

การศึกษาโครโมโซมของผู้ป่วยโรคเรติโนบลาสโตมา

CHROMOSOME STUDY IN RETINOBLASTOMA PATIENTS

รุ่งทิพย์ ถานอมสิงห์
Rungtip Thanomsing

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Graduate School, Chulalongkorn University

บทคัดย่อ

ศึกษาโครโมโซมโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวของเด็กที่ป่วยด้วยโรคเรติโนบลาสโตมา จำนวน 40 ราย เป็นหญิง 18 ราย ชาย 22 ราย อายุเฉลี่ย 3 ปี เปรียบเทียบกับเด็กปกติ 30 ราย เป็นหญิง 16 ราย และชาย 14 ราย อายุเฉลี่ย 2 ปี 5 เดือน จากการศึกษาประวัติครอบครัวของผู้ป่วยทั้ง 40 ราย พบว่ามี 2 รายที่มีญาติป่วยเป็นโรคนี้อีก 2 ราย มีญาติเป็นโรคมะเร็งที่ส่วนอื่นของร่างกาย นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วย 4 ราย มีความผิดปกติของโครโมโซมคือ ผู้ป่วยรายที่ 3 มีโครโมโซมเป็น 46,xy/46,xy del(13) (q33-34) และมีโครโมโซมตัวที่ 7 มีลักษณะผิดปกติคือ แขนข้างสั้นแยกออกจากกัน ผู้ป่วยรายที่ 5 พบจำนวนชุดของโครโมโซมเป็น 92,xxyy และ 138,xxxyyy ปนกับเซลล์ปกติ 46,xy ผู้ป่วยรายที่ 13 พบ 46,xy/46,xy del(13) (q14) และผู้ป่วยรายที่ 24 มีบิดาที่มีโครโมโซมเป็น 46,xy/46,xy del (13) (q13)

ABSTRACT

Chromosome from retinoblastoma patients were studied by lymphocyte culture. Comparisons were made between 40 retinoblastoma patients of 18 females and 22 males (average age = 3 years) and 30 normal children of 16 females and 14 males (average age = 2.5 years). The family histories of the retinoblastoma patients were studied. It was found that two patients have relatives which are also retinoblastoma patients, and two other patients have relatives with other kinds of cancer. Chromosome abnormalities were found in four of the 40 retinoblastoma patients as follows : 46,xy/46xy del(13) (q33-34) in case No. 3, mosaicism of diploid, triploid and normal in case No. 5, 46,xy/46,xy del(13) (q14) in case No.13 and 46,xy/46,xy del(13) (q13) in case No.24's father.

คำนำ

เรตินوبลาสโตมาเป็นมะเร็งของลูกนัยน์ตาที่มักพบในเด็ก โดยเชื่อกันว่าเกิดจากการแบ่งเซลล์อย่างผิดปกติของเรตินาเซลล์ตั้งแต่แรกเกิด การแบ่งเซลล์อย่างผิดปกตินี้ทำให้เกิดเป็นก้อนเนื้อออก ผู้ป่วยจะมีอาการตาขาวคล้ายตาแมว สังเกตเห็นได้ง่ายในเวลากลางคืน เนื่องจากมีการขยายของรูม่านตาผิดปกติ ก้อนเนื้อออกนี้จะมีสีขาวขุ่น ซึ่งถ้าปล่อยทิ้งไว้จะโตขึ้นและลุกลามไปยังประสาทตา เข้าสู่สมองและน้ำไขสันหลัง ซึ่งผู้ป่วยจะเสียชีวิตในที่สุด

โรคนี้นับพบมากในเด็กอายุต่ำกว่า 3 ปี โดยพบมากเป็นอันดับที่สามรองจากมะเร็งเม็ดเลือด (leukemia) และเนื้องอกในสมอง (brain tumor) โรครีตินอบลาสโตมามีอุบัติการณ์ในเด็กแรกเกิด 1:15,000-30,000 ที่โรงพยาบาลศิริราชพบผู้ป่วยโรคนี้นเฉลี่ยปีละ 16 ราย โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์พบเฉลี่ยปีละ 4.5 ราย โรงพยาบาลรามาธิบดี พบเฉลี่ยปีละ 7.5 ราย และโรงพยาบาลขอนแก่นพบเฉลี่ยปีละ 4 ราย¹ โรครีตินอบลาสโตมานี้จัดเป็นโรคมะเร็งที่พบในคนผิวเหลืองมากกว่าคนผิวขาวถึง 4 เท่า แต่ในคนผิวขาวพบว่าเป็นทั้งสองตาถึงร้อยละ 40 ในขณะที่คนผิวเหลืองเป็นทั้งสองตาเพียงร้อยละ 25 ในสหรัฐอเมริกาพบอุบัติการณ์ของโรคนี้นในอัตรา 1:20,000 ของเด็กแรกเกิดและมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น สำหรับผู้ป่วยที่รอดชีวิตอยู่นับบุตรได้พบว่าบุตรมีโอกาสเป็นโรคนี้นได้ถึงร้อยละ 50 เชื่อว่ามะเร็งชนิดนี้เกิดจาก genetics mutation ซึ่งถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้แบบ autosomal dominant² จึงน่าจะได้มีการศึกษาโครโมโซมของผู้ป่วยกลุ่มนี้เพื่อประโยชน์ในวงการแพทย์ไทยและเพื่อเป็นแนวทางป้องกันอุบัติการณ์ของโรคนี้นและได้ข้อมูลสำหรับให้คำปรึกษาแนะนำแก่ครอบครัวของผู้ป่วยต่อไป

อาการของโรครีตินอบลาสโตมา

1. ผู้ป่วยจะมีอาการตาขาว มองเห็นเป็นสีขาววาวที่กลางรูม่านตา ซึ่งจะเห็นได้ชัดในเวลากลางคืน เนื่องจากรูม่านตาขยาย
2. มีก้อนเนื้อออกยื่นออกมา แสดงว่าเนื้องอกมีการกระจายจากดวงตาสู่เบ้าตา สามารถคลำพบก้อนเนื้อออกได้ ถ้าอาการมากขึ้นจะดันลูกตาให้โปนออกมา
3. เกิดอาการจุดตันของหลอดเลือดบริเวณตา
4. กล้ามเนื้อบริเวณตาถูกก้อนเนื้องอกกดทับทำให้เกิดอาการตาเข
5. รูม่านตา และสีของม่านตาทั้ง 2 ข้างไม่เท่ากัน
6. ตาบอด ในกรณีที่เด็กตาบอดข้างหนึ่ง โดยไม่ทราบสาเหตุเนื่องจากของเหลวภายในลูกตาขุ่น ก็อาจมีสาเหตุมาจากเรตินอบลาสโตมา

วิธีการรักษา

1. ผ่าตัดลูกตาออก (enucleation) ปัจจุบันการนำลูกตาออกยังใช้เป็นวิธีรักษาสำหรับผู้ป่วยที่เป็นข้างเดียว หรือผู้ป่วยที่มีเรตินอบลาสโตมาเกินครึ่งหนึ่งของเรตินา ผู้ป่วยที่เป็นทั้ง 2 ข้าง ควรทำการผ่าตัดตาที่เป็นมาก ถ้าตาทั้ง 2 ข้างมองไม่เห็นแล้วก็จำเป็นต้องทำทั้ง 2 ตา หรือบางคนแนะนำให้ฉายรังสีรักษาแทนการผ่าตัดลูกตาออก ซึ่งอาจจะทำให้พอมองเห็นบ้าง นอกจากนี้การผ่าตัดลูกตาออกยังทำให้ตาทั้ง 2 ข้าง ไม่ตอบ

สนองต่อการรักษาวิธีอื่น

2. Photocoagulation เป็นวิธีรังสีรักษาเฉพาะจุด ปัจจุบันการรักษาเรติโนบลาสโตมาด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่ดี โดยรังสีจะไปทำให้เกิดแผลเป็น และอุดตันทางลำเลียงเลือดที่มาหล่อเลี้ยงก้อนเนื้อออก

3. Cryotherapy เป็นการจี้ด้วยความเย็นเยือกแข็ง เป็นวิธีการรักษาขั้นแรกหรือในรายที่ใช้วิธีอื่น ๆ ข้างต้นไม่ได้ผล โดยจะจี้ด้วยขั้วนำความเย็นทำให้เซลล์บริเวณนั้น ๆ ตายที่อุณหภูมิ -70°C .

