# บทที่ 1

# บทนำ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การศึกษาการหักของโครโมโซม (chromosome breakage) ในมนุษย์ได้ทำการศึกษากันมาก ไม่ว่าจะเป็นความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดจากสารเคมีหรือรังสี การศึกษาทางโครโมโซมมนุษย์ได้มีการทดลองเริ่มแรกโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture method) และได้รายงานว่ามีจำนวนโครโมโซม 46 โครโมโซม (Tjio และ Levan, 1956) ต่อมามีการจัดแบ่งโครโมโซมมนุษย์ออกเป็นกลุ่มโดยอาศัยขนาดของโครโมโซมและตำแหน่งของเซนโตรเมีย (centromere) (Denver 1960) เซลล์ที่นำมาศึกษาโครโมโซมมนุษย์อาจเป็นเซลล์ที่ได้จาก เซลล์เม็ดเลือดขาว (lymphocyte) เซลล์กระดูก (bone marrow cell) เซลล์ผิวหนัง (skin fibroblast) เซลล์ของน้ำคร่ำ (amniotic fluid cell) เซลล์จากอัณฑะ (testicular cell) (World Health Organization, 1973) การศึกษาโครโมโซมมนุษย์มีประโยชน์หลายด้านไม่ว่าจะเป็นทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ของมนุษย์ (human cytogenetics) ทางด้านการแพทย์ซึ่งศึกษาถึงการตอบสนองของโครโมโซมต่อการรักษาโรค อาจเป็นยาหรือรังสี ทางด้าน toxicology และศึกษาปรากฏการณ์การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (Hungerford Nowell et. al., 1973)

Glass 1957 ได้ทำการศึกษาถึงผลของรังสีที่มีต่อโครโมโซมมนุษย์พบว่ารังสีขนาดสูง สามารถทำลายเซลล์ที่มีชีวิตได้และรังสีปริมาณที่ต่ำ จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านพันธุกรรม และการเปลี่ยนแปลงทางด้านโครงสร้างของโครโมโซม (structural chromosomal aberration)

การศึกษาการหักของโครโมโซมมนุษย์โดยรังสี มีวิธีการแตกต่างกันออกไปตามเนื้อเยื่อที่นำมาศึกษา Bender (1957, 1960) ใช้เซลล์ของไต (Kidney epitheloid cell) Lajtha และคณะ (1959) ใช้เซลล์ของไขกระดูก (bone marrow cell) Puck (1958) Sax (1959) และ Passano (1961) ใช้เซลล์จากผิวหนัง (skin cell) Lindsten (1959) Yoshida และ Makino (1963) ใช้เซลล์จากปอดของตัวอ่อน (embryonic lung cell) Böök และคณะ (1962) ใช้เซลล์สมองของตัวอ่อน (embryonic brain cell) Puck, Yamada (1962) ใช้ Hela cells Pomerat และคณะ (1958) ใช้เซลล์จากถุงน้ำคร่ำ (amnionic cell) Ohnuki และคณะ (1961) ใช้เซลล์เม็ดเลือด (human leucocyte) ศึกษา

รังสีที่มีบทบาทต่อมนุษย์มีรังสีอุลตราไวโอเลต (ultraviolet light) และรังสีที่นำมาใช้ในการรักษาโรค (radiotheraphy)

บทบาทของรังสีอุลตราไวโอเลต จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงในระดับของเซลล์ คือทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutation) (Kaplan. 1952) ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์แบบไมโตซีส (mitosis) ทำให้เกิดการหักของโครโมโซม (Kirby-Smith และ Craig 1957) และทำให้เกิด pyrimidine dimers (Trosko และคณะ 1965 Klimek 1966) เมื่อนำกลุ่มเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวมาฉายด้วยรังสีอุลตราไวโอเลต พบว่าเซลล์ที่ได้รับรังสีจะเกิด nuclei necrotic และเกิดการรวมกลุ่มของโครมาติน และการเสื่อมสลายของ nucleus (Chu 1965) ยังพบว่าเซลล์ที่แบ่งตัวในระยะ $G_1$ และ S ถ้าได้รับรังสีอุลตราไวโอเลตเซลล์จะไม่สามารถแบ่งตัวได้ (Rauth และ Whitmore 1966 Djordjevic และ Tolmach 1967) นอกจากนี้ยังพบว่ารังสีอุลตราไวโอเลตยับยั้งการแบ่งเซลล์ในขณะที่เซลล์อยู่ในระยะ S ได้ดีกว่าในขณะที่เซลล์อยู่ในระยะ $G_2$ (Chu 1965) และคุณสมบัติของรังสีอุลตราไวโอเลตที่ทำให้เกิดการหักของโครโมโซม เหมือนกับรังสีเอกซ (Chu 1965) Parrington J.M. (1977) พบว่าเมื่อใช้รังสีอุลตราไวโอเลตขนาด 256 และ 342 ergs/mm$^2$ กับเซลล์ fibroblast ของมนุษย์ จะพบ single chromatid break isochromatid break และ acentric fragment

รังสีเอ็กซ์และรังสีแกมม่า นิยมนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรค ( radiotherapy) อาจเป็นโรคมะเร็งหรือโรคอื่นก็ได้ทั้งนี้อาศัยหลักที่ว่า ionizing radiation สามารถทำลายเนื้อเยื่อที่เป็นมะเร็ง ( malignant tissue) ได้มากกว่าเนื้อเยื่อปกติ ( Hornsey D.J. 1974)

รังสีที่ใช้ในการรักษาโรคแบ่งออกเป็นสองกลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. พลังงานโฟตอน ( photon energy) ได้แก่ รังสีเอ็กซ์ ( x-ray ) และรังสีแกมม่า ( $\gamma$-ray) ซึ่งมีพลังงานโฟตอนหรือมีพลังทะลุทะลวง ( Penetration) ตั้งแต่ 1.24 KeV ถึง 12.4 MeV. และมีขนาดของความยาวคลื่น ( wavelenght) ตั้งแต่ 10 แองสตรอม ( Å ) ขึ้นไป รังสีเอ็กซ์มีต้นกำเนิดจากเครื่องรังสีเอ็กซ์และรังสีแกมม่าเกิดจากการสลายตัวของสารกัมมันตรังสีต่างๆ ซึ่งอาจจะเป็นสารเคมีที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เช่น แร่เรเดียม หรือสารกัมมันตรังสีที่มนุษย์ประดิษฐ์ขึ้นมา เช่น โคบอลท์ 60 ไอโอดีน 131 และ gold 198 เป็นต้น

2. อนุภาค (particles) ส่วนใหญ่ได้จากการสลายตัวของสารกัมมันต-รังสี และจากเตาปฏิกรณ์ปรมาณู โดยทั่วไปมีพลังงานทะลุทะลวงน้อยกว่าพวกพลังงานโฟตอน อนุภาคที่สำคัญ ได้แก่

อนุภาคแอลฟ่า ($\alpha$-particle) ซึ่งมีประจุบวก มีการสูญเสียพลังงานอย่างรวดเร็วจึงมีแรงทะลุทะลวงต่ำมาก แม้แต่กระดาษก็สามารถจะยับยั้งอนุภาคแอลฟ่าได้ดังนั้นจึงไม่ได้นำมาใช้ในการรักษาโรคมากนัก นอกจากต้นกำเนิดของรังสีจะถูกนำเข้าสู่ร่างกายโดยวิธีหนึ่งวิธีใดเท่านั้น อนุภาคแอลฟ่าได้จากแร่เรเดียมและก๊าซเรดอน

