาร์โก้, เอเบอร์วอน เป็นต้น (ประชุม, 2557)

ในปัจจุบันนี้มีการเลี้ยงไก่เพื่อตอบสนองต่อความต้องการบริโภคทั้งเนื้อและไข่ มีไก่หลากหลายสายพันธุ์ที่เลี้ยงเป็นการค้า เช่น ไก่เนื้อหรือไก่กระตัง และไก่ไข่ โดยไก่ที่นิยมเลี้ยงในปัจจุบันมีทั้งไก่ไข่พันธุ์แท้และไก่ไข่อผสมเช่นเดียวกับไก่เนื้อ การที่ผู้เลี้ยงจะเลือกเลี้ยงไก่สายพันธุ์ใดควรคำนึงถึงวัตถุประสงค์ ผลผลิตที่ได้ และความต้องการของตลาดเป็นสำคัญ ดังนั้นในการเลือกพันธุ์ใดมาเลี้ยง ผู้เลี้ยงจำเป็นต้องพิจารณาถึงคุณสมบัติหรือข้อดีข้อด้อยของแต่ละพันธุ์ และยังต้องพิจารณาความต้องการของตลาดและผู้บริโภค ความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศอีกด้วย โดยความต้องการบริโภคสัตว์ปีกในปัจจุบันนี้ มีความต้องการทั้งทางด้านเนื้อและไข่ ในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ปีกจึงต้องมีการวางแผนการผลิตเพื่อให้ได้ผลผลิตที่ต้องการตามวัตถุประสงค์และให้คุ้มค่าต่อการลงทุน ซึ่งในปัจจุบันนี้ไก่พันธุ์แท้จะเลี้ยงเพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์เพื่อผลิตไข่อผสมทางการค้ามากกว่าการเลี้ยงเพื่อขายเป็นไก่เนื้อโดยตรง เนื่องจากไก่พันธุ์แท้ให้ผลผลิตทั้งเนื้อและไข่ที่น้อยกว่าไข่อผสมและนอกจากนี้ในระบบอุตสาหกรรมสัตว์ปีกนั้นมีความต้องการลูกไก่เพศเมียมากกว่าลูกไก่เพศผู้เนื่องจากสามารถให้ผลประโยชน์ที่มากกว่า นอกเหนือจากการเลี้ยงเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ในบางส่วน เช่น ในระบบอุตสาหกรรมการผลิตไก่ไข่ที่ต้องการไก่เพศเมีย ซึ่งสามารถให้ได้ทั้งผลผลิตไข่จนกระทั่งปลดระวางแล้ว ยังสามารถให้ผลผลิตเนื้อไก่ที่มีความอร่อยเช่นเดียวกับไก่บ้าน และผู้บริโภคจำนวนมากได้ให้ความสนใจที่จะนำไปประกอบอาหารประเภทต่างๆ โดยเนื้อไก่เพศเมียจะมีความนุ่มมากกว่าเนื้อไก่เพศผู้ (ฐานข้อมูลการประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2557) ในขณะที่ไก่เพศผู้นั้นนอกจากใช้เป็นพ่อพันธุ์แล้ว สามารถเลี้ยงเป็นไก่ค้อน เพื่อใช้ประกอบอาหารบางประเภทเท่านั้น เช่น ข้าวมันไก่ แต่มีผู้บริโภคจำนวนไม่มากนักที่ชอบบริโภคไก่ประเภทนี้ จึงทำให้ไก่เพศผู้ไม่เป็นที่นิยมของตลาด จึงนำลูกไก่เพศผู้ที่ได้ไปประกอบเป็นโปรตีนในอาหารสัตว์ แต่ก็คุ้มค่าต่อการลงทุนเมื่อเทียบกับการที่ได้ลูกไก่เพศเมียที่ให้ผลประโยชน์มากกว่า และยังเป็นการทารุณสัตว์อีกด้วย ดังนั้นในการลดต้นทุนการผลิตสัตว์ปีกในระบบอุตสาหกรรมเพื่อให้เกิดประโยชน์อย่างสูงสุดในการผลิต จึงเป็นการดีที่แม่ไก่สามารถให้ลูกไก่เพศเมียมากกว่าเพศผู้

2.4 ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับเพศในสัตว์ปีก

สิ่งมีชีวิตหลายชนิดมีลักษณะแตกต่างกันระหว่างตัวผู้กับตัวเมีย เช่นในไก่ตัวผู้จะมีสีของขน รวมไปถึงลักษณะขนที่ต่างไปจากตัวเมีย ลักษณะต่างๆ เหล่านี้บางลักษณะมียืนควบคุมที่มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมเพศ (sex chromosome) และบางลักษณะมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมร่างกาย หรือ ออโตโซม (autosome) การที่สิ่งมีชีวิตจะพัฒนาไปเป็นเพศผู้หรือเพศเมียนั้นขึ้นอยู่กับจำนวนและชนิดของโครโมโซมเพศ ซึ่งแตกต่างกันในแต่ละชนิดของสิ่งมีชีวิต ในกรณีสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เพศเมียมีโครโมโซมเพศเป็นเอ็กซ์เอ็กซ์ (XX) ส่วนเพศผู้เป็นเอ็กซ์วาย (XY) ซึ่งการกำหนดเพศของตัวอ่อนนั้นขึ้นอยู่กับโครโมโซมเพศของเซลล์อสุจิ การกำหนดเพศจะเกิดขึ้นทันทีเมื่อมีการปฏิสนธิระหว่างอสุจิกับไข่ โดยอาศัยโครโมโซมที่ได้มาจากอสุจิและไข่เพื่อกำหนดเพศลูก เมื่อไข่ได้รับการปฏิสนธิกับอสุจิเอ็กซ์ (X) ตัวอ่อนจะมีการพัฒนาไปเป็นตัวเมีย และหากได้รับการปฏิสนธิกับอสุจิวาย (Y) ตัวอ่อนจะมีการพัฒนาเป็นตัวผู้ ในขณะที่สัตว์ปีกทุกชนิดในเพศผู้จะมีโครโมโซมเพศที่เหมือนกัน (homogametic sex) ซึ่งแทนด้วยแซดแซด (ZZ) ส่วนในเพศเมียจะมีโครโมโซมเพศที่ต่างกัน (heterogametic sex) จะแทนด้วยแซดดับเบิลยู (ZW) ดังนั้นในการกำหนดเพศของลูกจึงขึ้นอยู่กับเพศเมีย ซึ่งแตกต่างจากในแมลงหวี่ คนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทุกชนิด (Ellegren, 2001)



ภาพที่ 2.5 แสดงโครโมโซมเพศสำหรับการกำหนดเพศในหมู่สัตว์ปีก (A) โครโมโซมเพศเมีย (B) โครโมโซมเพศผู้ (Ellegren, 2001).

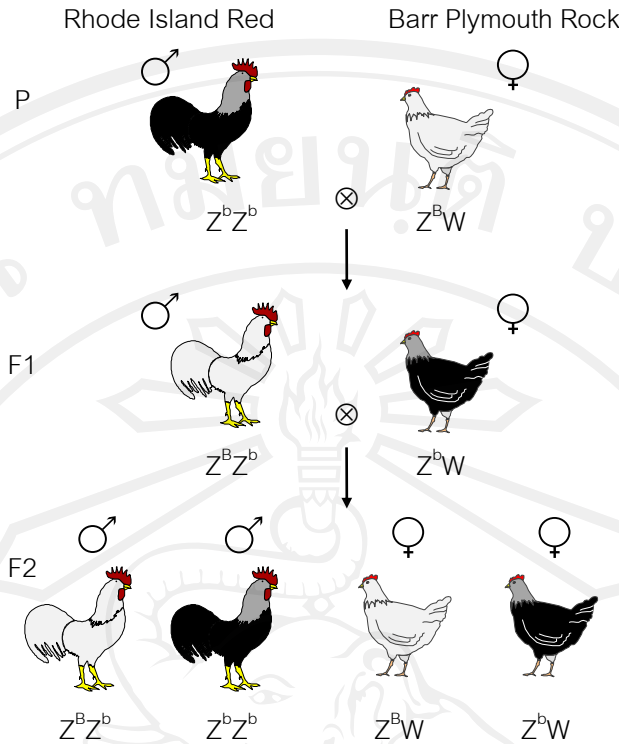
Cerit and Avenus (2006) ได้ศึกษาเพศของสัตว์ปีกโดยใช้ยีน CHDW และ CHDZ มาช่วยในการศึกษา เนื่องจาก Intron ของยีนทั้งสองตัวนี้ในสัตว์ปีกเพศผู้และเพศเมียจะมีความแตกต่างกัน ซึ่งจะใช้ความต่างนี้มาเป็นพื้นฐานในการศึกษา โดยการเก็บตัวอย่าง DNA (Deoxyribonucleic acid) มาจากขน แล้วนำมาเพิ่มจำนวน DNA ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase chain reaction, PCR) ซึ่งผลที่ได้ ZW มี 2 แบนด์ (band) แต่ ZZ มีเพียงแบนด์เดียวเท่านั้น ที่เป็นเช่นนี้