4. การฉายรังสี เป็นวิธีที่ใช้มานาน โดยทั่ว ๆ ไปใช้หลังจากผ่าตัดลูกตาออกหรือตัดเส้นประสาทตาไปแล้ว

ผลการรักษาเรติโนบลาสโตมา ที่ปรากฏในรายงานของ Zelter และคณะ พบอัตราการรอดร้อยละ 90.6 สำหรับผู้ป่วยตาข้างเดียว ในการติดตามผล 2 ปี 7 เดือน และร้อยละ 84.2 ในพวกที่เป็นที่ตาทั้ง 2 ข้าง ในการติดตามผล 2 ปี 5 เดือน Sanders และคณะ พบว่าในเวลา 3 ปี มีอัตราการรอดเป็นร้อยละ 88 โดยให้การรักษาแบบเทคนิคเก่า ๆ Minoda รายงานไว้ว่าเป็นเวลา 5 ปีที่ติดตามผล พบอัตราการรอดของผู้ป่วยมีร้อยละ 78-92 ขึ้นอยู่กับวิธีการรักษา สำหรับประเทศไทย มีรายงานผู้ป่วยในโรงพยาบาลรามาธิบดีมีอัตราการรอดร้อยละ 41.18 เมื่อติดตามผลเป็นเวลา 3 ปี

เรติโนบลาสโตมาเป็นมะเร็งที่มีลักษณะต่างจากมะเร็งชนิดอื่น คือมีอัตราการหายเองสูงกว่ามะเร็งชนิดอื่น คือพบ 1:100 ในขณะที่มะเร็งอื่น ๆ พบเพียง 1:80,000 เท่านั้น การรายงานการฟ่องหายไปเองของเรติโนบลาสโตมาเริ่มมีครั้งแรกในปี ค.ศ.1911 โดย de Kleijin และคณะ ส่วนในประเทศไทยมีรายงานจากโรงพยาบาลรามาธิบดีในปี ค.ศ.1987

กลไกของการฟ่องหายไปได้เองอาจสันนิษฐานได้ดังนี้

1. เซลล์มะเร็งโตเร็วเกินไปจนหลุดเลือดเข้าไปเลี้ยงไม่พอ ทำให้เซลล์ตายไปเอง และเซลล์มะเร็งที่ตายไปนี้เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งที่ยังมีชีวิต โดยจะทำลายเซลล์มะเร็งต่อไปได้อีก
2. มีเซลล์มะเร็งไปอุดเส้นเลือดที่มาหล่อเลี้ยงเซลล์เรตินา ทำให้ตาขาดเลือดไปเลี้ยงจึงค่อยๆ ฝ่อลงไป
3. กลไกบางอย่างของร่างกายสร้างภูมิต้านทานในกระแสโลหิตมาทำลายเซลล์มะเร็ง
4. มะเร็งที่มีผลึกแคลเซียมสูง อาจจะฝ่อลงไปได้
5. ภาวะการมีไข้สูงเฉียบพลัน หรือมีการอักเสบเกิดขึ้นอย่างฉับพลัน ทำให้มีการทำลายทั้งเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง ทำให้เซลล์มะเร็งฝ่อลงไปเองได้

อย่างไรก็ตาม กลไกที่แน่ชัดยังไม่สามารถพิสูจน์ได้ หากพบกลไกที่แท้จริงก็จะนำไปสู่การรักษาที่ได้ผลยิ่งขึ้น

คำแนะนำทางพันธุกรรม

1. พ่อ-แม่ปกติมีลูกเป็นแล้ว 1 คน ลูกคนต่อไปมีโอกาสจะเป็นร้อยละ 6
2. ถ้ามีลูกเป็นแล้ว 2 คน ลูกคนต่อไปมีโอกาสจะเป็นร้อยละ 50
3. ผู้ป่วยรอดชีวิตจากรีติโนบลาสโตมาที่เป็นกรรมพันธุ์ ลูกมีโอกาสจะเป็นร้อยละ 50
4. ผู้ป่วยที่เป็นโรคโดยไม่ได้รับการถ่ายทอดทางพันธุกรรม แต่มีความผิดปกติเกิดขึ้นเอง ลูกมี

โอกาสจะเป็นร้อยละ 12.5

5. เด็กที่คลอดออกมาปกติโดยมีพ่อหรือแม่คนใดคนหนึ่งที่เป็นโรคนี้ อาจจะมีลักษณะภายนอกปกติ แต่โครโมโซมอาจผิดปกติโดยไม่แสดงอาการ

หากจะพิจารณารายละเอียดว่าผู้ป่วยเป็นที่ตาข้างเดียวหรือ 2 ข้าง และมีหรือไม่มีประวัติผู้ป่วยโรคนี้ ในครอบครัวก็อาจจะแสดงถึงแนวโน้มที่บุคคลต่าง ๆ จะเป็นโรคเรติโน بلاสโตมาได้ ดังนี้³

	เป็นที่ตาข้างเดียว		เป็นที่ตาทั้ง 2 ข้าง	
	มีประวัติครอบครัว	ไม่มีประวัติครอบครัว	มีประวัติครอบครัว	ไม่มีประวัติครอบครัว
น้องของผู้ป่วย	40%	1%	40%	6%
ลูกของผู้ป่วย	40%	8%	40%	40%
ลูกของพี่น้องผู้ป่วย	7%	1%	7%	<1%

การวิจัยครั้งนี้จัดทำขึ้นเพื่อหาความผิดปกติบนแท่งโครโมโซมของผู้ป่วยโรคเรติโน بلاสโตมา สำหรับใช้เป็นข้อมูลในการให้คำปรึกษาทางพันธุกรรมและเพื่อการควบคุมโรคไม่ให้แพร่กระจาย พร้อมทั้งศึกษาความหลากหลายทางรูปร่าง (polymorphism) ของโครโมโซมคู่ที่ 13 ของผู้ป่วยเปรียบเทียบกับคนปกติเพื่อหาจุดผิดปกติบนแท่งโครโมโซมของผู้ป่วยซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการตรวจวินิจฉัยทารกก่อนคลอด (prenatal diagnosis) รวมทั้งเป็นประโยชน์ในการให้คำปรึกษาทางพันธุกรรม (genetics counselling) ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างเลือกจากเด็กที่ป่วยด้วยโรคเรติโน بلاสโตมา จำนวน 40 ราย ที่เข้ารับการรักษาในหน่วยโลหิตวิทยา ภาควิชามารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี เปรียบเทียบกับตัวอย่างเลือกจากเด็กปกติที่มีช่วงอายุเดียวกันจำนวน 30 ราย

วิธีการ

1. ตรวจสอบประวัติผู้ป่วยจากแฟ้มทะเบียนประวัติผู้ป่วยหน่วยโลหิตวิทยา ภาควิชามารเวชศาสตร์ จากแผนกเวชระเบียน พร้อมทั้งรวบรวมข้อมูลประวัติผู้ป่วยและครอบครัวเพื่อสรุปข้อมูลมาเขียนพงศาวลี (pedigree) ของครอบครัวผู้ป่วยเรติโน بلاสโตมา 2-3 ชั่วอายุ
2. ศึกษาโครโมโซมของกลุ่มตัวอย่าง

2.1 เก็บตัวอย่างเลือด ใช้กระบอกฉีดยาที่ปราศจากเชื้อซึ่งเคลือบด้วยสารป้องกันการแข็งตัว (heparin) เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำที่แขนของผู้ป่วยและเด็กปกติรายละ 3-5 มล.

2.2 เพาะเลี้ยงเซลล์ นำตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยและเด็กปกติมาเพาะเลี้ยงเซลล์โดยวิธีปลอดเชื้อ ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Yunis ปี 1977 ในอาหารเลี้ยงเซลล์ (RPMI 1640) 5 มล. ผสมกับตัวอย่างเลือดยุติ 10 หยด สารกระตุ้นให้เซลล์มีการแบ่งตัว (phytohemagglutinin) 0.1 มล. และสารป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (penicillin และ streptomycin) 0.1 มล. ผสมเบา ๆ ให้เซลล์กระจายในอาหารเลี้ยงเซลล์ เลี้ยงในตู้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ 37°C. นาน 72 ชม. แต่ละตัวอย่างเลือดจะทำการเพาะเลี้ยง 2 แบบ คือ

แบบที่ 1 เพาะเลี้ยงนาน 72 ชม. แล้วเติมโคลชิซิน (colchicine 10^{-7} M) 0.1 มล.

