

6-1-2001

CHROMOSOMAL STUDIES ON A BULL WITH A CONGENITALLY ABNORMAL URETHRA

Duangsmorn Suwattana

Weerapong Koykul

Vivat Chavananikul

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm>



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

Recommended Citation

Suwattana, Duangsmorn; Koykul, Weerapong; and Chavananikul, Vivat (2001) "CHROMOSOMAL STUDIES ON A BULL WITH A CONGENITALLY ABNORMAL URETHRA," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 31: Iss. 2, Article 5.

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol31/iss2/5>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

การศึกษาโครโมโซมในโคที่มีท่อปัสสาวะผิดปกติแต่กำเนิด

ดวงสมร สุวัฑฒน* วีระพงษ์ โกยกุล** วิวัฒน์ ชวนะนิกุล*

Abstract

Duangsmorn Suwattana* Weerapong Koykul** Vivat Chavananikul*

CHROMOSOMAL STUDIES ON A BULL WITH A CONGENITALLY ABNORMAL URETHRA

A six-year old bull (*Bos indicus*) was found to have hypospadias (congenital rupture of the ventral aspect of the penile urethra). The testes were a normal size and the penis slightly hypoplastic. Karyotype obtained from the conventional staining of chromosomes and GTG- and RBA- bandings revealed a normal make-up, of 60 XY male chromosomes. The levels of serum testosterone, estradiol and progesterone were all within the normal range. Based on the phenotypic abnormality and the karyotypic findings, this bull can be classified as a male, pseudohermaphrodite.

Keywords : urethra, hypospadias, male pseudohermaphrodite, bull

*Department of Animal Husbandry **Department of Veterinary Anatomy,
Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

*ภาควิชาสัตวบาล **ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

บทคัดย่อ

ดวงสมร สุวิวัฒน์* วีระพงศ์ โกยกุล** วิวัฒน์ ชวนะนิกุล*

การศึกษาโครโมโซมในโคที่มีท่อปัสสาวะผิดปกติแต่กำเนิด

โคเพศผู้พันธุ์ผสมบราห์มันอายุ 6 ปี พบความผิดปกติของท่อปัสสาวะแต่กำเนิด ทำให้ปัสสาวะไหลออกทางด้านล่างของท่อปัสสาวะ จากการตรวจพบว่าความผิดปกติของท่อปัสสาวะเป็นชนิด hypospadias และถึงคมีขนาดเล็ก และสั้นกว่าปกติ (penile hypoplasia) การตรวจวิเคราะห์โครโมโซมด้วยวิธีธรรมดา และการย้อมสีพิเศษ (GTG - และ RBA - banding) พบว่าโครโมโซมเป็นแบบ 60; XY เช่นโคเพศผู้ปกติทั่วไป ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน เอสตราไดออล และโปรเจสเทอโรนอยู่ในระดับปกติ จากลักษณะทางกายวิภาคและพันธุกรรม ทำให้สามารถจำแนกโคตัวนี้ได้ว่าอยู่ในภาวะกะเทยเทียมเพศผู้ (male pseudohermaphroditism)

คำสำคัญ: ท่อปัสสาวะ ไฮโปสพาเดีย ภาวะกะเทยเทียมเพศผู้ โคเพศผู้

บทนำ

ความผิดปกติแต่กำเนิดของท่อปัสสาวะ (urethra) พบได้ในสัตว์หลายชนิดและในมนุษย์ ท่อปัสสาวะที่เจริญผิดปกติเกิดได้ในทั้งสองเพศ และอาจเป็นส่วนหนึ่งของรอยโรคที่เกี่ยวข้องกับภาวะกะเทย (hermaphroditism) ในมนุษย์มีรายงานความผิดปกติของท่อปัสสาวะมากกว่า 150 ราย โดยพบในเพศชายมากกว่าเพศหญิง (Wagner et al., 1996) ความผิดปกติของท่อปัสสาวะที่พบร่วมกับรอยโรคอื่นๆ ของระบบสืบพันธุ์ มีรายงานในเด็กแรกคลอด มักประกอบด้วยลักษณะเด่นคือ การมีท่อปัสสาวะ 2 อัน (urethral duplication) (Ciftci et al., 1995; Goh et al., 1995; Walther and Woodard, 1996; Elmassalme et al., 1997)

ในสัตว์ความผิดปกติของท่อปัสสาวะมักเกี่ยวข้องกับความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์เสมอ ภาวะกะเทย คือ มีลักษณะภายนอกของอวัยวะเพศ (external genitalia) และ/หรือต่อมเพศ (gonad) เป็นของทั้งสอง

