บทที่ 1

บทนำ

ในปี 1956 Tjio และ Levan ได้พบว่าโครโมโซมของมนุษย์มี 46 โครโมโซม โดยมีโครโมโซมร่างกาย (autosomes) 22 คู่ และมีโครโมโซมเพศ (sex chromosomes) 1 คู่ โดยผู้ชายจะมีโครโมโซม 46, XY และผู้หญิงจะมีโครโมโซม 46,XX ต่อมาในปี 1959 Lejeune พบ trisomy 21 ในผู้ป่วย Down's syndrome Ford และคณะ (1959) พบโครโมโซม 45,X ใน Turner syndrome Jacobs และคณะ (1959) พบโครโมโซม 47,XXY ใน Kline felter's syndrome หลังจากนั้นความรู้ทางด้านเซลพันธุศาสตร์ของมนุษย์ก็เจริญก้าวหน้าอย่างรวดเร็ว ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับโครโมโซมของมนุษย์อย่างมากมายทางด้าน cytogenetics การวิเคราะห์โครโมโซมมีความสำคัญเป็นอย่างมาก เนื่องจากความผิดปกติของโครโมโซมเป็นสาเหตุของโรคทางพันธุกรรมหลายชนิด และเป็นปัญหาสำคัญทางการแพทย์ เช่น เป็นสาเหตุของภาวะปัญญาอ่อนและมีความผิดปกติของร่างกายในเด็ก การเสียชีวิตในวัยเด็ก การแท้งบุตร การเป็นหมัน และเป็นสาเหตุของโรคมะเร็งหลายชนิด ซึ่งความผิดปกติของโครโมโซมแบ่งได้เป็น 4 ประเภท ได้แก่

1. ความผิดปกติเชิงโครงสร้าง (structural aberration)
2. ความผิดปกติเชิงจำนวน (numerical aberration)
3. โมเซอิซิสซึม (mosaicism)
4. ไคเมอริซึม (chimerism)

ความผิดปกติเชิงโครงสร้าง (Structural aberration)

คือลักษณะความผิดปกติของรูปร่างและการชำรุดเสียหายของโครโมโซมบางส่วน โดยแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. Chromosome-type aberration

เป็นความผิดปกติของโครโมโซมซึ่งเกิดขึ้นในระยะ G1 ของการแบ่งเซลล์ ซึ่งเป็นช่วงที่มีการเตรียมการสร้างสาย DNA ซึ่งจะมีระยะเวลาแตกต่างกันระหว่างเซลล์ต่างชนิดกัน ซึ่งลักษณะของโครโมโซมระยะนี้มีหนึ่งโครมาทิดเป็นเส้นเดียวบางๆ เมื่อมีการแบ่งเซลล์จนถึงระยะ metaphase แล้วเตรียมโครโมโซมมาศึกษา จะพบความผิดปกติบนทั้งสองโครมาทิดในตำแหน่งเดียวกัน เช่น

1.1 Chromosome gap (Csg) เป็นลักษณะที่มีการชำรุดหรือย้อมไม่ติดสี หรือติดสีจางตรงตำแหน่งเดียวกันของแท่งโครมาทิด อาจเห็นเส้นใยบางๆ เชื่อมอยู่และส่วนที่ชำรุดแตกหักยังคงอยู่

1.2 Chromosome break (Csb) เป็นลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมที่ส่วนของโครมาทิดทั้งสองแท่งขาดแยกออกจากโครโมโซมเดิม

1.3 Chromosome deletion (Csd) เป็นลักษณะความผิดปกติที่มีส่วนที่ขาดหายไปของบางส่วนบนทั้งสองโครมาทิดในตำแหน่งเดียวกัน แบ่งเป็น terminal delation และ interstitial deletion

1.4 Ring chromosome (r) เป็นลักษณะความผิดปกติที่มีการขาดหายไปของเนื้อโครโมโซมพร้อมๆ กันที่ปลายแท่งสองข้าง แล้วปลายส่วนที่เหลือจะมีโอกาสติดกันเป็นวงกลมคล้ายกับวงแหวน

1.5 Dicentric chromosome (dic) เป็นลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมที่มีเซนโทรเมียร์สองแห่ง สาเหตุเกิดจากมีการแตกหักของโครโมโซมสองตัว แล้วปลายที่แตกหักของโครโมโซมแต่ละตัวมาเชื่อมกันทำให้ได้โครโมโซมที่มีสองเซนโทรเมียร์

1.6 Acentric fragment (ace) เป็นลักษณะความผิดปกติที่มีชิ้นส่วนของโครโมโซมที่หลุดออกมาโดยไม่มีเซนโทรเมียร์

1.7 Isochromosome (i) เป็นลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมที่โครโมโซมประกอบด้วย short arm หรือ long arm อย่างใดอย่างหนึ่ง สาเหตุเกิดจากการแยกตัวที่ผิดปกติของโครมาติด ซึ่งตามปกติแล้วจะต้องมีการแยกออกตามแนวยาวของแท่งโครโมโซม แต่โครโมโซมมีการแยกออกตามแนวขวาง ทำให้ได้โครโมโซมที่ประกอบด้วยเฉพาะแขนสั้นหรือแขนยาว หรืออาจเกิดจากมี translocation ระหว่าง homologous chromosomes 2 ตัว โดยที่มี break points อยู่บริเวณรอบๆ เซนโทรเมียร์

1.8 Translocation (t) คือการมีบางส่วนของโครโมโซมสลับที่กัน เนื่องจากมีการขาดของโครโมโซมสองตัว แล้วส่วนที่ขาดไปต่อกับโครโมโซมอีกตัวหนึ่ง ยังแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ คือ Reciprocal translocation และ Robertsonian translocation Reciprocal translocation เป็นการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมระหว่างคู่ใดก็ได้ ส่วน Robertsonian translocation นั้น เกิดขึ้นระหว่าง acrocentric chromosomes โดยการเชื่อมต่อกันระหว่างแขนยาวกับแขนยาว หรือระหว่างแขนสั้นกับแขนสั้น อาจเรียกการแลกเปลี่ยนส่วนของโครโมโซมแบบนี้ว่าเป็นแบบ centromere fusion

2. Chromatid-type aberration

เป็นความผิดปกติของโครโมโซมที่พบบนโครมาทิดเพียงโครมาติดเดียว หรือบนทั้งสองโครมาติดแต่คนละตำแหน่งเท่านั้น ซึ่งความผิดปกตินี้จะเกิดขึ้นในระยะ S หรือหลังระยะ S ของขบวนการแบ่งเซลล์ เช่น

2.1 Chromatid gap (ctg) เป็นลักษณะความผิดปกติที่แท่งโครมาทิดช่วงแคบๆ ที่ย้อมไม่ติดสี หรือติดจางกว่าส่วนอื่นมาก และความกว้างไม่เกินความกว้างของเส้นโครมาทิดและตำแหน่งยังอยู่ในแนวเดิม อาจจะมองเห็นเส้นใยบางๆ เชื่อมอยู่

2.2 Chromatid break (ctb) เป็นลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมที่มีส่วนของโครมาทิดหักขาดออกจากกันโดยมีความกว้างมากกว่าขนาดความกว้างของเส้นโครมาทิด และมักจะเบี่ยงเบนไปจากแนวเดิม

2.3 Chromatid delation (ctd) เป็นลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมที่มีการหักของแท่งโครมาทิดขาดหลุดออกจากแท่งโครโมโซม

2.4 Chromatid exchange (cte) เป็นลักษณะความผิดปกติที่มีการแลกชิ้นส่วนของโครมาทิด โดยแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

2.4.1 Interchange

มีการแลกเปลี่ยนส่วนของโครมาทิดระหว่างโครโมโซมที่อยู่ชิดกัน

2.4.2 Intrachange

มีการแลกเปลี่ยนส่วนของโครมาทิดที่เกิดขึ้นภายในโครโมโซมเดียวกัน

สาเหตุความผิดปกติเชิงโครงสร้าง

เกิดจากปัจจัยหลายอย่างที่ทำให้เกิดความผิดปกติเชิงโครงสร้างของโครโมโซม อาจแบ่งเป็นสองปัจจัยใหญ่ คือ ปัจจัยภายในร่างกายของคนคนนั้นเอง หรือปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น

1. รังสีต่างๆ เช่น X-rays, γ-rays, neutron particle

2. สารเคมี เช่น Lead, chromium, cadmium, benzol, vinylchloride จากยาต่างๆ เช่น methotrexate, mitomycin C, BrdU, nitrous acid, adriamycin, bleomycin, trenimon หรือสารธรรมชาติได้แก่ alkaloid และ aflatoxin B_1