อนุภาคเบต้า ($\beta$- particle) ซึ่งมีประจุลบ และมีขนาดเล็กกว่าอนุภาคแอลฟ่า แต่มีแรงทะลุทะลวงมากกว่าอนุภาคแอลฟ่า คือสามารถทะลุผ่านเนื้อเยื่อต่างๆได้หลายๆ มิลิเมตร ดังนั้นจึงนำมาใช้ในการรักษาโรคได้ อนุภาคเบต้าได้มาจากแร่สตรอนเทียม 90 (strontium 90) ฟอสฟอรัส 32 (phosphorus 32) เป็นต้น

ทั้งพลังงานโฟตอน และอนุภาค มีคุณสมบัติเหมือนกันที่สำคัญ คือ เมื่อมันผ่านสารต่างๆ เช่นเนื้อเยื่อมันสามารถจะดึงอิเล็คตรอนออกจากอะตอมของเนื้อเยื่อโดยอาศัยพลังงานของมันเองทำให้พลังงานมันหมดไป ซึ่งปรากฏการณ์เช่นนี้ เรียกว่า ionization หรือจะพูดได้ว่ารังสีสามารถจะionized สารต่างๆ ได้

คุณสมบัติของรังสีไม่ว่าจะเป็นรังสีเอกซ์ หรือรังสีแกมม่าจะมีอิเล็คตรอนที่เคลื่อนที่ด้วยความเร็วสูงเป็น ionizing particle และอาศัยคุณสมบัติ ionization และ excitation ของอิเล็คตรอนที่เคลื่อนที่ด้วยความเร็วสูงนี้เมื่อมันผ่านสสารต่างๆ มันจะปล่อยพลังงานเพื่อionize อะตอมของสสารที่รังสีผ่านจนกว่าจะหมดกำลังลง ผลของการปล่อยพลังงานของอิเล็คตรอนตัวแรกจะทำให้เกิดอิเล็คตรอนตัวที่สองอีกมากมาย ซึ่งจะกลับไปionize อะตอมของสสารที่ยังเหลืออยู่ เพราะฉะนั้นผลส่วนใหญ่จะเกิดจากอิเล็คตรอนในขบวนการที่สอง ( secondary process) นี่เอง ( Hornsey D.J. 1974)

ผลของรังสีต่อสิ่งมีชีวิตไม่ว่าจะเป็นปฏิกิริยาทางตรงหรือทางอ้อมก็ตาม สามารถแบ่งออกเป็น 4 ระดับ คือ

ระดับโมเลกุล (effect on molecule level) ซึ่งเป้าหมายของรังสีจะอยู่ที่ระดับอิเล็คตรอนภายในเซลล์

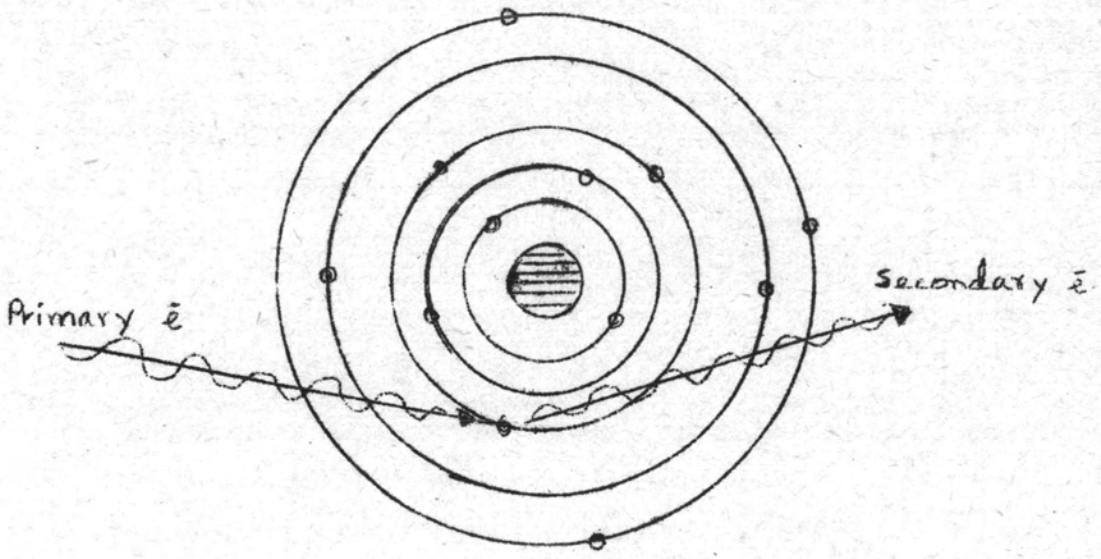
ระดับของเซลล์ ( effect on cellular level) ผลของรังสีต่อเซลล์และองค์ประกอบของเซลล์ซึ่งอยู่ภายในเซลล์ในระดับนี้เป้าหมายของรังสีอยู่ที่ DNA

ระดับของอวัยวะ (effect on organ system) เป้าหมายของรังสีอยู่ที่เซลล์

ระดับทั้งร่างกายของสิ่งมีชีวิต ( effect on the whole organism) เป้าหมายของรังสีอยู่ที่อวัยวะต่าง ๆ

ผลของรังสีในระดับของโมเลกุล (Radiation . effects on molecu lar level)

ส่วนที่เล็กที่สุดของเซลล์คือ อะตอม ซึ่งจะมีโปรตอน (proton) และนิวตรอน (neutron) อยู่ตรงกลางเป็นนิวเคลียส (nucleus) และจะมีอิเล็กตรอน (electron) วิ่งอยู่รอบๆ เรียกว่า ( orbital electron) โดยปกติแล้วอิเล็กตรอนในแต่ละชั้นของอะตอมจะมีจำนวน และลักษณะการหมุน ซึ่งจะทำให้มีการสมดุลย์กันภายในแต่ละอะตอม รังสีจะทำให้จำนวนและลักษณะการหมุนของอิเล็กตรอนผิดไป ทำให้อะตอมนั้นเสียความสมดุลย์และเสียหน้าที่ไป ในแต่ละโมเลกุลถ้ามีจำนวนอะตอมที่เสียหน้าที่ไปเป็นจำนวนมากเซลล์นั้นก็จะตายในที่สุด การเสียความสมดุลย์ของแต่ละอะตอมจะเป็นต้นเหตุของการทำลายเซลล์

