การอภิปรายผล

เทคนิคที่ใช้ในการทดลองนี้นับว่าเป็นเทคนิคที่ต้องใช้ เวลา และ ความพยายามเป็นอย่างมาก เวลาที่ต้องใช้เพื่อให้เกิดความชำนาญในการทำการทดลองอย่างน้อยต้องใช้เวลาหลายเดือนเพื่อฝึกฝนเทคนิคในทุกขั้นตอน ปัญหาที่เกิดขึ้นมีมากมายนับตั้งแต่ต้องควบคุมเงื่อนไขของการทดลองให้อยู่ในสภาพที่คงที่ เช่น ปริมาณ CO_2 และ pH ของ media เนื่องจากถ้ามีการเบี่ยงเบนไปเพียงอย่างเดียวก็จะทำให้การทดลองไม่ได้ผล ถ้าปริมาณตัวอสุจิมากเกินไป ก็จะไม่ได้เมทาเฟสเนื่องจากการเข้าผสมของอสุจิหลายตัวต่อไข่ใบเดียว ทำให้เกิดกลไกยับยั้งการเข้าสู่ระยะเมทาเฟส คงอยู่ในระยะ pronucleus เท่านั้น (Martin et al., 1983)แม้จะมีบางส่วนที่อาจพัฒนาไปได้แต่ก็เป็นส่วนน้อย ตลอดจนการที่ไข่มาอยู่ชิดกันจนเกาะติดกัน (รูป 7) ก็จะทำให้ไม่สามารถเตรียมโครโมโซมได้ ในช่วงการเตรียมไข่แฮมสเตอร์นั้นผู้ทำการทดลองต้องมีความชำนาญ และรวดเร็วเพียงพอที่จะเตรียมในเวลาไม่เกิน 45 นาทีต่อหนูหนึ่งตัว เนื่องจากหากใช้เวลานานกว่านี้ก็จะมีผลต่อการพัฒนาของโครโมโซม (Martin et al., 1983)นอกจากนี้ยังมีปัญหาที่ควบคุมไม่ได้ เช่น ปริมาณไข่ที่ได้จากหนูแฮมสเตอร์หลังจากฉีดกระตุ้น และความสามารถในการเข้าผสมกับไข่หนูในแต่ละบุคคลเป็นปัญหาที่แก้ได้ยากเนื่องจากเป็นปัญหาความแตกต่างของหนูแต่ละตัว หรือคนแต่ละคนเอง

จำนวนไข่ที่สามารถดำเนินถึงขั้นตอนการเตรียมโครโมโซมมีค่าประมาณ 70 เปอร์เซนต์ โดยสูญหายเนื่องจากการแตกหรือการฝ่อ พบไข่ที่มีเมทาเฟสมีประ-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มาณ 30 เปอร์เซนต์ และจากจำนวนนี้จะมีเมทาเฟสที่กระจายได้ดีประมาณ 65 เปอร์เซนต์ เมื่อเทียบกับการศึกษาอื่นๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างมากนัก (Martin et al., 1982; Martin, 1983; Brandriff et al., 1985; Kamiguchi and Mikamo, 1986; Lin et al., 1989)

การเตรียมสไลด์โครโมโซมนับว่าเป็นขั้นตอนที่ต้องใช้การฝึกฝนเป็นอย่างมาก เพื่อจะสามารถวางไข่บนสไลด์ไม่แรงเกินไปและไม่กระจายมากหรือน้อยเกินไป เป็นผลให้สามารถทำเครื่องหมายตำแหน่งที่ไข่อยู่ได้ในเวลาที่เหมาะสม ก่อนที่ fixative จะแห้งไป รวมทั้งให้โครโมโซมอยู่ในสภาพสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ โดยไม่อยู่ชิดกันมากเกินไปตลอดจนฝึกฝนเทคนิคการปรับให้โครโมโซมกระจายอย่างเหมาะสม