แบบที่ 2 เพาะเลี้ยงนาน 72 ชม. แล้วเติม ethidium bromide + โคลชิซิน (10^{-7} M) 0.1 มล. ตั้งทิ้งไว้ในตู้เพาะเลี้ยง 37°C. นาน 45 นาที

การเตรียมโครโมโซม นำเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้ในอาหารเลี้ยงเซลล์ใส่ลงในหลอดแก้วกันแหลม (centrifuge tube) เพื่อนำไปแยกเซลล์จากอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีการปั่นแยกเซลล์ที่ความเร็ว 1,200 รอบ/นาที นาน 6 นาที ดูดสารใสส่วนบนทิ้ง เก็บตะกอนไว้แล้วเติมสารละลาย hypotonic ความเข้มข้น 0.075 M โดยใช้ KCl (potassium chloride) ซึ่งอุ่นที่อุณหภูมิ 37°C. ปริมาณ 5 มล. ลงในตะกอนเพื่อให้เซลล์พองตัวและทิ้งไว้ในตู้ที่อุณหภูมิ 37°C. นาน 20 นาที ก่อนจะนำไปปั่นแยกเซลล์อีกครั้งที่ความเร็ว 1,200 รอบ/นาที นาน 6 นาที จึงนำตะกอนที่ได้มาผสมกับสาร fixative คือ methanol : acetic acid (3:1) โดยค่อย ๆ เติม fixative ที่เย็นทีละน้อยจนครบ 3 มล. แล้วนำไปปั่นแยกเซลล์อีกครั้ง ทำซ้ำอีก 3-4 ครั้ง จนได้ตะกอนขาวใส ดูดสารละลายใสทิ้งให้เหลือเพียง 1-2 มล. เพื่อนำไปทำสไลด์ต่อไป

การเตรียมสไลด์ นำแผ่นสไลด์มาทำความสะอาดให้ปราศจากไขมันโดยการแช่ในน้ำยา dicromate cleaning solution นาน 24 ชม. แล้วล้างในน้ำประปาที่ไหลผ่านนาน 1 ชม. ต่อจากนั้นผ่านน้ำกลั่น 2 ครั้ง ก่อนแช่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในตู้เย็นเตรียมไว้ นำเซลล์ที่เตรียมได้ 1-2 หยดมาหยดลงบนสไลด์ที่เปียกโดยใช้ Pasteur pipette ดูดเซลล์มาหยดสูงจากสไลด์ประมาณ 1-2 ฟุต (เพื่อให้เซลล์กระจายตัวดี) แล้วทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

การย้อมโครโมโซม นำสไลด์ที่เตรียมได้มาย้อมสี ซึ่งทำได้ 2 วิธี ดังนี้

1. conventioned staining คือการย้อมโครโมโซมด้วยสี Giemsa stain (Giemsa in phosphate buffer) 10% นาน 5-10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งสไลด์ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

2. แบบ G-banding staining คือการย้อมสไลด์ที่ผ่านการอบแห้งแล้วในสารละลายทริปซิน (trypsin) นาน 15-20 วินาที เพื่อชักนำให้เกิดแถบบนแท่งโครโมโซมแล้วล้างใน NaCl 9% และนำมาย้อมสีด้วย Giemsa stain 10% นาน 5 นาที แล้วจึงผึ่งสไลด์ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

การตรวจสอบโครโมโซม นำสไลด์ที่ย้อมสีโครโมโซมเรียบร้อยแล้ว มาตรวจสอบจำนวนโครโมโซมของผู้ป่วยและเด็กปกติทุกราย รายละ 25 เซลล์ ตรวจสอบแถบบนโครโมโซมแท่งที่ 13 ในระยะ mid metaphase และระยะ early metaphase ของผู้ป่วยทุกราย รายละ 5 เซลล์ พร้อมทั้งศึกษา polymorphism ของโครโมโซม คู่ที่ 13 ของผู้ป่วยทุกราย เปรียบเทียบกับเด็กปกติ

ผลการทดลอง

จากการศึกษาโครโมโซมของผู้ป่วยโรคเรติโนบลาสโตมา จำนวน 40 ราย พบว่ามีผู้ป่วยที่มีประวัติครอบครัว ซึ่งหมายถึงญาติพี่น้องเป็นโรคที่เกี่ยวข้องหรือเป็นโรคเดียวกันกับผู้ป่วย จำนวน 4 ราย ส่วนอีก 36 ราย ไม่มีประวัติว่าคนในครอบครัวเป็นโรคนี้ จำนวนผู้ป่วยที่ทำการเจาะเลือดเพื่อตรวจครั้งนี้ เป็นหญิง 18 ราย ชาย 22 ราย อายุเฉลี่ย 3 ปี สำหรับกลุ่มเด็กปกติมี 30 ราย เป็นชาย 14 ราย หญิง 16 ราย อายุเฉลี่ย 2 ปี 5 เดือน

ผลการศึกษาอาการของผู้ป่วยที่มาพบแพทย์ส่วนใหญ่จะมีลักษณะตาขาวซึ่งจะเป็นผู้ป่วยโรคเรติโนบลาสโตมาที่มีอาการที่ตาทั้ง 2 ข้าง จำนวน 13 ราย โดยผู้ป่วย 7 รายอาการจะเริ่มเพียงข้างหนึ่งก่อนแต่ผู้ป่วยไม่ได้รับการดูแลรักษาตั้งแต่เริ่มมีอาการถึงไว้นจนลุกลามไปยังอีกข้างหนึ่ง และมีผู้ป่วยอีก 27 ราย ที่มีอาการที่ตาเพียงข้างเดียว (ตารางที่ 1)

ผลการศึกษาโครโมโซมของผู้ป่วย 40 ราย พบว่ามี 4 ราย ที่มีโครโมโซมผิดปกติ โดยผู้ป่วยรายที่ 3 มีโครโมโซมปกติกับเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติ และโครโมโซมตัวที่ 13₁ จะมีแถบ q 33-34 ขาดหายไป สำหรับผู้ป่วยรายที่ 5 มีเซลล์ปกติปนอยู่กับเซลล์ผิดปกติโดยบางเซลล์มีโครโมโซมเป็น 2 เท่า (diploid) ของเซลล์ปกติ และบางเซลล์ก็มีโครโมโซมเป็น 3 เท่า (triploid) ของคนปกติ ส่วนผู้ป่วยรายที่ 13 พบว่ามีโครโมโซมผิดปกติคือแถบ q14 ของโครโมโซมตัวที่ 13₂ ขาดหายไป และผู้ป่วยรายที่ 28 ก็มีเซลล์ผิดปกติบางเซลล์มีโครโมโซมเป็น 2 เท่า ของเซลล์ปกติเช่นกัน รายละเอียดดังตารางที่ 2

ผลการศึกษาความหลากหลายของรูปร่างของโครโมโซมคู่ที่ 13 และสัดส่วนแขนข้างยาว (q) ต่อแขนข้างสั้น (p) เปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยและเด็กปกติ พบว่าผู้ป่วยรายที่ 3 มีโครโมโซมตัวที่ 7 มีแขนข้างสั้น (p) มีลักษณะผิดปกติคือ ไม่แนบชิดกันในไฮโมโลกัสโครมาติด (รูปที่ 2) แต่ถ้าเปรียบเทียบความหลากหลายทางรูปร่างของโครโมโซมคู่ที่ 13 ระหว่างผู้ป่วยและเด็กปกติ โดยวิธีทดสอบแบบไคสแควร์ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 3 และ 4)

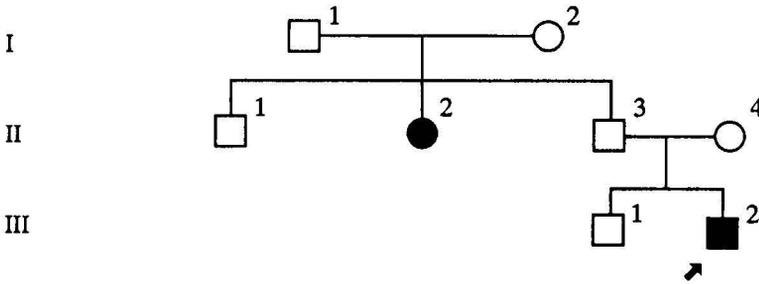
ผลการศึกษาประวัติครอบครัวของผู้ป่วยเรติโนบลาสโตมา สรุปเป็นพงศาวลี ได้ดังนี้