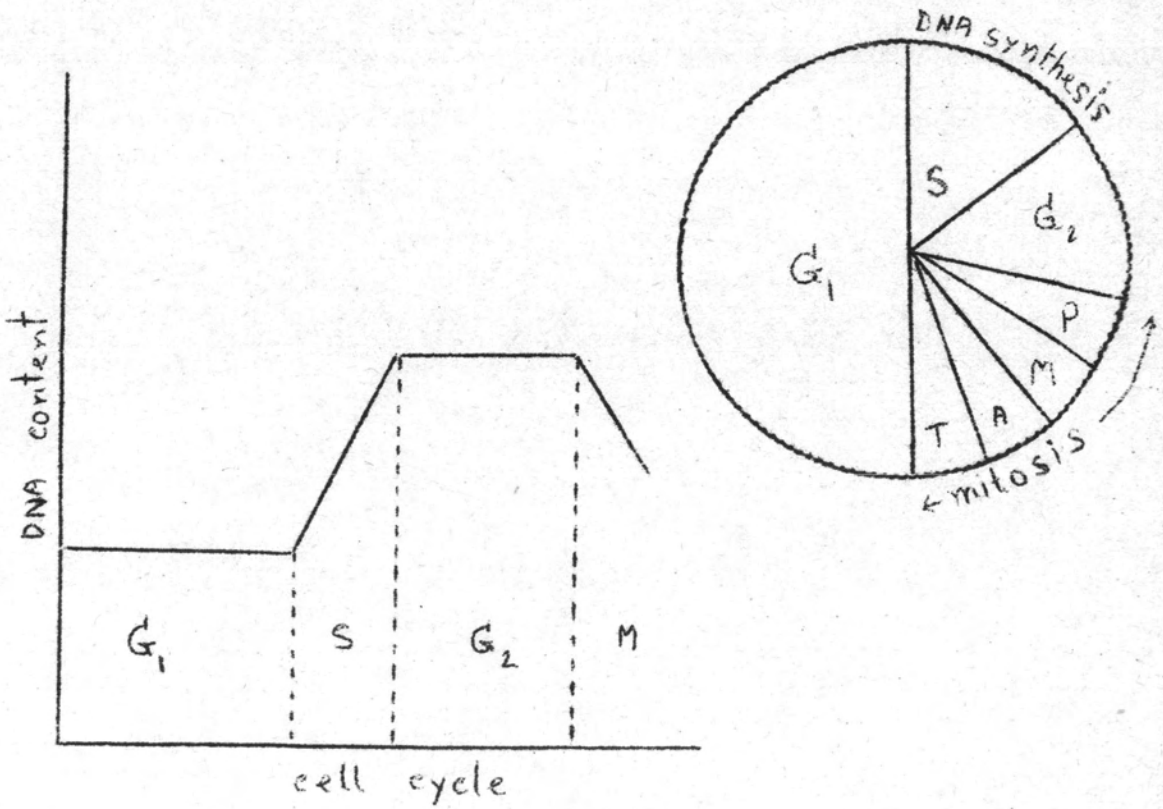



รูปที่ 1 แสดงผลของรังสีต่ออะตอมของเซลล์

ผลของรังสีในระดับเซลล์ ( radiation effects on cells)

รังสีจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อส่วนต่างๆ ในเซลล์ กล่าวคือ การเปลี่ยนแปลงเบส การสลายเบส บอนด์ของไฮโดรเจนระหว่างสายของ DNA แตก การหักของสาย DNA เพียงสายเดียว การขาดของ DNA ทั้งสองสาย การแลกเปลี่ยนส่วนของ DNA ภายในสาย DNA เส้นเดียวกัน ( crosslinking with in the helix) และการแลกเปลี่ยนโมเลกุลของ DNA (crosslinking to other DNA molecule)

เซลล์โดยทั่วไปจะมีการเจริญเติบโตตามวงจรชีวิตของเซลล์ พบว่าเซลล์ในระยะ $G_2$-phase จะมีปริมาณของ DNA ภายในเซลล์มากที่สุด จึงมีความไวต่อรังสีมากที่สุด ดังรูปที่ 2




รูปที่ 2 แสดงวงจรของเซลล์

ผลของรังสีต่อโครโมโซม โดยปกติโครโมโซมจะประกอบด้วยแขนสองข้าง ซึ่งยึดติดกันโดยเซนโตรเมียร์โดยอยู่ระหว่างแขนสองข้างของโครโมโซม การเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมจะเห็นได้ชัดเจนเมื่อเซลล์มีการแบ่งตัวภายหลังที่ได้รับรังสีแล้ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะเมตตาเฟส (metaphase) และ เอนาเฟส (Anaphase)

รังสีจะทำให้มีการหักของโครโมโซม และการเปลี่ยนแปลงในรูปร่างของโครโมโซม เกิดขึ้นเป็น 3 ลักษณะ ดังแสดงในรูปที่ 3

chromosomal-type aberration เกิดเนื่องจากเซลล์ได้รับรังสีในระหว่างที่เซลล์อยู่ในระยะ $G_1$ และ S คือก่อนที่จะมีการแยกตัวของโครมาติด

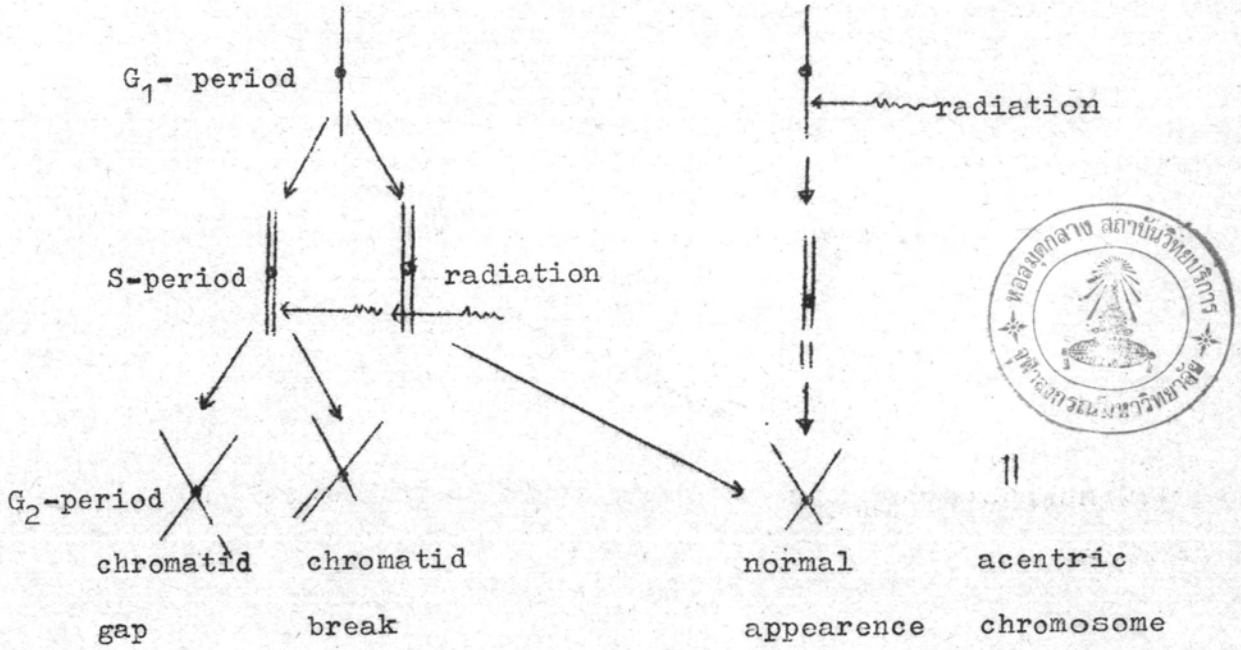
chromatid-type aberration เกิดเนื่องจากเซลล์ได้รับรังสีในระหว่างที่เซลล์อยู่ในระยะ S และ $G_2$ คือมีการแยกตัวเป็นโครมาติดสองอันแล้ว

sub-chromatid-type aberration เกิดเนื่องจากเซลล์ได้รับรังสีในระหว่างที่เซลล์อยู่ในระยะ M พบได้บ่อยว่ามีการแตกของโครมาติดบางส่วน

