

การส่งตรวจและแปลผลการวิเคราะห์โครโมโซม

มนตกานต์ ตันสถิตย์ *

Tansatit M. Chromosome analysis. Chula Med J 2001 Mar; 45(3): 247 - 57

Chromosome analysis is a method used to diagnose some genetic disorders. As the cost of this investigation is high, clinicians should consider carefully before requesting it. Chromosome abnormalities may be numerical or structural. Clinical consequences of chromosome abnormalities include spontaneous abortion, birth defects and neoplasia. The indications for chromosome analysis are known or suspected chromosome abnormality, multiple congenital anomalies (especially when associated with growth and/or mental retardation), disorders of sexual differentiation, hematologic or other malignancies associated with chromosome instability, multiple miscarriages, primary infertility, and prenatal diagnosis in high risk cases. Human chromosomes can be studied in peripheral blood lymphocytes and also in some growing tissues, including bone marrow, cultivated skin fibroblasts and cells from the amniotic fluid or chorionic villi. The chromosomes may be stained by numerous techniques, but for routine karyotyping, G-banding (Giemsa banding) is usually preferred. The history and physical examination may permit a confident diagnosis or may indicate a need for further investigation. The clinician should interpret the karyotype carefully whether it is normal or not. Accurate diagnosis is of paramount importance for meaningful genetic counseling.

Key words : Chromosome, Karyotype, Genetic counseling, Giemsa banding.

Reprint request : Tansatit M. Department of Anatomy, Faculty of Medicine,
Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. November 15, 2000.

มนตกานต์ ตันสถิตย์. การส่งตรวจและแปลผลการวิเคราะห์โครโมโซม. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2544 มี.ค; 45(3): 247 - 57

การตรวจวิเคราะห์โครโมโซมเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการวินิจฉัยความผิดปกติทางพันธุกรรม บางอย่าง แต่เนื่องจากการตรวจนี้ผู้ป่วยต้องเสียค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง ดังนั้นก่อนที่จะส่งการตรวจแพทย์ ควรพิจารณาให้รอบคอบ ความผิดปกติของโครโมโซมอาจเกิดขึ้นได้ 2 แบบคือความผิดปกติของจำนวน และความผิดปกติของโครงสร้าง ซึ่งทำให้เกิดผลทางคลินิกได้แก่ การแท้งตามธรรมชาติ ความพิการแต่กำเนิด และมะเร็งบางชนิด ข้อบ่งชี้ในการส่งตรวจโครโมโซมคือ มีลักษณะที่สงสัยว่าจะมีความผิดปกติของโครโมโซม มีความพิการแต่กำเนิดหลายอย่างโดยเฉพาะเมื่อร่วมกับการเจริญเติบโตและการพัฒนาการช้า ความผิดปกติในการพัฒนาการลักษณะเฉพาะทางเพศ มะเร็งเม็ดเลือดและมะเร็งบางชนิด ที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของโครโมโซม แท้งบ่อย มีบุตรยาก และการวินิจฉัยก่อนคลอดในการตั้งครรภ์ที่มีความเสี่ยงสูง ในมนุษย์สามารถตรวจโครโมโซมได้จากเม็ดเลือดขาวในเลือด และในเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงได้เช่น ไชกระดุก ผิวหนัง เซลล์น้ำคร่ำหรือเซลล์เนื้อรก โครโมโซมย้อมติดสีหลายชนิดแต่วิธีที่ยอมรับนิยมใช้ในการวิเคราะห์โครโมโซมคือวิธี Giemsa banding การชักประวัติและการตรวจร่างกายอย่างละเอียดช่วยสนับสนุนการวินิจฉัยและให้ข้อมูลสำหรับการตรวจเพิ่มเติมทางห้องปฏิบัติการอื่นที่จำเป็น แพทย์ควรแปลผล karyotype ด้วยความรอบคอบไม่ว่าผลที่ได้จะปกติหรือผิดปกติ การให้การวินิจฉัยที่แน่นอนถูกต้องมีความสำคัญและมีความหมายอย่างมากในการให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์

ในปัจจุบันความก้าวหน้าทางวิทยาการด้านการแพทย์ช่วยให้แพทย์สามารถวินิจฉัยโรคพันธุกรรมได้มากขึ้น การดูแลผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะเป็นโรคทางพันธุกรรมจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลหลายอย่างเพื่อประกอบการตัดสินใจเลือกวิธีตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่เหมาะสม โรคทางพันธุกรรมแต่ละโรคมีวิธีการวินิจฉัยต่างกันบางโรควินิจฉัยจากการตรวจวิเคราะห์โครโมโซม ในขณะที่บางโรคต้องตรวจจาก DNA โดยใช้วิธีทางอณูพันธุศาสตร์ เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่กำลังมีปัญหาด้านเศรษฐกิจจำเป็นต้องใช้ทรัพยากรต่าง ๆ ที่มีอยู่อย่างประหยัด คุ่มค่า ดังนั้นการเลือกวิธีการวินิจฉัยโรคให้ถูกต้องจึงช่วยลดค่าใช้จ่ายที่ไม่จำเป็นสำหรับผู้ป่วยได้ สำหรับการตรวจวิเคราะห์โครโมโซมนั้น คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยได้กำหนดค่าบริการตรวจวิเคราะห์โครโมโซมจากเลือดหรือไขกระดูกตัวอย่างละ 500 บาท และจากน้ำคร่ำ เนื้อมด หรือผิวหนังตัวอย่างละ 2,000 บาท ซึ่งเป็นค่าใช้จ่ายที่สูงสำหรับผู้ป่วยโดยทั่วไป ดังนั้นก่อนที่จะแพทย์จะตัดสินใจว่าผู้ป่วยรายใดจำเป็นต้องส่งตรวจโครโมโซมหรือไม่นั้นอาจทำให้เกิดคำถามในหลายประเด็น เช่น เมื่อใดแพทย์ควรจะสงสัยว่าผู้ป่วยน่าจะมีความผิดปกติของโครโมโซมและควรส่งตรวจโครโมโซม ผู้ป่วยรายนั้นมีข้อบ่งชี้อะไรในการที่จะส่งตรวจโครโมโซม โรคที่สงสัยนั้นตรวจได้จากโครโมโซมหรือไม่ การส่งตรวจโครโมโซมทำได้อย่างไรบ้าง เมื่อได้ผลการตรวจแล้วแปลผลถึงความสำคัญทางคลินิกอย่างไร