3. เชื้อโรคต่างๆ ที่สำคัญได้แก่ เชื้อไวรัส เช่น เชื้อโรคหัดเยอรมัน, งูสวัด, อีสุกอีใส, ตับอักเสบ, คางทูม เป็นต้น

4. สาเหตุจากโรคพันธุกรรมบางชนิด

มีโรคพันธุกรรมบางโรคที่ผู้ป่วยมี structural chromosome aberation สูงกว่าปกติ มักเรียกผู้ป่วยเหล่านี้ว่าเป็น chromosome instability syndromes ซึ่งพบว่ามีการถ่ายทอดแบบ autosomal recessive inheritance ได้แก่ โรค Fanconi-Anemia, Bloom-Syndrome, Louis-Bar Syndrome (Ataxia telangiectasia) และ Xeroderma pigmentosum เป็นต้น จากการศึกษาพบว่ามีความผิดปกติของเอนไซม์ซึ่งอาจเกี่ยวกับ DNA metabolism หรือ repairing ของ DNA

5. ในผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งไม่ว่าจะเป็น solid tumors หรือ leukemia พบว่าเซลล์มะเร็งหลายชนิดจะมีความผิดปกติของโครโมโซมร่วมด้วย เช่นใน chronic myelogenous, leukemia จะพบ translocation ระหว่างโครโมโซมคู่ที่ 9 และ 22 มะเร็งต่อมน้ำเหลืองพบมี translocation ระหว่างโครโมโซมคู่ที่ 18 และ 14 เป็นต้น

ความผิดปกติเชิงจำนวน (numerical aberration)

หมายถึงการมีจำนวนโครโมโซมที่ผิดไปจากปกติ ได้แก่

Aneuploidy หมายถึงการที่จำนวนโครโมโซมเกินหรือขาดหายไป ในคนปกติมี 46 โครโมโซม เป็น antosomes 22 คู่ sex chromosomes 1 คู่ โดยผู้ชายเป็น 46,XY ผู้หญิงเป็น 46,XX

1. **Trisomy** หมายถึงมีจำนวนโครโมโซมตัวใดตัวหนึ่งเกินมา เช่น 47,XY,+13 ในผู้ป่วย Patau's syndrome 47,XX,+18 ในผู้ป่วย Edward's syndrome 47,XX,+21 ใน Down's syndrome 47,XXY ใน Klinefelter's syndrome 47,XXX ใน Superfemale เป็นต้น

สาเหตุของ trisomy นั้น ส่วนใหญ่เกิดจาก nondisjunction ของโครโมโซมใน meiosis ซึ่งอาจเกิดจาก homologous chromosome ไม่แยกกันใน meiosis I หรือ chromatids ไม่แยกไปแต่ละขั้วของเซลล์ใหม่ในระยะ anaphase ของการแบ่งเซลล์ใน meiosis II หรือการแบ่งเซลล์แบบ mitosis ทำให้ได้เซลล์ลูกที่มีโครโมโซมขาดหรือเกินไป ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากความผิดปกติของ spindle fibers ที่ไม่สามารถดึงโครโมโซมไปสู่ตำแหน่งปกติ (Sugawara และ Mikomo, 1980) ทำให้เกิด gametes ที่มีโครโมโซมเกินหรือขาด เมื่อ gamete ที่มีโครโมโซมเกินมีการปฏิสนธิจะได้ไซโกตที่มีโครโมโซมเป็น trisomy การเกิด nondisjunction ใน meiosis นั้นพอจะแบ่งได้ 2 ระยะ คือ

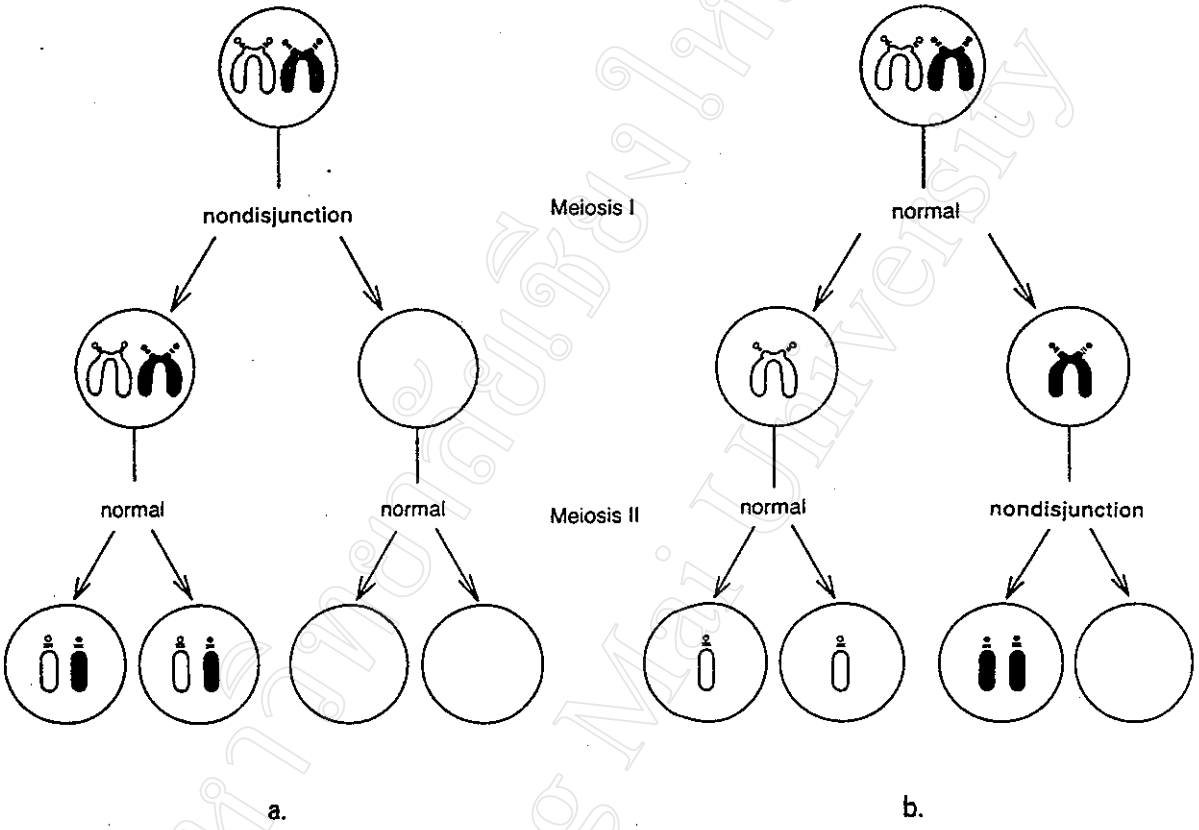
1. Meiotic I nondisjunction

เกิดจาก homologous chromosomes ที่มาเข้าคู่กันในระยะ metaphase I แล้วไม่แยกจากกัน จะเคลื่อนที่ไปอยู่ในเซลล์ลูก (daughter cell) เซลล์เดียวกัน ผลลัพธ์ทำให้ได้ gametes 2 แบบ คือ เซลล์ลูกที่มีโครโมโซมเกินมา 1 ตัว และเซลล์ลูกที่มีโครโมโซมขาดไป 1 ตัว ในรูปที่ 1a.

2. Meiotic II nondisjunction

เกิดจาก sister chromatids ของโครโมโซมตัวใดตัวหนึ่งเมื่อแยกจากกันตรงเซนโทรเมียร์แล้วไม่เคลื่อนที่แยกออกจากกัน แต่เคลื่อนที่ไปด้วยกันในเซลล์ลูกเซลล์ใดเซลล์หนึ่ง ผลลัพธ์ทำให้ได้ gametes ที่โครโมโซมเกินและโครโมโซมขาด ดังรูปที่ 1b.

