

คำนำ

นิติวิทยาศาสตร์มีบทบาทในสังคมยุคปัจจุบันเป็นอย่างยิ่ง ทั้งนี้เนื่องจากทั้งประชาชนทั่วไปในสังคม และผู้ที่อยู่ในกระบวนการยุติธรรมต่างก็ได้รับทราบข้อมูล และตระหนักว่าหลักฐานที่ได้จากการตรวจพิสูจน์ทางนิติวิทยาศาสตร์นั้นมีความน่าเชื่อถือมากกว่าพยานบุคคล ซึ่งแต่ละบุคคลอาจจะจดจำเรื่องราวได้ไม่ครบถ้วน และอาจถูกบิดเบือนด้วยปัจจัยและเงื่อนไขนานัปการ

อย่างไรก็ตาม ไม่ได้หมายความว่าหลักฐานจากการตรวจทางนิติวิทยาศาสตร์ทั้งหมดจะมีความถูกต้อง ร้อยเปอร์เซ็นต์ ผู้ที่ทำหน้าที่ในกระบวนการยุติธรรมต้องมีความรู้ความเข้าใจที่เพียงพอที่จะสามารถตรวจสอบ ได้ด้วยว่าข้อมูลที่กำลังถูกนำเสนอ นั้นมีความถูกต้องมากน้อยเพียงใด ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ผู้ที่อยู่ใน กระบวนการยุติธรรมจะต้องผ่านการฝึกอบรมให้มีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับนิติวิทยาศาสตร์ และควรมีการ จัดทำแนวทางปฏิบัติในการพิจารณาหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ขึ้นมาด้วย เพื่อที่จะสร้างความมั่นใจได้ว่าทุกฝ่าย ในสังคมได้รับการพิจารณาคืออย่างถูกต้องและเป็นธรรมเมื่อมีการนำหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ขึ้นมาใช้

วัตถุประสงค์

วารสารนิติเวชศาสตร์ เป็นวารสารของภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีวัตถุประสงค์ในการจัดทำวารสาร ได้แก่

1. เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางนิติเวชศาสตร์ นิติวิทยาศาสตร์ กฎหมายที่เกี่ยวข้อง จริยธรรมและปรัชญา
2. เป็นสื่อกลางในการเผยแพร่แนวความคิดสร้างสรรค์ ที่มีประโยชน์ต่อสังคมอย่างมีเหตุผล
3. เพื่อพัฒนามาตรฐานทางวิชาชีพนิติเวชศาสตร์ และนิติวิทยาศาสตร์
4. เพื่อพัฒนารูปแบบของกระบวนการยุติธรรมของประเทศไทย ให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
5. เป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ผลงานวิจัยของแพทย์ประจำบ้าน นิสิต นักศึกษา และนักวิจัย

คณะผู้จัดทำ/กองบรรณาธิการ

- | | |
|------------------------------------|-------------------------------|
| 1. อ.นพ.ณัฐ ตันศิริสวัสดิ์ | บรรณาธิการ |
| 2. ผศ.นพ.อุดมศักดิ์ หุ่นวิจิตร | |
| 3. ผศ.นพ.เกรียงศักดิ์ วงศ์ไพศาลสิน | |
| 4. อ.นพ.ธีรโชติ จongsกุล | |
| 5. อ.นพ.ภาณุวัฒน์ ชูติวงศ์ | |
| 6. อ.พญ.เกษณี จงประสาธน์สุข | |
| 7. ภญ.กัญญณลิน หิรัญเศรษฐธาดา | ผู้ช่วยบรรณาธิการและเลขานุการ |

วารสารออนไลน์

<http://www.forensicchula.net>

สารบัญ

Original article

- การซึมผ่านของน้ำมันเบนซินในดิน 2 ชนิด ในจังหวัดเชียงใหม่ โดยเทคนิค GC/MS 5
- การกำหนดเพศโดยการวิเคราะห์เชิงจำแนกเพื่อประเมินค่าความน่าเชื่อถือในการวัดกระดูกฝ่ามือในประชากรไทย 15
- การวิเคราะห์ความเป็นพหุ – น้อยจาก 15 loci STR 33
- การใช้ HVR III เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจพิสูจน์บุคคลด้วยไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ 45

Review

- ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอและการประยุกต์ใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์ 53
- Methamphetamine 66

Miscellaneous

- ถ้ำ 73
- บุคคลสำคัญ Rudolf Virchow 76

ภาพปก

ชื่อภาพ	Erzengel Michael (The Archangel Michael defeating Satan)
ศิลปิน	Guido Reni
สถานที่	Santa Maria della Concezione
ที่มา	http://en.wikipedia.org/wiki/File:Guido_Reni_031.jpg

การส่งบทความ

วารสารนิเวศศาสตร์เป็นวารสารรายสี่เดือน รับเผยแพร่ผลงานที่เกี่ยวข้องทางนิเวศศาสตร์ นิติวิทยาศาสตร์ กฎหมาย จริยธรรมและปรัชญา โดยให้ส่งผลงานตีพิมพ์ในกระดาษขนาด A4 หรือไฟล์ข้อมูลในสื่อบันทึก หรือจดหมายอิเล็กทรอนิกส์

ผลงานที่ส่งเพื่อตีพิมพ์สามารถใช้ได้ทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ โดยไม่จำกัดรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นบทความแสดงความคิดเห็น งานวิจัยนิพนธ์ต้นฉบับ รายงานผู้ป่วย และงานในรูปแบบอื่น ๆ ให้ระบุชื่อเรื่อง ชื่อผู้วิจัยหรือผู้เขียนผลงาน และส่งผลงานได้ที่

อ.นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์

ภาควิชา นิเวศศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถ.พระราม4 เขตปทุมวัน กทม.10330

หรือที่ e-mail: tssnat@hotmail.com

การซึมผ่านของน้ำมันเบนซินในดิน 2 ชุดดิน ในจังหวัดเชียงใหม่ โดยเทคนิค แก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโตรเมตรี

Permeability of Gasoline in 2 Soil Series in Chiang Mai by Gas Chromatography/Mass Spectrometry

ณภัทร มังคะราช *

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการซึมผ่านของน้ำมันเบนซินในดิน 2 ชุดดิน ในจังหวัดเชียงใหม่ ได้แก่ ชุดดินหางดง และชุดดินสันทราย โดยในแต่ละชุดดินทำการแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง คือ ชุด A เป็นชุดควบคุมไม่เผาไหม้ ชุด B เผาไหม้นาน 40 นาที แล้วทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ชุด C ปลอ่ยให้เผาไหม้สมบูรณ์ ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง และชุด D เผาไหม้นาน 40 นาที ทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการวิเคราะห์ฟิสิกส์เอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินที่หลงเหลืออยู่ภายหลังจากการเผาไหม้ในระดับความลึกที่ 5 cm, 10 cm และ 15 cm ตามลำดับ ด้วยเทคนิค GC/MS

ผลการศึกษาพบว่า การซึมผ่านของน้ำมันเบนซินทั้ง 2 ชุดดิน มีความสามารถในการซึมผ่านได้มากที่สุดที่ระดับความลึก 5 cm และ 10 cm ตามลำดับ ขณะที่สามารถตรวจพบน้ำมันเบนซินได้ที่ระดับความลึก 15 cm ในปริมาณที่ต่ำมาก ซึ่งฟิสิกส์เอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินที่หลงเหลืออยู่มากที่สุด คือ 3-ethyltoluene และพบปริมาณที่ต่ำที่สุด คือ toluene ทุกชุดการทดลองของชุดดินสันทราย พบฟิสิกส์เอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินที่หลงเหลืออยู่ในปริมาณที่สูงกว่าชุดดินหางดง จากผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จะเป็นทางเลือกหนึ่งหรือแนวทางในการตรวจสอบสถานที่เกิดเหตุคดีเพลิงไหม้

คำสำคัญ: GC/MS, 3-ethyltoluene, toluene, ฟิสิกส์เอกลักษณ์, การซึมผ่าน

* คณะบัณฑิตวิทยาลัย สาขานิติวิทยาศาสตร์ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ 50200

Abstract

This study aimed to investigate the permeability of benzene in two soils in Chiang Mai which were Hang Dong soil and San Sai soil. In each soil, the experiments were divided into four series of experiments. Set A was the control with no burn, set B burnt for 40 minutes and left for 24 hours, set C let burn completely leaving 24 hours, and set D burnt for 40 minutes leaving 48 hours. Then performing the analysis of the unique peaks gasoline remaining after combustion in the soil of the depth of 5 cm, 10 cm and 15 cm, respectively were done by GC/MS.

The results showed that the permeation of gasoline in 2 sets of soil capable of absorption maximum at the depth of 5 cm and 10 cm, respectively, while the detection of gasoline at the depth of 15 cm was very low. The peaks' unique of gasoline remain which found the most was 3-ethyltoluene. Toluene was the lowest remain. San Sai soil peak identity was found remnants of gasoline in quantities higher than Hang Dong soil. The findings from this research lead an alternative way of checking and investigating scenes in the case of fire.

Key words: GC/MS, 3-ethyltoluene, toluene, permeability, peak identity

บทนำ

การลอบวางเพลิง เป็นปัญหาหนึ่งในสังคมปัจจุบันซึ่งส่งผลกระทบต่อชีวิต ทรัพย์สิน และที่สำคัญปัญหาด้านจิตใจของผู้สูญเสีย ในปี 1994 สมาคมป้องกันอัคคีภัยแห่งชาติประเทศสหรัฐอเมริกาประเมินการสูญเสียค่าใช้จ่ายในความเสียหายที่เกี่ยวข้องกับเพลิงไหม้สูงถึง 6 พันล้านดอลลาร์สหรัฐ และมีเหตุการณ์ลอบวางเพลิงมากถึง 107,800 ครั้ง โดยมีผู้เสียชีวิต 550 คน (Zhendi, 1999) สำหรับในประเทศไทยนั้น ยกตัวอย่างเช่น เหตุการณ์ความรุนแรงใน 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้ ซึ่งเหตุการณ์หนึ่งที่เป็นปัญหาสำคัญ คือ การลอบวางเพลิงสถานที่ต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรงเรียน ซึ่งถือว่ามีผลกระทบต่อการศึกษายาวนานที่เป็นอนาคตของชาติอย่างมาก

ดังนั้นหลายหน่วยงานจึงให้ความสนใจในปัญหาการลอบวางเพลิง โดยเฉพาะงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ ที่มีบทบาทในการตรวจสอบสถานที่เกิดเหตุคดีเพลิงไหม้ จะมุ่งความสนใจเกี่ยวกับการหาพยานหลักฐาน เช่น จากเศษไม้ เศษผ้า ดิน จากเสื้อผ้าผู้ต้องสงสัยหรือแม้กระทั่งของเหลวในภาชนะต่าง ๆ ที่ผู้ก่อเหตุอาจวางทิ้งไว้ เพื่อสามารถบ่งชี้สาเหตุการเกิดเพลิงไหม้และตัวผู้วางเพลิงได้ (จันทนา ระรื่นรัมย์, 2008) ซึ่งปัจจุบันนิยมใช้เทคนิค Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) เพื่อนำมาตรวจเปรียบเทียบวัตถุพยานกับสารมาตรฐานซึ่งจะทำให้ทราบว่าเป็นสารชนิดเดียวกันหรือไม่ เนื่องจาก GC/MS เป็นวิธีที่สามารถหาองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารได้อย่างค่อนข้างแม่นยำ (วารุณี มะโนสงค์, 2008) เช่น ในปี 2005 จากรายงานของบัญชีการลอบวางเพลิงของประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่ามีจำนวน 31,500 ครั้ง ที่สามารถระบุ accelerants และแหล่งที่มาของ accelerants ได้ อีกทั้งยังใช้เชื่อมโยงระหว่างสถานที่เกิดเหตุและผู้ต้องสงสัยได้อีกด้วย (Bertsch, 2005) โดย accelerant ที่พบมักเป็น น้ำมัน ซึ่งน้ำมันทุกชนิดเป็นสารประกอบประเภทไฮโดรคาร์บอนมีธาตุที่เป็นองค์ประกอบหลัก 2 ชนิด ได้แก่ คาร์บอนและไฮโดรเจน คุณสมบัติของน้ำมันสามารถระเหยกลายเป็นไอได้ง่าย ความดันไอสูง จุดวาบไฟต่ำ ทำให้เกิดการเผาไหม้และแผ่ขยายได้อย่างรวดเร็ว (Annual Arson Report, 1994)

ขั้นตอนในการเก็บพยานหลักฐานในที่เกิดเหตุถือได้ว่าเป็นเรื่องที่สำคัญมาก โดยเฉพาะการตรวจน้ำมันเชื้อเพลิงในคดีเพลิงไหม้ เพื่อตรวจหาชนิดน้ำมันเชื้อเพลิง นักนิติวิทยาศาสตร์จึงต้องมีแนวทางและความรู้ในการเก็บตัวอย่างดิน เพราะบางครั้งอาจจะสามารถตรวจพบน้ำมันเชื้อเพลิง และบางครั้งอาจจะตรวจไม่พบก็ได้ ทั้งนี้เพราะปริมาณน้ำมันเชื้อเพลิงมีปริมาณคงเหลือในดินที่แตกต่างกันไป ดังนั้นการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จะเป็นทางเลือกหนึ่งหรือแนวทางในการตรวจสอบสถานที่เกิดเหตุคดีเพลิงไหม้ โดยการตรวจหาน้ำมันเชื้อเพลิงที่หลงเหลืออยู่ในดินภายหลังการเผาไหม้ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้และอ้างอิงในการเก็บดินที่ระดับความลึกของดินที่น้ำมันเชื้อเพลิงสามารถซึมผ่านได้

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างชุดดินที่ต้องการศึกษาได้จากชุดดินตำบลหางดง อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่จำนวน 2 ชุดดิน ได้แก่

1. ชุดดินหางคด เป็นดินที่มีการระบายน้ำต่ำ ดินชั้นบนเป็นดินร่วนเหนียว หรือดินเหนียว สีเทาแก่ และดินชั้นล่างเป็นดินเหนียว สีน้ำตาลอ่อนหรือเทา

2. ชุดดินสันทราย เป็นดินที่มีการระบายน้ำค่อนข้างต่ำ ดินชั้นบนเป็นดินร่วนปนทรายหรือดินทรายปนดินร่วน และดินชั้นล่างเป็นดินร่วนปนทราย สีพื้นเป็นสีเทาหรือน้ำตาลปนเทา

โดยแต่ละชุดดินมีการแบ่งการทดลองในชุดดินนั้น ๆ ออกเป็น 4 ชุดการทดลอง กำหนดสัญลักษณ์ดังนี้ ชุด A เป็นชุดควบคุมไม่มีการเผาไหม้ ชุด B เผาไหม้นาน 40 นาที แล้วทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ชุด C ปลอ่ยให้เผาไหม้สมบูรณ์ ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง และชุด D เผาไหม้นาน 40 นาที ทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง ซึ่งแต่ละชุดการทดลอง กำหนดขนาดพื้นที่ที่ต้องการศึกษา ความกว้าง 40 cm และความยาว 40 cm ต่อปริมาณน้ำมันเบนซิน 40 mL หลังจากนั้นนำมาทำการทดลองในสภาวะแวดล้อมเดียวกัน

ขั้นตอนการทดลอง

การทดสอบการซึมผ่านของน้ำมันเบนซินในดินทั้ง 2 ชุดดิน

1. วิเคราะห์หองค์ประกอบหลักของน้ำมันเบนซินโดยใช้ micropipette ขนาด 100 μ L ดูดน้ำมันเบนซิน ปริมาตร 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 μ L ตามลำดับ
2. การเก็บตัวอย่างดินในแต่ละชุดการทดลอง โดยเก็บดินใส่ในขวดแก้วขนาดความกว้าง 5 cm สูง 10 cm ให้เก็บดินลงในขวดแก้วให้ได้ความสูง 3 cm ของขวดแก้ว นำขวดแก้วใส่ในกระป๋องซึ่งภายในกระป๋องมีถุงชาที่มี activated carbon ปริมาณ 0.2 g (ASTM E 1412-00, 2003) แล้วปิดฝากระป๋องให้สนิทและใช้เทปกาวใสปิดทับ นำกระป๋องไปอบที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 30 นาที แล้วทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Luies,1995)
3. หลังจากนั้นนำถุงชาออกมาจากกระป๋องไปใส่ในขวดสีชาขนาด 3 mL เติม dichloromethane ปริมาตร 2 mL ลงไป หลังจากนั้นเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
4. เติตัวอย่างที่ได้จากขวดสีชาลงในหลอดทดลอง นำไปปั่นแยกให้ตกตะกอน โดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm นาน 15 นาที นำตัวอย่างทุกตัวที่เตรียมไว้ในการวิเคราะห์ด้วย GC/MS ที่สภาวะดังนี้

GC Inlet: 150 °C, 0.2 μ L, split ratio 200 : 1, Oven: 100 °C (2 min), rate 20 °C/min to 200 °C

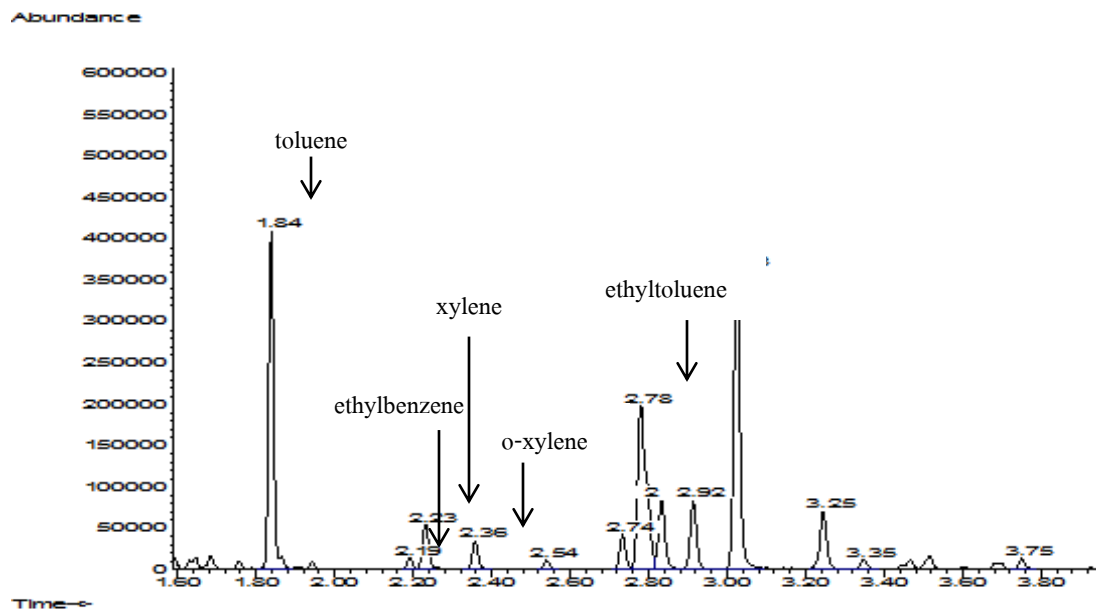
Column: HP-1MS 30m x 0.25 mm ID, 0.25 μ m film thickness

Carrier gas: He 1.0 mL/min

MS Ion source 230 °C , EI 70 eV

5. การแปลผลการทดลอง โดยวิเคราะห์จากปริมาณของฟิเคอกัลกัยนซ์ของน้ำมันเบนซินที่หลงเหลืออยู่
ระดับความลึกต่าง ๆ

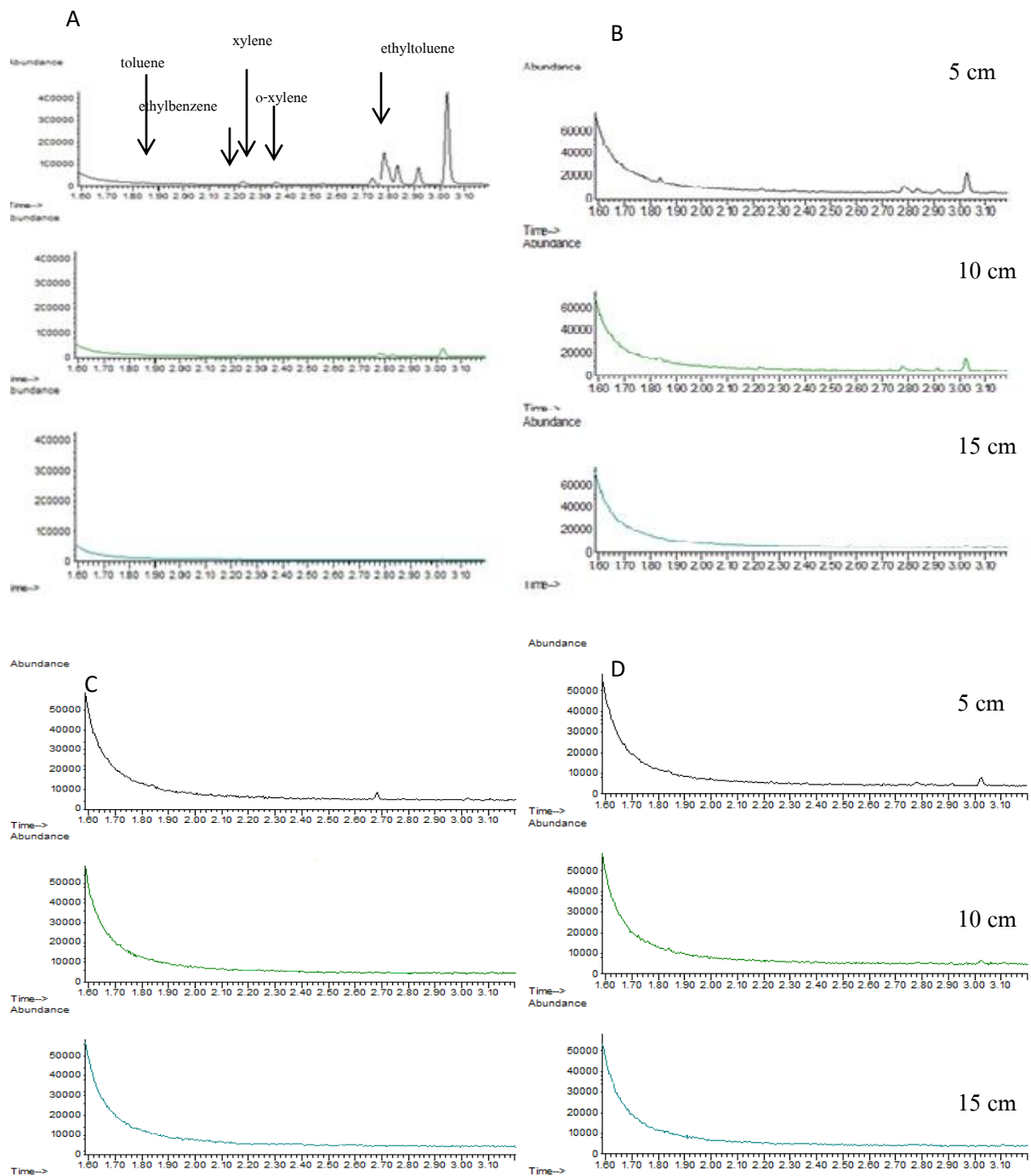
ผลการศึกษา



ภาพที่ 1 Chromatogram ของน้ำมันเบนซินวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC/MS

ตารางที่ 1 Retention time และ m/z ของสารประกอบในน้ำมันเบนซิน

Retention time เฉลี่ยของสารประกอบใน น้ำมันเบนซิน (min)	Group (Name)	m/z
1.84	C1-alkylbenzene (toluene)	91
2.19	C2- alkylbenzenes (ethylbenzene)	91, 106
2.23	C2- alkylbenzenes (xylene)	91, 106
2.36	C2- alkylbenzenes (o-xylene)	91, 106
2.78	C3- alkylbenzenes (3-ethyltoluene)	105, 120



ภาพที่ 2 Chromatogram ของชุดดินหางคงในแต่ละชุดการทดลอง A คือ ชุดควบคุม B ชุดที่เผาไหม้นาน 40 นาที และทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง C ชุดเผาไหม้สมบูรณ์ D ชุดที่เผาไหม้นาน 40 นาที ทิ้งไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 5 cm, 10 cm และ 15 cm ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ปริมาณของฟิเคอเอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินที่หลงเหลืออยู่แต่ละชุดการทดลองในชุดดินทางคง

ชุดการทดลอง	ระดับความลึก (cm)	ปริมาณของฟิเคอเอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินที่หลงเหลือจากการเผาไหม้ (ppm)				
		toluene R.T 1.84	ethylbenzene R.T 2.19	xylene R.T 2.23	o-xylene R.T 2.36	3-ethyltoluene R.T 2.78
A	5	0.21	0.90	4.48	2.00	4.47
	10	0.18	0.17	0.83	0.48	0.74
	15	0.17	-	0.13	0.21	0.41
B	5	0.20	0.12	0.50	0.34	0.53
	10	0.20	0.05	0.34	0.31	0.47
	15	0.17	0.02	-	-	0.38
C	5	0.17	-	-	-	0.37
	10	-	-	-	-	-
	15	-	-	-	-	-
D	5	0.17	-	0.07	0.21	0.42
	10	0.16	-	-	0.18	0.38
	15	0.16	-	-	-	0.38

อภิปรายผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบหลักของน้ำมันเบนซินด้วยเทคนิค GC/MS พบว่ามีฟิเคหลายฟิเคเนื่องจากน้ำมันเบนซินมีสารประกอบหลายชนิด แต่มีฟิเคที่น่าสนใจอยู่ 5 ฟิเค (ตาราง 1) ได้แก่ ฟิเคของ C1-alkylbenzene (toluene), C2-alkylbenzenes (ethylbenzene), C2-alkylbenzenes (xylene), C2-alkylbenzenes (o-xylene) และ C3-alkylbenzenes (3-ethyltoluene) ซึ่งทั้ง 5 ฟิเค ที่เลือกมานั้นไม่ปรากฏในน้ำมันดีเซล และน้ำมันก๊าด แต่พบ toluene ในทินเนอร์เท่านั้น (ASTME1618-01, 2002) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Melinda Darrer (2007) ซึ่งศึกษาการคงอยู่และการระเหยของน้ำมันเบนซินบนมือผู้ต้องสงสัยคดีลอบวางเพลิงได้แนะนำฟิเคที่เป็นฟิเคเอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินอยู่ 3 กลุ่ม ได้แก่ toluene, C2- หรือ C3-alkylbenzenes ต่อมาในปี 2008 มีผลการทดลองของ Eric Stauffer ซึ่งทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบหลักของน้ำมันเบนซินด้วยเทคนิค GC/MS พบว่า ฟิเคที่เป็นเอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินและได้แนะนำไว้ ได้แก่ C1-alkylbenzene (toluene), C2- alkylbenzenes, C3-alkylbenzenes (3-ethyltoluene)

และจากผลการวิเคราะห์ชุดการทดลองทั้ง 4 ชุดการทดลองในชุดดินหางดง พบว่า ชุดการทดลอง A คือ ชุดควบคุม ที่ไม่มีการเผาไหม้ มีรูปแบบ Chromatogram ของน้ำมันเบนซินที่ปรากฏพีกหลายพีก แต่พบพีกเอกลักษณ์ที่ยังคงหลงเหลืออยู่ ได้แก่ toluene, ethylbenzene, xylene, o-xylene และ 3-ethyltoluene โดยพบที่ระดับความลึก 5 cm และตรวจพบในปริมาณลดลงที่ระดับความลึก 10 cm และ 15 cm ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ D.N. Tzovolou (2009) ได้ทำการวิจัยการกระจายเชิงพื้นที่ของน้ำมันเครื่องบินในเขตพื้นที่ Vadoze ซึ่งดินมีลักษณะแตกต่างกัน ด้วยเทคนิค GC/MS โดยเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึกต่าง ๆ กัน พบว่า องค์ประกอบน้ำมันเครื่องบินมีการกระจายในพื้นที่อย่างไม่สม่ำเสมอ และกระจายในระดับความลึกที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะรูพรุนหรือช่องว่างระหว่างดินมีผลต่อการซึมผ่านและกระจายตัวของน้ำมันเชื้อเพลิง