เนื่องจากความแตกต่างของขนาด DNA เช่นเดียวกับ Griffiths *et al.* (1998) ที่ได้ศึกษาการใช้ DNA เพื่อทดสอบเพศของนกหลายชนิดโดยใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) ชุดเดียวกันกับ primer โดยตำแหน่งของยีน CHD - W และยีน CHD - Z พบว่าในเพศผู้ CHD - Z มี 1 แบนด์ ส่วนเพศเมีย CHD - W มี 2 แบนด์

นอกจากนี้การควบคุมลักษณะฟีโนไทป์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเพศผู้แล้ว ยังมีการทำงานร่วมกันของโครโมโซม XY และสาร โปรตีน histological incompatibility ที่เกิดจากโครโมโซมวาย หรือเรียกโปรตีนชนิดนี้ว่า เอชวายแอนติเจน (H-Y antigen) โดยพบอยู่บนตำแหน่ง Sex reversed (Sxr) region ที่อยู่บนโครโมโซมวายและเกี่ยวข้องกับการผลิตเอชวายแอนติเจน ซึ่งเป็นกลุ่มแอนติเจนที่อยู่บริเวณผิวเซลล์เพศผู้ พบได้ในเซลล์เกือบทุกชนิด โดยพบมากในผนังของเซลล์สมอง เซลล์อิมมูเน่ รวมไปถึงเซลล์สเปิร์มของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ และสายพันธุ์สัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งมีความสำคัญต่อการแสดงออกของเพศผู้ โดยมีผลมาจากโครโมโซมวายที่สังเคราะห์โปรตีนที่จำเพาะต่อเซลล์เพศผู้ และมีความจำเป็นสำหรับพัฒนาการทางเพศของสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง เช่น อิมมูเน่ และกระบวนการสร้างสเปิร์ม (spermatogenesis) ในเพศเมียของสัตว์ที่มีโครโมโซมเพศเป็นเอ็กซ์เอ็กซ์ (XX) จะไม่พบเอชวายแอนติเจน แต่ในขณะเดียวกันพบว่าเอชวายแอนติเจนนั้นได้มีการแสดงออกในสัตว์ปีกเช่นเดียวกับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่จะพบในรังไข่ของสัตว์ปีกเพศเมีย ซึ่งมีโครโมโซมเพศเป็นแซดดับเบิ้ลยู (ZW) ด้วยปัจจัยเหล่านี้ทำให้ทราบว่า เอชวายแอนติเจนนั้นมีความสัมพันธ์กับโครโมโซมเพศแบบ heterogametic sex (Zenzes *et al.*, 1980)

2.5 ลักษณะ Sex-linked ในสัตว์ปีก

ในสัตว์ปีกนั้นกำหนดให้มีโครโมโซมเพศเป็นแซด (Z) และดับเบิ้ลยู (W) โดยเพศเมียจะมีการกำหนดเพศเป็นแซดดับเบิ้ลยู (ZW) ส่วนในเพศผู้เป็นแซดแซด (ZZ) ซึ่งยีนส่วนใหญ่มักจะ linked อยู่บนโครโมโซมแซด เมื่อกำหนด ให้ยีน B ควบคุมลักษณะการมีขนบาร์ (barr) ในไก่ข้ามยีน b ซึ่งควบคุมการมีขนปกคิ้วอย่างสมบูรณ์ จากการผสมไก่พันธุ์ Rhode Island Red เพศผู้ (Z^bZ^b) เข้ากับไก่พันธุ์ Barr Plymouth Rock เพศเมีย (Z^BW) จะมีโอกาสได้ลูกซึ่งมีลักษณะดังนี้



ภาพที่ 2.6 การผสมพันธุ์ไก่ Rhode Island Red กับ Barr Plymouth Rock เพื่อแสดงการถ่ายทอดลักษณะขนบาร์ซึ่งมีการควบคุมแบบ sex-linked.

จะเห็นได้ว่าการผสมพันธุ์ไก่เพศเมียพันธุ์ที่มีขนบาร์เข้ากับไก่เพศผู้พันธุ์ที่มีขนลักษณะสีอื่นๆ จะทำให้ลูกเพศผู้ที่เกิดขึ้นในรุ่น F1 ทั้งหมดมีลักษณะขนบาร์ซึ่งประโยชน์ตรงนี้ช่วยให้สามารถทำการคัดเพศได้ ทั้งนี้ในทางปฏิบัติเราสามารถคัดแยกเพศได้ตั้งแต่ยังเป็นลูกไก่ โดยไม่ต้องรอให้ไก่โตจนแสดงลักษณะที่แท้จริง โดยการสังเกตจากจุดบาร์ที่หัว (pale head spot) หรือลักษณะบาร์ที่ขนที่กำลังงอก (barred plumage) ในช่วงอายุ 1-2 สัปดาห์

2.6 ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ปีก (Poultry immune system)

ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ปีกเกิดจากเซลล์น้ำเหลือง (lymphocytes) โดยการสร้างเซลล์น้ำเหลืองในสัตว์ปีกนั้นต้องอาศัยอวัยวะน้ำเหลือง (lymphoid organs) โดยแบ่งออกเป็นสองระบบ คือ ระบบต่อมน้ำเหลืองปฐมภูมิ (primary lymphoid system) ประกอบด้วย ต่อมเบอร์ซา (bursa of fabricious) ต่อมไทมัส (thymus glands) และไขกระดูก โดยต่อมเบอร์ซาเป็นอวัยวะที่พบเฉพาะในสัตว์ปีก ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการเจริญและแบ่งตัวของบีลิมโฟไซต์ เมื่อบีเซลล์เจริญเต็มที่ก็จะเคลื่อนที่เข้าสู่ระบบ

ไพลเวียน และ peripheral lymphoid organ ซึ่งจะตอบสนองต่อแอนติเจนที่จำเพาะ ต่อมเบอร์ด้าจะลดขนาดลงตามธรรมชาติ เมื่อสัตว์ปีกอายุประมาณ 14 - 20 สัปดาห์ ส่วนต่อมไทมัส (thymus glands) มีลักษณะแบน มีหลายก้อนรวมกัน (multiple lobe) อยู่บริเวณลำคอ ไทมัสเป็นเนื้อเยื่อปฐมภูมิในการพัฒนา ที ลิมโฟไซต์ นอกจาก ที ลิมโฟไซต์ แล้วยังพบ บี ลิมโฟไซต์ ในไทมัสอีกด้วย โดยมีประมาณ 5 - 20 % ส่วนอีกระบบหนึ่ง คือ ระบบต่อมน้ำเหลืองทุติยภูมิ (secondary lymphoid system) ประกอบด้วย ม้าม เนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณเยื่อเมือก (mucosal associated lymphoid tissue) และเนื้อเยื่อน้ำเหลืองกระจาย (diffuse lymphoid tissue) โดยลิมโฟไซต์จะพบได้ในปริมาณมากที่บริเวณม้าม และม้ามยังเป็นอวัยวะสำคัญในการเปลี่ยนแปลงของแอนติเจนและการผลิตแอนติบอดีในสัตว์ปีกที่โตเต็มวัย ส่วนเนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณเยื่อเมือกนั้นพบได้ในหลายบริเวณ เช่น ทางเดินอาหาร และทางเดินหายใจ เนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณทางเดินอาหาร (gut-associated lymphoid tissue, GALT) ได้แก่ เนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณทอนซิล ลำไส้ตัน (cecal tonsil) ก้านถุงไข่แดง (Meckel's diverticulum) เนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณลำไส้ (Peyer's patches) และต่อมทอนซิลของหลอดอาหาร