การย้อมโครโมโซมเพื่อการตรวจวิเคราะห์นั้นผู้ทำการทดลองได้ทำการย้อมด้วยวิธี G- และ Q-bands พบว่ามีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันออกไป โดยการย้อมด้วย G-bands จะมีปัญหาในการย้อมมาก เนื่องจากพบว่าต้องทิ้งสไลด์ไว้ในช่วงเวลาที่นานถึง 37 วัน จึงจะได้เมทาเฟสที่มีแถบสีที่ดี (รูป 10)โดยผู้ทำการทดลองได้ทำการทดลองตั้งแต่ อายุสไลด์อยู่ในช่วง 1 วัน ถึง 40 วัน และถึงแม้สไลด์จะมีอายุ 37 วัน แต่เวลาที่ใช้ในการย่อยโครโมโซมด้วย trypsin ก็แตกต่างกันขึ้นอยู่กับโครโมโซม และปริมาณไซโทพลาสซึมที่ยังคงเหลืออยู่ จากการเตรียมโครโมโซมในแต่ละรายนั้นบางรายก็ได้เมทาเฟสน้อย การนำสไลด์มาลองย้อม G-bands เพื่อให้ได้ผลดีจึงมีข้อจำกัด สำหรับ Q-bands พบว่า อายุสไลด์ 2 อาทิตย์ ก็สามารถย้อมเพื่อตรวจวิเคราะห์ได้ และมีปัญหาน้อยกว่า G-bands โดยพบว่าโครโมโซมส่วนใหญ่จะสามารถย้อมได้ การที่ต้องเก็บสไลด์ไว้นานนี้ต่างจากการย้อมโครโมโซมที่เตรียมได้จาก somatic cells เช่น lymphocyte หรือ amnion cells ซึ่งเก็บสไลด์ไว้เพียงวันเดียวก็นำมาย้อมได้ผลดี ทั้งนี้เนื่องจากโครโมโซมที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เตรียมได้จากตัวอสุจินั้น โครงสร้างของโครโมโซมมักไม่รวมตัวกันแน่นเหมือนโครโมโซมจากเซลล์ร่างกาย คือ โครมาทินไม่รวมกันแน่นโดยเฉพาะบริเวณที่เป็น heterochromatin ได้แก่บริเวณรอบๆ เซนโทรเมียร์ของโครโมโซมทุกแท่ง (รูป 17) โดยเฉพาะส่วนต้นของแขนยาวของโครโมโซมคู่ที่ 1 9 16 และที่แขนยาวของโครโมโซม Y (รูป 16) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้แถบสีที่ย้อมได้ทั้งโดยวิธี G- และ Q-banding ไม่ชัดเจนเท่าการย้อมโครโมโซมที่เตรียมได้จากเซลล์ร่างกาย

ลักษณะ heterochromatin บนโครโมโซมที่เตรียมได้จากตัวอสุจินี้น่าจะเป็นข้อสนับสนุนหรือแนวทางการศึกษาเกี่ยวกับหน้าที่ของ heterochromatinในระยะใดระยะหนึ่งของ gametogenesis หรือในระยะแรกของการเจริญของตัวอ่อนต่อไป แต่สำหรับการตรวจวิเคราะห์นั้นเนื่องจากการเรืองแสงของ Q-bands จะลดลงเรื่อยๆ ตามเวลาที่ตรวจวิเคราะห์ ทำให้ผู้ตรวจต้องมีความชำนาญในการดูโครโมโซมทั้งของคนและของหนูแฮมสเตอร์ โดยเฉพาะเมทาเฟสส่วนมาก จะเป็นเมทาเฟสผสมระหว่างคนกับหนูแฮมสเตอร์ (รูป 13) วิธีที่ผู้ทำการทดลองเห็นว่าเหมาะสมมากคือ การถ่ายรูปโครโมโซม แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ภายหลังเป็นการลดปัญหารีบเร่งในการตรวจวิเคราะห์โครโมโซมต่างจาก G-bands ที่สามารถใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์ได้นานเท่าที่ต้องการ