การตรวจวิเคราะห์โครโมโซมให้ข้อมูลทางคลินิกอะไรได้บ้าง ?

โครโมโซมคือ DNA สายคู่ที่พันรอบแกนโปรตีน เป็นการจัดลำดับของสาย DNA ชั้นสูงที่สุด ในสิ่งมีชีวิตมีจำนวนและขนาดของโครโมโซมเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละสปีชีส์ เรียกว่าเป็น karyotype สำหรับ karyotype ของมนุษย์ประกอบด้วย 46 โครโมโซม ในจำนวนนี้ 44 โครโมโซมเป็นโครโมโซมร่างกาย เรียกว่า autosome ซึ่งจะจับคู่ได้เป็นคู่เหมือน (homologous pair) 22 คู่ ในแต่ละคู่จะมียีนอยู่บนแต่ละโครโมโซมเหมือนกัน โครโมโซม 2

โครโมโซมที่เหลือคือโครโมโซมเพศ เรียกว่า sex chromosome เพศหญิงจะมีโครโมโซมเพศเป็น X chromosome 2 โครโมโซม และในเพศชายจะมี X และ Y อย่างละ 1 โครโมโซม

การกลายพันธุ์ (mutation) ที่เกิดกับสารพันธุกรรมในเซลล์บางครั้งมีผลต่อโครงสร้างขนาดใหญ่ของโครโมโซม ทำให้สามารถตรวจพบความผิดปกติของโครโมโซมได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ความผิดปกตินี้เรียกว่า chromosome aberrations ซึ่งอาจเกิดขึ้นกับโครโมโซม ร่างกาย (autosome) หรือโครโมโซมเพศก็ได้ และอาจเป็นผลมาจากการกลายพันธุ์ของเซลล์สืบพันธุ์ที่ถ่ายทอดมาจากบรรพบุรุษ หรือเป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นในบุคคลนั้นเองก็ได้ความผิดปกติของโครโมโซมแบ่งเป็น 2 แบบ คือ

1. จำนวนโครโมโซมผิดปกติ (Numerical Chromosome Abnormalities) หมายถึง โครโมโซมในเซลล์ร่างกาย (somatic cells) มีจำนวนผิดไปจาก 46 โครโมโซม
2. โครงสร้างของโครโมโซมผิดปกติ (Structural Chromosome Abnormalities) คือเซลล์ร่างกายประกอบด้วยโครโมโซมที่มีลักษณะผิดปกติ เป็นผลจากส่วนโครโมโซมขาดออกจากกันทำให้มีความผิดปกติในโครงสร้างของโครโมโซมเกิดขึ้น เช่น การขาดหายไป (deletion), การย้ายตำแหน่ง (translocation), การกลับลำดับ (inversion)

ความผิดปกติของโครโมโซมทั้ง 2 แบบที่เกิดขึ้นในผู้ป่วย ทำให้เกิดผลทางคลินิกตามมาดังนี้คือ

1. การแท้งเองตามธรรมชาติ (Spontaneous Abortion)
การศึกษาหลายเรื่องแสดงให้เห็นว่า 50 % หรือมากกว่าของทารกที่แท้งออกมาเองตามธรรมชาติพบมีความผิดปกติของโครโมโซม (ตารางที่ 1) ⁽²⁻⁸⁾
2. ความพิการแต่กำเนิด (Birth Defects)
พบว่า 6 - 7 % ของทารกที่มีความพิการแต่กำเนิดมีสาเหตุมาจากความผิดปกติของโครโมโซม ⁽⁹⁾
3. มะเร็ง (Neoplasia)
ความก้าวหน้าทางวิทยาการในปัจจุบันทำให้

ตารางที่ 1. แสดงลักษณะของโครโมโซมที่พบในทารก ที่แท้จริงตามธรรมชาติ⁽¹⁾

40 % โครโมโซมปกติ	
60 % โครโมโซมผิดปกติ	
• Trisomy	30 %
• 45,X	10 %
• Triploid	10 %
• Tetraploid	5 %
• other	5 %

เกิดความเข้าใจดีขึ้นเกี่ยวกับสาเหตุของโรคมะเร็งหลายกลุ่มว่ามีความสัมพันธ์กับความผิดปกติของโครโมโซม เช่น ใน chronic myelogenous leukemia (CML) ซึ่งเป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่เกิดในผู้ใหญ่ พบบ่อยว่ามีโครโมโซมผิดปกติแบบที่มีการสลับที่ระหว่างแขนยาว (long arm) ของโครโมโซมหมายเลข 9 และหมายเลข 22 เรียกว่า Philadelphia chromosome