สัตว์ทุกประเภทมีระบบภูมิคุ้มกัน โดยระบบภูมิคุ้มกันมีหน้าที่ในการทำลายเชื้อโรคต่างๆ ที่เข้าสู่ร่างกาย และยังสามารถทำลายเซลล์มะเร็งที่เกิดขึ้นในร่างกายได้อีกด้วย การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันนี้เป็นการทำงานร่วมกันระหว่างเซลล์และอวัยวะหลายชนิด โดยระบบภูมิคุ้มกันจะทำลายเฉพาะสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาโดยไม่ทำให้เกิดอันตรายต่อเนื้อเยื่อตนเอง

ระบบภูมิคุ้มกันต่างๆ ในร่างกาย สามารถจำแนกได้เป็น 2 ประเภท ตามลำดับขั้นตอนการทำงานของร่างกาย คือ ระบบภูมิคุ้มกันปฐมภูมิและระบบภูมิคุ้มกันทุติยภูมิ ดังนี้

2.6.1 ระบบภูมิคุ้มกันปฐมภูมิ

เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่เป็นด่านชั้นนอกสุด เป็นการป้องกันด้านกายวิภาค อวัยวะที่เป็นระบบภูมิคุ้มกันปฐมภูมินี้ ได้แก่ ผิวหนัง (skin) ขนตามอวัยวะต่างๆ (cilia) ตลอดจนเยื่อเมือกคลุมต่างๆ (mucous membrane) ที่บุอยู่ตามผิวของอวัยวะจัดเป็นระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง

2.6.2 ระบบภูมิคุ้มกันทุติยภูมิ

เป็นระบบภูมิคุ้มกันภายในร่างกายที่ถูกระตุ้นให้แสดงออกเมื่อมีเชื้อจุลินทรีย์หรือสิ่งแปลกปลอมบุกรุกเข้ามาในร่างกาย โดยสามารถจำแนกประเภทตามแหล่งที่มาของภูมิคุ้มกันได้เป็น 2 ประเภท คือ ภูมิคุ้มกันที่รับมาแต่กำเนิดและภูมิคุ้มกันที่รับมาภายหลัง

2.6.2.1 ภูมิคุ้มกันที่รับมาแต่กำเนิด (innate immunity)

เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่ได้รับมาจากแม่หรือติดตัวมาตั้งแต่เกิด เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่พร้อมทำงานได้ทันทีเมื่อมีการบุกรุกของเชื้อจุลินทรีย์หรือสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกายภูมิคุ้มกันระบบนี้จะไม่มีความจำเพาะเจาะจง และไม่มีการจดจำชนิดของแอนติเจนที่เข้าสู่ร่างกายแต่สามารถป้องกันการบุกรุกของเชื้อจุลินทรีย์และสิ่งแปลกปลอมต่างๆ ได้ด้วยการจับกินและย่อยทำลาย โดยอาศัยการทำงานของเม็ดเลือดขาวชนิดฟาโกไซต์ (phagocytes) เช่น นิวโทรฟิล (neutrophils) และ โมโนไซต์ (monocytes) ในกระแสเลือด และเซลล์แมคโครฟลาสต์ (macrophages) ที่อยู่ในเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ

ด้านการตอบสนองต่อเซลล์ที่มีความผิดปกติของร่างกายจะอาศัยเซลล์ชนิดเอ็นเค (Natural killer cells หรือ NK cells) ทำหน้าที่ทำลายเซลล์ผิดปกติที่เกิดขึ้นในร่างกาย เช่น เซลล์มะเร็งหรือเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสและช่วยรักษาสมดุลของร่างกาย นอกจากนี้ยังพบสารประกอบต่างๆ ที่เกิดขึ้นจากการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ที่มีคุณสมบัติทางชีวภาพหลายๆ อย่าง โดยเกิดจากการกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์ ซึ่งเกิดขึ้นได้ 3 ทางคือ alternative, classical และ lectin pathway โดยแต่ละตัวมีตัวกระตุ้นเริ่มต้นที่แตกต่างกัน การกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์ทั้ง 3 ทางนี้ทำให้เกิดการกระตุ้นโปรตีนต่างๆ ที่เกี่ยวข้องอย่างเป็นลำดับขั้นและก่อให้เกิดสารประกอบต่างๆ ที่ส่งเสริมการทำลายเชื้อโรค โดยฟาโกไซต์ และเมื่อเกิดการกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์ที่สมบูรณ์จะทำให้เกิดการแตกสลายของเซลล์เชื้อโรค

ในไก่มีระบบที่สำคัญของ innate immunity คือระบบ monocytesmacrophages โดยจะจัดการทันทีกับจุลินทรีย์ที่เข้าสู่ร่างกาย ดังนั้นจึงสามารถช่วยในการยับยั้ง การเจริญเติบโตของพวก pathogen (Qureshi *et al.*, 2000) โดย macrophage ทำหน้าที่เป็น microbicidal, phagocytic และ tumoricidal นอกจากนี้ยังมีบทบาทในการควบคุมเซลล์ cytokines และ metabolites อื่นๆ โดย monocyte เป็น phagocytic cell หลักในเซลล์เม็ดเลือดขาวของไก่ ในขณะที่ tissue macrophage จะพบได้เกือบทุก

อวัยวะของร่างกาย การทำงานของ phagocytic macrophage จะเกิดครั้งแรก ภายใน 2 สัปดาห์ ของการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอของไก่ (Jurissen and Janse, 1989) กลไกของภูมิคุ้มกันไม่จำเพาะจะเกิดการตอบสนองอย่างรวดเร็วเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย แต่ไม่สามารถตอบสนองได้เพิ่มมากขึ้นในการตอบสนองซ้ำต่อสิ่งแปลกปลอมตัวเดิมที่เข้ามา

2.6.2.2 ภูมิคุ้มกันที่รับมาภายหลัง (adaptive immunity หรือ acquired immunity)

เป็นระบบการทำงานต่อเนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันที่รับมาแต่กำเนิด เกิดขึ้นจากการที่ร่างกายได้รับสิ่งแปลกปลอมหรือการถูกกระตุ้นให้เกิดขึ้นภายหลัง ภูมิคุ้มกันระบบนี้เป็นระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจงและมีการจดจำลักษณะของสิ่งกระตุ้น จึงทำให้เมื่อร่างกายได้รับสิ่งแปลกปลอมหรือแอนติเจนชนิดเดิมอีกครั้ง ร่างกายจะสามารถตอบสนองได้อย่างรวดเร็ว โดยการสร้างแอนติบอดีจากบีเซลล์และจากเซลล์จดจำ ระบบภูมิคุ้มกันชนิดนี้สามารถแบ่งตามลักษณะการเกิดภูมิคุ้มกันได้เป็น 2 แบบ ได้แก่ ระบบภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นเอง (active immunity) เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่ถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นโดยแอนติเจนหรือวัคซีน ทำให้อวัยวะสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานต่อสิ่งเหล่านี้ ระบบภูมิคุ้มกันชนิดนี้มีความจำเพาะเจาะจงสูงและพร้อมที่จะตอบสนองอย่างรวดเร็วและรุนแรง เมื่อร่างกายได้รับแอนติเจนในครั้งที่ 2 ตัวอย่างของวัคซีนที่นิยมให้แก่เด็ก เพื่อกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน ได้แก่ วัคซีนป้องกันโรคคอตีบ โปลิโอ ไอกรน และบาดทะยัก เป็นต้น และระบบภูมิคุ้มกันที่ได้รับ (passive immunity) เป็นระบบการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันที่ได้จากแม่ เรียกว่า ภูมิคุ้มกันรับมาตามธรรมชาติ (natural passive immunity) หรือได้รับ มาด้วยการฉีดให้จากสารสังเคราะห์ที่สร้างขึ้น (artificial passive immunity) ได้แก่ ซีรัม ซึ่งเป็นภูมิคุ้มกันหรือแอนติบอดีที่สร้างขึ้นจากสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เช่น ม้า วัว เป็นต้น