จากลักษณะเมทาเฟสที่โครโมโซมสมบูรณ์และกระจายได้ดีพบว่าการย้อม G-bands จะสามารถวิเคราะห์ได้ประมาณ 60 เปอร์เซนต์ส่วนการย้อม Q-bands นั้นจะให้ผลสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ประมาณ 80 เปอร์เซนต์ นอกจากนี้การย้อมด้วย Q-bands เป็นวิธีที่สะดวกและง่ายกว่าการย้อมด้วย G-bands

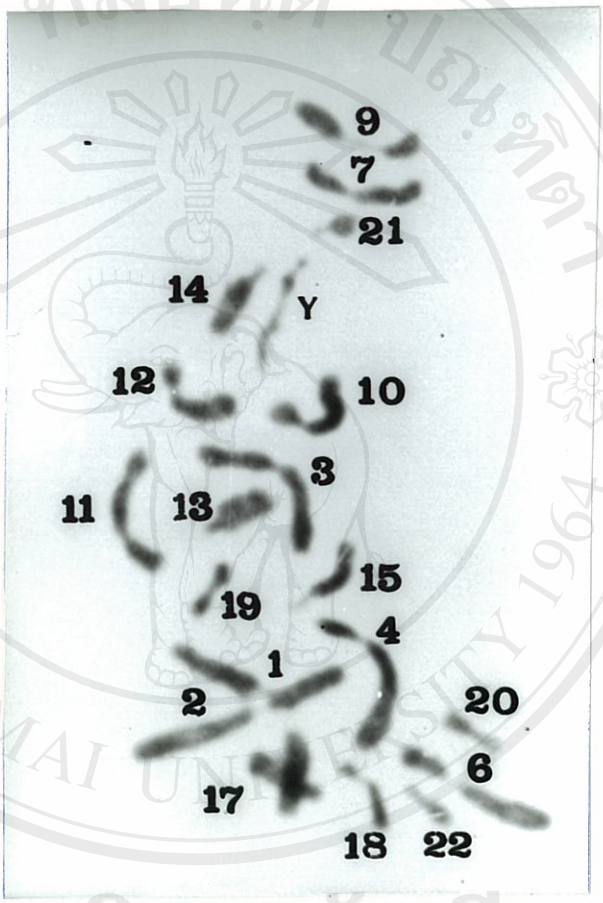
การตรวจวิเคราะห์โครโมโซมก็มีปัญหาบ้างเนื่องจากลักษณะโครโมโซมที่ได้นั้นไม่สมบูรณ์ชัดเจนเท่ากับที่เตรียมจากเซลล์ร่างกายแหล่งอื่น เช่น lymphocyte และ amnion cells ลักษณะหนึ่งของเมทาเฟสที่สามารถพบได้บ่อยๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คือ โครโมโซมแท่งที่ 1, 9, 16 และ Y ในตำแหน่งที่เป็น heterochromatin จะยืดยาวเนื่องจากมีการ condensed ของโครมาทินน้อยกว่าที่เตรียมได้จาก lymphocyte และ amnion cells (รูป 11 และ 16) และบริเวณ pericentric region ของโครโมโซมทุกแท่ง ทำให้เห็นเป็นลักษณะของ gap บริเวณเซนโทรเมียร์ (รูป 17) เนื่องจากมี incomplete condensation ของ centromeric heterochromatin (Martin et al., 1983; Brandriff et al., 1984)นั่นคือถือว่า gap เช่นนี้เป็น artifactเพราะนอกจากเหตุผลข้างต้นแล้ว อาจเป็นเพราะไข่ expose ต่อ mitotic arrestent เป็นเวลานาน (Kamiguchi and Mikamo, 1986) หรือเป็นลักษณะเฉพาะของโครโมโซมที่เตรียมได้จากตัวอสุจิ

ในบางครั้งอาจพบลักษณะของโครโมโซมที่มีการพัฒนาได้ไม่เต็มที่ที่เรียก pcc (premature chromosome condensation)(รูป 15)บางส่วนมีการพัฒนาถึง swollen sperm head stage หรือ early pronuclear stage และส่วนที่พัฒนาถึงระยะ first clevage เมทาเฟสบางส่วนก็ไม่สามารถวิเคราะห์ได้เพราะการกระจายของโครโมโซมไม่เหมาะสม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รูป 16 เป็น incomplete metaphase แสดง heterochromatin บนโครโมโซม 1 9 และ Y ที่มี decondensation (1680x)