ดังนั้น จึงอาจสรุปข้อบ่งชี้ในการส่งตรวจวิเคราะห์โครโมโซมได้ ดังนี้

1. มีลักษณะตรวจพบทางคลินิกที่สงสัยว่าจะมีความผิดปกติของโครโมโซม

ผู้ป่วยมีลักษณะตรวจพบทางคลินิกผิดปกติหลายอย่างเข้าได้กับกลุ่มอาการที่เกิดจากความผิดปกติของโครโมโซม ถึงแม้ว่าผู้ป่วยจะมีลักษณะทางคลินิกของกลุ่มอาการนั้น ๆ ชัดเจน เช่น ผู้ป่วยมีลักษณะตรวจพบทางคลินิกเข้าได้กับกลุ่มอาการดาวน์ (Down syndrome) ก็จำเป็นต้องส่งตรวจโครโมโซมทุกรายเพื่อแยกให้ได้ว่าผู้ป่วยเป็น trisomy 21 หรือเป็น unbalanced translocation ซึ่งมีผลต่อการให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์แก่ครอบครัวผู้ป่วย เนื่องจากอุบัติการณ์ของการเกิดซ้ำในครอบครัวของกลุ่มอาการดาวน์ที่มี karyotype แต่ละแบบนั้นมีความแตกต่างกัน

2. มีความพิการแต่กำเนิดหลายอย่างโดยเฉพาะเมื่อรวมกับการเจริญเติบโตและการพัฒนาการช้า

ความพิการที่เกิดจากโครโมโซมผิดปกตินั้น (ยกเว้นกรณีของ balanced translocation) ทำให้ยีนและการสร้างโปรตีนหลายชนิดผิดปกติ เป็นผลให้เกิดความผิดปกติกับหลาย ๆ อวัยวะโดยไม่มีความสัมพันธ์ทางสรีระ ดังนั้น เมื่อพบความพิการหลายอย่างจึงควรสงสัยความผิดปกติของโครโมโซมด้วย อย่างไรก็ตามแพทย์ควรตระหนักไว้เสมอว่าในทารกแรกเกิดที่ตรวจพบความพิการแต่กำเนิดชนิดไม่รุนแรง 1 อย่างซึ่งไม่ก่อให้เกิดปัญหากับผู้ป่วยนั้น (ตารางที่ 2) อาจมีความพิการอย่างอื่นซ่อนเร้นอยู่ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องตรวจร่างกายทารกอย่างละเอียด ประมาณ 20% ของ ทารกที่มีความพิการแต่กำเนิดชนิดไม่รุนแรงหลายอย่างจะพบความพิการที่รุนแรง 1 อย่างร่วมอยู่ด้วยการตรวจร่างกายผู้ป่วยอย่างละเอียดอาจทำให้พบลักษณะที่นำไปสู่การวินิจฉัยกลุ่มอาการของโรคทางพันธุกรรมได้

3. มีความผิดปกติในการพัฒนาลักษณะหน้าที่เฉพาะทางเพศ เช่น ผู้ป่วยหญิงที่ไม่เคยมีประจำเดือน ผู้ป่วยที่มีอวัยวะเพศกำกวม ผู้ป่วยกลุ่มนี้พบว่าเกิดจากความผิดปกติของโครโมโซมได้บ่อย

4. เพศชายมีพัฒนาการช้าและมีประวัติโรคปัญญาอ่อนในครอบครัว

ตารางที่ 2. ตัวอย่างความพิการชนิดไม่รุนแรง (minor congenital malformation).

Epicanthal folds
Down-slanting or up-slanting palpebral fissures
Ear tag or pit
Bifid uvula
Transverse palmar crease
Fifth-finger clinodactyly
Haemangioma
Soft tissue syndactyly
Umbilical hernia
Single umbilical artery
Minor hypospadias

วัตถุประสงค์เพื่อวินิจฉัยโรคปัญญาอ่อนที่มีโครโมโซม X เป็นพาหะ ได้แก่ กลุ่มอาการ fragile X แต่การตรวจโครโมโซมเพื่อวินิจฉัยโรคนี้จำเป็นต้องใช้สารเพาะเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมขึ้นเฉพาะ ในปัจจุบันโดยเฉพาะประเทศไทยจึงไม่ส่งตรวจโครโมโซม แต่นิยมวินิจฉัยโรคนี้โดยการตรวจ DNA เพราะสะดวกและให้ผลแน่นอนกว่า

5. เพศหญิงที่ตัวเตี้ยผิดปกติโดยไม่ทราบสาเหตุ เพราะเป็นลักษณะที่พบบ่อยของกลุ่มอาการ Turner

6. โรคมะเร็งของเม็ดเลือด (Hematologic malignancy) และโรคมะเร็งอื่นที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของโครโมโซม (ตารางที่ 3)

การค้นพบว่าโรคมะเร็งบางชนิดมีรูปแบบโครโมโซมผิดปกติจำเพาะกับโรคนั้น ทำให้การตรวจวิเคราะห์โครโมโซมเข้ามามีบทบาทในการให้การวินิจฉัยการพยากรณ์โรคและการติดตามผลการรักษา เช่น ในผู้ป่วย AML ที่มีความผิดปกติของโครโมโซมแบบการย้ายตำแหน่งของโครโมโซม t8;21 มักตอบสนองต่อการรักษาดีโดยมี complete remission และอัตราการรอดชีวิตสูง ในขณะที่ผู้ป่วย AML ที่มีโครโมโซมแบบ t9;22 (Philadelphia chromosome) มีการพยากรณ์โรคไม่ดี หรือแบบ t6;9 มีการพยากรณ์โรคอยู่ระหว่างสองแบบแรก