ความผิดปกติของโครโมโซมจะทำให้เกิด chromatid break หรือ chromosomal break ส่วนที่แตกแยกออกไปแล้วอาจมีการกลับมาต่อกันได้ในรูปเดิมหรือรูปใหม่ ดังนั้นจึงมีโครโมโซมรูปใหม่ๆ แปลกๆ เกิดขึ้น

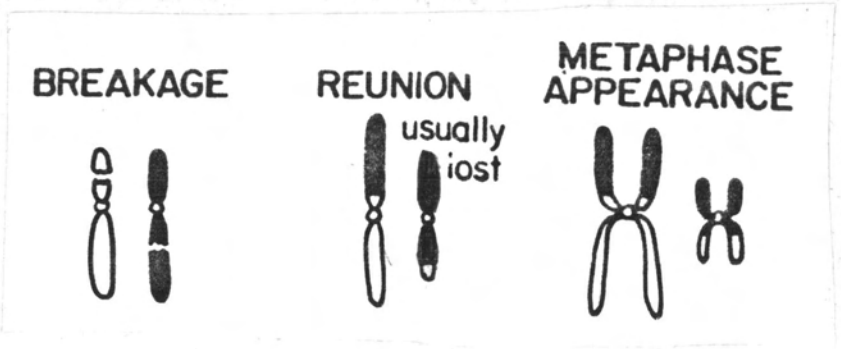
ลักษณะของโครโมโซมที่เกิดขึ้นมีหลายแบบ เท่าที่พบมี translocation duplication, isochromosome และ ring chromosome

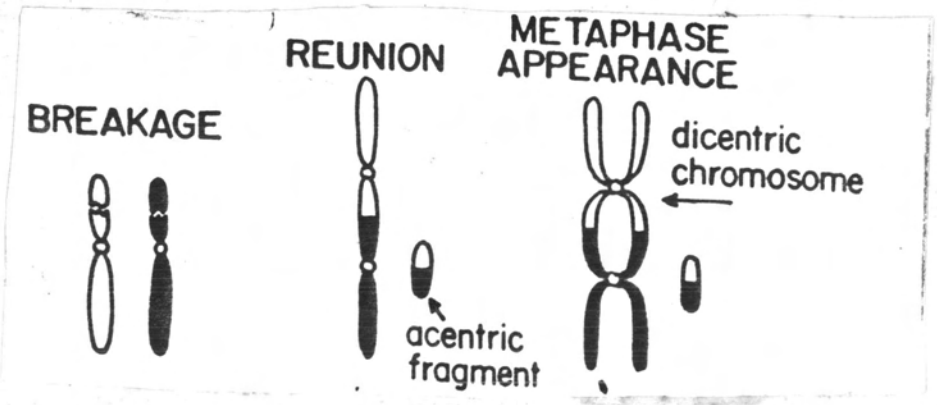
Translocation คือ การแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซม 2 ตัว ที่ต่างคู่กัน ซึ่งอาจจะมีได้หลายแบบ แต่ชนิดที่พบบ่อยเป็นแบบ balance translocation และ unbalance translocation ดังแสดงในรูปที่ 4




หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

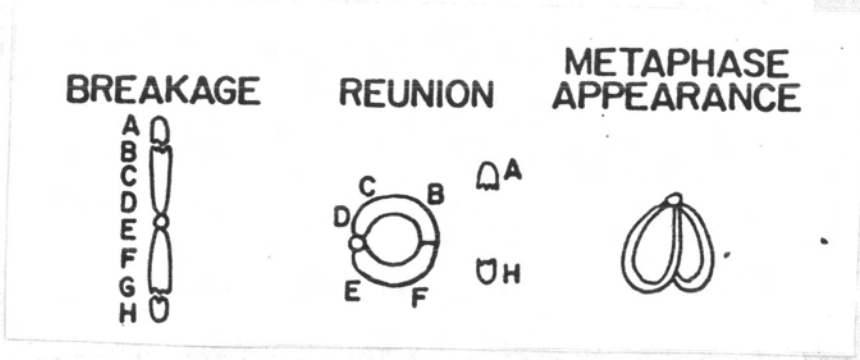
รูปที่ 3 แสดงการหักของโครโมโซมจากรังสี



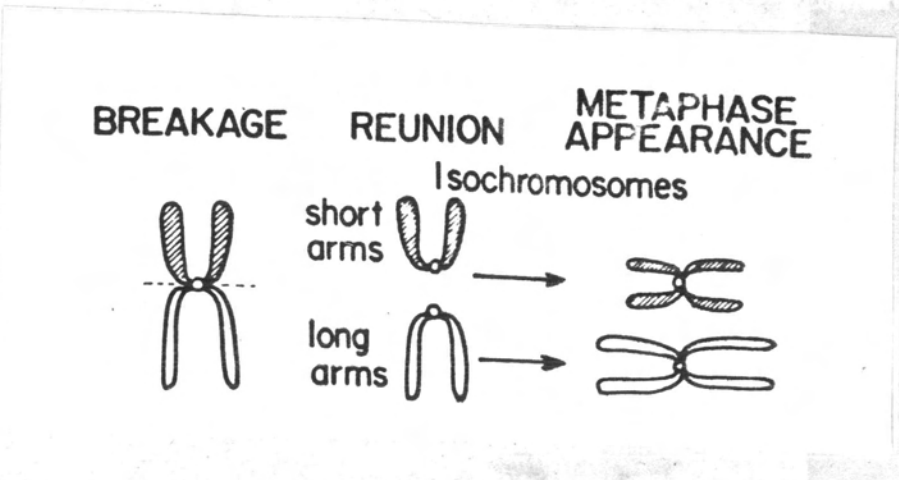

รูปที่ 4 แสดงการเกิด translocation ของโครโมโซม

ring chromosome เกิดจากการขาดที่ปลายทั้งสองข้างของโครโมโซม และปลายทั้ง 2 จะเข้ามาเชื่อมกันเป็นรูปวงแหวน




รูปที่ 5 แสดงการเกิด **ring chromosome**

Isochromosome เป็นโครโมโซมซึ่งประกอบด้วยส่วนของ long arm หรือ short arm เท่านั้น เกิดขึ้นเนื่องจากการแยกตัวตามขวางของเซนโตรเมียร์แทนที่จะเป็นแนวตั้งตามปกติ isochromosome จะประกอบด้วย long arm กับ short arm, isochromosome ถ้าเกิดกับ chromosome ขนาดเล็กมักจะหายไป




รูปที่ 6 แสดงการเกิด isochromosome

ผลของรังสีต่อ cytoplasmic organelles ที่สำคัญ คือ ribosome ทำให้เซลล์มีการสร้างโปรตีนน้อยลง mitochondria ทำให้มีการสร้าง ATP enzyme ลดลง lysosome ทำให้มีการสร้าง digestive enzyme น้อยลง golgi apperatus ทำให้เซลล์สร้างคาร์โบไฮเดรทลดลง

