

ชื่อเรื่องการค้นคว้าแบบอิสระ การตรวจหากลุ่มอาการคาวนที่เกิดจากการมีโครโมโซมคู่ที่ 21 เกิน

โดยการหาสัดส่วนของยีน D21S11 ต่อยีน SM ด้วยวิธีปฏิกิริยา

ลูกโซ่โพลีเมอเรส

ผู้เขียน

นายชินวุฒน์ สงวนเสริมศรี

ปริญญา

ประกาศนียบัตรบัณฑิตชั้นสูง วิทยาศาสตร์การแพทย์คลินิก

(กุมารเวชศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาการค้นคว้าแบบอิสระ

รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงพิมพ์ลักษณ์ เจริญขวัญ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

ศาสตราจารย์เกียรติคุณนายแพทย์ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

บทนำ กลุ่มอาการคาวนเป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของจำนวนโครโมโซมที่พบบ่อยที่สุด ผู้ป่วยจะมีสติปัญญาด้อยกว่าคนทั่วไปรวมทั้งมีการทำงานของอวัยวะต่างๆภายในร่างกายผิดปกติ หลายระบบ ดังนั้นการตรวจคัดกรองเพื่อให้การวินิจฉัยก่อนคลอดจึงมีความสำคัญเพื่อป้องกันการเกิดโรค วิธีที่เป็นมาตรฐานในการวินิจฉัยกลุ่มอาการคาวนในระยะก่อนคลอด คือ การวิเคราะห์โครโมโซมของทารกในครรภ์ซึ่งเป็นวิธีที่ให้ผลที่มีความแม่นยำสูงแต่วิธีดังกล่าวใช้เวลาในการตรวจนาน ประกอบกับต้องอาศัยผู้ชำนาญในการทำทดลองและแปลผล ดังนั้นการคิดหาวิธีการตรวจที่สามารถให้การวินิจฉัยอย่างรวดเร็วและใช้แรงงานคนน้อยกว่าจึงมีประโยชน์อย่างยิ่ง

วัตถุประสงค์ การศึกษานี้เป็นการศึกษานำร่องเพื่อที่จะใช้เทคนิคของ Real time quantitative polymerase chain reaction (RQ-PCR) ในการหาค่า Cycle threshold (C_T) เพื่อใช้ในการวินิจฉัยกลุ่มอาการคาวน Cycle threshold คือจำนวนรอบของ PCR ที่เครื่องสามารถตรวจหาปริมาณ DNA ที่เพิ่มขึ้นจากกระบวนการ RQ-PCR ได้ โดยค่า Cycle threshold จะต่ำหากปริมาณสายพันธุกรรม (DNA) เพิ่มขึ้นมากในแต่ละรอบของ PCR การศึกษานี้ศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า C_T และ $2^{-\Delta\Delta C_T}$ ระหว่างผู้ป่วยกลุ่มอาการคาวน กับผู้ปกครองที่จัดให้เป็นกลุ่มควบคุม

วิธีการศึกษา ศึกษาในผู้ป่วยกลุ่มอาการดาวน์ 10 รายที่ได้รับการตรวจยืนยันด้วยวิธี fetal karyotype พบว่ามีโครโมโซมคู่ที่ 21 เกินมา 1 แท่ง ใช้การวิเคราะห์ทางสถิติแบบ paired sample student's t-test ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (mean) ของค่า ΔC_T ระหว่างผู้ป่วยกลุ่มอาการดาวน์และผู้ปกครอง และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า $2^{-\Delta\Delta C_T}$ ระหว่างสองกลุ่มด้วยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม

ผลการศึกษา พบว่าค่า ΔC_T ของผู้ป่วยกลุ่มอาการดาวน์จะสูงกว่าผู้ปกครองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเมื่อเทียบกับบิดาจะได้ p value เท่ากับ 0.007 และ 95% CI 0.3-1.4 และเทียบกับมารดา จะได้ค่า p value เท่ากับ 0.009 และ 95% CI 0.24-1.3 เมื่อเปรียบเทียบค่า $2^{-\Delta\Delta C_T}$ จะพบว่ากลุ่มอาการดาวน์จะมีค่าที่สูงกว่ามารดาและบิดาซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม

สรุป ผู้ป่วยกลุ่มอาการดาวน์มีแนวโน้มที่จะมีค่า ΔC_T และ $2^{-\Delta\Delta C_T}$ สูงกว่าคนปกติ ควรมีการศึกษาในกลุ่มประชากรที่ใหญ่ขึ้นเพื่อยืนยันผลที่ได้นี้

Independent Study Title Rapid Diagnosis of Trisomy 21 by D21S11/SM Ratio Using Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction

Author Mr. Chinnuwat Sanguansermisri

Degree Higher Graduate Diploma in Clinical Sciences
(Pediatrics)

Independent Study Advisory Committee

Associate Professor Pimlak Charoenkwan, M.D. Advisor

Professor Emeritus Torpong Sanguansermisri, M.D. Co-advisor

ABSTRACT

Introduction: Down syndrome is the most common aneuploidy disorder. Patient has many multiple organ dysfunctions and mental retardation. Screening test is the best way to prevent the disease. However, universal screening for now has not been done. Fetal karyotype is still the gold standard for prenatal diagnosis of Down syndrome. This procedure needs skill personal, labour work and time consuming. The diagnostic test which is faster and less labor work is need.

Objective: This is the first pilot study, in Thailand, for diagnosis down syndrome with real-time quantitative polymerase chain reaction (RQ-PCR) and cycle threshold (C_T). Cycle threshold is a cycle number of PCR required before the amplified product is detected. It can reflect the relative amount of the gene that are amplified by RQ-PCR, the less cycle threshold mean more amount of DNA were amplified. We use the difference of C_T and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method to find the differences between Down syndrome patients and their parents who were assigned as controls.

Design: Ten patients who were previously diagnosed Down syndrome with fetal karyotype trisomy 21 were enrolled. We used paired sample student's t-test to analyze the difference of ΔC_T between Down syndrome patients and their parents. The means value of $2^{-\Delta\Delta C_T}$ were analyzed for comparison between patients and their parents.

Results: The ΔC_T values from patients with Down syndrome were higher statistic significantly when compared to their fathers (p value=0.007, 95% CI 0.3-1.4) and their mother (p value=0.009, 95% CI 0.24-1.3). The means value of $2^{-\Delta\Delta C_T}$ when compared between patient and their parents were higher than controls group (mean of father-patient=1.98, mother-patient=1.88, father-mother 1.15).

Conclusion: Patients with Down syndrome tend to have higher values of ΔC_T and $2^{-\Delta\Delta C_T}$ when compare to controls. Further studies with larger population are needed to confirm this finding.