

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การตรวจวิเคราะห์ไอโซโครโมโซมเอ็กซ์ โดยวิธีเซลล์พันธุศาสตร์และอนุเซลล์พันธุศาสตร์ ในผู้ป่วยที่มีกลุ่มอาการเทอร์เนอร์
ชื่อผู้เขียน	นางสาววชิร เทียงอยู่
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชากายวิภาคศาสตร์
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อำนาจ มีเวที	ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. ดาวรุ่ง กังวานพงศ์	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิจิต สมทรัพย์	กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาไอโซโครโมโซมเอ็กซ์ กระทำในผู้ป่วยที่มีกลุ่มอาการเทอร์เนอร์จำนวน 10 ราย โดยได้ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วย 6 ราย และ เซลล์ที่อยู่ในน้ำยาตรึงสภาพ 2 ราย จากหน่วยปฏิบัติการมนุษย์พันธุศาสตร์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ นอกจากนี้ยังได้เซลล์ที่อยู่ในน้ำยาตรึงสภาพอีก 2 รายจากคณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามารับดี คาร์โอไทป์ที่พบมี 46,X,i(Xq) จำนวน 4 ราย 45,X/46,X,i(Xq) จำนวน 5 ราย และ 46,XXp+ จำนวน 1 ราย พบว่าผู้ป่วยเหล่านี้มีลักษณะความผิดปกติที่เด่นชัด คือ ตัวเตี้ย และ ส่วนใหญ่จะมีอาการที่นำมาพบแพทย์คือการไม่มีประจำเดือน จากการเจาะเลือดและนำมาเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวลิ้มโฟไซท์ เตรียมโครโมโซมในระยะเมตาเฟส และโปรเมตาเฟส หรือนำเซลล์ที่อยู่ในน้ำยาตรึงสภาพมาศึกษาโดยการย้อมด้วยวิธี G-bands และ Q-bands พบว่าลักษณะของไอโซโครโมโซมเอ็กซ์จะประกอบด้วยโครโมโซมแขนยาวเหมือนกันทั้งสองด้านและมีเซนโทรเมียร์เดียว ยกเว้นในรายที่มีคาร์โอไทป์ 46,XXp+ ที่มีลักษณะโครโมโซมเป็น submetacentric โดยมีส่วนแขนสั้นเกินมา เมื่อทำการศึกษาด้วยวิธีการย้อม C-bands และ Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) โดยใช้ CEP X probe (Xp11.1 - Xq11.1) พบว่าทั้งสองวิธีนี้ให้ผลที่เหมือนกัน โดยมีตำแหน่งและขนาดของ C-bands และ

