# บทที่ 2
# ทฤษฎีพื้นฐาน

การศึกษาผลทางชีววิทยาที่เกิดขึ้นจากการได้รับรังสี สามารถศึกษาได้โดยอาศัยข้อมูลจากเซลล์หรือโครโมโซมของสิ่งมีชีวิต การศึกษารูปร่างและจำนวนโครโมโซมของมนุษย์ สามารถศึกษาได้จากเซลล์ต่าง ๆ เช่น เซลล์ไขกระดูก เซลล์เม็ดเลือดขาว การศึกษาโครโมโซมจากเลือดโดยเพาะเลี้ยงเซลล์ลิมโฟไซต์เป็นวิธีที่สะดวกที่สุด

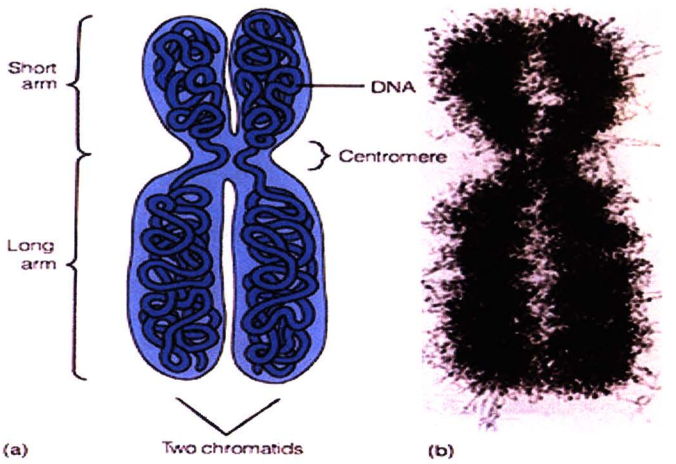
## 2.1 ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) (9)

ลิมโฟไซต์ เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่งพบประมาณ 20 - 50 เปอร์เซ็นต์ ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมดในกระแสเลือดหรือประมาณ 1.5 - 4 ล้านเซลล์ต่อเลือด 1 มิลลิลิตร มีความสำคัญที่สุดในการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน ลิมโฟไซต์เป็นเซลล์ในร่างกายที่มีการแบ่งตัวและเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ส่วนใหญ่เป็นเซลล์ขนาดเล็กมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 - 8 ไมโครเมตร เมื่อนำไปย้อมจะเห็นโครมาทินเด่นชัดและอัดกันแน่นอยู่ในนิวเคลียส ลิมโฟไซต์ขนาดใหญ่มีประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ของลิมโฟไซต์ทั้งหมดในเลือดหรือน้อยกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมดในเลือดมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 - 15 ไมโครเมตร โดยพบลิมโฟไซต์ชนิด B (B-lymphocyte) ประมาณ 5 - 15 เปอร์เซ็นต์ของลิมโฟไซต์ทั้งหมดในกระแสเลือดหรือประมาณ 250 เซลล์ต่อเลือด 1 ไมโครลิตร พบ 80-90 เปอร์เซ็นต์ในไขกระดูก 20-30 เปอร์เซ็นต์ในต่อมน้ำเหลือง และพบ 50 - 60 เปอร์เซ็นต์ในม้าม มีอายุ (lifespan) ประมาณ 20 ปีและพบลิมโฟไซต์ชนิด T (T-lymphocyte) ประมาณ 70 - 80 เปอร์เซ็นต์ของลิมโฟไซต์ทั้งหมดในกระแสเลือดหรือประมาณ 1500 เซลล์ต่อเลือด 1 ไมโครลิตร พบ 5 - 10 เปอร์เซ็นต์ในไขกระดูก 70-80 เปอร์เซ็นต์ในต่อมน้ำเหลือง และพบ 30 - 40 เปอร์เซ็นต์ในม้าม มีอายุประมาณ 20 ปี เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะมีลักษณะเด่นคือมีนิวเคลียสที่ใหญ่จนเกือบเต็มเซลล์ ภายในนิวเคลียสจะมีองค์ประกอบที่สำคัญชนิดหนึ่งที่ทำหน้าที่ควบคุมลักษณะของสิ่งมีชีวิต เรียกว่า โครโมโซม

## 2.2 โครโมโซมและโครงสร้างของโครโมโซม (10)

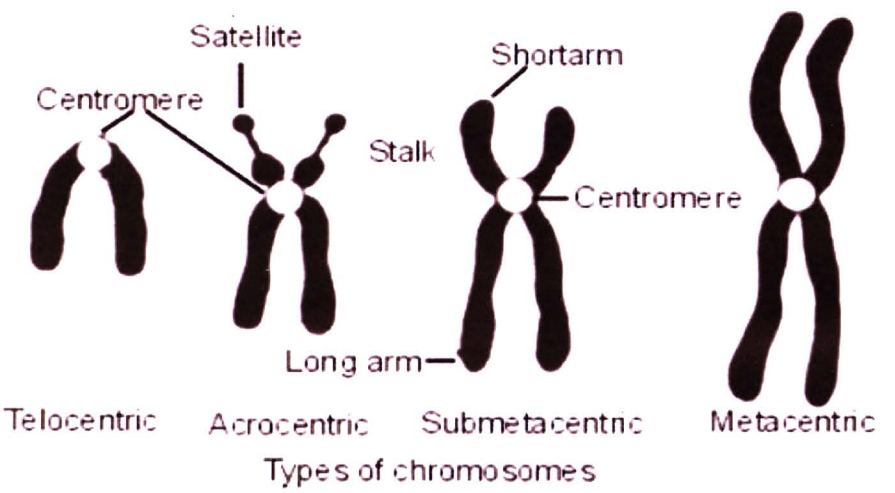
ในภาวะปกติเมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์จะเห็นโครโมโซมมีลักษณะคล้ายเส้นด้ายบางๆ เรียกว่า โครมาทิน (chromatin) ขดตัวอยู่ใน นิวเคลียส เมื่อเซลล์เริ่มแบ่งตัวเส้นโครมาทินจะหดตัว

สั้นเข้ามีลักษณะเป็นแท่ง เรียกว่า โครโมโซม แต่ละโครโมโซมประกอบด้วยแขนสองข้าง ซึ่งแขนทั้งสองข้างจะมีจุดเชื่อมกัน เรียกว่า เซนโทรเมียร์ (centromere) แสดงดังรูป 2.1 โครโมโซมในเซลล์ร่างกายจะมีรูปร่างลักษณะที่เหมือนกันเป็นคู่ ๆ แต่ละคู่เรียกว่า ฮอมอโลกัสโครโมโซม (homologous chromosome)




รูป 2.1 โครโมโซม ประกอบด้วย 2 โครมาทิด (11)

สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีจำนวนโครโมโซมที่แน่นอน และโครโมโซมแต่ละแท่งจะมีขนาดและรูปร่างคงที่ด้วย สามารถจำแนกโครโมโซมตามรูปร่างลักษณะ ขนาดและตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ที่แตกต่างกันได้ แสดงดังรูป 2.2 โดยในสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งอาจมีโครโมโซมที่มีรูปร่างแบบเดียวหรือหลายแบบก็ได้ สามารถแบ่งโครโมโซมออกได้เป็น 4 แบบ ตามตำแหน่งของเซนโทรเมียร์บนโครโมโซม (12) ดังนี้



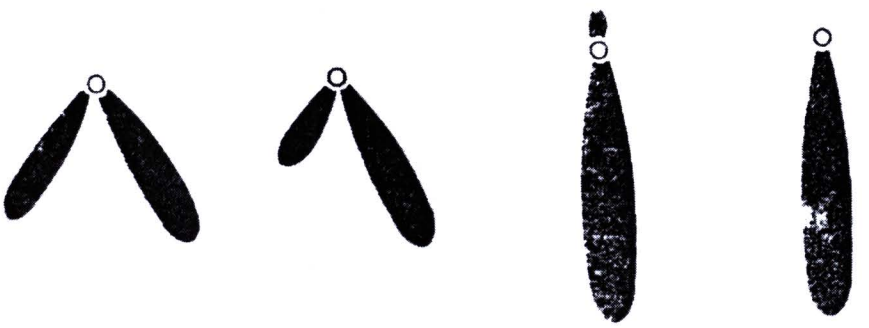

รูป 2.2 การแบ่งโครโมโซมเป็น 4 แบบ ตามตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ (12)

2.2.1. Metacentric chromosome คือ โครโมโซมที่มีตำแหน่งเซนโทรเมียร์อยู่ตรงกลาง ทำให้แขน 2 ข้างของโครโมโซมยาวเท่ากัน เมื่อโครโมโซมชนิดนี้ถูกดึงเข้าสู่ขั้วเซลล์ระหว่างที่มีการแบ่งเซลล์จะเห็นโครโมโซมเป็นรูปตัววี (v shape) แสดงดังรูป 2.3

2.2.2. Submetacentric chromosome คือ โครโมโซมที่มีตำแหน่งเซนโทรเมียร์อยู่ใกล้ตำแหน่งตรงกลางโครโมโซมแต่ไม่ใช่กึ่งกลาง ทำให้มีแขนข้างหนึ่งสั้นและแขนอีกข้างหนึ่งยาว เมื่อโครโมโซมชนิดนี้ถูกดึงเข้าสู่ขั้วเซลล์ระหว่างมีการแบ่งเซลล์ จะเห็นโครโมโซมเป็นรูปตัวเจ (j shape) แสดงดังรูป 2.3

2.2.3. Acrocentric chromosome คือ โครโมโซมที่มีตำแหน่งของเซนโทรเมียร์อยู่ค่อนไปทางปลายด้านใดด้านหนึ่งของโครโมโซมมาก ทำให้แขนข้างหนึ่งยาวกว่าอีกข้างหนึ่งมาก นอกจากนี้บนแขนข้างที่สั้นยังอาจมีรอยคอดที่ 2 (secondary constriction) ทำให้เกิดปลายติ่งมีลักษณะกลมเรียกว่า แซทเทลไลท์ (satellite) เมื่อโครโมโซมชนิดนี้ถูกดึงเข้าสู่ขั้วเซลล์ระหว่างมีการแบ่งเซลล์จะเห็นโครโมโซมเป็นรูปตัว ไอ (I shape) แสดงดังรูป 2.3

2.2.4. Telocentric chromosome คือ โครโมโซมที่มีตำแหน่งเซนโทรเมียร์อยู่ที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งของโครโมโซม ทำให้มีแขนเพียงข้างเดียว เมื่อโครโมโซมชนิดนี้ถูกดึงเข้าสู่ขั้วเซลล์ จะเห็นโครโมโซมเป็นรูปแท่ง (rod shape) ไอ (i shape) แสดงดังรูป 2.3



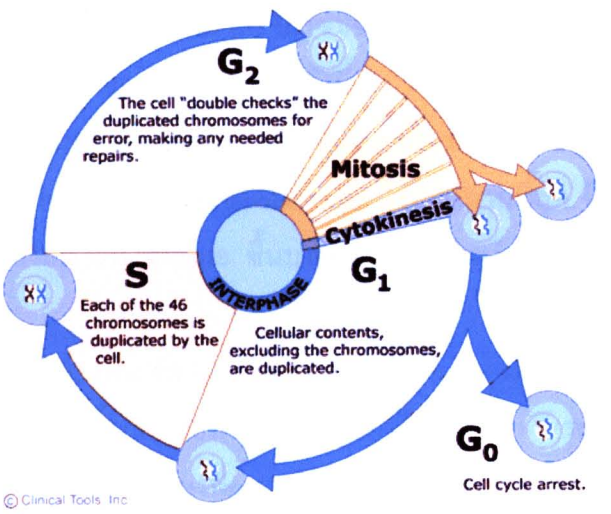
รูป 2.3 รูปร่างของโครโมโซมแบบ V shape, J shape, i shape และ I shape (13)

มนุษย์มีจำนวนโครโมโซม 46 โครโมโซม หรือ 23 คู่ซึ่งจะมี 22 คู่ ที่เหมือนกันทั้งในเพศชายและเพศหญิง เรียกคู่โครโมโซมเหล่านี้ว่า โครโมโซมร่างกาย (autosome) ซึ่งจะมีบทบาทในการกำหนดลักษณะทางพันธุกรรมต่าง ๆ ในร่างกาย สำหรับโครโมโซมที่เหลืออีก 1 คู่ จะเป็นโครโมโซมเพศ (Sex chromosome) ทำหน้าที่กำหนดเพศ ในเพศหญิงและเพศชายจะต่างกัน เพศหญิงมีโครโมโซมเพศแบบ XX ส่วนเพศชายมีโครโมโซมเพศแบบ XY

**2.3 การแบ่งตัวของเซลล์และวัฏจักรของเซลล์**

การที่จะเข้าใจในเรื่องความผิดปกติของโครโมโซมจำเป็นต้องมีความเข้าใจเบื้องต้น ในเรื่องการแบ่งตัวของเซลล์ การแบ่งเซลล์มี 2 แบบ แบบหนึ่งเรียกว่า ไมโทซิส (Mitosis) ทำให้เกิดเซลล์ใหม่ 2 เซลล์โดยมีจำนวนโครโมโซมและข้อมูลทางพันธุกรรมเหมือนเซลล์ต้นแบบทุกประการ ส่วนอีกแบบหนึ่งเรียกว่า ไมโอซิส (Meiosis) ซึ่งจะเกิดขึ้นเฉพาะกับการแบ่งเซลล์ของเซลล์สืบพันธุ์เท่านั้น เซลล์ใหม่ที่เกิดขึ้นมีจำนวนโครโมโซมและข้อมูลทางพันธุกรรมลดลงเหลือเพียงครึ่งหนึ่งของเซลล์เดิม เช่น ในเซลล์ของคนมี 46 โครโมโซม เป็น diploid number เมื่อมีการแบ่งตัวแบบไมโอซิสเซลล์ใหม่ที่เกิดขึ้นจะมี 23 โครโมโซม เป็น haploid number และเมื่อมีการปฏิสนธิระหว่างเซลล์สืบพันธ์จากเพศหญิงและเพศชาย จะเกิดเป็น ไซโกต (zygote) ซึ่งมี 46 โครโมโซม

