บทนำ

โครโมโซมของมนุษย์

ค.ศ.1956 Tjio และ Levan พบว่ามนุษย์มีโครโมโซม 46 แท่ง ปัจจุบันเป็นที่ทราบกันว่าโครโมโซมของคนประกอบด้วย autosomes 44 แท่ง (22 คู่) และ sex chromosomes 2 แท่งคือ โครโมโซม XX ในเพศหญิง และโครโมโซม XY ในเพศชาย

ค.ศ.1959 พบว่าความผิดปกติของโครโมโซมอาจก่อให้เกิด congenital malformation โดย Lejeune รายงานความผิดปกติของโครโมโซมในผู้ป่วย Down's syndrome ซึ่งเกิดจากมีโครโมโซมคู่ที่ 21 เกินมาหนึ่งแท่ง

ค.ศ.1960 ความรู้ด้าน human cytogenetics เริ่มก้าวหน้าอย่างรวดเร็วหลังจาก Moorhead และคณะพบวิธีเตรียมโครโมโซมจาก lymphocyte culture ซึ่งง่ายและได้ผลดี และในปีนี้ได้มีการจัดประชุมที่เรียก Denver Conference โดยนักเซลล์พันธุศาสตร์ทั่วโลกได้จัดประชุมที่เมือง Denver รัฐ Colorado เพื่อหาระบบมาตรฐานที่แน่นอนในการจัดกลุ่มและการเรียกชื่อโครโมโซมเหล่านี้ ได้มีการตกลงให้มีการจัดเรียงโครโมโซมตามขนาดจากคู่ที่ยาวที่สุดจนถึงคู่ที่สั้นที่สุดโดย คู่ที่ยาวที่สุดเป็นคู่ที่ 1 เรื่อยไปจนถึงคู่ที่ 22

ค.ศ.1963 ได้มีการจัดประชุม London Conference มีการแบ่งโครโมโซมเป็นกลุ่ม โดยอาศัยขนาดของโครโมโซมและตำแหน่งของเซนโทรเมียร์บน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โครโมโซม ผลจากการประชุมจัดแบ่งโครโมโซมเป็น 7 กลุ่มโดยใช้อักษรตัวใหญ่ในภาษาอังกฤษตั้งแต่กลุ่ม A ถึงกลุ่ม G

กลุ่ม A ได้แก่คู่ที่ 1-3	คู่ที่ 1 และ 3	เป็น metacentric	chromosome
	คู่ที่ 2	เป็น submetacentric	chromosome
กลุ่ม B ได้แก่คู่ที่ 4-5		เป็น submetacentric	chromosome
กลุ่ม C ได้แก่คู่ที่ 6-12, X		เป็น submetacentric	chromosome
กลุ่ม D ได้แก่คู่ที่ 13-15		เป็น acrocentric มี Satellite	chromosome
กลุ่ม E ได้แก่คู่ที่ 16-18	คู่ที่ 16	เป็น metacentric	chromosome
	คู่ที่ 17 และ 18	เป็น submetacentric	chromosome
กลุ่ม F ได้แก่คู่ที่ 19-20		เป็น metacentric	chromosome
กลุ่ม G ได้แก่คู่ที่ 21-22, Y		เป็น acrocentric มี Satellite ยกเว้นโครโมโซม Y	chromosome

Banding techniques

การย้อมโครโมโซมให้เกิดแถบสีนั้นพบครั้งแรกโดย Caspersson และคณะ ในปี ค.ศ. 1968 ทำให้การศึกษาเกี่ยวกับเซลล์พันธุศาสตร์เจริญก้าวหน้าอย่างมาก สำหรับการย้อมให้เกิดแถบสีบนแท่งโครโมโซมพอจะแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ

1)General banding techniques

คือการย้อมให้เกิดแถบสีตลอดความยาวของแท่งโครโมโซมเช่น Q-,G- และ R-banding techniques

2) Special banding techniques

เป็นการย้อมที่เฉพาะเจาะจงในบางส่วนของแท่งโครโมโซม เช่น C-,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Cd-banding, G_{11}-staining และ Silver staining techniques

ความผิดปกติของโครโมโซม

การค้นพบว่า ความผิดปกติของโครโมโซมทำให้เกิดโรคนั้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ.1959 โดย Lejeune และคณะรายงาน "Enfants mongoliens" (Down's syndrome) มีโครโมโซม 47 แท่ง โดยมีแท่งที่ 21 เกินมา 1 แท่ง Ford และคณะ(1959) และ Jacobs กับ Strong(1959)พบความผิดปกติของโครโมโซมเพศในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติด้านการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ และลักษณะเพศ ปัจจุบันเป็นที่ทราบกันว่า ความผิดปกติของโครโมโซมเป็นสาเหตุให้เกิดโรคพันธุกรรมหลายชนิด รวมทั้ง ความผิดปกติด้านการสืบพันธุ์ ความผิดปกติของทารกแรกเกิด ความผิดปกติด้านจิตใจ รวมถึงบทบาทเกี่ยวกับการเกิดมะเร็ง ความผิดปกติของโครโมโซมในร่างกายจะแบ่งได้ 4 ประเภท ได้แก่

1) ความผิดปกติเชิงจำนวน
2) ความผิดปกติเชิงโครงสร้าง
3) mosaicism
4) chimerism

ความผิดปกติเชิงจำนวน (Numerical aberration) แบ่งได้ 2 แบบคือ

1) Aneuploidy คือ การที่จำนวนโครโมโซมเกินมาหรือขาดหายไปเป็นแท่ง เช่น

trisomy คือ การที่มีจำนวนโครโมโซมแท่งใดแท่งหนึ่งเกินมา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

monosomy คือ การที่มีโครโมโซมแท่งใดแท่งหนึ่งขาดหายไป

aneuploidy เกิดได้จากหลายสาเหตุ ได้แก่

1.1) Nondisjunction เกิดจาก homologous chromosome หรือ chromatids ไม่แยกออกจากกันในระยะ anaphase ของการแบ่งเซลล์ใน meiosis หรือ mitosis ทำให้ daughter cell มีโครโมโซมเกินหรือขาดไปจากจำนวนปกติ สาเหตุหนึ่งของ nondisjunction อาจเกิดจากความผิดปกติของ spindle fibers (Sugawara and Mikamo, 1980) การเกิด nondisjunction ใน meiosis นั้นพอจะแบ่งได้ 2 ระยะ คือ