สัญลักษณ์ที่ใช้ I, II, III = ชั่วอายุที่ 1, 2, 3 ตามลำดับ

1, 2, 3 = บุคคลลำดับที่ 1, 2, 3 ตามลำดับ



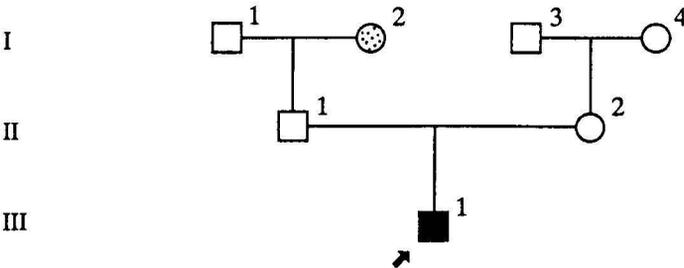
ผู้ป่วยรายที่ 3



ผู้ป่วยรายที่ 3 มีประวัติครอบครัวคือ มีพี่สาว (II 2) ของบิดาเป็นเช่นเดียวกับผู้ป่วย (III 2)

ผู้ป่วยรายที่ 5

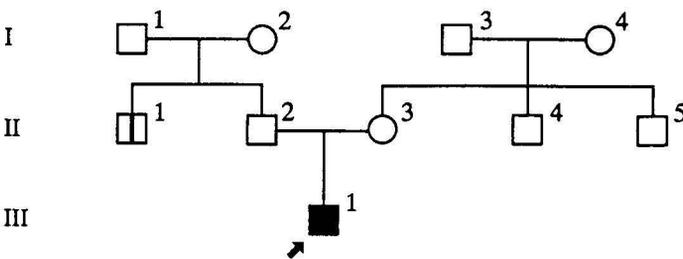
⊙ = ผู้ป่วยเพศหญิงเป็นมะเร็งลำไส้



ผู้ป่วยรายที่ 5 นี้มีย่า (I 2) เป็นมะเร็งลำไส้

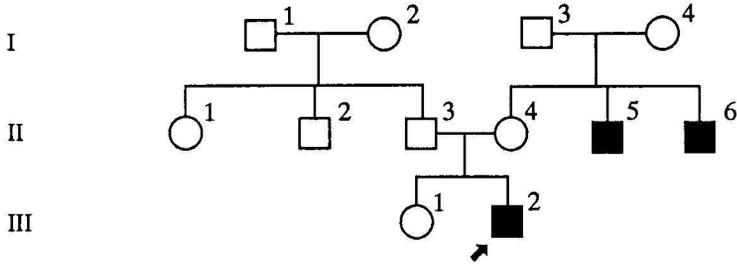
ผู้ป่วยรายที่ 24

▢ = ผู้ป่วยเพศชายเป็นเนื้องอกในสมอง



ผู้ป่วยรายที่ 24 มีพี่ของบิดา (II 1) เป็นเนื้องอกในสมอง

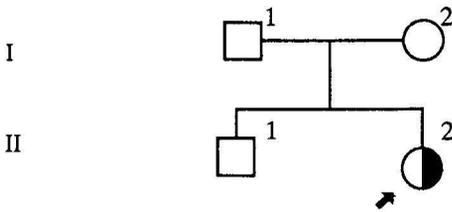
ผู้ป่วยรายที่ 26



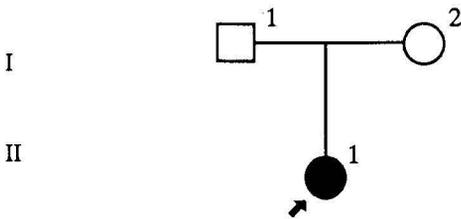
ผู้ป่วยรายที่ 26 มีน้ำ 2 คน ตามอดตั้งแต่ยังเด็กทั้ง 2 คน ปัจจุบันยังมีชีวิตอยู่คือ II 5 และ II 6

ผู้ป่วยรายที่ไม่มีประวัติครอบครัว สามารถศึกษาพงศาวลีได้ดังนี้

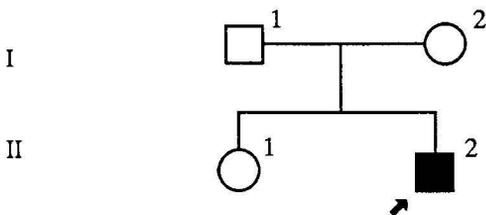
ผู้ป่วยรายที่ 2



ผู้ป่วยรายที่ 4



ผู้ป่วยรายที่ 6



วิจารณ์

ผลการศึกษาโครโมโซมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำที่แขนผู้ป่วยเรติโน بلاสโตมา จำนวน 40 ราย พบว่าผู้ป่วยรายที่ 3 เป็นผู้ป่วยที่มีโครโมโซมปกติปนกับเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติคือ 46, xy/46, xy, del(13) (q 33-34) ซึ่งหมายถึงเด็กชายที่มีเซลล์ปกติ โครโมโซม (46, xy) ปนอยู่กับเซลล์ที่มีโครโมโซมคู่ที่ 13 ซึ่งมีชิ้นส่วนท้ายขาดหายไป จากรูปที่ 1B จะเห็นโครโมโซมตัวที่ 13₁ มีแถบ q33-34 ขาดหายไป และโครโมโซมตัวที่ 7 แขนข้างสั้น (p) มีลักษณะผิดปกติคือไม่แนบชิดกันในโฮโมโลกัสโครมาติด (homologous chromatid) (รูปที่ 2) ผู้ป่วยรายที่ 5 พบโครโมโซมปกติ (46,xy) ปนกับเซลล์ที่มีโครโมโซมเป็น 2 เท่า ของเซลล์ปกติ และ 3 เท่าของเซลล์ปกติ จากการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวไม่พบเซลล์ที่มีจำนวนชุดของโครโมโซมผิดปกติเช่นนี้ และเมื่อศึกษาโครโมโซมของบิดามารดาพบว่าปกติ ผู้ป่วยรายที่ 13 พบว่ามีโครโมโซมปกติปนกับเซลล์ที่มีโครโมโซมผิดปกติ คือจากการเทียบคู่โฮโมโลกัสโครโมโซมพบว่า แถบ q14 จากรูปที่ 3 แถบไม่เท่ากับ 13₁ น่าจะมีการขาดหายไปของแถบ q14 ได้ ผู้ป่วยรายที่ 24 พบว่ามีโครโมโซมปกติ 46, xy แต่ตัวบิดาของผู้ป่วยซึ่งได้ศึกษาโครโมโซมจากเม็ดเลือดขาวเช่นกัน พบเซลล์ปกติปนกับเซลล์ที่มีโครโมโซมคู่ที่ 13 ผิดปกติที่แถบ q 13 ที่ระยะเซลล์โปรเมตาเฟส ส่วนรายที่ 28 พบว่ามีโครโมโซมเพิ่มจำนวนชุดเป็น 2 เท่าของจำนวนปกติ (46 แท่ง) แต่ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ไขกระดูกซึ่งถือว่าปกติพบได้เสมอเป็นที่น่าสังเกตว่าผู้ป่วยที่ขาดยีน (gene) เรติโน بلاสโตมาจะก่อให้เกิดการแบ่งเซลล์ผิดปกติของจอรับภาพ กรณีนี้คือขาดยีน แต่ในทางตรงกันข้ามในพวกที่มี trisomy 13 คือ มีโครโมโซมคู่ที่ 13 มากกว่าปกติ นั้น หมายถึง มียีนเรติโน بلاสโตมา มากกว่าปกติ ในพวกนี้จะไม่มียูกตา คือจะตาบอดแต่กำเนิดเนื่องจากยีนมีมาก ควบคุมการแบ่งตัวมากเกินไปจนไม่มียีนตา กลุ่มผู้ป่วยเหล่านี้จะพบว่าอายุอยู่ในช่วงแรกเกิดถึง 10 ปี เกี่ยวกับประวัติครอบครัวของผู้ป่วย พบว่ามีเพียง 2 ราย จาก 40 ราย ที่มีอาการเช่นเดียวกับผู้ป่วย คือรายที่ 3 และรายที่ 26 ส่วนบางรายที่มีประวัติครอบครัวเป็นมะเร็งที่ส่วนอื่นของร่างกายนั้น เป็นที่น่าสังเกตว่าลักษณะการแบ่งเซลล์อย่างผิดปกติของเซลล์ในร่างกายซึ่งกลายเป็นเนื้อร้ายหรือมะเร็งนั้น ปัจจุบันมีผู้สนใจศึกษาและสรุปได้ว่าเป็นลักษณะทางพันธุกรรม ผู้วิจัยเห็นว่าควรจะมีการเฝ้าระวังในรายที่มีประวัติครอบครัวเป็นมะเร็ง สำหรับงานวิจัยนี้พบรายที่ 5 และรายที่ 24 ที่มีบุคคลในครอบครัวเป็นมะเร็งที่ส่วนอื่นของร่างกาย