เซลล์หลายชนิดในร่างกายมีช่วงอายุที่จำกัด เมื่อเซลล์หมดอายุเซลล์ต้นกำเนิด (stem cell) จะสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมาทดแทน ก่อนที่เซลล์จะแบ่งตัวต้องผ่านไปในระยะต่างๆ (phase) ของวัฏจักรเซลล์ (cell cycle) วัฏจักรของเซลล์แบ่งได้เป็น 4 ระยะ คือ G1, S, G2 และ M แสดงดังรูป 2.4




รูป 2.4 วัฏจักรเซลล์ (14)

เซลล์ที่แบ่งตัวสม่ำเสมอจะเคลื่อนไปในวัฏจักรเซลล์ เซลล์ที่เจริญเติบโตและ differentiate ไปแล้ว ก็จะออกจากวัฏจักร เซลล์พวกนี้จะไม่แบ่งตัวอีกต่อไป มีเซลล์บางชนิด เช่น เซลล์ตับซึ่งปกติไม่แบ่งตัว คือ อยู่ในระยะพักหรือ G0 แต่อาจแบ่งตัวได้เมื่อมีสิ่งกระตุ้นที่เหมาะสม เช่น การที่

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

จำนวนเซลล์ลดลงมากจากการผ่าตัดตับออกบางส่วน เซลล์เหล่านี้ก็จะกลับเข้าสู่วัฏจักรเซลล์ได้อีก ปรากฏการณ์ดังกล่าวสามารถพบได้เมื่อประชากรของเซลล์มะเร็งลดลงจากการผ่าตัด การฉายรังสี หรือการใช้เคมีบำบัด เซลล์มะเร็งที่อยู่ในระยะพักจะกลับเข้าสู่วัฏจักรเพื่อแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ทดแทนเซลล์ที่ถูกทำลายไป (repopulation) สำหรับเหตุการณ์ต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในแต่ละระยะของวัฏจักรของเซลล์ สรุปได้ดังนี้

2.3.1 ระยะ G1 (Gap 1) ในระยะนี้จะมีการสร้างเอนไซม์ต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการสร้าง ดีเอ็นเอ มีการสร้าง อาร์เอ็นเอ ชนิดต่าง ๆ รวมทั้งโปรตีนบางชนิดที่เกี่ยวข้องกับขั้นตอนเริ่มต้นของการสร้าง ดีเอ็นเอ ระยะเวลาที่เซลล์อยู่ใน G1 แตกต่างกันมากตามชนิดของเซลล์ โดยทั่วไประยะเวลาทั้งหมดของวัฏจักรของเซลล์ (cell cycle time) มักขึ้นกับเวลาที่เซลล์อยู่ในระยะ G1

2.3.2 ระยะ S (DNA synthesis) ในระยะนี้จะมีการสร้าง ดีเอ็นเอ จำนวน ดีเอ็นเอ เพิ่มเป็น 2 เท่า มีการเพิ่มจำนวนเซนทริโอล (centriole) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์ที่จำเป็นต่อการแบ่งตัว

2.3.3 ระยะ G2 (Gap 2) ในระยะนี้เซนทริโอลจะแบ่งเป็น 2 คู่ มีการสร้างโปรตีนที่จำเป็นในการแบ่งเซลล์ เช่นไมโทติกสปินเดิล (mitotic spindle) และ อาร์เอ็นเอ ที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวของเซลล์

2.3.4 ระยะ M (Mitosis) ในระยะนี้การสร้าง อาร์เอ็นเอและโปรตีนจะสิ้นสุดลง เป็นระยะที่มีการแบ่งนิวเคลียสและไซโทพลาซึม ซึ่งโครโมโซมจะมีการเปลี่ยนแปลงหลายขั้นตอน การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสแต่ละระยะมีการเปลี่ยนแปลง ดังนี้

2.3.4.1 ระยะอินเตอร์เฟส (interphase) เป็นระยะที่เซลล์เติบโตเต็มที่ เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีมากที่สุด เรียกว่า metabolic stage ใช้เวลานานที่สุด จึงพบเซลล์ปรากฏอยู่ในระยะนี้มากที่สุด มีการสังเคราะห์ ดีเอ็นเอ ขึ้นมาอีกหนึ่งเท่าตัวหรือมีการจำลองโครโมโซมขึ้นมาอีกหนึ่งชุด

2.3.4.2 ระยะโพรเฟส (prophase) ระยะนี้โครโมโซมประกอบด้วยโครมาทิดเป็นคู่จะขดตัวโดยการบิดเป็นเกลียวสั้นลงและทำให้เห็นชัดเจนขึ้น ระยะนี้จะเห็นได้ชัดเจนว่าโครโมโซมแท่งหนึ่งประกอบด้วยโครมาทิดสองเส้นติดกันอยู่

2.3.4.3 ระยะเมทาเฟส (metaphase) ระยะนี้โครโมโซมจะเคลื่อนที่ไปเรียงตัวเป็นแถวตามแนวกึ่งกลางของเซลล์ โครมาทิดหดสั้นมากที่สุด ระยะนี้เหมาะต่อการนับจำนวนโครโมโซมหรือเหมาะต่อการศึกษารูปร่าง ความผิดปกติของโครโมโซมมากที่สุด ตอนปลายของระยะนี้มีการแบ่งตัวของเซนโทรเมียร์ทำให้โครมาทิดพร้อมที่จะแยกออกจากกัน

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 21 ส.ค. 2554
เลขทะเบียน 242942
เลขเรียกหนังสือ

2.3.4.4 ระยะแอนาเฟส (anaphase) ระยะนี้ไมโทติกสปินเดิลดึงให้โครมาทิดแยกตัวออกจากกันแล้วโครมาทิดจะค่อย ๆ เคลื่อนไปยังแต่ละขั้วของเซลล์ เป็นระยะที่ใช้เวลาสั้นที่สุด

2.3.4.5 ระยะเทโลเฟส (telophase) เป็นระยะสุดท้ายของการแบ่งเซลล์ ระยะนี้มีการสร้างเยื่อหุ้มนิวเคลียสขึ้นมาใหม่และจะมีการแบ่งไซโทพลาซึมออกเป็น 2 ส่วน กลุ่มของโครมาทิดที่แยกออกจากกันจะเป็นโครโมโซมของเซลล์ใหม่ โครโมโซมใหม่ของแต่ละกลุ่มจะมีเยื่อหุ้มโดยรอบ