ในขณะที่ชุดการทดลอง B ชุดที่มีการเผาไหม้ นาน 40 นาที แล้วใช้น้ำดับไฟทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง พบว่า ยังคงพบพีกเอกลักษณ์ที่ยังคงหลงเหลืออยู่ทั้ง 5 พีก เหมือนชุดการทดลอง A แต่พบในปริมาณที่ต่ำกว่า และพบที่ระดับความลึก 5 cm และ 10 cm โดยยังคงพบพีกเอกลักษณ์ที่ยังคงหลงเหลืออยู่บางพีกที่ระดับความลึก 15 cm ได้แก่ toluene, ethylbenzene และ 3-ethyltoluene ในปริมาณที่น้อยมาก ทั้งนี้เพราะชุดการทดลองนี้ มีการเผาไหม้ส่งผลให้ปริมาณพีกเอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินลดน้อยลง (ภัชราภรณ์ กันเสน, 2006)

ส่วนชุดการทดลอง C คือ ชุดที่ปล่อยให้เผาไหม้โดยสมบูรณ์แล้วทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง พบพีกเอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินที่หลงเหลืออยู่เพียงบางพีกเท่านั้น และพบในปริมาณที่ต่ำมาก (ภาพ 2) โดยตรวจพบที่ระดับความลึก 5 cm เท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากการเผาไหม้มีผลต่อการสลายตัวของพีกเอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซิน ทำให้หลงเหลือพีกเอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินที่น้อยมาก ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของภัชราภรณ์ กันเสน (2006) ได้วิเคราะห์หาองค์ประกอบในน้ำมันเชื้อเพลิงโดยทำการทดลองเผาตัวอย่างน้ำมันตัวอย่าง 6 ชนิด ปริมาตร 5 มล. เติลงบนแผ่นกระเบื้องปูพื้น รอให้ไฟดับเอง แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย GC/MS เปรียบเทียบผลกับน้ำมันตัวอย่างเริ่มต้นว่ามีองค์ประกอบใดหลงเหลืออยู่จากการเผา จากผลการทดลองพบว่า น้ำมันเบนซิน และน้ำมันแก๊สโซฮอล์ เหลือพีกเอกลักษณ์น้อยมากเพราะมีจุดวาบไฟต่ำ ติดไฟได้ดี และระเหยได้เร็ว

ชุดการทดลอง D เผาไหม้นาน 40 นาที แล้วใช้น้ำดับไฟทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง พบว่า ยังคงพบพีกเอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินที่หลงเหลืออยู่บางพีกและในปริมาณที่ต่ำกว่าชุดการทดลอง B ที่ควบคุมสภาวะเดียวกัน แต่แตกต่างกันที่เวลาที่ใช้ในการทดลอง โดยชุดการทดลอง B ใช้เวลาเพียง 24 ชั่วโมง ขณะที่ ชุดการทดลอง D เพิ่มเวลาในการทดลองเป็น 48 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณของพีกเอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินที่หลงเหลืออยู่มีปริมาณ

ที่ต่ำกว่าและพบเพียงบางพิกเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ DarrerM.*et al.* (2008) วิเคราะห์หาองค์ประกอบน้ำมันเบนซินที่หลงเหลืออยู่บนมือผู้ต้องสงสัยในคดีลอบวางเพลิง จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC/FID พบว่า ในช่วง 30 นาทีแรก จะสามารถตรวจพบคราบน้ำมันเบนซิน แต่หลังจากนั้นแนวโน้มในการพบคราบน้ำมันเบนซินจะลดลงอย่างต่อเนื่อง

สำหรับผลการทดลองในชุดดินสันทรายที่ไม่ได้เสนอผลการทดลอง เพราะทั้ง 4 ชุดการทดลอง ได้ผลคล้ายกับชุดดินหางดง แต่พบพิกเอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินหลงเหลืออยู่ในปริมาณที่สูงกว่า และพบมากที่ระดับความลึก 5 cm ,10 cm และ 15 cm ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่ปล่อยเผาไหม้สมบูรณ์ พบเฉพาะที่ระดับความลึก 5 cm เช่นกัน ซึ่งความสามารถในการซึมผ่านของน้ำมันเบนซินทั้ง 2 ชุดดิน นอกจากการเผาไหม้แล้วยังขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางฟิสิกส์และทางเคมีของดิน ส่งผลให้พบปริมาณของพิกเอกลักษณ์ที่หลงเหลืออยู่แตกต่างกัน ซึ่งชุดดินสันทรายมีการระบายน้ำได้ดีและมีอินทรีย์ที่ต่ำกว่า อีกทั้งมีกลุ่มเนื้อดินหรืออนุภาคของดินที่เป็นดินร่วนปนทราย โดยมีอนุภาคของดินเหนียวต่ำกว่า 20 % และอนุภาคของดินทรายมากกว่า 40 % ขึ้นไปในขณะที่ชุดดินหางดงเป็นดินร่วนปนเหนียว จึงมีอนุภาคของดินเหนียวหรือค่อนข้างเหนียว ตั้งแต่ 20-40 % ขึ้นไป ทำให้ระบายน้ำได้ต่ำกว่า (กรมพัฒนาที่ดินเขต 6, 2009)

สรุป

จากผลการศึกษาการซึมผ่านของน้ำมันเบนซินในดิน 2 ชุดดิน พบว่า ทั้ง 2 ชุดดิน น้ำมันเบนซินความสามารถซึมผ่านได้มากที่สุดที่ระดับความลึก 5 cm และ 10 cm ตามลำดับ ขณะที่สามารถตรวจพบน้ำมันเบนซินได้ที่ระดับความลึก 15 cm แต่ในปริมาณที่ต่ำมาก อีกทั้งพบพิกเอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินที่หลงเหลืออยู่มากที่สุด โดยคำนวณจากพื้นที่ใต้พิก (ตาราง 2) คือ 3-ethyltoluene และปริมาณที่ต่ำที่สุด คือ toluene และทุกชุดการทดลองของชุดดินสันทรายพบองค์ประกอบที่เป็นพิกเอกลักษณ์ของน้ำมันเบนซินหลงเหลืออยู่ในปริมาณที่สูงกว่าชุดดินหางดง ทั้งนี้เพราะชุดดินสันทรายมีความหนาแน่นของกลุ่มเนื้อดินน้อยกว่า จึงส่งผลให้ซึมผ่านได้ดีกว่า และการศึกษาสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางนิติวิทยาศาสตร์และการเก็บตัวอย่างดินอย่างถูกวิธีเพื่อเป็นข้อเท็จจริงและเป็นประโยชน์ต่อรูปคดี นอกจากนี้ยังสามารถนำการค้นคว้าแบบอิสระนี้ไปใช้เป็นแนวทางการวิจัยในชุดดินอื่น ๆ ได้อีกหลายชุดดิน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณาให้ใช้สถานที่และเครื่องมือสำหรับทำการศึกษาในครั้งนี้

References

1. จันทนา วรรณรัมย์. การประยุกต์ใช้ Activated carbon ในการตรวจพิสูจน์น้ำมันเชื้อเพลิง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2551.
2. วรุณี มะโนสงค์. เทคนิค Gas Chromatography/Mass Spectrometry. เอกสารประกอบการสอนวิชาเคมี. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ, 2551.
3. ภัสราภรณ์ กันเสน. ปัญหาพิเศษทางเคมี. วิทยาศาสตร์ (เคมี) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่, 2549.
4. Z. Wang, M. Fingasm, S. David. Oil spill identification. Journal of Chromatography A. 843 (1999) 369–411.
5. W. Bertsch, G. Holzer, J. Yinon. Forensic Applications of Mass Spectrometry. CRC Press, Boca Raton, FL. 1090 (2005) 133–145.
6. Annual Arson Report. US National Fire Protection Association, Quincy, MA, 1994.
7. ASTM (E 1412-00). Standard Practice for Separation and Concentration of Flammable Residues from Fire Debris Sample by Passive Headspace Concentration. Forensic Sci Int. 132 (2003) 63–67.
8. D. Muller, A. Levy, R. Shelef. Detection of gasoline on arson suspects' hands. Forensic Sci Int. 206 (2011) 1-3.
9. D.N. Tzovolou, Y. Benoitc, F. Haeselerc. Spatial distribution of jet fuel in the vadoze zone of a heterogeneous and fractured soil. Sci Total Environ. 407 (2009) 3044–3054.
10. D. Melinda, J.P. Joelle, D. Olivier. Gasoline on hands: Preliminary study on collection and persistence. Forensic Sci. Int. 175 (2008) 171–178.

การกำหนดเพศโดยการวิเคราะห์เชิงจำแนกเพื่อประเมินค่าความน่าเชื่อถือในการวัดกระดูกฝ่ามือในประชากรไทย

Sex Determination by Discriminant Analysis: An Evaluation of the Reliability of Metacarpal Bone Measurements in Thai Population.

พิชิตพล แม้นวงศ์ *

บทคัดย่อ

การระบุเพศจากโครงกระดูกมนุษย์ในปัจจุบันสามารถทำได้หลายวิธี นักนิติวิทยาศาสตร์ศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพของกระดูกเพื่อนำมาใช้ในการระบุเพศ กระดูกที่นิยมนำมาใช้ในการระบุเพศมากที่สุดคือกระดูกเชิงกราน (Pelvic bone) และกะโหลกศีรษะ (Skull) ตามลำดับ แต่เนื่องจากบางครั้งก็มีหลายปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของศพ เช่น การมาหั่นศพ การเผาเพื่อทำลายหลักฐาน หรือการแยกชิ้นส่วนของศพเพื่ออำพรางคดี ทำให้สภาพของโครงกระดูกอาจไม่ครบสมบูรณ์ การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อนำเสนอการหาค่าความเชื่อมั่นที่ใช้ในการแยกเพศโดยใช้กระดูกฝ่ามือในประชากรไทย

ในการวิจัยได้นำกระดูกฝ่ามือจากร่างอาจารย์ใหญ่ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ทำการวัดแบบสุ่มโดยที่ผู้วิจัยไม่ทราบเพศของกระดูกนี้มาก่อน เมื่อทำการวัดแล้วเสร็จจึงคัดกระดูกที่มีเกณฑ์อายุระหว่าง 25 – 80 ปี จำนวน 30 คู่ แบ่งเป็นชาย 18 คู่ และหญิง 12 คู่ มาทำการวัดหาระยะทั้ง 8 จุด (ต่อกระดูกฝ่ามือ 1 ชิ้น) แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วย t -test และ Casewise statistic พบว่ากระดูกฝ่ามือสามารถใช้ในการแยกเพศได้ โดยที่ในกลุ่มเพศชาย พบว่าจุดที่สามารถแยกเพศได้ถูกต้องที่สุดในกระดูกฝ่ามือ คือ จุด ECD ของกระดูกฝ่ามือที่ 2 ข้างขวา มีค่าความน่าเชื่อถือจากการทำนาย 83.3 % และส่วนมากแต่ละจุดที่วัดในกระดูกฝ่ามือข้างขวาของกลุ่มเพศชายจะอยู่ที่ประมาณ 72.2 – 83.3 % ในเพศหญิงพบว่าจุดที่สามารถแยกเพศได้ถูกต้องที่สุดในกระดูกฝ่ามือ คือ จุด MLDM ของกระดูกฝ่ามือที่ 2 ข้างขวา และจุด APDDE ของกระดูกฝ่ามือที่ 5 ข้างขวา มีค่าความน่าเชื่อถือจากการทำนายสูงถึง 91.7 % และส่วนมากแต่ละจุดที่วัดในกระดูกฝ่ามือข้างขวาของกลุ่มเพศหญิงจะอยู่ที่ประมาณ 66.7 – 91.7 ตามลำดับ ผลการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์และเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเลือกใช้วิเคราะห์คดีในกระบวนการทางนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

คำสำคัญ: นิติวิทยาศาสตร์ การระบุบุคคล การจำแนกเพศ กระดูกฝ่ามือ ประชากรไทย

* นักศึกษาปริญญาโท วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สาขานิติวิทยาศาสตร์) มหาวิทยาลัยศิลปากร

Abstract

Forensic Scientists determine the sex of skeletons by analysis of physical character properties in the bone remains. Generality of sex identification, the pubic bones and skull are the elements mostly used. However, in many cases the forensic scientists need to have other available techniques based on different bony remains. The purpose of this work is to present and to describe the reliable for sex determination in recent Thai population using metacarpal bones.

Samples of bones corresponding to a Thai population deposited at the department of anatomy, faculty of medicine, Siriraj hospital, Mahidol University (MU) were analyzed. The samples consisted of 25 – 80 years old adults of 30 Thai people (male = 18, female = 12). We also analyzed the existence of significant differences between the mean of both sexes for each variable analyzed, applying the t-test and casewise statistic procedures of the SPSS software, version 11.5. The correct sex classification rank progressed from 72.2 – 83.3% in male (the best of determination was ECD in the right second metacarpal bones) and 66.7 – 91.7 % in female (the best of determination were MLDM and APDDE in the right second and the fifth metacarpal bones, respectively). The results suggest that metacarpal bones are the alternative choice that can be used for sex determination in forensic identifications.

Keywords: Forensic Science, Human identification, Sexual determination, Metacarpals, Hand bones, Discriminant functions, Thai population.

บทนำ

ปัจจุบันในทางนิติวิทยาศาสตร์ในหลาย ๆ คดีนั้นการชันสูตรศพเพื่อหาสาเหตุของการตายสามารถทำได้หลายวิธี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพของศพที่พบในขณะนั้นและสภาพแวดล้อมรอบศพ ซึ่งจะเป็นตัวกำหนดว่านักนิติวิทยาศาสตร์ควรจะใช้เทคนิควิธีการไหนเข้ามาช่วยพิสูจน์ แต่สิ่งแรกที่นิยมทำกันเมื่อแรกทีไปพบศพในสถานที่เกิดเหตุ จะทำการพิสูจน์เพื่อระบุตัวบุคคลก่อนว่าผู้ตายเป็นใคร เพศอะไร รูปร่างลักษณะเป็นอย่างไร แต่เนื่องด้วยในทุกวันนี้มีหลายปัจจัยที่มีการกระทำต่อศพ เช่น การฆ่าหั่นศพ การเผาศพเพื่อทำลายหลักฐาน การกัดแทะจากสัตว์ป่า การอำพรางศพโดยทิ้งลงในแม่น้ำ การฝังศพ การทำให้สภาพของศพไม่ครบถ้วนสมบูรณ์ (ชนสรณ์ ภูเค้นแดน 2551: 25 - 34) ทำให้การระบุตัวบุคคลนั้นเป็นไปได้ยาก เนื่องจากเนื้อเยื่อและกระดูกถูกทำลายไป อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาพบว่าหลักฐานที่พบจากศพ เช่น โครงกระดูกก็สามารถนำมาระบุเพศได้ และพบว่าการบ่งบอกเพศจากโครงกระดูก นับได้ว่ามีความน่าเชื่อถืออีกวิธีหนึ่ง โดยสามารถระบุเพศจากกระดูก

ได้ด้วยการดูด้วยตาเปล่า (ชนสรณ์ ภูเด่นแดน 2551: 25 - 34) โดยทั่วไปแล้วกระดูกที่เหมาะสมที่สุดสำหรับระบุเพศคือ กระดูกเชิงกราน (Pelvis) (P.A.Barrio 2007: 1)

สืบเนื่องมาจากในหลาย ๆ คดีนั้น มีส่วนของร่างกายหลายส่วนที่สูญหายหรือถูกตัดขาดจากกันเป็นท่อน ๆ (Manolis et al 2009: 1) ในบางคดีก็ตัดท่อนแขน ท่อนมือ ท่อนขา หรือแยกร่างกายแต่ละออกเป็นส่วน ๆ อีกทั้งด้วยความที่กระดูกมือมักจะค่อนข้างมีความแตกต่างในแต่ละตัวบุคคล อันเนื่องมาจากบริบทในการทำกิจกรรมต่าง ๆ และรูปแบบในการใช้ชีวิตประจำวันที่แตกต่างกันในแต่ละตัวบุคคล จึงเป็นเหตุทำให้ผู้ทำวิทยานิพนธ์มีความสนใจที่จะทำการศึกษาทดลองในกระดูกมือ ซึ่งประกอบไปด้วยกลุ่มกระดูกหลักอยู่ 3 ส่วน คือ กระดูกข้อมือ (carpal bones) กระดูกฝ่ามือ (metacarpal bones) และกระดูกนิ้วมือ (phalanx) โดยผู้วิจัยสนใจทำการศึกษาที่กระดูกฝ่ามือ เนื่องจากว่ากระดูกฝ่ามือจะพบในสภาพที่ค่อนข้างสมบูรณ์มากกว่ากระดูกนิ้วมือ ในกรณีที่เกิดคดีหรือพบซากกระดูก ซึ่งส่วนมากกระดูกนิ้วมือซึ่งเป็นกระดูกที่อยู่ส่วนปลายของร่างกายมักจะขาดหายไปไม่อยู่ในสภาพที่สมบูรณ์ซึ่งอาจส่งผลให้จุดเกาะที่ใช้ในการวัดจริงสูญหายไป ส่วนกระดูกข้อมือนั้นเป็นกระดูกที่มีรูปร่างค่อนข้างแตกต่างกันในแต่ละชิ้นและหาจุดเกาะอ้างอิงในการวัดค่อนข้างยาก ประกอบกับในต่างประเทศมีผลงานตีพิมพ์เกี่ยวกับการศึกษาแยกเพศโดยใช้กระดูกฝ่ามือค่อนข้างมาก และให้ผลการทดลองที่ค่อนข้างหลากหลายแตกต่างกันในแต่ละงานวิจัย ดังนั้นกระดูกฝ่ามือจึงเป็นกลุ่มกระดูกที่ผู้วิจัยจะนำมาทำการศึกษามากที่สุด โดยจะทำการทดลองหาว่ากระดูกฝ่ามือของศพที่พบนั้น เราจะสามารถแยกได้อย่างไรว่าเป็นของเพศหญิงหรือเพศชาย ทั้งนี้เพื่อเป็นประโยชน์ต่อทางนิติวิทยาศาสตร์ในการระบุตัวบุคคลนั้น ๆ และเพื่อลดภาระให้ง่ายต่อการสืบสวนสอบสวนในกระบวนการยุติธรรมต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อประเมินค่าเฉลี่ยการวัดหาระยะตำแหน่งต่าง ๆ ของกระดูกฝ่ามือในเพศชายและเพศหญิง
2. เพื่อศึกษาหาความแตกต่างของกระดูกฝ่ามือระหว่างเพศชายและเพศหญิงในคนไทย
3. เพื่อวิเคราะห์และประเมินความน่าเชื่อถือในการระบุเพศจากกระดูกฝ่ามือในคนไทย

สมมติฐานของการวิจัย

1. ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวัดกระดูกฝ่ามือในเพศชายมีค่ามากกว่าเพศหญิง
2. ความแตกต่างของขนาดกระดูกฝ่ามือสามารถใช้ในการแยกเพศได้

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ กำหนดกลุ่มประชากรที่ใช้ในการศึกษาจากกระดูกฝ่ามือของอาจารย์ใหญ่ที่ใช้ในการเรียนการสอน โดยได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล และได้ทำการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างโดยวิธีการสุ่มอย่างง่าย (Simple Random Sampling) โดย

ที่ผู้ทำการวิจัยจะไม่ทราบเพศของกลุ่มตัวอย่างมาก่อนเพื่อป้องกันมิให้เกิดความเอนเอียงในการวัด ทำการวัดกระดูกฝ่ามือ เมื่อวัดเสร็จแล้วจึงทำการสืบค้นประวัติและข้อมูล เพื่อคัดเลือกหากลุ่มตัวอย่างที่ต้องการมาทำการวิเคราะห์ในภายหลัง โดยคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างตามคุณสมบัติคือ เป็นกระดูกฝ่ามือของผู้ที่มีสัญชาติไทย เชื้อชาติไทย กระดูกฝ่ามือที่มีสภาพสมบูรณ์ ไม่มีรอยโรค หรือความผิดปกติใด ๆ และมีอายุอยู่ในช่วง 25 – 80 ปี

การวัดเริ่มจากการใช้ดินสอจุดสำหรับอ้างอิงที่จะทำการวัด (อ้างอิงใน Pedro A. Barrio and Jose' A. Sa'nchez,2006) ทำการวัดด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ โดยจุดที่ทำการอ้างอิง มีดังต่อไปนี้

- จุด ML คือ maximum length เป็นความยาวที่ยาวที่สุดของกระดูกชิ้นนั้น
- จุด MLDPE คือ mediolateral diameter of proximal epiphysis เป็นความกว้างของปลายกระดูกส่วน proximal
- จุด APDPE คือ antero-posterior diameter of proximal epiphysis เป็นความหนาของปลายกระดูกส่วน proximal
- จุด ECD คือ epicondylar diameter เป็นความกว้างของ epicondylar ซึ่งจะอยู่บริเวณใกล้ ๆ กับปลายกระดูกส่วน distal
- จุด MLDDE คือ mediolateral diameter of distal epiphysis เป็นความกว้างของปลายกระดูกส่วน distal
- จุด APDDE คือ antero-posterior diameter of distal epiphysis เป็นความหนาของปลายกระดูกส่วน distal
- จุด MLDM คือ mediolateral diameter at midshaft เป็นความกว้างบริเวณตรงกลางหรือครึ่งหนึ่งของความยาวกระดูกชิ้นนั้น
- จุด APDM คือ antero-posterior diameter at midshaft เป็นความหนาบริเวณตรงกลางหรือครึ่งหนึ่งของความยาวกระดูกชิ้นนั้น



รูปที่ 1 การวัด ML



รูปที่ 2 การวัด MLDPE



รูปที่ 3 การวัด APDPE



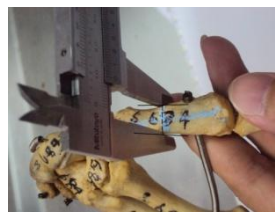
รูปที่ 4 การวัด ECD



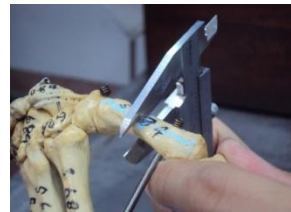
รูปที่ 5 การวัด MLDDE



รูปที่ 6 การวัด APDDE



รูปที่ 7 การวัด MLDM



รูปที่ 8 การวัด APDM

ทำการวัดกระดูกแต่ละชิ้น โดยเริ่มวัด 8 จุดอ้างอิง จากกระดูกฝ่ามือข้างซ้ายชิ้นที่ 1 ไปจนถึงกระดูกฝ่ามือข้างขวาชิ้นที่ 5 รวมจุดที่ใช้ในการวัดทั้งสิ้น 80 จุดต่ออาจารย์ใหญ่ 1 ร่าง โดยใช้หน่วยเป็นมิลลิเมตร (mm)

นำข้อมูลที่ได้จากการวัดทั้งหมดกรอกลงในโปรแกรม Microsoft Excel 2007 เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS version 11.5 โดยการวิเคราะห์เปรียบเทียบดังนี้

1. วิเคราะห์หาค่า mean และ S.D. ของตัวแปรในการวัดกระดูกฝ่ามือข้างซ้ายและข้างขวาในเพศชาย
2. วิเคราะห์หาค่า mean และ S.D. ของตัวแปรในการวัดกระดูกฝ่ามือข้างซ้ายและข้างขวาในเพศหญิง
3. เปรียบเทียบความแตกต่าง ในการวัดกระดูกฝ่ามือข้างซ้ายและข้างขวาของเพศชาย (paired) โดยการหาค่า P-value และค่า t
4. เปรียบเทียบความแตกต่าง ในการวัดกระดูกฝ่ามือข้างซ้ายและข้างขวาของเพศหญิง (paired) โดยหาค่า P-value และค่า t
5. เปรียบเทียบความแตกต่างในการวัดกระดูกฝ่ามือข้างซ้ายและข้างขวา ของเพศชายและเพศหญิง โดยหาค่า P - value และค่า t
6. วิเคราะห์หาค่า Casewise statistics ของตัวแปรในการวัดกระดูกฝ่ามือในเพศชาย
7. วิเคราะห์หาค่า Casewise statistics ของตัวแปรในการวัดกระดูกฝ่ามือในเพศหญิง

ผลการวิจัย

1. การวิเคราะห์หาค่า mean และ S.D. ของตัวแปรในการวัดกระดูกฝ่ามือข้างซ้ายและข้างขวาในเพศชาย

ตำแหน่งการวัด	L = ซ้าย/R = ขวา	Minimum (mm)	Maximum (mm)	Mean (mm)	S.D. (mm)
First Metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 1					
ML	L	33.48	47.92	42.7667	3.75485
	R	33.52	49.30	42.7922	4.00973
MLDPE	L	9.48	15.94	12.5944	1.62628
	R	9.32	15.16	12.9033	1.51237
APDPE	L	9.30	15.02	12.5556	1.48993
	R	10.36	14.98	12.5656	1.28215
ECD	L	9.02	18.88	13.3233	1.90747
	R	9.12	19.20	13.5100	1.99778

MLDDE	L	8.98	14.44	11.5667	1.32697
	R	9.18	14.98	11.7133	1.28448
APDDE	L	7.00	14.48	11.4678	2.17134
	R	6.86	14.30	11.4078	1.94967
MLDM	L	6.54	14.30	9.0911	1.83333
	R	6.68	14.90	9.3694	1.86290
APDM	L	3.90	7.98	6.2800	1.15245
	R	4.18	7.44	6.2167	1.06073
Second Metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 2					
ML	L	54.30	71.40	63.9300	4.19561
	R	54.68	72.70	64.3744	4.44765
MLDPE	L	11.24	17.08	14.6656	1.54571
	R	11.14	17.20	14.9722	1.60171
APDPE	L	10.90	17.38	14.4778	1.80712
	R	10.30	18.00	14.6789	1.99743
ECD	L	10.06	14.58	12.1100	1.03274
	R	9.80	14.52	12.2189	1.10848
MLDDE	L	8.60	15.00	11.4556	1.80274
	R	8.02	14.20	11.2556	1.57760
APDDE	L	9.16	13.80	11.5411	1.18751
	R	8.60	14.20	11.6944	1.26057
MLDM	L	4.58	10.88	6.3800	1.46300
	R	4.56	11.64	6.5667	1.59641
APDM	L	5.08	12.02	6.8922	1.47107
	R	5.04	11.90	7.0400	1.51050
Third Metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 3					
ML	L	50.90	70.98	62.1222	5.37072
	R	51.52	72.18	62.1511	5.19199
MLDPE	L	8.10	12.68	10.7889	1.17854
	R	8.40	13.48	11.1189	1.21633
APDPE	L	10.02	15.42	13.5067	1.43689
	R	10.16	15.86	13.4689	1.59793
ECD	L	8.64	13.00	11.3267	1.11634
	R	9.18	13.82	11.6122	1.18212
MLDDE	L	7.70	12.70	10.3178	1.37471
	R	8.00	12.40	10.3611	1.15721
APDDE	L	8.82	14.72	11.6022	1.32613
	R	8.82	14.14	11.6500	1.23860