ก) Nondisjunction ใน First meiotic division เกิดจาก homologous chromosomes ที่มาเข้าคู่กันในระยะ meiosis I แล้วไม่แยกจากกันจะเคลื่อนที่ไปอยู่ในเซลล์ลูกเซลล์เดียวกัน ตัวอย่างการเกิด non-disjunction ของโครโมโซมแท่งที่ 21 ใน meiosis I (รูป 1) จะได้ gametes 2 แบบ คือ

1. มีโครโมโซมแท่งที่ 21 ทั้ง 2 แท่ง (มีทั้งที่ได้รับมาจากพ่อและแม่)
2. ไม่มีโครโมโซมแท่งที่ 21 เลย

ข) Nondisjunction ใน Second meiotic division เกิดจาก sister chromatids ของโครโมโซมแท่งใดแท่งหนึ่ง เมื่อแยกกันแล้วไม่เคลื่อนที่แยกจากกันแต่เคลื่อนไปด้วยกันอยู่ในเซลล์ลูกเซลล์ใดเซลล์หนึ่งตัวอย่างการเกิด nondisjunction ของโครโมโซมแท่งที่ 21 ใน meiosis II (รูป 1) จะได้ gametes 3 แบบคือ

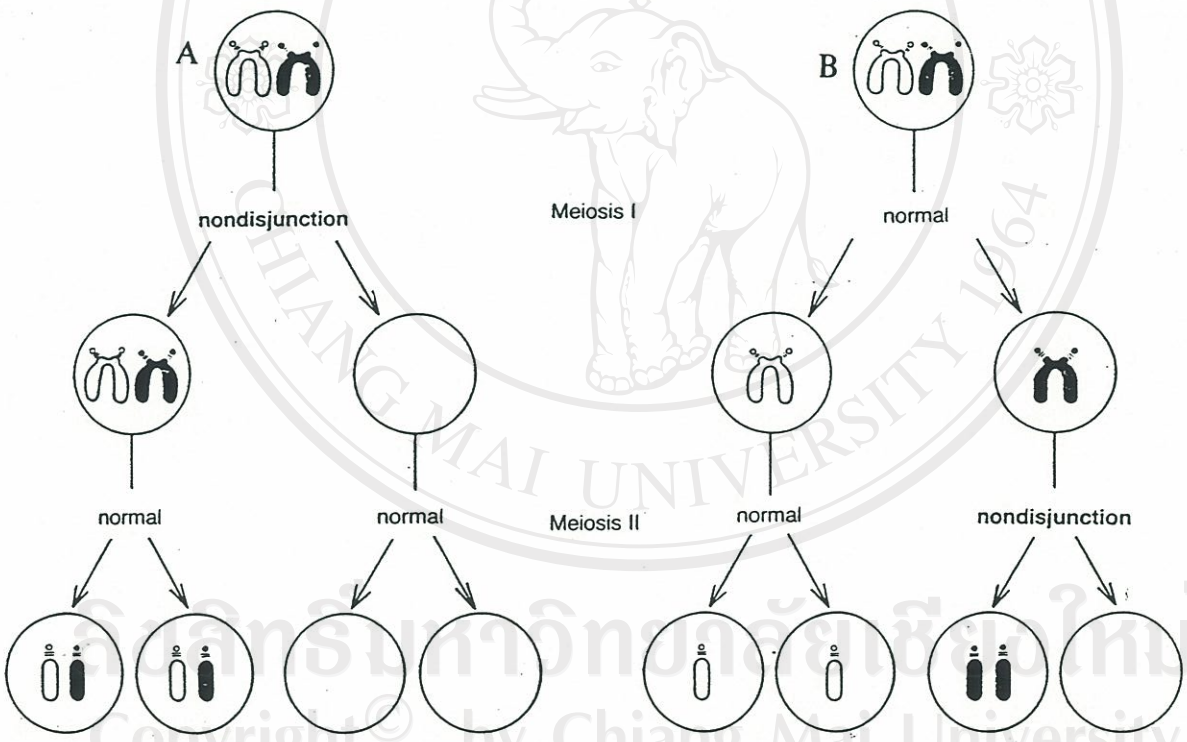
1. มีโครโมโซมแท่งที่ 21 สองแท่งแบบเดียวกัน(ที่รับมาจากพ่อหรือที่รับมาจากแม่)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ไม่มีโครโมโซมแท่งที่ 21 เลย

3. มีโครโมโซม 21 แท่งเดียว (อาจเป็นที่มาจากพ่อหรือมาจากแม่) เป็น gametes ที่ปกติ

ผลของ nondisjunction จะทำให้มีจำนวนโครโมโซมเกินหรือขาดไปจากจำนวนปกติ ถ้ามีการปฏิสนธิจะได้ zygote ที่มีความผิดปกติของโครโมโซม เช่น มีคาริโอไทป์ 47,XY,+21 47,XX,+18 47,XXY หรือ 45,XX,-21 เป็นต้น



รูป 1 แสดงการเกิด nondisjunction ของโครโมโซมคู่ที่ 21 (Thompson et al., 1991)