ผลของรังสีต่อสารโมเลกุลต่างๆ ที่สำคัญต่อระบบชีวะภาพ คือทำให้มีการเปลี่ยนแปลงทั้งในปริมาณและคุณภาพของสารอื่น เช่น กรดอะมิโน น้ำย่อยต่างๆ ภายในเซลล์ สารไขมัน และพวกสารคาร์โบไฮเดรท

ผลของรังสีต่อ — ไขกระดูกและเลือด

— ไขกระดูกมีความไวต่อรังสีมาก และอาจเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตได้ถ้าได้รับปริมาณรังสีมากพอสมควร เซลล์ต่างๆ ในไขกระดูกจะถูกทำลายหายไปหมดเหลือแต่เซลล์ไขมัน เซลล์ของเม็ดเลือดแดงจะมีความไวต่อรังสีมากที่สุด จะถูกทำลายไปเกือบหมดภายหลังได้รับรังสีในเวลา 2-3 ชั่วโมงต่อมา

สำหรับเลือดนั้น mature lymphocyte จะมีความไวต่อรังสีมากที่สุด ปริมาณรังสีแม้เพียงเล็กน้อยก็จะทำให้จำนวนของ Lymphocyte ลดลงอย่างรวดเร็ว และจะกลับคืนเข้าสู่ระดับปกติช้ากว่าเม็ดเลือดขาวชนิดอื่น (เทพมงคล, ไพรัส. 2520)

ในการศึกษาการหักของโครโมโซมในมนุษย์โดยรังสีได้มีการศึกษากันมาก ทั้งการศึกษาโดยการนำเอาเซลล์เม็ดเลือดขาวมาเลี้ยงแล้วให้ได้รับรังสี การศึกษาโดยนำเม็ดเลือดขาวจากผู้ป่วยที่เคยได้รับรังสีจากการรักษาโรคมาแล้ว และการศึกษาโดยการนำเม็ดเลือดขาวจากคนที่เคยได้รับรังสีจากระเบิดปรมาณูเมื่อสงครามโลกครั้งที่สองมาเลี้ยงแล้วศึกษาดูการหักของโครโมโซม

Evan 1962 , Bender และ Gooch 1967 ได้ทำการศึกษาการหักของโครโมโซมในผู้ป่วยที่เคยรักษาโรคด้วยรังสีเอ็กซ์ พบการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมในเม็ดเลือดขาว และพบว่าเกิดการหักของโครโมโซมได้ 3 ลักษณะ คือ หักที่โครมาติดของโครโมโซม ( chromatid-type breakage ) ซึ่งมีความถี่ในการหักถึง 0.014 ต่อหนึ่งเซลล์ ลักษณะการหักทั้งสองโครมาติด ( chromosomal-type breakage)

ซึ่งมีความถี่ในการหักถึง 0.0023 ต่อหนึ่งเซลล์

Visfeldt 1964, Conen 1961 และ Bell 1963, Stewart และ Sanderson 1961 ได้รายงานว่าสามารถพบ translocation, pericentric inversion และ deletion ในเซลล์ผิวหนังหลังจากได้รับรังสีเอกซ์ในการรักษาโรค ซึ่งใช้รังสีขนาด 100 rads และพบว่าจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซม (chromosome aberration) ในทารกที่อยู่ในครรภ์อีกด้วย

Tough และคณะ (1960) Buckton และคณะ (1962) ได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยที่รักษาโรค ankylosing spondylitis ด้วยรังสีพบว่าจะทำให้เกิด chromatid gap, chromosome gaps, chromatid-type breakage acentric fragment, dicentric chromosome, ring chromosone ซึ่งตรวจพบโดยการเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยแล้วศึกษาดูโครโมโซม Bender และ Gooch (1962) พบว่าถ้าในขณะที่ใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์มาเลี้ยงจนเซลล์อยู่ในระยะเมตาเฟสแล้วให้เซลล์ได้รับรังสีเอกซ์อย่างทันทีทันใดโดยใช้ขนาดของรังสีที่สูงจะทำให้เกิด chromosomal type breakage

เนื่องจากได้มีการศึกษาที่เกี่ยวกับการหักของโครโมโซมโดยรังสีในมนุษย์กันมาก ซึ่งส่วนใหญ่จะทำการศึกษาในผู้ป่วยที่รักษาโรคด้วยรังสีเอกซ์ (X- rays) และทดลองโดยการเลี้ยงเม็ดเลือดขาวแล้วให้ได้รับรังสีในหลอดทดลอง แต่ยังไม่มีการศึกษาการหักของโครโมโซมในผู้ป่วยที่รักษาโรคมะเร็งด้วยรังสีแกมม่าเนื่องจากการรักษาโรคมะเร็งในปัจจุบันใช้รังสีแกมม่าในการรักษาโรค และผลของรังสีแกมม่าทำลายเนื้อเยื่อที่เป็นมะเร็งได้ แต่ก็มีผลต่อเนื้อเยื่อปกติเช่นกัน ด้วยเหตุนี้จึงได้ศึกษาว่าจะมีการหักของโครโมโซมอย่างไร เมื่อได้รับรังสีแกมม่าขนาดต่างๆ ในการรักษานอกจากนี้ยังศึกษาดูลักษณะของโครโมโซมว่าเกิดผิดปกติแบบใดบ้าง โดยใช้ผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งปากมดลูก 10 คน จากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์มาทำการศึกษา

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาการตอบสนองต่อรังสีของผู้ป่วยที่รักษาโรคมะเร็งปากมดลูกด้วยรังสี ว่าเมื่อผู้ป่วยได้รับรังสีขนาดที่ใช้รักษาโรคมะเร็ง ( therapeutic dose) ปริมาณต่างๆ กัน จะเกิดการหักของโครโมโซมมากน้อยเท่าใด และศึกษาลักษณะการหักของโครโมโซมที่เกิดขึ้นว่าเป็นแบบใดบ้าง

ขอบเขตและวิธีการดำเนินการวิจัย

ในมนุษย์เมื่อได้รับรังสีประมาณ 50 rads (Amarose, A.P. และ Baxter,D.H. 1964) มักจะทำให้เกิดการหักของโครโมโซม ในการรักษาโรคมะเร็งผู้ป่วยจะได้รับรังสีขนาดที่ใช้ในการรักษาโรค ( therapeutic dose) คือตั้งแต่ 200 rads ถึง 4000 rads เพราะฉะนั้นผู้ป่วยจะมีการหักของโครโมโซมเกิดขึ้น ผลของการหักของโครโมโซมจะทำให้เซลล์ใหม่ที่ได้จากการแบ่งตัวมีความผิดปกติของโครโมโซมแบบต่างๆ คืออาจเป็น dicentric chromosome, ring chromosome acentric chromosome และ translocation ลักษณะดังกล่าวสามารถตรวจดูได้โดยการนำเม็ดเลือดขาวมาเพาะเลี้ยงเพื่อดูโครโมโซม และหลังจากหยุดรับรังสีร่างกายจะมีการซ่อมแซมโครโมโซมที่หัก ในกรณีของคนที่เป็นโรคอื่น และมีการหักของโครโมโซมร่วมอยู่ด้วยอย่างถาวรมักจะจบชีวิตลงด้วยโรคมะเร็งในเม็ดเลือดขาว

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

ผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งปากมดลูกจำนวน 10 คน

1. เลี้ยงเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยก่อนได้รับรังสี เพื่อศึกษาโครโมโซมโดยทำคาร์ริโอไทพ์ ( karyotype)

2. เลี้ยงเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยหลังจากได้รับรังสีขนาด 200, 400, 800 1,600, 3,200 และ 4,000 rads ตามลำดับ เพื่อศึกษาโครโมโซมโดยทำคาร์ริโอไทพ์ ( karyotype) ดูว่าที่ dose ต่างๆ มีการหักของโครโมโซมมากน้อยเท่าใด และการหักของโครโมโซมที่เกิดขึ้น มีความผิดปกติแบบใดบ้าง (ในการรักษาผู้ป่วยโดยการฉายรังสีจะให้ผู้ป่วยได้รับรังสีทั้งหมด 4,000 rads โดยครั้งแรกจะให้รังสีขนาด

200 rads และจะให้ติดต่อกันจนครบ 20 วัน ผู้ป่วยจะมีการสะสมของรังสีทุกครั้งตั้งแต่ครั้งแรกจนครั้งสุดท้ายของการรักษา)

3. รวบรวมผลการวิจัยโดยการศึกษาโครโมโซมของผู้ป่วย 100 เซลล์ต่อผู้ป่วย 1 คน โดยทำทุกครั้งหลังจากผู้ป่วยได้รับรังสีแต่ละขนาด

4. สรุปผลการวิจัย

การสำรวจการวิจัยอื่นที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาการหักของโครโมโซมในมนุษย์กระทำกันอย่างกว้างขวางซึ่งอาจจะศึกษาการหักของโครโมโซมโดยรังสีอันเนื่องมาจากระเบิดปรมาณูเมื่อครั้งสงครามโลกครั้งที่สอง การหักของโครโมโซมโดยรังสีในหลอดทดลอง และการหักของโครโมโซมในผู้ป่วยที่รักษาโรคต่างๆ ด้วยรังสี

การศึกษาการหักของโครโมโซมในบุคคลที่ได้รับรังสีจากระเบิดปรมาณูเมื่อครั้งสงครามโลกครั้งที่สองที่ Hiroshima และ Nagasaki

Bloom, Nerlishi, Awa, Honda และ Archer (1967) ได้ทำการศึกษาการหักของโครโมโซมในคนที่รอดตายจากสงครามโลกครั้งที่สองที่ญี่ปุ่นจำนวน 45 คน รังสีที่ได้รับประมาณ 100 rads หรือมากกว่านั้น บุคคลเหล่านี้อยู่ห่างจาก Hiroshima และ Nagasaki ซึ่งถูกระเบิดปรมาณู 3 กิโลเมตร และคนที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบอีก 80 คน ซึ่ง——ได้รับรังสีไม่เกิน 1 rads การทดลองนี้ทดลองกับคนที่ได้รับรังสีมาแล้ว 21 ปี ผลการศึกษาพบว่าความถี่ของการเกิด translocation pericentric inversion, dicentric และ ring chromosome ในคนที่ได้รังสีจะมีมากกว่าในกลุ่ม control การศึกษาใช้เม็ดเลือดขาวมาเพาะเลี้ยงโดยวิธี macrotecnique ตามวิธีของ Moorhead และคณะ(1960) ดังแสดงในตารางที่ 1.

ตารางที่ 1 แสดงโครโมโซมที่ผิดปกติในบุคคลที่ได้รับรังสีจากระเบิดปรมาณูจากสงครามโลกครั้งที่ 2 ที่ Hiroshima และ Nagasaki

| | Hiroshima | | Nagasaki | | Total | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | control | Exposed | control | Exposed | control | Exposed |
| เซลล์ทั้งหมดที่ใช้ศึกษา | 5374 | 4742 | 1814 | 2036 | 7188 | 6778 |
| จำนวนเซลล์ที่เกิด | | | | | | |
| - single chromatid gap และ break | 145 | 168 | 66 | 44 | 211 | 212 |
| - double chromatid gap และ break | 44 | 29 | 31 | 10 | 75 | 39 |
| - ring chromosome | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 3 |
| - dicentric | 1 | 6 | 0 | 2 | 1 | 8 |
| - fragment | 8 | 7 | 1 | 5 | 9 | 12 |
| - translocation | 3 | 54 | 2 | 18 | 5 | 72 |
| - pericentric inversion | 3 | 7 | 0 | 4 | 3 | 11 |
| - other | 7 | 18 | 3 | 4 | 10 | 22 |

Honda T., Kamada N., และ Bloom A.D. (1969) ได้ทำการศึกษาการหักของโครโมโซมในคน 17 คนที่ได้รับรังสีจากระเบิดปรมาณูเมื่อครั้งสงครามโลกครั้งที่ 2 เปรียบเทียบกับคนปกติ 10 คน โดยใช้วิธีการเลี้ยงเซลล์แบบ macro-tecnique ตามวิธีของ Moorhead และคณะ (1960) ใช้เวลาในการเลี้ยงเซลล์ 72 ชั่วโมง พบว่าในคนปกติที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบมีโครโมโซมที่ผิดปกติ (ไม่รวม chromatid และ double chromatid break) เพียง 0.8 % แต่ในคนที่ได้รับรังสีจากระเบิดปรมาณูจะพบว่ามีโครโมโซมที่ผิดปกติในลักษณะเดียวกับในคนปกติถึง 8.7% ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 2 แสดงโครโมโซมที่ผิดปกติในบุคคลที่ได้รับรังสีจากระเบิดปรมาณู จากสงครามโลกครั้งที่ 2 ที่ Hiroshima และ Nagasaki

| | control | % | Exposed | % |
|---|---|---|---|---|
| จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่ใช้ศึกษา | 1,000 | | 1,700 | |
| จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติแบบ | | | | |
| -single chromatid break หรือ gap | 46 | 4.6 | 68 | 4 |
| -double chromatid break หรือ gap | 8 | 0.8 | 12 | 0.7 |
| -rings chromsome | 1 | 0.1 | 2 | 0.12 |
| -dicentric | 0 | 0 | 6 | 0.38 |
| -fragment | 6 | 0.6 | 30 | 1.8 |
| -translocation | 0 | 0 | 64 | 3.8 |
| -inversion | 0 | 0 | 23 | 1.35 |
| -deletion | 1 | 0.1 | 25 | 1.47 |
| เซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติทั้งหมด (ไม่รวม single และ double chromatid break หรือ gap ) | | 0.8 | | 8.7 |

003859

Marshall Islandres (1965) ได้บันทึกการทดลองซึ่งได้แสดงถึงความผิดปกติของโครโมโซมในคนซึ่งได้รับรังสีแล้วนาน 10 ปี จำนวน 23 คน จาก 43 คน พบว่ายังสามารถพบ 13 translocation, 8 dicentric และ 1 ring chromosome และยังมีความถี่ของ acentric chromosome สูงกว่าในคนปกติ

การศึกษาการหัก ——————— ของโครโมโซมในเม็ดเลือดขาวในหลอดทดลองอันเนื่องมาจากรังสี

Schmickel R. (1966) ได้ทำการศึกษาคนที่ไม่เคยมีประวัติการทำงานที่เกี่ยวกับรังสีมาก่อน ไม่เคยได้รับรังสีในการรักษาโรค ( therapeutic irradiation or diagnotic exposure) ใช้บุคคลเหล่านี้จำนวน 12 คน เจาะเลือดมาทำการเลี้ยงโดยวิธี macrotecnique(Moorhead และคณะ 1960) นำเลือดทั้งหมดมาให้ได้รับรังสีเอกซ์ (X-rays) โดยให้ได้รับรังสีอัตรา 15 rads ต่อนาที และให้ตัวอย่างของเลือดอยู่ห่างจากแหล่งกำเนิดรังสี 100 เซ็นติเมตร ขนาดของรังสีที่ให้กับเลือดที่จะอย่างเป็น 0 (ตัวเปรียบเทียบ) 6 , 12 , 24 และ 48 rads ตามลำดับ เลี้ยงเซลล์ไว้ 70 ชั่วโมงเป็นอย่างน้อย เติม colchicine ลงไปแล้วเลี้ยงเซลล์ต่ออีก 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวโครโมโซม

ผลการทดลอง ในตัวเปรียบเทียบ จะเห็นว่ามี chromatid gap และ break ในอัตราที่สูงกว่าความผิดปกติของโครโมโซมแบบอื่นๆ การเกิดความผิดปกติของโครโมโซมจะเพิ่มขึ้นตามขนาดของรังสีที่เพิ่มขึ้น ที่ขนาดของรังสีต่ำ (5.6 rads) จำนวนโครโมโซมที่ผิดปกติทั้งหมดจะสูงกว่าในตัวเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และจะพบ chromosomal break ใน control เพียง 1 อัน และพบ 2 acentric fragment ใน 1 เซลล์เท่านั้น spontaneous chromosome aberration จะไม่สัมพันธ์กับการเกิด chromosome aberration โดยรังสี จะไม่พบ ring,dicentric chromosome deletion หรือlarge chromosome gap ในตัวเปรียบเทียบแต่จะพบในเซลล์ที่ได้ได้รับรังสีและจะพบเพิ่มขึ้นตามขนาดของรังสีที่ใช้ทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงโครโมโซมที่ผิดปกติ ในเม็ดเลือดขาวในปลอดทดลอง อันเนื่องมาจากรังสี

| | Exposure (rads) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 5.6 | 12 | 24 | 48 |
| จำนวนเซลล์ที่ใช้ศึกษา | 1569 | 639 | 600 | 481 | 229 |
| chromatid gap | 7 | 3 | 8 | 9 | 3 |
| chromatid break | 11 | 6 | 11 | 9 | 5 |
| acentric fragment | 2 | 3 | 7 | 3 | 3 |
| ring | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| dicentric | 0 | 1 | 1 | 3 | 1 |

Bender M.A. และ Gooch P.C. (1963) ได้ทำการศึกษาการหักของโครโมโซม โดยใช้ชายปกติ 2 คน และหญิงปกติ 2 คน เจาะเลือดมาคนละ 4 หลอด จากนั้นนำมาเลี้ยงตามวิธีของ Moorhead และคณะ (1960) นำเลือดทั้งหมดมาฉายด้วยรังสีเอ็กซ์ ( X-rays) โดยใช้ขนาดของรังสี 0 , 25 , 50 และ 100 rads. ผลการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์ของการหักของโครโมโซมจะเพิ่มขึ้นตามขนาดของรังสีที่ใช้ ที่ 0 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การหักของโครโมโซมเพียง 2.5 ที่ขนาดของรังสี 25 rads. จะพบเปอร์เซ็นต์การหักของโครโมโซม 16.3 ที่ขนาดของรังสี 50 rads. จะพบเปอร์เซ็นต์การหักของโครโมโซม 19.8 และที่ขนาดของรังสี 100 rads. จะพบเปอร์เซ็นต์การหักของโครโมโซมถึง 30.4 ..... ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงโครโมโซมที่ผิดปกติ ในเม็ดเลือดขาว ในหลอดทดลอง อันเนื่องมาจากรังสีเอ็กซ์

| exposure and individual | cell score | chromatid deletion | chromosome deletion | achromatic lesion | chromatid break (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| ตัวเปรียบเทียบ | | | | | |
| 1 (♂) | 100 | 0 | 3 | 0 | 3.0 |
| 2 (♀) | 100 | 0 | 3 | 4 | 3.0 |
| 3 (♀) | 101 | 2 | 1 | 0 | 3.0 |
| 4 (♂) | 100 | 1 | 0 | 2 | 1.0 |
| ทั้งหมด | 401 | | | | 2.5 |
| 25 rads. | | | | | |
| 1 | 100 | 11 | 4 | 1 | 15.0 |
| 2 | 100 | 4 | 7 | 4 | 10.0 |
| 3 | 100 | 7 | 7 | 6 | 14.0 |
| 4 | 100 | 16 | 7 | 4 | 27.0 |
| ทั้งหมด | 400 | | | | 16.3 |
| 50 rads. | | | | | |
| 1 | 100 | 7 | 7 | 6 | 14.0 |
| 2 | 100 | 8 | 10 | 11 | 18.0 |
| 3 | 100 | 8 | 3 | 6 | 11.0 |
| 4 | 100 | 11 | 21 | 7 | 36.0 |
| ทั้งหมด | 400 | | | | 19.8 |

| exposure and in-dividual | cell score | chromatid deletion | chromosome deletion | achromatic lesion | chromatid break (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 100 rads. | | | | | |
| 1 | 35 | 7 | 10 | 7 | 17.9 |
| 2 | 100 | 16 | 14 | 14 | 30.0 |
| 3 | 100 | 8 | 12 | 9 | 20.0 |
| 4 | 63 | 19 | 21 | 13 | 66.7 |
| ทั้งหมด | 358 | | | | 30.4 |

Ohnuki Y., Awa. A., Pomerat C.M. (1970) ได้ทำการทดลองโดยใช้เม็ดเลือดขาวของคนปกตินำมาเลี้ยงในหลอดทดลองตามวิธีของ Moorhead และคณะ (1960) แล้วให้ได้รับรังสีแกมม่า ขนาด 400 rads. ที่ได้จากโคบอลท์ 60 ปรากฏว่าจะพบเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติทั้งหมดด้านจำนวนและโครงสร้างถึง 56.67 ในจำนวนนี้จะพบว่ามีเซลล์ที่มี dicentric chromosome 20.3 % เซลล์ที่มี chromosome break รวมกับ dicentric มี 59.4 % นอกนั้นเป็นความผิดปกติทางด้านอื่น ดังแสดงในตารางที่ 5.