2.7 แอนติเจน (Antigen)

แอนติเจน หมายถึง สิ่งแปลกปลอมต่อเนื้อเยื่อร่างกาย เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วจะกระตุ้นร่างกายให้สร้างแอนติบอดีและแอนติเจนนั้นต้องทำปฏิกิริยาจำเพาะกับแอนติบอดี แหล่งของแอนติเจน ได้แก่ องค์ประกอบของจุลินทรีย์ เช่น สารพิษ ผนังเซลล์ แฟลกเจลลา แคปซูล โปรตีน รวมทั้งอนุภาคไวรัส แอนติเจนมักเป็นสารประกอบพอลิเพปไทด์ พอลิแซ็กคาไรด์ ลิโปพอลิแซ็กคาไรด์ และไกลโค

โปรตีน ส่วนประกอบของแอนติเจนที่สามารถกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน เรียกว่า แอนติเจนิก ดีเทอร์มิแนนท์ (Antigenic determinant) ซึ่งอาจเป็นกลุ่มของกรดอะมิโน, น้ำตาล หรือ สารขนาดเล็กอื่นๆ ส่วนแฮปเทนส์ (Haptens) คือ สารที่ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเมื่อได้รวมตัวกับสารโมเลกุลใหญ่ที่เรียกว่า พาหะ (Carrier) จึงกลายเป็นอิมมูโนเจน (Immunogen) ที่กระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดี

2.8 แอนติบอดี (Antibody)

แอนติบอดีมีรูปร่างเป็นตัวย Y ประกอบด้วย heavy chain และ light chain อย่างละ 2 เส้น เชื่อมต่อกัน ส่วนปลายของแอนติบอดีเป็นส่วนที่ใช้จับกับแอนติเจน เรียกว่า antigen-binding sites สำหรับปลายอีกส่วนหนึ่ง เป็นส่วนของ heavy chain โครงสร้างส่วนนี้ของ heavy chain จะเป็นตัวกำหนดว่าแอนติบอดี นั้นอยู่ใน class หรือ isotype ไດ ซึ่งมีความสำคัญมาก เนื่องจากแอนติบอดีแต่ละ isotype มีคุณลักษณะและหน้าที่ต่างกัน แอนติบอดีเป็นสารที่ร่างกายคนหรือสัตว์สร้างขึ้นหลังจากได้รับแอนติเจนที่สร้างจาก plasma cell ซึ่งพัฒนามาจาก B cell แอนติบอดีเป็นสารไกลโคโปรตีนที่สามารถทำปฏิกิริยาจำเพาะกับแอนติเจนที่กระตุ้นให้สร้างขึ้นมา โดยจะพบแอนติบอดีในซีรัมของเลือด แอนติบอดีหรืออิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin) ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันนี้มี 5 ชนิด คือ IgG, IgA, IgM, IgD และ IgE แต่ละชนิดมีหน้าที่เฉพาะและภูมิคุ้มกันชนิดนี้สามารถถ่ายทอดทางซีรัมไปให้บุคคลอื่นได้ แอนติบอดีมีบทบาทในการป้องกันและลดการติดเชื้อรวมถึงกำจัดเชื้อที่อยู่นอกเซลล์ (extracellular pathogen) โดยกลไกหลายประการ ได้แก่ เข้าจับกับที่อกซิจินของเชื้อโรค, ทำให้ไม่สามารถทำงานได้ (inactive) หรือทำให้ที่อกซิจินไม่สามารถกระจายตัวไปได้ต่อต้านการแบ่งตัวของไวรัส เช่น ป้องกันไม่ให้ไวรัสจับกับเซลล์, ช่วยในการ opsonization ทำให้แบคทีเรียถูก macrophage และ neutrophil จับกินได้ดีขึ้น และกระตุ้น complement ทำให้ complement ไปทำลายเชื้อโรคอีกต่อหนึ่ง

2.9 ระบบคอมพลีเมนต์ (complement system)

ในกระแสเลือดมีโปรตีนกลุ่มหนึ่งที่ทำหน้าที่ช่วยทำลายเชื้อโรค โดยโปรตีนกลุ่มนี้จะรวมกันในการทำให้เชื้อโรคให้แตกสลายไปโดยตรง หรือทำให้เชื้อโรคถูกเซลล์ฟาโกไซโตซีสจับกินได้ง่ายขึ้น เรียกโปรตีนกลุ่มนี้ว่า คอมพลีเมนต์ (complement) และเรียกการทำงานของโปรตีนกลุ่มนี้ว่าระบบคอมพลีเมนต์ (complement system)

ระบบคอมพลีเมนต์เป็นสารโปรตีนที่อยู่ในน้ำเลือดในส่วนของโกลบูลิน องค์ประกอบของคอมพลีเมนต์มี 11 อย่างคือ C1q, C1r, C1s, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8 และ C9 คอมพลีเมนต์อยู่ในซีรัมคนปกติทั่วไป ตั้งแต่แรกเกิดแล้ว ความสำคัญของคอมพลีเมนต์ในร่างกายเกิดภายหลังจากที่ถูกกระตุ้นแล้ว (active form) ผลของการกระตุ้นที่เกิดขึ้นอาจมีประโยชน์ต่อร่างกาย เพราะทำให้เซลล์แบคทีเรียหรือไวรัสแตกสลาย (lysis) หรือทำให้จุลชีพต่างๆ ถูกจับกินโดยฟาโกไซตได้ง่ายขึ้น หรืออาจจะให้โทษแก่ร่างกายโดยทำให้เกิดการอักเสบ (inflammation) ขึ้นที่อวัยวะต่างๆ ตรงที่มีการกระตุ้นคอมพลีเมนต์ และอาจทำให้เกิดการทำลายของเม็ดเลือดของร่างกาย เช่น เม็ดเลือดแดง เกร็ดเลือด เป็นต้น การกระตุ้นการทำงานของคอมพลีเมนต์เกิดขึ้นได้ 3 ทาง คือ Classical pathway, Alternative pathway และ Lectin pathway โดยการกระตุ้นคอมพลีเมนต์ทั้ง 3 ทางนี้ จะมีส่วนร่วมที่เหมือนกัน คือ Terminal หรือ Membrane attack pathway

2.9.1 Classical pathway

สิ่งที่สามารถกระตุ้นการทำงานของคอมพลีเมนต์ทางนี้ได้ คือ สารประกอบเชิงซ้อนของแอนติเจนกับแอนติบอดี (Antigen-Antibody complex) และ โมเลกุลของอิมมูโนโกลบูลินที่จับกันเป็นก้อน (aggregated immunoglobulin) โดยที่อิมมูโนโกลบูลินในทั้ง 2 กรณีเป็น IgM หรือ IgG (subclass IgG1, IgG2 และ IgG3) องค์ประกอบของคอมพลีเมนต์ตัวแรกที่ถูกระตุ้น คือ C1q, C1r, C1s ก่อนจากนั้นจะเริ่มมีการกระตุ้นกันต่อไป เป็นลูกโซ่เรียงตามลำดับดังนี้ คือ C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8 และ C9 ตามลำดับ

2.9.2 Alternative pathway

สิ่งที่สามารถกระตุ้นการทำงานของคอมพลีเมนต์ทางนี้ได้แก่ สาร polysaccharide ซึ่งมีอยู่ที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ, สาร lipopolysaccharide ที่ผนังของแบคทีเรียแกรมบวก และแคปซูล (capsule) ของแบคทีเรียบางชนิด, สาร zymosan ที่ผนังของเชื้อรา, aggregated IgG4, aggregated IgA, aggregated IgE และ พิษงูเห่า จากการที่ส่วนประกอบของจุลชีพบางชนิดสามารถกระตุ้นคอมพลีเมนต์ทางนี้ได้ จึงเป็นผลให้ร่างกายต่อสู้กับจุลชีพได้ก่อนที่จะมีการตอบสนองแบบจำเพาะ (specific immune response) เกิดขึ้น จะเห็นได้ว่าการกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์ทาง alternative pathway สามารถเกิดขึ้นได้โดยไม่จำเป็นต้องอาศัยการกระตุ้นจากระบบภูมิคุ้มกันชนิด adaptive immunity มาก่อน ดังนั้นระบบ alternative pathway นี้ จึงจัดเป็น innate immunity ที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการป้องกันร่างกายเมื่อยังไม่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโรคนั้นๆ มาก่อน

การกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์ระบบ alternative pathway ต้องการโปรตีนในระบบคอมพลีเมนต์ คือ C3, C5, C6, C7, C8, และ C9 โดยไม่ต้องอาศัย Clq, Clr, Cls และ C2 และยังมีโปรตีนชนิดอื่นอีกหลายชนิดเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย เช่น Factor B, Factor D, Factor H, Factor I และ Factor P

2.9.3 Lectin pathway

เกิดจากการจับกันระหว่าง mannose-binding lectin ซึ่งเป็นโปรตีนในซีรัมชนิดหนึ่งกับ mannose ที่อยู่บนผิวของแบคทีเรียหรือเชื้อโรคบางชนิด เมื่อจับกันแล้วก็จะกระตุ้นให้ MASP2 ทำงานโดยไปย่อย C4 และ C2 ทำให้เกิด C4a2b เช่นเดียวกับใน classical pathway โดย Lectin complement pathway นี้อาศัยโปรตีนทุกตัวในระบบคอมพลีเมนต์ เช่นเดียวกับ classical pathway

การกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์ทั้ง 3 ทางนี้ สุดท้ายจะทำให้เกิดการแตกสลายของเซลล์แปลกปลอมหรือเชื้อโรคโดยตรง นอกจากนี้ยังพบอีกว่าสารประกอบต่างๆ ที่เกิดขึ้นจากการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ยังมีคุณสมบัติทางชีวภาพหลายอย่าง ซึ่งช่วยให้การทำลายเชื้อโรคเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

1. Immune adherence หรือ Immune complex

เซลล์หลายชนิดมีตัวรับ (receptor) ที่สามารถจับกับคอมพลีเมนต์ได้ ตัวรับที่สำคัญ คือ CR1 ซึ่งพบบนผิวของเม็ดเลือดแดง นิวโทรฟิล (neutrophils) และ โมโนไซต์ (monocytes) CR1 สามารถจับได้อย่างเหนียวแน่นกับ C3b ดังนั้นสารใดก็ตามที่มี C3b อยู่บนผิวก็จะจับกับเซลล์เหล่านี้ได้ โดยอาศัยตัวรับเหล่านี้เกิดขบวนการเกาะเซลล์ (immune adherence) สำหรับตัวรับ CR2 จะพบบน B cells และ macrophages สามารถจับกับ C3bi ทำให้เซลล์พวกฟาโกไซต์มากินเซลล์ได้ง่ายขึ้น

2. Opsonization

phagocytic cells มีทั้งตัวรับต่อ Fc ของ IgG และ CR1 จึงสามารถจับกับสิ่งแปลกปลอมที่มีแอนติบอดีและคอมพลีเมนต์บนผิวได้ ทำให้เกิดการโอบกั้นสิ่งแปลกปลอมเหล่านั้นได้ดี

3. Lysis of cells

เกิดขึ้นเมื่อแอนติบอดีทำปฏิกิริยากับแอนติเจนบนผิวเซลล์แล้วกระตุ้นขบวนการของระบบคอมพลีเมนต์ดำเนินไปจนถึงขั้นสุดท้ายที่ตำแหน่ง C9 จะทำให้เกิดรูร่วนเยื่อผิวเซลล์ (Target cells) เช่น แบคทีเรียถูกทำลายและทำให้เซลล์ดังกล่าวแตกได้ (lysis)

4. Chemotaxis

การกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์จะทำให้เกิดสารที่สามารถชักนำเซลล์ชนิดต่างๆ ให้เคลื่อนที่สู่บริเวณที่มีการกระตุ้นคอมพลีเมนต์ได้ (chemotactic factors) เช่น C3a, C5a ชักนำเซลล์ neutrophils, eosinophils และ monocytes

5. Inflammation

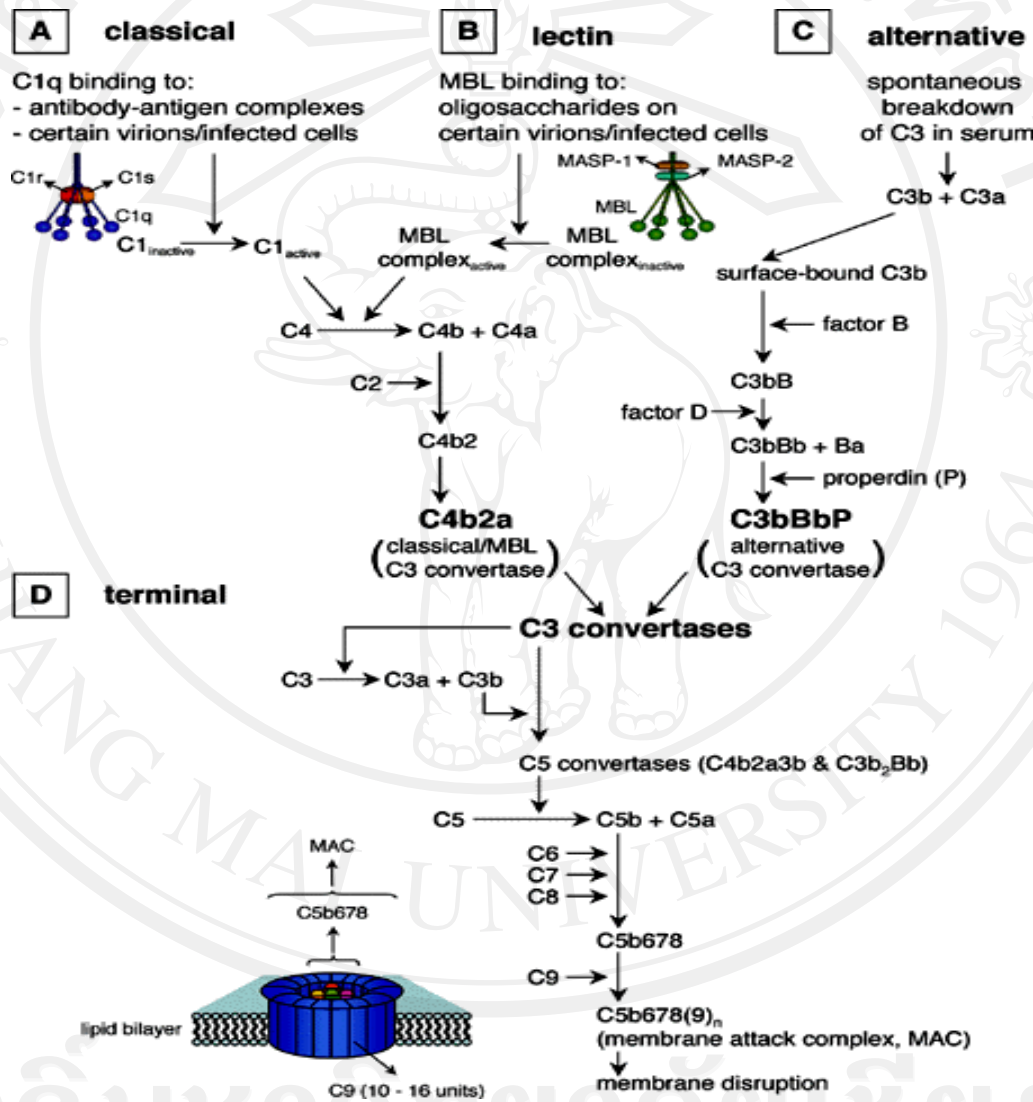
นอกจากเซลล์ของร่างกายจะถูกทำลายด้วยกลไกทั้ง 4 แบบ ที่ได้กล่าวมาแล้ว ทำให้เนื้อเยื่อข้างเคียงบริเวณนั้นถูกทำลายด้วย โดยฟาโกไซโตซิสที่ถูกระตุ้นให้เกิดด้วยการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ในส่วนของ complement chemotactic factor ให้มารวมกันและช่วยกำจัดแอนติเจนที่อยู่บริเวณนั้นจะ หลั่ง lysosomal enzyme ออกมา ในขณะที่เกิดขบวนการ phagocytosis ก่อให้เกิดการอักเสบและการบวมพร่องของการทำงานของอวัยวะ นอกจากนี้ ยังมี C3a และ C5a ที่ทำหน้าที่เป็น anaphylatoxin คือทำให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัว และทำให้ mast cells หลั่งสารบางชนิด สารที่หลั่งออกมานี้ล้วนมีส่วนร่วมในระบบภูมิคุ้มกันเมื่อมีการอักเสบเกิดขึ้น