A.nondisjunction at meiosis I

B.nondisjunction at meiosis II

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2) chromosome loss คือ การที่โครโมโซมหายไประหว่างการแบ่งเซลล์โดยปกติในระยะ anaphase โครโมโซมจะต้องเคลื่อนไปสู่ 2 ข้างของเซลล์แต่อาจมีบางโครโมโซมเคลื่อนไปช้าเรียก anaphase lagging เมื่อเข้าสู่ระยะ telophase มีการสร้าง nuclear membrane มาหุ้ม ดังนั้นโครโมโซมที่เคลื่อนไปช้าจึงอยู่นอกนิวเคลียสและหายไปในที่สุด เช่นเกิด anaphase lagging ในการแบ่งตัวแบบ mitosisในระยะแรกของ zygote จะทำให้เกิดเซลล์ที่มีโครโมโซมขาดหายไป เช่น มีคาริโอไทป์ 45,X เป็นต้น

2) Euploidy

คือความผิดปกติที่มีจำนวนโครโมโซมเกินหรือขาดทั้งชุด และหมายความรวมถึงลักษณะโครโมโซมปกติที่เรียก diploidy ด้วยสำหรับ Polyploidy คือการที่มีจำนวนชุดของโครโมโซมมากกว่า 2n (2n=46 เป็นจำนวนโครโมโซมปกติของเซลล์ร่างกาย) เช่น

triploidy คือจำนวนโครโมโซมเป็น 3n (3n=69) เช่นมีคาริโอไทป์ 69,XXX 69,XXY 69,XYY เป็นต้น

สาเหตุของ triploidy ส่วนใหญ่เกิดจาก ไข่ 1 ใบผสมกับตัวอสุจิ 2 ตัว หรืออาจเกิดจากไข่ที่มี 2n ผสมกับตัวอสุจิปกติหรือตัวอสุจิที่มี 2n ผสมกับไข่ปกติ

tetraploidy คือจำนวนโครโมโซมเป็น 4n (4n=92) เช่นมีคาริโอไทป์ 92,XXYY 92,XXXX เป็นต้น

สาเหตุของ tetraploidy มักเกิดจากการผสมที่ผิดปกติ เช่น ผสมระหว่างไข่ 1 ใบกับตัวอสุจิ 3 ตัว หรือไข่ 1ใบและ polar body 1 ใบ ผสมกับตัวอสุจิ 2 ตัว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ความผิดปกติเชิงโครงสร้าง (Structural aberration)

เป็นความผิดปกติในด้านรูปร่างและการชำรุดในบางส่วนของโครโมโซม ลักษณะความผิดปกติที่ตรวจพบ จะขึ้นกับระยะวงจรของเซลล์ที่เกิดมีการชำรุดเสียหายของโครโมโซม วงจรเซลล์(cell cycle) เป็นขบวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงต่อเนื่องแบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ G_1, S, G_2, M และเซลล์แต่ละชนิดจะใช้เวลาในวงจรเซลล์ต่างกัน โดย G_1 จะใช้เวลาแตกต่างกันมากที่สุด ส่วนระยะ S, G_2, M เวลาค่อนข้างคงที่

G_1 (Gap phase I) เป็นช่วงที่เตรียมจะสร้างสาย DNA เป็นช่วงที่มีระยะเวลาแตกต่างกันระหว่างเซลล์ต่างชนิดกัน โครโมโซมมีหนึ่งโครมาทิด มีลักษณะเป็นเส้นบางและเห็นเป็นเส้นเดียว

S (Synthetic phase) เป็นช่วงที่มีการสร้างสาย DNA ขึ้นมาอีกหนึ่งเส้น และติดกับโครมาทินสายเดิมตรงตำแหน่งที่เป็นเซนโทรเมียร์ พบว่าบริเวณ euchromatin จะเริ่มเข้าสู่ระยะนี้ก่อน heterochromatin

G_2 (Gap phase II) เป็นระยะที่เซลล์เตรียมเข้าสู่ระยะ M หลังจากจำลอง DNA ส่วนใหญ่เสร็จเรียบร้อยเซลล์เตรียมพร้อมที่จะแบ่งตัวแต่รอ DNA ส่วนย่อยๆ ที่ยังไม่เรียบร้อย เช่น ส่วนของ heterochromatin โดยโครโมโซมในช่วงนี้มีโครมาทิดสองเส้น

M (mitosis) ระยะ G_1, S, G_2 ทั้งหมดเป็น interphase ในระยะ M โครโมโซมจะหดม้วนตัวมีลักษณะคล้ายลวดสปริงและทบเข้าหากันอย่างสลับซับซ้อนทำให้โครโมโซมหดสั้นเข้าและมีขนาดใหญ่ขึ้นแบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ

- prophase โครโมโซมจะหดตัวสั้นเข้าแต่โครโมโซมยังไม่เห็นเป็นคู่โครมาทิดชัดเจน จะเริ่มเห็นเป็นสองโครมาทิดในระยะท้ายๆ ของ prophase

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- metaphase เป็นระยะที่โครโมโซมหดสั้นยิ่งขึ้น จนเห็นเป็นสองโครมาทิดชัดเจน และโครโมโซมแต่ละคู่ไปเข้าคู่กันบริเวณกลางเซลล์ เป็นช่วงที่เหมาะแก่การเตรียมโครโมโซมเพื่อนำมาตรวจและวิเคราะห์

- anaphase เป็นระยะที่เส้นโครมาทิดของแต่ละโครโมโซมจะแยกจากกัน โดยเคลื่อนไปยังแต่ละขั้วของเซลล์เรียก anaphase disjunction movement

- telophase เป็นระยะสุดท้ายของการแบ่งเซลล์ โดย cell membrane จะคอดเข้าหากันแล้วทำให้เกิดเป็นเซลล์ลูก 2 เซลล์