ปัจจัยที่ผู้วิจัยสันนิษฐานว่าน่าจะก่อให้เกิดความผิดปกติกับผู้ป่วยก็คือ ปัญหาสิ่งแวดล้อมทั้งภายนอกและภายในร่างกายของมารดาขณะตั้งครรภ์ และปัญหาการใช้ยาภายนอกในหญิงตั้งครรภ์ หรือปัญหาสารเคมีจากสิ่งแวดล้อมภายนอก น่าจะเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดความผิดปกติขึ้นกับทารกได้

ผู้ป่วยทั้ง 40 รายนี้ เมื่อผู้วิจัยเก็บตัวอย่างเลือดมาเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว วิเคราะห์และบันทึกผลโครโมโซมแล้ว ได้ศึกษาประวัติข้อมูลอื่น ๆ เพื่อขจัดปัญหาอคติกับผู้ป่วยที่มีประวัติครอบครัว หลังจากนั้นจึงขอความร่วมมือเก็บตัวอย่างเลือดจากบิดามารดาในรายที่บิดามารดาพาเด็กมาตรวจ เพื่อหาข้อมูลเพิ่มเติมทางเซลล์พันธุศาสตร์ นอกจากนี้ ในบางรายผู้วิจัยจะเก็บตัวอย่างไขกระดูกมาเพาะเลี้ยงเพื่อศึกษาโครโมโซมของผู้ป่วยจากเซลล์ไขกระดูกด้วย เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

การศึกษาโครโมโซมจากการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวนั้น เป็นเพียงส่วนหนึ่งของการตรวจหา

ความคิดปกติก้นพื้นฐาน ผู้วิจัยเห็นว่าน่าจะได้มีการทำวิจัยเสริมคือการเก็บเนื้อเยื่อจากส่วนอื่น ๆ เช่น เนื้อเยื่อจากเซลล์ลูกตาที่ถูกตัดออกไป นำมาเพาะเลี้ยงดูโครโมโซมจากเนื้อเยื่อส่วนนี้ แต่งานวิจัยนี้กลุ่มผู้ป่วยที่ทำวิจัยได้ผ่านขั้นตอนการผ่าตัดลูกตาไปแล้ว และการเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อจากห้องผ่าตัดทำได้ยาก นอกจากนี้ผู้ป่วยและผู้ปกครองมักไม่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่าง อาจเนื่องมาจากผู้ป่วยอายุยังน้อย แต่ต้องเจ็บป่วยด้วยโรคที่แม่หายแล้วความพิการก็ยังคงอยู่

ขนาดตัวอย่างเท่าที่เก็บได้นับว่ามากสำหรับประชากรที่เป็นเรติโน بلاสโตมา ซึ่งถือว่าเป็นโรคที่มีผู้ป่วยน้อย แต่เนื่องจากเป็นโรคที่ก่อให้เกิดความสูญเสียอันเนื่องมาจากผู้ป่วยทุพพลภาพ จึงน่าจะให้ความสนใจเพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับแนะนำครอบครัวผู้ป่วยต่อไป

ปัญหาที่สำคัญอีกประการหนึ่งของการทำวิจัยครั้งนี้คืออุปกรณ์การถ่ายภาพ งานวิจัยนี้เป็นงานที่ต้องดูแลบ่นโครโมโซม ซึ่งภาพถ่ายสามารถทำให้เห็นโครโมโซม ขนาดความยาว แถบบนแท่งโครโมโซมที่มีจำนวนมาก แต่ความสามารถของกล้องถ่ายภาพและกระบวนการอัดขยายทำได้ไม่ดีพอ จึงทำให้ผลงานไม่สมบูรณ์เท่าที่ควร

สรุปและขอเสนอแนะ

การศึกษาโครโมโซมของผู้ป่วยโรคเรติโน بلاสโตมาโดยวิธีเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวเพื่อดูความคิดปกติของแถบบนแท่งโครโมโซมคู่ที่ 13 ซึ่งในต่างประเทศได้ทำการศึกษาและสรุปไว้ว่ามีชิ้นส่วนขาดหายไปคือ แถบ q 14 นั้น ในงานวิจัยครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยเรติโน بلاสโตมาที่เข้ารับการตรวจรักษาที่แผนกผู้ป่วยนอก ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี ที่มาจากหลายจังหวัดของทุกภาคจึงนับเป็นตัวแทนการสุ่มตัวอย่างของประเทศไทยได้ ผลจากการวิจัยนี้พบความคิดปกติของโครโมโซมจากผู้ป่วย 40 ราย มี 2 ราย (5%) ที่มีความผิดปกติของโครโมโซม คือรายที่ 3 มีการขาดหายของชิ้นส่วน q 13, 14 ของโครโมโซมคู่ที่ 13 ซึ่งเป็นลักษณะปนกับเซลล์ที่มีโครโมโซมปกติ รายที่ 13 พบว่ามีแถบ q 14 สั้นกว่าในโครโมโซม 13 คู่เหมือน เมื่อคิดเป็นร้อยละของผู้ป่วย 40 ราย เทียบกับเด็กปกติ 30 ราย พบว่ามีผู้ป่วยเรติโน بلاสโตมาสำหรับงานวิจัยนี้มีโครโมโซมผิดปกติเกี่ยวกับแถบบนแท่งโครโมโซมร้อยละ 5 (2:40) เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของต่างประเทศพบว่ามีร้อยละ 6 (12:203) นอกจากนี้ ยังพบความคิดปกติในด้านจำนวนโครโมโซมของผู้ป่วยรายที่ 5 เป็น 2 เท่า และ 3 เท่าของจำนวนโครโมโซมปกติ ส่วนบิดาของผู้ป่วยรายที่ 24 ลักษณะแถบบนโครโมโซมไม่ค้อยปกติ ผู้วิจัยเห็นว่าสิ่งนี้น่าจะเป็นสาเหตุของความคิดปกติในผู้ป่วย ซึ่งผู้ป่วยรายนี้มีประวัติครอบครัวคือมีญาติฝ่ายบิดาเป็นเนื้องอกในสมอง จากการศึกษาพงศาวลีพอจะสรุปได้ว่าประวัติครอบครัวมีความสัมพันธ์กับโครโมโซมของผู้ป่วย จึงน่าจะใช้เป็นข้อมูลสำหรับให้คำแนะนำกับครอบครัวของผู้ป่วยให้เฝ้าระวังรักษาสุขภาพ เนื่องจากโอกาสที่จะมีความผิดปกติแล้วก่อให้เกิดโรค มีได้ง่ายกว่าครอบครัวที่ไม่มีประวัติครอบครัวเช่นนี้ ส่วนลักษณะพิเศษของรูปร่างโครโมโซมในผู้ป่วยบางรายอาจใช้ประโยชน์ในแง่พิสูจน์สายเลือดได้

ปัจจุบันมีความก้าวหน้าในการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลอย่างกว้างขวาง ผู้วิจัยเห็นว่าน่าจะได้

ศึกษาต่อเนื่องโดยเก็บตัวอย่างผู้ป่วยมาแยกสายพันธุกรรม โดยใช้เทคนิคการสร้างสาย DNA และศึกษาแถบยีน ๑๖ คู่โครโมโซมเพื่อเสริมข้อสรุประดับเซลล์พันธุศาสตร์ที่ได้ทำแล้วนี้ แต่ในขณะนี้ประเทศไทยยังไม่มีสารติดฉลากยีนเรติโนบลาสโตมาที่จะใช้ตรวจแถบยีนได้ จึงน่าจะได้ทำการศึกษาต่อไป

การศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงส่วนหนึ่งของการตรวจหาความผิดปกติของแถบบนแท่งโครโมโซมของผู้ป่วยเรติโนบลาสโตมา ซึ่งเก็บตัวอย่างเลือดมาศึกษาความผิดปกติในระดับเซลล์พันธุศาสตร์ ผู้วิจัยมีข้อเสนอสำหรับผู้สนใจศึกษาต่อเนื่องเกี่ยวกับเรื่องนี้ดังนี้คือ

1. ควรเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วยอย่างต่อเนื่อง เป็นระยะเวลาอย่างน้อยเป็น 3-5 ปี เพื่อรวบรวมเป็นข้อมูลซึ่งมีขนาดประชากรหรือขนาดของตัวอย่างที่ใหญ่จนอาจใช้เป็นตัวแทนประชากรไทยทั้งประเทศได้ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการให้คำปรึกษาทางพันธุกรรมกับครอบครัวผู้ป่วยอื่น ๆ ต่อไป
2. เทคนิคที่ใช้ตรวจวิเคราะห์โครโมโซมควรทำควบคู่กันทั้งเทคนิคสมัยใหม่และเทคนิคพื้นฐาน เพื่อสนับสนุนซึ่งกันและกัน
3. ส่งเสริมความรู้ความเข้าใจกับประชาชนที่มีปัญหาทางพันธุกรรมให้เข้าใจและให้ความร่วมมือในการศึกษาวิจัย เพื่อประโยชน์ของครอบครัวและประโยชน์สำหรับงานวิจัย

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ รศ.พรณี ชีโนรักษ์ รศ.นาฏฉลวย หลายชูไทย และ รศ.ดร.กันยรัตน์ ไชยสุดา ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดการวิจัยนี้ และขอขอบคุณ ศ.นพ.วิทยา เมฆานันท์ ศ.พญ.พงษ์จันทร์ หัตถิรัตน์ ศ.พญ.สภาวะรัตน์ คุณาวิศรุต รศ.พญ.อำไพวรรณ จวนสัมฤทธิ์ และเจ้าหน้าที่หน่วยโลหิตวิทยา ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี ที่ได้กรุณาให้ใช้อุปกรณ์ในการทำวิจัยและให้ความร่วมมือเกี่ยวกับการเก็บตัวอย่างการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. พงษ์จันทร์ หัตถิรัตน์, ภัทรพร อิศรางกูร ณ อยุธยาและพิมพ์ เชื้อวศิลป์. โลหิตวิทยาในเด็ก. โครงการตำรา-ศิริราช, คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล, มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ, 2530, 304-310.
2. ไพรัช เทพมงคล. โรคกระเร็งสำหรับแพทย์เวชปฏิบัติทั่วไปและนักศึกษาแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 1 คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล, มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ, 2524, 193-200.
3. สภาวะรัตน์ คุณาวิศรุต บทความพื้นฐานวิชาการ Retinoblastoma. *Thai J. Ophthalmol.*, 1990, 4 (1), 41-57.
4. Emslie, J., Davison, E.V. and Roberts, D.F. High Resolution Chromosome Results in Retinoblastoma Families. *Clin. Genet.*, 1980, 80, 117-121.

ตารางที่ 1. แสดง เพศ อายุ อาการ ประวัติครอบครัวของผู้ป่วย

ลำดับที่	เพศ	อายุ	อาการ	ตาที่มี อาการ	ประวัติครอบครัว
1.	หญิง	3 ปี 1 เดือน	ตาโปนโตมา 1 ปี	ซ้าย	ไม่มี
2.	หญิง	8 ปี 4 เดือน	ตามองไม่ชัด ปวดตา	ขวา	ไม่มี
3.	ชาย	8 ปี 6 เดือน	ตาแดงทั้ง 2 ข้าง	2 ข้าง	มี อาการเช่น- เดียวกับผู้ป่วย
4.	หญิง	8 เดือน	ตาขาว อักเสบแดง	2 ข้าง	ไม่มี
5.	ชาย	1 ปี	ตามีจุดขาวที่ตาดำ	ซ้าย	ย่าผู้ป่วยเป็น มะเร็งลำไส้
6.	ชาย	3 เดือน	ตาซ้ายขาวเมื่ออายุ 1 เดือน	2 ข้าง	ไม่มี
7.	ชาย	3 ปี	ตาขาวาว 2-3 วัน ก่อนมาพบแพทย์	2 ข้าง	ไม่มี
8.	หญิง	7 ปี	ตาขาวตั้งแต่อายุ 10 เดือน มีอาการ ตาเขด้วย	ขวา	ไม่มี
9.	ชาย	1 ปี	ตาขาวเมื่ออายุ 4 เดือน	ซ้าย	ไม่มี
10.	หญิง	1 ปี 8 เดือน	ตาขาว	ขวา	ไม่มี
11.	หญิง	1 ปี 4 เดือน	ตาขาวมา 4 เดือน ก่อนมาพบแพทย์	ซ้าย	ไม่มี
12.	ชาย	8 ปี	ตาขาว สังเกตเห็นจุดขาวในตา	ซ้าย	ไม่มี
13.	ชาย	8 ปี	ตาขาว เมื่ออายุ 4 ปี	ขวา	ไม่มี
14.	ชาย	1 ปี	ตาขาว สังเกตเห็น เวลากลางคืน	ขวา	ไม่มี
15.	ชาย	5 ปี	ตาขาวมา 1 สัปดาห์ ก่อนมาพบแพทย์	ขวา	ไม่มี
16.	หญิง	3 ปี	ตาขาวมาตั้งแต่เกิด	ขวา	ไม่มี
17.	หญิง	6 ปี	ตาแดง มีน้ำตาไหล ตาขาวมา 4 เดือน ก่อนมาพบแพทย์	ซ้าย	ไม่มี

ตารางที่ 1. (ต่อ)

ลำดับที่	เพศ	อายุ	อาการ	ตาที่มีอาการ	ประวัติครอบครัว
18.	ชาย	2 ปี	ตาซ้ายวาว แล้วต่อมา ตาขวามีอาการเหมือน กัน เป็นมา 4 เดือน ก่อนมาพบแพทย์	2 ข้าง	ไม่มี
19.	หญิง	8 ปี	ตาขาว ในตาดำมีแว เป็นมา 1 เดือน ก่อนมาพบแพทย์	ซ้าย	ไม่มี
20.	หญิง	1 ปี	ตาขาว	ซ้าย	ไม่มี
21.	หญิง	4 ปี	ตามองเห็นไม่ชัด	ซ้าย	ไม่มี
22.	หญิง	1 ปี 9 เดือน	มีก้อนขาวที่ตา สังเกตเห็น เมื่ออายุ 10 เดือน ตาซ้ายวาว	ซ้าย	ไม่มี
23.	ชาย	1 ปี 3 เดือน	ตาขาว	ซ้าย	ไม่มี
24.	ชาย	1 ปี 9 เดือน	ตาซ้ายวาว สังเกตเห็น เมื่ออายุ 2 เดือน เห็นหลอดเลือดในตาดำ ต่อมาพบในตาข้างขวาด้วย มีตาปูด คลำพบก้อน เนื้องอกข้างหลังหูหลายก้อน	2 ข้าง	มีญาติบิดาเป็น เนื้องอกใน สมอง
25.	ชาย	10 เดือน	ตาอักเสบ บวม แดง	ขวา	ไม่มี
26.	ชาย	43 วัน	ตาขุ่นมาตั้งแต่เกิด มีขนาดโตกว่าตา ข้างขวา	ซ้าย	น้ำชาย 2 คน เป็นโรคตา ทำให้ตาข้าง ขวาบอดตั้งแต่ อายุยังน้อย
27.	ชาย	10 ปี	ตาอักเสบ ตาขาว	ขวา	ไม่มี
28.	หญิง	10 ปี	ตาบวม ตาขาว	ขวา	ไม่มี
29.	หญิง	2 ปี	ตาซ้ายโปนมา 5 เดือน และเริ่มลามมาข้างขวา	2 ข้าง*	ไม่มี
30.	ชาย	3 ปี	ตาขาว ปวดตา	ซ้าย	ไม่มี

ตารางที่ 1. (ต่อ)

ลำดับที่	เพศ	อายุ	อาการ	ตาที่มี อาการ	ประวัติครอบครัว
31.	ชาย	9 เดือน	ตาซ้ายวาวเมื่ออายุ 5 เดือน ตาขวาแดง	2 ข้าง*	ไม่มี
32.	ชาย	9 เดือน	ตาขวาแดง ก่อนพบ แพทย์ 4 วัน สังเกต เห็นดาววาว จากรูปถ่าย เมื่ออายุ 4 เดือน	2 ข้าง*	ไม่มี
33.	ชาย	2 ปี	ดาววาวทั้ง 2 ข้าง เมื่ออายุ 3 เดือน พัฒนาการช้า	2 ข้าง*	ไม่มี
34.	ชาย	1 ปี 3 เดือน	ดาววาว	ซ้าย	-
35.	หญิง	4 ปี	ตาขวาโปน ผ่าตัดตาขวา ออก ค่อมมองไม่เห็น	2 ข้าง*	ไม่มี
36.	หญิง	1 ปี	ดาววาว ก่อนมาพบแพทย์ 1 เดือน	ซ้าย	ไม่มี
37.	หญิง	1 ปี 4 เดือน	ตาซ้ายวาวก่อนมาพบแพทย์ ต่อมาตาขวาแดง มีน้ำตามาก ตาขวมปิด	2 ข้าง*	ไม่มี
38.	ชาย	2 ปี	ดาววาวเมื่ออายุ 7-8 เดือน	ขวา	ไม่มี
39.	หญิง	1 ปี 8 เดือน	ตาขวาโปนมา 3 วัน ก่อนมาพบแพทย์	2 ข้าง*	ไม่มี
40.	ชาย	1 ปี	ตาซ้ายวาว เมื่ออายุ 1 เดือน สังเกตเห็นดาววาว จากรูปถ่ายเมื่ออายุ 4 เดือน	ซ้าย	ไม่มี
สรุป	รวม 40 ราย เป็นผู้ป่วยเรตินอบลาสโตมาที่เป็นข้างเดียว 27 ราย เป็น 2 ข้าง 13 ราย เพศหญิง 18 ราย เพศชาย 22 ราย อายุเฉลี่ย 3 ปี				