7. มีปัญหาทางการเจริญพันธุ์

เช่น คู่สมรสที่มีบุตรยาก ผู้หญิงที่ไม่เคยมีประจำเดือน แท้งบ่อย⁽⁶⁾ มีการประมาณว่า 5 % ของคู่สมรสที่มีการแท้งเองตามธรรมชาติตั้งแต่ 2 ครั้งขึ้นไป คู่สมรสนั้นมักมีฝ่ายใดฝ่ายหนึ่งมีความผิดปกติของโครโมโซมเป็นแบบ balanced translocation⁽¹⁾ อย่างไรก็ตามการตรวจพบลักษณะดังกล่าวในคู่สมรสเป็นข้อบ่งชี้ในการตรวจวินิจฉัยทารกก่อนคลอดของการตั้งครรภ์ต่อไปด้วย

8. ทารกตายคลอดหรือตายหลังคลอดโดยไม่ทราบสาเหตุ

เนื่องจากความผิดปกติของโครโมโซมเป็นสาเหตุสำคัญสาเหตุหนึ่ง

9. การวินิจฉัยทารกก่อนคลอด

การตรวจวิเคราะห์โครโมโซมเพื่อการวินิจฉัยทารกก่อนคลอดมีข้อบ่งชี้ดังนี้คือ

9.1 มารดามีอายุ 35 ปีหรือมากกว่า นับถึงวันกำหนดคลอด

9.2 มารดาเคยมีบุตรที่มีโครโมโซมผิดปกติ

9.3 บิดาหรือมารดามีความผิดปกติของโครโมโซม เช่น balanced translocation

9.4 เพื่อทราบเพศอย่างถูกต้องของทารกในครรภ์ ในกรณีที่ไม่ครอบครัวมีประวัติของโรคที่เป็น X-linked disorder

9.5 มีความผิดปกติของการตรวจกรองในมารดา (MSAFP or triple screen)

9.6 การตรวจครรภ์โดยคลื่นเสียงความถี่สูงพบว่าทารกในครรภ์มีความพิการหลายอย่าง⁽¹⁰⁾

การตรวจวิเคราะห์โครโมโซมเพื่อการวินิจฉัยก่อนคลอดมีความสำคัญในการตั้งครรภ์ที่มีความเสี่ยงสูง เช่นในกรณีผู้หญิงอายุมากเนื่องจากมีอัตราเสี่ยงที่จะมีบุตรที่มีความผิดปกติของจำนวนโครโมโซม (aneuploidy) เพิ่มขึ้นตามอายุแม่ หรือมีผลการตรวจกรองในมารดาผิดปกติเพื่อหาสาเหตุว่าทารกในครรภ์มีความผิดปกติของโครโมโซมหรือไม่

การวินิจฉัยโรคพันธุกรรมบางโรคก็ไม่สามารถตรวจพบความผิดปกติของโครโมโซมได้เสมอไป การขาดหายไปส่วนเล็ก ๆ บนโครโมโซม (microdeletion) อาจไม่สามารถตรวจพบได้โดยวิธีการตรวจโครโมโซมตามปกติ จำเป็นต้องใช้วิธีการใหม่ ๆ ที่พัฒนาขึ้นเพื่อเพิ่มกำลังความสามารถในการตรวจหาความผิดปกติที่มีขนาดเล็กบนโครโมโซม ทำให้โรคบางโรคซึ่งในอดีตไม่ทราบว่าเกี่ยวข้องกับความผิดปกติของโครโมโซมได้รับการพิสูจน์ว่ามีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนโครโมโซม เช่น Prader-Willi syndrome ซึ่งมีลักษณะเฉพาะคือ ปัญญาอ่อน อ้วนต่อมเพศเจริญน้อย (hypogonadism) มือและเท้ามีขนาดเล็ก ซึ่งในปัจจุบันพบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่มีการขาดหายไปของแขนยาวของโครโมโซมหมายเลข 15 ตรงแถบ q11-q13

ตารางที่ 3. มะเร็งบางชนิดที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของโครโมโซม⁽¹⁾

Tumor type	Chromosome abnormality
Acute non-lymphocytic leukemia (ANLL)	
● M1 Acute myeloblastic leukemia	inv(3)(q21,q25-27), del3p, -5, 5q-(q13q31), t(6;9)(p22;q34), -7, 7q-, +8, t(9;22)(q34;q11), -17, +21
● M2 Acute myeloblastic leukemia	inv(3)(q21,q25-27), T(3;5)(q26;q22), del3p, +4, -5, 5q-(q13q31), t(6;9)(p22;q34), -7, 7q-, +8, t(8;21)(q22;q22), t(9;11)(p22;q23), t(9;22)(q34;q11), inv(16)(p13q22), 16q-(q22)
● M3 Acute promyelocytic leukemia	t(15;17)(q22;q11), I(17q)
● M4 Acute myelomonocytic leukemia	+4, -5, 5q-(q13q31), t(6;9)(p22;q34), -7, 7q-, +8, t(9;11)(p22;q23), t(9;22)(q34;q11), inv(16)(p13q22), 16q-(q22)
● M5 Acute monocytic leukemia	-5, 5q-(q13q31), +8, [5a]t(9;11)(p22;q23), [5b]inv(16)(p13q22), [5b]16q-(q22)
● M6 Acute erythroleukemia	dup(1), -5, 5q-(q13q31), -7, 7q-, +8
Acute lymphatic leukemia	
● L1	t(1;19)(q21-q23;p13), 9p-, *t(9;22)(q34;q11), t(11;14)(q13;q32), 14q+(q32), 14q-(q11), near haploid
● L2	*t(4;11)(q21;q23), del(6)(q21q25), 7p-, +8, *t(9;22)(q34;q11), t(11;14)(p13-14;q11-13), 11q-, 12p-, 14q+(q23), 14q-(q11), I(17q), +21
● L3	1q+, t(2;8)(p11-13;q24), 6q-, +8, *t(8;14)(q24;q32), t(8;22)(q24;q11), 14q+
Bladder carcinoma	i(5p), +7, -9, 9q-, 11p-
Bronchial carcinoma	del(3)(p14-p23)
Burkitt's lymphoma	t(2;8)(p12;q24), t(8;14)(q24;q32), t(8;22)(q24;q11)
Chronic lymphatic leukemia (B cell)	+12, del(14)(q22-q24), 14q+
Chronic lymphatic leukemia (T cell)	inv(14)(q11q32)
Chronic myeloid leukemia	+7, -7, +8, *t(9;22)(q34;q11), i(17q), +21
Colonic adenocarcinoma	+7, +8, +12, 12q-, 17p-
Ewing's sarcoma	t(11;22)(q24;q12)
Follicular lymphoma	t(14;18)(q32;q21)
Lipoma	t(3;12)(q28;q14)
Liposarcoma	t(12;16)(q13;q11)
Lung small cell carcinoma	del(3)(p14p23)
Malignant lymphoma	6q-, t(14;18)(q32.3;q21.3), 14q+, i(17q)
Malignant melanoma	del(1)(p12-p22), i(6p)
Meningioma	del(22)(q11)
Neuroblastoma	del(1)(p32-p36)
Ovarian carcinoma	t(6;14)(q21;q24)
Parotid mix tumor	t(3;8)(p21;q12), t(9;12)(p13-22;q13-15)
Polycythemia rubra vera	20q-
Prostatic adenocarcinoma	del(10)(q24), trisomy7
Renal carcinoma	del(3)(p21)
Retinoblastoma	del(13)(q14.1)
Rhabdomyosarcoma	t(2;13)(q37;q14)
Synovial sarcoma	t(X;18)(p11;q11)
Testicular carcinoma	i(12p)
Uterine adenocarcinoma	1q-
Wilm's tumor	del(11)(p13)

* ความผิดปกติแบบที่พบบ่อย

การส่งตรวจวิเคราะห์โครโมโซมทำได้อย่างไร ?

การวิเคราะห์โครโมโซมโดยปกติกระทำโดยวิธีการที่เรียกว่า G-banding technique การตรวจโครโมโซมด้วยวิธีนี้เป็นการย้อมทำให้เกิดแถบสีดำสลับขาว 300 - 400 แถบบนโครโมโซม ซึ่งมีลักษณะเฉพาะสำหรับโครโมโซมแต่ละคู่ ทำให้สามารถตรวจดูจำนวนและลักษณะโครงสร้างขนาดใหญ่ของโครโมโซมได้ การตรวจด้วยวิธีนี้เป็นมาตรฐานสำหรับใช้ในการตรวจโครโมโซมตามปกติในการวินิจฉัยก่อนคลอดให้กับการตั้งครรภ์ที่มารดามีอายุมาก การตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยที่มีความพิการแต่กำเนิดหลายอย่าง การแท้ง และกลุ่มโรคมะเร็ง

ตัวอย่างทางคลินิก (clinical specimen) ที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์โครโมโซม⁽¹⁾ ได้แก่

1. น้ำคร่ำ (amniotic fluid) ใช้ประมาณ 15 - 30 ml บรรจุในหลอด centrifuge ปลอดเชื้อ ปิดผนึกให้สนิท (นิยมใช้หลอดที่ทำจาก polypropylene) นำส่งห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิห้อง
2. เลือด (blood) เจาะจากหลอดเลือดดำ ผู้ใหญ่หรือเด็กโตใช้เลือด 5 ml ทารกหรือเด็กเล็กใช้ 1-3 ml โดยเติม sodium heparin เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด
3. ไชกระดูก (bone marrow) ใช้ 2 ml ใส่ sodium heparin เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด
4. เนื้อรก (chorionic villus) ใช้ชิ้นเนื้อขนาด 10 - 30 mg. ใส่ในหลอดซึ่งมี transport medium ที่ห้องปฏิบัติการจัดเตรียมไว้ (สามารถขอได้จากห้องปฏิบัติการ)
5. ผิวหนัง (skin biopsy) ใช้ punch biopsy เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 mm ตัดผิวหนังแล้วนำชิ้นเนื้อใส่ในหลอดซึ่งมี transport medium บรรจุอยู่
6. ชิ้นเนื้อ (solid tumor) ส่งชิ้นเนื้อโดยแช่ใน transport medium ที่จัดเตรียมไว้
7. ชิ้นเนื้อจากการแท้ง (product of conceptus) เก็บรักษาให้ปลอดเชื้อ นำส่งโดยแช่ใน transport medium หรือใช้ normal saline ก็ได้

ข้อมูลทางคลินิกที่เป็นประโยชน์ในการตรวจวิเคราะห์โครโมโซม ได้แก่

1. รูปประวัติและอาการสำคัญของผู้ป่วย
2. ประวัติครอบครัว
 - 2.1 ข้อมูลพงศาวลี (pedigree) ของผู้ป่วย
 - 2.2 โรคหรือความผิดปกติทางพันธุกรรมที่พบในครอบครัว
 - 2.3 ประวัติการเสียชีวิตและแท้งบุตร
 - 2.4 ประวัติการสมรส หย่า แต่งงานใหม่
3. การตรวจร่างกายผู้ป่วย ควรระบุความผิดปกติที่ตรวจพบให้ครบถ้วนชัดเจน
4. การวินิจฉัยโรคในผู้ป่วยนั้น
เนื่องจากการตรวจโครโมโซมโดยเฉพาะการอ่าน band เป็นวิธีที่ละเอียด ดังนั้นในการส่งตรวจโครโมโซมแพทย์ควรบอกข้อบ่งชี้ให้ทางห้องปฏิบัติการทราบด้วย เช่น สงสัย Prader-Willi syndrome (PWS) เพื่อจะได้ตรวจได้ถูกต้อง

การแปลผลการตรวจวิเคราะห์โครโมโซม

การรายงานผลการตรวจวิเคราะห์โครโมโซมจะเขียนเป็นสัญลักษณ์ย่อ (ตารางที่ 4) โดยทั่วไปจะเขียนข้อมูลเรียงลำดับ ดังนี้

1. จำนวนโครโมโซมทั้งหมดในเซลล์
2. โครโมโซมเพศที่เป็นองค์ประกอบ
3. บรรยายความผิดปกติของโครโมโซมที่พบ
เพศหญิงที่ปกติจะมี karyotype เป็น 46,XX ในขณะที่เพศชายปกติเป็น 46,XY ตัวอย่างการแปลผลการตรวจวิเคราะห์โครโมโซม แสดงไว้ในตารางที่ 5
ความสำคัญของการแปลผลคือการให้การวินิจฉัยโรคบ่งบอกถึงความเสี่ยงต่อการเกิดความผิดปกติของโครโมโซมของสมาชิกคนอื่นในครอบครัว ความรุนแรงของโรค และผลการรักษา ผลที่ได้จากการตรวจโครโมโซมแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ
 1. กลุ่มที่มีผลการตรวจโครโมโซมปกติ

ตารางที่ 4. ตัวอย่างสัญลักษณ์ที่ใช้ในการเขียน karyotype

A-G	Chromosome group
1-22	Autosome number
X,Y	Sex chromosome
p	Short arm
q	Long arm
pter	Tip of short arm
qter	Tip of long arm
cen	Centromere
h	Heteromorphism
del	Deletion
der	Derivative of a chromosome rearrangement
dup	Duplication
i	Isochromosome
ins	Insertion
inv	Inversion
r	Ring chromosome
t	Translocation
/	Mosaicism
+/-	Before a chromosome number indicates gain or loss of that whole chromosome
+/-	After a chromosome number indicates gain or loss of part of that chromosome

ตารางที่ 5. ตัวอย่างการแปลผลการตรวจวิเคราะห์โครโมโซม⁽¹²⁾

จำนวนโครโมโซมผิดปกติ (Numerical Chromosome Abnormalities)

Karyotype	การแปลผล
92,XXYY	Tetraploidy
69,XXY	Triploidy
47,XX,+21	Female with trisomy 21
47,XY,+18	Male with trisomy 18
45,X	Turner syndrome
47,XXY	Klinefelter syndrome
46,XX/47,XXX	Mosaicism

ตารางที่ 5. (ต่อ)

โครงสร้างของโครโมโซมผิดปกติ (Structural Chromosome Abnormalities)

Karyotype	การแปลผล
46, XY, t(5;10)(p13;q25)	Balanced reciprocal translocation involving chromosome 5 and 10 (break point indicated)
46, XY, del(5)(p25)	Short arm deletion of chromosome 5
46, X, i(Xq)	Isochromosome of Xq
46, XY, r(3)(p26→q29)	Ring chromosome 3)(p26→q29)
47, XX,+ mar	Karyotype of a cell contains an extra unidentified chromosome (a marker)
45,XY, - 14, - 21,+ rob(14q;21q)	Robertsonian translocation of chromosome 14 and 21 (balanced carrier)

1.1 ผู้ป่วยมีโครโมโซมปกติ ดังนั้นความผิดปกติที่เกิดกับผู้ป่วยน่าจะมาจากสาเหตุอื่น หรือเป็นความผิดปกติในระดับยีน

1.2 ผู้ป่วยมีอาการแสดงทางคลินิกชัดเจน แต่เมื่อส่งตรวจโครโมโซมจากเลือดแล้วได้ผลปกติ ลักษณะดังกล่าวอาจเกิดได้จาก ผู้ป่วยมี karyotype เป็นแบบผสม (mosaicism) จึงอาจต้องตรวจโครโมโซมจาก skin biopsy ร่วมด้วย หรือในบางโรคจำเป็นต้องใช้วิธีการพิเศษเพื่อตรวจความผิดปกติของโครโมโซม เช่น ในกลุ่มโรคที่มีการขาดหายไปส่วนเล็กบนโครโมโซม (microdeletion) ซึ่งวิธีการทำ G-banding ไม่ละเอียดพอที่จะตรวจความผิดปกติพบจึงอาจต้องใช้วิธี Fluorescence in situ hybridization (FISH) หรือการตรวจ DNA ร่วมด้วย แต่การตรวจโดยวิธีดังกล่าวนี้ต้องระบุให้ชัดเจนว่าต้องการหาความผิดปกติของโรคอะไร เพราะใช้สาร (probe) สำหรับการตรวจแต่ละโรคต่างกัน

2. กลุ่มที่มีผลการตรวจโครโมโซมผิดปกติ

กลุ่มนี้มีความสำคัญในกรณีที่จะต้องพิจารณาว่าความผิดปกติของโครโมโซมที่พบอธิบายปัญหาของผู้ป่วยได้หรือไม่ และเพิ่มความเสี่ยงของการเกิดความผิดปกติของโครโมโซมในครอบครัวหรือไม่

2.1 ความผิดปกติของโครโมโซมที่พบ สามารถอธิบายความผิดปกติของผู้ป่วย และสนับสนุนการวินิจฉัยทางคลินิก ให้ข้อมูลแก่แพทย์ในการบอกอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคซ้ำในครอบครัว การวางแผนและติดตามผลการรักษา ร่วมทั้งการพยากรณ์โรค

2.2 ความผิดปกติที่พบไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติในคน ๆ นั้น แต่สามารถถ่ายทอดไปสู่บุตรหลานและทำให้เกิดโรคได้ ซึ่งมีความสำคัญมากในการให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์ เช่น เมื่อตรวจโครโมโซมในคู่สมรสที่มีบุตรยาก แล้วพบว่าสามีหรือภรรยาคนใดคนหนึ่งมี karyotype เป็น balanced translocation [45,XY,-14,- 21,+rob(14q; 21q)] ซึ่งไม่มีอาการแสดงทางคลินิกเนื่องจากสารพันธุกรรมในเซลล์อยู่ในภาวะสมดุล แต่สิ่งที่แพทย์ต้องคำนึงถึงคือคนนี้จะ เป็นพาหนะถ่ายทอดโครโมโซมผิดปกติไปสู่ลูกของเขาได้ [บุตรอาจมีความผิดปกติของโครโมโซมเป็นแบบ 46,XX,-14,+rob(14q;21q) (translocation Down syndrome)] จึงมีความสำคัญที่จะต้องแนะนำการวินิจฉัยโครโมโซมก่อนคลอดเมื่อคู่สมรสนี้ต้องการมีบุตร และควรอธิบายให้คนที่ มีโครโมโซมผิดปกติทราบว่าพี่น้องพ่อแม่เดียวกับเขาอาจมีโครโมโซมที่ผิดปกติลักษณะเดียวกันนี้อีกก็ได้ ในกรณีที่ได้ รับถ่ายทอดโครโมโซมผิดปกติมาจากบรรพบุรุษ

2.3 ความผิดปกติที่พบไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติในคน ๆ นั้น เป็นความผิดปกติที่ถ่ายทอดมาจากพ่อหรือแม่โดยส่วนใหญ่ไม่ก่อให้เกิดโรค สำคัญที่ต้องพิสูจน์ให้ได้ก่อนจะสรุปว่าโครโมโซมผิดปกตินั้นไม่ก่อให้เกิดโรค เช่น ในการตรวจโครโมโซมของหญิงตั้งครรภ์ที่มีอายุมากกว่า 35 ปีรายหนึ่ง และพบว่าทารกในครรภ์มี karyotype เป็น 47,XX,+mar เมื่อตรวจโครโมโซมของพ่อแม่พบว่า พ่อมี karyotype เป็น 47,XY,+mar ตรวจร่างกายไม่พบความผิดปกติอื่น แม่มี karyotype เป็น 46,XX ในกรณีนี้ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าทารกจะปกติเหมือนพ่อ ต้องพิสูจน์ว่า marker chromosome นั้นไม่ใช่ส่วนของ chromosome Y เพราะถ้าเป็นโครโมโซม Y พ่อจะมี karyotype เป็น 47,XYX ซึ่งอาจไม่มีความพิการ แต่ลูกที่คลอดออกมาอาจจะเป็นเพศชายแทนที่จะเป็นเพศหญิงและเป็นกลุ่มอาการ Klinefelter ได้ (47,XXY) แต่หากพิสูจน์ได้ว่า marker chromosome นั้นเป็นโครโมโซมอื่นที่ inactive และไม่มี ความผิดปกติชนิดอื่นของโครโมโซมก็สามารถสรุปได้ว่า ทารกนั้นไม่น่าจะมีความผิดปกติจากโครโมโซม

สรุป

การตรวจวิเคราะห์โครโมโซมเป็นวิธีการที่มีประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคพันธุกรรมบางโรค สำหรับผู้ป่วย โดยทั่วไปแล้วค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์โครโมโซมแต่ละครั้งค่อนข้างสูง ดังนั้นแพทย์ควรพิจารณาให้รอบคอบ ก่อนที่จะส่งตรวจ มีข้อบ่งชี้หลายประการที่กำหนดขึ้นเพื่อช่วยแพทย์ตัดสินใจเมื่อเผชิญหน้ากับปัญหาทางด้านโรคพันธุกรรม และแพทย์ควรจะทราบโรคที่สงสัยว่าผู้ป่วยเป็นนั้นสามารถวินิจฉัยได้จากการตรวจวิเคราะห์โครโมโซมหรือไม่ การเก็บข้อมูลโดยการซักประวัติและตรวจร่างกายผู้ป่วยอย่างละเอียด และทราบวิธีการส่งวินิจฉัยโรคทางพันธุกรรมอย่างเหมาะสมช่วยให้ประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายของผู้ป่วย นอกจากนี้การแปลผลการตรวจอย่างถูกต้องทำให้แพทย์สามารถวินิจฉัยโรคและให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์แก่ผู้ป่วยและครอบครัวได้ถูกต้องด้วย

อ้างอิง

1. Connor JM, Ferguson-Smith MA. Essential Medical Genetics. 4th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1993.
2. Daniely M, Barkai G, Goldman B, Aviram-Goldring A. Detection of numerical chromosome aberrations by comparative genomic hybridization. Prenat Diagn 1999 Feb;19(2): 100-4
3. Be C, Velasquez P, Youlton R. Spontaneous abortion: cytogenetic study of 609 cases. Rev Med Chil 1997 Mar; 125(3): 317 - 22
4. Reddy KS. Double trisomy in spontaneous abortions. Hum Genet 1997 Dec;101(3): 339-45
5. Ohno M, Maeda T, Matsunobu A. A cytogenetic study of spontaneous abortions with direct analysis of chorionic villi. Obstet Gynecol 1991 Mar; 77(3): 394 - 8
6. Hassold T, Chen N, Funkhouser J, Jooss T, Manuel B, Matsuura J, Matsuyama A, Wilson C, Yamane JA, Jacobs PA. A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. Ann Hum Genet 1980 Oct; 44(Pt 2): 151 - 78
7. Bick RL, Madden J, Heller KB, Toofanian A. Recurrent miscarriage: causes, evaluation, and treatment. Medscape Womens Health 1998 May; 3(3): 2
8. Qumsiyeh MB. Chromosome abnormalities in the placenta and spontaneous abortions. J Matern Fetal Med 1998 Jul-Aug; 7(4): 210 - 2
9. Keith L, Moore, Persaud TVN. The Developing Human: Clinically Oriented Embryology. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1998.

10. Schmidt-Sarosi C, Schwartz LB, Lublin J, Kaplan-Grazi D, Sarosi P, Perle MA. Chromosomal analysis of early fetal losses in relation to transvaginal ultrasonographic detection of fetal heart motion after infertility. *Fertil Steril* 1998 Feb; 69(2): 274 - 7
11. Rooney DE, Czepulkowski BH. *Human Cytogenetics : A Practical Approach*. 2nd ed. New York: Oxford University Press. 1992
12. Tom Strachan, Andrew P. Read. *Human Molecular Genetics*. 2nd ed. Oxford: BIOS Scientific Publishers. 1999.

กิจกรรมการศึกษาต่อเนื่องสำหรับแพทย์

ท่านสามารถได้รับการรับรองกิจกรรมการศึกษาต่อเนื่องสำหรับแพทย์ประเภทที่ 3 (ศึกษาด้วยตนเอง) ได้ จากการอ่านบทความเรื่อง "การส่งตรวจและแปลผลการวิเคราะห์โครโมโซม" โดยตอบคำถามข้างล่างนี้ พร้อมกับส่งคำตอบที่ท่านคิดว่าถูกต้องโดยใช้แบบฟอร์มคำตอบท้ายคำถามแล้วใส่ของพร้อมซองเปล่าติดแสตมป์เจ้าหน้าที่ของถึงตัวท่าน ส่งถึง

ศ. นพ. สุทธิพร จิตต์มิตรภาพ
บรรณาธิการจุฬาลงกรณ์เวชสาร
และประธานคณะกรรมการการศึกษาต่อเนื่อง
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
หน่วยจุฬาลงกรณ์เวชสาร
ตึกอบรมวิชาการ ชั้นล่าง
เขตปทุมวัน กทม. 10330

ท่านจะได้รับเฉลยคำตอบพร้อมหนังสือรับรองกิจกรรมการศึกษาต่อเนื่อง

คำถาม - คำตอบ

- การตรวจวิเคราะห์โครโมโซมโดยวิธี Giemsa banding เป็นการตรวจลักษณะของโครโมโซมที่อยู่ในระยะใด ?
 - Interphase
 - Prophase
 - Metaphase
 - Anaphase
 - Telophase
- ความผิดปกติชนิดใดที่ ไม่สามารถ ตรวจได้โดยการวิเคราะห์โครโมโซมแบบ G banding
 - จำนวนโครโมโซมผิดปกติ
 - รูปร่างโครโมโซมผิดปกติ
 - การขาดหายไปหรือการเกินมาส่วนเล็ก ๆ ของโครโมโซม
 - ความผิดปกติของยีน
 - C และ D

คำตอบ สำหรับบทความเรื่อง "การส่งตรวจและแปลผลการวิเคราะห์โครโมโซม"

จุฬาลงกรณ์เวชสาร ปีที่ 45 ฉบับที่ 3 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2544

- (a) (b) (c) (d) (e)
- (a) (b) (c) (d) (e)
- (a) (b) (c) (d) (e)

- (a) (b) (c) (d) (e)
- (a) (b) (c) (d) (e)

3. ความพิการแต่กำเนิดที่พบร่วมกันหลายอย่าง (multiple congenital anomalies) เป็นผลมาจากสาเหตุใด ?
- A. การติดเชื้ระหว่างการจัดครรภ์
 - B. ได้รับสารพิษที่มีฤทธิ์ก่อความพิการ
 - C. ความผิดปกติของยีน
 - D. ความผิดปกติของโครโมโซม
 - E. ถูกทุกข้อ
4. ความหมายของสัญลักษณ์ในข้อใด ไม่ถูกต้อง
- A. p = short arm
 - B. t = translocation
 - C. 45, X = normal female
 - D. 47, XY, + 18 = trisomy 18
 - E. 46, XX / 47, XX, + 18 = mosaicism
5. karyotype ในข้อใดคือ karyotype ของผู้ป่วยเพศชายที่เป็น Down syndrome
- A. 47, XXY
 - B. 46, XY, + rob (14q; 21q)
 - C. 45, XY, - 14, - 21, + rob (14q; 21q)
 - D. 47, XX, + 21
 - E. 47, XY, + mar

ท่านที่ประสงค์จะได้รับเครดิตการศึกษาต่อเนื่อง (CME credit) กรุณาส่งคำตอบ

ศาสตราจารย์นายแพทย์สุทธิพร จิตต์มิตรภาพ
ประธานคณะกรรมการการศึกษาต่อเนื่อง
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
หน่วยจุฬาลงกรณ์เวชสาร
ตึกอบรมวิชาการ ชั้นล่าง
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เขตปทุมวัน กทม. 10330