ความผิดปกติเชิงโครงสร้างของโครโมโซมแบ่งได้ 2 กลุ่มคือ

1) Chromosome-type aberration

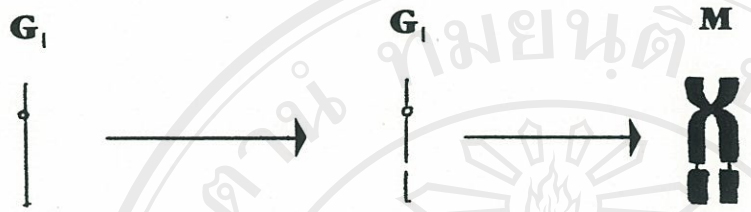
เป็นความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดในระยะ G_1 ของการแบ่งเซลล์ เมื่อผ่านขบวนการจำลองตัวเองของโครโมโซมในระยะ S แล้วเตรียมโครโมโซมในระยะ metaphase มาศึกษาจะทำให้พบความผิดปกติในตำแหน่งเดียวกันของโครมาทิดทั้งสอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

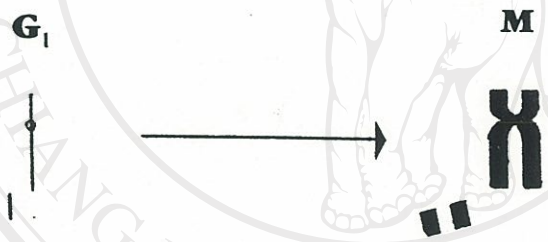
ตัวอย่าง Chromosome-type aberration ได้แก่

1.1 chromosome gap (csg) (isolocus gap หรือ isochromatid gap) เป็นบริเวณที่มีการชำรุดตรงตำแหน่งเดียวกันของทั้งสอง

แท่งโครมาทิดอาจมองเห็นเส้นใยบางๆเชื่อมอยู่และส่วนที่ชำรุดแตกหักนั้นยังคงอยู่ในแนวเดิม



1.2 chromosome break (csb) ส่วนของโครมาทิดทั้งสองแท่งขาดแยกออกจากโครโมโซมเดิม

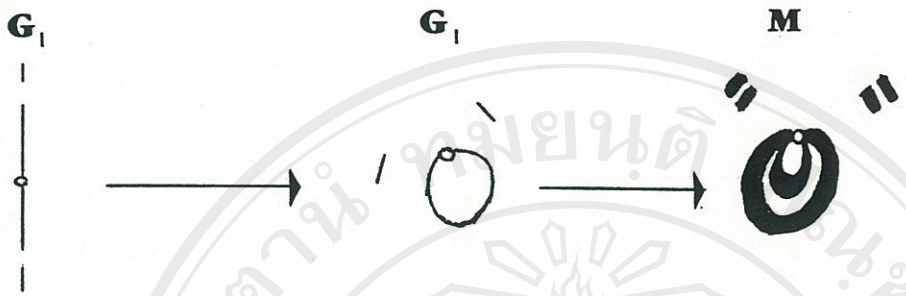


1.3 chromosome deletion (csd) โครโมโซมที่มีส่วนที่ขาดหายไปของทั้งสองแท่งโครมาทิดในตำแหน่งเดียวกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.4 ring chromosome (r) มีการขาดหายไปของเนื้อโครโมโซมพร้อมๆกันที่ปลายแท่งสองข้าง ปลายส่วนที่เหลือจะมีโอกาสติดกันเป็นวงกลมลักษณะ

เหมือนวงแหวน



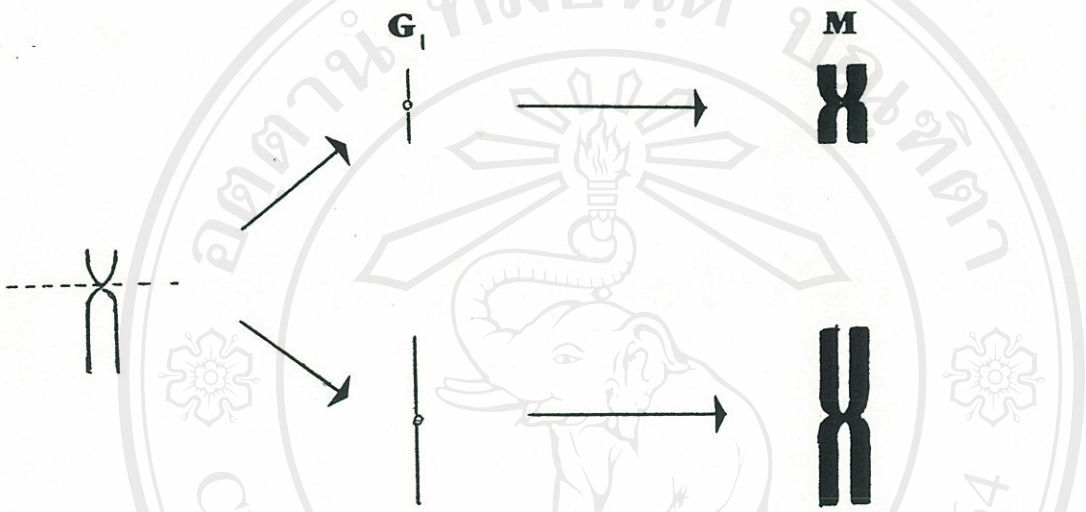
1.5 dicentric chromosome (dic) โครโมโซมที่มีเซนโทรเมียร์สองแห่ง โดยเกิดจากมีการแตกหักของโครโมโซมสองแท่งแล้วปลายที่แตกหักของโครโมโซมแต่ละแท่งมาเชื่อมรวมกันเกิดเป็นแท่งโครโมโซมที่มีสองเซนโทรเมียร์

1.6 acentric fragment (ace) เป็นเศษชิ้นส่วนของโครโมโซมที่หลุดออกมาโดยไม่มีเซนโทรเมียร์

1.7 isochromosome (i) เป็นโครโมโซมที่ประกอบด้วย short arm หรือ long arm ของโครโมโซมแท่งใดแท่งหนึ่ง เกิดจากการแยกตัวที่ผิดปกติของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โครมาทิด โดยปกติต้องแยกตามแนวยาวของแท่งโครโมโซม แต่เมื่อมีการขาดตามแนวขวางของโครโมโซม จะเกิดโครโมโซมที่มีแต่แขนสั้นและโครโมโซมที่มีแต่แขนยาวเท่านั้น