รูป 17 รูปแสดงเมทาเฟสที่โครโมโซมมี decondensation ของ heterochromatin บริเวณเซนโทรเมียร์(3600x)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการที่ใช้ในการทดลองนี้ มีผู้ศึกษาหลายกลุ่มที่ประสบความสำเร็จในการเตรียม (Martin, 1983; Brandriff et al., 1985; Sele et al., 1985; Kamiguchi and Mikamo, 1986) ประสิทธิภาพของวิธีการทดลองขึ้นอยู่กับ

1) อัตราการเข้าผสมกับไข่ ซึ่งขึ้นอยู่กับตัวอสุจิและจำนวนไข่

2) อัตราการเป็น monospermic eggs เพราะใน polyspermic eggs พบว่าการพัฒนาของ pronuclear จะถูกยับยั้ง

ได้มีการพยายามปรับปรุงคุณภาพของเทคนิคนี้ เช่น พบว่าลักษณะ monospermic จะได้จากการผสมไข่ กับ highly capacitated spermatozoa ที่ความเข้มข้นต่ำในเวลาที่สั้น (Yanagimachi, 1984) และพบว่า Ham's F10 จะให้แถบสีของโครโมโซมชัดกว่า TC 199 แต่ TC 199 จะให้เมทาเฟสที่กระจายดีกว่า เพราะ Ham's F10 ทำให้ไซโทพลาสซึมของไข่แข็งทำให้โครโมโซมกระจายได้ไม่ดี(Kamiguchi and Mikamo, 1986)และสามารถใช้ Ionophore A 23187 เป็นตัวเร่ง sperm capacitation (Inoue et al., 1980) การแช่ไข่ใน hypotonic solution นานจะทำให้การย้อมแถบสีไม่ชัด (Martin, 1983) และถ้าความเข้มข้นของ HSA ใน capacitation และ insemination medium สูงจะเพิ่มอัตราการเข้าผสม (Benet and Martin, 1988)ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิของคนและการเข้าผสมกับไข่หนูแฮมส-เตอร์ (Binor et al., 1982; Yanagimachi, 1984; Van et al., 1986) ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการใช้ฮอร์โมนกระตุ้นการตกไข่หลายใบของหนูแฮมสเตอร์ (Fleming and Yanagimachi, 1980) Cohen และคณะ ปี 1982 พบว่าตัวอสุจิที่มีการเคลื่อนไหวต่ำ จะเข้าผสมกับไข่หนูได้ไม่ดี

จากการศึกษานี้ พบว่าปริมาณเมทาเฟสของคนที่สามารถตรวจวิเคราะห์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้ไม่ขึ้นอยู่กับความสามารถในการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ และจำนวนเมทาเฟสที่เตรียมได้โดยเฉลี่ยต่อรายในกลุ่มคนอายุ 19-25 ปีจะสูงกว่ากลุ่มคนอายุ 39-45 ปี และได้มีการศึกษาพบว่าการเข้าผสมในกลุ่มคน fertility จะสูงกว่ากลุ่ม infertility (Rogers et al., 1979; Karp et al., 1981; Zausner-Guelman et al., 1981; Martin and Taylor, 1982) แต่จากการศึกษาของ Martin และคณะ (1982) พบว่ากลุ่ม proven และ unproven fertility ไม่มีความแตกต่างเกี่ยวกับอัตราการเข้าผสม จากการศึกษาตัวอสุจิในกลุ่ม infertility ที่มีคุณภาพน้ำเชื้ออสุจิอยู่ในเกณฑ์ปกติและกลุ่ม fertility พบว่าอัตราการเข้าผสมไม่แตกต่างกัน (Wickings et al., 1983)