คอมพลีเมนต์มีบทบาทที่สำคัญในการทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายและทำให้เกิดปฏิกิริยาอักเสบในบริเวณที่มีสิ่งแปลกปลอมนั้น ในขณะที่เดียวกันก็อาจทำให้เกิดอันตรายต่อเนื้อเยื่อบริเวณนั้น ถ้าเกิดการตอบสนองที่รุนแรงเกินไป (พานทอง, 2553)

2.10 ปฏิกิริยาความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxic reaction)

ปฏิกิริยาความเป็นพิษต่อเซลล์ เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระบบภูมิคุ้มกันที่มีการทำงานในรูปแบบที่ค่อนข้างซับซ้อน โดยเริ่มจากการที่มีเซลล์แปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย กลไกการทำงานของร่างกายจะตอบสนองโดยสร้างแอนติบอดีชนิด IgG และ IgM ไปเกาะกับผิวของเซลล์แปลกปลอม (แอนติเจน) โดยทั้งแอนติบอดีที่เป็นชนิดไม่ตรงคอมพลีเมนต์หรือเป็นแบบตรงคอมพลีเมนต์ ทำให้

เกิดการกระตุ้นการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ ซึ่งทำงานไปถึงแค่ C3 แล้วทำให้เกิดความเสียหายบนผิวเซลล์ ซึ่งนำไปสู่การแตกสลายของเซลล์แปลกปลอม เนื่องจากมี C3 inhibitor ของแอนติเจนที่ถูกแอนติบอดีจับอยู่นั้นจะถูกทำลายที่ reticuloendothelial system (RE system) โดยมี K cell และฟาโกไซต์ เข้ามารับ จากนั้นจะหลั่งเอ็นไซม์ออกมาทำให้เกิดการอักเสบ ซึ่งส่วนใหญ่จะถูกทำลายที่ม้าม (spleen) และตับ (liver)



ภาพที่ 2.7 การกระตุ้นการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์.

ที่มา : Problem Based Learning (2010).

Koo *et al.* (1973) ทำการศึกษาสเปิร์มของหนูตัวเล็ก โดยเตรียมแอนติซีรัมต่อเอชวายแอนติเจน จากการฉีดกระตุ้นหนูตัวเล็กสายพันธุ์ C57BL/6 เพศเมียด้วยผิวของหนูเพศผู้แล้วนำสเปิร์มมาเติมแอนติซีรัม หลังจากนั้นเติม Rabbit hybrid antibody anti-mouse IgG และ Anti tobacco mosaic virus เพื่อเป็น Marker บอกตำแหน่งของแอนติเจน แล้วนำไปตรวจด้วยกล้อง Immunoelectron Microscopy พบว่า เอชวายแอนติเจนส่วนใหญ่อยู่บริเวณ Acrosome ส่วนบริเวณอื่นของหัวจะมีเอชวายแอนติเจนเพียงเล็กน้อย

Wachtel *et al.* (1975) ศึกษาการอนุรักษ์และวิวัฒนาการของเอชวายแอนติเจน โดยเตรียมเอชวายแอนติซีรัมในหนูตัวเล็กเพศเมียพันธุ์ C57BL/6 ด้วยการกระตุ้นด้วยเซลล์ม้ามของหนูเพศผู้พันธุ์ C57BL/6 เช่นเดียวกัน หลังจากนั้นแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มแรกดูดซับด้วยเซลล์เพศเมีย (Aliquot A) กลุ่มที่สองดูดซับด้วยเซลล์เพศผู้ (Aliquot B) กลุ่มที่สามไม่ดูดซับ หลังจากนั้นดูความสามารถในการเป็นพิษต่อเซลล์ที่เหลืออยู่ต่อสเปิร์มหนู (Cytotoxicity activity) ของ aliquot A หรือ B เป็นตัวบ่งชี้ว่า เอชวายแอนติบอดีจับกับเซลล์เพศเมีย (A) หรือเซลล์เพศผู้ (B) หลังจากนั้นนำเอชวายแอนติซีรัม แบ่งไปใช้เพื่อทำการทดสอบ Mixed haemadsorption-hybrid antibody (MHA.HA) โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มเหมือนกับ Cytotoxicity test เติม Rabbit hybrid antibody กับ specificity : anti-mouse Ig หรือ Anti-sheep red blood cell (SRBC) นำสเปิร์มไปทำปฏิกิริยากับ SRBC ในการวิเคราะห์เช่นนี้ สเปิร์มจะได้รับเอชวายแอนติบอดีและไฮบริดแอนติบอดีแล้วจับกับ SRBC เพื่อสร้างรูปร่าง Rosettes การดูดซับเอชวายแอนติบอดีจาก Aliquot A หรือ B ใน Mixed haemadsorption hybrid antibody (MHA.HA) test บ่งชี้ด้วยจำนวนที่ลดลงของ Rosettes เทียบกับ จำนวนของ Rosettes ของ Aliquot C พบว่าในลูกไก่มีเอชวาย (เอชดับเบิลยู) แอนติเจนที่มีความคล้ายคลึงหรือมีปฏิกิริยาข้ามต่อเอชวายของหนู แต่มีการแสดงออกในเพศเมีย ความเป็นพิษต่อเซลล์ลดลงเมื่อนำแอนติซีรัมไปดูดซับด้วยเซลล์เพศเมียและจำนวน Rosettes ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อนำแอนติซีรัมไปดูดซับด้วยเซลล์เพศเมีย เนื่องจากนกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีวิวัฒนาการมาจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จึงคาดว่า จะพบเอชวายแอนติเจนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จึงศึกษาเพิ่มในพวกสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ คือ *Rana pipiens* และ *Xenopus laevis* พบว่าเซลล์จากสัตว์ 2 สปีชีส์ มีองค์ประกอบของผิวเซลล์คล้ายคลึงหรือมีปฏิกิริยาข้ามต่อเอชวายแอนติเจนของหนู ซึ่งแอนติเจนพบในเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ส่วนจำนวน rosettes ใน *X. laevis* ลดลงเมื่อนำแอนติซีรัมไปดูดซับด้วยเซลล์เพศเมีย ซึ่งให้ผลคล้ายกับการศึกษาของ Koo and Goldberg (1978) ที่ศึกษาการเกิด Rosettes เมื่อดูดซับด้วยเซลล์ม้ามหนูเพศผู้ และเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (Fibroblast) ของมนุษย์เพศชาย ทำให้ Rosettes ลดลง แสดงว่ามีเอชวายแอนติเจนในหนูเพศผู้และในมนุษย์เพศชาย เช่นเดียวกับการศึกษาของ Booman *et al.* (1989) แต่ทำการตรวจการผลิตเอชวายแอนติบอดีด้วยเทคนิค Enzyme immunoassay โดยใช้แหล่งแอนติเจน คือ เซลล์อัมชะของหนู กระจ่า และวัว ซึ่งผลพบว่าสามารถ

ตรวจพบเอชวายแอนติเจนในสัตว์ทั้ง 3 ชนิด เป็นหลักฐานยืนยันว่า เอชวายแอนติเจนอยู่บนผนังเซลล์
อันทะของหนู กระต่ายและวัว