2) Chromatid-type aberration

เป็นความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดขึ้นขณะมีการจำลองตัวของโครมาทิดในระยะ S หรือหลังจากมีการจำลองตัวของโครมาทิด (หลังระยะ S) ในขบวนการแบ่งเซลล์ โดยความผิดปกติจะเกิดกับโครมาทิดเพียงหนึ่งแท่งเท่านั้น

ตัวอย่างของ chromatid-type aberration ได้แก่

2.1 chromatid gap (ctg) คือการชำรุดของโครมาทิดเห็นเป็นส่วน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ที่แตกมีความกว้างไม่เกินความกว้างของเส้นโครมาทิดและยังคงอยู่ในแนวเดิม อาจเห็นเส้นใยบางๆเชื่อมอยู่

2.2 chromatid break (ctb) เป็นส่วนของโครมาทิดขาดออกจากกันโดยมักจะมีความกว้างมากกว่าขนาดความกว้างของเส้นโครมาทิดและมักจะเบี่ยงเบนไปจากแนวเดิม

2.3 chromatid deletion (ctd) เป็นส่วนของแท่งโครมาทิดที่ขาดหลุดออกจากแท่งโครโมโซม

2.4 chromatid fragment เป็นเศษชิ้นส่วนของโครมาทิดที่หลุดออก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มาจากแท่งโครมาทิดแท่งใดแท่งหนึ่ง

2.5 chromatid exchange (cte) เป็นการแลกส่วนของโครมาทิด แบ่งเป็นสองแบบคือ

a. interchange

เกิดการแลกเปลี่ยนส่วนของโครมาทิดระหว่างโครโมโซมที่อยู่ชิดกัน

b. intrachange

เกิดการแลกเปลี่ยนส่วนของโครมาทิดที่เกิดขึ้นภายในโครโมโซม แท่งเดียวกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สาเหตุความผิดปกติเชิงโครงสร้าง

ความผิดปกติเชิงโครงสร้างของโครโมโซมนั้นเกิดจากปัจจัยหลายอย่าง อาจเป็นปัจจัยภายในร่างกายของคนคนนั้น เช่น มีความผิดปกติของร่างกายบางอย่างแล้วมีความผิดปกติของโครโมโซมร่วมด้วย หรืออาจจะเกิดจากปัจจัยภายนอก เช่น สารเคมีเมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วทำให้มีความผิดปกติของโครโมโซมเกิดขึ้น สิ่งที่เหนี่ยวนำให้เกิดการแตกหักของโครโมโซมเรียกว่า breaking agents หรือ clastogens มีหลายชนิดได้แก่

1) Physical agents

เช่น X-rays, γ-rays, neutron particle

2) Chemical agents

เช่น สารจากโรงงานอุตสาหกรรม ได้แก่ Lead, cadmium, chromium, benzol, vinylchloride, พวกยาต่างๆ เช่น methotrexate, mitomycin C, BrdU, nitrous acid, adriamycin, bleomycin และ trenimon เป็นต้น พวกสารจากธรรมชาติ เช่น alkaloid และ aflatoxin B_1 เป็นต้น

3) Biological agents

ที่สำคัญคือไวรัสชนิดต่างๆ ได้แก่ ไวรัสเชื้อโรคหัดเยอรมัน, หัด, อีสุกอีใส, งูสวัด, คางทูม และ ตับอักเสบ เป็นต้น

4) Heredity

โรคที่มีความผิดปกติของโครโมโซม (Chromosome instability diseases) เป็นโรคที่ถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์แบบ autosomal recessive โดยมีความผิดปกติด้านเอนไซม์ซึ่งอาจเกี่ยวกับ DNA metabolism หรือ repair

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เช่น Bloom syndrome, Fanconi anaemia, Ataxia telangiectasia และ Xeroderma pigmentosum ถ้านำโครโมโซมจากผู้ที่เป็นโรคกลุ่มนี้มาตรวจวิเคราะห์จะพบว่ามีความผิดปกติเชิงโครงสร้างมากกว่าประชากรปกติ

mosaicism

คือเซลล์ร่างกายมี karyotype มากกว่า 1 แบบเกิดจากความผิดปกติในการแบ่งเซลล์หรือมีการแยกตัวของโครโมโซมผิดปกติภายในตัวบุคคลนั้นเองโดยอาจเกิดจาก nondisjunction หรือ anaphase lagging ในการแบ่งเซลล์แบบ mitosis ในระยะแรกของ zygote เช่นมีคาริโอไทป์ 45,X/46,XX หรือ 45,X/46,XX/47,XXX เป็นต้น

chimerism

คือการที่เซลล์ในร่างกายมีจำนวนโครโมโซมตั้งแต่ 2 แบบขึ้นไป โดยที่เซลล์เหล่านี้มีแหล่งกำเนิดต่างกัน chimerism มี 2 ชนิดคือ

4.1) zygotic chimerism เกิดในระยะปฏิสนธิโดยตัวอสุจิ 2 ตัวต่อไข่ 2 ใบที่อยู่ติดกัน เช่นมีคาริโอไทป์เป็น 46,XX/46,XY

4.2) postzygotic chimerism เกิดจากการแลกเปลี่ยนเซลล์ระหว่างคน 2 คน ในคู่แฝดไข่ต่างใบ หรือจากการปลูกถ่ายไขกระดูกทำให้ร่างกายมีเซลล์ 2 ชนิด

ความผิดปกติของโครโมโซมที่ก่อให้เกิดปัญหาและมีความสำคัญทางการแพทย์ในปัจจุบันนั้นเป็นกลุ่มที่ทำให้เกิดการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ หรือเกิดการแท้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้แก่ ความผิดปกติเชิงจำนวนเป็นส่วนใหญ่ เช่น Trisomies ของ autosomes และของ sex chromosomes, monosomyของ X chromosome ความผิดปกติที่พบมากรองลงมาเป็น ความผิดปกติเชิงโครงสร้าง ได้แก่ deletion, ring chromosome, isochromosome และ translocation