ความผิดปกติของโครโมโซมที่พบบางแบบอาจมีสาเหตุมาจากเทคนิคการเตรียมโครโมโซมจะแยกไว้ต่างหาก เช่น polyploidy เหตุผลเพราะเทคนิคนี้ใช่ไม่มี zona pellucida นั่นคือเป็นการไปรบกวนกลไกการป้องกันการเกิด polyspermy นอกจากนี้การพบความผิดปกติแบบ chromosome-type มีความสำคัญมากกว่า chromatid-type เพราะ chromosome-type เกิดก่อนช่วงจำลองตัวเองของโครโมโซมใน spermatogenesis ต่างจาก chromatid-type ที่จะเกิดในช่วงการจำลองตัวเองของโครโมโซมจนกระทั่งถึงช่วงการแบ่งตัวของเซลล์ นั่นคือเป็นช่วงที่เลี้ยงเซลล์ภายหลังการเข้าผสม ทำให้อาจมีเงื่อนไขของเทคนิคและปัจจัยต่างๆ ภายในไข่ของหนูแฮมสเตอร์เข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้นในบางท่าน จึงไม่นับว่าความผิดปกติของโครโมโซมแบบ chromatid-type จะสามารถนำมาเป็นตัวบ่งชี้ความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิได้ชัดเจน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4 แสดงการศึกษาต่าง ๆ ของโครโมโซมในตัวอสุจิ

ผู้ทดลอง	กลุ่มคนที่ศึกษา	จำนวน (ราย)	จำนวนตัวอสุจิ (ตัว)	ตัวอสุจิที่นำโครโมโซม X:Y (%)	โครโมโซมผิดปกติ	
					เชิงจำนวน (%)	เชิงโครงสร้าง (%)
Rudak et al., 1978	23 ปี	1	60	57:43	5	1.7
Martin et al., 1982	22-44 ปี	18	240	59.6:40.4	7.5	1.7
Martin et al., 1983	22-50 ปี	33	1000	53.9:46.1	5.2	3.3
Brandriff et al., 1984	34-39 ปี	4	909	51.9:48.1	1.5	6.5
Brandriff et al., 1985	21-49 ปี	11	2468	50.1:49.9	1.7	7.7

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4 (ต่อ)

ผู้ทดลอง	กลุ่มคนที่ศึกษา	จำนวน (ราย)	จำนวนตัวอสุจิ (ตัว)	ตัวอสุจิที่นำโครโมโซม X:Y (%)	โครโมโซมผิดปกติ	
					เชิงจำนวน (%)	เชิงโครงสร้าง (%)
Kamiguchi et al., 1986	24-39 ปี	4	1091	53:47	0.9	13.0
Jenderny and Rohrborn,1987	คนปกติ	6	129	67:62	1.6	6.2
Lin et al., 1989	-proven fertility	6	89	54:46	4.5	3.4
	-problem infertility	21	135		4.4	3.0
Songsiri,1991	19-25 ปี	16	99	70.7:29.3	3.0	3.0
	39-45 ปี	30	100	58.6:41.4	5.0	1.0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการศึกษาต่างๆได้ค่าความผิดปกติของโครโมโซมแตกต่างกันทั้งเชิงจำนวนและโครงสร้าง (ตาราง 4) อาจเป็นเพราะ ข้อแตกต่างระหว่างบุคคลและเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาของแต่ละห้องปฏิบัติการ และเนื่องจากมีค่าแตกต่างกันของจำนวนเมทาเฟสที่ได้มาเพื่อการตรวจวิเคราะห์ในแต่ละบุคคล ทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบความผิดปกติของโครโมโซมระหว่างบุคคลได้อย่างชัดเจน