ช่วงเวลาของระยะต่าง ๆ ในวัฏจักรเซลล์ขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์และเนื้อเยื่อ สำหรับเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่แบ่งตัวอย่างสม่ำเสมอ โดยปกติจะมีเซลล์กระจายอยู่ในระยะต่างๆ ของวัฏจักรเซลล์ เซลล์เหล่านี้จะเคลื่อนไปในวัฏจักรจาก M ไป G2 มีวิธีการต่าง ๆ ที่จะทำให้กลุ่มของเซลล์อยู่ในระยะเดียวกันและเคลื่อนที่ไปพร้อม ๆ กันในวัฏจักร (synchronization) แยกเอาเซลล์ในแต่ละระยะมาศึกษาความไวต่อรังสี พบว่า เซลล์ที่อยู่ในระยะ M ไวต่อรังสีมากที่สุด เซลล์ที่อยู่ในระยะ S จะทนต่อรังสีได้ดีที่สุด สำหรับเซลล์ที่มีระยะ G1 ยาว เซลล์ที่ระยะต้น ๆ ของ G1 จะค่อนข้างทนต่อรังสี เซลล์ที่ระยะปลาย G1 จะไวต่อรังสีพอๆ กับเซลล์ในระยะ M หรือ G2 เซลล์ที่อยู่ในระยะ G2 จะไวต่อรังสีค่อนข้างมาก โดยอาจไวพอ ๆ กับเซลล์ในระยะ M (3)

**2.4 ผลของรังสีต่อ ดีเอ็นเอ**

กรดนิวคลิอิก (nucleic acids) เป็นสารชีวโมเลกุลที่มีความสำคัญในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมจากพ่อแม่ไปยังลูกหลานและมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์ กรดนิวคลิอิกที่สำคัญมี 2 พวก คือ ดีเอ็นเอ และ อาร์เอ็นเอ กรดนิวคลิอิกประกอบด้วย 3 ส่วน คือ

1. เบส (bases) ได้แก่ purines (adenine (A) และ guanine (G)) pyrimidines (thymine (T) และ cytosine(C)) ใน อาร์เอ็นเอ มี uracil (U) แทน T

2. น้ำตาล (sugar) ได้แก่ ribose ใน อาร์เอ็นเอ และ deoxyribose ใน ดีเอ็นเอ

3. ฟอสเฟต (phosphate)

ดีเอ็นเอ มีโครงสร้างเป็นเกลียวคู่ (double helix) ประกอบด้วยดีเอ็นเอ 2 สายพันรอบกันคล้ายบันไดเวียนแต่ละเส้นจะมี deoxyribose และ ฟอสเฟต เป็นโครงสร้าง (backbone) ลำดับของเบสในสาย ดีเอ็นเอ มีความสำคัญ เพราะเป็นตัวกำหนดลำดับของกรดอะมิโนในโมเลกุลของโปรตีนหากมีการเปลี่ยนแปลงลำดับของเบสในดีเอ็นเอจะทำให้โปรตีนที่ถูกสร้างขึ้นมีลำดับของกรดอะมิโนเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งถ้าโปรตีนนั้นมีความสำคัญอาจทำให้เซลล์ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้

หรือไม่สามารถทำงานได้ตามปกติหรือเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) ได้ นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงในส่วนประกอบต่าง ๆ ของ ดีเอ็นเอ หรืออาร์เอ็นเอ หรือการขาดของสายของสารทั้งสอง จะมีผลต่อการทำงานหรือการอยู่รอดของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในโมเลกุลของ ดีเอ็นเอขึ้นกับชนิดและขนาดของรังสี ตำแหน่งที่มีการขาดของสาย ดีเอ็นเอ เมื่อดีเอ็นเอสัมผัสกับรังสีจะเกิดการเปลี่ยนแปลงดังนี้

2.4.1 Base & Sugar damage ทั้ง purine และ pyrimidine bases จะถูกทำลายได้โดยรังสี ความไวของเบสต่อรังสีเป็นตามลำดับต่อไปนี้ T>C>A>G กรณีที่เบสถูกทำลายเชื่อว่าเกิดจาก indirect action ของรังสีเป็นส่วนใหญ่ (10, 15)

2.4.2 Strand breakage รังสีอาจทำให้เกิดการขาดของสาย ดีเอ็นเอ การขาดมี 2 ลักษณะ คือ (10) แสดงดังรูป 2.5

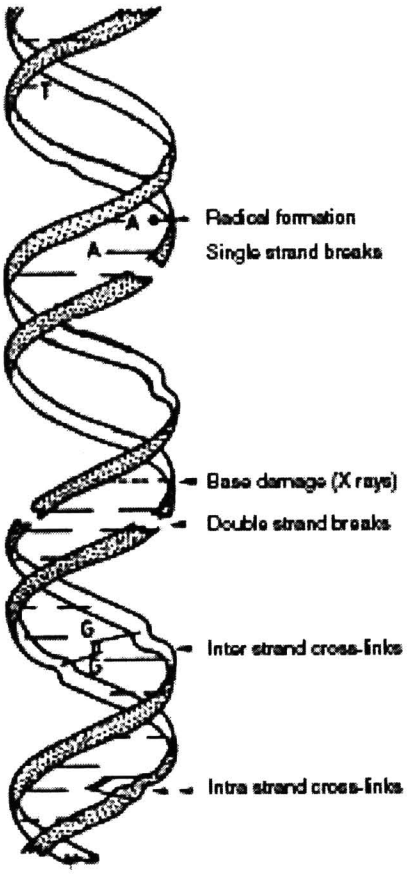
2.4.2.1 Single-strand breakage เป็นการขาดของสาย ดีเอ็นเอ เส้นใดเส้นหนึ่งในโมเลกุลของ ดีเอ็นเอ หรืออาจเกิดการขาดในทั้งสองสายแต่การขาดไม่ได้เกิดขึ้นพร้อมกัน รังสีที่ทำให้เกิดผลดังกล่าวคือ รังสีพวก Low LET เช่น รังสีเอกซ์และรังสีแกมมา

2.4.2.2 Double-strand breakage คือการขาดของสายทั้งสองของ ดีเอ็นเอ ที่เกิดในตำแหน่งตรงกันและในเวลาใกล้เคียงกัน รังสีที่มักทำให้เกิดผลดังกล่าวคือ High LET เช่น อนุภาคแอลฟา

2.4.3 Cross-linking รังสีอาจทำให้เกิด cross-link ของสาย ดีเอ็นเอ ได้ ซึ่งอาจแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ (4) แสดงดังรูป 2.5

2.4.3.1 Interstrand cross-linking คือการที่สายของ ดีเอ็นเอ คนละคู่มาต่อกันหลังจากเกิดการขาดขึ้นในสายทั้งสอง การที่โมเลกุลของ ดีเอ็นเอ มาต่อกันทำให้น้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้น ความสามารถในการละลายลดลงและไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ

2.4.3.2 Intrastrand cross-linking เป็น cross-link ที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุลของ ดีเอ็นเอ โดยเฉพาะระหว่างเบสบางตัว




รูป 2.5 ผลของรังสีที่เกิดขึ้นกับโมเลกุลของ ดีเอ็นเอ (4)

ผลของรังสีที่เกิดขึ้นกับโมเลกุลของ ดีเอ็นเอ จะมีผลต่อยีนและโครโมโซม เนื่องจากยีนเป็นส่วนประกอบของ ดีเอ็นเอ ซึ่งจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมต่อไป

**2.5 ความผิดปกติของโครโมโซม**

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือจำนวนของโครโมโซมในสิ่งมีชีวิต จะมีผลทำให้ลักษณะของสิ่งมีชีวิตที่ปรากฏแตกต่างไปจากเดิมไม่มากก็น้อย ซึ่งขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงของยีนในโครโมโซม (16, 17)

2.5.1 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม

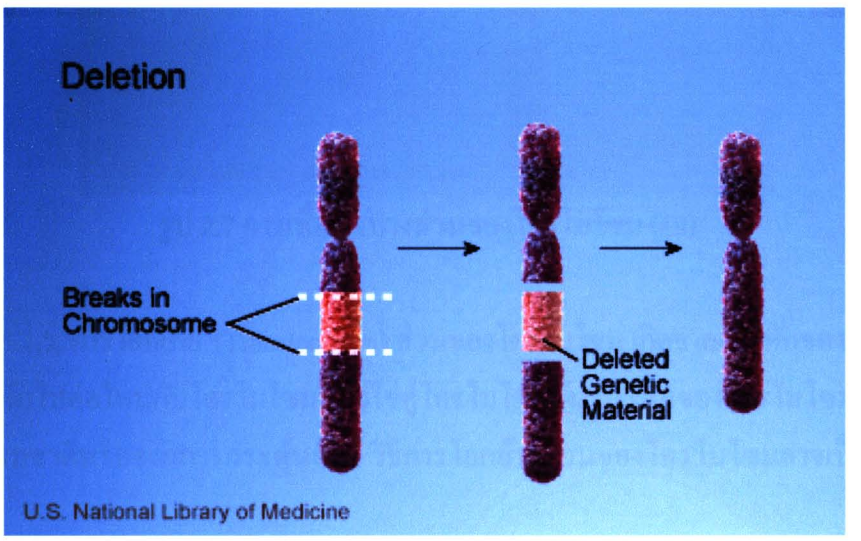
การที่โครโมโซมเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างมีผลทำให้เกิดการสับเปลี่ยนตำแหน่งของยีนที่อยู่บนโครโมโซมนั้น มีหลายลักษณะ ดังนี้

2.5.1.1. การขาดหายไป (Deficiency หรือ Deletion) ของโครโมโซม แสดงดังรูป 2.6

2.5.1.1.1 การขาดหายไปภายในโครโมโซม (Interstitial deficiency) เกิดจากการหักหรือขาดของโครโมโซม 2 จุด แล้วส่วนที่ขาดออกจากกันเคลื่อนที่เข้ามาต่อกันใหม่

2.5.1.1.2 การขาดหายไปของส่วนปลายโครโมโซม (Terminal deficiency) เกิดจากปลายด้านใดด้านหนึ่งของโครโมโซมหักหรือขาด 1 จุด

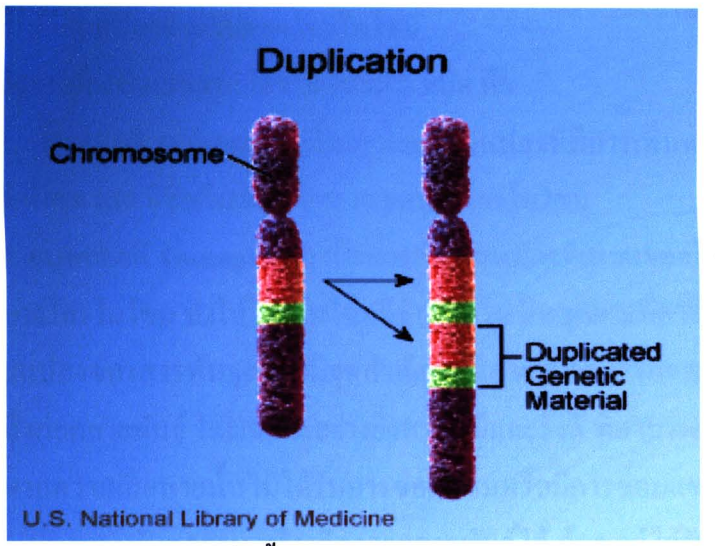
การขาดหายไปบางส่วนของโครโมโซม มักทำให้บางยีนหรือกลุ่มของยีนหายไป




รูป 2.6 การขาดหายไปของโครโมโซม (18)

2.5.1.2. การเพิ่มขึ้น (Duplication หรือ Addition) บางส่วนของโครโมโซม คือการที่มีบางส่วนของโครโมโซมเพิ่มขึ้นจากเดิม ส่วนที่เพิ่มเติมนั้นจะเรียงอยู่ในเส้นของโครโมโซม จึงทำให้ส่วนใดส่วนหนึ่งของโครโมโซมมียีนซ้ำกัน แสดงดังรูป 2.7

การที่มีส่วนของโครโมโซมเพิ่มเข้ามา จะมีผลต่อสิ่งมีชีวิตรุนแรงน้อยกว่าพวกที่มีส่วนของโครโมโซมขาดหายไป การเพิ่มเพียงเล็กน้อยไม่มีผลต่อการอยู่รอดมากนัก อย่างไรก็ตามอาจก่อให้เกิดลักษณะที่ผิดปกติ หรือลดความสามารถในการสืบพันธุ์ได้




รูป 2.7 การเพิ่มขึ้นบางส่วนของโครโมโซม (19)

2.5.1.3. การโยกย้าย (Translocation) ส่วนของโครโมโซม เกิดจากการหักของโครโมโซม แล้วส่วนที่หักไปต่อใหม่กับโครโมโซมที่ไม่ใช่คู่โครโมโซมกัน การหักของโครโมโซมอาจเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติหรือจากการกระตุ้นก็ได้ วิธีการโยกย้ายส่วนของโครโมโซมอาจเป็นไปได้ 2 แบบ คือ

2.5.1.3.1 การโยกย้ายเพียงฝ่ายเดียว (Simple translocation) เกิดจากโครโมโซมหนึ่งหัก แล้วไปต่อกับอีกโครโมโซมหนึ่งซึ่งไม่หักและไม่เป็นฮอมอโลกัสโครโมโซมกัน

2.5.1.3.2 การโยกย้ายแบบสลับ หรือต่อแบบสลับ (Reciprocal translocation) ซึ่งแบ่งย่อยเป็น 2 แบบ ได้แก่ การโยกย้ายสลับเพียงโครโมโซมเดียว (Translocation heterozygote) เกิดจากการหักของโครโมโซมที่ไม่ใช่ฮอมอโลกัสโครโมโซมฝ่ายละหนึ่งโครโมโซม แล้วมาต่อสลับกันใหม่ ส่วนการโยกย้ายสลับทั้งคู่ เกิดจากการหักของ 2 ฮอมอโลกัสโครโมโซม แล้วมาต่อสลับกันใหม่ (Translocation homozygote)

2.5.1.4. การหักกลับ หรือ การต่อกลับหัวกลับหาง หรือการเปลี่ยนตำแหน่งทิศทาง (Inversion) ของโครโมโซม เกิดจากส่วนใดส่วนหนึ่งของโครโมโซมเกิดการหักแล้วส่วนที่หักกลับมาต่อกันใหม่แบบกลับหัวกลับหาง ความผิดปกติแบบนี้อาจเกิดจากการที่โครโมโซมพับเป็นห่วง แล้วหักตรงจุดที่โครโมโซมกระทบกัน เมื่อมีการเชื่อมกันใหม่ ก็จะได้โครโมโซมหรือยีนกลับทิศทางกัน

2.5.2 การเปลี่ยนแปลงจำนวนของโครโมโซม

การเปลี่ยนแปลงจำนวนของโครโมโซมมี 2 ชนิด คือ

2.5.2.1. ยูพลอยดี (Euploidy) เป็นการเปลี่ยนแปลงที่มีการเพิ่มหรือลดจำนวนของโครโมโซมทั้งชุด และมีชื่อเรียกตามจำนวนชุดของโครโมโซม

2.5.2.2. อนูพลอยดี (Aneuploidy) เป็นการเปลี่ยนแปลงจำนวนของโครโมโซมที่มีการเพิ่มหรือลดเฉพาะบางโครโมโซม ทำให้โครโมโซมมีจำนวนไม่เป็นชุดตามที่ควรจะเป็น

การเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมมีจุดสำคัญอยู่ที่สาย ดีเอ็นเอ เพราะสาย ดีเอ็นเอ เป็นเป้าหมายหลักของสิ่งก่อกลายพันธุ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารเคมีและรังสี ที่สามารถทำให้สายดีเอ็นเอเกิดความเสียหาย หากความเสียหายนั้นไม่ได้รับการซ่อมแซมหรือมีการซ่อมแซมที่ผิดพลาดก็อาจนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม หรือเกิดการกลายพันธุ์ได้ ถ้าเซลล์ได้รับสารแปลกปลอมซึ่งอาจเป็นสารเคมีหรือรังสีต่างๆ เข้าไปและมีผลทำให้เกิดความผิดปกติในช่วง G1 ของวัฏจักรเซลล์ ซึ่งเป็นระยะก่อนมีการสังเคราะห์ ดีเอ็นเอ จะเกิดความผิดปกติแบบโครโมโซม (chromosome-type aberration) แต่ถ้าเซลล์ได้รับสารเข้าไปในช่วง S และ G2 จะเกิดความผิดปกติแบบโครมาทิด (chromatid-type aberration) และถ้าเซลล์ได้รับสารเข้าไปในช่วงปลายของ G1 และระยะแรกของ S จะเกิดความผิดปกติทั้งแบบโครโมโซมและโครมาทิด (20)

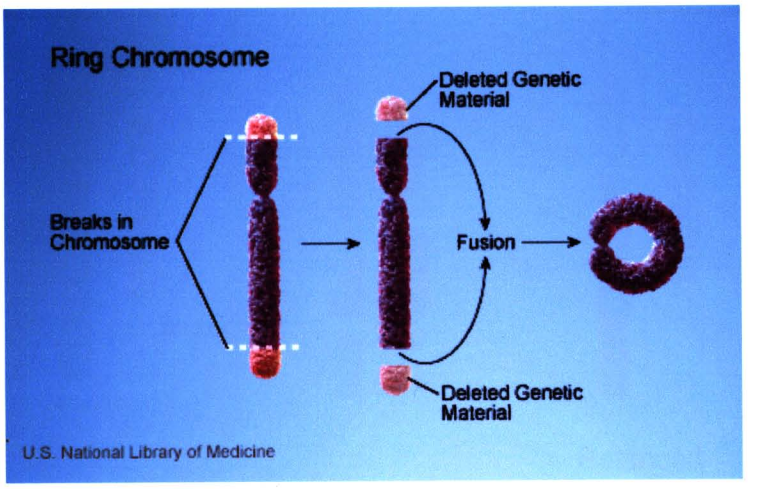
2.5.3 ความผิดปกติแบบโครโมโซม แบ่งได้เป็น 7 แบบ คือ

2.5.3.1 Acentric fragment เป็นความผิดปกติที่เกิดจากส่วนปลายของโครโมโซมที่ไม่มีเซนโทรเมียร์ ขาดออกเป็นท่อน

2.5.3.2 Minutes เป็นความผิดปกติที่มีลักษณะคล้ายกับ acentric fragment แต่มีขนาดเล็กกว่า

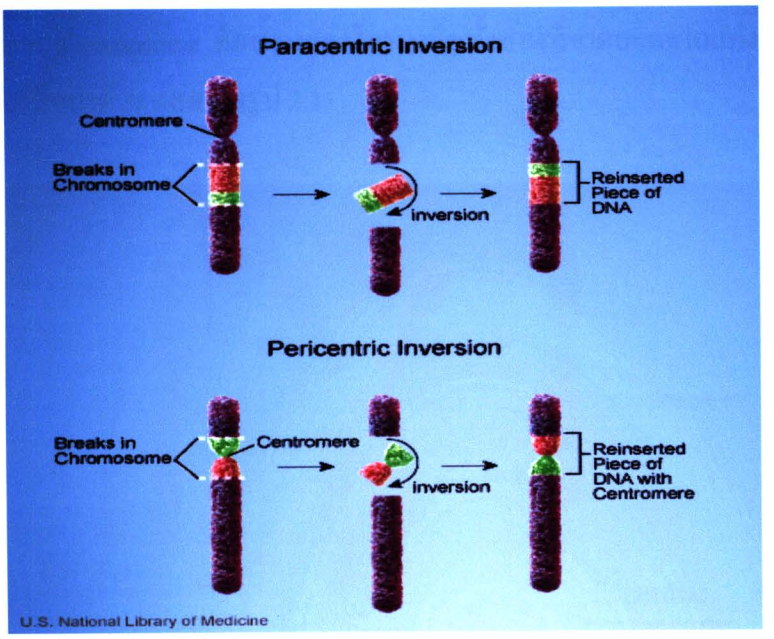
2.5.3.3 Acentric ring มีลักษณะเป็นวงแหวน ส่วนที่เป็นวงแหวนจะไม่มีเซนโทรเมียร์รวมอยู่ด้วย

2.5.3.4 Centric ring มีลักษณะเป็นวงแหวนคล้ายกับ acentric ring แต่ส่วนที่เป็นวงแหวนจะมีเซนโทรเมียร์รวมอยู่ด้วย ความผิดปกติของโครโมโซมวงแหวนถ้าเกิดการขาดหายของโครโมโซมพร้อม ๆ กันที่ปลายทั้งสองข้าง ปลายส่วนที่เหลือเข้ามาเชื่อมกันเป็นรูปวงแหวน แสดงดังรูป 2.8



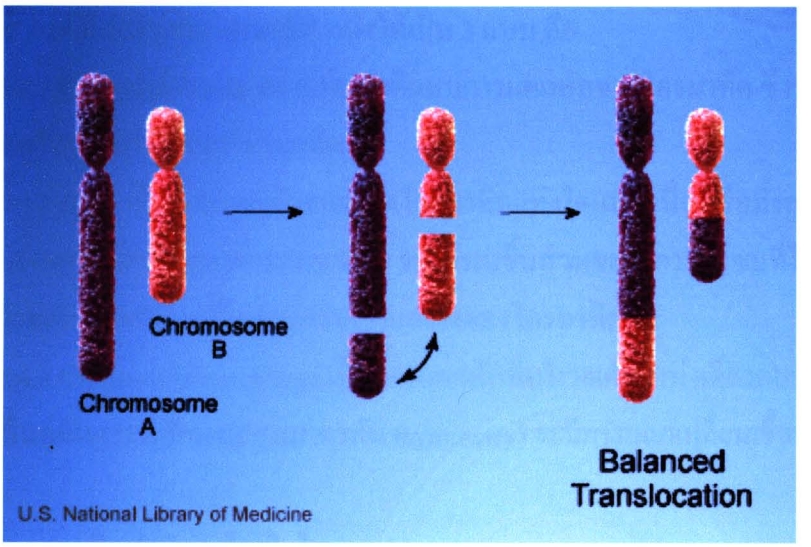

รูป 2.8 โครโมโซมวงแหวน (21)

2.5.3.5 Paracentric inversion และ Pericentric inversion เกิดจากการแตกหักของโครโมโซม แล้วมีการสลับที่โดยมีเซนโทรเมียร์รวมอยู่ด้วย paracentric การสลับเกิดบนแขนข้างเดียวกัน ส่วน pericentric เกิดการสลับแขนทั้งสองข้าง แสดงดังรูป 2.9



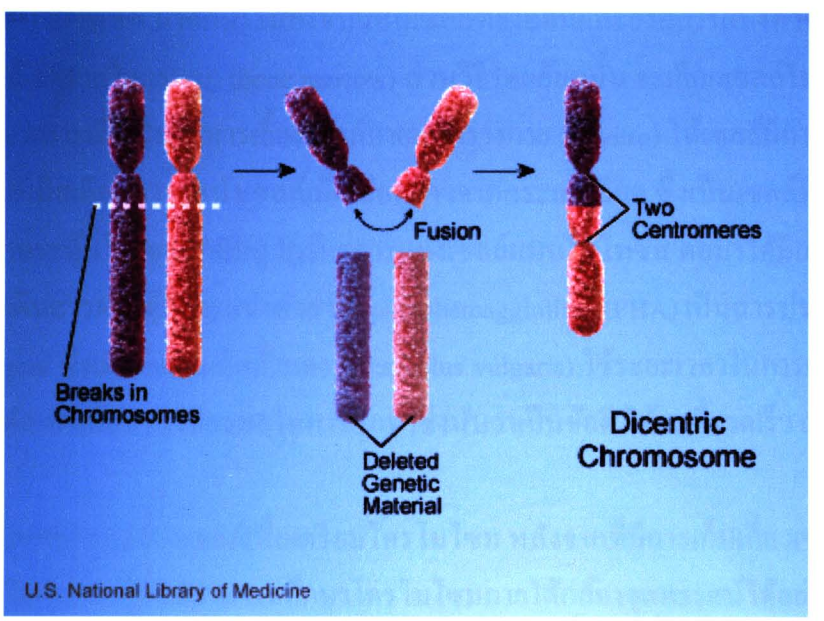

รูป 2.9 Paracentric inversion และ Pericentric inversion (22)

2.5.3.6 Reciprocal translocation เกิดจากการแตกหักของโครโมโซม 2 โครโมโซมที่ไม่ใช่คู่ โดยชิ้นส่วนของโครโมโซมที่ขาดออกจากกันจะไปต่อกับอีกโครโมโซมหนึ่งแบบสลับกัน แสดงดังรูป 2.10




รูป 2.10 Reciprocal translocation (23)

2.5.3.7 Dicentric chromosome และ acentric chromosome โครโมโซมแบบสองเซนโทรเมียร์อาจเกิดจากโครโมโซมสองแท่งที่ไม่ใช่คู่กันเกิดการแตกหักแบบเทอร์มินัล ดีลีชั่น (terminal deletion) จากนั้นโครโมโซมทั้งสองแท่งมาเชื่อมต่อกันเป็นโครโมโซมที่มีสองเซนโทรเมียร์ และ acentric chromosome คือส่วนของโครมาทิดทั้งสองที่ขาดออกจากแท่งโครโมโซมโดยไม่มีเซนโทรเมียร์ติดมาด้วย แสดงดังรูป 2.11




รูป 2.11 โครโมโซมสองเซนโตรเมียร์ (24)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

2.5.4 ความผิดปกติแบบโครมาทิด แบ่งได้เป็น 3 แบบ คือ

2.5.4.1 Chromatid break ความผิดปกติแบบการแตกหักของโครมาทิด ซึ่งจะมีระยะห่างของการหักมากกว่าความกว้างของโครมาทิด

2.5.4.2 Gaps เป็นการแตกหักของแท่งโครมาทิดแท่งใดแท่งหนึ่ง หรือทั้งสองแท่งที่ได้รับรังสีหรือสารเคมี เมื่อสิ้นสุดระยะแอนาเฟส จะไม่พบชิ้นส่วนของโครโมโซมที่ไม่มีเซนโทรเมียร์ gaps จะมีระยะห่างของการหักน้อยกว่าความกว้างของโครมาทิด

2.5.4.3 Chromatid interchange เป็นการแตกหักที่บริเวณตำแหน่งเดียวกันของโครโมโซมที่เป็นคู่กันและมีลักษณะสมมาตรกัน (symmetry) จะมีการแลกเปลี่ยนเชื่อมไขว้กัน

**2.6 วิธีการศึกษาความผิดปกติของโครโมโซม**

การศึกษาเพื่อตรวจสอบจำนวนและรูปร่างของโครโมโซม มีหลายวิธีซึ่งแต่ละวิธีจะเลือกศึกษาเซลล์ในระยะเมทาเฟส (metaphase) เพราะเป็นระยะที่เซลล์มีโครโมโซมหดสั้น มากที่สุดและเห็นลักษณะได้ชัดเจน ในการเก็บเกี่ยวเซลล์ในระยะเมทาเฟส จะใช้สารยับยั้งการสร้างสายใยสปินเดิล (spindle inhibitor) เช่น colcemid ทำให้เซลล์ที่มีการแบ่งตัวไม่สามารถเข้าสู่ระยะแอนาเฟส (anaphase) ได้ และจะทำให้เห็นโครโมโซมกระจายอยู่ที่ตรงกลางเซลล์ สำหรับวิธีการเตรียมโครโมโซมแบ่งออกได้เป็น 2 วิธี คือ วิธีโดยตรง (direct chromosome preparation) และวิธีโดยอ้อม (indirect chromosome preparation) วิธีโดยตรง เป็นวิธีที่เลือกเอาเซลล์ในร่างกายที่กำลังมีการแบ่งตัวแบบไมโทซิส มาศึกษา เนื่องจากเป็นเซลล์ที่ยังอ่อนและยังมีการแบ่งตัวอยู่ตลอดเวลา เช่น เซลล์เม็ดเลือดจากไขกระดูก (bone marrow) ส่วนวิธีโดยอ้อมนั้น จะเลือกเซลล์ในร่างกายชนิดที่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ภายนอกร่างกาย (in vitro) ให้เซลล์มีการแบ่งตัว การเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวจะนำเซลล์เม็ดเลือดขาวจากกระแสเลือด ซึ่งเป็นเซลล์ที่แก่หรือหยุดแบ่งตัวแล้วมากระตุ้นให้เซลล์กลับสู่วัฏจักรการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ต่อมาได้มีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงโดยเติมสารกระตุ้นการแบ่งตัวชนิด phytohemagglutinin (PHA) เป็นสารประเภท mitotic stimulating agent ซึ่งสกัดจากเมล็ดถั่วแดง (Phaseolus vulgaris) ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง 2-3 วัน จะได้เซลล์เมทาเฟสมาก เพียงพอในการศึกษาซึ่งนับว่าเป็นข้อดี ได้ผลที่รวดเร็ว เทคนิคการทำไม่ยุ่งยาก

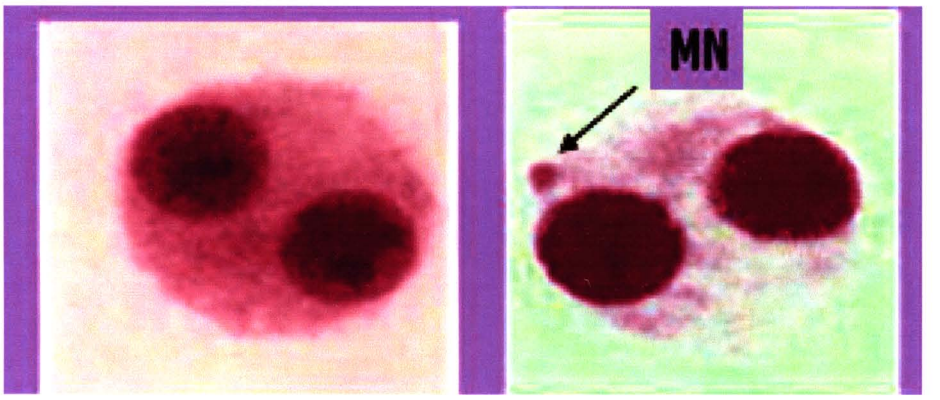
เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เพื่อเตรียมโครโมโซม หลังจากที่มีการเก็บเกี่ยวเซลล์และหยดเซลล์ลงบนสไลด์แล้ว เพื่อให้สามารถศึกษาโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้อย่างชัดเจนโดยเห็นรูปร่าง และนับจำนวนโครโมโซมได้อย่างถูกต้องจำเป็นต้องมีการย้อมสีให้ติดเฉพาะโครโมโซมซึ่งมีหลายวิธีให้เลือกใช้ตามวัตถุประสงค์ของการศึกษา การย้อมสีโครโมโซมแบบ

ธรรมดา (conventional staining) ซึ่งเป็นการย้อมประเภทติดส่วนของกรดนิวคลีอิก ดังนั้น จึงเห็นโครโมโซมติดสีเข้มทั้งแท่ง สีที่ใช้ย้อม เช่น จิมซ่าส์ (Giemsa)

การศึกษาความผิดปกติของโครโมโซม มีหลายวิธีการ (4) ได้แก่

2.6.1 Dicentric assay ศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมชนิดสองเซนโทรเมียร์

2.6.2 Micronucleus assay ไมโครนิวเคลียส (micronucleus) คือ นิวเคลียสขนาดเล็กที่แยกตัวออกมาจากนิวเคลียสหลัก (main nucleus) ของเซลล์ โดยจะปรากฏขึ้นในเซลล์ที่อยู่ในระยะเทโลเฟสของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสและไมโอซิส เมื่อโครโมโซมมีความเสียหาย เช่น เกิดการแตกหักเป็นชิ้นสั้นๆ แบบ acentric fragment หรืออาจเป็นโครโมโซม ทั้งแท่งที่ไม่ถูกดึงไปรวมที่ขั้วใดขั้วหนึ่งของเซลล์ในระยะแอนาเฟส เมื่อเข้าสู่ระยะเทโลเฟสจะมีการสร้างเยื่อหุ้มนิวเคลียสรวมทั้งสร้างเยื่อหุ้มรอบชิ้นส่วนที่หักและโครโมโซมที่แยกออกไปปรากฏเป็นก้อนนิวเคลียสขนาดเล็ก แสดงดังรูป 2.12




รูป 2.12 ไมโครนิวเคลียส (25)

2.6.3 Translocation assay เป็นการศึกษาการแตกหักของโครโมโซมทั้ง 2 คู่ โดยชิ้นส่วนของโครโมโซมที่ขาดออกจากกันจะไปต่อกับอีกโครโมโซมหนึ่งแบบสลับกัน

2.6.4 Fluorescence in situ hybridization (FISH) เป็นการวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซมที่ต้องใช้โมเลกุลตัวจับเฉพาะที่มีความสามารถในการเรืองแสง (fluorescent probe) กับโครโมโซมคู่ที่ต้องการตรวจ โดยการนำตัวอย่างเซลล์มาทำการย้อมและตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent microscope)

2.6.5 Premature chromosome condensation analysis (PCC) เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่นำมาใช้ในการศึกษาความผิดปกติโครโมโซม โดยนำเซลล์ลิมโฟไซต์ที่อยู่ในระยะอินเตอร์เฟส เช่น เซลล์ลิมโฟไซต์ที่อยู่ในระยะ G0 มา fusion กับเซลล์ที่อยู่ในระยะ mitotic ของ Chinese hamster ovary (CHO) เพื่อศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดขึ้นในระยะอินเตอร์เฟส เช่น ความผิดปกติของโครโมโซมชนิด breaks ไดเซนทริค และ translocation เป็นต้น

ในการวิจัยนี้ได้เลือกใช้วิธี Dicentric assay ที่แนะนำโดย IAEA Report series No. 405