เพศ และทำให้ท่อปัสสาวะมีความผิดปกติไปด้วย ลักษณะดังกล่าวพบได้ในสัตว์เลี้ยงทุกชนิดและพบมากในแพะ (Basrur and Yusoff, 1997; Otiang'a-Owiti et al., 1997) และสุกร (Pailhoux et al., 1994) การมีรอยแยกของท่อปัสสาวะทางด้านล่างที่เรียกว่า hypospadias เป็นลักษณะสำคัญในสัตว์ที่มีภาวะกะเทย (Basrur, 1999)

มีรายงานว่าพันธุกรรมมีอิทธิพลสำคัญต่อการเจริญของท่อปัสสาวะและอวัยวะของระบบสืบพันธุ์ ความผิดปกติที่ระดับยีนและโครโมโซมต่างมีผลทำให้เกิดความผิดปกติของอวัยวะเหล่านี้ในแพะพบว่ายีนที่ควบคุมการไม่มีเขา (polled trait) มีส่วนเกี่ยวข้องกับภาวะกะเทย (Basrur and Yusoff, 1997) ส่วนในสุกรความผิดปกติในกระบวนการอันซิมชันของการทำงานของยีน SRY (Sex-determination Region on the Y chromosome) และยีนอื่นๆ (autosomal genes) ต่างมีผลให้เกิดภาวะกะเทยได้ (Pailhoux et al., 1994; Hunter, 1996) โคที่มีลักษณะของ hypospadias พบได้ไม่บ่อยเท่ากับแพะ

และสุกร ในรายงานเหล่านี้มักพบภาวะความผิดปกติของท่อปัสสาวะร่วมกับไส้เลื่อนที่สะดือ (umbilical hernia) (Singh et al., 1988) และร่วมกับภาวะลิบลึกของลิ้งค์ (Rieck, 1972). Sysa et al. (1997) พบว่าวัวที่มี hypospadias มีความผิดปกติของการเจริญของอวัยวะ ลิ้งค์ และเป็นหมัน จากการตรวจวิเคราะห์คาริโอไทป์พบว่าปกติ นอกจากนี้ยังมีรายงานความผิดปกติแต่กำเนิดของท่อปัสสาวะชนิด urethral duplication ในโคเพศเมีย และการศึกษาลักษณะของโครโมโซมพบว่ามีการ balanced translocation ที่ส่วนปลายของโครโมโซมร่างกาย (autosomes) ขนาดเล็ก 2 คู่ แต่ไม่พบลักษณะผิดปกติของโครโมโซมเพศ (Braun et al., 2000)

ในประเทศไทยความผิดปกติแต่กำเนิดในสัตว์ชนิดต่างๆ พบได้น้อยมาก และมักไม่พบในสัตว์ที่โตเต็มที่แล้ว เนื่องจากสัตว์เหล่านั้นมักตายตั้งแต่แรกคลอดหรือถูกกำจัดไปก่อนที่จะได้มีผู้ศึกษาความผิดปกติหรือทำการตรวจวิเคราะห์ทางพันธุกรรม งานวิจัยนี้ได้รายงานลักษณะความผิดปกติของท่อปัสสาวะในโคเพศผู้และผลการศึกษาโครโมโซมรวมถึงระดับฮอริโมนเพศในกระแสเลือด เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาระดับอนุพันธุศาสตร์ของสัตว์ที่พบความผิดปกติในลักษณะเดียวกันนี้ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

1. โคและการเก็บตัวอย่างเลือด โคเพศผู้พันธุ์ผสมบราห์มัน (*Bos indicus*) อายุ 6 ปี อยู่ที่ ตำบลตะคร้อ อำเภอนาทม จังหวัดกาญจนบุรี ทำการตรวจลักษณะภายนอกของโค และได้ทำการเก็บตัวอย่างเลือด 3 ครั้ง จากเส้นเลือด external jugular vein และเก็บเลือดในหลอดเก็บเลือดสุญญากาศ (Vacutainer®, Becton Dickinson Comp., U.S.A.) ชนิดเคลือบด้วยสาร heparin สำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวเพื่อ