ตารางที่ 5 แสดงโครโมโซมที่ผิดปกติ ในเม็ดเลือดขาวในหลอดทดลอง เมื่อได้รับรังสี แกมมาขนาด 400 rads.

| | Percent |
|---|---|
| เซลล์ที่มีความผิดปกติทางด้านโครโมโซมทั้งหมด | 56.6 |
| - Dicentric | 20.3 |
| - Breakage และ dicentric | 59.4 |
| - Other | 20.2 |

การศึกษาการหักของโครโมโซมในผู้ป่วยที่รักษาโรคด้วยรังสีเอ็กซ์ (X-rays)

Goh K., Reddy M.M. และ Hempelmann L.H. (1967) ได้ทำการศึกษาการหักของโครโมโซมในเม็ดเลือดขาวในผู้ซึ่งเคยได้รับการรักษาต่อม thymus ด้วยรังสีเอ็กซ์เมื่อเขายังเป็นเด็ก โดยใช้ผู้ป่วย 12 คน และคนปกติที่ไม่เคยรับรังสีมาเลย 5 คน เป็นตัวเปรียบเทียบ ทำการเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวตามวิธีของ Moorhead และคณะ (1960) ในการทดลองครั้งนี้ได้บันทึกประวัติของผู้ป่วย 12 คน ว่าเคยได้รับการรักษาจากรังสีเอ็กซ์ขนาดต่างๆ ตามตารางที่ 6 และจากการทดลองพบว่าความถี่ของเซลล์ที่ผิดปกติและการหักของโครโมโซมในผู้ป่วย 12 คน จะสูงกว่าในคนปกติที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ โครโมโซมที่ผิดปกติพบว่ามีทั้ง dicentric , ring translocation และการหักของโครโมโซมที่พบเป็นแบบ chromosomal break และ acentric fragment ดังแสดงในตารางที่ 6, 7.

ตารางที่ 6 แสดงขนาดของรังสีเอ็กซ์ที่ใช้รักษาผู้ป่วยที่ต่อม thymus เมื่อเขายังเป็นเด็ก

| Cade No. | อายุของผู้ป่วยปัจจุบันที่นำมาศึกษา (ปี) | เพศ | ขนาดของรังสี (R) ทั้งหมดที่ได้รับ | เวลาที่ใช้รักษาโรคด้วยรังสีเอกซ์/วัน |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 34 | F | 564 | 60 |
| 2 | 32 | M | 270 | 59 |
| 3 | 28 | M | 225 | 128 |
| 4 | 30 | F | 270 | 125 |
| 5 | 43 | M | 768 | 559 |
| 6 | 30 | M | 270 | 77 |
| 7 | 23 | F | 200 | 23 |
| 8 | 40 | M | 468 | 38 |
| 9 | 30 | M | 432 | 60 |
| 10 | 39 | F | 468 | 820 |
| 11 | 30 | M | 676 | 55 |
| 12 | 29 | M | 540 | 60 |

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์โครโมโซมที่ได้จากการฉายรังสีเอ็กซ์ในการรักษาโรคที่ต่อม thymus

| Case No. | จำนวนเมตตาเฟสทั้งหมด | เซลที่ผิดปกติ | | จำนวน Fragment | จำนวน dicentric | จำนวน Translocation | จำนวน Ring | เปอร์เซ็นต์ Break |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | จำนวน | % | | | | | |
| ผู้ป่วยที่ได้รับรังสีที่ต่อม thymus | | | | | | | | |
| 1 | 96 | 15 | 15.6 | 3 | - | 7 | - | 24.3 |
| 2 | 53 | 6 | 11.3 | 1 | - | 6 | - | 22.6 |
| 3 | 14 | 2 | 14.2 | - | - | 1 | - | 21.4 |
| 4 | 15 | 3 | 20.0 | 3 | - | - | 1 | 26.6 |
| 5 | 35 | 4 | 11.4 | 2 | - | 1 | - | 14.3 |
| 6 | 94 | 6 | 6.3 | 3 | 1 | 3 | - | 11.6 |
| 7 | 95 | 7 | 7.4 | 4 | - | 1 | - | 8.4 |
| 8 | 91 | 11 | 12.0 | 2 | 1 | 3 | - | 17.5 |
| 9 | 22 | 2 | 11.0 | - | - | 1 | - | 13.6 |
| 10 | 32 | 3 | 9.6 | - | 2 | - | - | 15.6 |
| 11 | 12 | 1 | 9.0 | - | 1 | - | - | 18.0 |
| 12 | 35 | 4 | 11.0 | 1 | - | 1 | - | 14.0 |
| ทั้งหมด | 594 | 64 | $11.57 \pm 1.06$ | 19 | 5 | 24 | 1 | $17.33 \pm 1.58$ |
| คนปกติ | | | | | | | | |
| 1 | 98 | 3 | 3.1 | 2 | - | - | - | 3.1 |
| 2 | 99 | 3 | 3.0 | 1 | 1 | 1 | - | 5.1 |
| 3 | 92 | - | 0.0 | - | - | - | - | 0.0 |
| 4 | 94 | - | 0.0 | - | - | - | - | 0.0 |
| 5 | 100 | 2 | 2.0 | 1 | - | - | - | 2.0 |
| ทั้งหมด | 483 | 8 | $1.62 \pm 0.69$ | 4 | 1 | 1 | - | $2.04 \pm 0.97$ |

ผลการทดลองพบว่า 64 เซลล์ (11.6 %) เป็นเซลล์ที่ผิดปกติ จากจำนวนเซลล์ทั้งหมดที่ศึกษา 594 เมตตาเฟส ผู้ป่วย 12 คน ซึ่งจะมีช่วงอยู่ระหว่าง 6.3-12 % คนปกติที่ใช้เปรียบเทียบพบว่ามีเซลล์ที่ผิดปกติเพียง 8 เซลล์ (1.6 %) จากเซลล์ที่ใช้ศึกษา 483 เมตตาเฟส ซึ่งวิเคราะห์จากคนปกติ 5 คน จะมีช่วงอยู่ระหว่าง 0-3.1 % ค่าความแตกต่างระหว่างเซลล์ที่ผิดปกติในผู้ป่วยกับเซลล์ที่ผิดปกติของคนปกติมีค่าต่างกันทางสถิติ ( statistically significant) อย่างมีนัยสำคัญ เป็นค่า P value $<$ 0.001

ประโยชน์ที่จะได้จากการวิจัย

1. เปรียบเทียบปริมาณ และชนิดของการหักของโครโมโซมเมื่อผู้ป่วยได้รับรังสีขนาด 200 400 800 1,600 3,22 และ 4,000 rads. ว่าแตกต่างกันอย่างไร แล้วนำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับการหักของโครโมโซมโดยรังสีในหลอดทดลอง การหักของโครโมโซมในผู้ซึ่งเคยได้รับการรักษาต่อม thymus ด้วยรังสีเอกซ์ในผู้ป่วยที่อยู่ในวัยรุ่นเด็ก และการหักของโครโมโซมในคนที่ได้รับรังสีจากระเบิดปรมาณูเมื่อครั้งสงครามโลกครั้งที่ 2

2. จากการที่ผู้ป่วยได้รับรังสีในปริมาณสูง เช่น 3,200 และ 4,000 rads. เซลล์ที่นำมาตรวจดูจะไม่พบมีการแบ่งตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาว อาจมีประโยชน์ช่วยในการทำนายการดำเนินโรคของผู้ป่วย และวางแผนการรักษาผู้ป่วยเหล่านี้ต่อไป