fluorescent signal เหมือนกัน ซึ่งติดสีเขียวอม C-bands และ FISH 1 ตำแหน่ง จำนวน 3 ราย ติดสีเขียวอม 2 ตำแหน่ง จำนวน 5 ราย และติดสีเขียวอม 1 ตำแหน่งแต่มีขนาดใหญ่ จำนวน 2 ราย โดยก่อนหน้านี้อธิบายไว้แล้วว่าไอโซโครโมโซมเอ็กซ์เกิดจากกลไก centromeric misdivision ในการแบ่งตัวของเซลล์ จากผลการศึกษาครั้งนี้สนับสนุนผลการศึกษาก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าไอโซโครโมโซมเอ็กซ์มีโครงสร้างที่แตกต่างกับบริเวณเซนโทรเมียร์ ทำให้สรุปได้ว่าไอโซโครโมโซมเอ็กซ์จะมีกลไกการเกิดอื่น ๆ ได้อีกนอกเหนือจาก centromeric misdivision ซึ่งกลไกที่พบส่วนใหญ่ในการศึกษาครั้งนี้ น่าจะเป็น transverse breakage บนส่วนแขนสั้นของโครโมโซมเอ็กซ์ และตามมาด้วยการ reunion ของ sister chromatid หรือ homologous chromosome ในขณะที่มีการแบ่งตัวของเซลล์สืบพันธุ์ของมารดาหรือบิดา หรือในการแบ่งตัวแบบไมโทซิสระยะแรกของไซโกต ถ้า breakpoints อยู่ที่ส่วนต้นของแขนสั้น ไอโซโครโมโซมที่เกิดขึ้นจะมีสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ 2 แห่งอยู่ติดกัน แต่ถ้า breakpoints อยู่ชิดเซนโทรเมียร์มาก ไอโซโครโมโซมที่เกิดขึ้นจะให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ 1 ตำแหน่งแต่จะใหญ่กว่าปกติ ในผู้ป่วยที่มีเอ็กซ์ที่ผิดปกติเป็น submetacentric chromosome และมีคาริโอไทป์ 46,XXp+ โครโมโซมที่ผิดปกติน่าจะเกิดจาก X/X translocation ทำให้โครโมโซมที่ผิดปกติมีสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ 2 ตำแหน่ง ตำแหน่งหนึ่งอยู่บริเวณส่วนต้นของแขนสั้นและอีกตำแหน่งหนึ่งอยู่ที่ breakpoint หรือบริเวณที่มีการสลับตำแหน่งของโครโมโซม โดยโครโมโซมที่ย้ายที่มานั้น น่าเป็นส่วน Xp 11.1 มาด้วย ซึ่งจะให้ positive signal เมื่อใช้ CEP X probe

Thesis Title Cytogenetics and Molecular Cytogenetics Analysis of The
Isochromosome X in Patients with Turner Syndrome

Author Miss Watcharee Tiangyou

M.S. Anatomy

Examining Committee:

Asst. Prof. Dr. Umnat Mevatee Chairman

Assoc. Prof. Dr. Daoroon Kangwanpong Member

Asst. Prof. Wichit Somsap Member

Abstract

The study of isochromosome X was performed on 10 patients with Turner syndrome, six peripheral blood samples, 2 cell suspensions derived from Human Genetics laboratory, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Chiang Mai University and 2 cell suspensions derived from Faculty of Medicine, Rama Thibodi Hospital. Four cases have 46,X,i(Xq) karyotypes, five cases have mosaic with 45,X/46,X,i(Xq) karyotypes and 1 case of 46,XXp+ karyotype. The main phenotype of patients are short stature, and chief complaint were primary or secondary amenorrhea. Lymphocyte cultures were performed for metaphase and prometaphase preparations. Chromosomes were analysed by G and Q banding techniques. In 9 cases the isochromosome X revealed that both long arms attached to a single centromere. One case with 46,XXp+ karyotype, the abnormal X chromosome was submetacentric and have one centromere. With C-banding and Fluorescence *in situ* hybridization techniques using CEP X (Xp11.1-Xq11.1), the isochromosomes X expressed corresponding size and position of both C-bands and fluorescent positive signals. There were 3 cases with 1 C-band and 1 positive signal, 5 case

with 2 C-bands and 2 positive signals and 2 cases with one large C-band and one large positive signal. The results of this study show the significant difference structure around the centromeric regions of isochromosome X, and support the earlier investigation that the isochromosome X must have arise from difference abnormal mechanisms during cell division. The major mechanism for the isochromosome X formation were transverse breakage on Xp and then reunion of sister chromatids or homologous X chromosomes during mitosis or meiosis in maternal or paternal germ cells or postzygotic mitotic division. If the breakpoint were at proximal short arm, the isochromosome would show 2 closely fluorescent signals. If the breakpoint were very close to centromere the isochromosome would have one large fluorescent signal. In patients with submetacentric chromosome X and have 46,XXp+ karyotype, the mechanism should be X/X translocation during maternal oogenesis, the chromosome contain one centromere and expressed 2 fluorescent signals one at proximal long arm very close to centromere and another one on the breakpoint (translocated region) . This point show positive signal with CEP X probe, and indicates that the translocated chromosome contains Xq11.1 region.