การตรวจวิเคราะห์โครโมโซม และเก็บซีรัมเพื่อตรวจระดับฮอริโมนเพศ

2. การเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว (lymphocyte culture) นำตัวอย่างเลือดมาปั่นที่ 1,200 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดเอาส่วนเม็ดเลือดขาว (buffy coat) ประมาณ 0.5-1 มล. และหยดลงในขวดเลี้ยงเซลล์ที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์ ซึ่งประกอบด้วย RPMI-1640 8-10 มล. fetal calf serum (FCS) 1.5 มล., L-glutamine 100 ไมโครลิตร และสารกระตุ้นการแบ่งตัว (Pokeweed) 100-120 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำไปหมอบที่อุณหภูมิ 37°C. 5.0% CO₂ และความชื้น 95% เป็นเวลา 72 ชม. โดยเขย่าขวดเลี้ยงเซลล์เพื่อให้เซลล์ กระจายตัว ทุก 12 ชม. ก่อนทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ (cellular harvesting) 45 นาที ทำการเติมสารละลาย colchicine 200 ไมโครลิตรในอาหารเลี้ยงเซลล์เพื่อหยุดการแบ่งตัวของเซลล์ที่ระยะเมตาเฟส หลังจากนั้นเติมสารละลายโปตัสเซียมคลอไรด์ (0.075M KCl) เพื่อให้เซลล์พองตัว (swollen)

ทำการตรึงเซลล์ด้วยสารละลาย fixative ที่มีส่วนผสมของ methanol: glacial acetic acid = 3 : 1 โดยใช้สารละลาย fixative ดังกล่าว ซ้ำระล้างเซลล์หลายๆ ครั้ง จนกระทั่งเศษเหลือ (debris) หมดไปจากหลอดทดลอง หยดสารละลาย fixative ที่มีเซลล์เม็ดเลือดขาวลงบนสไลด์กระจก เก็บในภาชนะปิดที่บรรจุสารดูดความชื้นที่อุณหภูมิ -20°C. จนกว่าจะดำเนินการขั้นตอนต่อไป (ข้อ 3.1 และ 3.2) เซลล์เพาะเลี้ยงส่วนหนึ่งเติมสารละลาย 0.5% 5-bromo-2 deoxy-Uridine (BrdU) 200 ไมโครลิตร ก่อนเก็บ เก็บเซลล์เป็นเวลา 6 ชม. เพื่อใช้ในการย้อมสีพิเศษด้วยวิธี RBA-banding (ข้อ 3.3)

3. การจัดทำคาริโอไทป์โดยการย้อมโครโมโซมด้วยสีธรรมชาติ และการย้อมสีพิเศษ

3.1 การย้อมสี Giemsa นำสไลด์ที่มีเซลล์เม็ดเลือดขาว จากขั้นตอนที่ 2 จุ่มลงในสารละลาย

5.0% Giemsa ที่ละลายอยู่ใน Sorensen buffer, pH 6.8-7.0 นาน 12 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น นำไปตรวจหาโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงสว่าง นับจำนวนโครโมโซมในแต่ละเซลล์อย่างน้อย 100-150 เซลล์ จดบันทึกจำนวนโครโมโซมที่แยกได้ พร้อมทั้งถ่ายรูปชุดโครโมโซมที่มีความยาวเหมาะสมและกระจายตัวดีจำนวน 30 เซลล์ เพื่อนำมาจัดทำคาริโอไทป์

3.2 การย้อมสีพิเศษชนิด Trypsin G- banding (GTG-banding) คัดแปลงจากวิธีของ Seabright (1971) จุ่มสไลด์ที่มีเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เตรียมได้จากข้อ 2 ลงในสารละลาย 0.025% trypsin-EDTA เป็นเวลา 3 นาที และจุ่มลงในสารละลาย 10% FCS นาน 4 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด หลังจากนั้นจุ่มสไลด์ลงใน 50% methanol 3 นาที และย้อมโครโมโซมด้วยสารละลาย 2.0-2.5% Giemsa เป็นเวลา 1 ชม. ล้างด้วยน้ำกลั่น นำสไลด์ที่ได้ไปตรวจหาโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ถ่ายรูปชุดโครโมโซมที่มีความยาวเหมาะสมและกระจายตัวดีจำนวน 15-30 เซลล์ เพื่อนำมาจัดคู่โครโมโซมและทำคาริโอไทป์

3.3 การย้อมสีพิเศษชนิด RBA-banding คัดแปลงจากวิธีของ Dutrillaux et al. (1973) จุ่มสไลด์ที่มีเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เตรียมได้จากข้อ 2 (BrdU treatment) ในสารละลาย 0.05% Acridine Orange เป็นเวลา 3-10 นาที และล้างด้วยน้ำสะอาด นำสไลด์ที่ได้ไปตรวจหาโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ ถ่ายรูปชุดโครโมโซมที่มีความยาวเหมาะสมและกระจายตัวดี จำนวน 15-30 เซลล์ เพื่อนำมาจัดคู่โครโมโซมและทำคาริโอไทป์