จากการรวบรวมข้อมูลจากหลายประเทศการศึกษาโครโมโซมในทารกคลอดมีชีพนั้น พบว่ามีความผิดปกติของโครโมโซมประมาณ 0.7 เปอร์เซนต์ ส่วนในกลุ่มที่เกิดการแท้งเองภายในระยะสามเดือนแรกของการตั้งครรภ์นั้นพบว่ามีสาเหตุจากความผิดปกติของโครโมโซม ถึง 50 เปอร์เซนต์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็น trisomies ของ autosomes และจากการตรวจวินิจฉัยโครโมโซมก่อนคลอดในหญิงที่ตั้งครรภ์เมื่ออายุ 35 ปี ขึ้นไป พบว่าเด็กในครรภ์มีอุบัติการของความผิดปกติของโครโมโซมประมาณ 2 เปอร์เซนต์ (Thomson et al., 1991) ความผิดปกติที่พบบ่อยในทารกคลอดมีชีพเป็น autosomal trisomies เช่น trisomies 21, 18, 13 และ trisomies ของ sex chromosomes เช่น มีคาริโอไทป์ 47,XXY, 47,XYY และ 47,XXX เป็นต้น

การเกิด trisomy นั้นมีสาเหตุมาจาก meiotic nondisjunction ซึ่งมีโอกาสเกิดได้ทั้งในระยะ meiosis I และ meiosis II ทั้งในoogenesis และspermatogenesis จากการศึกษาโครโมโซมในผู้ป่วย Down's syndrome และในมารดาของผู้ป่วยพบว่า nondisjunction ที่เกิดในมารดานั้น เกิดใน meiosis I มีประมาณ 77.1% และใน meiosis II มีประมาณ 22.9% (Antonarakis et al., 1992)สาเหตุของการทำให้เกิด nondisjunction นั้นยังไม่ทราบชัดปัจจุบันทราบเพียงว่ามีปัจจัยบางอย่างทำให้เกิดnondisjunction เพิ่มขึ้น เช่น อายุของหญิงที่ตั้งครรภ์ หญิงที่ตั้งครรภ์เมื่ออายุ 25 ปี จะมีโอกาสได้ลูกเกิดมามีชีพและเป็น Down's syndrome ประมาณ 1/1,100 แต่ถ้าตั้งครรภ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่ออายุ 35 ปี จะมีโอกาสได้ลูกเกิดมามีชีพ และเป็น Down's syndrome ประมาณ 1/350 และถ้าตั้งครรภ์เมื่ออายุ 45 ปี จะมีโอกาสได้ลูกเป็น Down's syndrome ถึง 1/25 จะเห็นว่าโอกาสที่จะเกิด nondisjunction นั้น เพิ่มขึ้นอย่างมาก

สำหรับ trisomies ของ sex chromosomes เช่นกลุ่มที่มีคาริโอไทป์ 47,XXY นั้น 50 เปอร์เซนต์ เกิดจาก paternal nondisjunction ใน meiosis I (Jacobs et al., 1988) พวกที่มีคาริโอไทป์ 47,XYY เกือบทั้งหมดเกิดจาก paternal nondisjunction สำหรับอายุของผู้ชายกับการเพิ่มขึ้นของ nondisjunction นั้น ยังไม่มีข้อมูลเพียงพอที่จะสรุปว่ามีความสัมพันธ์กันหรือไม่ สำหรับกลุ่มที่มีคาริโอไทป์ 47,XXX นั้นเกือบทุกรายเกิดจาก maternal nondisjunction ซึ่งส่วนใหญ่เกิดในระยะ meiosis I และหญิงที่ตั้งครรภ์เมื่ออายุมากจะมีโอกาสได้ลูกมี คาริโอไทป์ 47,XXX มากกว่าหญิงที่ตั้งครรภ์เมื่ออายุน้อยกว่า (May et al., 1990)

ผู้ป่วยที่เป็น Turner's syndrome นั้นมีอุบัติการประมาณ 1 ใน 5,000 ของทารกหญิงคลอดมีชีพ อุบัติการของเด็กที่มีคาริโอไทป์ 45,X นั้นไม่สัมพันธ์กับอายุของมารดา zygote ที่มีโครโมโซม 45,X นั้น 99 เปอร์เซนต์จะเกิดการแท้งเองจะมีเหลือรอดคลอดมามีชีวิตนั้นมีเพียงประมาณ 1 เปอร์เซนต์เท่านั้น (Thomson and Thomson, 1991)

เนื่องจากความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดจากการแบ่งเซลล์ในระยะ meiosis เป็นสาเหตุของการเกิดการแท้งเองและทารกที่ผิดปกติจึงได้มีการศึกษาโครโมโซมในระยะ meiosis ทั้งในผู้ชายและผู้หญิงกันอย่างต่อเนื่องตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

วิธีการศึกษาโครโมโซมจากเซลล์สืบพันธุ์นั้นมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1) เตรียมจากเซลล์ใน seminiferous tubules คือ ศึกษา meiotic chromosomes จาก spermatogenic cells ใน testicular biopsy (Ford and Hamerton, 1956; Walt et al., 1989)

2) เตรียม meiotic chromosome จาก spermatogenic cell ใน ejaculate (Templado et al., 1978)

3) ย้อมพิเศษโดยอาศัยคุณสักษณะพิเศษของโครโมโซม เช่น โครโมโซม Y สามารถจะย้อมติดสี quinacrine ได้เข้มในส่วนปลายของแขนยาวของโครโมโซมหรือโครโมโซมแท่งที่ 9 โดยใช้เทคนิคการย้อมวิธี G-11 โดยการเตรียมสีใน buffer ที่มี pH 11 จะย้อมส่วน secondary constriction จะเห็นเป็นจุดสีม่วงแดง (Pawlowitzki and Pearson, 1972; Mevatee et al., 1987)