*เป็น 2 ข้างเนื่องจากขาดการดูแลรักษาตั้งแต่เริ่มมีอาการ ทั้งไว้จนลูกกลามมายังตาดีกข้างหนึ่ง

ตารางที่ 2. แสดงผลการตรวจวิเคราะห์โครโมโซมของผู้ป่วย 40 ราย

ลำดับที่	ผลการวิเคราะห์โครโมโซม	หมายเหตุ
1	46,xx	
2	46,xx	
3	46,xy/46,xy,del(13 q 33-34)	โครโมโซมตัวที่ 7 ที่มีลักษณะผิดปกติ
4	46,xx	
5	46,xy/92,xxyy/138xxxxyy พบ diploid และ triploid อย่างละเซลล์ใน 25 เซลล์	ได้ทำการตรวจโครโมโซม บิดา-มารดา ของผู้ป่วย
6	46,xy	
7	46,xy	
8	46,xx	
9	46,xy	
10	46,xx	
11	46,xx	
12	46,xy	
13	46,xy(46,xy,del(13)(q14)	
14	46,xy	
15	46,xy	
16	46,xx	
17	46,xx	
18	46,xy	ได้เซลล์ไขกระดูกมาเพาะเลี้ยง
19	46,xx	
20	46,xx	
21	46,xx	
22	46,xx	
23	46,xy	
24	46,xy ในบิดาพบ del(13)(q13) ที่ระยะ Prometaphase	ได้ทำการตรวจโครโมโซม บิดา-มารดา ผู้ป่วย
25	46,xy	
26	46,xy	
27	46,xy	

ตารางที่ ๒. (ต่อ)

ลำดับที่	ผลการวิเคราะห์โครโมโซม	หมายเหตุ
28	46,xx	ได้เซลล์ไขกระดูกมาเพาะเลี้ยง
29	46,xx	
30	46,xy	
31	46,xy	
32	46,xy	
33	46,xy	
34	46,xy	
35	46,xx	
36	46,xy	
37	46,xx	
38	46,xy	
39	46,xx	
40	46,xy	

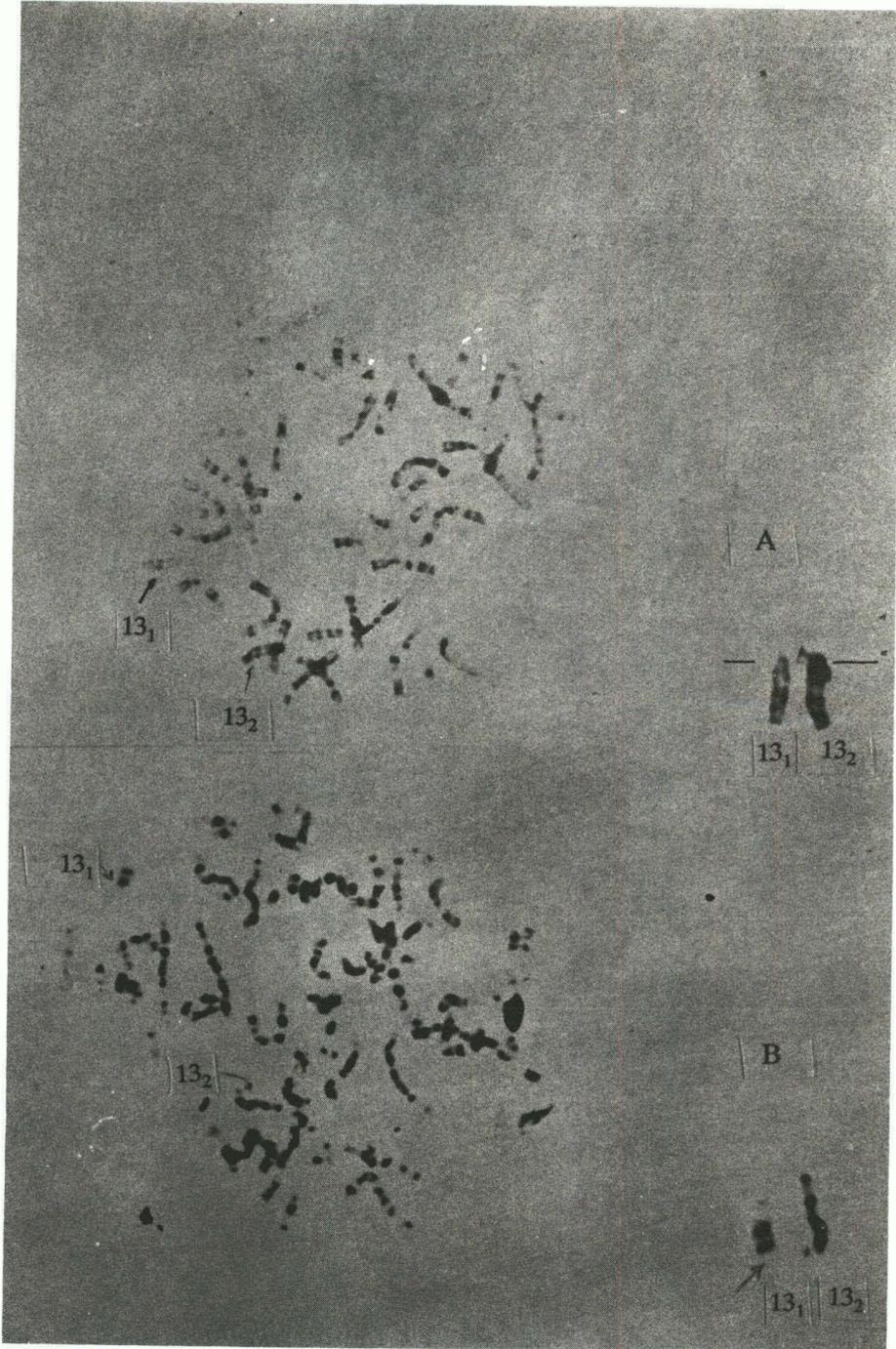
ตารางที่ 8. แสดงผลการศึกษาความหลากหลายของรูปร่างโครโมโซมคู่ที่ 18 ศึกษาสัดส่วนของแขนข้างยาว (q) ต่อแขนข้างสั้น (p)

ผู้ป่วยรายที่	p/q	q/p	ผู้ป่วยรายที่	p/q	q/p
1	.1/1	7	21	.25/1.2	4.8
2	.15/9	6	22	.15/1.2	8
3	.15/1.3	8.6	23	.15/1.15	7.6
4	.1/1.2	12	24	.15/1.2	8
5	.1/1.6	16	25	.15/1.2	8
6	.1/1.5	15	26	.05/1.0	20
7	.2/1.15	5.75	27	.05/9	18
8	.1/1.1	11	28	.05/8.5	17
9	.1/1.1	11	29	.15/1.1	7.3
10	.1/9	9	30	.1/1.0	10
11	.1/1.0	10	31	.1/1.0	10
12	.1/1.0	10	32	.05/1.0	20
13	.1/1.4	14	33	.15/9	6
14	.1/1.3	13	34	.05/9	18
15	.1/1.0	10	35	.05/6	12
16	.1/9	9	36	.05/6	12
17	.1/8	8	37	.1/9	9
18	.1/9	9	38	.15/8	5.3
19	.1/1.0	10	39	.05/5.5	11
20	.15/1.0	6.6	40	.05/6	12