4. การวิเคราะห์ลักษณะโครโมโซม วิเคราะห์ลักษณะของโครโมโซมในด้านรูปร่าง (morphology) และรูปแบบการติดสีเฉพาะ (banding patterns) เพื่อตรวจหาโครโมโซมที่มีความผิดปกติ โดยเปรียบเทียบ

กับของโคปกติ (*Bos indicus*) (Halnan et al., 1981)

5. การตรวจวัดระดับฮอร์โมนเพศ นำซีรัมไปตรวจวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนเพศ 3 ชนิด คือ estradiol, progesterone และ testosterone โดยวิธี chemiluminescent assay (CMA) ซึ่งมีหลักการในการใช้แอนติบอดีต่อฮอร์โมนดังกล่าวโดยที่แอนติบอดีเหล่านี้ถูกติดด้วยสารเรืองแสง (fluorescent materials) (Lee et al., 1990)

ผล

ลักษณะภายนอก โคที่ทำการศึกษาเป็นโคเพศผู้พันธุ์ผสมบราห์มัน (*Bos indicus*) อายุ 6 ปี ลักษณะภายนอกเป็นโคเพศผู้ที่มีเขา โหนก และเหนียงคอชัดเจน (รูปที่ 1) การเจริญเติบโตของลูกอ้วนและกล่อมเนื้อสมบูรณ์ กินอาหารและขับถ่ายปกติ ความผิดปกติอยู่ที่การถ่ายปัสสาวะที่น้ำปัสสาวะไม่ออกทางรูเปิดของปลอกหุ้มลึงค์คั่งเช่นโคปกติ ในโคตัวนี้มีรอยแยกบริเวณฝีเย็บ (perineum) (รูปที่ 2) และยาวต่อไปยังส่วนล่างของลึงค์ และปลอกหุ้มลึงค์ (รูปที่ 3) ทำให้ปัสสาวะส่วนมากไหลออกทางรอยแยก และส่วนน้อยไหลออกจากท่อปัสสาวะที่ปลายลึงค์ (รูปที่ 4)

การตรวจวิเคราะห์คาริโอไทป์ คาร์ิโอไทป์ของชุดโครโมโซมของโคที่ทำการศึกษาโดยการย้อมสี Giemsa พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 30 คู่ โครโมโซมคู่ที่ 1-29 เป็นโครโมโซมร่างกาย (autosomal chromosomes) ที่มีลักษณะเป็นแบบ acrocentric chromosomes คือ มีแขนของโครโมโซมข้างเดียว ส่วนโครโมโซมเพศ (sex chromosomes) มีลักษณะที่บ่งถึงสัตว์เพศผู้อย่างชัดเจน คือ มีโครโมโซมเอ็กซ์ (X) และโครโมโซมวาย (Y) โครโมโซมเอ็กซ์มีลักษณะเป็น metacentric chromosome คือ มีแขนสองข้างและแขนด้านที่อยู่เหนือ centromere สั้นกว่าด้านตรงข้าม ส่วนโครโมโซมวายมีลักษณะเป็น acrocentric chromosome ที่มีขนาดเล็กมาก ไม่พบความผิดปกติในรูปร่างลักษณะและจำนวนและมีความ



รูปที่ 1 ลักษณะภายนอกของโคที่ทำการศึกษา สังเกตการเจริญของเขา โหนก เหนียงคอ และกล้ามเนื้อของร่างกายที่สมบูรณ์



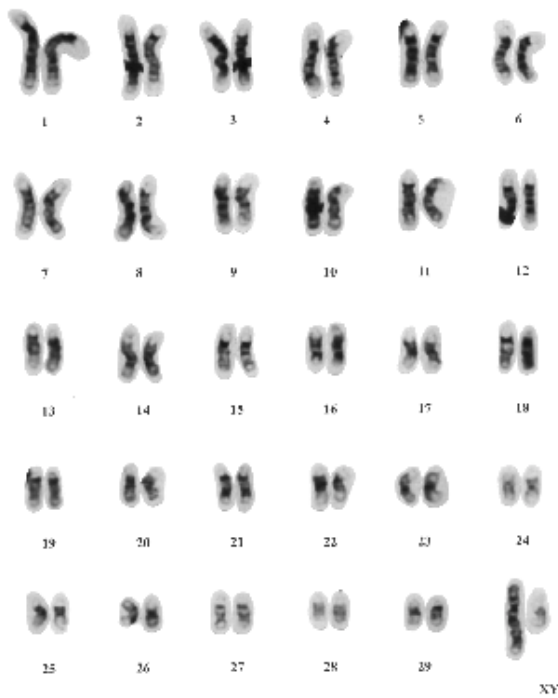
รูปที่ 2 ภาพมองจากด้านหลังแสดงถุงอัณฑะ และรอยแยกบริเวณฝีเย็บ (perineum) (ลูกศรชี้) สังเกตลูกอัณฑะขนาดปกติ