2.11 ฮอร์โมนกับการกำหนดเพศ

การแสดงออกของยีนเด่นหรือยีนด้อยต่างกันเพศผู้และเพศเมีย (sex-influenced trait) เพราะ
ได้รับอิทธิพลจากสิ่งแวดล้อมภายใน คือ ฮอร์โมนเพศ การเปลี่ยนแปลงเพศในสัตว์ปีกนั้นเกิดจากการ
ที่รังไข่ ซึ่งผลิตฮอร์โมนเพศเมียมีปริมาณมากพอที่จะยับยั้งปฏิกิริยาของฮอร์โมนเพศผู้ที่มีอยู่ในตัวมัน
เอง และเมื่อเอารังไข่ออก พบว่าฮอร์โมนเพศเมียมีปริมาณลดลงส่งผลให้ต่อมฮอร์โมนเพศผู้ทำงาน
และผลิตฮอร์โมนเพศผู้ออกมายับยั้งการทำงานของระบบฮอร์โมนเพศเมีย โคนดจึงพัฒนาเป็น
อันทะซึ่งในสัตว์ปีก เช่น ในไก่เพศผู้มีโครโมโซม ZZ เพศเมียมีโครโมโซม ZW ในตัวเมียจะมี
โคนด (Gonad) หลายอันแต่มีเพียงอันเดียวที่พัฒนาไปเป็นรังไข่ที่เหลือจะไม่พัฒนา ดังนั้นเมื่อรังไข่
ถูกทำลายโคนดที่เหลืออาจพัฒนาไปเป็นอันทะและสามารถผสมกับเพศเมียได้โดยที่ผลิตสเปิร์ม 2
แบบ คือ Z และ W เมื่อผสมกับตัวผู้ (ZZ) ต่อตัวเมีย (ZW) เท่ากับ 1 (ZZ) : 2 (ZW) ส่วน WW 1 ส่วนที่
เหลือจะถูกทำลายไป เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Rutkowska and Cichon (2006) ที่พบว่า ฮอร์โมนเพศ
ของแม่อาจมีส่วนสำคัญในปรับอัตราส่วนเพศของลูกนกและน่าจะเป็นจุดสำคัญในกลไกนี้ โดยระดับ
androgen ที่แตกต่างกันระหว่างไข่ที่เป็นเพศผู้และเอ็มบริโอเพศเมียเพื่อประเมินว่าระดับของ
androgens จากแม่นั้นส่งผลกระทบต่ออัตราส่วนเพศของรุ่นลูกจึงทำการฉีด testosterone ให้กับนก
zebra finches (*Taeniopygia guttata*) เพศเมียในช่วงวางไข่หลังการฉีดพบว่า อัตราส่วนเพศหลังจาก
การฉีดฮอร์โมนเพศชายนั้นเปลี่ยนแปลงไป โดยเอนเอียงไปทางด้านเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบ
กับการวางไข่ของกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าลูกนกเพศผู้ที่ได้จากกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน androgen
นั้นมีอัตราการฟักต่ำ อย่างไรก็ตามผลที่ตรงกันข้ามของลูกนกเพศผู้และเพศเมียนั้นอาจเป็นข้อจำกัดที่
สำคัญในการให้ androgen และเพื่อผลประโยชน์ทางการปรับอัตราส่วนให้เอนเอียงไปทางเพศผู้
นั้นสามารถทำได้โดยการเพิ่มระดับฮอร์โมน androgen

ส่วนการเปลี่ยนเพศ (sex reversal) ในไก่ตัวเมียที่มีโครโมโซมเพศเป็น ZW นั้นสามารถ
เปลี่ยนเป็นเพศผู้ได้ กล่าวคือสามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ได้แต่โครโมโซมเพศยังเป็น ZW
เหมือนเดิม เช่นเดียวกับงานทดลองของ Takagi *et al.* (2007) ที่ได้ทำการแยกสเปิร์มเดี่ยวจากน้ำอสุจิ
และลูกอันทะและของพ่อไก่ที่ปกติและจากลูกอันทะของแม่ไก่ที่เปลี่ยนเพศ (sex reversal) จากนั้น
ฉีดเข้าไปยังไข่ของนกกะทาโดยวิธี microinjected จากนั้นเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 20 – 24 ชั่วโมง หลังจาก

ที่นิวเคลียสถูกย้อมสี โดย 4', 6'-diamidino-2-phenylindole พบว่าการเจริญเติบโตของตัวอ่อนในระยะ
บาสตุเลชัน (Blastulation) มีการเปลี่ยนแปลงในการจัดเรียงตัวของเซลล์ไปเป็นเซลล์ชั้นเดียว
(Blastoderms) หลังจากนั้นทำการตรวจพัฒนาการในไข่นกกระทา พบว่า ในพ่อไก่กลุ่มปกติมี 22.6 %
ที่มีพัฒนาการการเปลี่ยนแปลงของ Blastoderms ส่วนในกลุ่มแม่ไก่ที่เปลี่ยนเพศ พบว่ามีเพียง 20 %
เท่านั้นที่มีการพัฒนาของ blastodermal หลังจากที่มีการย้อมสีโดย 4', 6'-diamidino-2-phenylindole ใน
แต่ละส่วนที่แตกต่างกันแล้วได้ทำการทดสอบด้วยวิธี PCR เพื่อระบุว่า มี W chromosome จากตัวสุจิ
หรือจากไข่ของนกกระทา ผลจากการทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่า 2 ใน 9 มีการพัฒนาของ blastoderms
ซึ่ง female-specific W chromosome ที่ได้นั้นมาจากแม่ไก่ที่เปลี่ยนเพศ ดังนั้นผลการทดลองนี้ได้ข้อ
สรุปว่าในสเปิร์มจากแม่ไก่ที่เปลี่ยนเพศแล้วจะมี W chromosome อยู่ซึ่งมีความสามารถในการ
fertilize และสามารถกระตุ้นการพัฒนากการเปลี่ยนแปลงของ blastoderm ได้เช่นเดียวกับสเปิร์ม
จากพ่อไก่ปกติที่มีโครโมโซม Z อย่างเดียวเท่านั้น

นอกจากนี้ Takagi *et al.* (2007) ยังได้ทำการศึกษาต่อในเรื่องการเปลี่ยนเพศ (sex reversal) ใน
ไก่เพื่อต้องการทราบว่าสเปิร์มจากแม่ไก่ที่เปลี่ยนเพศนั้นสามารถทำหน้าที่ได้ดั่งอย่างสเปิร์มจากพ่อไก่
ปกติ และ fertilize กับไข่ของเพศเมียได้หรือไม่ โดยในการทดลองแรกได้ทำการฉีด nonsteroidal
aromatase inhibitor (Fadrozole) ไปยัง air sac ของไข่ไก่ที่มีอายุการฟักได้ 4 วัน และในไก่ที่มีอายุ 18
เดือน จากนั้นเก็บ spermatid และ sperm จากอณฑะของพ่อไก่ที่ปกติและแม่ไก่ที่เปลี่ยนเพศแล้วฉีด
ให้กับ oocyte ของหนูเม้าส์ โดยวิธี microinjected ซึ่งผลแสดงให้เห็นว่านิวเคลียสของเซลล์สุจินั้นถูก
ปล่อยเข้าสู่เซลล์ไข่และเซลล์ไข่สามารถรวมเข้ากับเซลล์สุจิได้ (male and female pronuclei) โดย
พบว่า สเปิร์มจากน้ำสุจิและสเปิร์มจากลูกอณฑะ ในกลุ่มพ่อไก่ที่ปกติมีการพัฒนาไปเป็นตัวอ่อน
แรกปฏิสนธิระยะโปรนิวเคลียร์ (two pronuclear zygote : 2PN) ได้มากที่สุด และเพียงครึ่งหนึ่งจาก
การใช้ elongated spermatids ที่สามารถพัฒนาไปเป็นระยะ 2PN ส่วนในกลุ่มแม่ไก่ที่เปลี่ยนเพศนั้น
พบว่าสเปิร์มจากลูกอณฑะทั้งหมดนั้น ได้พัฒนาไปเป็นระยะ 2PN และเกือบครึ่งหนึ่งของ elongated
spermatids ที่สามารถพัฒนาไปเป็นระยะ 2PN ได้ ส่วนในการทดลองที่สองนั้นได้ทำการฉีด
spermatids และ sperm จากแม่ไก่ที่เปลี่ยนเพศไปยัง oocyte ของหนูเม้าส์ และทำการระบุหา W
chromosome โดยวิธี PCR พบว่า spermatids และ sperm เกือบทั้งหมดมี Z chromosome อยู่ด้วยแต่มี
เพียงบางส่วนเท่านั้นที่มี W chromosome อยู่ด้วย นอกจากนี้ยังพบว่า spermatids และ sperm ที่มี W
chromosome นั้นมีความสามารถในการ fertilize คล้ายกับ sperm ของไก่ปกติที่มี Z chromosome ซึ่ง
การทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับการทดลองในนกกระทา

การเปลี่ยนเพศ (sex reversal) สามารถเกิดขึ้นได้โดยไม่เกี่ยวข้องกับโครโมโซมเพศ แต่อาจเกิดจากความผิดปกติในการทำงานของฮอร์โมนในร่างกาย เช่น testosterone หรือ estrogen นอกจากนี้ฮอร์โมนมีผลต่อการกำหนดเพศหรือทำให้เกิดการเปลี่ยนเพศในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังรวมไปถึงสัตว์ปีกแล้ว พบว่าเอชวายแอนติเจนยังมีบทบาทสำคัญในการพัฒนาการเจริญไปเป็นอวัยวะเพศในเพศผู้ การเปลี่ยนเพศอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงจากเพศผู้ไปเป็นเพศเมีย แม้ว่าตัวสัตว์นั้นมีโครโมโซมเพศผู้เป็น XY ก็ตาม ที่เป็นเช่นนี้ เนื่องจากยีนที่สร้างเอชวายแอนติเจนเกิดความผิดปกติ ซึ่งไม่สามารถสร้างเอชวายแอนติเจนได้ จึงส่งผลให้ตัวนั้นไม่มีการเจริญไปเป็นอวัยวะเพศผู้ได้ แต่กลับเจริญเป็นอวัยวะเพศเมียแทน และเช่นเดียวกันเอชวายแอนติเจนสามารถทำให้เกิดการเอนเอียงทางเพศได้ โดยอาจเกิดการเอนเอียงของอัตราส่วนเพศทางด้านเพศผู้มากกว่าเพศเมีย หรือเพศเมียมากกว่าเพศผู้ โดยสามารถเกิดขึ้นได้ในช่วงระยะเวลาที่แตกต่างกันในแต่ละช่วงวงจรชีวิตของสัตว์ เช่น เกิดขึ้นในช่วง Primary sex ratio (ปฏิสนธิ) Secondary sex ratio (เกิด) และ tertiary sex ratio (โตเต็มที่) แต่การเอนเอียงทางเพศของสัตว์ส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นได้ง่ายในช่วง Primary sex ratio (ปฏิสนธิ) เนื่องจากการกำหนดเพศของสัตว์ที่เกิดจากการปฏิสนธิเป็นเรื่องที่ค่อนข้างซับซ้อน การเอนเอียงทางเพศนั้นสามารถเกิดขึ้นได้ในสัตว์หลายชนิด เช่น สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นก ปลา และแมลง (Beltran and Boissier, 2009)

มีการนำความรู้ที่ได้จากการศึกษาเอชวายแอนติเจนที่ได้ไปพัฒนาต่อโดย Blecher *et al.* (1999) ได้ศึกษาการผลิตแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเพศเมียในกระต่าย โดยการฉีดกระตุ้นกระต่ายเพศผู้และกระต่ายเพศเมียด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งของโคเพศผู้ที่ผสมรวมกับ Freund's adjuvant เพื่อผลิต antisperm antisera จากกระต่ายเพศผู้และกระต่ายเพศเมีย หรือ anti-Y antisera และ anti-X antisera ตามลำดับ แล้วทำการแยกสเปิร์มจากน้ำเชื้อโคแช่แข็ง จากนั้นทำการผสมสเปิร์มที่แยกได้ด้วย antifemale antiserum พบว่า สเปิร์มบางส่วนเกิดการจับตัวกันจึงได้ทำการแยกสเปิร์มส่วนที่ปนกับน้ำออกแล้วนำมาผสมกับไข่เลี้ยงจนเป็นตัวอ่อน โดยตัวอ่อนมีการพัฒนาเข้าสู่ระยะบลาสโตซิสต์ ภายใน 7 วัน จึงได้ทำการคัดเพศโดยดูลักษณะทางพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ (cytogenetic sexing) ซึ่งตัวอ่อนเพศผู้จะมีโครโมโซมเพศเป็น XY ส่วนตัวอ่อนเพศเมียจะเป็น XX จากนั้นนำตัวอ่อนที่ได้มาทำการคัดเพศอีกครั้งด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction, PCR) พบว่า ตัวอ่อนที่ได้จากสเปิร์มที่ไม่จับตัวกันให้ผลเป็นลูกโคเพศผู้ถึง 92 % แสดงว่าแอนติบอดีที่ผลิตได้มีผลต่อการจับตัวกันของสเปิร์มที่มีโครโมโซมเพศเป็น XX เช่นเดียวกับการนำความรู้จากเอชวายแอนติเจนไปใช้ในการศึกษาตัวอ่อนของโคในระยะเวลาการพัฒนาที่แตกต่างกันของ Gardon *et al.* (2004) โดยการผลิตเอชวายแอนติซีรัมจากหนู โดยการฉีดกระตุ้นหนู Wistar เพศเมีย ด้วยเซลล์มี้มของหนูเพศผู้เข้าสู่ช่องท้องจำนวน 9 ครั้ง ภายในระยะเวลา 3 สัปดาห์ แล้วมีการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวัดระดับแอนติซีรัมที่

เกิดขึ้น จากนั้นเตรียมตัวอ่อนที่ได้จากการเก็บไข่ที่ยังโตไม่เต็มที่จากรังไข่ แล้วนำมาเลี้ยงในห้องทดลองจนโตเต็มที่พร้อมที่จะผสมกับอสุจิโดยการปฏิสนธิในอกร่างกาย (In Vitro Fertilization, IVF) จนกระทั่งพัฒนาเป็นตัวอ่อนในระยะต่างๆ โดยแบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ ตัวอ่อนระยะ 4 - 8 เซลล์, ตัวอ่อนระยะน้อยกว่า 32 เซลล์ และตัวอ่อนระยะมากกว่า 32 เซลล์ นำมาเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงตัวอ่อนที่แตกต่างกัน เพื่อศึกษาเปอร์เซ็นต์ของการพัฒนาการของตัวอ่อนระหว่างตัวอ่อนเพศผู้ที่ถูกยับยั้งการพัฒนาและตัวอ่อนเพศผู้ที่มีการเจริญเป็นปกติในตัวอ่อนทั้ง 3 ระยะ โดยพบว่าตัวอ่อนระยะน้อยกว่า 32 เซลล์ ในกลุ่มคอมพลิเมนต์ร่วมกับเอชวายแอนดิซีรัมจะมีเปอร์เซ็นต์การพัฒนาของตัวอ่อนเพศผู้ที่ถูกยับยั้งการพัฒนาและตัวอ่อนเพศผู้ที่มีการเจริญเป็นปกติ เท่ากับ 81.9 : 22.6 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับตัวอ่อนระยะมากกว่า 32 เซลล์ ที่มีเปอร์เซ็นต์การพัฒนาของตัวอ่อนเพศผู้ที่ถูกยับยั้งการพัฒนาและตัวอ่อนเพศผู้ที่มีการเจริญเป็นปกติ เท่ากับ 81.7 : 24.0 แต่การทดลองในคอมพลิเมนต์หรือเอชวายแอนดิซีรัมเพียงอย่างเดียวโดยหนึ่งจะให้เปอร์เซ็นต์การพัฒนาของตัวอ่อนเพศผู้ที่ถูกยับยั้งการพัฒนาและตัวอ่อนเพศผู้ที่มีการเจริญเป็นปกติที่ไม่แตกต่างกัน จากการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าผลของการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์สามารถนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงสัดส่วนเพศของสัตว์นั้นๆ ได้