จากการศึกษานี้พบว่า ความผิดปกติเชิงจำนวนในกลุ่มคนทั้งสองกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับการศึกษาอื่นๆ (Martin and Taylor, 1982; Martin et al., 1983; Brandriff et al., 1984; 1985; Lin et al., 1989; Navarro et al., 1990)และพบว่าโดยมากกลุ่ม infertility หรือ unproven fertility มีแนวโน้มความผิดปกติมากกว่ากลุ่มคนปกติหรือกลุ่มproven fertilityและจากการศึกษาต่างๆ (Martin et al., 1983; Benet et al., 1989; Navarro et al., 1990) พบแนวโน้ม hypohaploidy มากกว่า hyperhaploidy ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ technical artifactจากการเปรียบเทียบความผิดปกติเชิงจำนวนและโครงสร้างพบความผิดปกติเชิงจำนวนมีแนวโน้มสูงกว่า แต่จากการศึกษาบางรายงานให้ผลตรงกันข้าม (Brandriff et al., 1984; 1985; Kamiguchi and Mikamo, 1986; Jenderny and Rohrborn, 1987; Templado et al., 1988) ทั้งนี้อาจจะขึ้นกับจำนวนเมทาเฟสโครโมโซมที่เตรียมได้และความแตกต่างของวิธีการตรวจวิเคราะห์ และมีผู้ศึกษาพบว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างอายุและการเกิด hyperhaploid ในโครโมโซมของตัวอสุจิ (Martin and Rademaker, 1987)

ความผิดปกติเชิงโครงสร้าง ในการศึกษาความผิดปกติต่อจำนวนเซลล์พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในคนทั้งสองกลุ่ม เช่นเดียวกับการศึกษาอื่นๆ (Brandriff et al., 1984; 1985; Lin et al., 1989; Navarro et

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

al., 1990) ในบางรายงานพบว่า มีแนวโน้มว่าความผิดปกติใน กลุ่ม proven fertility หรือกลุ่มคนปกติ สูงกว่าในกลุ่ม unproven fertility หรือกลุ่ม infertility ความผิดปกติที่พบจากการศึกษานี้ส่วนมากคือ break เช่นเดียวกับการศึกษาของหลายๆ กลุ่ม (Martin et al., 1983; Kamiguchi and Mikamo, 1986; Brandriff et al., 1985) ลักษณะที่พบ break มากทำให้เป็นที่น่าสงสัยว่า break ส่วนหนึ่งเป็นผลจากเทคนิคการเตรียมโครโมโซม

จากการศึกษาของโครโมโซมจากไข่หนูในภาวะเดียวกันไม่พบ break นอกจากนี้ยังพบลักษณะผิดปกติของโครโมโซมแบบหนึ่งคือ chromosome pulverization (pvz) หรือ pcc เป็นลักษณะความผิดปกติที่เกิดจากการที่เซลล์ในระยะ interphase ถูกเหนี่ยวนำให้เข้าสู่ระยะ metaphase ก่อนเวลาอันควรทำให้บางส่วนของโครโมโซมมีการจำลองตัวเองอย่างทันทีทันใด โดยปกติเราไม่สามารถจะเห็นโครโมโซมในช่วง interphase ได้ยกเว้นจะมีการหดตัวอย่างมากของบริเวณ heterochromatin การปรากฏของ pcc ขึ้นอยู่กับระยะของวงจรเซลล์ คือระยะ G_1 pcc มีลักษณะบางและเป็นเส้นเดียว ในระยะ G_2 pcc จะเป็นเส้นคู่ และในระยะ S จะเห็นส่วนที่มีการสังเคราะห์ DNA มีขนาดใหญ่ขึ้นจำนวนความผิดปกติเชิงโครงสร้างที่คำนวณจากจำนวนแห่งที่ผิดปกติต่อจำนวนแท่งของโครโมโซมนั้น พบว่ากลุ่มอายุ 19-25 ปี สูงกว่ากลุ่มอายุ 39-45 ปี

จากการศึกษาในกลุ่มอายุ 19-25 ปี พบตัวอสุจิที่นำโครโมโซม X มากกว่าโครโมโซม Y ส่วนในกลุ่มอายุ 39-45 ปี พบว่าอัตราส่วนที่ได้ไม่ต่างจากค่าคาดหวังคือ 50:50 ทั้งนี้จากการศึกษาโดยทั่วไป (ตาราง 4) พบว่า sex ratio มีค่าใกล้เคียง 50:50 แต่ตัวอสุจิที่นำโครโมโซม X มีแนวโน้มมากกว่าตัวอสุจิที่นำโครโมโซม Y แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ สาเหตุอาจเป็นที่ meiosis สร้างโครโมโซม X และ Y ไม่เท่ากันซึ่งอาจเนื่องมาจาก postmeiotic