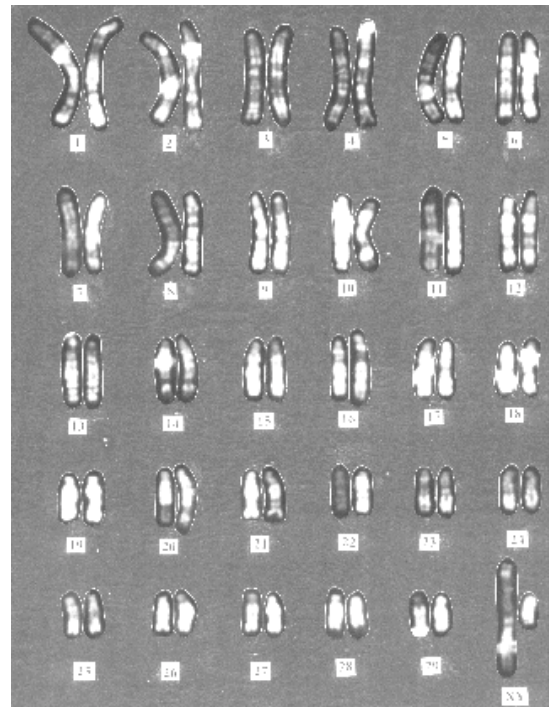
รูปที่ 3 ภาพถ่ายจากด้านข้างแสดงรอยแยกของปลอกหุ้มลึงค์ทางด้านล่าง (ventral aspect)
(ลูกศรชี้)



รูปที่ 4 ภาพถ่ายจากด้านข้างและปลายของลึงค์ (glans penis) ที่หดสั้น (ลูกศรชี้)
ปีสภาวะไหลออกบริเวณนี้



รูปที่ 5 คาร์ิโอไทป์ 60; XY ย้อมสีพิเศษด้วยวิธี GTG-banding ให้สังเกตการติดสีเข้ม-สว่าง (banding patterns) ของโครโมโซมแต่ละคู่ และคู่โครโมโซมเพศที่มี โครโมโซมวายเป็นแบบ acrocentric ขนาดเล็ก X 600



รูปที่ 6 คาร์ิโอไทป์ 60; XY ย้อมสีพิเศษด้วยวิธี RBA-banding ให้สังเกตการติดสีเข้ม-สว่างของโครโมโซมซึ่งมีลักษณะ ตรงข้ามกับโครโมโซมที่ย้อมด้วยวิธี GTG-banding (รูปที่ 5) X 600

คล้ายคลึงกับคาร์ิโอไทป์วัวพันธุ์บราห์มัน (*Bos indicus*) ปกติ

การย้อมสีพิเศษชนิด GTG-banding และ RBA-banding ของโครโมโซมที่จัดทำคาร์ิโอไทป์ แสดงไว้ในรูปที่ 5 และ 6 ตามลำดับ แถบสีเข้ม (มืด) และแถบสีจาง (สว่าง) บนโครโมโซมแต่ละตัวทำให้สามารถบ่งชี้ และจับคู่โครโมโซมได้อย่างถูกต้องตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ ความเข้มและความสว่างของแถบสี จะมีลักษณะตรงข้ามกันเมื่อย้อมโครโมโซมด้วยวิธี GTG-banding และ RBA-banding (รูปที่ 5 และ 6)

จากการตรวจวิเคราะห์ลักษณะการติดสีของโครโมโซมที่ได้จากการย้อมสีพิเศษทั้งสองแบบไม่พบลักษณะความผิดปกติใดๆ ที่อาจเกิดจากการขาดหายไป (deletion) หรือ การมีส่วนเกิน (duplication) ของส่วนย่อย (segment) ของโครโมโซมแต่ละตัว และลักษณะการติดสีมีความคล้ายคลึงกับคาร์ิโอไทป์มาตรฐานของโค

การตรวจวิเคราะห์ระดับฮอร์โมน ระดับของฮอร์โมนเอสตราไดออล 25.5 pg/ml ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 0.06 ng/ml และฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน 5.00 ng/ml

วิจารณ์

ท่อปัสสาวะในสัตว์เพศผู้เจริญมาจาก urogenital sinus ที่ในระยะตัวอ่อนเจริญแยกออกมาจาก cloaca ซึ่งเป็นช่องเปิดรวมของท่อระบบการย่อยอาหาร ระบบขับถ่ายปัสสาวะ และระบบสืบพันธุ์ ระยะต่อมามีการเจริญขึ้นยาวของ genital tubercle เป็นลึงค์ โดยมีการเชื่อมปิดของ urogenital (urethral) folds ทั้งสองข้างทำให้ urethral groove ที่อยู่ส่วนล่างของลึงค์กลายเป็นท่อปัสสาวะอย่างสมบูรณ์ (Noden and de Lahunta, 1985) Hypospadias เกิดจากความล้มเหลวในการเชื่อมปิดของ urethral fold เกิดเป็นรอยแยกของท่อปัสสาวะด้านล่าง เนื้อเยื่อเกี่ยวพันและผิวหนังทำให้น้ำปัสสาวะรั่วออกก่อนที่จะเดินทางไปถึงรูเปิดที่ปลายลึงค์ รอยโรคชนิดนี้พบได้ในสัตว์ทุกชนิดรวมทั้งมนุษย์ และมักพบร่วมกับความผิดปกติของอวัยวะในระบบสืบพันธุ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาวะกะเทย เนื่องจากการเจริญของท่อปัสสาวะในสัตว์เพศเมียไม่มีการเชื่อมปิดของ urethral fold ดังเช่นในเพศผู้ (Sweeney, 1998)

ลักษณะของ hypospadias และลึงค์เจริญไม่เต็มที่ที่พบในโคที่ทำการศึกษามีลักษณะคล้ายกับที่เคยมีรายงานในโคตามที่ต่างๆ ทั่วโลก Sysa et al. (1997) พบโคเพศผู้ที่มี hypospadias โดยมีรอยแยกยาวตลอดตั้งแต่ถุงอัณฑะไปจนถึงปลอกหุ้มลึงค์ และพบว่าคาร์อิโอไทป์ของโคตัวนั้นปกติ สำหรับในรายงานอื่นๆ มักไม่มีการตรวจทางพันธุกรรม เช่นโคที่พบภาวะ hypospadias ร่วมกับภาวะนิ้วติด (syndactyly) (Rieck, 1972) และร่วมกับภาวะไส้เลื่อนที่สะดือ (Singh et al., 1988) ความผิดปกติที่เกิดขึ้นในโคที่ทำการศึกษาแสดงถึงภาวะกะเทย คือมีความผิดปกติของอวัยวะสืบพันธุ์ภายนอกแต่ความรุนแรงไม่มากนัก เนื่องจากลักษณะของร่างกาย การเจริญของอวัยวะอยู่ในเกณฑ์ปกติ ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่ว่า ภาวะกะเทยมีได้หลายระดับ (Basrur, 1999) เป็นที่น่าสนใจว่าอวัยวะของโคตัวนี้มี

กระบวนการสร้างอสุจิปกติหรือไม่ และในอวัยวะมีเนื้อเยื่อจริงไปปนอยู่หรือไม่ อย่างไรก็ตามการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติคงเกิดขึ้นได้ยาก เนื่องจากลึงค์มีขนาดเล็กกว่าปกติ และน้ำอสุจิจะรั่วออกทางรอยแยก เช่นเดียวกับน้ำปัสสาวะ Hypospadias มักพบในความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์หลายแบบรวมถึง testicular feminization คือ มีการเจริญของอวัยวะ และมีการหลั่ง testosterone ระหว่างการเจริญแต่อวัยวะสืบพันธุ์ไม่ตอบสนองต่อฮอร์โมน (androgen insensitivity) เนื่องจากเกิด mutation ของ androgen receptor gene ทำให้อวัยวะสืบพันธุ์ภายนอกมีลักษณะเป็นเพศเมีย ในสัตว์พวกนี้มักเป็นหมัน เนื่องจากอวัยวะมักอยู่บริเวณเชิงกราน แต่มีระดับ testosterone ค่อนข้างปกติ (Nora et al., 1994). Testicular feminization จัดได้ว่าเป็นรูปแบบหนึ่งของ male pseudohermaphroditism ในโคที่ทำการศึกษาพบว่าระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และฮอร์โมนเอสตราไดโอดอยู่ระดับปกติ (O'Kelly, 1985; Lee et al., 1990) ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีระบบที่ควบคุมและการสร้างฮอร์โมนเพศที่ปกติดังเช่นโคเพศผู้อื่นๆ ถึงแม้ว่าจะมีลักษณะผิดปกติของอวัยวะสืบพันธุ์ภายนอก

การตรวจวิเคราะห์พบคาร์อิโอไทป์ของโคเพศผู้โดยไม่มีลักษณะผิดปกติของจำนวน และลักษณะของโครโมโซมไม่ว่าเป็นโครโมโซมที่เชื่อมด้วยวิธีธรรมดาหรือย้อมสีพิเศษทั้งสองชนิด ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานของ Sysa et al. (1997) และในสัตว์ชนิดอื่นๆ ที่พบภาวะกะเทยเทียมเพศผู้ (male pseudohermaphroditism) แต่มีคาร์อิโอไทป์ปกติของเพศผู้ หรือเพศเมียเพียงเพศเดียว เช่นในสุกร (Pailhoux et al., 1994) และในแพะ (Basrur and Yusoff, 1997) ความผิดปกติของท่อปัสสาวะในโคที่ศึกษาอาจเกิดจากสาเหตุ 2 ประการ คือ ประการแรกเป็นความผิดปกติเกิดขึ้นที่ระดับยีนที่ควบคุมการสร้างอวัยวะของระบบขับถ่าย

ปัสสาวะและระบบสืบพันธุ์ ซึ่งยีนที่ควบคุมการเจริญของระบบดังกล่าวประกอบด้วยยีนที่อยู่บนโครโมโซมเพศ และโครโมโซมร่างกายที่ทำงานกันอย่างซับซ้อน (Werner et al., 1996) ความผิดปกติที่เกิดขึ้นแบบ point (single gene) mutation ไม่สามารถตรวจพบได้ในการตรวจวิเคราะห์โครโมโซม อีกประการหนึ่งคือ ความผิดปกติที่ระดับโครโมโซมแต่ความเสียหายที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็กมาก เช่นมีการเพิ่มขึ้น หรือขาดหายไปของส่วนย่อยที่เล็กมากจนกระทั่งการย้อมสีพิเศษเพื่อการติดสีเข้ม-สว่าง ยังไม่สามารถบ่งชี้ได้ สำหรับความผิดปกติทั้ง 2 แบบนี้ควรต้องใช้เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์เพื่อตรวจสอบ เช่นการตรวจวิเคราะห์ว่าโครโมโซมที่มียีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของระบบขับถ่ายปัสสาวะและระบบสืบพันธุ์ขาดหายไปหรือไม่ เช่นการตรวจหา SRY gene ซึ่งเป็นยีนที่สำคัญของการพัฒนาของอวัยวะและระบบสืบพันธุ์เพศผู้ (Sinclair et al., 1990; Yang et al., 1993) และการตรวจวิเคราะห์ว่าส่วนปลายของโครโมโซม (telomeres) ได้ขาดหายไปหรือไม่ โดยใช้เทคนิค FISH (Fluorescent *in situ* hybridization) ผลจากการตรวจวิเคราะห์ทั้งสองแบบจะทำให้บ่งชี้ได้ว่าภาวะกระเทยเทียมเพศผู้ในโคที่ศึกษาเกิดจากความผิดปกติที่ระดับยีนไม่ใช่ที่ระดับโครโมโซม

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการเงินอุดหนุนโครงการวิจัยเงินทุนคณะฯ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ. 2543 ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนการวิจัย ขอขอบคุณ เจ้าของโคที่ทำการศึกษา คุณอุดม มณีดิษฐ์ เกษตรกรชาวกาญจนบุรี อ.น.สพ. ธนศักดิ์ บุญเสริม ที่ช่วยในการเก็บตัวอย่างเลือด และคุณจุฑารัตน์ สุขใจ ที่ช่วยงานปฏิบัติการในห้องทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- Basrur, P.K. 1999. Veterinary Medical Genetics. Guelph: University of Guelph Press. 125-129.
- Basrur, P.K. and Yusoff, R.B.H. 1997. Sex anomalies in goats. In: Current Therapy in Large Animal Thriogenology. R.S. Yongquist (ed.) Philadelphia: W.B. Saunders. 553-556.
- Braun, U., Gansohr, B., Feige, K., Gardelle, O., Suwattana, D. and Steanzinger, G. 2000. Urethral duplication and chromosomal translocation in a Swiss braunvieh heifer. Vet. Rec. 146: 44-46.
- Ciftci, A.O., Enocak, M.E., Buyukpamukcu, N., Hicsonmez, A. 1995. Complete duplication of the bladder and urethra: a case report and review of the literature. J. Pediat. Surg. 30: 1605-1606.
- Dutrillaux, B., Laurent, C., Counturier, J., Lejeune, J. 1973. Colouration des chromosomes humains par l'acridine orange apres traitement par le 5 bromodeoxyuridine. C.R.Acad. Sci. (Paris) 276: 3179-3181.
- Elmassalme, F.N., Zuberi, M.S.H., Matburi, R.M., Raheem, U.A. 1997. Duplication of urethra - case report and review of the literature. Eur. J. Pediat. Surg. 7: 313-314.
- Goh, D.W., Davey, R.B., Dewan, P.A. 1995. Bladder, urethra, and vaginal duplication. J. Pediat. Surg. 30: 125-126.
- Halnan, C.R.E., Watson, J.I. and Mc Kee, J.J. 1981. G-band patterns of the karyotype of *Bos indicus*. Vet. Rec. 109: 34-37.

- Hunter, R.H.F. 1996. Aetiology of intersexuality in female (XX) pigs, with novel molecular interpretations. *Molec. Reprod. Devel.* 45: 392-402.
- Lee, C.Y., Henricks, D.M., Skellay, G.C. and Grimes, L.W. 1990. Growth and hormonal response of intact and castrate male cattle to trenbolone acetate and estradiol. *J. Anim. Sci.* 68: 2682-2689.
- Noden, D.M. and de Lahunta, A. 1985. *The Embryology of Domestic Animals*. Baltimore: Williams and Wilkins. 322-341.
- Nora, J.J., Fraser, F.C., Bear, J., Greenberg, C.R., Patterson, D. and Warburton, D. 1994. *Medical Genetics*. 4th ed. Philadelphia: Lea Febiger 211: 256-257.
- O'Kelly, J.C. 1985. Testosterone, feed intake and growth rate in male cattle. *Nutrition Reports International*. 32: 935 - 342.
- Otiang'a-Owiti, G.E., Oduor-Okelo, D., Kamau, G.K., Makori, N., Hendrickx, A.G. 1997. Morphological study of a six-legged goat with duplication of the intestinal, lower urinary and genital tracts. *Anat. Rec.* 247: 432-438.
- Pailhoux, E., Popescu, P.C., Parma, P. et al. 1994. Genetic analysis of 38 XX males with genital ambiguities and true hermaphrodites in pigs. *Anim. Genet.* 25: 299-305.
- Rieck, G.W. 1972. Syndactyly in Red Pied cattle. *Giessener Beitrage zur Erbpalthologie and Zuchthygiene*. 4: 1-13.
- Seabright, M. 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 2 (7731): 971-972.
- Sinclair, A.H., Berta, P., Palmer, M.S. et al. 1990. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature*: 346: 240-244.
- Singh, A.P., Al-Dahash, S.Y.A. and Al-Badrny, M.S. 1988. A clinical study on congenital anomalies in farm animals in Mosul (Iraq). *Iraqi J. Vet. Sci.* 1: 116-134.
- Sweeney, L.J. 1988. *Basic Concepts in Embryology*. New York: McGraw-Hill Companies. 347- 372.
- Sysa, P.S., Winiacki, B. and Liwska, J. 1997. Hypospadias in a male bovine. *Zuchthygiene*. 12: 77-81.
- Wagner, J.R., Carr, M.C., Bauer, S.B., Colodny, A.H., Ratik, A.B., Hendren, W.H. 1996. Congenital posterior urethral perineal fistulae: a unique form of urethral duplication. *Urology* 48: 277-280.
- Walther, M.M. and Woodard, J.R., 1996. Subpubic fistula: a urethral duplication. *J. Uro.* 155: 1728-1729.
- Werner, M.H., Huth, J.R., Gronenborn, A.M. and Clore, G.M. 1996. Molecular determinants of mammalian sex. *Trends in Biol. Sci.* August: 302-307.
- Yang, H., Fries, R. and Stranzinger, G. 1993. The sex-determining Region Y (SRY) gene is mapped to p12-p13 of the Y chromosome in pig (*Sus scrofa domestica*) by in situ hybridization. *Anim. Genet.* 24: 297-300.