4) ย้อม Y-body หรือ F-body ศึกษาจำนวนตัวอสุจิที่นำ Y (Martin, 1990)

5) เตรียมโครโมโซมจากเซลล์ไข่โดยตรง (Tarkowski, 1966; Kamiguchi et al., 1976)

6) ให้ตัวอสุจิของคนผสมกับไข่หนู (Martin, 1983)

7) ให้ตัวอสุจิและไข่ของคนผสมกัน (Zenzes et al., 1990)

8) Fluorescence in situ hybridization ใช้ chromosome specific probes เช่นศึกษาโครโมโซมแท่งที่ 1, Y และ X (West et al., 1989; Wyrobek et al., 1990; Guttenbach and Schmid, 1990; Pieters et al., 1990)

การศึกษาเท่าที่กล่าวมาแล้วนั้นทำให้ทราบข้อมูลต่างๆ เพิ่มขึ้นอย่างมาก แต่มีข้อจำกัดในแง่ของการติดตามระยะต่างๆของโครโมโซมและโครโมโซมที่เตรียม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้มีคุณภาพไม่ดีพอตลอดจนตัวอย่างของเซลล์ที่นำมาศึกษาก็มีข้อจำกัด เช่น ตัวอสุจิของคนนั้นเตรียมโครโมโซมได้ยาก และไข่ของคนก็นำมาศึกษาได้ยาก ในปี ค.ศ. 1978 Rudak และคณะได้รายงานถึงการวิเคราะห์โครโมโซมของตัวอสุจิโดยตรงภายหลังการผสมกับไข่ของหนูแฮมสเตอร์ ต่อมาจึงได้มีผู้ศึกษามากขึ้นรวมทั้งพัฒนาวิธีการให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นเช่น Martin ค.ศ. 1983; Brandriff และคณะ ค.ศ. 1985; Sele และคณะ ค.ศ. 1985; Benet และคณะ ค.ศ. 1986 สำหรับกลุ่มบุคคลที่เป็นเป้าหมายศึกษาในปัจจุบันแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

1) carriers ของ balanced หรือ unbalanced structural chromosome rearrangements คือ จะตรวจสอบอัตราส่วนที่แน่นอนของ segregation ของ reciprocal translocation เนื่องจากการตรวจจาก prenatal อาจจะได้ค่าต่ำกว่าความเป็นจริงเนื่องจากมีการแท้งก่อนที่จะสามารถตรวจสอบได้ เช่น 3:1 segregation ของ t(5;18) อาจจะได้ embryo ของ monosomic ของโครโมโซมแท่งที่ 18 แล้วแท้งไป เป็นต้น

2) infertile หรือ sterile males with synaptic problems (asynapsis หรือ desynapsis) โดยความผิดปกติเช่นนี้จะทำให้เกิด unbalanced spermatozoa ดังนั้นวิธีการที่ใช้นี้จะช่วยในการศึกษาถึงปัญหาความผิดปกติ meiotic synaptic ต่อ spermatogenesis

3) ผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ได้รับการรักษาโดยรังสี และ/หรือสารเคมี แล้วต้องการมีบุตร

วิธีการที่ใช้ในการทดลองนี้จะเกี่ยวข้องกับขบวนการ capacitation, acrosome reaction และคุณภาพของตัวอสุจิ โดยสาเหตุทั่วไปที่ตัวอสุจิมีความผิดปกติในการเข้าผสมกับไข่คน ได้แก่

1) ไม่สามารถจับกับ zona pellucida

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2) ไม่สามารถเจาะเข้าไปในไข่

3) เจาะเข้าไปในไข่ได้ไม่สมบูรณ์

4) เจาะเข้าไปในไข่ได้แต่ไม่มีการพัฒนาในขั้นต่อไป

นอกจากนี้พบว่าความสามารถในการเข้าผสมกับไข่ภายนอกร่างกายไม่มีความสัมพันธ์กับคุณภาพของน้ำอสุจิ (Overstreet et al., 1980)การทดลองนี้สามารถศึกษาโครโมโซมของตัวอสุจิได้โดยการย้อมให้เกิดแถบสี แต่พบว่าแถบสีของโครโมโซมที่เตรียมได้จะไม่ชัดเจนเหมือนที่เตรียมได้จากเซลล์ร่างกาย นอกจากนี้ไข่ของหนูแฮมสเตอร์มีความไวต่อแสงโดยถ้าหากได้รับแสงมากเกินไป จะทำให้มีความผิดปกติของการแบ่งตัวแบบ meiosis และการพัฒนาของ pronucleus ในไข่ (Hirao and Yanagimachi, 1978)

เทคนิคที่ให้ตัวอสุจิเข้าผสมกับไข่หนูแฮมสเตอร์ที่ไม่มี zona pellucida นี้ได้มีการนำไปศึกษาในด้านต่างๆมากมาย เช่น การศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมจากกลุ่มคนปกติจำนวน 33 ราย พบว่าตัวอสุจิมีโครโมโซมที่มีความผิดปกติเชิงจำนวน 5.2 เปอร์เซนต์ ความผิดปกติเชิงโครงสร้างพบ 3.3 เปอร์เซนต์ (Martin et al., 1983) ในปี 1986 Kamiguchi และ Mikamo ได้ศึกษาในคน 4 ราย พบความผิดปกติเชิงจำนวน 0.9 เปอร์เซนต์และเชิงโครงสร้าง 13.0 เปอร์เซนต์และการศึกษาโดย Jenderny และ Rohrborn ในปี 1987 จากคนปกติ 6 ราย พบความผิดปกติเชิงจำนวน 1.6 เปอร์เซนต์ และเชิงโครงสร้าง 6.2 เปอร์เซนต์