MLDM	L	3.98	7.00	5.4656	.72796
	R	4.00	6.98	5.6767	.67737
APDM	L	4.96	8.70	6.8089	1.10635
	R	5.10	8.84	6.9767	1.13188
Forth Metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 4					
ML	L	43.78	59.40	52.7189	3.62806
	R	43.92	60.00	52.9178	3.74952
MLDPE	L	6.52	10.08	8.7000	.98850
	R	6.26	10.16	8.6522	1.12231
APDPE	L	6.38	10.74	9.1611	1.15040
	R	7.22	10.98	9.3211	1.08635
ECD	L	7.92	11.62	9.8611	.96909
	R	7.72	11.70	9.9211	1.01600
MLDDE	L	6.84	13.48	9.0567	1.51563
	R	7.00	13.30	9.1772	1.45743
APDDE	L	7.32	12.02	10.1456	1.23177
	R	7.12	12.30	10.1922	1.26761
MLDM	L	3.28	5.50	4.0789	.63459
	R	3.20	6.40	4.2856	.77347
APDM	L	3.70	6.24	4.9700	.80479
	R	3.70	6.38	5.0278	.71050
Fifth Metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 5					
ML	L	41.22	54.22	48.9483	3.80621
	R	41.10	54.28	49.2489	3.74400
MLDPE	L	8.42	12.84	10.7233	1.29996
	R	8.58	12.98	10.8267	1.25580
APDPE	L	6.58	11.80	8.8689	1.19348
	R	7.00	10.90	8.8056	.97229
ECD	L	7.62	10.86	9.3933	.81255
	R	7.98	11.10	9.6311	.84003
MLDDE	L	7.10	10.52	8.6211	.98086
	R	7.02	10.42	8.6789	1.00257
APDDE	L	6.80	11.70	9.4622	1.30883
	R	7.00	11.82	9.7178	1.41040
MLDM	L	3.00	12.00	5.6500	1.84005
	R	3.02	12.04	5.8600	1.86127
APDM	L	3.22	5.52	4.4989	.64998
	R	3.26	5.58	4.5822	.65898

2. การวิเคราะห์หาค่า mean และ S.D. ของตัวแปรในการวัดกระดูกฝ่ามือข้างซ้ายและข้างขวาในเพศหญิง

ตำแหน่งของการวัด	L=ซ้าย R=ขวา	Minimum (mm)	Maximum (mm)	Mean (mm)	S.D. (mm)
First Metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 1					
ML	L	33.98	43.68	39.7633	3.01731
	R	34.6	43.96	40.0433	2.93915
MLDPE	L	8.58	13.4	10.9383	1.38568
	R	9	13.38	11.1917	1.11026
APDPE	L	9.6	13.2	11.38	1.16053
	R	9.88	13.34	11.73	1.16674
ECD	L	9.4	14.4	11.3783	1.58593
	R	9.78	13.94	11.4967	1.48306
MLDDE	L	7.42	11.64	10.2183	1.17824
	R	7.8	11.84	10.4433	1.24862
APDDE	L	8.64	12.08	10.0517	1.10879
	R	8.76	12.48	10.1267	1.14417
MLDM	L	5.82	9.3	8.19	1.14344
	R	6.5	10	8.3683	1.18366
APDM	L	4.62	8.7	6.02	1.05217
	R	4.78	8.62	6.1333	1.05083
Second Metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 2					
ML	L	48.98	64.62	59.2183	4.22516
	R	48.92	64.94	59.1783	4.40753
MLDPE	L	10.4	16.36	13.5217	1.74973
	R	10.36	16.88	13.4783	1.91291
APDPE	L	11.58	15.66	13.3283	1.19698
	R	11.1	15.6	13.6567	1.33176
ECD	L	9.4	12.6	11.0567	0.92441
	R	9.18	12.24	11.165	0.90108
MLDDE	L	8.76	13.7	10.195	1.27656
	R	8.82	12.08	10.215	0.98269
APDDE	L	8.62	11.5	10.4483	0.92254
	R	8.6	11.5	10.3633	1.06719
MLDM	L	4.1	6.46	5.53	0.7147
	R	3.5	6.9	5.5367	0.87888
APDM	L	4.28	6.8	5.91	0.7977
	R	4.38	6.88	5.9217	0.76754

Third Metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 3					
ML	L	53.3	63.46	58.8033	3.20155
	R	54.1	63.02	58.7883	3.12512
MLDPE	L	8.74	13.3	10.9483	1.35857
	R	8	13.32	10.86	1.44941
APDPE	L	9.56	14.48	12.27	1.38804
	R	10.36	14.2	12.7183	1.32647
ECD	L	8.7	11.86	10.4733	0.89971
	R	8.7	11.96	10.6417	0.85026
MLDDE	L	7.7	12.1	9.4667	1.27739
	R	7.42	11.98	9.4517	1.25829
APDDE	L	8.82	11.92	10.49	0.98989
	R	9	11.8	10.545	0.86915
MLDM	L	3.8	6.6	5.44	0.9377
	R	3.72	6.64	5.4917	0.93043
APDM	L	4.7	7.72	6.0267	0.98606
	R	4.68	7.2	6.0367	0.84025
Forth Metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 4					
ML	L	43.98	54.14	49.0833	3.4297
	R	43.6	54.28	49.1917	3.26047
MLDPE	L	5.3	10.92	8.2683	1.65055
	R	5.92	10.98	8.4817	1.60894
APDPE	L	7	10.36	8.5667	0.94362
	R	6.92	9.66	8.39	0.76541
ECD	L	7.5	10.92	9.1367	1.12398
	R	7.32	11	9.085	1.21047
MLDDE	L	6.64	12.4	8.555	1.49856
	R	6.64	12.42	8.5067	1.51891
APDDE	L	7.74	10.1	9.065	0.90019
	R	7.48	9.82	9.035	0.80774
MLDM	L	2.98	8.58	4.59	1.41235
	R	2.5	8.48	4.5517	1.43989
APDM	L	3.52	5.7	4.6367	0.66926
	R	3.4	5.7	4.76	0.69935
Fifth Metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 5					
ML	L	40.4	50.1	45.3367	2.98369
	R	41.1	49.98	45.4967	2.69369
MLDPE	L	8	11.32	9.5783	0.94601

	R	8.38	11.68	9.7267	0.88939
APDPE	L	6.68	9.58	7.9267	0.81022
	R	6.54	9.44	7.9233	0.92736
ECD	L	6.62	10.54	8.4817	1.01946
	R	6.9	10.48	8.475	1.02766
MLDDE	L	6.1	8.76	7.5167	0.80552
	R	6.02	8.62	7.4783	0.86783
APDDE	L	6.28	9.18	8.035	0.89679
	R	6.34	9.08	8.0217	0.82834
MLDM	L	4.18	6.2	5.2433	0.65709
	R	4	6.7	5.26	0.82533
APDM	L	3.12	5.82	4.39	0.82155
	R	3.2	5.72	4.43	0.737

3. การเปรียบเทียบความแตกต่างในการวัดกระดูกฝ่ามือข้างซ้ายและข้างขวา ของเพศชายและเพศหญิง โดยค่า P-value และค่า t

ตำแหน่งของการวัด	L=ซ้าย R=ขวา	Independent sample t-test	
		t	P-value
First metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 1			
ML	L	2.313	0.028
	R	2.034	0.052
MLDPE	L	2.893	0.007
	R	3.356	0.002
APDPE	L	2.302	0.029
	R	1.811	0.081
ECD	L	2.919	0.007
	R	2.980	0.006
MLDDE	L	2.847	0.008
	R	2.682	0.012
APDDE	L	2.077	0.047
	R	2.046	0.050
MLDM	L	1.513	0.142
	R	1.648	0.111
APDM	L	0.626	0.536
	R	0.212	0.834
Second metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 2			
ML	L	3.005	0.006

	R	3.146	0.004
MLDPE	L	1.884	0.070
	R	2.316	0.280
APDPE	L	1.933	0.630
	R	1.553	0.132
ECD	L	2.850	0.008
	R	2.740	0.011
MLDDE	L	2.092	0.046
	R	2.031	0.052
APDDE	L	2.687	0.012
	R	3.006	0.006
MLDM	L	1.862	0.073
	R	2.032	0.052
APDM	L	2.108	0.044
	R	2.360	0.025
Third metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 3			
ML	L	1.919	0.065
	R	2.007	0.054
MLDPE	L	-0.342	0.735
	R	0.529	0.601
APDPE	L	2.340	0.270
	R	1.345	0.189
ECD	L	2.209	0.036
	R	2.447	0.021
MLDDE	L	1.708	0.099
	R	2.037	0.051
APDDE	L	2.476	0.020
	R	2.675	0.012
MLDM	L	0.084	0.934
	R	0.631	0.533
APDM	L	1.979	0.058
	R	2.455	0.021
Fourth metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 4			
ML	L	2.747	0.010
	R	2.804	0.009
MLDPE	L	0.898	0.377
	R	0.343	0.734
APDPE	L	1.485	0.149

	R	2.568	0.016
ECD	L	1.882	0.070
	R	2.046	0.050
MLDDE	L	0.892	0.380
	R	1.214	0.235
APDDE	L	2.604	0.015
	R	2.798	0.009
MLDM	L	-1.353	0.187
	R	-0.658	0.516
APDM	L	1.186	0.280
	R	1.018	0.318
Fifth metacarpals กระดูกฝ่ามือที่ 5			
ML	L	2.764	0.010
	R	2.987	0.006
MLDPE	L	2.618	0.014
	R	2.621	0.014
APDPE	L	2.386	0.024
	R	2.479	0.019
ECD	L	2.719	0.011
	R	3.378	0.002
MLDDE	L	3.235	0.003
	R	3.384	0.002
APDDE	L	3.289	0.003
	R	3.744	0.001
MLDM	L	0.731	0.471
	R	0.170	0.305
APDM	L	0.405	0.689
	R	0.591	0.559

4. การเปรียบเทียบความถูกต้องในการแยกเพศชายและเพศหญิง โดยค่าคัดกรองที่คำนวณได้ในการวัดจากกระดูกฝ่ามือ

ตำแหน่งของการวัด	ข้าง	Discriminant Values (mm)	Casewise statistics	
			เพศชาย (%)	เพศหญิง (%)
First metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 1				
ML	L	ชาย >40.90 $\geq$ หญิง	72.2	66.7
	R	ชาย >40.86 $\geq$ หญิง	72.2	66.7
MLDPE	L	ชาย >12.32 $\geq$ หญิง	77.8	66.7
	R	ชาย >13.20 $\geq$ หญิง	72.2	83.3

APDPE	L	ชาย >12.92 $\geq$ หญิง	66.7	66.7
	R	ชาย >12.90 $\geq$ หญิง	55.6	58.3
ECD	L	ชาย >13.20 $\geq$ หญิง	72.2	75.0
	R	ชาย >13.40 $\geq$ หญิง	77.8	75.0
MLDDE	L	ชาย >11.52 $\geq$ หญิง	72.2	66.7
	R	ชาย >11.88 $\geq$ หญิง	66.7	75.0
APDDE	L	ชาย >11.74 $\geq$ หญิง	77.8	75.0
	R	ชาย >12.78 $\geq$ หญิง	77.8	83.3
MLDM	L	ชาย >9.06 $\geq$ หญิง	61.1	50.0
	R	ชาย >9.50 $\geq$ หญิง	55.6	66.7
APDM	L	ชาย >5.70 $\geq$ หญิง	61.1	58.3
	R	ชาย >5.74 $\geq$ หญิง	61.1	66.7
Second metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 2				
ML	L	ชาย >63.70 $\geq$ หญิง	72.2	66.7
	R	ชาย >63.88 $\geq$ หญิง	72.2	75.0
MLDPE	L	ชาย >15.40 $\geq$ หญิง	66.7	58.3
	R	ชาย >15.66 $\geq$ หญิง	72.2	66.7
APDPE	L	ชาย >14.04 $\geq$ หญิง	66.7	75.0
	R	ชาย >14.12 $\geq$ หญิง	55.6	66.7
ECD	L	ชาย >12.02 $\geq$ หญิง	72.2	75.0
	R	ชาย >12.08 $\geq$ หญิง	83.3	83.3
MLDDE	L	ชาย >11.14 $\geq$ หญิง	55.6	83.3
	R	ชาย >11.80 $\geq$ หญิง	61.1	75.0
APDDE	L	ชาย >11.42 $\geq$ หญิง	77.8	75.0
	R	ชาย >12.62 $\geq$ หญิง	77.8	75.0
MLDM	L	ชาย >6.96 $\geq$ หญิง	61.1	66.7
	R	ชาย >7.50 $\geq$ หญิง	50.0	91.7
APDM	L	ชาย >6.70 $\geq$ หญิง	66.7	66.7
	R	ชาย >6.86 $\geq$ หญิง	61.1	75.0
Third metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 3				
ML	L	ชาย >63.68 $\geq$ หญิง	72.2	58.3
	R	ชาย >63.82 $\geq$ หญิง	72.2	58.3
MLDPE	L	ชาย >10.98 $\geq$ หญิง	44.4	58.3
	R	ชาย >11.00 $\geq$ หญิง	55.6	50.0
APDPE	L	ชาย >13.70 $\geq$ หญิง	72.2	58.3
	R	ชาย >14.02 $\geq$ หญิง	61.1	41.7
ECD	L	ชาย >12.00 $\geq$ หญิง	66.7	58.3
	R	ชาย >12.06 $\geq$ หญิง	61.1	66.7

MLDDE	L	ชาย >12.70 $\geq$ หญิง	66.7	58.3
	R	ชาย >10.98 $\geq$ หญิง	72.2	66.7
APDDE	L	ชาย >11.90 $\geq$ หญิง	72.2	75.0
	R	ชาย >12.20 $\geq$ หญิง	72.2	75.0
MLDM	L	ชาย >5.68 $\geq$ หญิง	61.1	33.3
	R	ชาย >5.90 $\geq$ หญิง	72.2	41.7
APDM	L	ชาย >7.20 $\geq$ หญิง	66.7	75.0
	R	ชาย >7.44 $\geq$ หญิง	66.7	66.7
Fourth metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 4				
ML	L	ชาย >53.30 $\geq$ หญิง	72.2	66.7
	R	ชาย >53.40 $\geq$ หญิง	66.7	66.7
MLDPE	L	ชาย >8.50 $\geq$ หญิง	61.1	58.3
	R	ชาย >8.60 $\geq$ หญิง	61.1	50.0
APDPE	L	ชาย >8.80 $\geq$ หญิง	66.7	66.7
	R	ชาย >8.88 $\geq$ หญิง	72.2	75.0
ECD	L	ชาย >9.20 $\geq$ หญิง	66.7	50.0
	R	ชาย >9.28 $\geq$ หญิง	61.1	50.0
MLDDE	L	ชาย >8.80 $\geq$ หญิง	55.6	58.3
	R	ชาย >9.04 $\geq$ หญิง	61.1	58.3
APDDE	L	ชาย >10.32 $\geq$ หญิง	61.1	66.7
	R	ชาย >10.50 $\geq$ หญิง	77.8	66.7
MLDM	L	ชาย >3.98 $\geq$ หญิง	72.2	50.0
	R	ชาย >4.38 $\geq$ หญิง	61.1	41.7
APDM	L	ชาย >5.26 $\geq$ หญิง	61.1	50.0
	R	ชาย >5.34 $\geq$ หญิง	61.1	50.0
Fifth metacarpal กระดูกฝ่ามือที่ 5				
ML	L	ชาย >49.60 $\geq$ หญิง	77.8	66.7
	R	ชาย >50.04 $\geq$ หญิง	77.8	66.7
MLDPE	L	ชาย >11.40 $\geq$ หญิง	66.7	83.3
	R	ชาย >11.62 $\geq$ หญิง	72.2	83.3
APDPE	L	ชาย >9.00 $\geq$ หญิง	66.7	75.0
	R	ชาย >9.04 $\geq$ หญิง	66.7	66.7
ECD	L	ชาย >9.58 $\geq$ หญิง	77.8	66.7
	R	ชาย >10.02 $\geq$ หญิง	83.3	75.0
MLDDE	L	ชาย >8.80 $\geq$ หญิง	72.2	75.0
	R	ชาย >9.58 $\geq$ หญิง	66.7	66.7
APDDE	L	ชาย >11.12 $\geq$ หญิง	77.8	66.7
	R	ชาย >11.76 $\geq$ หญิง	66.7	91.7

MLDM	L	ชาย >5.84 $\geq$ หญิง	44.4	50.0
	R	ชาย >6.56 $\geq$ หญิง	38.9	66.7
APDM	L	ชาย >4.40 $\geq$ หญิง	50.0	33.3
	R	ชาย >4.46 $\geq$ หญิง	50.0	50.0

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษากระดูกจากร่างอาจารย์ใหญ่ที่ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ระหว่างที่นำมาทำการวัดผู้วิจัยไม่ทราบเพศของกระดูกอาจารย์ใหญ่แต่ละร่างมาก่อน เพื่อจำลองสถานการณ์ให้ใกล้เคียงกับความเป็นจริงและสอดคล้องกับกระบวนการสืบสวนสอบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ ภายหลังจากทำการวัดเสร็จหมดแล้ว จึงมาทำการสืบค้นประวัติอาจารย์ใหญ่เพื่อดูเพศ อายุ และข้อมูลสำคัญซึ่งเกี่ยวข้อง

กระดูกที่ศึกษามีจำนวน 30 คู่ เป็นชาย 18 คู่ และหญิง 12 คู่ ในช่วงอายุ 25 – 80 ปี จากนั้นจึงมาคำนวณและวิเคราะห์ทางคณิตศาสตร์ เพื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของตัวแปร ดังนี้

1. เพื่อประเมินค่าเฉลี่ยการวัดหาระยะตำแหน่งต่าง ๆ ของกระดูกฝ่ามือในเพศชายและเพศหญิง

จากการวิเคราะห์โดยใช้สถิติ พบว่าค่าเฉลี่ยส่วนใหญ่ของกระดูกฝ่ามือในเพศชายมีค่าเฉลี่ยของการวัดที่มากกว่าของเพศหญิง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Pedro A. Barrio และคณะ (Pedro A. Barrio et al: 2006) ซึ่งได้ทำการศึกษากายวิภาคศาสตร์โดยใช้กระดูกฝ่ามือในประชากรชาวสเปน ซึ่งพบว่าค่าการวัดโดยเฉลี่ยของกระดูกฝ่ามือในเพศชายโดยทั่วไปแล้วจะมากกว่าในเพศหญิง

2. เพื่อศึกษาหาความแตกต่างของกระดูกฝ่ามือระหว่างเพศชายและเพศหญิงในคนไทย

เมื่อพิจารณาจากตารางแล้ว พบว่าส่วนใหญ่กระดูกฝ่ามือทุกข้อและทุกจุดที่ทำการวัดโดยส่วนมากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ยกเว้น กระดูกฝ่ามือข้างขวาท่อนที่ 1 จุด APDPE, MLDM, APDM กระดูกฝ่ามือข้างขวาท่อนที่ 2 จุด APDPE กระดูกฝ่ามือข้างขวาท่อนที่ 3 จุด MLDPPE, APDPE กระดูกฝ่ามือข้างขวาท่อนที่ 4 จุด MLDPPE, MLDPPE, MLDM, APDM กระดูกฝ่ามือข้างขวาท่อนที่ 5 จุด MLDM, APDM กระดูกฝ่ามือข้างซ้ายท่อนที่ 1 จุด MLDM, APDM กระดูกฝ่ามือข้างซ้ายท่อนที่ 2 จุด MLDPPE, APDPE, MLDM กระดูกฝ่ามือข้างซ้ายท่อนที่ 3 จุด ML, MLDPPE, MLDPPE, MLDM, APDM กระดูกฝ่ามือข้างซ้ายท่อนที่ 4 จุด MLDPPE, APDPE, ECD, MLDPPE, MLDM, APDM และกระดูกฝ่ามือข้างซ้ายท่อนที่ 5 จุด MLDM, APDM ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3. เพื่อวิเคราะห์และประเมินความน่าเชื่อถือในการระบุเพศจากกระดูกฝ่ามือในคนไทย

จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Casewise Statistics ในกลุ่มเพศชาย พบว่าจุดที่สามารถแยกเพศได้ถูกต้องที่สุดในกระดูกฝ่ามือเพศชาย คือ จุด ECD ของกระดูกฝ่ามือข้างขวาท่อนที่ 2 พบว่ามีค่าความน่าเชื่อถือจากการ

ทำนาย 83.3 % และพบว่าส่วนมากแต่ละจุดที่วัดในกระดูกฝ่ามือข้างขวาของกลุ่มเพศชายจะอยู่ที่ประมาณ 72.2 – 83.3 % ตามลำดับ ส่วนจุดมีค่าความน่าเชื่อถือจากการทำนายน้อยที่สุด คือ จุด MLDM ของกระดูกฝ่ามือข้างขวาท่อนที่ 5 โดยมีค่าความน่าเชื่อถือจากการทำนายเพียง 38.9 % ซึ่งถือว่าน้อยมาก

ส่วนในกลุ่มเพศหญิงนั้น พบว่าจุดที่สามารถแยกเพศได้ถูกต้องที่สุดในกระดูกฝ่ามือเพศหญิง คือ จุด MLDM ของกระดูกฝ่ามือข้างขวาท่อนที่ 2 และจุด APDDE ของกระดูกฝ่ามือข้างขวาท่อนที่ 5 โดยพบว่ามีค่าความน่าเชื่อถือจากการทำนายสูงถึง 91.7 % และพบว่าส่วนมากแต่ละจุดที่วัดในกระดูกฝ่ามือข้างขวาของกลุ่มเพศหญิงจะอยู่ที่ประมาณ 66.7 – 91.7 % ตามลำดับ ส่วนจุดมีค่าความน่าเชื่อถือจากการทำนายน้อยที่สุด คือ จุด APDM ของกระดูกฝ่ามือข้างซ้ายท่อนที่ 5 โดยมีค่าความน่าเชื่อถือจากการทำนายเพียง 33.3 % ซึ่งถือว่าน้อยมาก ซึ่งก่อนหน้านี้ Falseltri (Falseltri, 1995) และ Stojanowski (Stojanowski, 1999) ได้ทำการศึกษาโดยการวัดกระดูกฝ่ามือของชาวเอเธนส์ ประเทศกรีซ ผลการศึกษาพบว่ามีการวัดกระดูกฝ่ามือข้างขวาที่นำมาเสนอสมการให้ผลลัพธ์การแยกเพศเพศก่อนข้างต่ำ คือในกระดูกฝ่ามือท่อนที่ 2, 4 และ 5 ให้ค่าความเชื่อมั่นเพียง 53%, 47% และ 55% ตามลำดับ ในทางตรงกันข้าม Barrio และคณะ (P.A.Barrio et al: 2007) ได้ทำการศึกษาการวัดกระดูกฝ่ามือในกลุ่มประชากรชาวสเปน พบว่ามีค่าความเชื่อมั่นในการวัดที่สูงกว่าการวัดกระดูกฝ่ามือในกลุ่มชาวกรีก โดยให้ค่าความเชื่อมั่นจากการวัดส่วนใหญ่อยู่ที่ประมาณ 60 – 78% โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกระดูกฝ่ามือท่อนที่ 2 นั้นประสบผลสำเร็จในการแยกเพศสูงสุด มีค่าความเชื่อมั่นสูงถึง 82% ในข้างซ้ายและ 80% ในข้างขวา อย่างไรก็ตาม Stojanowski (Stojanowski: 1999) ได้เผยแพร่ 7 สมการในการวัดกระดูกฝ่ามือเพื่อใช้ในการแยกเพศ ซึ่งได้ค่าความเชื่อมั่นโดยรวมต่ำกว่าในการศึกษาของ Barrio โดยที่ค่าความเชื่อมั่นในการวัดแต่ละจุดจะอยู่ที่ประมาณ 42 – 77%

โดยสรุปแล้วจากการนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบความถูกต้องในการแยกเพศชายและเพศหญิงนั้น พบว่าจุดที่มีความถูกต้องในการแยกเพศมากกว่า 80% คือ จุด ECD ของกระดูกฝ่ามือข้างขวาท่อนที่ 2 ซึ่งค่าการแบ่งแยกเพศระหว่างเพศชาย และเพศหญิง คือ 12.08 mm. (ชาย >12.08 ≥ หญิง) ส่วนจุดที่มีความถูกต้องในการแยกเพศได้มากที่สุด คือ จุด MLDM ของกระดูกฝ่ามือข้างขวาท่อนที่ 2 ในเพศหญิง ซึ่งมีค่าสูงถึง 91.7% ซึ่งมีค่าสูงเพียงพอที่จะสามารถแยกเพศได้แม่นยำในการลงนำไปใช้วัดในสถานการณ์จริง เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาวิจัยล่าสุดของ Sotiris K. Manolis และคณะในปี ค.ศ.2009 (Sotiris K. Manolis et al: 2009) พบว่าได้ค่าความเชื่อมั่นในการแยกเพศสูงมาก โดยรวมแล้วในข้างซ้ายอยู่ที่ 83.70 – 88.10% ในข้างขวา 83.80 – 89.70% โดยจุดที่สามารถนำมาใช้ในการแยกเพศได้ดีที่สุดอยู่ที่กระดูกฝ่ามือที่ 5 (fifth metacarpal bone) ซึ่งให้ค่าความเชื่อมั่น 89.70%

จากการศึกษาจะพบว่าในกระดูกฝ่ามือของเพศชายนั้นมีขนาดค่อนข้างใหญ่กว่าเพศหญิง เนื่องจากความแตกต่างระหว่างฮอร์โมนในเพศชายและเพศหญิง โดย Testosterone เป็นฮอร์โมนที่สำคัญมากต่อการพัฒนาของ

เพศชาย มีส่วนสำคัญในการทำให้กระดูกและกล้ามเนื้อเจริญเติบโต ทำให้เพศชายมีขนาดของกระดูกที่ใหญ่กว่าเพศหญิง อย่างไรก็ตามในบางกรณี อาจมีปัจจัยด้านอื่น ๆ ที่ส่งผลให้ขนาดของกระดูกฝ่ามือในเพศชายและหญิงไม่แตกต่างกัน หรือในบางครั้งอาจพบว่ากระดูกฝ่ามือเพศหญิงมีขนาดที่ใหญ่กว่าเพศชาย ทั้งนี้ก่อนหน้านี้ Barrio (Barrio, 2007) และ Kusec (Kusec, 1988) ได้ทำการศึกษาล่วงแล้วว่า กระดูกของแต่ละคนมีความแตกต่างกันนั้นเพราะมีการใช้มือทั้งสองข้างในการทำงานอย่างสม่ำเสมอ ในการนำกระดูกมาใช้ในการระบุเพศนั้น กระดูกแต่ละชิ้นมีความแม่นยำในการระบุเพศได้แตกต่างกัน (อ้างถึงใน ชนสรณ์, 2551) ทั้งนี้ลักษณะของกระดูกยังขึ้นอยู่กับบริบทของแต่ละบุคคล ทักษะ การทำงาน (Barrio, 2006) ซึ่งพบว่าผู้หญิงจะทำงานที่ใช้การเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อมัดเล็กค่อนข้างมาก (fine motor movement) ตลอดจนอายุ ส่วนสูง น้ำหนัก และภาวะทางโภชนาการ ก็มีส่วนสำคัญ

References

1. มีชัย ศรีไธ, สุทธิพร จิตรมิตรภาพ, อุดม ชมชาญ, บุญเที่ยง คีตติสาร, มหากายวิภาคศาสตร์ประยุกต์ (Applied Gross Anatomy) เล่ม 1 แขนและขา, 3 (กรุงเทพฯ: เชียร์บุ๊กพับลิชเชอร์, 2532) 1 - 4.
2. สุธีร์ สุทัศน์ ณ อยุธยา, เทอดชัย ชีวะเกตุ, วัชรโรจน์ รุจิเวชพงศธร, อภิชนา ไชวินทะ, กายวิภาคศาสตร์ระบบการเคลื่อนไหว (Anatomy of the Locomotor System), 2 (กรุงเทพฯ: บีเอ็ม เพรส, 2533) 155 – 157.
3. อรรถพล แซ่มสุวรรณวงศ์ และคณะ, นิติวิทยาศาสตร์เพื่อการสืบสวนสอบสวน 3 (นิติเวชศาสตร์), 1 (กรุงเทพฯ : บริษัท ดาวฤกษ์ จำกัด, 2544) 1 – 5.
4. ชนสรณ์ ภู่อเนกแดน, “การระบุเพศจากโครงกระดูกมนุษย์ (Sex Determination from Human Skeleton),” วารสารนิติเวชศาสตร์ 2551, 1 : 25 – 34.
5. ไพวรรณ สุวรรณรงค์, “Bone of the hand,” ใน เอกสารประกอบการบรรยายวิชามหากายวิภาคศาสตร์ (Gross anatomy) สำหรับนักศึกษากายภาพบำบัดและกิจกรรมบำบัด, (เชียงใหม่: ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2549)
6. ปฏิพัทธ์ สุวรรณห้อย, “Skeleton system,” ใน เอกสารประกอบการบรรยายวิชากายวิภาคศาสตร์ทั่วไป (Basic anatomy) สำหรับนักศึกษากายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด และรังสีเทคนิค, (เชียงใหม่: ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2549)
7. S.K. Manolis, C. Eliopoulos, C.G. Koiliyas, and S.C. Fox, “Sex determination using metacarpal biometric data from the Athens Collection,” Forensic Science International 2009, 193 (2009): 130.e1 – 130. e6.
8. P.A.Barrio, G.J. Tranco, and J.A. Sanchez, “ Metacarpal sexual determination in a Spanish population,” Journal of Forensic Science 2007, 52 (2): 264 – 270.
9. A.B. Falsetti, “Sex assessment from metacarpals of the human hand,” Journal of Forensic Science 1995, 40 (5): 774 – 776.

10. C.M. Stojanowski, "Sexing potential of fragmentary and pathological metacarpals," Am J Phys Anthropol 1999, 109 : 245 – 52.
11. V. Kusec, D. Simic, A. Chaventre, J.D. Tobin, C.C. Plato, and P. Rudan, "Age, sex and bone measures of the second, third and fourth metacarpal," Collegium Anthropologicum 1988, 12: 309 – 322.

การวิเคราะห์ความเป็นพี่ – น้องจาก 15 loci STR ของส่วน Short-Tandem-Repeats ในการพิสูจน์บุคคล

Sibship Analysis from 15 loci STR (Short-Tandem-Repeats) for Human Identification

นางอัจฉรา บุญเลิศ *

บทคัดย่อ

งานวิจัยฉบับนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะศึกษาจำนวน locus บน chromosome ของพี่น้องที่เกิดจากบิดาและมารดาเดียวกัน เพื่อใช้ประโยชน์ในการพิสูจน์บุคคลในกรณีที่บิดา-มารดาไม่สามารถมาตรวจร่วมกันได้ และเพื่อใช้ในการพิสูจน์บุคคลสำหรับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์

การศึกษานี้ได้วิเคราะห์ความเหมือนกันของ loci จำนวน 15 ตำแหน่ง ที่ทำการตรวจทางห้องปฏิบัติการโดยใช้ชุดตรวจ AmpF[®]STR Identifiler PCR Amplification Kit และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ABI 3130 xl Genetic Analyzer จากผู้ที่เป็นพี่-น้องที่แท้จริง คือกำเนิดจากบิดา-มารดาเดียวกันจำนวน 100 คู่ และบุคคลที่ไม่มีความเกี่ยวข้องเป็นเครือญาติหรือไม่ใช่พี่น้องกัน 100 คู่ เพื่อทดสอบเปรียบเทียบ การวิเคราะห์ข้อมูลใช้เทคนิคทางสถิติ t-test และการวิเคราะห์การถดถอยแบบ Logistic

ผลการศึกษาพบว่า ผู้ที่เป็นพี่-น้องที่แท้จริงมี loci ที่ตรงกัน 6 คู่ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $\alpha = 0.01$, 2) จากตำแหน่ง loci ที่เหมือนกัน 15 ตำแหน่งที่ได้รับจากบิดา-มารดา พบว่ามี loci ทั้งหมด 10 ตำแหน่ง คือ D8S1179, D7S820, CSF1PO, D16S539, D2S1338, D19S433, TPOX, D18S51, D5S818 และ FGA ที่มีนัยสำคัญสำหรับใช้พิสูจน์ ซึ่งมีความแม่นยำในการทำนาย 96.50%

คำสำคัญ: locus, ABI 3130 xl, AmpF[®]STR Identifiler Kit, t-test, Logistic regression analysis

* นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ หน่วยงานนิติพันธุศาสตร์ ฝ่ายนิติเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

Abstract

The objective of this study is to determine the number of locus from true full - sibship which uses as an application to approach in cases of absent parents or none DNA parentage testing for human identification in forensic sciences.

The specifies STR loci were carried out by using AmpF[®]STR Identifiler[®], PCR Amplification Kit, and analyzed with ABI 3130 *xl* Genetic Analyzer. From total 200 samples, 100 true sibship sample and 200 non-sibship samples. The statistic analysis on locus identity of 15 tetrameric STR loci was analyzed by t-test and logistic regression analysis.

The results of statistic analysis on locus identity reveal that the true sibship group must has a similarity at least 6 STR loci (statistical significant level at $\alpha = 0.01$, t-test). There are 10 identical loci (D8S1179, D7S820, CSF1PO, D16S539, D2S1338, D19S433, TPOX, D18S51, D5S818 and FGA), that have a powerful determinate of true sibship with their accuracy of 96.5%.

Keyword: locus, ABI 3130 *xl*, AmpF[®]STR Identifiler Kit , t-test, Logistic Regression Analysis

บทนำ

ปัจจุบัน DNA ได้ก้าวเข้ามามีบทบาทมากขึ้นในกระบวนการยุติธรรมและใช้เป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่มีความน่าเชื่อถือสูง ทำให้การพิจารณาคดีในกระบวนการยุติธรรมมีความถูกต้องแม่นยำมากขึ้น ดังเช่น การตรวจ DNA เพื่อยืนยันตัวผู้กระทำผิดทางคดี การตรวจเพื่อพิสูจน์บุคคลในกรณีบุคคลสูญหายหรือการตรวจยืนยันความสัมพันธ์บิดา-มารดาและบุตรในคดีทางแพ่งและคดีอาญา ซึ่งเป็นตัวอย่างของการนำวิทยาศาสตร์มาประยุกต์ใช้เพื่อกระบวนการยุติธรรม พยานหลักฐานทางด้านชีววิทยา ไม่ว่าจะเป็นการาบโลหิต การอบอสุจิ เส้นผม เส้นขน น้ำลาย เนื้อเยื่อ กระดูก และสารคัดหลั่ง ฯลฯ ต่างมีองค์ประกอบหลักเดียวกัน นั่นคือ DNA (Deoxyribonucleic Acid) ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตที่มีอยู่ในนิวเคลียสของเซลล์ต่าง ๆ เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์ผิวหนัง เยื่อกระพุ้งแก้ม หรือปลายรากผม เป็นต้น DNA เป็นตัวกำหนดข้อมูลในการสร้างสารชีวโมเลกุล เช่น การสร้างโปรตีนชนิดต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิตชั้นสูงและชั้นต่ำ นอกจากนี้ยังควบคุมการ

เจริญเติบโตของเซลล์ การแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ รวมทั้งเป็นรหัสหรือแบบพิมพ์ในการสร้าง กล่าวคือ ในสิ่งมีชีวิตแต่ละหน่วยหรือแต่ละเซลล์ จะมีชุด DNA ที่เป็นรหัสเฉพาะตัว ซึ่งจะมีความแตกต่างกันออกไปมากบ้างหรือน้อยบ้างแล้วแต่สายพันธุ์ จึงไม่มีสิ่งมีชีวิตใดที่มีชุด DNA ที่เหมือนกันทั้งหมดจากความจำเพาะที่มีอยู่ในชุด DNA แต่ละหน่วยนี้เอง ในทางนิติวิทยาศาสตร์จึงได้นำมาเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจพิสูจน์เพื่อระบุยืนยันตัวบุคคล พิสูจน์ความสัมพันธ์ของพ่อแม่ลูกได้ มนุษย์มี DNA เป็นรหัสลับและถ่ายทอดข้อมูลพันธุกรรมไปสู่ลูกหลาน DNA ที่อยู่ภายในเซลล์ทำหน้าที่ควบคุมลักษณะต่าง ๆ เปรียบเสมือนรหัสที่กำหนดความเป็นมนุษย์ของคนคนนั้น ซึ่งจะแตกต่างจากคนอื่น ๆ รหัส DNA จึงเป็นเสมือนปริศนาที่จะช่วยไขปัญหาให้เราทราบว่าคนคนนั้นเป็นใคร มาจากไหน ดังนั้นลายพิมพ์ DNA จึงมีลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะบุคคลไม่เหมือนใคร

หลักการทางวิทยาศาสตร์ยอมรับว่า DNA เป็นเอกลักษณ์เฉพาะบุคคลจะไม่มีใครที่มีรหัส DNA เหมือนกัน ยกเว้นแฝดแท้ที่เกิดจากไข่ใบเดียวกัน เนื่องจาก DNA มีรหัสอยู่มากถึง 3 พันล้านรหัส ซึ่งในทางปฏิบัติจะไม่ตรวจเทียบรหัสทุกตัว แต่เลือกตรวจเปรียบเทียบบางตำแหน่งที่เด่น ๆ เพียง 16 จุดเท่านั้น ส่วนในการตรวจพิสูจน์ความเป็นพ่อแม่ลูกมีหลักการว่าต้องมีลายพิมพ์ DNA ทุกตำแหน่งเหมือนพ่อหรือแม่เท่านั้น หากมีตำแหน่งใดที่ไม่ตรงกับพ่อหรือแม่แสดงว่าไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด ปัจจุบันเทคโนโลยีทางพันธุศาสตร์โมเลกุลที่ใช้ในการระบุยืนยันบุคคลภายในครอบครัวหรือการตรวจสอบความเป็นบุคคลที่เกิดจากครอบครัวเดียวกัน รวมทั้งบุคคลที่มาจากบรรพบุรุษเดียวกัน ความรู้ทางเทคโนโลยี DNA เป็นศาสตร์ที่ได้รับการยอมรับ ซึ่งการตรวจพิสูจน์บุคคลที่เป็นพี่น้องที่แท้จริงนั้น ใช้กฎพันธุศาสตร์ในเรื่องการส่งทอดยีน โดยลูกจะต้องรับสารพันธุกรรมจากพ่อมาครึ่งหนึ่ง จากแม่ครึ่งหนึ่ง เป็นกฎตายตัว

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาจำนวนตำแหน่ง locus บน chromosome ที่ได้จากการตรวจ STR Profile 16 ตำแหน่งที่มีรูปแบบเหมือนกัน ของคู่ตัวอย่างพี่น้องที่แท้จริงที่เกิดจากบิดาและมารดาเดียวกัน และคู่ตัวอย่างที่ไม่ใช่พี่น้องที่แท้จริงที่ไม่ได้เกิดจากบิดาและมารดาเดียวกัน โดยไม่ใช่ตำแหน่งการระบุเพศมาคิดคำนวณ
2. เพื่อศึกษาการใช้ตำแหน่ง locus บน chromosome ที่เหมือนกัน บอกถึงความสัมพันธ์พี่น้องที่แท้จริง
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของ locus บน chromosome ที่จำแนกความเป็นพี่น้องที่แท้จริง และไม่ใช่พี่น้องที่แท้จริง

สมมติฐานของการวิจัย

รูปแบบเหมือนกันของตำแหน่ง locus บน chromosome จำนวน 6 คู่ สามารถบ่งบอกความเป็นพี่น้องที่มีบิดาและมารดา เดียวกันได้

วิธีการวิจัย

กลุ่มประชากรเป้าหมาย คือ ครอบครัวที่มีลูกที่เกิดจากบิดาและมารดาคนเดียวกัน และครอบครัวนั้นมีลูกมากกว่า 1 คน

1. การเก็บตัวอย่างใช้ตัวอย่างเลือดที่เจาะจากหลอดเลือดดำที่แขนของผู้ขอรับบริการ ใส่หลอดเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA ซึ่งเก็บจากตัวอย่างผู้ขอรับบริการ แยกเป็น 2 กลุ่ม คือ

1.1 กลุ่มผู้รับบริการที่เป็นน้องแท้จริง จำนวน 100 คู่ 200 คน

1.2 กลุ่มผู้รับบริการที่ไม่ได้เป็นน้องแท้จริง จำนวน 100 คู่ 200 คน

2. การสกัด DNA จากเซลล์เม็ดเลือดขาว ทำการสกัดโดยขั้นตอนการสกัดตามที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำ (ชุดสกัด DNA IQ Mini Kit บริษัท Promega®) จนได้ DNA แล้ว จะเก็บไว้ที่ -20°C เพื่อใช้เป็น Template ต่อไป

3. การเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ชุด AmpF[®]STR[®] Identifiler[®] PCR Amplification Kit นำ DNA Template ที่ได้มาเข้าสู่กระบวนการ PCR ตามขั้นตอนของ PCR Amplification Kit โดยเตรียมส่วนผสมของ PCR reaction mixture ดังนี้ DNA 2 μL , PCR mixed 5.25 μL , Primer set 2.75 μL , AmpliTaq gold (5U/ μL) 0.25 μL , และ DW 3 μL

4. การวิเคราะห์ DNA ด้วยเครื่อง ABI PRISM[™] 3130xl Genetic Analyzer เมื่อได้ผลิตผลจากปฏิกิริยา PCR แล้ว ให้เก็บหลอดไว้ในอุณหภูมิที่ $2-8^{\circ}\text{C}$ แล้วนำส่งตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ABI PRISM[™] 3130xl Genetic Analyzer เริ่มดำเนินการวิเคราะห์และแปลผลด้วย software GenemapperV 2.5

ผลการวิจัย

จากผลการตรวจวิเคราะห์และเก็บรวบรวมข้อมูลพบว่าจากผู้ที่เป็นพี่-น้องที่แท้จริง คือกำเนิดจากบิดาและมารดาเดียวกันจำนวน 100 คู่ และบุคคลที่ไม่มีความเกี่ยวข้องเป็นเครือญาติหรือไม่ใช่พี่น้องกัน 100 คู่เพื่อทดสอบเปรียบเทียบ การวิเคราะห์ข้อมูลในกระบวนการแปลผลการตรวจพิสูจน์ พบว่า

1. จากการศึกษาจำนวน locus บน chromosome ที่ได้จากการตรวจ STR Profile 15 ตำแหน่งที่มีความซ้ำกัน ของคู่ตัวอย่างพี่น้องที่แท้จริงที่เกิดจากบิดาและมารดาเดียวกัน และคู่ตัวอย่างที่ไม่ใช่พี่น้องที่แท้จริงที่ไม่ได้เกิดจากบิดาและมารดาเดียวกัน ที่ได้จากการตรวจ identification 16 ตำแหน่ง โดยใช้ locus 15 ตำแหน่ง ยกเว้นตำแหน่งของโครโมโซมเพศไม่นำมาพิจารณา พบว่ากรณี ของพี่น้องที่เกิดจากบิดาและมารดาเดียวกันจำนวน 100 คู่ มีความเหมือนกันตั้งแต่ 2 – 10 ตำแหน่ง locus โดยมีความถี่มากที่สุดคือ 5 ตำแหน่งซึ่งมีถึง 24 คู่ พี่น้องที่แท้จริง ซึ่งแตกต่างกันอย่างชัดเจนกับจำนวนความเหมือนกันของบุคคลที่ไม่มีความเกี่ยวข้องเป็นเครือญาติหรือไม่ใช่พี่น้องกันจำนวน 100 คู่ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สรุปจำนวนตำแหน่ง locus เหมือนกันของคู่พี่น้อง และคู่ตัวอย่างที่ไม่ใช่ พี่น้องที่แท้จริง

จำนวนตำแหน่ง locus เหมือนกัน	คู่ตัวอย่างพี่น้องที่แท้จริง	คู่ตัวอย่างที่ไม่ใช่ พี่น้องที่แท้จริง
0	0	32
1	0	43
2	4	19
3	9	4
4	15	1
5	24	0
6	19	0
7	12	0
8	4	0
9	9	0
10	3	0
11	0	0
12	0	0
13	0	0
14	0	0
15	0	0

จากตารางที่ 1 พบว่า คู่พี่-น้องที่แท้จริง 100 คู่ มีรูปแบบตำแหน่ง locus เหมือนกัน มากที่สุด 5 คู่คิดเป็น 24 % มีรูปแบบตำแหน่ง locus เหมือนกัน 6 คู่คิดเป็น 19 %

ส่วนคู่ที่ไม่ใช่พี่-น้องที่แท้จริงจากตารางข้อมูล ที่ 1 พบว่า คู่ที่ไม่ใช่พี่-น้องที่แท้จริง 100 คู่ มีรูปแบบตำแหน่ง locus เหมือนกันมากที่สุด 1 คู่คิดเป็น 43 % มีรูปแบบตำแหน่ง locus ไม่เหมือนกันเลย คิดเป็น 32 %

ตารางที่ 2 การทดสอบจำนวนคู่เหมือนของ locus บน chromosome พี่-น้องโดย t-test

คู่ตัวอย่าง	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	ค่าเฉลี่ย	SD	t	P - value
คู่พี่-น้อง	2	10	5.6	1.944	3.087	0.003
ไม่ใช่คู่พี่-น้อง	0	4	1.01	0.927	-43.063	0.999

สำหรับคู่พี่-น้องที่แท้จริงจำนวน locus ที่เหมือนกันเฉลี่ย 5.6 คู่ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่าเท่ากับ 1.944 ค่า t เท่ากับ 3.087 แสดงว่าจำนวน locus ที่เหมือนกันสำหรับพี่-น้องที่แท้จริงมากกว่า 5 คู่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p = 0.003 < 0.05$)

สำหรับคู่ที่ไม่ใช่พี่-น้องที่แท้จริงจำนวน locus ที่ตรงกันเฉลี่ย 1.01 คู่ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน มีค่าเท่ากับ 0.927

- จากศึกษาตำแหน่ง locus บน chromosome ที่เหมือนกันเพื่อบอกถึงความสัมพันธ์พี่น้องที่แท้จริง

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนคู่พี่-น้องที่มีตำแหน่ง locus บน chromosome เหมือนกัน

ตำแหน่งที่ตรวจพิสูจน์	พี่-น้องที่แท้จริง (n)	ไม่ใช่พี่-น้องที่แท้จริง (n)
D8S1179	37	3
D21S11	33	4
D7S820	37	6
CSF1PO	43	6

D3S1358	38	11
TH01	45	11
D13S317	36	6
D16S539	38	8
D2S1338	32	5
D19S433	42	1
vWA	31	5
TPOX	50	25
D18S51	29	6
D5S818	34	3
FGA	35	1

จากตารางที่ 3 พบว่า คู่พี่-น้องที่แท้จริง 100 คู่ มีจำนวน 50 คู่พี่-น้องที่มีตำแหน่ง locus เหมือนกันตรงตำแหน่ง TPOX มากที่สุด รองลงมาคือตำแหน่ง TH01 จำนวน 45 คู่พี่-น้อง และตำแหน่ง CSF1PO เป็นลำดับที่ 3 จำนวน 43 คู่พี่-น้อง ตำแหน่งที่คู่พี่-น้องที่มีตำแหน่ง locus เหมือนกันน้อยที่สุดคือ ตำแหน่ง D18S51 มีเพียง 29 คู่

ส่วนคู่ที่ไม่ใช่พี่-น้องที่แท้จริงจากตาราง ที่ 3 พบว่า คู่ที่ไม่ใช่พี่-น้องที่แท้จริง 100 คู่ มี 25 คู่ไม่ใช่พี่น้องแต่มีตำแหน่ง locus เหมือนกันตรง TPOX ซึ่งถือได้ว่าจำนวนตำแหน่ง locus เหมือนกันที่พบมากที่สุด 11 คู่ และกรณีไม่ใช่พี่-น้องที่แท้จริงแต่มีตำแหน่ง locus เหมือนกันตรง 2 ตำแหน่ง คือ D3S1358, TH01 จำนวน 1 คู่ พบว่ากรณีไม่ใช่พี่-น้องที่แท้จริงที่มีตำแหน่ง locus เหมือนกันตรง 2 ตำแหน่ง คือ D19S433, FGA มีจำนวนน้อยที่สุด

3. จากการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ตำแหน่ง locus บน chromosome ที่เหมือนกัน บอกถึงความสัมพันธ์พี่น้องที่แท้จริงนั้น ตัวแปรหรือปัจจัยหลักคือพันธุกรรมที่คนพี่น้องกันย่อมต้องได้รับสารพันธุกรรมมาจากบิดา-มารดาเดียวกัน

การใช้เทคนิคทางสถิติ Logistic Regression Analysis ทำนายค่าความน่าจะเป็นสำหรับความเป็นพี่น้องที่แท้จริงจากตำแหน่ง locus ที่เหมือนกัน จาก locus 15 ตำแหน่งที่ได้รับจากบิดา-มารดา คือ D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539 D2S1338, VWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA

ตารางที่ 4 ตำแหน่ง locus ที่สามารถ ทำนายความเป็นพี่น้องที่แท้จริง

ตำแหน่ง locus	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
D8S1179	9.580	3.415	7.869	1	0.005	14472.247
D7S820	6.340	2.543	6.215	1	0.013	566.547
CSF1PO	5.473	1.664	10.812	1	0.001	238.214
D16S539	3.355	1.460	5.280	1	0.022	28.652
D2S1338	4.627	1.764	6.877	1	0.009	102.231
D19S433	6.433	1.911	11.326	1	0.001	621.900
TPOX	6.952	2.605	7.124	1	0.008	1045.366
D18S51	3.999	1.810	4.881	1	0.027	54.554
D5S818	9.326	2.976	9.817	1	0.002	11223.860
FGA	9.292	4.012	5.363	1	0.021	10846.678
Constant	-12.191	3.562	11.716	1	0.001	0.000

$R^2 = 0.944$ ค่า Percentage Correct = 96.5

จากตาราง 4 พบว่ามี locus ทั้งหมด 10 ตำแหน่ง locus ที่มีนัยสำคัญสำหรับใช้ทำนายความเป็นพี่น้อง คือ D8S1179, D7S820, CSF1PO, D16S539, D2S1338, D19S433, TPOX, D18S51, D5S818, และ FGA และพบว่าตำแหน่งที่แสดงความสัมพันธ์สูง เป็นอันดับที่ 1 คือ D8S1179 $\text{Exp(B)} = 14472.247$ รองลงมาคือ D5S818 $\text{Exp(B)} = 11223.860$ ส่วน FGA $\text{Exp(B)} = 10846.678$ เป็นอันดับที่ 3 และ TPOX $\text{Exp(B)} = 1045.366$ เป็นอันดับที่ 4 โดยคำนวณค่า $R^2 = 0.944$ และร้อยละของการทำนายที่ถูกต้องเท่ากับ 96.5 สามารถแสดงได้ดังสมการ 4.1 และ 4.2

$$P(\text{พี่น้องที่แท้จริง}) = \frac{1}{1 + e^{-W}}$$

$$\begin{aligned} W = & -12.191 + (9.58 * D8S1179) + (6.34 * D7S820) + (5.473 * CSF1PO) + (3.355 * D16S359) \\ & + (4.627 * D2S1338) + (6.43 * D19S433) + (6.952 * TPOX) + (3.999 * D18S51) + (9.326 * D5S818) \\ & + 9.292 \cdot FGA \end{aligned} \dots\dots\dots(4.1)$$

$$P = \frac{e^{-12.191+9.58 \cdot D8S1179+6.34 \cdot D7S820+\dots 9.292 \cdot FGA}}{1 + e^{-12.191+9.58 \cdot D8S1179+6.34 \cdot D7S820+\dots 9.292 \cdot FGA}} \dots\dots\dots(4.2)$$

หมายเหตุ P คือ ความน่าจะเป็นของการเป็นพี่น้องที่แท้จริง

โดย $P \leq 0.5$ หมายความว่าไม่เป็นพี่น้องที่แท้จริง

โดย $P > 0.5$ หมายความว่า เป็นพี่น้องที่แท้จริง

จากการแทนค่าในสูตรที่ 4.2 ของคู่ที่เป็นพี่น้องที่แท้จริง จำนวน 100 คู่ ได้ค่า P (prob) ซึ่งส่วนใหญ่ค่า $P > 0.5$ จำนวน 98 คู่ และ ค่า $P \leq 0.5$ จำนวน 2 คู่ คือคู่ตัวอย่างที่ 46 และ 51 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความถูกต้อง 98% ส่วนคู่ที่ไม่ใช่พี่น้องที่แท้จริง จำนวน 100 คู่ ได้ค่า P (prob) ซึ่งส่วนใหญ่ค่า $P \leq 0.5$ เป็นจำนวน 95 คู่ และ ค่า $P > 0.5$ จำนวน 5 คู่ คือคู่ตัวอย่างที่ 16 , 62 , 76 , 86 และ 93 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความถูกต้อง 95%

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาจำนวน locus บน chromosome ที่ได้จากการตรวจ STR Profile 15 ตำแหน่งที่มีความซ้ำกันของกลุ่มตัวอย่างพี-น้องที่แท้จริงที่เกิดจากบิดาและมารดาเดียวกัน พบว่า จำนวน locus ที่ตรงกันสำหรับพี-น้องที่แท้จริง มากกว่า 5 คู่ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p = 0.003$) ส่วนคู่ที่ไม่ใช่พี-น้องที่แท้จริงจำนวน locus ที่ตรงกันเฉลี่ย 1.01 คู่ มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.999

จากข้อมูลที่น่ามาศึกษาทั้งสองกลุ่มสรุปได้ว่าจำนวน locus บน chromosome ที่เหมือนกันมากกว่า 5 คู่ สามารถยืนยันได้ว่าเป็นพี-น้องที่แท้จริงได้ แต่ถ้ามีจำนวน locus บน chromosome ที่เหมือนกันน้อยกว่า 5 คู่ จะไม่สามารถตอบยืนยันได้ว่าเป็นพี-น้องที่แท้จริงได้ เพราะจากข้อมูลของกลุ่มตัวอย่างพี-น้องที่แท้จริงที่เกิดจากบิดาและมารดาเดียวกัน พบว่า จำนวน locus ที่ตรงกันน้อยกว่า 5 คู่ มากถึง 52 คู่พี-น้อง

การศึกษาความสัมพันธ์ของตำแหน่ง locus บน chromosome ที่เหมือนกันเพื่อบอกถึงความสัมพันธ์พี-น้องที่แท้จริงจากข้อมูลทั้งสองกลุ่มตัวอย่างพบว่ามีตำแหน่ง locus เหมือนกัน ตรงตำแหน่ง TPOX มากที่สุด รองลงมาคือตำแหน่ง THO1 และตำแหน่ง CSF1PO เป็นลำดับที่ 3 เหมือนกันทั้งสองกลุ่ม ด้วยข้อมูลดังกล่าวทำให้ไม่สามารถช่วยจำแนกความเป็นพี่น้องได้ ซึ่งเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์พบว่าตำแหน่ง TPOX และตำแหน่ง THO1 มีค่า polymorphism information content (PIC) คือค่าที่แสดงความหลากหลายของข้อมูลในตำแหน่งที่ศึกษา ซึ่งตำแหน่งที่มีความหลากหลายน้อยที่สุดคือ ตำแหน่ง TPOX มีค่าเท่ากับ 0.55 ทำให้ตำแหน่ง TPOX มีความเหมือนตำแหน่ง locus ถึงแม้ว่าไม่ได้เป็นญาติที่ก็ตาม จึงสรุปได้ว่า ตำแหน่ง locus บน chromosome ที่เหมือนกันไม่สามารถบอกถึงความสัมพันธ์พี่น้องกันได้

การศึกษาความสัมพันธ์ของ locus บน chromosome ที่จำแนกความเป็นพี-น้องที่แท้จริง และไม่ใช่พี-น้องที่แท้จริง การใช้เทคนิคทางสถิติ Logistic regression analysis ทำนายค่าความน่าจะเป็นความเป็นพี-น้องที่แท้จริงจากตำแหน่ง locus ที่เหมือนกัน จาก locus 15 ตำแหน่งที่ได้รับจากบิดา-มารดา จากการวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธีทางสถิตินี้พบว่า มี locus ทั้งหมด 10 locus ที่มีนัยสำคัญสำหรับใช้พิสูจน์บุคคลความเป็นพี-น้องที่แท้จริง คือ D8S1179, D7S820, CSF1PO, D16S539, D2S1338, D19S433, TPOX, D18S51, D5S818, และ FGA พบว่าตำแหน่งที่แสดงความสัมพันธ์สูง อันดับที่ 1 คือ D8S1179 มีค่า $\text{Exp}(B) = 14472.247$ อันดับที่ 2 คือ D5S818 มีค่า $\text{Exp}(B) = 11223.860$ อันดับที่ 3 คือ FGA มีค่า $\text{Exp}(B) = 10846.678$ อันดับ 4 คือ TPOX มีค่า $\text{Exp}(B) = 1045.366$

จากข้อมูลทางสถิติที่ได้ช่วยตอบคำถามความเป็นพี-น้องของบุคคลได้ในระดับที่ 96.50% ซึ่งจะยังประโยชน์ในการพิสูจน์ความเป็นพี-น้องในคดีความต่าง ๆ

อภิปรายผล

1. การศึกษาจำนวน locus บน chromosome ที่ได้จากการตรวจ STR Profile 15 ตำแหน่งที่มีความซ้ำกัน พบว่า จำนวน locus ที่ตรงกันสำหรับพี-น้องที่แท้จริง มากกว่า 5 คู่ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 จากข้อมูลที่น่าสนใจทั้งสองกลุ่มสรุปได้ว่าจำนวน locus บน chromosome ที่เหมือนกันมากกว่า 5 คู่ สามารถยืนยันได้ว่าเป็นพี-น้องที่แท้จริงได้ แต่ถ้ามีจำนวน locus บน chromosome ที่เหมือนกันน้อยกว่า 5 คู่ จะไม่สามารถตอบยืนยันได้ว่าเป็นพี-น้องที่แท้จริงได้ เพราะจากข้อมูลของกลุ่มตัวอย่างพี-น้องที่แท้จริงที่เกิดจากบิดา มารดาเดียวกัน พบว่า จำนวน locus ที่ตรงกันน้อยกว่า 5 คู่ มากถึง 52 คู่พี-น้อง ซึ่งก็หมายความว่า คู่ตัวอย่างที่มี locus เหมือนกัน 4 คู่ หรือ 3 คู่ก็สามารถเป็นพี-น้องที่แท้จริงได้ เพียงแต่จำนวนคู่เหมือนของ locus บน chromosome จะไม่สามารถบอกได้ เพราะฉะนั้น จำนวนคู่เหมือนของ locus บน chromosome จะสามารถคัดกรองได้ในระดับหนึ่ง ยังจำเป็นต้องใช้วิธีอื่น ๆ ร่วมวิเคราะห์ด้วย

2. การศึกษาความสัมพันธ์ของตำแหน่ง locus บน chromosome ที่เหมือนกันเพื่อบอกถึงความสัมพันธ์พี - น้อง ที่แท้จริงจากการศึกษาข้อมูลทั้งสองกลุ่มพบว่า ตำแหน่ง locus บน chromosome ที่เหมือนกันของประชากรไทยมีความหลากหลายค่อนข้างน้อยในหลายตำแหน่งของ locus บน chromosome เช่น TPOX และ THO1 ทำให้พบตำแหน่ง locus บน chromosome ที่เหมือนกัน ทั้งที่ไม่ได้เป็นญาติพี-น้องกันเลยก็ตาม

3. การศึกษาความสัมพันธ์ของ locus บน chromosome ที่จำแนกความเป็นพี-น้องที่แท้จริง และไม่ใช่พี-น้องที่แท้จริง การใช้เทคนิคทางสถิติ Logistic regression analysis ทำนายค่าความน่าจะเป็นความเป็นพี-น้องที่แท้จริงจากตำแหน่ง locus ที่เหมือนกันจากกลุ่มตัวอย่าง 200 คู่ สามารถทำนายถูกต้องที่ 96.5% มีเพียง 7 คู่ที่ทำนายผิดพลาด คือ 3.5% ซึ่งคู่ที่ผิดพลาดมักพบในตำแหน่ง TPOX, D7S820, CSF1PO, D16S539, D5S818, และ D19S433 ดังนั้นตำแหน่งเหล่านี้ต้องระมัดระวังในกรณีที่ตรวจพบ

ข้อเสนอแนะ

1. ข้อเสนอแนะจากการวิจัย ผลการตรวจพิสูจน์จะเหมาะสมสำหรับ พี-น้องที่ บิดา-มารดา ได้เสียชีวิต หรือหายสาบสูญไป และจะเพิ่มความน่าเชื่อถือมากขึ้น หากมีการตรวจสอบสารพันธุกรรมทางสายพันธุ์บิดา (Y-Chromosome) หรือสายพันธุ์มารดา (Mitochondrial DNA) ร่วมด้วย

2. ข้อเสนอแนะจากการวิจัยครั้งต่อไป ควรมีการศึกษา STR ในตำแหน่งอื่นเพิ่มเติม อาจใช้วิธีการสังเคราะห์ไพรเมอร์ขึ้นใหม่หรือใช้วิธีการการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากชุดสำเร็จรูป PowerPlex 16 ของ

บริษัท Promega เนื่องจากมีตำแหน่งที่ใช้ในการวิเคราะห์แตกต่างกันกับชุดสำเร็จรูป AmpF[®]STR Identifiers 2 ตำแหน่ง หรือใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปทั้งสองชุดรวมกัน จะมีตำแหน่งที่ใช้วิเคราะห์เพิ่มเป็น 17 ตำแหน่ง ซึ่งในปัจจุบันพบงานวิจัยจากต่างประเทศได้ทำการทดลองด้วยวิธีนี้

References

1. A.P. Dawid, J. Mortera and V.L. Pascali, Non-fatherhood or mutation? A probabilistic approach to parental exclusion in paternity testing, *Forensic Sci Int.* 124 (2001), pp. 55–61.
2. T. Bhoopat and H.F. Steger, STR loci Penta D and Penta E: data from a Northern Thai population sample, *Leg Med. (Tokyo)* 6 (2004), pp. 174–177.
3. T. Egeland and P. Mostad, Statistical genetics and genetical statistics: a forensic perspective, *Scand J Stat.* 29 (2002), pp. 297–307.
4. W. Chantratita, B. Rerkamnuaychoke, U. Jomsawat, J. Thanakitgosate, T. Ruangvithayanon and P. Rojanasunan, Thai population data on nine tetrameric STR loci—D3S1358, vWA, FGA, TH01, TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317 and D7S820, *Forensic Sci Int.* 115 (2001), pp. 113–115.
5. D.X. Huang, L. Zhang and M.Y. Wu, Locus frequency distributions for three STR loci in the Han and Thai populations, *J Forensic Sci.* 45 (2000), p. 1352.
6. B. Rerkamnuaychoke, W. Chantratita, U. Jomsawat, J. Thanakitgosate, T. Ruangvithayanon and P. Rojanasunan, Database of nine tetrameric STR loci—D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317 and D7S820 in Thai population, *Forensic Sci Int.* 119 (2001), pp. 123–125.
7. T. Yoshimoto, T. Yamamoto, M. Mizutani, R. Uchihi, H. Ohtaki, Y. Katsumata, W. Waiyawuth and S. Songsivilai, A novel fluorescent quadruplex STR typing system and the locus frequency distributions in a Thai population, *J Forensic Sci.* 48 (2003), pp. 116–121.
8. DNA database. <http://www.cstl.nist.gov/div831/strbase/mutation.htm>. Accessed January 10, 2011.
9. DNA database. <http://www.dna-view.com>. Accessed January 10, 2011.

การใช้ HVR III เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจพิสูจน์บุคคลด้วยไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในกลุ่มประชากรภาคกลางของประเทศไทย

สุทัศน์ ดวงจิตร *

สายศิริ มีระเสน **

บทคัดย่อ

การตรวจพิสูจน์บุคคลโดยใช้สารพันธุกรรมในงานนิติวิทยาศาสตร์นั้น มีหลักการตรวจพิสูจน์สารพันธุกรรมจาก 2 แหล่งสำคัญคือ นิวเคลียร์ดีเอ็นเอ และไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ เนื่องจากข้อดีและข้อเสียของสารพันธุกรรมทั้งสองส่วนนั้นทำให้การประยุกต์ใช้แตกต่างกัน โดยที่สารพันธุกรรมในนิวเคลียส หรือนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ นั้นมีข้อดีคือ มีความสามารถในการแยกแยะบุคคลได้สูง แต่ในขณะที่เดียวกันกลับมีปัญหการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างที่มีการเน่าสลายหรือตัวอย่างที่มีจำนวนปริมาณเซลล์น้อยมาก ๆ แต่ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ นั้นมีจุดเด่นที่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างส่งตรวจที่มีการเน่าสลายหรือมีความเก่ามาก ๆ ได้ แต่ข้อด้อยคือก่อกำล้างการแยกแยะค่อนข้างต่ำ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งเน้นในการตรวจสอบตำแหน่งการตรวจวิเคราะห์ในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอเพิ่มเติม เพื่อดูว่ามีความสามารถนำมาใช้ในการเพิ่มกำลังการแยกแยะในประชากรไทยภาคกลางได้หรือไม่ โดยการนำ HVR III มาร่วมการตรวจวิเคราะห์ในงานทั่วไปของห้องปฏิบัติการนิติวิทยาศาสตร์จากตัวอย่างประชากร 100 คน ที่ไม่มีความเกี่ยวข้องกันทางสายเลือดฝ่ายมารดา ผลการศึกษาโดยใช้ HVR III ในการตรวจพิสูจน์พบว่า การใช้ HVR III ในการตรวจพิสูจน์อย่างเดียวยังสามารถแยกแยะกลุ่มตัวอย่างได้ 16 กลุ่ม และมีค่ากำลังการแยกแยะ 0.7858 หากเมื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ร่วมกับ HVR I และ II สามารถเพิ่มกำลังการแยกแยะได้สูงถึง 0.9900 จากการศึกษาครั้งนี้จึงสรุปได้ว่าการนำ HVR III มาตรวจร่วมกับ HVR I และ II สามารถเพิ่มขีดความสามารถการตรวจพิสูจน์โดยใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในประชากรไทยภาคกลางได้เป็นอย่างดี

คำสำคัญ: ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ เอชวีอาร์-3 นิติวิทยาศาสตร์

* อาจารย์ ศูนย์นิติวิทยาศาสตร์ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

** อาจารย์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

Abstract

There are two main sources of DNA in forensic personal identifications. The primary source for DNA utilization is the nuclear DNA and the other one is mitochondrial DNA. Although the nuclear DNA possesses a high discrimination power, its low copy number causes the difficulty for analysis, especially, in degraded biological evidences. In contrast, the mitochondrial DNA (mtDNA) possesses a high copy number providing more successful analysis in degraded samples even though with low discrimination power. This experiment aimed to study the characteristic of the mtDNA based on other region besides HVR I and II that have been used in general identification to increase the discrimination power. This study focused on the region called HVR III in D-loop of mitochondrial DNA located at the sequence position 438 to 574. The experiment employed the sequencing method, base sequencing analysis by comparing with Anderson's standard pattern in 100 subjects that were not maternally related. The HVR III polymorphism from 100 subjects had 16 groups and discrimination power was 0.7858. The HVR III was taken to combine with HVR I and II, the polymorphism had increased to 100 and discrimination power was 0.9900. Analysis of 3 fragments showed higher discrimination power than using only two conventional fragments, which provided the discrimination power only 0.9896. Therefore, HVR III can increase discrimination power of mtDNA analysis when combined the results with the HVR I and II for personal identification in Thai forensic cases.

Keywords: mitochondrial DNA, HVR III, forensic science

บทนำ

การตรวจพิสูจน์บุคคลโดยใช้สารพันธุกรรม หรือที่เรียกว่า “ดีเอ็นเอ” นั้นเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ซึ่งการตรวจพิสูจน์นี้สามารถแก้ไขปัญหาอาชญากรรมต่าง ๆ ได้ เช่น ปัญหาอาชญากรรม การก่อการร้าย ปัญหาบุคคลสูญหาย หรือแม้แต่กรณีอุบัตินัยหมู่ เช่น เหตุการณ์เครื่องบินตก หรือเหตุการณ์ซีนามิในแถบประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเอเชียใต้ที่ผ่านมา ปัญหาและอาชญากรรมเหล่านี้มีการตรวจพิสูจน์โดยใช้นิวเคลียร์ดีเอ็นเอเป็นหลักเนื่องจากนิวเคลียร์ดีเอ็นเอสามารถที่จะระบุเอกลักษณ์บุคคลได้อย่างชัดเจน โดยใช้เทคโนโลยีการตรวจในส่วนที่ดีเอ็นเอที่มีคุณสมบัติการซ้ำกันเป็นชุด ๆ ของลำดับเบสที่เรียกว่า Short Tandem Repeat (STR) แม้ว่าประโยชน์ในการตรวจพิสูจน์โดยใช้นิวเคลียร์ดีเอ็นเอจะให้ผลด้านการพิสูจน์เอกลักษณ์ได้เป็นอย่างดี แต่การประยุกต์ใช้นิวเคลียร์ดีเอ็นเอก็ยังมีข้อจำกัด เช่น ในกรณีที่ตัวอย่างที่นำมาทำการตรวจพิสูจน์มีการเสื่อมสภาพ หรือตัวอย่างที่มีจำนวนเซลล์อยู่เพียงเล็กน้อย เช่น เส้นผม หรือกระดูกที่มีความเก่าแก่มาก ๆ ตัวอย่างที่ส่งตรวจเหล่านี้จะทำให้การวิเคราะห์ด้วยวิธี STR มีโอกาสประสบความสำเร็จได้น้อย ดังนั้นในกรณีเหล่านี้จึงนำการตรวจวิเคราะห์อีกวิธีหนึ่งมาใช้ นั่นคือการตรวจพิสูจน์สารพันธุกรรมจากไมโทคอนเดรีย หรือที่เรียกว่าไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ข้อดีของการตรวจพิสูจน์สารพันธุกรรมโดยวิธีนี้คือ มีความสำเร็จผลของการตรวจในตัวอย่างที่มีการเน่าสลายอย่างที่กล่าวมาข้างต้น เนื่องจากคุณสมบัติที่มีจำนวนชุดของสารพันธุกรรมเป็นจำนวนมากในแต่ละเซลล์ ในปัจจุบันนี้การตรวจพิสูจน์ด้วยไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอในห้องปฏิบัติการทางนิติ

วิทยาศาสตร์เป็นการตรวจลำดับเบสในส่วนของ D-loop ตรงตำแหน่งที่เรียกว่า HVR I และ HVR II (Hypervariable region I and II) เท่านั้น² ซึ่งเพียงพอต่อการระบุบุคคลที่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดมารดาเดียวกันในลักษณะการตรวจแบบหนึ่งต่อหนึ่ง หรือหนึ่งต่อจำนวนผู้สงสัยจำนวนไม่มากนัก แต่ในกรณีการตรวจอุบัตัยหมู่ หรือการตรวจพิสูจน์ที่ต้องจับคู่จำนวนมากนั้น การวิเคราะห์โดยใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ มักจะเกิดปัญหา เนื่องจากมีค่ากำลังการแยกแยะ (discrimination power) ต่ำ⁶ ซึ่งจะส่งผลให้บุคคลที่ไม่มีความเกี่ยวข้องทางสายเลือดมารดาเดียวกันมีความเหมือนกันของลำดับเบสในการวิเคราะห์ได้ ดังนั้นการศึกษาค้นคว้ามุ่งเน้นวิเคราะห์คุณสมบัติตำแหน่งการตรวจใหม่โดยใช้ตำแหน่งที่เรียกว่า HVR III (Hypervariable region III) ซึ่งเป็นตำแหน่งของลำดับเบสใน D-loop จากลำดับเบสที่ 438 ถึง 574 เพื่อใช้ในการตรวจพิสูจน์เพิ่มเติมในงานการตรวจวิเคราะห์โดยใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในห้องปฏิบัติการทางนิติวิทยาศาสตร์

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากผู้มารับบริการการตรวจจากหน่วยทาลัสซีเมีย โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวรจำนวน 100 คน ซึ่งประชากรที่ทำการทดลองจะต้องอยู่ในภาคกลาง 22 จังหวัด และ ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดทางมารดาเดียวกัน หลังจากนั้นทำการสกัดสารพันธุกรรมจากเลือดโดยวิธี Chelex[®] 100 เมื่อได้สารพันธุกรรมจากการสกัดแล้ว นำมาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธีการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง หรือ กระบวนการพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ดังตารางที่ 1 ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเครื่องนั้น มีการปรับสภาวะดังนี้ ขั้นตอน Pre-heat ที่ระดับ 94.0 °C เป็นเวลา 4 นาที ขั้นตอน Denature ที่ระดับ 94.0 °C เป็นเวลา 45 วินาที ขั้นตอน Annealing ที่ระดับ 55.0 °C เป็นเวลา 30 วินาที ขั้นตอน Extension ที่ระดับ 72 °C เป็นเวลา 30 วินาที และขั้นสุดท้าย Final extension ที่ระดับ 72.0 °C เป็นเวลา 7 นาที กระบวนการทั้งหมดทำซ้ำจำนวน 30 รอบ หลังจากได้สารพันธุกรรมที่ผ่านการกระบวนการการเพิ่มปริมาณแล้วนำสารพันธุกรรมทั้งหมดไปผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุดสำเร็จรูป QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN, USA) หลังจากได้สารพันธุกรรมที่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ลำดับหาเบสต่อไป เมื่อได้ลำดับเบสแล้วทำการตรวจเปรียบเทียบลำดับเบสโดยใช้ลำดับเบสของ Anderson หรือ Cambridge Reference Sequence (CRS)¹ เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบ หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ค่าสถิติดังต่อไปนี้

- 1.ค่าความน่าจะเป็นในการจับคู่แบบสุ่ม (Random match probability (P)) = $\sum(X_i^2)$

- 2.ค่ากำลังการแยกแยะ (Discrimination power(D_p)) = $1 - \sum(X_i^2)$

- 3.ค่าความหลากหลายของรูปแบบสารพันธุกรรม (Haplotype diversity (h)) = $(1 - \sum(X_i^2))n / (n-1)$ เมื่อ X_i คือความถี่ของรูปแบบสารพันธุกรรม (Haplotype) และ n คือจำนวนประชากร⁸

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์ในกระบวนการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในแต่ละตำแหน่งการตรวจวิเคราะห์

ตำแหน่ง	สายไพรเมอร์	ลำดับเบส
HVRI	L15997	5'-CAC CAT TAG CAC CCA AAG CT-3'
	H16401	5'-TGA TTT CAC GGA GGA TGG TG-3'
HVRII	L 29	5'-GGT CTA TCA CCC TAT TAA CCA C-3'
	H 408	5'-CTG TTA AAA GTG CAT ACC GCC A-3'
HVRIII	L182	5'-CGC ACC TAC GTT CAA TAT TAC-3'
	H619	5'-GGT GAT GTG AGC CCG TCT AA-3'

ผลการทดลอง

ผลการศึกษา HVR III ซึ่งมีตำแหน่งในส่วนของลำดับเบสที่ไม่ได้ใช้ในการถอดรหัส (non coding region) บริเวณตำแหน่งที่ 438 ถึง 573 ในกลุ่มตัวอย่าง 100 คน ผลปรากฏว่าพบรูปแบบสารพันธุกรรม (Haplotype) ทั้งหมด 16 แบบ ส่วนในตำแหน่ง HVR I และ II พบรูปแบบสารพันธุกรรมเป็นจำนวน 81 และ 74 แบบตามลำดับ เมื่อนำตำแหน่งการวิเคราะห์มารวมกันพบว่าการรวมตำแหน่ง HVR I และ II จะทำให้มีรูปแบบสารพันธุกรรมเพิ่มเป็น 98 แบบ และเมื่อนำตำแหน่งการวิเคราะห์ทั้ง 3 ตำแหน่งมาใช้ร่วมกันจะทำให้รูปแบบสารพันธุกรรมเพิ่มขึ้นเป็น 100 แบบ

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าจำนวนของการเปลี่ยนแปลงในนิวคลีโอไทป์ในแต่ละตำแหน่งการตรวจวิเคราะห์พบว่า HVR I มีตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากลำดับเบสอ้างอิง 97 ตำแหน่งคิดเป็นร้อยละ 28.36 ส่วนตำแหน่งการวิเคราะห์ HVR II และ III พบการเปลี่ยนแปลงไปจากลำดับเบสอ้างอิง 40 ตำแหน่ง (ร้อยละ 14.93) และ 13 ตำแหน่ง (ร้อยละ 9.49) ตามลำดับ ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 2

นอกจากนี้เมื่อนำข้อมูลในแต่ละตำแหน่งการตรวจไปวิเคราะห์ทางสถิติพันธุศาสตร์พบว่า ในแต่ละตำแหน่งการตรวจมีค่ากำลังการแยกแยะในตำแหน่งที่ 1 ที่ 2 และที่ 3 เท่ากับ 0.9844 0.9754 และ 0.7858 ตามลำดับ และเมื่อนำตำแหน่งการตรวจมาวิเคราะห์ร่วมกันจะพบว่ามีค่ากำลังการแยกแยะเพิ่มมากขึ้นดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ตำแหน่งของลำดับเบสที่มีการเปลี่ยนแปลงในแต่ละตำแหน่งของการตรวจ

ตำแหน่ง การตรวจ	ตำแหน่งของ ลำดับเบสและความยาว	ตำแหน่งเบสที่มีการเปลี่ยนแปลง (คิดเป็นร้อยละของความยาว)
HVR I	16024 - 16365 (342 bp)	16041 16042 16051 16058 16059 16075 16086 16093 16097 16108 16109 16118 16124 16126 16129 16136 16140 16141 16147 16148 16153 16157 16161 16162 16167 16169 16172 16173 16181 16182 16183 16184 16187 16189 16192 16193 16194 16206 16209 16212 16214 16217 16218 16219 16221 16223 16224 16225 16232 16234 16235 16239 16244 16249 16256 16257 16259 16260 16261 16263 16264 16266 16270 16271 16272 16274 16278 16287 16288 16290 16291 16292 16293 16294 16295 16296 16297 16298 16301 16304 16309 16311 16312 16316 16319 16320 16324 16325 16327 16328 16334 16344 16352 16354 16355 16357 16362 (ร้อยละ28.36)
		073 091 093 114 125 127 128 131 143 146 150 151 152 153 184 185 187 189 194 195 199 200 204 205 207 210 228 229 246 249 263 298 309 315 316 318 324 326 329 332 (ร้อยละ14.93)
HVR II	73 - 340 (268 bp)	
HVR III	438 - 574 (137 bp)	455 463 464 466 479 482 485 489 513 522 523 553 568 (ร้อยละ 9.49)

ตารางที่ 3 ค่าสถิติทางพันธุศาสตร์ในตำแหน่งการตรวจต่างๆ และในตำแหน่งการตรวจเมื่อนำมาวิเคราะห์ร่วมกัน

ตำแหน่งการตรวจ วิเคราะห์	จำนวนของ รูปแบบสาร พันธุกรรม	Statistic (n=100)		
		ค่าความน่าจะเป็นในการจับคู่ แบบคู่ (P)	ค่ากำลังการแยกแยะ (Dp)	ค่าความหลากหลายของ รูปแบบสารพันธุกรรม (h)
HVR I	81	0.0156	0.9844	0.9943
HVR II	74	0.0246	0.9754	0.9853
HVR III	16	0.2142	0.7858	0.7973
HVR I และ II ร่วมกัน	98	0.0104	0.9896	0.9996
ทั้ง 3 HVR ร่วมกัน	100	0.0100	0.9900	1.0000

วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้แม้ว่าค่ากำลังการแยกแยะของ HVR III จะมีค่าค่อนข้างต่ำคือ 0.7858 แต่หากนำไปคำนวณค่าทางสถิติรวมกับตำแหน่งการตรวจอื่น ๆ คือ HVR I และ HVR II ก็จะทำให้ค่ากำลังการแยกแยะเพิ่มมากขึ้นถึง 0.9900 ซึ่งในกรณีนี้จะมีประโยชน์อย่างมากในกรณีการตรวจพิสูจน์บุคคลในกรณีอุบัตินัยหมู่ หรือ การตรวจพิสูจน์ที่มีจำนวนตัวอย่างมาก ๆ ในกรณีที่ไม่สามารถตรวจด้วยวิธี STR ได้ และค่ากำลังการแยกแยะที่เพิ่มขึ้นย่อมทำให้การจำแนกบุคคลที่ไม่มีความสัมพันธ์กันถูกแยกออกจากกัน จากการศึกษาครั้งนี้ยังพบอีกว่ามีตัวอย่าง 2 คู่ (4 ตัวอย่าง) ที่ไม่สามารถแยกด้วยการใช้ HVR I และ HVR II ได้เนื่องจากลักษณะของลำดับเบสในตำแหน่งดังกล่าวของทั้ง 2 คู่ มีความเหมือนกันทุกประการ หากแต่เมื่อนำ HVR III มาตรวจวิเคราะห์ร่วมจึงสามารถแยกตัวอย่างทั้ง 4 ออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ ลักษณะดังกล่าวนี้ก็ได้มีการนำไปประยุกต์ใช้ในตรวจพิสูจน์ในห้องปฏิบัติการอื่น ๆ ในต่างประเทศ^{5,7} แต่ในปัจจุบันประเทศไทยยังไม่ได้นำ HVR III มาตรวจพิสูจน์ร่วมกับ HVR I และ II ในห้องปฏิบัติการ อาจเนื่องมาจากการตรวจพิสูจน์ทางไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในประเทศไทยนั้นยังใช้ในวงแคบ และการตรวจส่วนใหญ่ยังเป็นไปในลักษณะการตรวจแบบเปรียบเทียบโดยการจับคู่เท่านั้น เช่น การตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์ในลักษณะมารดากับบุตร หากตัวอย่างการตรวจสอบมีลักษณะของลำดับเบสเหมือนกันกับผู้อ้างอิงผลก็จะเป็นบวก นั้นแสดงว่ามีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดกับฝ่ายมารดาเดียวกัน ซึ่งมีความซับซ้อนน้อยและง่ายต่อการแปลผลเพราะมีตัวอย่างเพียงไม่กี่ตัวอย่าง แต่ในลักษณะการตรวจจับคู่เป็นจำนวนมาก ๆ ประเทศไทยยังไม่ได้้นำการตรวจโดยวิธีไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมาใช้ แม้ในการตรวจพิสูจน์ในเหตุการณ์ชันามักเป็นการตรวจโดยวิธี STR เป็นหลัก แต่อย่างไรก็ดีแม้ว่าการใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอยังไม่เป็นที่นิยมนักในงานการตรวจพิสูจน์บุคคล แต่ก็ไม่สามารถปฏิเสธการมีคุณค่าของการตรวจพิสูจน์ด้วยวิธีนี้ซึ่งมีการใช้ในการตรวจพิสูจน์บางประเภทซึ่งไม่สามารถตรวจด้วยวิธี STR ได้อย่างสมบูรณ์ยกตัวอย่าง เช่น การตรวจพิสูจน์โครงกระดูก ฟันที่มีความเก่าแก่มา ๆ หรือแม้แต่วัตถุพยาน เช่น เส้นผมโดยใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอและพบว่ามีความสำเร็จค่อนข้างสูง⁹ จากการศึกษาโดยใช้ตำแหน่งการตรวจทั้ง 2 ตำแหน่ง (HVR I และ II) ครั้งนี้พบว่าในกลุ่มประชากรมีค่าความน่าจะเป็นในการจับคู่แบบสุ่มคิดเป็นร้อยละ 1.04 เท่านั้น ซึ่งหมายความว่าโอกาสที่จะพบบุคคลที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดจะมีความเหมือนของลำดับเบสในตำแหน่งการตรวจทั้ง 2 ตำแหน่งมีน้อยมาก ซึ่งในศึกษาในกลุ่มประชากรญี่ปุ่น¹⁰ มีค่าความน่าจะเป็นในการจับคู่แบบสุ่มคิดเป็นร้อยละ 1.10 ชาวฝรั่งเศสมีค่าร้อยละ 1.30 และชาวออสเตรเลีย³ มีค่าร้อยละ 1.28 ซึ่งมีค่าสูงกว่าประชากรชาวไทยเล็กน้อย และหากนำการตรวจวิเคราะห์ทั้ง 3 ตำแหน่งจะพบว่ามีความน่าจะเป็นในการจับคู่แบบสุ่มในกลุ่มประชากรภาคกลางของประเทศไทยน้อยลงร้อยละ 1.00 เท่านั้นเอง

นอกจากค่าตัวเลขทางสถิติดังกล่าวแล้ว รูปแบบหรือลำดับเบสยังมียุคที่น่าสนใจใน HVR II คือ ตำแหน่งที่พบว่ามีความเหมือนในประชากรไทยคือ 73G 263G 309.1+C 315.1+C ซึ่งลักษณะลำดับเบสดังกล่าวสามารถพบได้ทุกตัวอย่างในการทดลองวิจัย นอกจากนั้นในตำแหน่งการวิเคราะห์ HVR III ยังพบว่าตำแหน่ง 459C และการหายไปของลำดับเบส (deletion) ในตำแหน่งที่ 522 และ 523 นั้น สามารถพบได้เกือบทั้งหมดของกลุ่มประชากร นอกจากนั้นในกรณีตำแหน่งการตรวจวิเคราะห์ HVR III นั้นจากลำดับเบสที่ 514 ถึง 523 มีลำดับเบสเป็น CACACACACA หรือ 5CA ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ลำดับเบสดังกล่าวจะเพิ่มขึ้นหรือขาดหายไปของลำดับเบสเป็นชุด ๆ (CA) สามารถทำให้แบ่งกลุ่มตัวอย่างได้เป็น 4 กลุ่ม คือ 3CA 4CA 5CA และ 6CA โดยมีจำนวน 1 ตัวอย่าง 45 ตัวอย่าง 53 ตัวอย่างและ 1 ตัวอย่างตามลำดับ ซึ่งการขาดหายหรือเพิ่มขึ้นของลำดับเบสเป็นชุดนี้มีลักษณะคล้ายกับ microsatellite ในการตรวจวิเคราะห์ในนิวเคลียร์ดีเอ็นเอซึ่งลักษณะในจุดนี้เพียงจุดเดียว สามารถจำแนกบุคคลได้เป็นกลุ่ม ๆ มากพอกับการจำแนกบุคคลในระบบเลือด A B O

แต่อย่างไรก็ดีทางผู้วิจัยยังเห็นว่าการนำลำดับเบสของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมาตรวจพิสูจน์ทั้งหมดได้ ก็จะทำให้การตรวจพิสูจน์นี้มีประสิทธิภาพสูงสุด⁴ แต่ทั้งนี้จะต้องคำนึงถึงค่าใช้จ่ายและการใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์ด้วย จะเห็นได้ว่าเมื่อคำนึงถึงข้อจำกัดเหล่านี้ HVR III ก็ยังถือว่าเป็นทางเลือกที่ดีทางเลือกหนึ่งในการเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์ด้วยไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในปัจจุบัน

สรุป

ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการตรวจสอบคุณสมบัติของตำแหน่งการตรวจใหม่ซึ่งได้แก่ HVR III เพื่อนำมาเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจที่ใช้ในปัจจุบัน เมื่อพิจารณาในเชิงสถิติจะพบว่าคุณลักษณะของ HVR III ยังถือว่ามีความสามารถจำกัดอยู่บ้าง แต่หากนำมาตรวจพิสูจน์ร่วมกับตำแหน่งการตรวจพิสูจน์อื่นที่ใช้ในห้องปฏิบัติการจะทำให้ประสิทธิภาพของการตรวจพิสูจน์เพิ่มมากขึ้น และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานการตรวจพิสูจน์บุคคลทางนิติวิทยาศาสตร์ได้ ซึ่งการเพิ่มตำแหน่งการตรวจพิสูจน์โดยใช้ HVR III เป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจพิสูจน์โดยใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอให้ดีขึ้นและมีความประหยัดทั้งด้านเวลาและค่าใช้จ่าย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณอย่างสูงสำหรับ ผศ.ดร.นพ.วรวิทย์ ไวยวุฒิ และ รศ.ดร. สุขกิจ ชะโสธรศรีกุล ผู้ให้คำปรึกษาแก่การทำวิจัย และการสนับสนุนทุนจากทุนพัฒนาศักยภาพด้านการวิจัยสำหรับอาจารย์ใหม่ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

References

1. Anderson S, Bankier AT, Barrel BG, et.al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290, (1981): 457-65.
2. Bender K., Peter MS, Rittner C. Application of mtDNA sequence analysis in forensic casework for the identification of human remains. *Forensic Science International* 113, 2000: 103-107.
3. Budowle B, Wilson MR, DiZinno JA, et.al, Mitochondrial DNA regions HVI and HVII population data. *Forensic Science International* 103, 1999: 23-35.
4. Coble M.D, Just RS, O'Callaghan JE, et. al, Single nucleotide polymorphisms over the entire mtDNA genome that increase the power of the forensic testing in Caucasians. *International Journal of Legal Medicine* 118, 2004: 137-146.
5. Fridman C.,Gonzalez RS, HV III discrimination power to distinguish HV I and HV II common sequences. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 2, 2009: 320-321.
6. Parsons JT, Coble DM, Increasing the forensic discrimination of the mitochondrial DNA testing through analysis of the entire mitochondrial DNA genome. *Croatian Medical Journal* 42, 2001: 304-309.
7. Lutz S, Wittig H, Weisser H.J.,et. al, Is it possible to differentiate mtDNA by means of HVIII in sample that cannot be distinguished by sequencing the HVI and HVII regions? *Forensic Science International* 113, 2000: 97-101.
8. Tajima F, Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123, 1989:585-595.
9. Goodwin W, Linacre A, Vanezis P, The use of mitochondrial DNA and short tandem repeat typing in the identification of air crash victims. *Electrophoresis* 20 (8), 1999: 1707-1711.
10. Yasuhisa S, Beate SB, Christian R, Keiichi T, Peter SM, Sequence polymorphism of mitochondrial DNA control region in Japanese. *Forensic Science International* 97, 1998: 155-64.

ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอและการประยุกต์ใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์

Mitochondrial DNA and forensic application

สุทัศน์ ดวงจิตร *

บทคัดย่อ

การพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลโดยสารพันธุกรรมในทางนิติวิทยาศาสตร์ส่วนใหญ่เกิดจากการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีจากนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ แต่ในบางกรณีการตรวจพิสูจน์ด้วยนิวเคลียร์ดีเอ็นเอนั้นยังมีข้อจำกัดบางประการ ในทางปฏิบัติจึงมีการประยุกต์ใช้การตรวจพิสูจน์ทางไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอเพื่อช่วยในห้วงการตรวจพิสูจน์เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ แม้ว่าความจำเพาะบุคคลของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอนั้นมีข้อจำกัด แต่ความสำคัญของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอนั้นอยู่ที่การเสริมข้อด้อยของการตรวจพิสูจน์ทางนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ เช่นความสามารถตรวจพิสูจน์ในสิ่งส่งตรวจที่มีการเน่าสลาย หรือในกรณีที่มีจำนวนหรือปริมาณของตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่มีน้อยเช่น คราบน้ำลาย คราบเลือด เส้นผม แม้กระทั่งในตัวอย่างที่มีความเก่าแก่เช่น โครงกระดูกโบราณ โดยทั่วไปสิ่งส่งตรวจเหล่านี้จะไม่สามารถตรวจพิสูจน์ทางนิวเคลียร์ดีเอ็นเอได้อย่างสมบูรณ์ แต่ในกรณีดังกล่าวสามารถตรวจพิสูจน์ด้วยไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอได้เพราะคุณลักษณะพิเศษที่สำคัญคือ มีจำนวนมากในแต่ละเซลล์ (high copy number) อีกประการหนึ่งการตรวจพิสูจน์ทางไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอนั้นมีประโยชน์ในการตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์ของบุคคลทางสายเลือดฝ่ายมารดา (maternal inheritance) เช่นกรณีการตรวจพิสูจน์ความเป็นญาติกันระหว่างลูกพี่ลูกน้องที่มีชายคนเดียวกัน ในกรณีที่พ่อและแม่ซึ่งเป็นญาติสายตรงได้เสียชีวิตไปแล้วซึ่งในลักษณะเช่นนี้การตรวจพิสูจน์ทางนิวเคลียร์ดีเอ็นเอค่อนข้างทำได้ยากในเรื่องของการแปรผลทางสถิติที่ซับซ้อน ดังนั้นหากจะทำการยืนยันด้วยไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอก็จะทำให้สามารถตรวจพิสูจน์บุคคลในกรณีนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ปัจจุบันการประยุกต์ใช้ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอนั้นมุ่งเน้นในส่วนที่มีการแปรผันของลำดับเบสในส่วนที่ไม่มีการถอดรหัสลำดับเบส ที่เรียกว่าส่วน non coding region หรือ D-loop และในปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้งานเพียง 2 ตำแหน่งคือ HVR I และ HVR II ซึ่งเป็นส่วนที่มีความแปรผันของลำดับเบสสูง และนำมาใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคลและความสัมพันธ์ทางเครือญาติในงานนิติวิทยาศาสตร์ แต่หากว่าการใช้เพียง D-loop นั้นมีค่ากำลังการแยกแยะบุคคลต่ำ จึงมีนักวิจัยที่คิดค้นหาตำแหน่งและวิธีการเพื่อเพิ่มความสามารถในการแยกแยะบุคคล เช่น การอ่านลำดับเบสทั้งจีโนม หรือการประยุกต์ใช้ single nucleotide polymorphisms (SNPs) แต่เทคนิคใหม่ที่คิดค้นมาส่วนใหญ่ยังอยู่เฉพาะห้องทดลองและยังไม่ได้ได้รับความนิยมนำมาใช้จริงในงานพื้นฐานของห้องปฏิบัติการทางนิติวิทยาศาสตร์มากนัก

* อาจารย์ ศูนย์นิติวิทยาศาสตร์ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

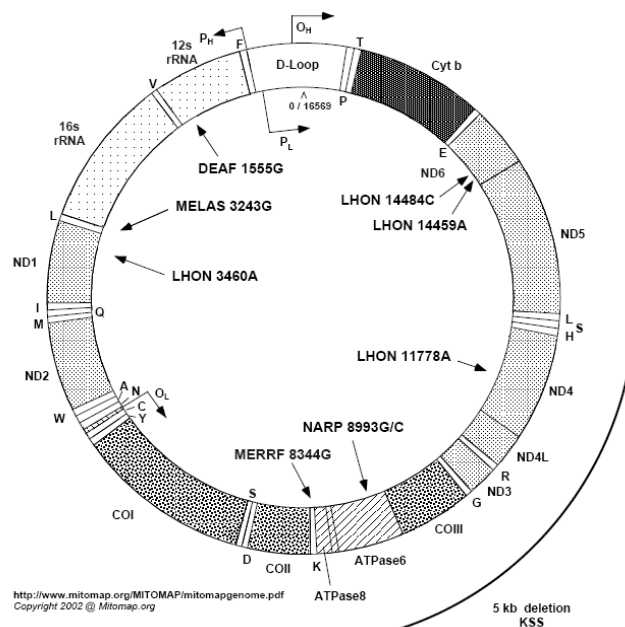
บทนำ

การตรวจพิสูจน์บุคคลโดยใช้เทคโนโลยีทางพันธุศาสตร์ เริ่มมีการนำมาใช้ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1985 โดยศาสตราจารย์ เซอร์อเล็ก เจฟฟรี ซึ่งเป็นการตรวจพิสูจน์บุคคลในคดีฆาตกรรมข่มขืนในประเทศอังกฤษ และเป็นจุดเริ่มต้นในการพิสูจน์บุคคลโดยใช้ประโยชน์จากคุณสมบัติของรหัสพันธุกรรมที่มีการเรียงตัวของลำดับเบสที่มีการซ้ำกันของลำดับเบส โดยใช้หลักการที่ว่าความแตกต่างหรือความหลากหลายของขนาดความยาวของสายดีเอ็นเอที่เกิดจากการแปรผันของชุดลำดับเบสที่ซ้ำกัน เรียกเทคนิคนี้ว่า VNTR (Variation Number Of Tandem Repeat) สาเหตุที่ทำให้ความยาวของดีเอ็นเอแตกต่างกันในแต่ละบุคคลเกิดจากการที่มีการเรียงลำดับเบสซ้ำกันเป็นชุด ๆ ของลำดับเบสในชิ้นส่วนนั้น ๆ ไม่เท่ากัน โดยอาศัยหลักการดังกล่าวนี้ ทำให้มีการพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ของนิวคลีอิคดีเอ็นเอมาใช้ลักษณะของไมโครแซทเทลไลต์หรือเรียกเทคนิคนี้ว่า short tandem repeat (STR) โดยในปัจจุบันนี้เทคนิคนี้ถูกนำไปใช้อย่างกว้างขวางในห้องปฏิบัติการทางนิติวิทยาศาสตร์ต่าง ๆ เพื่อใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคลซึ่งทำการพัฒนาการตรวจแบบ STR ไปเป็น multiplex STR ซึ่งเป็นการตรวจ STR มากถึง 16 ตำแหน่ง²⁰ และถูกนำไปใช้ในการแก้ไขปัญหาคดีอาญาใหญ่ทั้งการพิสูจน์บุคคลในอุบัตินัยหมู่ เช่น การพิสูจน์บุคคลจากการก่อวินาศกรรมที่เวิร์ลเทรดเซ็นเตอร์⁷ หรือภัยพิบัติธรรมชาติเช่นในพื้นที่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้เมื่อปี ค.ศ.2004²¹ แม้กระทั้งการยืนยันความเป็นบิดามารดาในงานทะเบียนราษฎรทั่วไป

นอกเหนือจากการนำรหัสพันธุกรรมจากส่วนที่อยู่ในนิวเคลียสมาใช้แล้ว มนุษย์ยังมีรหัสพันธุกรรมอีกส่วนหนึ่งที่อยู่นอกนิวเคลียสนั้นก็คือไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นดีเอ็นเอที่อยู่ภายในไมโทคอนเดรียนั่นเอง แต่การจะใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมีข้อจำกัดหลายประการเช่น ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอไม่สามารถชี้จำเพาะบุคคลได้และมีค่ากำลังการแยกแยะต่ำ อย่างไรก็ตามถึงแม้มีข้อจำกัดในการใช้งาน แต่ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอยังมีคุณสมบัติที่ดีว่าเป็นข้อเด่นหลายประการ เช่น สามารถใช้แสดงความสัมพันธ์ในเครือญาติฝ่ายมารดา⁶ ใช้ในกรณีที่สิ่งส่งตรวจไม่สามารถตรวจด้วยนิวคลีอิคดีเอ็นเอได้อย่างสมบูรณ์ในหลายกรณี เช่น กรณีสิ่งส่งตรวจเป็นเส้นผม^{4,23,29} โครงกระดูกที่มีอายุเก่าหรือมีการเผาไหม้^{10,25,29} หรือในสิ่งส่งตรวจที่มีการเน่าสลาย²² ด้วยเหตุผลต่าง ๆ เหล่านี้ในงานตรวจพิสูจน์บุคคล ปัจจุบันไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอยังเป็นที่ยอมรับและใช้ได้ ดังนั้นรายงานฉบับนี้จึงได้รวบรวมคุณสมบัติบางประการที่สำคัญและการประยุกต์ใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในงานตรวจพิสูจน์ทางนิติวิทยาศาสตร์เพื่อเป็นแนวทางการศึกษาต่อไป

ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ

ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ คือดีเอ็นเอที่อยู่ในไมโทคอนเดรีย ซึ่งไมโทคอนเดรียทำหน้าที่เสมือนเป็นโรงงานผลิตพลังงานสำหรับใช้ภายในเซลล์จากระบวนการหายใจระดับเซลล์ (cellular respiration) เชื่อกันว่าไมโทคอนเดรียมีวิวัฒนาการมาจากแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในเซลล์ยูคาริโอต แล้วค่อย ๆ พัฒนามาเป็นส่วนหนึ่งของเซลล์ตามทฤษฎี symbiosis¹⁵ ในเซลล์ของมนุษย์นั้น ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมีลักษณะเป็นวงกลมสายคู่ โดยเรียกสายที่มีลำดับเบสพิวรีนมากกว่าว่า สายเฮช หรือ heavy strand (H- strand) ส่วนอีกสายตรงข้ามที่มีลำดับเบสเป็นไพริมิดีนจำนวนมากนั้นเรียกว่าสายแอล หรือ light strand (L- strand) วงกลมของสายดีเอ็นเอนั้นจะมีจำนวนเบส 16,568 คู่เบส ($\approx 16\text{kb}$)² เท่านั้นหรือประมาณร้อยละ 0.001 ของดีเอ็นเอทั้งหมดในหนึ่งเซลล์ที่มีจำนวนคู่เบสทั้งหมดถึง 3 พันล้านคู่เบส และมีคุณสมบัติแตกต่างจากนิวเคลียร์ดีเอ็นเอหลายประการดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 นอกจากนี้ในจำนวน 16 kb ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอจะมีทั้งบริเวณที่ทำหน้าที่ในการถอดรหัสยีนที่ทำหน้าที่ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ และส่วนที่ไม่ใช้ในการถอดรหัส ที่เรียกว่า D-loop หรือ control region มีความยาวประมาณ 1,100 คู่เบส ($\approx 1.1\text{ kb}$) ในส่วนของยีนที่ทำหน้าที่ในการถอดรหัสนั้น มาสามารถถอดรหัสได้ทั้งหมด 37 ยีน โดย 28 ยีนมาจากการถอดรหัสจากสายเฮช มีเพียง 9 ยีนเท่านั้นที่ถอดรหัสมาจากสายแอล^{2,3,24}



รูปที่ 1 แสดงแผนผังของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ

คุณสมบัติสำคัญของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ

ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอเอ็นั้นมีคุณสมบัติที่แตกต่างจากนิวเคลียร์ดีเอ็นเอหลายประการ ซึ่งความต่างนั้นส่งผลให้การนำไปใช้มีข้อจำกัดและข้อดีแตกต่างจากนิวเคลียร์ดีเอ็นเอไปด้วย ซึ่งคุณสมบัติที่สำคัญของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอเอ็นั้นสรุปได้ดังนี้

คุณสมบัติการถ่ายทอดจากมารดา (maternal inheritance)

ลักษณะพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอเอ็นั้นได้รับการถ่ายทอดจากมารดาเท่านั้น^{9,13} ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้ส่งผลให้บุคคลที่มีสายเลือดมารดาหรือชายคนเดียวกันจะมีลักษณะพันธุกรรมไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอเหมือนกันทุกคน คุณสมบัติเด่นนี้ทำให้สามารถพิสูจน์บุคคลในคดีการตรวจพิสูจน์ในครอบครัวได้เป็นอย่างดี กระบวนการคัดลอกไมโทคอนเดรียจากกระบวนการการปฏิสนธินั้นเกิดจากขณะที่มีการปฏิสนธินั้นอสุจิจะแทรกเฉพาะส่วนหัวเข้าไปในไข่ที่สุกและทำการปฏิสนธิ ซึ่งขั้นตอนนี้เองเป็นด่านแรกในการป้องกันไม่ให้ไมโทคอนเดรียของเพศชายเข้าไปในไข่ได้ เพราะไมโทคอนเดรียของตัวอสุจิจะสามารถพบได้ในส่วนคอของตัวอสุจิเป็นส่วนใหญ่ แม้ว่าอาจมีบางส่วนของไมโทคอนเดรียของตัวอสุจิเข้าไปในไข่ได้ไม่ว่ากรณีใดก็ตามก็จะมีกระบวนการที่กำจัดทิ้งหรือทำให้ไม่สามารถทำงานได้ กระบวนการกำจัดไมโทคอนเดรียของตัวอสุจิที่ผลิตหลงเข้าไปในไข่นั้นจะมีกระบวนการกำจัดแต่ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดนัก Sutovsky และคณะ³² รายงานไว้ว่าไมโทคอนเดรียของตัวอสุจิจะมีโปรตีนชนิดหนึ่งที่เรียกว่ายูบิควิติน (ubiquitin) ซึ่งถูกสร้างมาพร้อมกับการสร้างเซลล์อสุจิ เมื่อไมโทคอนเดรียของเพศชายเข้าไปในเซลล์ไข่ของเพศหญิง เซลล์ไข่จะตรวจสอบพบว่าไมโทคอนเดรียจากเซลล์อสุจิที่มียูบิควิติน ซึ่งแสดงถึงความเป็นสิ่งแปลกปลอมที่มาจากนอกเซลล์จึงทำการกำจัดออกโดยวิธีสร้างถุงหุ้ม (lysosome) ล้อมรอบไมโทคอนเดรียของเพศชายแล้วทำการย่อยสลายภายในถุงแล้วขับออกนอกเซลล์ ด้วยสาเหตุนี้ไมโทคอนเดรียของเซลล์อสุจิจึงไม่สามารถทำงานหรือเพิ่มจำนวนในตัวอ่อนได้ แต่ในบางกรณีก็สามารถพบความแตกต่างจากลักษณะที่ปกติได้ เช่นในการศึกษาของ Schwartz และ Vissing³¹ ได้รายงานไว้ว่า พบจีโนมของไมโทคอนเดรียทั้งของบิดาและมารดา ซึ่งในรายงานระบุว่า คนไข้ชายอายุ 28 ปี มีลักษณะลำดับเบสของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอเหมือนบิดาในเซลล์กล้ามเนื้อ แต่เซลล์ส่วนอื่น ๆ มีลักษณะเหมือนมารดา ในรายงานยังระบุว่าชายคนดังกล่าวมีความผิดปกติทางด้านกล้ามเนื้อด้วยความบกพร่องในการสร้างเอ็นไซม์ที่ใช้ในกระบวนการการหายใจระดับเซลล์ โดยมีการขาดหายไป (deletion) ของลำดับเบสสองตัวในยีนที่ถอดรหัส ND2 หรือที่เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า MTND2 ทำให้เกิดอาการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อขึ้น จากเหตุผลดังกล่าวอาจกล่าวได้ว่าบุคคลที่มีความผิดปกติทางร่างกายจะมีลักษณะของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอเหมือนกับมารดาเท่านั้น และนี่เป็นสาเหตุที่ทำให้มีการใช้ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอมาตรวจพิสูจน์ความเป็นมารดาและบุตรหรือวงศ์เครือญาติที่มีความสัมพันธ์ทางมารดาหรือชายเดียวกัน ดังกรณีในอดีตเช่น

กรณีการตรวจพิสูจน์กระดูกที่สงสัยว่าเป็นของพระราชวงศ์รัสเซีย¹⁴ โดยเปรียบเทียบกับกระหว่างจักรพรรดินีอเล็กซานดร้ากับเจ้าชายฟิลิปป์พระสวามีของสมเด็จพระราชินีนาถเอลิซาเบธที่ 2 ที่เป็นพระญาติห่าง ๆ ที่ยังมีพระชนม์ชีพอยู่ หรือกรณีทหารอากาศอเมริกันในสงครามเวียดนามที่มีการตรวจพิสูจน์ซากกระดูกที่เหลืออยู่เทียบกับมารดาของผู้ตายซึ่งทำให้สามารถระบุได้ว่า ซากกระดูกนั้นเป็นของบุตรชายที่ร่วมเข้ารับในสงครามเวียดนาม¹⁶ และกรณีทหารอเมริกาที่ไปรบในสงครามเกาหลีก็ได้รับการตรวจพิสูจน์ด้วยไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอเช่นเดียวกัน

คุณสมบัติด้านจำนวนมากในแต่ละเซลล์ (high copy number)

ในเซลล์ทั่ว ๆ ไปนั้นสามารถพบไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอได้ในปริมาณมาก โดยเฉลี่ยแล้วในเซลล์หนึ่ง ๆ จะสามารถพบจำนวนไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอได้ถึงหนึ่งพันถึงสามพันชุด³⁰ ขึ้นอยู่กับว่าเซลล์นั้นมีความต้องการในการใช้พลังงานปริมาณมากน้อยแค่ไหน และภายในไมโทคอนเดรียหนึ่งอันสามารถพบไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอได้สองถึงสามชุด ดังนั้นในหนึ่งเซลล์อาจพบไมโทคอนเดรียได้เป็นหลักร้อยถึงหลักพันขึ้นอยู่กับหน้าที่และการใช้พลังงานของเซลล์เอง คุณสมบัตินี้เองเป็นตัวที่ทำให้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอถูกนำมาใช้ในกรณีที่นิวเคลียร์ดีเอ็นเอไม่สามารถใช้งานได้อย่างสมบูรณ์ เช่น กรณีที่มีการเน่าสลายของสิ่งส่งตรวจ คราบน้ำลาย นิวเคลียร์ดีเอ็นเอซึ่งพบเพียงชุดเดียวในนิวเคลียสจะถูกย่อยสลายไป แต่โอกาสที่จะพบไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่ยังคงสภาพเดิมขึ้นจะมีมากกว่า หรือแม้แต่ในกรณีการตรวจพิสูจน์วัตถุชีวภาพที่มีอายุเก่าแก่มากอย่างเช่นโครงกระดูกโบราณ^{12,17} ซึ่งจะไม่สามารถตรวจโดยนิวเคลียร์ดีเอ็นเอได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสิ่งส่งตรวจที่ไม่มีนิวเคลียร์ดีเอ็นเอก็ยังสามารถตรวจพิสูจน์โดยไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอได้ เช่น เส้นผม แม้ว่าคุณสมบัตินี้เป็นข้อดีของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอแต่ก็ต้องระมัดระวังเรื่องของการปนเปื้อนได้ง่าย หรือแม้กระทั่งกรณีของ heteroplasmy ซึ่งอาจทำให้เข้าใจผิดว่ามีการปนเปื้อนของสิ่งส่งตรวจได้

คุณสมบัติด้านอัตราการกลายพันธุ์ (mutation rate)

สาเหตุของการกลายพันธุ์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอนั้นมาจากข้อสันนิษฐานหลายประการ ประการแรกคือ สายดีเอ็นเอของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอนั้นไม่ได้รับการป้องกันจากโปรตีนป้องกัน(Protection protein) เช่น ฮิสโตน เหมือนกันกับนิวเคลียร์ดีเอ็นเอจึงทำให้มีการแลกเปลี่ยนหรือสัมผัสกับสิ่งที่จะที่มีผลต่อการกลายพันธุ์ได้ง่าย ประการที่สองเกิดจากการที่ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมีโอกาสถูกทำให้เสียหายจากอนุมูลอิสระได้ง่าย โดยเฉพาะ ออกซิเจน สปีชีส์ (reactive oxygen species) ซึ่งเป็นผลต่อเนื่องจากระบวนการหายใจระดับเซลล์ ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าไมโทคอนเดรียมีหน้าที่ในการผลิตพลังงานให้กับเซลล์สิ่งมีชีวิต ผลลัพธ์บางอย่างที่ได้ในกระบวนการนี้ได้แก่ อนุมูลอิสระของออกซิเจน ทำให้เกิดความเสียหายกับสารพันธุกรรม ซึ่งหลายทฤษฎีสนับสนุนว่าความเสียหายนี้สามารถทำให้เกิดการแก่ของเซลล์ได้ ประการที่สามคือการที่ดีเอ็นเอ

พอลิเมอเรสของไมโทคอนเดรียนี้มีประสิทธิภาพการซ่อมแซม (prove reading) ตัวเองต่ำ จึงเป็นผลให้เมื่อเกิดความผิดพลาดในกระบวนการจำลองตัวเองจากดีเอ็นเอต้นแบบจึงส่งผลให้เกิดการส่งต่อรูปแบบสารพันธุกรรมที่ผิดพลาดไปยังเซลล์อื่น ๆ ที่เกิดจากการแบ่งตัว หรืออาจเกิดการส่งทอดพันธุกรรมไปสู่ลูกหลานได้ ส่วนตัวเลขอัตราการการกลายพันธุ์ที่แท้จริงนั้นยังไม่มีการสรุปแน่ชัด แต่เป็นที่ทราบกันว่าหากมองในเชิงการวิวัฒนาการพบว่าในบริเวณ control region นั้นมีอัตราการกลายพันธุ์ค่อนข้างเร็วและเร็วกว่าบริเวณอื่น ๆ ถึง 4-5 เท่าตัว หากจะไม่นับตำแหน่ง control region นั้นพบว่ามีอัตราการกลายพันธุ์ของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเออยู่ที่ 0.017×10^{-6} เบสต่อตำแหน่งต่อปี ซึ่งพบว่าสูงกว่าอัตราการกลายพันธุ์ของนิวเคลียร์ดีเอ็นเออยู่มาก แต่อัตราการกลายพันธุ์ของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอทั้งจีโนมนั้นหากคำนวณเชิงวิวัฒนาการ (phylogenetically based) พบอัตราการกลายพันธุ์อยู่ที่ $0.075-0.165 \times 10^{-6}$ เบสต่อตำแหน่งต่อปี²⁷ อย่างไรก็ตามการที่ตำแหน่ง control region มีอัตราการกลายพันธุ์ที่สูงนี้ส่งผลให้เกิดประโยชน์ในเชิงความหลากหลายทางพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ จากการศึกษาของ Barbosa และคณะ⁵ พบว่าบริเวณ control region ในตำแหน่ง HVR I และ HVR II นั้นมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงถึง 0.9975 ในกลุ่มประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ในประเทศไทยนั้นสุทัศน์และคณะ¹ ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของทั้งสองตำแหน่งพบว่ามีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมถึง 0.9871 นอกจากนั้นสุทัศน์และคณะยังได้ศึกษาถึงตำแหน่งที่นอกเหนือจาก HVR I และ HVR II แต่ยังอยู่ในบริเวณของ control region นั่นคือ HVR III พบว่าหากนำทั้งสามตำแหน่งมาคำนวณจะพบค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงเพิ่มขึ้นถึง 0.9875

ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบคุณสมบัติระหว่างไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ และนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ

คุณสมบัติ	ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ	นิวเคลียร์ดีเอ็นเอ
ลักษณะทั่วไป	วงกลมสายคู่	สายเกลียวคู่ เส้นยาว
ขนาด	16,568 คู่เบส	3 พันล้านคู่เบส
การถ่ายทอด	มารดาเท่านั้น	ทั้งบิดาและมารดาคนละครึ่ง
จำนวนชุดต่อเซลล์	100-3000	1
ความสามารถในการระบุบุคคล	ไม่ซ้ำจำเพาะ	ซ้ำจำเพาะ เป็นเอกลักษณ์

การประยุกต์ใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในงานนิติวิทยาศาสตร์

ลำดับเบสอ้างอิงของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ

การใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในการตรวจพิสูจน์บุคคลทางนิติวิทยาศาสตร์นั้น จำเป็นต้องรายงานผลลำดับเบสที่แตกต่างจากลำดับเบสที่ใช้อ้างอิง เช่น หากตำแหน่งลำดับที่ 16020 ในสิ่งส่งตรวจมีลำดับเบสเป็น C ในขณะที่ลำดับเบสของเบสอ้างอิงเป็น T ก็จะรายงานว่า 16020C นั้นหมายความว่าทุกลำดับเบสอื่น ๆ ทั้งหมดเหมือนลำดับเบสอ้างอิงทุกตัวยกเว้นลำดับที่ 16020 มีลำดับเบสเปลี่ยนไปเป็น C เท่านั้น ลำดับเบสอ้างอิงนั้นเดิมที่มีการใช้ลำดับเบสของ Anderson และคณะ¹⁴ ซึ่งมีการศึกษาลำดับเบสของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ และได้ตีพิมพ์ลำดับเบสของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอลงในวารสาร Nature ในปี ค.ศ. 1981 และต่อมาเป็นที่รู้จักกันในชื่อ Cambridge Reference Sequence (CRS) โดยการรายงานผลที่เปรียบเทียบกับลำดับเบสอ้างอิงนี้จะรายงานเทียบกับลำดับเบสในสายแอล (L-strand) เท่านั้น ต่อมาในปี ค.ศ. 1999 มีการทำการตรวจสอบลำดับเบสอ้างอิงโดยคณะผู้ทำงานเดิม โดยใช้ตัวอย่างจากผู้สืบสายโลหิตของตัวอย่างที่ทำเมื่อปี ค.ศ. 1981 พบว่าลำดับเบสที่ 3106 และ 3107 ที่มีลำดับเบสเป็น CC ในลำดับเบสอ้างอิงเดิม แท้จริงมีเพียงลำดับเบสเดียวคือ C เท่านั้น จึงทำให้ลำดับเบสอ้างอิงมีจำนวนเบสลดลงหนึ่งเบสเหลือเพียง 16,568 จากเดิม 16,569 คู่เบส นอกจากนั้นยังพบอีกว่ามีลำดับเบสอีก 10 ตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนแปลงแก้ไขและได้รายงานไว้ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 จากข้อมูลการแก้ไขลำดับเบสจะพบว่าถึงแม้มีการแก้ไขลำดับใหม่ แต่บริเวณของการตรวจพิสูจน์ในงานนิติวิทยาศาสตร์ซึ่งได้แก่ตำแหน่ง HVR I และ HVR II ยังคงมีลำดับเบสเหมือนเดิมจึงไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ สาเหตุที่มีการเปลี่ยนแปลงและแก้ไขคือความผิดพลาดในการวิเคราะห์ลำดับเบสในสมัยนั้นเครื่องมือการวิเคราะห์ยังไม่มี ความถูกต้องแม่นยำเท่ากับปัจจุบัน จากการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสอ้างอิงทำให้ฐานข้อมูลการอ้างอิงของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอเปลี่ยนไปด้วย และเรียกลำดับเบสอ้างอิงใหม่ว่า The revised Cambridge Reference Sequence (rCRS) หรือ MITOMAP แต่ลำดับเบสของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่ใช้ในการอ้างอิงนั้นไม่ได้มีเพียง rCRS เท่านั้น ทางด้าน GenBank ยังได้ทำการถอดรหัสลำดับเบสของชาวแอฟริกันในปี ค.ศ. 2000 โดยทีมผู้วิจัยของ Ingman และคณะ¹⁸ โดยใช้รหัส AF347015 ซึ่งพบลำดับเบสทั้งสิ้น 16,571 คู่เบส ซึ่งงานของ Ingman และคณะส่วนใหญ่จะใช้ในการศึกษาลำดับวิวัฒนาการของมนุษย์ ถึงแม้ว่าลำดับเบสที่ใช้ในการอ้างอิงมีหลายที่ แต่การเลือกใช้ควรดูจุดประสงค์ของการใช้และควรระบุที่มาของลำดับเบสอ้างอิงด้วย อย่างไรก็ตามงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ส่วนใหญ่จะใช้ลำดับเบสอ้างอิงของ Anderson และคณะ ซึ่งได้มีการตีพิมพ์ไว้ก่อนตั้งแต่ต้น และเป็นที่ยอมรับกันอยู่แล้ว

ตารางที่ 2 แสดงตำแหน่งของลำดับเบสที่มีการตรวจสอบแก้ไขใหม่ในงาน MITOMAP

ตำแหน่งลำดับเบส	ยีนที่ถอดรหัส	ลำดับเบสของ CRS	ลำดับเบสของ rCRS
3106-3107	16s rRNA	CC	C
3423	ND1	G	T
4985	ND2	G	A
9559	COIII	G	C
11335	ND4	T	C
13702	ND5	G	C
14199	ND6	G	T
14272	ND6	G	C
14365	ND6	G	C
14368	ND6	G	C
14766	cyt b	T	C

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ

จากคุณสมบัติของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่มีอัตราการกลายพันธุ์ในตำแหน่งของ D-loop สูงนั้นทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมในแต่ละบุคคลซึ่งในปัจจุบันนี้มีการนำตำแหน่ง D-loop มาใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคลทางนิติวิทยาศาสตร์อยู่สองบริเวณ บริเวณแรกเรียกว่า hypervariable region I (HVRI, HVI, HV1 หรือ HVS1) ซึ่งตั้งอยู่ตำแหน่งที่ 16,024-16,365 ซึ่งมีความยาว 342 คู่เบส บริเวณที่สองเรียกว่า hypervariable region II (HVRII, HVII, HV2 หรือ HVS2) ตั้งอยู่ตำแหน่งลำดับเบสที่ 73- 340 มีความยาวทั้งสิ้น 268 คู่เบส โดยทั่วไปจะพบความหลากหลายในตำแหน่ง HVRI มากกว่า HVRII แต่อย่างไรก็ตามการตรวจพิสูจน์หรือตรวจเปรียบเทียบในงานการพิสูจน์บุคคลของนิติเวชศาสตร์นั้นนิยมใช้ทั้งสองตำแหน่งมาตรวจร่วมกัน โดยการรายงานจะรายงานเฉพาะลำดับเบสที่แตกต่างจากลำดับเบสอ้างอิงดังที่ได้กล่าวไปแล้ว ในการแปลผลการตรวจพิสูจน์นั้น ผลของสิ่งส่งตรวจต้องมีลำดับเบสที่ตรงกันกับเบสที่นำมาเปรียบเทียบ หรือมีจุดที่แตกต่างจากลำดับเบสที่ใช้อ้างอิงตรงกันทุกประการจึงจะถือว่าเป็นบุคคลร่วมสายเลือดมารดาหรือยายเดียวกัน แต่ไม่สามารถระบุความเป็นเอกลักษณ์หรือบอกถึงความสัมพันธ์ในลักษณะ บิดา มารดา บุตร ได้ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น จากการศึกษาในกลุ่มประชากรต่างๆพบว่าการใช้ลำดับเบสทั้งสองตำแหน่งมีค่าทางสถิติในแต่ละกลุ่มประชากรแตกต่างกันเช่น ในกลุ่มประชากรชาวญี่ปุ่น³³พบว่าโอกาสที่คนสองคนที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดทางมารดาจะมีความเหมือนของรูปแบบทางพันธุกรรมหากตรวจพิสูจน์ทางไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอทั้งสองตำแหน่งมีประมาณร้อยละ 1.10 ในขณะที่ชาวฝรั่งเศสมีร้อยละ 1.30 ชาวออสเตรเลียร้อยละ 1.28⁸ ในขณะที่ชาวไทยใน

กลุ่มประชากรภาคกลางมีประมาณร้อยละ 1.28' จากการเปรียบเทียบข้อมูลจะพบว่าในการตรวจเปรียบเทียบคนเพียงสองคนที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดมารดา หรือการตรวจเปรียบเทียบมารดากับบุตรจะพบว่ามีโอกาสน้อยมากที่จะพบคนสองคนที่มีลำดับเบสของรหัสพันธุกรรมในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอเหมือนกัน แต่ในกรณีของภัยพิบัติหมู่ที่มีคนเสียชีวิตจำนวนมากจากข้อมูลประชากรไทยจะพบว่าหากมีผู้เสียชีวิตหนึ่งพันคนโอกาสที่จะพบคนที่มีลำดับรหัสพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอเหมือนกันมีประมาณ 12.8 คน ซึ่งถือว่าเป็นจำนวนค่อนข้างมากเมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจพิสูจน์ด้วยเทคโนโลยีการตรวจพิสูจน์ของนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ หรือ multiplex STR ที่พบว่า ค่าสถิติของโอกาสความน่าจะเป็นที่จะมีคนมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกันหากตรวจด้วย STR จำนวน 16 ตำแหน่งในประชาชนชาวอเมริกาคือ 5.01×10^{-18} ซึ่งถือว่าแทบจะไม่มีโอกาสเป็นไปได้เลยในประชากรโลกในปัจจุบัน แต่เนื่องจากการตรวจทางไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอก็มีความจำเป็น และมีความคุ้มค่าแม้มีข้อจำกัดบางประการดังที่กล่าวไปแล้ว ในระยะต่อมาก็มีนักวิจัยที่คิดค้นเพื่อหาวิธีเพิ่มขีดความสามารถของกำลังการแยกแยะ (discrimination power) ในการประยุกต์ใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ โดยการหาตำแหน่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาเพิ่ม จากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่า การนำ hypervariable region III (HVRIII) ที่มีลำดับเบสอยู่ระหว่างลำดับที่ 438-574 มาช่วยเพิ่มขีดความสามารถในการตรวจพิสูจน์ทางไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ เช่นในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดมารดาพบมีความเหมือนกันของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในตำแหน่ง HVRI และ HVR II ทุกประการ แต่เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์เพิ่มเติมด้วย HVRIII สามารถแยกบุคคลออกจากกันได้ ในประเทศไทยก็มีคนศึกษาการนำ HVRIII มาใช้พบว่าหากตรวจร่วมกับตำแหน่ง HVRI และ HVR II พบว่าโอกาสที่คนสองคนที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดมารดาจะมีความเหมือนของรูปแบบทางพันธุกรรมในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอเพียงร้อยละ 1.25' อย่างไรก็ตามแม้ว่าการนำ HVRIII มาเพิ่มความสามารถในการตรวจพิสูจน์แต่ขีดความสามารถของ HVRIII ยังมีน้อยและจะถูกเลือกใช้ในกรณีที่ต้องการเพิ่มกำลังการวิเคราะห์ด้วย HVRI และ HVR II เท่านั้นและงานวิจัยในปัจจุบันที่เกี่ยวกับการตรวจพิสูจน์ทางไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอก็ยังหารูปแบบและวิธีการเพิ่มศักยภาพการตรวจพิสูจน์ทางไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ รูปแบบการตรวจที่นักวิจัยในปัจจุบันได้คิดแนวทางไว้คือการตรวจทั้งจีโนมของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ ปัญหาของการตรวจทั้งจีโนมที่ต้องระวัง คือการแปลผลและการวิเคราะห์ผลที่ผิดพลาด แต่ปัญหาเหล่านี้ได้รับการแก้ไขจากนักวิจัยที่คิดค้นการใช้โปรแกรม MitoAnalyzer ซึ่งสามารถอ่านและวิเคราะห์ลำดับเบสทั้งจีโนมของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอได้อย่างถูกต้องแม่นยำขึ้น แต่เนื่องจากว่าการวิเคราะห์ทั้งจีโนมมีค่าใช้จ่ายมากไม่เหมาะสมกับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ จึงมีการคิดค้นและการพัฒนาการวิเคราะห์อีกวิธี กล่าวคือแทนที่จะอ่านลำดับเบสทั้งหมด กลับอ่านเฉพาะเบสที่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นตำแหน่ง ๆ เรียกเทคนิคนี้ว่า multiplex SNP ซึ่งสามารถลดค่าใช้จ่ายและเวลาในการวิเคราะห์จากการอ่านลำดับเบสทั้งหมดของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ ในปัจจุบันมีการทดลองใช้ SNP มาทำการตรวจวิเคราะห์เพื่อเพิ่มกำลังการ

แยกแยะของการตรวจในตำแหน่ง HVRI และ HVR II พบว่าทั้งการตรวจ SNP ในบริเวณ coding region^{19,28} ที่นอกเหนือจากตำแหน่ง HVRI และ HVR II และการตรวจ SNP ทั้งจีโนมของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ¹⁰ ก็สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพกำลังการแยกแยะของการตรวจ HVRI และ HVR II ได้เป็นอย่างดี แต่ยังไม่มีการนำมาใช้มากนักในห้องปฏิบัติการทางนิติวิทยาศาสตร์

ถึงแม้ว่าการตรวจวิเคราะห์ทางไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอจะมีข้อจำกัดพื้นฐานคือไม่สามารถพิสูจน์ความเป็นเอกลักษณ์ หากแต่คุณสมบัติการถ่ายทอดมาจากการดาและจำนวนที่มากในแต่ละเซลล์นั้น ทำให้ไม่สามารถละเลยการคิดค้นและพัฒนาเพื่อนำมาประยุกต์ใช้แทนนิวเคลียสดีเอ็นเอที่มีข้อจำกัดในบางประการดังที่กล่าวมาแล้วได้อย่างเหมาะสมและใช้การได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

ปัญหาในการประยุกต์ใช้ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอในการตรวจพิสูจน์บุคคล

ปัญหาในการตรวจวิเคราะห์ของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอนั้น หากไม่รวมถึงขั้นตอนและเทคนิคในระหว่างการวิเคราะห์ที่ต้องใช้เวลาและทักษะของผู้วิเคราะห์ที่ต้องมีความชำนาญ ยังมีปัญหาขั้นต้นที่ต้องระวังและดูแลเป็นพิเศษคือการปนเปื้อนของสิ่งส่งตรวจ ซึ่งปัญหานี้มักพบได้บ่อยกับตัวอย่างส่งตรวจตามห้องปฏิบัติการทางนิติวิทยาศาสตร์ ซึ่งจะทำให้การวิเคราะห์ทางไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอนั้นไม่สามารถทำได้เลย ฉะนั้นรูปแบบการแก้ปัญหาควรต้องเป็นรูปแบบในเชิงป้องกันโดยการเก็บสิ่งส่งตรวจและการเก็บรักษาให้ถูกต้องตามหลักของการเก็บวัตถุพยานตามหลักสากล นอกจากปัญหาการปนเปื้อนแล้ว ยังมีรูปแบบที่อาจทำให้เกิดความเข้าใจผิดว่ามีการปนเปื้อนได้คือ ลักษณะของการเกิด heteroplasmy ซึ่งสามารถเกิดจากการที่ดีเอ็นเอมีรูปแบบหรือลำดับเบสที่ต่างกันได้หลายแบบในบุคคลเดียวกัน ซึ่งอาจเข้าใจว่ามีการปนเปื้อนได้ แต่เมื่อหากพิจารณาแล้วจะพบเพียงบางตำแหน่งของตำแหน่งเบสเท่านั้นที่ไม่สามารถระบุลำดับเบสได้อย่างชัดเจนก็จะทำให้เราทราบว่าการเกิด heteroplasmy อัตราการเกิด heteroplasmy นั้นมักพบในสิ่งส่งตรวจที่เป็นเส้นผมมากกว่าเลือด อาจเนื่องมาจากการที่เส้นผมสัมผัสกับแสงแดดหรือสารเคมีภายนอก จึงเกิดความเสียหายของดีเอ็นเอได้ Paneto และคณะ²⁶ ได้ศึกษาการเกิด heteroplasmy ในเส้นผมของกลุ่มประชากรประเทศบราซิลในตำแหน่งของ HVR I และ HVR II พบว่ามีการเกิด heteroplasmy ในลำดับเบสถึงร้อยละ 10.5 ฉะนั้นแนวทางการแก้ปัญหาหากสามารถเลือกที่เก็บวัตถุพยานได้ การเลือกวัตถุพยานที่เป็นเลือดจะมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์และแปลผลมากกว่า

นอกจากนี้การตรวจพิสูจน์บุคคลด้วยไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอยังสามารถพบการเกิด length heteroplasmy ได้ ซึ่งจะทำให้เกิดความยุ่งยากในการแปลผลจึงต้องระมัดระวังในการแปลผลเป็นอย่างยิ่งแม้ในการศึกษาในประชากรไทยในตำแหน่ง HVR III ก็ยังสามารถพบ length heteroplasmy ในตำแหน่งดังกล่าวได้ แต่ปัญหานี้ยังสามารถแก้ไขได้ด้วยวิธีการเดียวกันกับการเกิด heteroplasmy ทั่วไปได้ ปัญหาอีกอย่างเกี่ยวกับการ

วิเคราะห์ผลของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอคือการเกิด C-stretch ในลำดับเบสในบริเวณ HVR I และ HVR II ซึ่งสามารถพบตำแหน่งที่มี C-stretch จากทั้งสองตำแหน่งบริเวณลำดับเบสที่ 16184 ถึง 16193 และ 303 ถึง 315 ตามลำดับ ซึ่งการเกิด C-stretch นี้ทำให้เกิดความยุ่งยากในการอ่านลำดับเบส เพราะเมื่อเกิด C-stretch แล้วในบางกรณีจะทำให้ไม่สามารถอ่านลำดับเบสต่อไปได้ การแก้ไขปัญหาเบื้องต้นคือการหาลำดับเบสแบบย้อนกลับอีกสายของดีเอ็นเออีกพอจะแก้ไขปัญหาได้บ้างในบางกรณี ซึ่งปัญหาต่างๆ เหล่านี้อาจเกิดขึ้นในระหว่างการทำงานได้จำเป็นต้องได้รับการแก้ไขเบื้องต้นจะสังเกตเห็นได้ว่าในบางกรณีอาจแก้ไขไม่ได้เลย เช่น กรณีของการปนเปื้อนและ heteroplasmy หากทางห้องปฏิบัติการมีสิ่งส่งตรวจที่จำกัดและชนิดเดียว แต่ในบางกรณีอาจใช้เทคนิคบางอย่างเข้ามาช่วยในการแก้ไขปัญหาได้

แม้ว่าคุณสมบัติที่ไม่สามารถชี้จำเพาะบุคคลได้อย่างแน่ชัดของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอทำให้เกิดข้อจำกัดในการนำไปใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคล แต่หากว่าไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมีคุณสมบัติอื่นๆ หลายประการที่ทำให้เกิดประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในทางนิติวิทยาศาสตร์ เช่น ความสามารถในการวิเคราะห์ดีเอ็นเอในสิ่งส่งตรวจที่เน่าสลายหรือมีปริมาณน้อยๆ หรือแม้กระทั่งการตรวจความเป็นมารดาและบุตร ด้วยคุณลักษณะดังกล่าวจึงทำให้เกิดการประยุกต์ใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทางผู้เรียบเรียงจึงเห็นว่ามีความคุ้มค่าที่จะมีการคิดค้นและพัฒนารูปแบบการวิเคราะห์และแปลผลของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอเพื่อการนำไปใช้ต่อไป เพื่อให้งานการตรวจพิสูจน์ทางนิติวิทยาศาสตร์สามารถเพิ่มขีดความสามารถในการประยุกต์ใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดต่อไป

References

1. สุทัศน์ คงจิตร, วรวิทย์ ไวยวุฒิ, วิโรจน์ ไวยวุฒิ และคณะ (2552). การศึกษา เอชวีอาร์-3 ในประชากรไทยและการประยุกต์ใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์. การประชุมทางวิชาการนเรศวรวิจัย ครั้งที่ 5. หน้า 47
2. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, et al. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290: 457-465.
3. Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, et al. (1999). Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet.* 23: 147.
4. Baker LE, McCormick WF, Matteson KJ. (2001). A silica-based mitochondrial DNA extraction method applied to forensic hair shafts and teeth. *J Forensic Sci.* 46: 126-130.
5. Barbosa AB, da Silva LA, Azevedo DA, et al. (2008). Mitochondrial DNA control region polymorphism in the population of Alagoas state, north-eastern Brazil. *J Forensic Sci.* 53 (1): 142-6.
6. Bender K, Schneider PM, Rittner C. (2000). Application of mtDNA sequence analysis in forensic casework for the identification of human remains. *Forensic Sci Int.* 113: 103-107.

7. Budimlija ZM, Prinz MK, Zelson-Mundorff A, et al. (2003). World Trade Center human identification project: experiences with individual body identification cases. *Croat Med J.* 44: 259–263.
8. Budowle B, Wilson MR, DiZinno JA, et al. (1999). Mitochondrial DNA regions HVI and HVII population data. *Forensic Sci Int.* 103: 23-35.
9. Cummins JM. (2002). The role of maternal mitochondria during oogenesis, fertilization and embryogenesis. *Reprod Biomed Online.* 4: 176–182.
10. Coble MD, Just RS, O'Callaghan JE, et al. (2004). Single nucleotide polymorphisms over the entire mtDNA genome that increase the power of forensic testing in Caucasians. *Int J Legal Med.* 118 (3): 137-46
11. Fanton L, Jdeed K, Tilhet-Coartet S, et al. (2006). Criminal burning. *Forensic Sci Int.* 158: 87–93.
12. Fu Y, Xie C, Xu X, et al. (2009). Ancient DNA analysis of human remains from the Upper Capital City of Kublai Khan. *Am J Phys Anthropol.* 1: 23-29.
13. Giles RE, Blanc H, Cann HM, et al. (1980). Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 77: 6715–6719.
14. Gill P, Ivanov PL, Kimpton C, et al. (1994). Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. *Nat Genet.* 6: 130–135
15. Gray M, Burger G, Lang B. (2001). The origin and early evolution of mitochondria. *Gen Bio.* 2: 1018.1-1018.5.
16. Holland MM, Fisher DL, Mitchell LG, et al. (1993). Mitochondrial DNA sequence analysis of human skeletal remains: identification of remains from the Vietnam War. *J Forensic Sci.* 38: 542–553.
17. Igawa K, Manabe Y, Oyamada J, et al. (2009). Mitochondrial DNA analysis of Yayoi period human skeletal remains from the Doigahama site. *J Hum Genet.* 10: 581-588
18. Ingman M, Kaessmann H, Pääbo S, et al. (2000). Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. *Nature.* 408: 708-713
19. Köhnemann S, Sibbing U, Pfeiffer H, et al. (2008). A rapid mtDNA assay of 22 SNPs in one multiplex reaction increases the power of forensic testing in European Caucasians. *Int J Legal Med.* 122 (6): 517-23
20. Krenke BE, Tereba A, Anderson SJ. et al., (2002). Validation of a 16-Locus fluorescent multiplex system, *J. Forensic Sci.* 47: 773–785.
21. Ladika S. (2005). South Asia tsunami. DNA helps identify missing in the tsunami zone. *Science.* 307: 504.
22. Lee HY, Kim NY, Park MJ, et al. (2008). A modified mini-primer set for analyzing mitochondrial DNA control region sequences from highly degraded forensic samples. *BioTechniques.* 44: 555–558.
23. Melton T, Dimick G, Higgins B, et al. (2005). Forensic mitochondrial DNA analysis of 691 casework hairs. *J Forensic Sci.* 50: 73-80.
24. Michael W, Burger G, Lang B. (1999). Mitochondrial evolution. *Science.* 238: 1476-1481.

25. Nelson K, Melton T. (2007). Forensic mitochondrial DNA analysis of 116 casework skeletal samples. *J Forensic Sci.* 52: 557-561.
26. Paneto GG, Martins AJ, Longo V L, et al. (2007). Heteroplasmy in hair: differences among hair and blood from the same individuals are still a matter of debate. *Forensic Sci Int.* 173 (2-3): 117-21
27. Pakendorf B, Stoneking M. (2005). Mitochondrial DNA and human Evolution. *Annu.Rev.Genomic Hum.* 6: 165-83.
28. Quintáns B, Alvarez-Iglesias V, Salas A,et al. (2004). Typing of mitochondrial DNA coding region SNPs of forensic and anthropological interest using SNaPshot minisequencing. *Forensic Sci Int.* 10; 140 (2-3): 251-7
29. Rodriguez-Mongr A, Montesio M, Prieto L, et al. (2003). MtDNA control region polymorphism: sequence database and forensic application. *International Congress Series.* 1239: 521-524.
30. Shadel GS, Clayton DA. (1997). Mitochondrial DNA maintenance in vertebrates. *Annu Rev Biochem.* 66: 409-435.
31. Schwartz M, Vissing J. (2002). Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *N Eng J Med.* 348: 576-80.
32. Sutovsky P, Moreno R, Ramalho-Santos J, et al. (1999). Ubiquitin tag for sperm mitochondria. *Nature.* 402: 371-372.
33. Yasuhisa S, Beate SB, Christian R, et al. (1998). Sequence polymorphism of mitochondrial DNA control region in Japanese. *Forensic Sci. Int.*97: 155-64.

Methamphetamine

พญ.ปรีชาพรรณ เพชรปรางค์ *

บทนำ

เมตแอมเฟตามีน (N,α-dimethylphenethylamine) เป็นสารเคมีในกลุ่ม phenethylamine ซึ่งมีโครงสร้างเป็น aromatic ring ที่มี 2 carbon side chain และมี terminal amine group โดยเมตแอมเฟตามีนมีหมู่เมทิล 2 หมู่ โดยเกาะที่ตำแหน่ง α carbon ของ ethylamine side chain และเกาะที่หมู่เอมีน

ชื่อที่ผู้เสพยาและประชาชนทั่วไปใช้เรียก (street name) ได้แก่ “s”, chalk, chrissy, speed, crank, glass, go, hydro, ice, rock candy, meth, crystal meth, whiz, pervitin (โดยเฉพาะในยุโรปตะวันออก), yaba (ยาบ้า) และ shabu (ในกลุ่มประเทศเอเชียตะวันออก)

สูตรทางเคมี คือ $C_{10}H_{15}N$ มีน้ำหนักโมเลกุล 149.24 g/mol ลักษณะทางกายภาพของเมตแอมเฟตามีนที่อยู่ในรูป hydrochloride salt มีสีขาว จนถึงเป็นผลึกใสไม่มีสี มีลักษณะค่อนข้างบริสุทธิ์ ส่วนในรูป free base เป็นของเหลวสีเข้ม เมตแอมเฟตามีนที่ขายอย่างผิดกฎหมายมีลักษณะเป็นผง และถ้าอยู่ในรูป pure crystalline hydrochloride จะรู้จักในนาม “ice”

เมตแอมเฟตามีนเป็นสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง (CNS stimulant) กระตุ้นระบบประสาทอัตโนมัติซิมพาเทติก (sympathomimetic) และมีฤทธิ์กดความอยากอาหาร (appetite suppressant) เมตแอมเฟตามีนมี 2 isomeric forms คือ [-]- หรือ l-methamphetamine และ [+]- หรือ d-methamphetamine แต่ในการใช้ในสมัยใหม่นิยมเป็น R- และ S- isomer

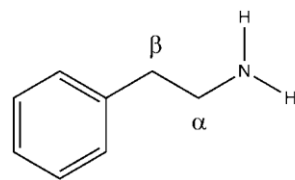
* แพทย์ประจำบ้านชั้นปีที่ 3 ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โดย d-isomer มีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทมากกว่า และใช้ในการผลิตยาบ้าที่ผิดกฎหมาย

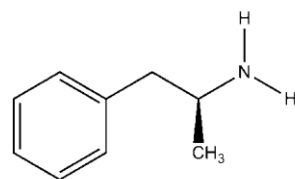
l-isomer พบได้จากเมตาบอลิท์ ของ selegiline และ anti-parkinsonian drug

เมตแอมเฟตามีนถูกผลิตครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่นในปี 1893 ใช้ทางการแพทย์ในการรักษา attention deficit disorder (ADD), attention deficit hyperactivity (ADHA), narcolepsy และใช้ใน overeating disorder

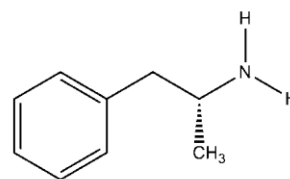
การลักลอบผลิตเมตแอมเฟตามีน (street methamphetamine) มีทั้งที่ผลิตใน clandestine laboratory (clan-lab) ในบ้านพักส่วนตัว หลังท้ายรถ หรือห้องพักในโรงแรม การผลิตแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ตามชนิดของสารตั้งต้น คือ 1-phenyl-2-propanone (P2P) และ ephedrine compounds ซึ่งสารตั้งต้นชนิดหลังถูกใช้อย่างกว้างขวางใน clan-lab



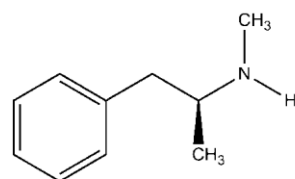
Phenylethylamine



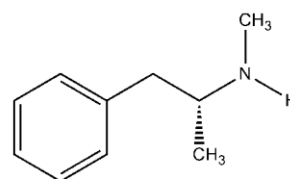
(+)-Amphetamine



(-)-Amphetamine



(+)-Methamphetamine

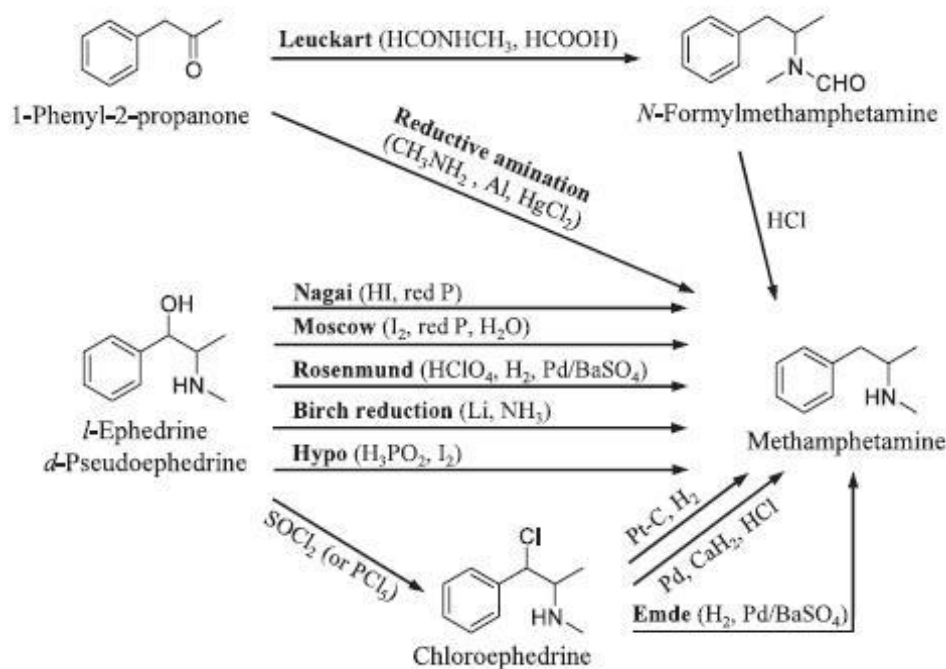


(-)-Methamphetamine

รูปที่ 1 โครงสร้างของ phenylethylamine และ stereoisomers ของแอมเฟตามีน และ เมตแอมเฟตามีน ⁶

การผลิตเมตแอมเฟตามีน

การผลิตเมตแอมเฟตามีนนั้นมีหลากหลายวิธี แต่วิธีที่พบได้จากการลักลอบผลิต ได้แก่ วิธี 2-step reduction โดยเปลี่ยนรูป l-ephedrine เป็น chloroephedrine ก่อนและใช้วิธี “Emde” method เปลี่ยนให้เป็นเมตแอมเฟตามีน และยังมีการผลิตโดยวิธี direct reduction ด้วย red phosphorus (“Nagai” method) ซึ่งวิธีการหลังมีการนำมาใช้มากกว่า



รูปที่ 2 วิธีการผลิตเมตแอมเฟตามีนโดยปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ

กลไกการออกฤทธิ์

เมตแอมเฟตามีนออกฤทธิ์กระตุ้นการหลั่ง catecholamine จาก sympathetic nerve terminal โดยเฉพาะ dopamine ใน mesolimbic, mesocortical และ nigrostriatal pathway ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ intra-synaptic monoamine ยังผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของการกระตุ้น central และ peripheral α - และ β -adrenergic postsynaptic receptor

เภสัชจลนศาสตร์

การบริหารเมตแอมเฟตามีน (*administration of methamphetamine*)

- การกิน จะดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตและมีค่าความเข้มข้นสูงสุดใน 2.6-3.6 ชั่วโมง มีค่า mean eliminate half-life 10.1 ชั่วโมง (พิสัย 6.4-15 ชั่วโมง)
- การสูดดมเข้าทางจมูก มีค่า peak plasma concentration ระหว่าง 3.13-6.3 ชั่วโมง
- การสูดดมไอรระเหย จะมีการดูดซึมเข้าสู่ plasma โดยเร็ว แต่มีการเพิ่มขึ้นของ plasma concentration อย่างช้า ๆ และมี peak plasma concentration ที่ 2.5 ± 0.5 ชั่วโมง
- การฉีดเข้าหลอดเลือด มี mean elimination half-life ที่ 12.2 ชั่วโมง

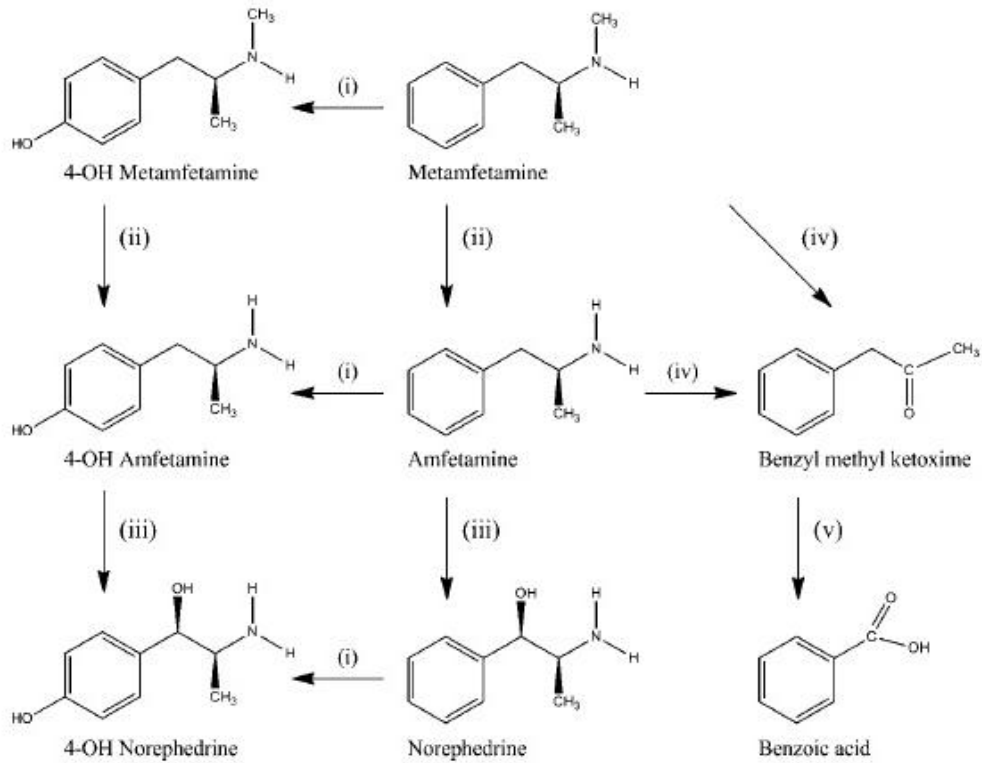
การกระจายตัวของยา (*distribution*)

เมตแอมเฟตามีนกระจายไปทั่วทุกส่วนของร่างกาย และเนื่องจากมี high lipophilicity จึงผ่าน blood-brain-barrier เข้าสู่สมอง และผ่านไปสู่ breast milk ได้ภายในเวลาเป็นนาที่ภายหลังจากเสพโดยการฉีดเข้าหลอดเลือด นอกจากนี้เมตแอมเฟตามีนยังสามารถผ่านจากแม่ไปสู่ทารกในครรภ์ (maternal to fetal blood) ได้ มีการศึกษาพบว่า เมื่อเสพเมตแอมเฟตามีนร่วมกับการดื่มสุรา (ethanol) จะมีค่า Vd (volume of distribution) ของเมตแอมเฟตามีนลดลง

การเปลี่ยนรูป (*biotransformation*)

เมตแอมเฟตามีนมีการเปลี่ยนรูปที่ตับเป็นส่วนใหญ่ โดย cytochrome isoenzyme, CYP2D6 โดยมี major pathways คือ aromatic hydroxylation เปลี่ยนรูปเป็น 4-hydroxymetamfetamine และ N-demethylation เปลี่ยนรูปเป็น amphetamine มีเมตแอมเฟตามีนบางส่วนที่เปลี่ยนรูปผ่าน minor pathways ได้ norephedrine, 4-hydroxyamfetamine, 4-hydroxynorephedrine, benzyl methyl ketoxime และ benzoic acid

อัตราการเปลี่ยนรูปของเมตแอมเฟตามีนจะถูกยับยั้งเมื่อมีการดื่ม ethanol แต่ในกรณีที่เสพสุราเรื้อรัง กลับมีการเพิ่มอัตราการเปลี่ยนรูปของเมตแอมเฟตามีน



รูปที่ 3 การเปลี่ยนรูปของเมตแอมเฟตามีน ⁶

การขับออกจากร่างกาย

เมตแอมเฟตามีนถูกขับออกทางปัสสาวะเป็นส่วนใหญ่ มีเพียงส่วนน้อยที่ถูกขับออกทางเหงื่อ และทางอุจจาระ การศึกษาพบว่าประมาณ 90% ของ ¹⁴C-labelled dose ถูกขับออกทางปัสสาวะภายใน 4 วันแรกหลังการกิน โดยพบการขับออกมาส่วนใหญ่ภายใน 48 ชั่วโมงแรก

ค่าเฉลี่ยของ Half-life อยู่ระหว่าง 9-12 ชั่วโมง โดยวิธีการเสพเมตแอมเฟตามีนไม่มีผลเปลี่ยนแปลงต่อ Half-life อย่างมีนัยสำคัญ

อาการแสดงทางคลินิก

มีลักษณะ sympathomimetic toxidrome โดยมี clinical effect หลังจากใช้เมตแอมเฟตามีนปริมาณสูง ได้แก่ tachycardia, hypertension, palpitation, tachypnea, chest pain, gastrointestinal upset, mydriasis, diaphoresis, hyperthermia และ hyperreflexia ส่วน CNS effect ได้แก่ anxiety, agitation, delirium และ psychosis

กลไกการตายเกิดขึ้นได้เนื่องจาก cardiac dysrhythmia, myocardial infarction, cardiorespiratory arrest, intractable seizures, hypoxic brain damage, hyperthermia หรือ intracerebral bleeding

เมื่อเสพเรื้อรังในปริมาณสูงทำให้เกิด non-ischemic cardiomyopathy, congestive heart failure, pulmonary hypertension, cognitive impairment, irreversible neuronal change และผลของ long-term dopamine depletion ทำให้เกิด parkinsonism ในรายที่เสพเรื้อรังยังพบว่ามี generalized gray-matter atrophy ใน hippocampus และ paralimbic belt ร่วมกับมี hypertrophy ของ white matter

หญิงมีครรภ์ที่ใช้เมตแอมเฟตามีน มีรายงานพบ placental insufficiency and/or abruption, premature delivery, fetal death และ maternal death

ทารกที่เกิดจากมารดาที่ใช้เมตแอมเฟตามีนขณะตั้งครรภ์ มักจะพบลักษณะร่วม (most common effect) ได้แก่ น้ำหนัก ความยาว และเส้นรอบวงศีรษะทารกลดลง มีความพิการ (congenital anomaly) ได้แก่ clefting, cardiac anomaly, cranial abnormality และ abnormal brain development แต่อย่างไรก็ตามผลที่เกิดในขณะตั้งครรภ์ยังมีข้อจำกัดในเรื่องความน่าเชื่อถือของข้อมูล เนื่องจากมีกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษามีขนาดเล็ก

การตรวจวิเคราะห์

การตรวจคัดกรอง (screening test)

1. Color test มีวิธีการตรวจที่นิยมใช้ เช่น

- Marquis test ให้สีส้ม

- Simon test (for secondary amines) ให้สีฟ้า ใช้แยกจาก primary amine เช่น amphetamine ซึ่งให้สีแดง

2. TLC analysis

3. Immunoassay

การตรวจยืนยัน

1. GC/MS
2. HPLC/MS

การตรวจพิสูจน์ห้องปฏิบัติการลักลอบสังเคราะห์เมตแอมเฟตามีน

บริเวณแหล่งที่ผลิตเมตแอมเฟตามีนมักมีลักษณะที่พบได้บ่อย ทั้งภายในและภายนอกอาคาร ดังนี้ คือ ตรวจพบมีกลิ่นปัสสาวะรุนแรง หรือกลิ่นสารเคมี เช่น ether, ammonia หรือ acetone มีลักษณะของสารเคมีที่หกรดเป็นก้อนหรือไหม้ ปรากฏสีของ red phosphorous เปื้อนอ่างล้างมือ ผนัง หรือตามพื้น ตรวจพบมีแผ่นกรองกาแฟที่เปลี่ยนสีแดง พบภาชนะใส่สารเคมี โถที่มีของเหลวใสและมีของแข็งสีขาว หรือสีแดงอยู่ก้นขวด มีตัวอย่างต่อจากโถ พบสารที่ใช้ในการผลิต

References

1. Methamphetamine. Available from <http://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/methamphetamine>. Accessed August 11, 2011.
2. Payne-Jame J, Byard RW, Corey TS, Henderson C. Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine, volume 4. Academic press. London. 2005.
3. Domestic methamphetamine production. Available from <http://www.nationaldrugstrategy.gov.au/internet/drugstrategy/Publish.nsf/Content/mono69>. Accessed August 3, 2011
4. Lee JS, Han EY, Lee SY, Kim EM, et al. Analysis of the impurities in the methamphetamine synthesized by three different methods from ephedrine and pseudoephedrine. Foren Sci Int. 2006; 161: 209-15.
5. Methamphetamine (and Amphetamine). Available from <http://www.nhtsa.gov/people/injury/research/job185drugs/methamphetamine.htm>. Accessed August 11, 2011.
6. Schep LJ, Slaughter RJ, Beasley MG. The clinical toxicology of methamphetamine. Clin Toxicol. 2010; 48: 675-94.
7. Inoue H, Iwata YT, Kuwayama K. Characterization and profiling of methamphetamine seizures. J Health Science. 2008; 54 (6): 615-22.
8. Thompson PM, Hayashi KM, Simon SL, Geaga JA, et al. Structural abnormalities in the brains of human subjects who use methamphetamine. J Neurosci. 2004; 24 (26): 6028-36.
9. Jickells S, Negrusz A. Clarke's Analytical Forensic Toxicology. Pharmaceutical press. London. 2008.
10. The dangers of meth labs. Available from <http://www.electrospec.ca/re.let6-5.htm>. Accessed August 11, 2011

ถ้า

ภญ.กัญญนลิน หิรัญเศรษฐธาตา *

เราลองมา “ถ้า” ในแต่ละประโยค แต่ละวรรคดู บางทีอาจจะรู้สึกสะดุดตา และสะดุดใจ เหมือนที่ฉันได้รับการกระตุ้นจากข้อความเหล่านั้น “ถ้า” บางอันนั้นเหมือนที่เราเจอมาแล้วซะ บางอันก็เป็นเหมือนใครบางคนที่เรารู้จัก แต่ที่แน่แน่ หลาย ๆ อันไม่ใช่ บางอันละคล้ายที่เราเคยเป็นและ กำลังจะเป็น แต่ที่สำคัญกว่า คือ ยังจะเป็นต่อไปไหม ? ลองคิดแบบไม่เข้าข้างตัวเองดู อาจทำให้เราได้ปรับเปลี่ยนนิสัยใจคอและพฤติกรรมที่ไม่สู้จะดีเหล่านี้ให้หมดไป หรืออย่างน้อยลดลงได้บ้าง และเอา “ถ้า” บางอันที่ดี มาเป็นมาใช้บ้าง ดีไหมล่ะ

ถ้าท่านทำใจให้สงบ

ท่านจะพบความสุขที่เยือกเย็น

ถ้าท่านมีความพอดี

ท่านจะเป็นเศรษฐีในเรือนยาจก

ถ้าท่านมีแต่ความงก

ท่านจะเป็นยาจกในเรือนเศรษฐี

ถ้าท่านมีเมตตาจิต

ท่านจะมีญาติมิตรทั่วบ้าน

ถ้าท่านเมตตาเกินประมาณ

ท่านจะพบคนพาลทั่วเมือง

ถ้าท่านคิดถึงความหลัง

ท่านจะพบรังแห่งความเศร้า

ถ้าท่านมีความมัวเมา

ท่านจะพบความปวดร้าวภายหลัง

* เกสัชกร อดีตนักวิจัยภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถ้าท่านทำดีเพื่อเด่น	ท่านจะถูกเขม่นจากญาติมิตร
ถ้าท่านทำดีเพื่อน้ำจิต	ท่านจะมีชีวิตอยู่อย่างสบาย
ถ้าท่านหวังพึ่งแต่คนอื่น	ท่านจะต้องกลืนน้ำตาตัวเอง
ถ้าท่านรู้จักใช้เวลา	ชีวิตจะมีค่ากว่านี้
ถ้าไม่กินอยู่เท่าที่มี	จะได้เป็นเศรษฐีเงินกู้
ถ้ามั่วสุมกับอบายมุข	จะพบความทุกข์ในเบื้องปลาย
ถ้าทำทุเบาตามเขาว่า	จะต้องน้ำตาตกใน
ถ้าพูดโดยไม่คิด	เท่ากับพ่นลมพิษใส่คนอื่น
ถ้าจริงจังกับโลกเกินไป	จะต้องตายเพราะความเศร้า
ถ้าต้องการความเป็นอิสระ	ให้พยายามชนะใจตัวเอง
ถ้าไม่รู้จักความทุกข์	จะพบความสุขได้ที่ไหน
ถ้าไม่ยอมปล่อยวาง	จะพบความว่างได้อย่างไร
ถ้าหาความสุขจากความมัวเมา	ท่านกำลังจับเงาในกระจก
ถ้าอยากเป็นคนงาม	อย่าว่าวามโกรธง่าย
ถ้าอยากเป็นคนสบาย	อย่าเบื้อหน้ายความเพียร
ถ้าอยากเป็นคนมั่งมี	อย่าเป็นคนดีแต่จ่าย
ถ้าอยากเป็นคนนำสมัย	อย่าทำลายวัฒนธรรม
ถ้าอยากเป็นคนมีเกียรติ	อย่าเหยียดหยามคนอื่น

ถ้าอยากเป็นคนมีความรู้	อย่าลบหลู่อาจารย์
ถ้าอยากหาความสำราญ	อย่าล้างผลาญสมบัติ
ถ้าอยากเป็นคนมีอำนาจ	อย่าขาดความยุติธรรม

ถ้า.....อ่านจบแล้ว ขอความสุขสวัสดิ์ แต่ผู้อ่าน

บุคคลสำคัญ

Rudolf Virchow

Rudolf Ludwig Karl Virchow เป็นแพทย์ชาวเยอรมัน เกิดเมื่อ 13 ตุลาคม ค.ศ.1821 ที่ Prussia ในครอบครัวชาวนา ได้ศึกษาในสาขาเคมีและแพทยศาสตร์ ภายหลังจบการศึกษาท่านได้เริ่มปฏิบัติงานที่โรงพยาบาล Charité จากนั้นได้เป็นอาจารย์ในมหาวิทยาลัย Berlin ผลงานของท่านมีจำนวนมากมาย ผลงานที่สำคัญ เช่น เป็นผู้ร่วมเสนอทฤษฎีเซลล์ ตรวจค้นพบเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว อธิบายกลไกการเกิด pulmonary thromboembolism โดยได้รับชื่อเรียกว่า Virchow's triad พบความสัมพันธ์ต่อมน้ำเหลืองบริเวณเหนือไหปลาร้าโตเนื่องจากโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร ซึ่งต่อมน้ำเหลืองที่โตนี้ได้รับการเรียกชื่อว่า Virchow's node



รูปที่ 1 Rudolf Virchow จาก http://en.wikipedia.org/wiki/File:Rudolf_Virchow.jpg

ท่านเป็นบรรณาธิการวารสาร *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin* (Virchow's Archives) เป็นผู้ก่อตั้งวิชาแพทย์สาขา cell pathology และ comparative pathology และเป็นผู้ริเริ่มวิธีการผ่าชันสูตรศพสมัยใหม่ (modern autopsy) Virchow ได้รับการยกย่องเป็นบิดาแห่งสาขาพยาธิวิทยาสมัยใหม่ (the father of modern pathology) ท่านถึงแก่กรรมเมื่อ 5 กันยายน ค.ศ.1902

References

1. Rudolf Virchow. http://en.wikipedia.org/wiki/Rudolf_Virchow. accessed August 1,2011.
2. Tan SY, Brown J. Medicine in Stamps. Rudolf Virchow: "Pope of pathology". Singapore Med J 2006; 47(7): 567 -8.

ข่าวนิติเวชศาสตร์จุฬา

News from Chula Forensic Medicine

เดือนพฤษภาคม 2554 ที่ผ่านมา ผศ.นพ.เกรียงศักดิ์ วงศ์ไพศาลสินได้ไปร่วมประชุม Asian Forensic Science Network ที่ประเทศเกาหลีใต้ และได้เป็นตัวแทนภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยสมัครเป็นสมาชิกเครือข่าย ซึ่งภาควิชาฯ ได้รับเกียรติให้เป็นสมาชิกเครือข่ายนิติวิทยาศาสตร์เอเชีย ตั้งแต่วันที่ 26 พฤษภาคม 2554



ระหว่างวันที่ 15 – 17 มิถุนายน 2554 ผศ.นพ.เกรียงศักดิ์ วงศ์ไพศาลสิน อ.นพ.ธีรโชติ จองสกุล อ.นพ.ณัฐ ดันศรีสวัสดิ์ และ อ.นพ.ภาณุวัฒน์ ชุตินวงศ์ ได้รับเกียรติเป็นวิทยากรบรรยายในการประชุมวิชาการร่วม 3 สถาบัน จุฬา-รามฯ-ศิริราช ในหัวข้อต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับนิติเวชศาสตร์ นิติพันธุศาสตร์ นิติพิษวิทยา และกฎหมาย

วันที่ 17 มิถุนายน 2554 อ.นพ.ณัฐ ดันศรีสวัสดิ์ ได้เข้าร่วมประชุมและบรรยายในการประชุมสัมมนาเชิงปฏิบัติการ ซึ่งเครือข่ายนิติพิษวิทยาจัดร่วมกับภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จัดขึ้นที่จังหวัดเชียงใหม่

ระหว่างวันที่ 20 – 29 มิถุนายน 2554 ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยได้รับเกียรติจาก Prof.Bruce Budowle มหาวิทยาลัย North Texas ประเทศสหรัฐอเมริกา เป็น visiting professor ซึ่ง Prof.Bruce Budowle ได้ถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ต่าง ๆ ที่มีคุณค่าอย่างยิ่งสำหรับการพัฒนางานนิติเวชศาสตร์และนิติพันธุศาสตร์ นอกจากนั้นยังได้สร้างความร่วมมือในการศึกษาและการทำวิจัยร่วมกัน



วันที่ 8 สิงหาคม 2554 อ.พญ.วรัทพร สิทธิเจริญ หัวหน้าภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้พา Prof.Reinhard Urban หัวหน้าภาควิชานิติเวชศาสตร์และคณบดีคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย Mainz ประเทศเยอรมันนี เข้าพบและพูดคุยกับ อ.นพ.ธีรโชติ จongsกุล หัวหน้าภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พร้อมกับคณาจารย์ของภาควิชาฯ ซึ่งได้มีการแลกเปลี่ยนความรู้และประสบการณ์ต่าง ๆ ในงานนิติเวชศาสตร์ นิติพิษวิทยา และนิติพันธุศาสตร์ และได้วางแผนที่จะสร้างแผนความร่วมมือในการศึกษาและการวิจัยในอนาคต