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



รูปที่ 1 แสดงการเกิด nondisjunction ของโครโมโซมคู่ที่ 21

ถ้าเกิด nondisjunction ที่ meisois I จะได้ gametes มีโครโมโซม 21 เกิน 2 เซลล์ และ gametes ที่ขาดโครโมโซม 21 2 เซลล์ ดังรูป a. ถ้าเกิด nondisjunction ที่meiosis II จะได้ gametes มีโครโมโซมผิดปกติ 2 เซลล์ (โครโมโซม 21 เกิน 1 เซลล์ โครโมโซม 21 ขาด 1 เซลล์) และ gametes ปกติ 2 เซลล์ ดังรูป b. (Thompson และคณะ, 1991)

2. **Monosomy** หมายถึงการมีโครโมโซมตัวใดตัวหนึ่งขาดไป ไซโกตที่มีโครโมโซมตัวใดตัวหนึ่งขาดไปนั้นเกือบทั้งหมดจะเกิดการแท้ง เช่น มีคาริโอไทป์ 45,XX,-21, 45,XY,-21 ใน monosomy 21 หรือ 45,X ใน Turner syndrome

สาเหตุการเกิด monosomy

1. ภาวะ nondisjunction ทั้งใน meiosis I และ meiosis II gametes ที่โครโมโซมขาดไป เมื่อมีการปฏิสนธิจะได้ไซโกตเป็น monosomy

2. chromosome loss หมายถึงการที่โครโมโซมขาดหายไปในระหว่างการแบ่งเซลล์ ซึ่งโดยปกติจะเกิดขึ้นในระยะ anaphase เป็นระยะที่โครโมโซมจะเคลื่อนไปยัง 2 ข้างของเซลล์ ถ้ามีโครโมโซมบางโครโมโซมที่เคลื่อนที่ช้าเรียกว่าเกิด anaphase lagging พอเข้าสู่ระยะ Telophase จะมีการสร้าง nuclear membrane หุ้มเซลล์ลูก ทำให้โครโมโซมที่เคลื่อนที่ช้าจะอยู่นอกนิวเคลียสและหายไปในที่สุด ซึ่งถ้า anaphase lagging เกิดในการแบ่งตัวแบบ mitosis ในระยะแรกของตัวอ่อน (zygote) ผลลัพธ์จะทำให้ได้เซลล์ที่มีโครโมโซมขาดหายไป เช่นใน Turner syndrome ซึ่งมีคาริโอไทป์เป็น 45,X

3. **Triploidy** จำนวนโครโมโซมเป็น 3n (3n = 69) มีคาริโอไทป์เป็น 69,XXX 69, XXY 69,XYY เป็นต้น สาเหตุเกิดจากไข่ปกติผสมกับอสุจิ 2 ตัว (dispermy) หรือไข่ที่มีโครโมโซม 2n ผสมกับอสุจิ 1 ตัว (digyny) ส่วนใหญ่จะแท้งในระยะแรกของการตั้งครรภ์ มีส่วนน้อยที่จะรอดชีวิตจนกระทั่งคลอดเป็นทารก ถ้าโครโมโซมที่เกินมาจากพ่อ รกมีลักษณะผิดปกติ และเป็น partial hydatidiform moles แต่ถ้าโครโมโซมที่เกินมาจากแม่จะมีการแท้งตั้งแต่ระยะแรกของการตั้งครรภ์ (Thompson, et al., 1991)

4. **Tetraploidy** จำนวนโครโมโซมเป็น 4n (4n = 92) มีคาริโอไทป์เป็น 92,XXYY 92,XXXX เป็นต้น สาเหตุเกิดจากการปฏิสนธิที่ผิดปกติ อาจเกิดจากไข่ 1 ใบผสมกับอสุจิ 3 ตัว หรือไข่ 1 ใบ และ polar body 1 ใบผสมกับตัวอสุจิ 2 ตัว แล้วรวมเป็นไซโกตเดียวจะได้ไซโกตมี 92 โครโมโซม ไซโกตที่มีโครโมโซม 4n จะแท้งตั้งแต่ระยะแรกของการตั้งครรภ์

โมเซอิซิสซึม (mosaicism)

หมายถึงการที่เซลล์ร่างกายที่มีคาริโอไทป์มากกว่า 1 แบบ สาเหตุเกิดจากความผิดปกติในการแบ่งเซลล์หรือมีการแยกตัวของโครโมโซมผิดปกติ**ภายในตัวบุคคลนั้นเอง** โดยอาจ

เกิดจาก nondisjunction หรือ anaphase lagging ในการแบ่งเซลล์แบบ mitosis ในระยะแรกของ zygote เช่น มีคาริโอไทป์ 45,X/46,XX 46,XY/47,XY,+21 หรือ 45,X/46,XX/47,XXX เป็นต้น

ไคเมอริซึม (Chimerism)

หมายถึงการที่เซลล์ร่างกายมีเซลล์ 2 แบบ ที่มีคาริโอไทป์ต่างกันและคาริโอไทป์ทั้งสองแบบนั้นมี sex chromosomes ต่างกันด้วย Chimerism มี 2 ชนิด คือ

- Zygotic chimerism เกิดจากไข่สองใบผสมกับอสุจิ 2 ตัว โดยตัวหนึ่งมีโครโมโซม X อีกตัวหนึ่งมีโครโมโซม Y แล้วรวมกันเป็นไซโกตเดียว ไปฝังตัวเจริญเป็นเอ็มบริโอเดียว

- postzygotic chimerism เกิดจากการแลกเปลี่ยนเซลล์ระหว่างคน 2 คน ในคู่แฝดไข่ต่างใบ หรือจากการปลูกถ่ายไขกระดูกทำให้ได้เซลล์ร่างกาย 2 ชนิด

การแบ่งเซลล์

เมื่อมีการปฏิสนธิเกิดขึ้นจากการผสมกันของอสุจิกับไข่แล้ว จะเกิดเป็น zygote เป็นเซลล์เริ่มแรกของเซลล์ทุกเซลล์ในร่างกาย ซึ่งจะมีการแบ่งตัวแบบ mitosis อย่างต่อเนื่อง เพิ่มจำนวนเซลล์เจริญเติบโตเป็นเอ็มบริโอและเซลล์ที่ได้มีการแบ่งตัวต่อไป พร้อมทั้งมีการเปลี่ยนแปลงเจริญไปเป็นเนื้อเยื่อต่างๆ แตกต่างกันไปตามหน้าที่ของเซลล์ เมื่อเซลล์ผ่านระยะ mitosis ก็จะเข้าสู่ระยะ interphase ก่อนที่จะไปยังระยะ mitosis ต่อไป ระยะ interphase นี้แบ่งได้เป็น 3 ระยะ ได้แก่ G1 S และ G2 ทำให้ cell cycle ประกอบด้วย 4 ระยะ ได้แก่ (แสดงในรูปที่ 2)

1. **ระยะ G1 (Gap 1)** ระยะนี้เซลล์จะไม่มีการสร้างดีเอ็นเอ เซลล์แต่ละชนิดจะอยู่ในช่วงนี้แตกต่างกัน ซึ่งในระยะนี้เซลล์จะมีการเตรียมสิ่งต่างๆ เพื่อใช้ในการสร้างดีเอ็นเอ ลักษณะของโครโมโซมเป็น double helix สายเดียว

2. **ระยะ S** เป็นระยะที่เซลล์มีการสร้างดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นอีกหนึ่งเท่า (DNA replication) ซึ่งโครโมโซมมีลักษณะเป็น 2 double helices หรือมีสองโครมาติด

3. **ระยะ G2** เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น มีการสร้าง RNA และ proteins เพิ่มขึ้น เตรียมพร้อมจะเข้าสู่การแบ่งตัวแบบ mitosis ต่อไป

4. mitosis เป็นระยะที่สั้นที่สุดของ cell cycle ซึ่งยังสามารถแบ่งออกได้เป็น 5 ระยะ ดังนี้ (แสดงในรูปที่ 3)

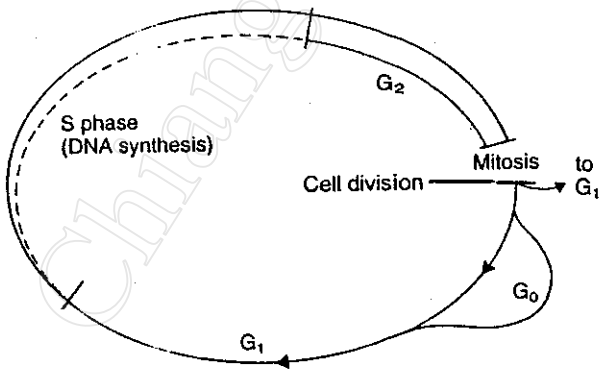
4.1 **ระยะ** Prophase มีการหดตัวและแยกจากกันของโครโมโซม นิวคลีโอลัสเริ่มหายไป centriole เคลื่อนที่ไปที่แต่ละขั้วของเซลล์ มี spindle fibers ไปยึดกับ centrioles

4.2 **ระยะ** Prometaphase nuclear membrane เริ่มแตกออกทำให้โครโมโซมกระจายภายในเซลล์ โดยมี spindle fiber ยึดตรงบริเวณ kinetochore ซึ่งจะอยู่สองข้างของ centromere ของโครโมโซม โครโมโซมหดสั้นลงอีก