นอกจากนี้การศึกษาความผิดปกติด้านโครงสร้างพบว่าค่าความผิดปกติในตัวอสุจิจะสูงกว่าที่พบใน lymphocyte เมื่อเปรียบเทียบในบุคคลคนเดียวกัน (Brandriff et al., 1984)

Lin และคณะ (1989) ศึกษาในคน 2 กลุ่มคือ fertility และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

infertility พบค่าความผิดปกติของโครโมโซมด้านจำนวนและโครงสร้าง จากทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกันและจากการศึกษาโครโมโซมในตัวอสุจิในบิดาของเด็กที่คลอดออกมาเสียชีวิต 2 ราย โดยมีความผิดปกติของโครโมโซมเป็น del(13)(q22q32) พบ germ cell mosaicism (Brandriff et al., 1988)และนำไปศึกษาใน infertile man ที่มีความผิดปกติของ chromosome synapsis ใน meiosis พบว่ามีความผิดปกติด้านโครงสร้าง 6.7 เปอร์เซนต์ ซึ่งไม่ต่างจากกลุ่มคนปกติ คือ 6.9% (Navarro et al., 1990) นั่นคือ asynaptic spermatogenic cell ไม่สามารถดำเนินไปเกินขั้น metaphase I ได้ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาในคนที่มีโครโมโซมเป็น 47,XYY พบว่าความผิดปกติของโครโมโซมไม่ต่างไปจากกลุ่มคนปกติ (Benet and Martin, 1988)

การศึกษาในกลุ่มคนที่มีโครโมโซมผิดปกติแบบ reciprocal translocation เช่น t(11;22)(Martin, 1984) t(5;18)และt(6;14) (Balkan and Martin, 1983) t(5;11)และ (7;14)(Burns et al., 1986) t(3;16)และt(8;15) (Brandriff et al., 1986) t(2;5) (Templado et al., 1988) t(4;17), t(5;13), t(6;7)และt(9;18) (Pellestor et al., 1989) t(1;2)(Templado et al., 1990) t(12;20)(Martin et al., 1990) พบ unbalanced gametes อยู่ในช่วง 19-87 เปอร์เซนต์ และศึกษาในกลุ่ม Robertsonian translocation เช่น t(13;14)โดย Pellestor และคณะ ในปี ค.ศ.1987 พบ unbalanced gametes 7.7 เปอร์เซนต์

การศึกษาในด้านอื่น ๆ เช่น ศึกษาในกลุ่มคนที่มีความเสี่ยงต่อการได้รับสารโลหะคือ trichloroethylene พบว่ามีความผิดปกติของโครโมโซมสูงกว่ากลุ่มควบคุม (Rasmussen et al., 1988)ศึกษาผลของปริมาณ tritium β-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

rays และรังสีเอ็กซ์ต่อตัวอสุจิของคน (Kamiguchi et al., 1990a, 1990b) ตามลำดับพบความผิดปกติเชิงโครงสร้างของโครโมโซมจะเพิ่มตามปริมาณรังสีที่ได้รับ ศึกษาในผู้ป่วยโรคมะเร็งที่รักษาด้วยรังสีและ/หรือยา พบความผิดปกติของโครโมโซมสูงขึ้น และแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (Templado et al., 1988) ศึกษาผลจากการที่ผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ได้รับการรักษาด้วย รังสีและ/หรือสารเคมี พบว่าความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิด้านโครงสร้างสูงขึ้น (Genesca et al., 1990a) ศึกษาการใช้รังสีหรือสารเคมีหรือการใช้ทั้ง 2 อย่างในโรคมะเร็ง โดยศึกษาในผู้ชาย 4 คนที่ได้รับการรักษาเป็นเวลา 5-18 ปี โดยตรวจโครโมโซมจากตัวอสุจิ 422 เมทาเฟส ไม่พบความแตกต่างของอัตราความผิดปกติด้านจำนวน แต่ด้านโครงสร้างมีความผิดปกติสูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Genesca et al., 1990b) จากการศึกษาเทียบกับโครโมโซมที่เตรียมจาก lymphocytes พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (Genesca et al., 1990c) จากตัวอย่างการศึกษาข้างต้นจะเห็นว่าการศึกษาโครโมโซมในตัวอสุจินั้นได้เพิ่มข้อมูลความรู้ต่างๆ ขึ้นอย่างมากมายซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อไปในด้าน medical genetics, genetic counseling, epidemiology , human fertility และ environmental toxicology

อย่างไรก็ตามการศึกษาเหล่านี้ยังมีข้อจำกัดเนื่องจากต้องใช้เทคนิคทางห้องปฏิบัติการที่ค่อนข้างยุ่งยาก ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งที่จะศึกษาเรื่องนี้ต้องมีกำลังคนและมีความชำนาญพอ อย่างไรก็ตามข้อมูลต่างๆ เหล่านี้ยังมีความสำคัญและต้องการข้อมูลจากหลายแห่ง เพื่อนำมารวบรวมวิเคราะห์หาข้อสรุปต่อไป

งานวิจัยครั้งนี้มีกำลังคนจำกัดและเป็นการพยายามพัฒนาเทคนิคเพื่อศึกษา meiotic chromosome และเป็นการหาข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับความผิดปกติของโครโมโซมในชายปกติและกลุ่มที่สงสัยว่าจะมีความผิดปกติของ spermatoge-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

nesis ตลอดจนแนวโน้มความแตกต่างของความผิดปกติของโครโมโซมในกลุ่มคนที่อายุต่างกัน นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังเป็นการเปิดแนวทางการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาโครโมโซมใน meiosis ในด้าน meiosis chromosome aberration assays ซึ่งจะนำไปใช้ประโยชน์ในการตรวจสอบสิ่งแวดล้อมต่างๆที่อาจมีผลต่อโครโมโซมใน germ cells

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved