บทที่ 4

อภิปรายผล

ในการศึกษาครั้งนี้ในระยะแยกของการทดลอง Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) ประสบปัญหาต่างๆ เช่น การเตรียม semen ตัวอย่างน้ำอสุจิไม่ดี คือมีบางส่วนหนาแน่นเกินไป บางส่วนบางเกินไป ส่วนที่หนาจะทำให้มีการทับซ้อนกันของตัวอสุจิทำให้แยกขอบเขตลำบาก ถ้าบางเกินไปอสุจิจะอยู่ห่างกันมากเกินไป ประกอบกับมีการหลุดไปบางส่วนของอสุจิทำให้นับจำนวนได้น้อย จากการทดลองพบว่าปริมาณความชื้นใน moist chamber มากเซลล์อสุจิจะบวมมากทำให้สัญญาณ (signal) มีขนาดใหญ่ไปด้วย แต่ถ้าเซลล์อสุจิขยายตัวน้อยก็จะได้สัญญาณบวกน้อยไป ขนาดการขยายของเซลล์อสุจิที่พอดีในการทำ FISH ควรมีขนาด 1.5-1.7 เท่า (Robbins และคณะ, 1993) จากการทดลองเปอร์เซนต์ของสัญญาณที่ได้หรือความชัดเจนของสัญญาณในบางครั้งมีความแตกต่างกันมาก สังเกตได้ว่าสารละลายที่ใช้อาจจะมีการเสื่อมคุณภาพเช่น สารละลาย denature solution ทำให้ดีเอ็นเอเป้าหมายไม่แยกออกเป็นสายเดี่ยว ดีเอ็นเอตรวจสอบ (Probe) ไม่สามารถเข้าไปจับได้ หรือสารละลาย dithiotreitol (DTT) หรือ lithiumdiiodosalicylate (LIS) เสื่อมคุณภาพ การ decondensed ของโครโมโซมภายในนิวเคลียสของอสุจิไม่เหมาะสม โครโมโซมยังมีการอัดตัวแน่นทำให้ดีเอ็นเอตรวจสอบไม่สามารถเข้าไปจับเบสคู่สมของดีเอ็นเอเป้าหมายได้ ดังนั้นเพื่อป้องกันปัญหาดังกล่าวจึงมีการเตรียมสารละลายใหม่ทุกครั้ง สำหรับ Proteinase K ซึ่งช่วยย่อยผนังเซลล์เวลาที่เหมาะสมในการ incubate คือ 20 นาที เมื่อเพิ่มเวลาเป็น 30 นาทีพบว่าอสุจิจะหลุดจากสไลด์เกือบทั้งหมด การหยุดปฏิกิริยาของ Proteinase K ด้วย 0.2% glycine ถ้า glycine เสื่อมคุณภาพอสุจิจะมีการหลุดจากสไลด์มากและเซลล์เมมเบรนของอสุจิไม่เรียบ สำหรับขั้นตอนการ hybridization นั้น เมื่อใช้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสกับดีเอ็นเอตรวจสอบชนิด CEP 18 / CEP X / CEP Y สัญญาณที่พบมีเปอร์เซนต์การได้ผลดี แต่สำหรับ LSI 13 / LSI 21 สัญญาณไม่ชัดเจนเปอร์เซนต์ของสัญญาณบวกที่พบต่ำจึงเพิ่มอุณหภูมิสำหรับดีเอ็นเอ LSI 13 / LSI 21 ในขั้นตอนการ hybridization เป็น 42 องศาเซลเซียส ซึ่งปรากฏว่าได้ผลดีเป็นที่น่าพอใจ ปัญหาสำคัญอีกประการหนึ่งคือการล้าง (washing) หลังการ hybridization เพื่อทำให้ดีเอ็นเอตรวจสอบที่ไม่ได้จับกับดีเอ็นเอเป้าหมายหลุด ในขั้นตอนการล้างด้วย 0.4 X SSC ใน 0.3% NP- 40 สำหรับดีเอ็นเอตรวจสอบ CEP 18 / CEP X / CEP Y ใช้อุณหภูมิ 73 องศาเซลเซียสจะได้ผลดีคือสัญญาณชัดเจน แต่สำหรับ LSI 13 / LSI 21 นั้น พบว่าสัญญาณจะหลุดออกนอกนิวเคลียสเป็นจำนวนมาก จึงลดอุณหภูมิมาที่ 70 องศาเซลเซียสพบว่าสัญญาณยังคงอยู่ภายในนิวเคลียส

จากการศึกษาในกลุ่มประชากรในหลายๆ แห่งทั่วโลกพบว่าความผิดปกติของโครโมโซมในทารกคลอดมีชีพนั้นมีอุบัติการณ์มากกว่า 0.5% (Gelehrter และคณะ, 1990) ซึ่งการศึกษาส่วนใหญ่นั้นใช้วิธีการทางเซลล์พันธุศาสตร์ โดยนำเซลล์มาเลี้ยงแล้วเตรียมโครโมโซมนำไปย้อมสีแล้วทำการตรวจวิเคราะห์ความผิดปกติ ส่วนใหญ่ที่พบจะเป็นการเกินมาของโครโมโซมได้แก่ trisomy 21 มีอุบัติการ 1/800, trisomy 18 มีอุบัติการ 1/8000, trisomy 13 มีอุบัติการ 1/25,000 และ trisomy ของ sex chromosomes เช่น 47,XXY, 47,XXX และ 47,XYY มีอุบัติการแบบละ 1/1,000 ทารกคลอดมีชีพ ส่วนการศึกษาใน spontaneous abortions พบว่าสาเหตุของการแท้งบุตรนั้นเกิดจากความผิดปกติของโครโมโซมถึง 50% (Warburton และคณะ, 1980) และพบว่าส่วนใหญ่เป็นความผิดปกติแบบ trisomy ซึ่งพบ trisomy ของโครโมโซมคู่ที่ 2-22 ตลอดจน trisomy ของโครโมโซมเพศ ความผิดปกติของ autosomes ที่พบบ่อยที่สุดในตัวอ่อนที่แท้งจะเป็น trisomy 16 ส่วน trisomy 1 นั้นยังไม่เคยมีรายงานทั้งในทารกคลอดมีชีพและในตัวอ่อนที่แท้ง Watt และคณะ (1987) ตรวจพบ trisomy 1 ในไซโกตระยะ 8 เซลล์ แสดงว่าไซโกตที่เป็น trisomy 1 นั้นไม่มีโอกาสได้ฝังตัวหรือไม่ก็สลายไปในระยะต้นของการฝังตัว จึงไม่ถูกตรวจพบในการศึกษาโครโมโซมของตัวอ่อนที่แท้ง

ความผิดปกติของโครโมโซมที่เป็น trisomy นั้น เกิดจากความผิดปกติในการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์แบบ meiosis ซึ่งเกิดขึ้นใน oogenesis และ spermatogenesis เกิดการไม่แยกตัวของโครโมโซมที่เรียกว่า nondisjunction ทำให้ได้เซลล์สืบพันธุ์ที่มีโครโมโซมเกิน จากการศึกษาพบว่ามารดาที่มีอายุมากจะมีโอกาสมีลูกเป็น Down syndrome หรือ trisomy ของโครโมโซมคู่อื่นมากกว่ามารดาที่อายุน้อย (Mikkelsen และคณะ, 1976; Hook และคณะ, 1981, 1984; Roecker และ Huether, 1983; Stene และคณะ, 1984; Ya-gang และคณะ, 1993) และจากการศึกษาโครโมโซมในตัวอ่อนที่แท้งและมีคาริโอไทป์เป็น trisomy พบว่าเกิดจากมารดาที่อายุมากกว่ามารดาที่อายุน้อย โดยเฉพาะ trisomy ของโครโมโซมขนาดเล็ก (Hassold และคณะ, 1980) Benadiva และคณะ (1996) พบว่าตัวอ่อนที่มีโครโมโซมคู่ที่ 16 ผิดปกติทั้งแบบ monosomy 16 และ trisomy 16 พบในมารดาอายุมากมากกว่ามารดาอายุน้อย

สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างอายุบิดากับการมีบุตรเป็น Down syndrome หรือ trisomy 21 นั้น มีรายงานการศึกษาที่ขัดแย้งกัน Stene และคณะ (1977) ศึกษาอายุบิดาของผู้ป่วย Down syndrome ในบริเวณเมืองโคเปนเฮเกน พบว่าถ้าบิดาอายุเกิน 55 ปี จะมีโอกาสมีบุตรเป็น Down syndrome มากกว่าบิดาที่อายุน้อย Matsunaga และคณะ (1978) พบว่าบิดาที่อายุมากกว่า 45 ปี มีโอกาสมีบุตรเป็น Down syndrome มากกว่าบิดาที่อายุน้อย Stene และ

คณะ (1981) ศึกษาอายุบิดาที่พบว่ามีบุตรเป็น trisomy 21 ในการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดในสหพันธสาธารณรัฐเยอรมัน พบว่าบิดาอายุตั้งแต่ 41 ปีขึ้นไปมีโอกาสมีบุตรเป็น trisomy 21 มากกว่าบิดาที่อายุน้อย Regal และคณะ (1980); Roecker และ Huether (1983); Cross และ Hook (1987) ไม่พบความสัมพันธ์ของอายุบิดากับโอกาสที่จะมีบุตรเป็น Down syndrome Hatch และคณะ (1990) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอายุบิดากับ trisomy ของโครโมโซมคู่ต่างๆ ใน spontaneous abortions ผลโดยสรุปแล้วไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอายุบิดากับการเกิด trisomy ของโครโมโซม 7, 9, 13, 18, 20 และ 21

ความผิดปกติของโครโมโซมเพศแบบ trisomy เช่น 47,XXY เกิดจาก meiotic nondisjunction ในบิดาหรือมารดาในอัตราส่วนพอๆ กัน Carothers และคณะ (1984) พบว่ามารดาที่อายุมากมีโอกาสมีบุตรมีโครโมโซม 47,XXY มากกว่ามารดาที่อายุน้อยและไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอายุบิดากับการเกิด 47,XXY ส่วนความผิดปกติแบบ 47,XYY ทั้งหมดเกิดจาก meiotic nondisjunction ในบิดา Carothers และคณะ (1978) พบว่าบิดาที่อายุน้อยมีโอกาสมีบุตรที่มีคาริโอไทป์ 47,XYY มากกว่าบิดาที่อายุมาก

ความผิดปกติของโครโมโซมเพศในตัวอ่อนที่แท้งนั้น ส่วนใหญ่จะเป็น monosomy X หรือมีคาริโอไทป์ 45,X ซึ่งสาเหตุส่วนใหญ่เกิดจาก anaphase lagging ในการแบ่งเซลล์ไซโกตจาก 1 เซลล์เป็น 2 เซลล์ Warburton และคณะ (1980) ศึกษาตัวอ่อนที่แท้งที่มีคาริโอไทป์เป็น monosomy X นั้น พบในมารดาที่อายุน้อยมากกว่าในมารดาที่อายุมาก

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทำให้ทราบว่าความผิดปกติของโครโมโซมในเซลล์สืบพันธุ์ของผู้ชายและผู้หญิงมีอุบัติการค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับอุบัติการที่ตรวจพบในทารกคลอดมีชีพ แต่ไซโกตที่มีความผิดปกติของโครโมโซมไม่สามารถเจริญจนกระทั่งคลอด จึงได้มีการพยายามศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมในเซลล์สืบพันธุ์เพื่อจะได้ทราบความถี่และชนิดของความผิดปกติที่เกิดขึ้น แต่การศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมในเซลล์สืบพันธุ์นั้นทำได้ยาก โดยเฉพาะเซลล์สืบพันธุ์ของผู้หญิง ข้อมูลส่วนใหญ่ที่มีจึงเป็นการศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิซึ่งศึกษาได้ง่ายกว่า ในระยะแรกจะใช้วิธีที่เรียกว่า hamster technique ซึ่งใช้วิธีให้อสุจิของคนผสมกับไข่ของแฮมสเตอร์ แล้วจึงเตรียมโครโมโซมมาศึกษา [Martin และคณะ (1983); Kamiguchi และ Mikamo (1986); Jenderny และ Rohrborn (1987); Martin และ Rademaker (1982, 1990) และ อัจฉราลักษณ์ (1992)] Martin และ Rademaker (1990) พบว่า Hyperhapploidy ของโครโมโซม 9 พบมากกว่าโครโมโซมคู่อื่น และพบว่า aneuploidy ของโครโมโซมเพศพบมากกว่า autosome สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างความผิดปกติของโครโมโซมกับอายุของอาสาสมัครนั้น Martin และ

Rademaker (1987) ใช้วิธี hamster technique ศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิจากอาสาสมัครอายุระหว่าง 22-55 ปี พบว่าจำนวนความผิดปกติที่ตรวจพบไม่สัมพันธ์กับอายุของอาสาสมัคร โดยพบว่าค่าเฉลี่ยของความผิดปกติเชิงจำนวนของโครโมโซมในตัวอสุจิมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.7% แต่พบว่าความผิดปกติเชิงโครงสร้างมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.2% และสัมพันธ์กับอายุ ถ้าอายุมากขึ้นความผิดปกติก็จะมีมากตาม อัจฉราลักษณ์ (1992) ใช้วิธี hamster technique ศึกษาอสุจิของอาสาสมัคร อายุระหว่าง 19-25 ปี และระหว่าง 39-45 ปี ไม่พบความแตกต่างของจำนวนความผิดปกติที่พบในอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม แต่การศึกษาด้วยวิธีดังกล่าวสามารถศึกษาโครโมโซมในตัวอสุจิได้ไม่มากนัก การใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบที่จำเพาะแต่ละโครโมโซมจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่นำมาใช้ศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิได้ในปริมาณมาก และเป็นวิธีที่กระทำได้ง่ายกว่า (Joseph และคณะ, 1984; Pieter และคณะ, 1990; Wyrobek และคณะ, 1990) ในระยะ 10 ปีที่ผ่านมาข้อมูลเกี่ยวกับความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิจึงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ถึงปัจจุบันได้มีการศึกษาไปแล้วมากกว่า 1 ล้านตัว แต่ก็ยังไม่เพียงพอที่จะสรุปผลจากข้อมูลที่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนอสุจิในน้ำอสุจิของคนปกติ (100 ล้าน/ มิลลิลิตร) ยังถือว่าได้ตรวจวิเคราะห์ในปริมาณที่น้อยมาก ทั้งนี้ข้อจำกัดอยู่ที่ดีเอ็นเอตรวจสอบที่ผลิตขึ้นมีจำนวนจำกัดและราคาแพงทำให้ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ในปริมาณที่มาก สำหรับผลการศึกษาที่ผ่านมานั้นได้รวบรวมไว้ในตารางที่ 9 และตารางที่ 10 จากรายงานเกือบทั้งหมดที่รวบรวมไว้ พบว่าจำนวนความผิดปกติแบบ disomy ของโครโมโซมแต่ละคู่ที่ตรวจพบนั้นอยู่ระหว่าง 0.04%-0.38% สำหรับ autosomes (ตารางที่ 9) และ 0.009%-0.28% (ตารางที่ 10) สำหรับความผิดปกติของโครโมโซมเพศ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนความผิดปกติของโครโมโซมแต่ละตัวแล้วไม่พบความแตกต่างกัน มีบางรายงานที่พบความผิดปกติของโครโมโซมบางคู่มากกว่าโครโมโซมคู่อื่นๆ (Williams และคณะ, 1993)

ตารางที่ 9 แสดงเปอร์เซนต์ความผิดปกติในตัวอสุจิ แบบ discmy ของโครโมโซมคู่ต่างๆที่ได้มีการศึกษาไปแล้ว

authors	chromosomes no.															
	1	2	4	6	8	9	11	12	13	14	15	16	17	18	20	21
Han et al., 1992													0.33			
Williams et al., 1993												0.13		0.08		
Martin et al., 1993											0.14	0.17				
Holmes and Martin, 1993	0.06							0.04								
Guttenbach et al., 1994														0.36		
Miharu et al., 1994												0.17				
Chevret et al., 1995	0.20															
Martin et al., 1995	0.11							0.16								
Spriggs et al., 1996	0.09	0.08	0.11			0.14		0.16			0.11	0.11		0.11	0.12	0.29
Rousseaux and Chevret, 1995		0.20		0.08			0.09			0.17						0.10
Blanco et al., 1996				0.14												0.38
Pellestor et al., 1996					0.31	0.28			0.28			0.26				0.32
Present study, 1997									0.07					0.05		0.08

ตารางที่ 10 แสดงเปอร์เซนต์ความผิดปกติแบบ disomy ของโครโมโซมเพศ ในรายงานต่างๆ

authors	types of disomy		
	XX	YY	XY
Guttenbach and Schmid, 1990	-	0.27	-
Wyrobek et al., 1992	0.04	0.05	0.06
Holmes and Martin, 1993	0.03	-	-
Han et al., 1993	0.28	0.21	0.21
Williams et al., 1993	0.08	0.11	0.09
Schattman et al., 1993	0.04	0.09	0.17
Goldman et al., 1993	0.08	0.10	0.23
Wyrobek et al.,1994	0.04	0.04	0.06
Chevret et al., 1995	0.04	0.009	0.20
Spriggs et al., 1995	0.07	0.21	0.20
Martin et al., 1995	0.07	0.18	0.16
Present study, 1997	0.01	0.00	0.07

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

Joseph และคณะ (1984) ได้ศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิโดยใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบสำหรับโครโมโซม 1 และ Y พบว่าความถี่ของ disomy 1 และ Y มีค่าเท่ากับ 0.35% และ 0.18% ตามลำดับ Martin และคณะ (1993) ศึกษาความผิดปกติของโครโมโซม 15, 16 และ Y โดยวิธี FISH พบว่า disomy ของโครโมโซม 15, 16 และ Y มีความถี่ 0.14%, 0.17% และ 0.11% ตามลำดับ Robbin และคณะ (1993) ศึกษาโครโมโซมในอสุจิจากอาสาสมัคร 3 ราย จำนวนอย่างน้อยรายละ 10,000 อสุจิ โดยใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบสำหรับโครโมโซม 1 และ Y พบความผิดปกติเท่ากับ 0.142% และ 0.056% ตามลำดับ และพบว่าความถี่ของทั้ง disomy 1 และ Y จากอาสาสมัครคนหนึ่งสูงกว่าอีกคนหนึ่งถึง 2.5 เท่า Holmes และคณะ (1993) พบว่าความถี่ของ disomy ของโครโมโซมคู่ที่ 1, 12 และ X ในอสุจิเท่ากับ 0.06%, 0.04% และ 0.03% ตามลำดับ Han และคณะ (1993) ศึกษาโครโมโซม X และ Y ในอสุจิจำนวน 12,636 ตัว จากอาสาสมัคร 12 ราย พบว่าความถี่ของอสุจิที่นำ X และนำ Y เท่ากับ 47.4% และ 46.8% ตามลำดับ อสุจิที่นำ disomy ของโครโมโซมเพศแบบ XX, YY และ XY มีค่าเท่ากับ 0.28%, 0.21% และ 0.21% ตามลำดับ และพบอสุจิมีโครโมโซมเป็น diploidy 0.62% ที่มีโครโมโซมเป็น tetraploidy มี 0.05%

Williaums และคณะ (1993) ศึกษา nondisjunction ในตัวอสุจิโดยใช้วิธี FISH ด้วยการใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบสำหรับโครโมโซม 16, 18, X และ Y พบว่า disomy ของโครโมโซมเพศมีความถี่สูงกว่าโครโมโซม 16 ถึง 1.5 เท่า และพบมากกว่า disomy ของโครโมโซม 18 ถึง 2 เท่า และมีอสุจิที่เป็น diploidy มากกว่าที่เป็น disomy ของโครโมโซมที่ศึกษา Guttenbach และคณะ (1994) ศึกษาโครโมโซมในตัวอสุจิจำนวน 76,253 ตัว อายุ ระหว่าง 23-57 ปี โดยใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบด้วยวิธี FISH พบว่าความถี่ของ disomy สำหรับโครโมโซม 3, 7, 10, 11, 17 และ X อยู่ระหว่าง 0.31-0.34% และไม่พบความแตกต่างระหว่างบุคคลและความสัมพันธ์ระหว่างความถี่ของ disomy กับอายุของอาสาสมัคร Miharu และคณะ (1994) ศึกษาโครโมโซมในตัวอสุจิจากอาสาสมัคร 8 ราย อายุระหว่าง 27-59 ปี โดยใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบสำหรับโครโมโซม 1, 16, 18, X และ Y ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอายุของอาสาสมัครกับความถี่ของ disomy Chevret และคณะ (1995) ได้ศึกษาโครโมโซมในตัวอสุจิจากอาสาสมัคร 4 ราย จำนวน 94,575 ตัว โดยใช้ดีเอ็นเอตรวจสอบ พบว่าความถี่ของ disomy สำหรับโครโมโซม 1, X และ Y มีค่าเท่ากับ 0.20%, 0.04% และ 0.09% ตามลำดับ และความถี่ของ diploidy ที่เกิดจาก nondisjunction ใน meiosis I มีค่าเท่ากับ 0.11% และที่เกิดใน meiosis II มีค่าเท่ากับ 0.036% Martin และคณะ (1995) ศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิจากอาสาสมัคร 10 ราย อายุระหว่าง 21-52 ปี โดยศึกษารายละอย่างน้อย 10,000 ตัว รวมทั้งหมด 225846 ตัว พบ disomy ของโครโมโซม 1, 12 จำนวน 0.11% และ 0.16%

ตามลำดับ และ disomy ของโครโมโซมเพศแบบ XX YY และ XY จำนวน 0.07%, 0.18% และ 0.16% ตามลำดับ ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอายุกับจำนวนความผิดปกติของโครโมโซมในอสุจิของอาสาสมัครที่ศึกษา Spriggs และคณะ (1996) ใช้วิธี FISH ศึกษาความผิดปกติของโครโมโซม 1, 2, 4, 9, 12, 15, 16, 18, 20, 21, X และ Y ในตัวอสุจิจากอาสาสมัคร 5 ราย จำนวนรายละอย่างน้อย 10,000 ตัว และศึกษาทั้งหมด 418,931 ตัว พบว่าความผิดปกติแบบ disomy เท่ากับ 0.09%, 0.08%, 0.11%, 0.14%, 0.16% สำหรับโครโมโซม 1, 2, 4, 9, 12 ตามลำดับ พบ disomy ของโครโมโซม 15, 16, 18 เท่ากับ 0.11% และ disomy ของโครโมโซม 20, 21 และโครโมโซมเพศเท่ากับ 0.12%, 0.29% และ 0.43% ตามลำดับ และพบว่า disomy ของโครโมโซม 21 และโครโมโซมเพศมีความถี่สูงกว่าโครโมโซมคู่อื่นอย่างมีนัยสำคัญ และให้ข้อสังเกตว่าโครโมโซม 21 และโครโมโซมเพศมีแนวโน้มที่จะเกิด nondisjunction ได้มากกว่าโครโมโซมคู่อื่นๆ

ปัจจุบันการทำเด็กหลอดแก้ว (in vitro fertilization) ได้กระทำอย่างแพร่หลายควบคู่ไปกับการศึกษาวิธีแยกอสุจิให้ได้อสุจิที่มีคุณภาพดี ตลอดจนชนิดของอสุจิที่นำโครโมโซม X หรือโครโมโซม Y อย่างใดอย่างหนึ่ง การแยกอสุจินั้นได้พยายามศึกษากันมานาน Brandriff และคณะ (1986) ได้แยกอสุจิของคนโดยวิธี swim-up แล้วนำอสุจิไปผสมกับไข่ของแฮมสเตอร์ แล้วเตรียมโครโมโซมของอสุจิไปศึกษาพบว่าความผิดปกติของโครโมโซมในอสุจิจากกลุ่ม swim-up ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม Benet และคณะ (1992) แยกอสุจิโดยวิธี swim-up และศึกษาโครโมโซมของอสุจิในกลุ่ม swim-up เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมไม่พบความแตกต่างของความผิดปกติในกลุ่มทั้งสองตลอดจนไม่พบความแตกต่างของสัดส่วนของอสุจิที่นำโครโมโซม X และอสุจิที่นำโครโมโซม Y Check และคณะ (1993) ได้ศึกษาทารกที่เกิดจากการผสมอสุจิกับไข่โดยการแยกอสุจิโดยวิธี swim-up และแยกโดยวิธีใช้ Percoll พบว่าอสุจิจากกลุ่ม swim-up จะได้ลูกผู้ชายถึง 88.5% แต่อสุจิจากการแยกโดยใช้ Percoll จากกลุ่มควบคุมจะได้ลูกผู้ชาย 50% ถ้าแยกอสุจิโดยใช้ albumin จะได้ลูกผู้หญิงมากกว่าลูกผู้ชาย (Check และคณะ, 1989) Han และคณะ (1993) ใช้วิธี swim-up แยกอสุจิจากอาสาสมัคร 10 ราย แล้วศึกษาสัดส่วนของอสุจิที่นำโครโมโซม X ต่อจำนวนอสุจิที่นำโครโมโซม Y ในกลุ่ม swim-up และกลุ่มควบคุม (neat semen) พบว่าไม่แตกต่างกัน และจากการศึกษาทารกที่เกิดจาก IVF-ET และ GIFT โดยใช้การแยกอสุจิด้วยวิธี swim-up พบว่าสัดส่วนของทารกเพศชายต่อทารกเพศหญิงไม่แตกต่างกัน

จากการเปรียบเทียบความถี่ของความผิดปกติทั้งแบบ disomy และ diploid รวมกันของโครโมโซม 13, 18, 21, X และ Y ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่ม control swim-up และ neat สำหรับสัดส่วนของอสุจิที่นำโครโมโซม X ต่อสัดส่วนของอสุจิที่นำโครโมโซม Y ในกลุ่มควบคุมและ

ในกลุ่ม swim-up ไม่แตกต่างกัน แต่ในกลุ่ม neat มีอสุจิที่นำ X มากกว่าอสุจิที่นำ Y อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.02$) ในการศึกษาครั้งนี้อายุของอาสาสมัครอยู่ระหว่าง 22-39 ปี จำนวนความผิดปกติทั้งหมดของแต่ละโครโมโซมที่ศึกษาครั้งนี้ไม่มีความแตกต่างกันซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Guttenbach และคณะ (1994) Miharu และคณะ (1994) และ Martin และคณะ (1995) สำหรับความผิดปกติของโครโมโซม 21 แบบ trisomy 21 ในทารกคลอดมีชีพนั้น 94% เกิดจาก maternal meiotic nondisjunction มีเพียง 4.5% เท่านั้นที่เกิดจาก paternal meiotic nondisjunction (Antonarakis และคณะ 1992) การศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมคู่ที่ 21 ในตัวอสุจินั้นยังมีไม่มากนัก จากตารางที่ 9 ความถี่ของอสุจิที่นำ disomy ของโครโมโซม 21 อยู่ระหว่าง 0.1%-0.38% (Roussaux และ Chevret 1995; Pellestor และคณะ, 1996; Blanco และคณะ, 1996) สำหรับของโครโมโซม 13 นั้น เท่าที่รวบรวมได้มีรายงานของ Pellestor และคณะ (1996) รายงานเดียวพบว่ามีความถี่ 0.28% การศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 0.07% ส่วนความผิดปกติของโครโมโซม X และ Y ในตัวอสุจินั้นได้มีการศึกษาไว้มากกว่าโครโมโซมคู่อื่น ความถี่ของความผิดปกติแบบ disomy ของอสุจิที่นำ XX, YY และ XY มีค่าอยู่ระหว่าง 0.03%-0.28%, 0.009%-0.27% และ 0.06%-0.23% ตามลำดับ ในการศึกษานี้พบ disomy XX, YY และแบบ XY เท่ากับ 0.01%, 0.00% และ 0.07% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของเอนกและคณะ (2539) ศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมเพศในอาสาสมัคร 15 ราย พบความผิดปกติของอสุจิแบบ XX, YY และ XY ในกลุ่มควบคุมเท่ากับ 0.08, 0.07 และ 0.05% ตามลำดับ เมื่อทดสอบความแตกต่างความผิดปกติทั้งหมดของโครโมโซมในอสุจิในอาสาสมัครแต่ละรายที่ได้ทดสอบด้วย FISH สำหรับดีเอ็นเอตรวจสอบแต่ละโครโมโซม คือ 13, 18, 21, X และ Y โดยใช้ X^2 contingency test ไม่พบความแตกต่างระหว่างบุคคล ($P > 0.05$) แต่จำนวนอาสาสมัครที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์แต่ละโครโมโซมมี 5 ราย รายละเพียง 6000 อสุจิ ซึ่งยังไม่มากพอ อย่างไรก็ตามผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับที่เคยมีรายงานมาบ้างแล้วในต่างประเทศและในประเทศไทย (Guttenbach และคณะ, 1994; Martin และคณะ, 1995; Pellestor, 1996; เอนก และคณะ, 1996)

จากข้อมูลความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิที่ได้ศึกษามาแล้วส่วนใหญ่มีความถี่ไม่แตกต่างตลอดจนไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอายุกับความถี่ของความผิดปกติในตัวอสุจิ สำหรับความผิดปกติของโครโมโซมแต่ละคู่โดยเฉพาะคู่ที่ 13, 18 และ 21 นั้น ยังมีการศึกษาไม่มากนักจึงไม่อาจสรุปได้ในขณะนี้ ต้องมีการศึกษาเพื่อหาข้อสรุปที่ชัดเจนต่อไปอีก

เทคนิค fluorescence in situ hybridization นั้น สามารถนำไปใช้ในการศึกษาผลของสิ่งแวดล้อมที่มีผลทำให้เกิด aneuploidy ของตัวอสุจิได้ (Martin, 1993; Wyrobek และ Adler, 1996) ผลการศึกษาทำนองนี้จะทำให้ทราบถึงสาเหตุของการเกิด nondisjunction ในเซลล์สืบพันธุ์ได้ดียิ่งขึ้น อันจะเป็นแนวทางให้เราสามารถหลีกเลี่ยงการได้รับสารที่มีผลทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอสุจิ ซึ่งอาจส่งผลให้สามารถลดจำนวนทารกที่มีความผิดปกติของโครโมโซมลงได้บ้าง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University