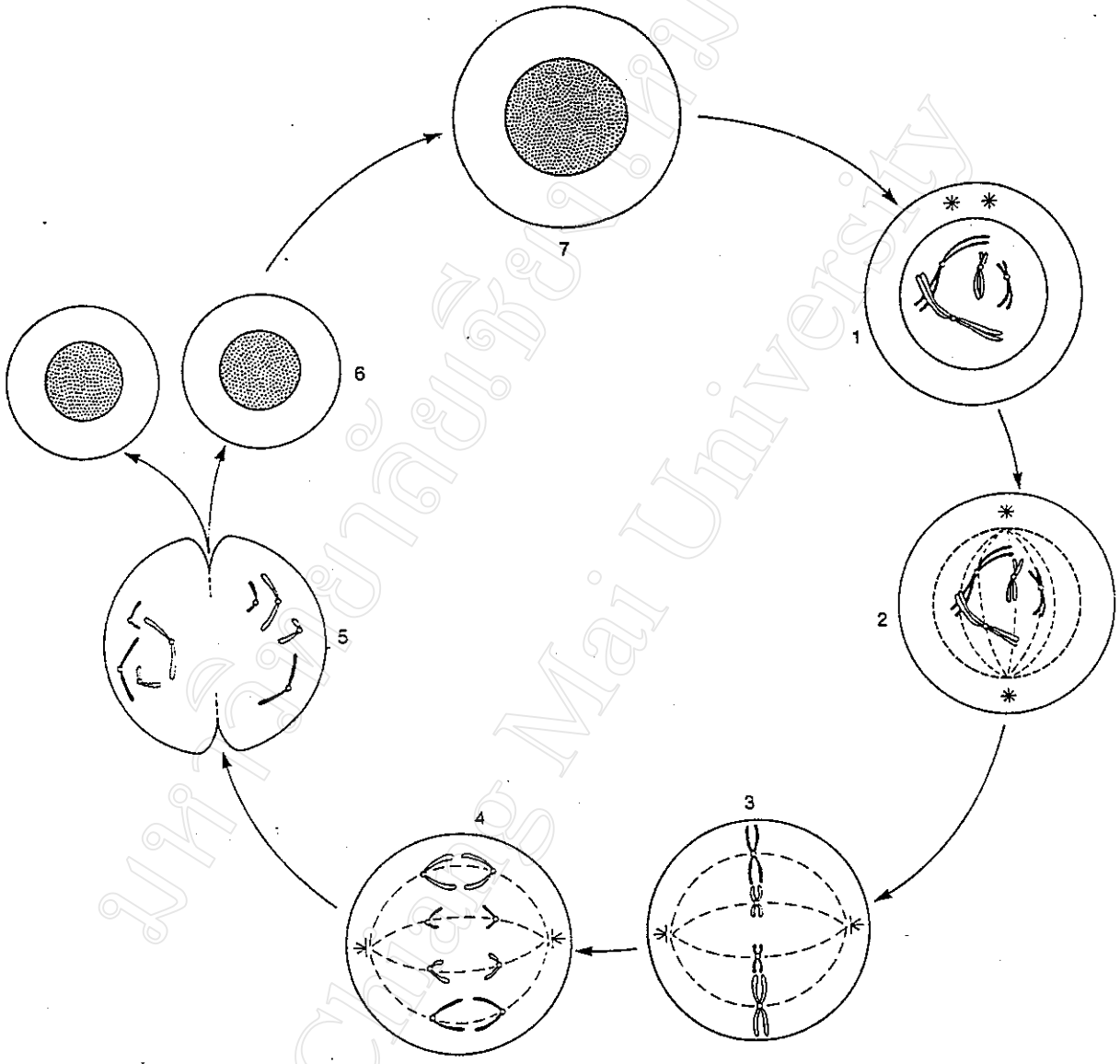
4.3 **ระยะ** metaphase ระยะนี้โครโมโซมหดสั้นยิ่งขึ้น เห็นเป็นสองโครมาติดชัดเจน โครโมโซมจะเคลื่อนไปอยู่บริเวณกลางเซลล์

4.4 **ระยะ** anaphase มีการแยกออกจากกันของโครมาติดทั้งสองของโครโมโซมแต่ละคู่ตรงตำแหน่ง centromere แต่ละโครมาติดจะเคลื่อนที่แยกจากกันไปที่แต่ละขั้วของเซลล์ ตรงตำแหน่งของ centriole

4.5 **ระยะ** telophase โครโมโซมเริ่มมีการคลายตัวลง มี nuclear membrane เกิดขึ้นรอบๆ สอง daughter nuclei มีขบวนการ cytokinesis คือมีการแบ่ง cytoplasm โดยการคอดของผนังเซลล์ ทำให้ได้เซลล์ลูกสองเซลล์ ซึ่งอยู่ในระยะ interphase ต่อไป



รูปที่ 2 แสดงระยะต่างๆ ของ cell cycle (Thompson และคณะ, 1991)



รูปที่ 3 การแบ่งเซลล์แบบ mitosis แสดงการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมเพียง 2 คู่

1. prophase; 2. prometaphase; 3. metaphase; 4. anaphase; 5. telophase;

6, 7. interphase (Thompson และคณะ, 1992)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

Meiosis

Meiosis เป็นการแบ่งเซลล์ของเซลล์สืบพันธุ์ซึ่งเป็น dipolid cell ผลลัพธ์จากการแบ่งเซลล์แบบนี้ทำให้ได้เซลล์ลูกเป็น haploid gametes เซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์สืบพันธุ์ในระยะเอ็มบริโอจะอยู่บริเวณผนังของ yolk sac ต่อมาจะเคลื่อนที่ไปยังบริเวณที่จะเจริญเป็นรังไข่หรืออัณฑะ โดยจะมีการแบ่งตัวแบบ mitosis เพิ่มจำนวนมากขึ้นได้เป็น spermatogonia ใน seminiferous tubules หรือ oogonia ภายในรังไข่ การแบ่งตัวแบบ meiosis แบ่งเป็น 2 ระยะ ได้แก่

1. **First meiotic division (Meiosis I)** หรือเรียกว่า reduction division เพราะมีการลดจำนวนโครโมโซมจาก 46 โครโมโซมเป็น 23 โครโมโซม และยังสามารถแบ่งเป็นระยะต่างๆ ได้ดังนี้

1.1 **ระยะ Prophase I** มีความสลับซับซ้อนมากกว่าแบบ mitosis ยังแบ่งเป็นระยะต่างๆ อีก ดังนี้

1.1.1 **Leptotene** ระยะนี้โครโมโซมผ่านระยะ S แยกออกจากกันมาแล้ว โครโมโซมประกอบสองโครมาติดแนบชิดกันไม่สามารถมองเห็นโครมาติดทั้งสองเส้นด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาได้ ลักษณะคล้ายเส้นด้ายเริ่มหดตัวสั้นเข้า

1.1.2 **Zygotene** ระยะนี้มีการเข้าคู่ของโครโมโซมที่เป็นคู่กัน (homologous chromosomes) ตลอดความยาวของ homologous chromosomes ซึ่งเรียกว่า synapsis โครโมโซมจะยึดติดกันเป็นบางจุดเท่านั้น เรียกบริเวณที่ยึดติดกันนี้ว่า synaptinemal complex สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องอิเลคตรอน ซึ่งจะเป็นบริเวณที่มี crossing over ในกรณีของ spermatocytes ซึ่งมีโครโมโซมเพศ X และ Y ซึ่งมีขนาดต่างกัน จะเอาบริเวณของปลายของแขนสั้นของ X และ Y เท่านั้น synapsis

1.1.3 **Pachytene** ระยะนี้ homologus chromosomes แนบชิดกันยิ่งขึ้น การ synapsis เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์และมีการหดสั้นเข้าเห็น homologous chromosomes เป็นคู่ๆ เรียกว่า bivalent ซึ่งประกอบด้วยสี่โครมาติด จึงเรียกว่า Tetred pachytene เป็นระยะที่เกิด crossing over มีการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ synapsis

1.1.4 **Diplotene** โครโมโซมแต่ละ bivalent จะหดสั้นหนาขึ้นและเริ่มแยกออกจากกัน แต่ยังมีส่วนที่ติดกันคือ บริเวณเซนโทรเมียร์ และบริเวณ Chiasmata ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการ crossing over เกิดขึ้น

1.1.5 **Diakinesis** เป็นระยะที่โครโมโซมหดตัวมากยิ่งขึ้น โครโมโซมที่เข้าคู่กันแยกออกจากกันมากยิ่งขึ้น มีการหลุดออกของ chiasmata เริ่มมี spindle fiber เกิดขึ้น nuclear membrane หายไป แล้วจะเข้าสู่ metaphase I

1.2 **metaphase I** ระยะนี้ nuclear membrane หายไป มี spindle fibers เกิดขึ้น โครโมโซมอยู่กลางเซลล์

1.3 **anaphase I** ระยะนี้โครโมโซมที่เข้าคู่กันจะแยกออกจากกัน และเคลื่อนไปบริเวณขั้วเซลล์คนละด้าน โดย spindle fiber ได้ daughter nuclei ประกอบด้วย 23 โครโมโซม ซึ่งมีทั้งที่มาจากพ่อและแม่ปนกัน

1.4 **Telophase I** ระยะนี้มีการสร้าง nuclear membrane เกิดขึ้นรอบๆ โครโมโซมแต่ละขั้ว และจะมีขบวนการ cytokinesis แบ่ง cytoplasm ผนังเซลล์จะคอดเข้าแล้วแบ่งได้ daugter cells สองเซลล์ ในผู้ชาย daughter cells จะมีขนาดเท่าๆ กัน ในผู้หญิงเซลล์หนึ่งมีขนาดใหญ่อีกเซลล์หนึ่งมีขนาดเล็ก daugter cells

2. **second meiotic division (meiosis II)**

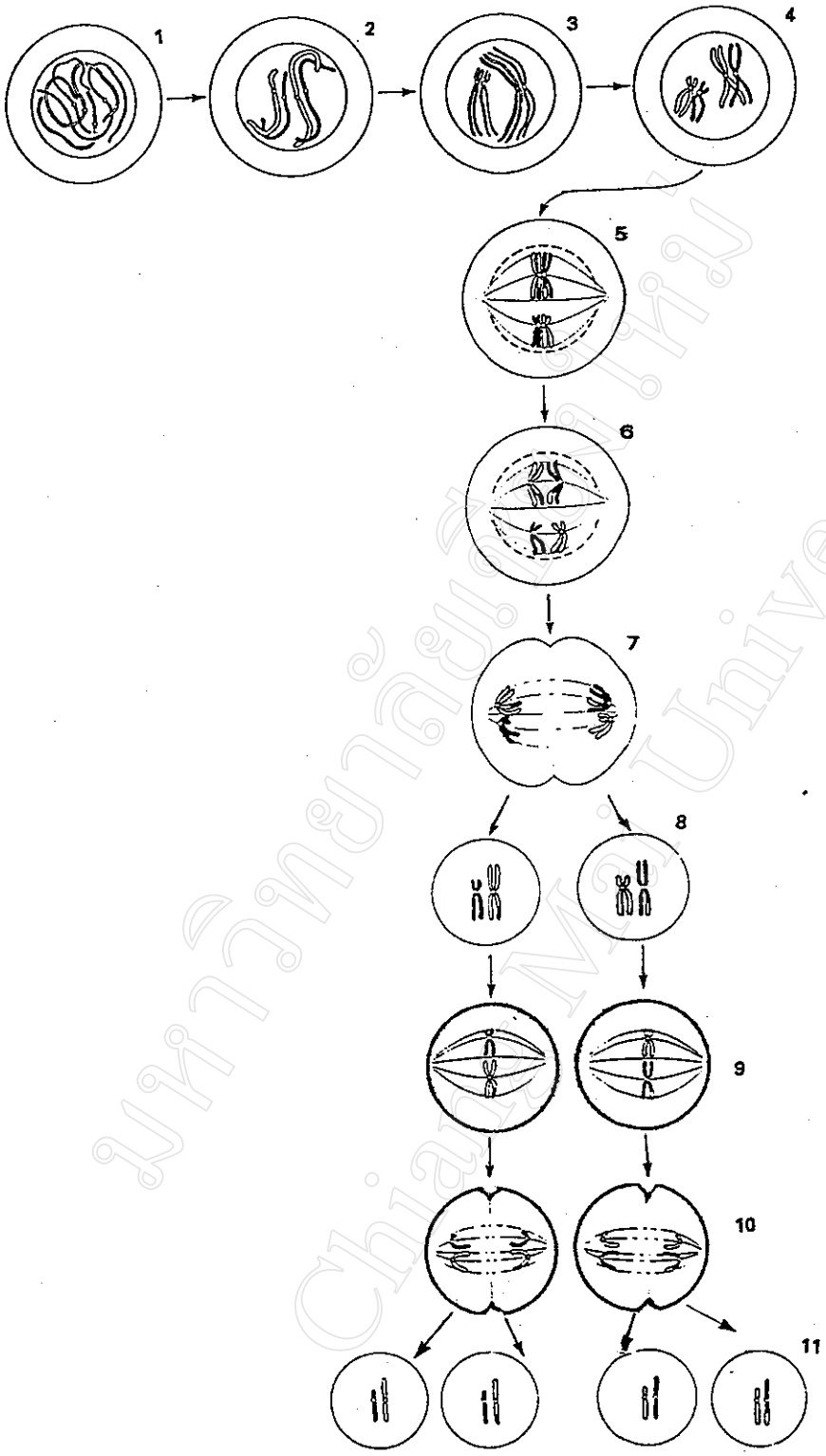
ในการแบ่งตัวแบบ meiosis II นี้จะคล้ายกับ mitosis แต่จะแตกต่างกันตรงที่ว่าจำนวนโครโมโซมของ meiosis II มี 23 โครโมโซม สามารถแบ่งเป็น 3 ระยะ ดังนี้

2.1 **interphase** ระหว่าง first meiotic division กับ second meiotic division เป็นระยะเวลาสั้นมาก ไม่มีการสร้างดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น แล้ว daugter cells จะเข้าสู่ metaphase II

2.2 **metaphase II** เป็นระยะที่โครโมโซมหดตัวสั้นเข้า เรียงอยู่บริเวณกลางเซลล์ ยึดติดกับ spindle fiber

2.3 **anaphase II** เป็นระยะที่โครมาติดของแต่ละโครโมโซมแยกออกจากกันแล้วเคลื่อนที่ไปที่แต่ละขั้วของเซลล์

2.4 **Telophase II** เป็นระยะที่มีการคอดของผนังเซลล์ หลังระยะ Telophase II ถ้าเป็น spermatogenesis จะได้ daughter cells สี่เซลล์ขนาดเท่าๆ กัน สำหรับ oogenesis จะได้เซลล์ที่มีขนาดใหญ่หนึ่งเซลล์ เรียกว่า ovum อีกสามเซลล์มีขนาดเล็ก เรียกว่า polar bodies



รูปที่ 4 การแบ่งเซลล์แบบ meiosis และแสดงการ cross over ของโครโมโซม 1 คู่ในระยะ meiosis I: 1-4, prophase I, 5, metaphase I; 6, anaphase I; 7, telophase I; 8, สิ้นสุด meiosis I ได้เซลล์ลูก 2 เซลล์; 9, metaphase II; 10, anaphase II; 11, gametes 4 เซลล์ (Thompson และคณะ, 1991)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

การสร้างอสุจิ (spermatogenesis)

ในมนุษย์นั้นจะพบ primodial germ cells ที่ endoderm ของ yolk sac ในสัปดาห์ที่สี่ของการเจริญของเอ็มบริโอ หลังจากนั้นระหว่างสัปดาห์ที่หก germ cells จะเคลื่อนที่ไปที่ genital ridges เพื่อเจริญเป็น primitive gonad ซึ่งจะเจริญเป็นอัณฑะหรือรังไข่ต่อไป สำหรับทารกเพศชาย primitive gonad จะเจริญไปเป็นอัณฑะ ภายในประกอบไปด้วย seminiferous tubules ซึ่งมี epithelium ที่บุประกอบไปด้วย spermatogenic cells และ supporting cells เมื่อเข้าสู่วัยหนุ่มจะได้รับการกระตุ้นจากฮอร์โมน Follicle stimulating hormone (FSH) และ Luteinizing hormone (LH) กระตุ้นให้ spermatogenic cells มีการเจริญเปลี่ยนแปลงไปเป็นตัวอสุจิ โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1. **spermatogonia** เจริญมาจาก primodial germ cells เป็นเซลล์ต้นกำเนิดของตัวอสุจิทั้งหมด ประกอบด้วยโครโมโซม diploid number ซึ่งของคนมี 46 โครโมโซม แต่ละคู่มาจากพ่อและแม่ ลักษณะรูปร่างของเซลล์เป็นแบบ spherical หรือ cuboidal shape มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 12 ไมโครเมตร นิวเคลียสรูปร่าง spherical shape เห็น granular chromatin spermatogonia จะอยู่ถัดจากชั้น basal laminar ของชั้น epithelium ของ seminiferous tubule ในระยะแรกก่อนเข้าสู่วัยหนุ่มจะมีเฉพาะ spermatogonia ต่อมาเมื่อมี sexual maturity จึงจะพบ spermatogenic cells ระยะอื่นๆ สำหรับ spermatogonia ยังสามารถแบ่งออกเป็นสามชนิด ได้แก่

1.1 **Pale type A spermatogonia**

ลักษณะนิวเคลียสติดสีจาง ไมโตคอนเดรียรูปร่าง spherical golgi complex มีขนาดเล็ก พบ free ribosomes จำนวนมาก เมื่อเข้าสู่วัยหนุ่มจะเริ่มมี mitotically active แบ่งตัวได้เซลล์แบบเดิม หรือแบบ B spermatogonia

1.2 **Dark type A spermatogonia**

ลักษณะนิวเคลียสย้อมติดสีเข้ม เป็นเซลล์ที่ inactive อยู่ในระยะ G_0 แต่สามารถในการแบ่งเซลล์แบบ mitosis ให้เป็น Pale type A ได้

1.3 **Type B spermatogonia**

เป็น spermatogonia ชนิดที่จะมีการแบ่งตัวแบบ mitosis เพื่อเจริญไปเป็น primary spermatocyte และพบบ่อยว่า primary spermatocytes แบ่งออกจากกันไม่เด็ดขาด แต่ยังมีการเชื่อมถึงกันอยู่ เรียกว่า protoplasmic bridge

2. **Primary spermatocytes**

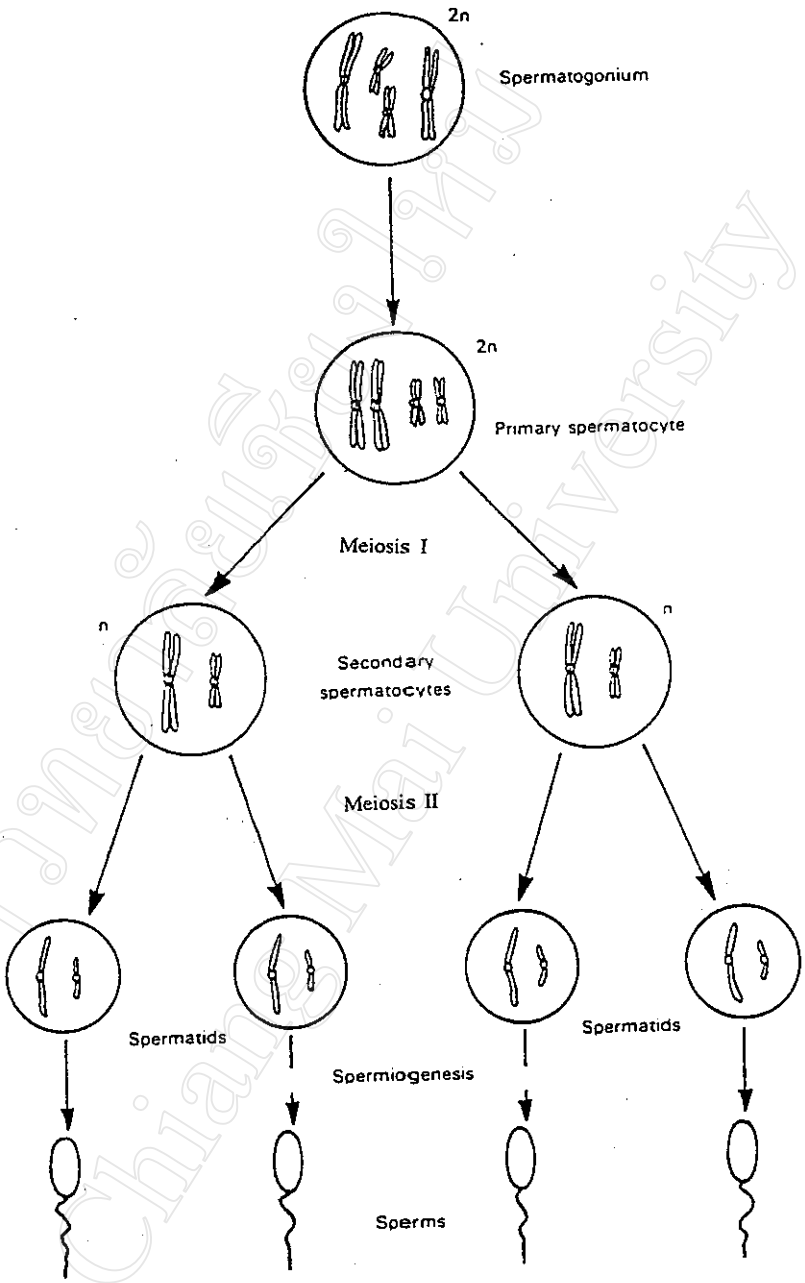
เรียงตัวถัดจากชั้น spermatogonia มาทางด้าน lumen ของ seminiferous tubule มีขนาดค่อนข้างใหญ่ เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 17-19 ไมโครเมตร ลักษณะของนิวเคลียสและการติดสีจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับระยะในการแบ่งตัวของเซลล์ มีจำนวนโครโมโซมเป็น diploid หรือ 46 โครโมโซม primary spermatocytes จะมีการแบ่งเซลล์แบบ meiosis เข้าสู่ระยะ first meiotic division ซึ่งจะเป็นระยะที่มีการลดโครโมโซมลงครึ่งหนึ่ง ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้คือ ได้ daughter cells เป็น secondary spermatocytes สองตัวที่มีโครโมโซมเป็น haploid number หรือ 23 โครโมโซม และมีขนาดเล็กกว่า primary spermatocytes

3. **secondary spermatocytes**

secondary spermatocyte อยู่ในระยะ interphase และ prophase ช่วงสั้นๆ แล้วเข้าสู่ระยะ metaphase II anaphase II และ telophase II ผลลัพธ์จะได้ spermatid สี่เซลล์ที่มีโครโมโซมเป็น haploid number คือ 23 โครโมโซม

4. **spermatid**

จะอยู่บริเวณใกล้ๆ กับ lumen ของ seminiferous tubule นิวเคลียสเป็นลักษณะ condensed chromatin โครโมโซมเป็น haploid number หรือ 23 โครโมโซม spermatid จะไม่มีการแบ่งตัวอีกต่อไป แต่จะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเพื่อเป็นตัวอสุจิ (spermatozoa) โดยกระบวนการ spermiogenesis



รูปที่ 5 แสดงขบวนการ spermatogenesis ของมนุษย์ โดย spermatogonium เจริญไปเป็น primary spermatocyte แล้วแบ่งตัวแบบ meiosis I ได้ secondary spermatocyte 2 เซลล์ แบ่งตัวแบบ meiosis II ผลลัพธ์ได้ spermatids 4 เซลล์ ต่อมา spermatid เปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็น spermatozoa โดยขบวนการ spermiogenesis (Rothwell, 1998)

Spermiogenesis

เป็นขบวนการเปลี่ยนแปลงของไซโตพลาสซึม (Cytodifferentiation) ทำให้ spermatids เปลี่ยนแปลงรูปร่างจากเซลล์กลมไปเป็น spermatozoa มีรูปร่างเรียวยาวโดยไม่มีการแบ่งเซลล์หรือสังเคราะห์ DNA เพิ่มขึ้นแต่อย่างใด

Spermiogenesis มีการเปลี่ยนแปลงประกอบด้วยขั้นตอนสำคัญ ดังนี้

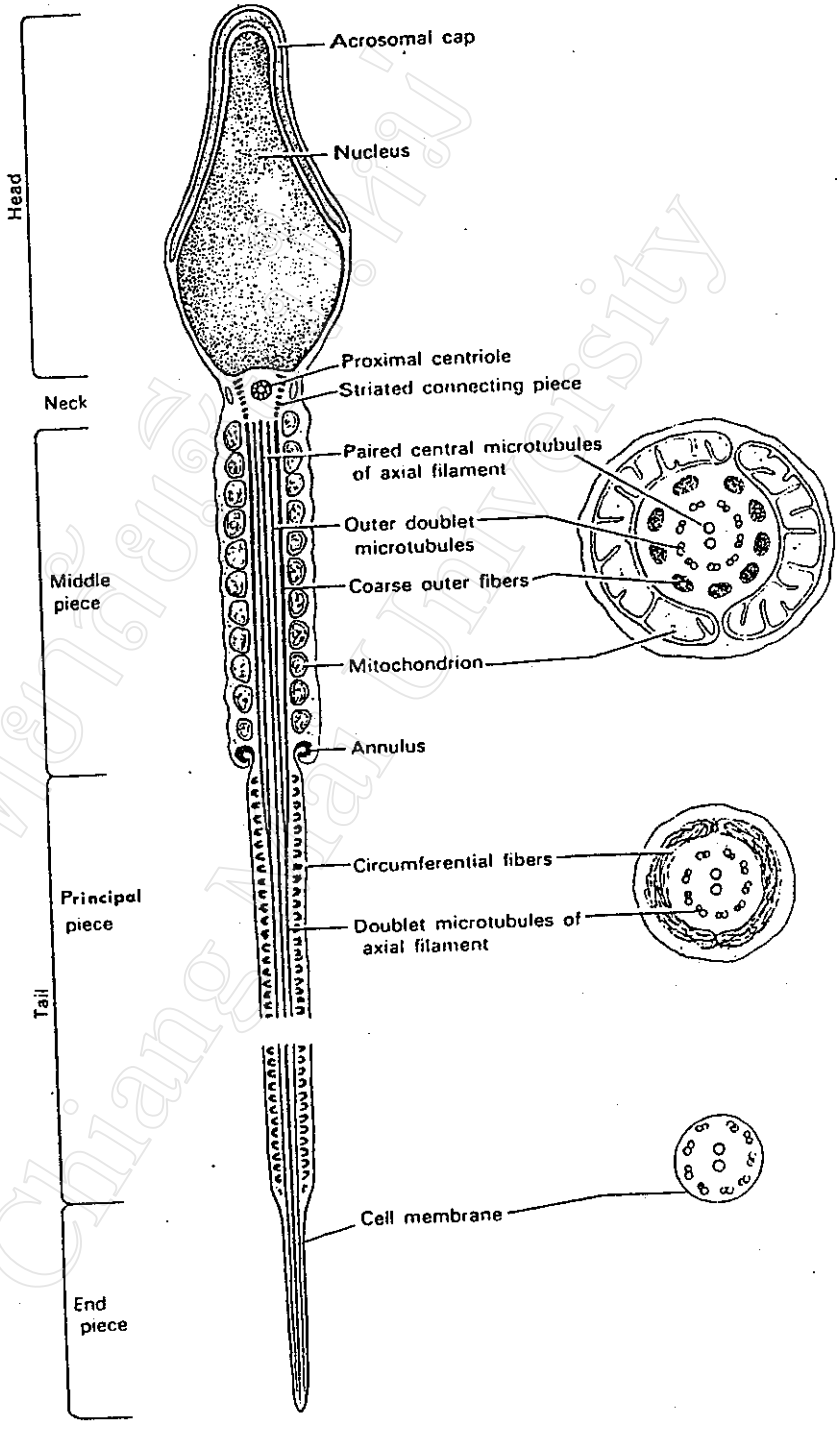
1. Golgi phase
   Golgi apparatus มีการประสานรวมตัวเป็นถุงขนาดใหญ่ที่มี granule อยู่ภายในรวมกันเรียกว่า Acrosomal vesicle ยึดติดกับ nuclear membrane

2. Cap phase
   ระยะนี้มีการขยายตัวออกในแนวด้าน lateral ของ acrosomal vesicle จนกระทั่งคลุมผิวของนิวเคลียสด้าน anterior pole เรียกว่า Acrosomal cap (head cap)

3. การเกิด Flagellum
   ในระหว่างที่มีการเกิด acrosomal ทางด้าน anterior pole ทางด้าน posterior pole centriole ชุดหนึ่งจัดตัวตั้งฉากกับ cell membrane มีการเพิ่มจำนวนโปรตีน มีการจัดเรียงกลุ่ม microtubule เป็น 9 กลุ่ม กลุ่มละ 2 ท่อ ตรงกลาง 2 ท่อเรียกว่า Axoneme เจริญยื่นออกจาก spermatid

4. Maturation phase
   Nucleus ของ spermatid เริ่มมี condense มากขึ้น head cap โอบล้อม nucleus ได้กว้างมากขึ้น ในขณะที่ mitochondria เริ่มมาเรียงตัวรอบ proximal part ของ axoneme cytoplasm ส่วนใหญ่ของ spermatid รีดตัวหลุดออกจากเซลล์ เรียกว่า residual body จะถูกทำลายโดยการ Phagocytosis ของ Sertoli cells ทำให้ spermatid เปลี่ยนแปลงรูปร่างจากกลมไปเป็น spermatozoa ซึ่งยาวเรียว มีส่วนหัวและหางไปสะสมอยู่บริเวณ ductulus efferens, epididymis และส่วนต้นของ ductus defferens

ระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงจาก spermatogonium จนถึง spermatozoa ใช้เวลาทั้งสิ้น 64 วัน



รูปที่ 6 แสดงโครงสร้างของตัวอสุจิโดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน ด้านซ้ายเป็นภาพ longitudinal section ด้านขวาเป็นภาพ transverse sections (Bailey และคณะ, 1978)

ความผิดปกติของโครโมโซมเป็นสาเหตุของโรคทางพันธุกรรมหลายชนิด จากการศึกษาพบว่าความผิดปกติของโครโมโซมในทารกคลอดมีชีพมีอุบัติการมากกว่า 0.5% (Gelehrter 1990) โดยเฉพาะความผิดปกติเชิงจำนวนนั้นพบบ่อยที่สุดและเป็นปัญหาสำคัญทางการแพทย์ เช่น การแท้งบุตร ความผิดปกติของร่างกาย การเจริญผิดปกติ ปัญญาอ่อน การเสียชีวิตในวัยเด็ก และความผิดปกติทางพฤติกรรม ความผิดปกติที่พบบ่อยจะเป็น autosomal trisomies เช่น trisomies ของโครโมโซมคู่ที่ 21, 18, 13 หรือ trisomy ของ sex chromosomes เช่น มีคาริโอไทป์ 47,XXY 47,XYY และ 47,XXX การเกิด trisomy นั้นเกือบทั้งหมดมีสาเหตุมาจาก meiotic nondisjunction ซึ่งมีโอกาสเกิดได้ทั้งในระยะ meiosis I และ meiosis II ทั้งใน oogenesis และ spermatogenesis จากการศึกษาโครโมโซมในผู้ป่วย Down syndrome ภาวะ nondisjunction ที่เกิดในมารดานั้นเกิดใน meiosis I ประมาณ 77.1% และใน meiosis II ประมาณ 22.9% (Antonazakis และคณะ, 1992) สาเหตุของการทำให้เกิด nondisjunction ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าปัจจัยบางอย่าง เช่น มารดาที่มีอายุเพิ่มขึ้นทำให้เกิด nondisjunction เพิ่มขึ้น

สำหรับ trisomy ของ sex chromosomes เช่น มีคาริโอไทป์ 47,XXY ประมาณ 50 เปอร์เซนต์เกิดจาก paternal nondisjunction ใน meiosis I (Jacobs และคณะ, 1988) พวกที่มีคาริโอไทป์ 47,XYY เกือบทั้งหมดเกิดจาก paternal nondisjunction ส่วนกลุ่มที่มีคาริโอไทป์ 47,XXX เกือบทุกรายมาจาก maternal nondisjunction การศึกษาเกี่ยวกับ paternal nondisjunction นั้น การศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการเกิด trisomy กับอายุของบิดา (Hook, และคณะ, 1984; Hatch และคณะ, 1990) เนื่องจากสาเหตุที่แท้จริงที่ทำให้เกิด nondisjunction ของโครโมโซมใน spermatogenesis และ oogenesis นั้นยังไม่ทราบ ดังนั้นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับความถี่ของไข่หรือตัวอสุจิที่มีความผิดปกติของโครโมโซมจึงเป็นข้อมูลที่น่าสนใจ โดยเฉพาะความถี่ของตัวอสุจิที่มีโครโมโซมคู่ต่าง ๆ เกินมาจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่จะนำไปประกอบกับความรู้ด้านอื่นเพื่อนำไปวิเคราะห์หาสาเหตุของการเกิด nondisjunction ใน meiosis ต่อไป การศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจินั้นปกติทำได้ยาก ในอดีตได้มีการพยายามศึกษาความผิดปกติของโครโมโซม Y โดยใช้การตรวจวิเคราะห์ fluorescence body ในตัวอสุจิ โดยอาศัยคุณสมบัติพิเศษส่วนปลาย 2/3 ของแขนยาวของโครโมโซม Y สามารถย้อมติดสี quinacrine dihydrochloride ได้ดีและเรืองแสงมากเมื่อตรวจด้วยกล้องฟลูออเรสเซนซ์ จะพบเป็นจุดเรืองแสงมากกว่าบริเวณอื่นเรียกว่า Y-body หรือ fluorescence body ตัวอสุจิที่มี Y หนึ่งตัวจะพบ Y-body 1 จุด ถ้ามี Y 2 ตัว จะพบ 2 จุด เป็นต้น (Pawlowitzki และ Pearson, 1972) หรือใช้วิธีให้อสุจิของคนผสมกับไข่ของแฮมสเตอร์ ทำให้มีการหดตัวของโครโมโซมในนิวเคลียสของอสุจิ แล้วจึงเตรียมโครโมโซมในตัว

อสุจิมาตรวจวิเคราะห์ (Martin และคณะ, 1983; Kamiguchi และ Mikamo, 1986; อัจฉราลักษณ์, 2535) แต่ โครโมโซมที่เตรียมได้โดยวิธีนี้มีคุณภาพไม่ดี ตรวจวิเคราะห์ยากและตรวจได้ครั้งละไม่มาก จากรายงานที่ผ่านมาได้มีการตรวจความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิโดยวิธี hamster technique นั้น ข้อมูลเกี่ยวกับความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิยังมีน้อยมาก ในระยะ 10 กว่าปีที่ผ่านมาได้มีการพัฒนาการใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบที่จำเพาะของแต่ละโครโมโซมในการตรวจวิเคราะห์ความผิดปกติเชิงจำนวนในเมทาเฟสโครโมโซมและอินเทอร์เฟสนิวเคลียสโดยเทคนิค Fluorescence in situ hybridization (Eastmond-A และคณะ, 1990) และเซลล์จากเอ็มบริโอ (Coonen และคณะ, 1991 และ 1994) และได้มีการนำเทคนิคนี้มาใช้ในการศึกษาตรวจหาความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิ สามารถตรวจภาวะการมีโครโมโซมตัวใดตัวหนึ่งเกินมา (disomy) ของโครโมโซมได้สะดวกยิ่งขึ้น แต่ในระยะแรกๆ การตรวจยังไม่ได้ผลเท่าที่ควร (Joseph และคณะ, 1984; Burns และคณะ, 1985) ซึ่งสันนิษฐานว่าน่าจะเกิดจากการอัดแน่นของโครมาตินในนิวเคลียสของตัวอสุจิ ทำให้ดีเอ็นเอตรวจสอบเข้าไปจับกับโครโมโซมเป้าหมายได้ยาก ต่อมาได้มีการทำให้โครมาตินหรือโครโมโซมของตัวอสุจิมีการคลายตัวโดยการใส่ตัวอสุจิลงในสารละลาย alkyltrimethylamonium bromide (MATAB) และ dithiothreitol (DTT) แล้วตามด้วยสารละลาย lithium diiodosalicylate (LIS) ทำให้นิวเคลียสมีการบวมและโครโมโซมภายในนิวเคลียสของตัวอสุจิมีการคลายตัวทำให้ดีเอ็นเอตรวจสอบ (Probes) เข้าไปจับกับดีเอ็นเอเป้าหมายได้ดียิ่งขึ้น (Wyrobek และคณะ, 1990) ทำให้การศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิทำได้ดียิ่งขึ้น Robbin และคณะ (1993) ได้เปรียบเทียบการศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิโดยวิธีการใช้ตัวอสุจิของคนผสมกับไข่ของแฮมสเตอร์ กับใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบด้วยวิธี FISH โดยใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบสำหรับโครโมโซม 1 และ Y ปรากฏว่าผลที่ได้จากทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกัน Spriggs และคณะ (1995) ศึกษา aneuploidy ในอสุจิของคนโดยวิธี FISH โดยใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบสำหรับโครโมโซมคู่ที่ 1, 12, 15, 18, X และ Y พบว่า disomy ของโครโมโซมคู่ที่ 1, 12, 15 และ 18 มีค่าใกล้เคียงกันเฉลี่ย 0.01% ของ XX มีค่าเฉลี่ย 0.07% ของ YY เฉลี่ย 0.21% และ XY เฉลี่ย 0.15% Miharu และคณะ (1994) ศึกษาอสุจิของชายที่เป็นหมันกับชายปกติ โดยใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบสำหรับโครโมโซมคู่ที่ 1, 16, X และ Y ไม่พบความแตกต่างของความถี่ของ aneuploidy ทั้งสองกลุ่ม ความถี่ของ disomy ของทุกโครโมโซมมีค่าระหว่าง 0.34-0.84% สำหรับชายที่เป็นหมัน และ 0.32-0.61% ในชายที่ปกติ Guttenbach และคณะ (1994) ศึกษาอสุจิของคนโดยใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบสำหรับโครโมโซมคู่ที่ 3, 7, 10, 11, 17 และ X พบว่าความถี่ของ disomy ของโครโมโซมที่ศึกษาทุกคู่มีค่าใกล้เคียงกันคือ ระหว่าง 0.31-0.34% และไม่มีความแตกต่างระหว่างบุคคลและไม่สัมพันธ์

กับอายุของอาสาสมัคร Han และคณะ (1993) ได้ศึกษาอัตราส่วนของ X และ Y โครโมโซมในอสุจิของคนโดยใช้วิธี Swim-up Technique เพื่อแยกส่วนอสุจิ แล้วใช้วิธี FISH ตรวจหาอสุจิที่นำ X หรือ Y และ disomy ของโครโมโซมเพศ พบว่าอัตราส่วนของโครโมโซม X และ Y ในกลุ่ม control และกลุ่ม swim-up ไม่มีความแตกต่าง โดยกลุ่มควบคุมมีอัตราส่วนของ X:Y เท่ากับ 47.3 : 46.9 ของกลุ่ม swim-up เท่ากับ 48.4 : 47.1 แสดงให้เห็นว่า Swim-up Technique ไม่สามารถใช้เป็นวิธีการคัดเลือกอสุจิที่มีโครโมโซม X หรือ Y อย่างใดอย่างหนึ่ง ซึ่งการแยกอสุจิที่มีการเคลื่อนไหวเป็นสิ่งสำคัญในการทำผสมเทียม ดังนั้นจึงเป็นการยืนยันว่าการเตรียมอสุจิโดยวิธีนี้ไม่ทำให้อัตราส่วนของอสุจิที่มีโครโมโซม X และ Y แตกต่างกัน Martin และคณะ (1995) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอายุกับอัตราส่วนของโครโมโซม X และ Y (Sex Ratio) ในอสุจิของคนและความถี่ของ aneuploidy ในอสุจิโดยใช้วิธี FISH โดยใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบของโครโมโซมคู่ที่ 1, 12, X และ Y พบว่าความถี่ของอสุจิที่นำโครโมโซม X และ Y ไม่สัมพันธ์กับอายุพ่อ และพบว่า disomy ของโครโมโซมคู่ที่ 12, XX และ XY ไม่สัมพันธ์กับอายุของพ่อ แต่สำหรับ disomy ของโครโมโซมคู่ที่ 1 และโครโมโซม Y จะสัมพันธ์กับอายุของพ่อ โดยความถี่ของ disomy 12 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ .16% ของ XX เท่ากับ .07% และของ XY เท่ากับ .16% และพบว่าความถี่ของ disomy 1 และ Y มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ .11% และ .18% ตามลำดับ สูงขึ้นตามอายุอย่างมีนัยสำคัญ มีการศึกษาสัดส่วนของอสุจินำโครโมโซม X กับอสุจินำโครโมโซม Y ด้วยวิธี Albumin column filtration ในกลุ่ม albumin ต่อกลุ่ม neat semen เป็น 50.30:49.80 และ 48.77:51.00

สำหรับ disomy ของโครโมโซมคู่ที่ 13, 18 และ 21 ในอสุจิยังมีการศึกษาน้อยมาก จึงควรที่จะได้มีการศึกษาเพิ่มเติมขึ้นอีกเพื่อที่จะได้ทราบข้อมูลเพิ่มขึ้นเกี่ยวกับความถี่ของ disomy ของโครโมโซม 13, 18 และ 21 ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดทารกที่เป็น Patau syndrome, Edward syndrome และ Down syndrome ความรู้เกี่ยวกับความผิดปกติของโครโมโซมคู่ต่าง ๆ ในตัวอสุจิจึงเป็นข้อมูลที่อาจทำให้ทราบถึงสาเหตุของการเกิด meiotic nondisjunction ในมนุษย์ได้ดียิ่งขึ้น

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมคู่ที่ 13, 18, 21, X และ Y ในตัวอสุจิของคนไทยโดยวิธีฟลูออเรสเซนซ์อินซิตูไฮบริไดเซชั่น (FISH) โดยการแยกตัวอสุจิออกเป็น 3 กลุ่ม โดยใช้วิธี Swim-up Technique แล้วแบ่งอสุจิออกเป็นกลุ่มปกติ (control) กลุ่มที่ว่ายขึ้นด้านบน (swim-up) และกลุ่มที่ตกอยู่ในส่วนล่างของหลอดทดลอง (neat) เพื่อนำไปเปรียบเทียบความผิดปกติ