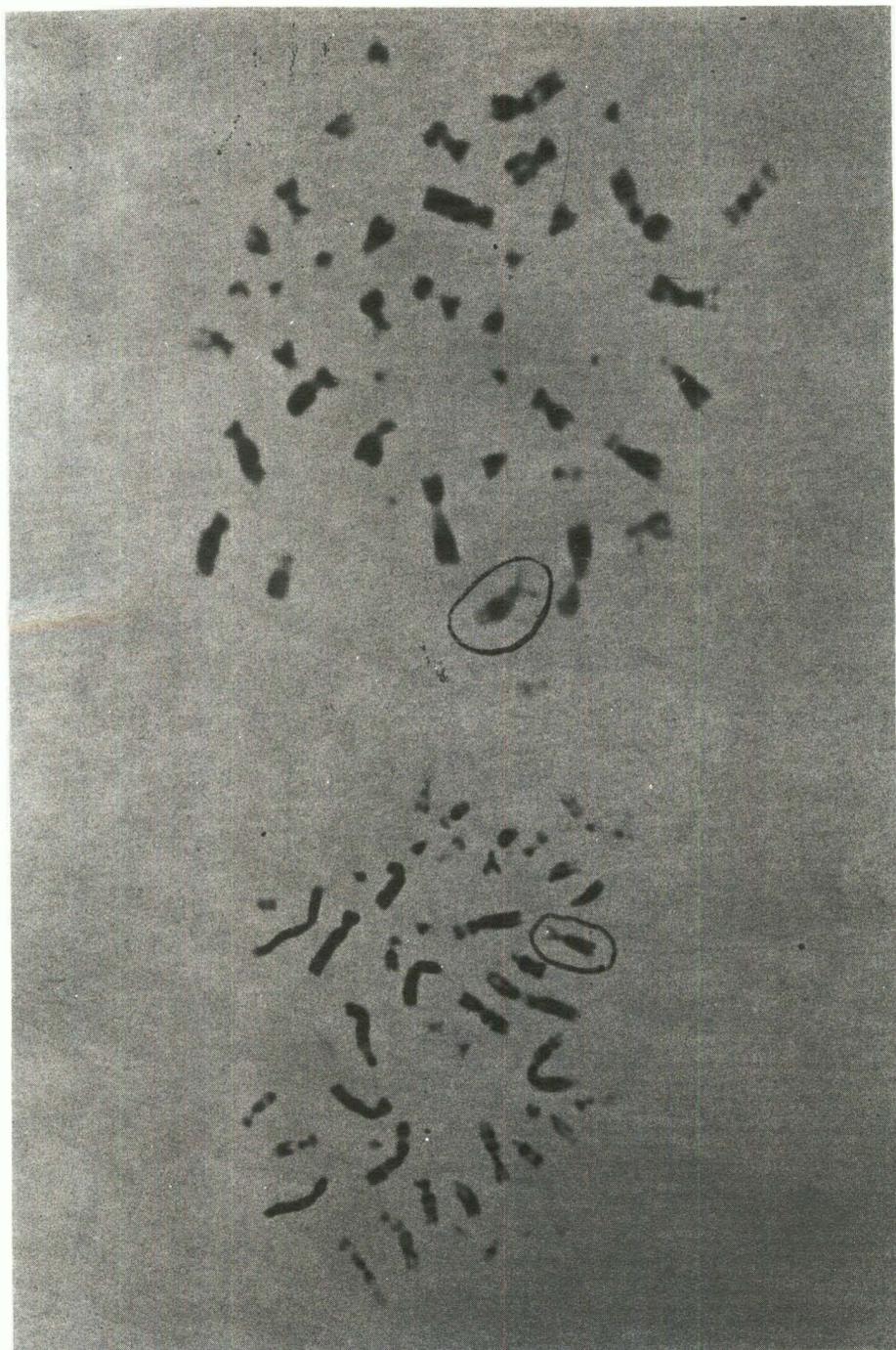
ตารางที่ 4. แสดงผลการศึกษาคความหลากหลายของรูปร่างโครโมโซมคู่ที่ 18 ศึกษาสัดส่วนของแขนข้างยาว (q) ต่อแขนข้างสั้น (p)

เด็กปกติรายที่	p/q	q/p	เด็กปกติรายที่	p/q	q/p
1	.2/9	4.5	16	.3/1.3	4.3
2	.3/9	3.0	17	.2/1.2	6.0
3	.15/65	4.3	18	.1/1.1	11
4	.15/7	4.6	19	.1/1.1	11
5	.2/1.1	5.6	20	.1/.95	9.5
6	.15/1.0	6.6	21	.1/1.1	11
7	.1/1.0	10	22	.15/1.15	7.6
8	.15/1.0	6.6	23	.1/1.1	11
9	.1/1.2	12	24	.05/1.1	22
10	.1/1.2	12	25	.05/1.2	24
11	.1/1.15	11.5	26	.05/.8	16
12	.2/1.1	5.5	27	.05/.8	16
13	.15/1.1	7.3	28	.2/1.7	8.5
14	.1/1.3	13	29	.1/1.5	15
15	.1/1.2	12	30	.1/1.25	12.5

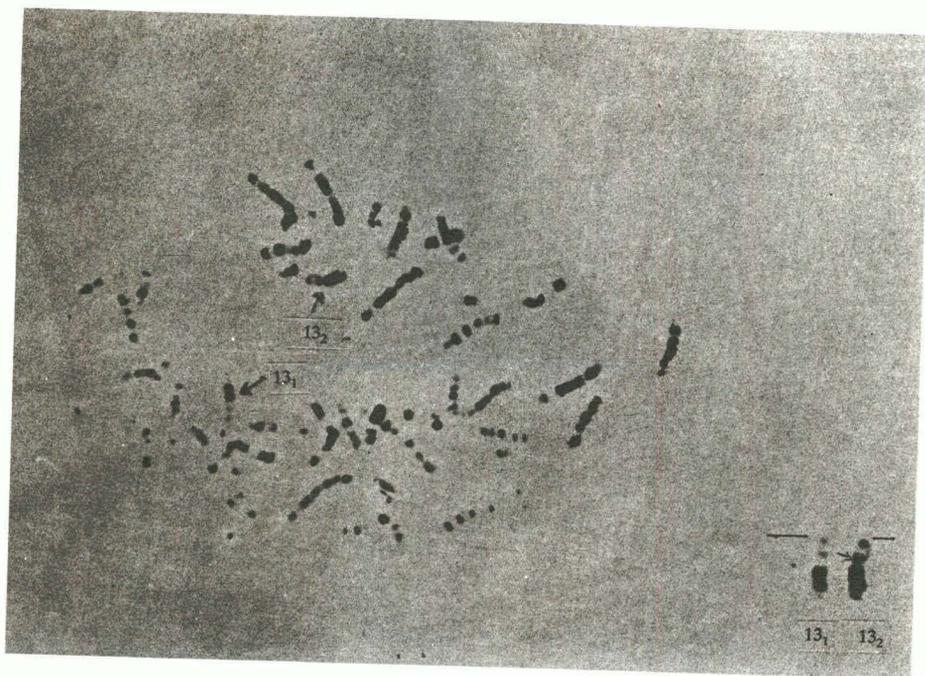
จากการศึกษาคความหลากหลายทางรูปร่างของโครโมโซมคู่ที่ 13 จากผู้ป่วยโรคเรติโนบลาสโตมา จำนวน 40 ราย เปรียบเทียบกับเด็กปกติ (control) จำนวน 30 ราย โดยทดสอบแบบไคสแควร์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ



รูปที่ 1. แสดงความผิดปกติของโครโมโซมของผู้ป่วยรายที่ 8 ในภาพ A เป็นเซลล์ซึ่งมีโครโมโซม 13 ปกติ ซึ่งพบปนอยู่กับเซลล์ที่มีโครโมโซม 13 ผิดปกติ (ภาพ B) คือมีชิ้นแถบ 13q 33-34 ขาดหายไป (ศรีชัย) กำลังขยาย 1,000 เท่า



รูปที่ 2. แสดงลักษณะพิเศษของโครโมโซมของผู้ป่วยรายที่ 3 คือมีโครโมโซมที่ 7 (ในวงกลม) มีแขนข้างสั้น (p) แยกออกจากกัน ซึ่งไม่เคยพบในโครโมโซมอื่น ๆ กำลังขยาย 2,000 เท่า และ 1,000 เท่า



รูปที่ 8. แสดงโครโมโซมของผู้ป่วยรายที่ 18 พบว่ามีแถบ 13q 14 หายไป (สตรี) จะสังเกตว่าเมื่อเทียบกับโครโมโซม 13₁ ขนาดแถบจะต่างกัน กำลังขยาย 2,000 เท่า