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

differentiation, gene expression, selective loss during sperm development, differential survival, functioning of the sperm following maturation หรือ เทคนิคนี้ให้โอกาสโครโมโซม X เข้าผสมได้มากกว่าแต่จากการศึกษาไม่พบหลักฐานสนับสนุนว่าโครโมโซม X หรือ Y จะมีผลต่อการเข้าผสม (Epstein and Travis, 1979; Redi et al., 1984; Sonta et al., 1984)

จากผลการศึกษาในกลุ่มอายุ 19-25 ปี ที่ได้อัตราส่วนแตกต่างไปจากการศึกษาอื่นยกเว้นการศึกษาของ Martin และคณะ 1982 ที่พบว่าในกลุ่มคนปกติมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ น่าจะเกิดจากกลุ่มตัวอสุจิที่เราสามารถตรวจวิเคราะห์ได้มีโครโมโซมเช่นนี้จริงและไม่ควรจะเป็นค่าความโน้มเอียงจากทางเทคนิคเนื่องจากในกลุ่มคนอายุ 39-45 ปี ได้ค่าอัตราส่วนใกล้เคียงกับค่าคาดหวัง อย่างไรก็ตามในการเตรียมโครโมโซมเพื่อตรวจวิเคราะห์นั้น มีโครโมโซมบางส่วนไม่สามารถจะตรวจวิเคราะห์ได้เนื่องจาก การกระจายของโครโมโซมไม่เพียงพอหรือกระจายมากเกินไป นับว่าเป็นส่วนหนึ่งของการสูญหายทางข้อมูล

เทคนิคนี้ใช้เวลา ความชำนาญ และความพยายามเป็นอย่างมากสิ่งที่ยากที่สุดของการเตรียมคือการทำให้โครโมโซมกระจายได้ดี ผลที่ได้จากการเตรียมมีคุณภาพใกล้เคียงกับการศึกษาโดยทั่วไป สิ่งที่ควรปรับปรุงต่อไปคือการเพิ่มอัตราการเข้าผสมเพื่อให้ได้โอกาสที่จะได้เมทาเฟสมาตรวจวิเคราะห์ได้เพิ่มขึ้น ข้อมูลที่ได้เป็นการเพิ่มเติมข้อมูล เนื่องจากรายงานความสัมพันธ์ความผิดปกติของโครโมโซมของตัวอสุจิในคนปกติ และกลุ่ม infertility มีรายงานน้อย และข้อมูลของโครโมโซมของหนูแฮมสเตอร์ที่ได้เสนอไว้ในที่นี้ก็อาจจะใช้เป็นข้อมูลหนึ่ง เพื่อประโยชน์ในการวิเคราะห์ด้านต่อๆไปได้ ผลพลอยได้จากงานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ต่อไป คือขณะเราเตรียมโครโมโซมของตัวอสุจินั้น เราจะเตรียมโครโม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โซมของหนูแฮมสเตอร์ได้ด้วย เราจึงสามารถนำวิธีการนี้ไปใช้ในการทดสอบสารที่สงสัยว่าจะเป็น mutagen ซึ่งโดยทั่วไปเราทดสอบแต่ผลต่อ mitotic chromosome ของ somatic cells เช่น lymphocyte ส่วนผลต่อเซลล์สืบพันธุ์หรือต่อ meiotic chromosome นั้น มีความไวต่อสารพวก mutagen ต่างจาก mitotic chromosome เราทดสอบได้ยาก เราจึงนำวิธีนี้ไปศึกษาได้โดยให้หนูแฮมสเตอร์ตัวเมียได้รับสารที่ต้องการทดสอบ อาจโดยการกินหรือฉีด แล้วกระตุ้นให้มีการตกไข่และให้ผสมกับตัวอสุจิแล้วเตรียมโครโมโซมของไข่หนูมาตรวจวิเคราะห์ ถ้าสารที่ต้องการทดสอบทำให้มีความผิดปกติของโครโมโซมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าสารนั้นเป็นอันตรายต่อโครโมโซมของเซลล์สืบพันธุ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved