

บทที่ 3

ผลการศึกษา

การศึกษาคุณลักษณะของเซลล์ประสาทในชั้นที่ 5 ของพรีซูปิคิวลัม (presubiculum) ด้วยวิธีการย้อมเนื้อเยื่อสมองเพื่อหาเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (acetylcholinesterase reaction) ร่วมกับการย้อมเนื้อเยื่อสมองด้วยเมทิลีนบลู (Nissl stain) โดยเปรียบเทียบความสอดคล้องกับการฉีดสารเรืองแสงชนิดต่าง ๆ เข้าไปที่ส่วนปลายเส้นใยประสาทแอกซอน เพื่อแสดงลักษณะของเซลล์ประสาทต้นกำเนิด (retrograde axoplasmic labelling with fluorescent dye) วิธีการดังกล่าวนี้ ทำให้สามารถแสดงรายละเอียดทั้งด้านการติดต่อเชื่อมโยงของเส้นใยประสาท ลักษณะรูปร่างของเซลล์ประสาท และขอบเขตการแบ่งเป็นชั้นต่าง ๆ ของสมองส่วนนี้ได้เป็นอย่างดี การแสดงผลการศึกษาวิจัยประกอบด้วย

1. ผลการศึกษาการจัดเรียงตัวเป็นชั้นต่าง ๆ ของสมองส่วนพรีซูปิคิวลัม ด้วยวิธีการย้อมเนื้อเยื่อสมองเพื่อหาเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส ร่วมกับวิธีการย้อมเนื้อเยื่อสมองด้วยเมทิลีนบลู

1.1 การแสดงผลการศึกษาเกี่ยวกับการจัดแบ่งเป็นชั้นต่าง ๆ ของสมองส่วนพรีซูปิคิวลัม (lamination)

1.2 การแสดงผลการศึกษา ด้วยการเปรียบเทียบลักษณะที่แตกต่างกันระหว่างชั้นต่าง ๆ ของสมองส่วนพรีซูปิคิวลัม

1.3 การแสดงผลการศึกษาคุณลักษณะชั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีซูปิคิวลัม จากเนื้อเยื่อสมองที่ถูกตัดในลักษณะเรียงลำดับอย่างต่อเนื่องจากด้านหน้าไปยังด้านหลังของสมอง (rostrocaudal extent)

2. ผลการศึกษาลักษณะเซลล์ประสาทต้นกำเนิดด้วยการฉีดสารเรืองแสงชนิดต่าง ๆ เข้าไปที่บริเวณส่วนปลายของเส้นใยประสาทแอกซอน

สมองส่วนพรีซูปิคิวลัมวางตัวอยู่ทางด้านใน (medial) ส่วนหลัง (caudal) ของแต่ละซีกสมอง โดยจะโค้งไปตามแนวแกนเซปโตเทมโปรัล (septotemporal axis) ของสมอง ลักษณะเป็นแถบแคบเรียวยาวมีทั้งส่วนโค้ง ส่วนเว้าตามแนวของคอร์เทกซ์ที่อยู่ใกล้เคียง ขอบเขตด้านบน (dorsal) ติดต่อกับสมองส่วนรีโทรสปรีเนียล (retrosplenial cortex) ขอบเขตด้านล่าง (ventral) ติดต่อกับสมองส่วนซูปิคิวลัม (subiculum) และเดนเตดไจรัส (dentate gyrus) ทางด้านหลัง (caudal) ของพรีซูปิคิวลัม พบว่ามีสมองส่วนพาราซูปิคิวลัม (parasubiculum) วางพาดอยู่ด้านในโดยโอบล้อมส่วนหลังของพรีซูปิคิวลัมไว้แล้วทอดขึ้นไปด้านบน (posteromedial) ต่อ

พรีซูบิวลัม จุดเริ่มต้นทางด้านหน้า (rostral) ของสมองส่วนพรีซูบิวลัมจะต่อเนื่องมาจากส่วนหลังของรีโทรสปรีเนียลคอร์เทกซ์ สำหรับผลการศึกษาการจัดแบ่งเป็นชั้นต่าง ๆ ของสมองส่วนพรีซูบิวลัมพบว่าสามารถแบ่งสมองส่วนนี้ได้เป็น 6 ชั้นโดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. ผลการศึกษาการจัดเรียงตัวเป็นชั้นต่าง ๆ ของสมองส่วนพรีซูบิวลัม ด้วยวิธีการย้อมเนื้อเยื่อสมองหนูเพื่อหาเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรส ร่วมกับการย้อมเนื้อเยื่อสมองหนูด้วยเมทิลีนบลู

การศึกษาเนื้อเยื่อสมองด้วยวิธีการย้อมหาเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรส เป็นกระบวนการศึกษาถึงปฏิกิริยาการติดสีน้ำตาลของอะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (AChE staining) ในระดับที่แตกต่างตามปริมาณการมีเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรส ระดับความแตกต่างของอะซิติลโคลีนเอสเตอเรสสามารถสังเกตพบได้อย่างชัดเจนทำให้สามารถใช่วิธีการนี้ในการแบ่งสมองส่วนพรีซูบิวลัมออกได้เป็นชั้นต่าง ๆ 6 ชั้น โดยศึกษาเปรียบเทียบกับวิธีการย้อมเนื้อเยื่อสมองด้วยเมทิลีนบลู ซึ่งเป็นกระบวนการศึกษาด้วยการสังเกตลักษณะการติดสีฟ้าของแกรนูลที่อยู่ภายในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ของเซลล์ ทำให้ทราบความแตกต่างของขนาด รูปร่าง และความหนาแน่นของเซลล์ประสาทที่จัดเรียงตัวกันอยู่เป็นชั้น ดังนั้นในการอธิบายผลการศึกษาจะกล่าวถึงทั้งลักษณะความแตกต่างทางด้านขนาด รูปร่าง และความหนาแน่นของเซลล์ประสาทในแต่ละชั้น (cytoarchitectonic) ที่ได้จากการย้อมเนื้อเยื่อสมองด้วยเมทิลีนบลู และความแตกต่างของระดับการติดสีน้ำตาลของอะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (chemoarchitectonic) ร่วมกัน ดังผลการศึกษาที่จะแสดงต่อไปนี้

1.1 การแสดงผลการศึกษาลักษณะการจัดแบ่งเป็นชั้นต่าง ๆ ของสมองส่วนพรีซูบิวลัม สมองส่วนพรีซูบิวลัมสามารถแบ่งได้ 6 ชั้น ดังนี้ (ภาพที่ 1)

ชั้นที่ 1 (layer I) สังเกตจากด้านใน (medial) ของคอร์เทกซ์ จะพบว่าชั้นนี้อยู่ที่ผิวนอกสุดของสมองส่วนพรีซูบิวลัม การติดสีน้ำตาลของอะซิติลโคลีนเอสเตอเรส ที่ได้จากการศึกษาการย้อมหาเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรส อยู่ในระดับเข้มมากมองเห็นได้ชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับชั้นที่ 2 ซึ่งติดสีจางมากทำให้สามารถแยกออกจากชั้นที่ 2 ได้ง่าย ระดับความเข้มของสีที่พบจะมีความสม่ำเสมอกันตลอดทั้งชั้น ไม่พบว่ามีเซลล์ประสาทปรากฏในชั้นนี้จากการย้อมเนื้อเยื่อสมองด้วยเมทิลีนบลู

ชั้นที่ 2 (layer II) จาก AChE staining พบว่าติดสีน้ำตาลของอะซิติลโคลีนเอสเตอเรสในระดับที่จางมากสามารถพบได้ในลักษณะเป็นแถบบาง ๆ ยาวตลอดสมองส่วนพรีซูบิวลัม โดยจะขนานไปตามความโค้งของคอร์เทกซ์ ในส่วนล่าง (ventral) ของชั้นนี้จะมีการโค้งและวกกลับขึ้นมาเล็กน้อยทำให้มองเห็นคล้ายตะขอ ส่วนหน้า (rostral) ของพรีซูบิวลัม พบว่าส่วนบน (dorsal) ของชั้นที่ 2 ไม่สามารถแยกออกจากส่วนบนของชั้นที่ 3 ได้อย่างชัดเจน แต่ถ้ามองภาพโดยรวมสามารถบอกขอบเขตของชั้นได้ ลักษณะของเซลล์ประสาทจากการย้อมแกรนูลใน

ซัยโทพลาสซึม จะมีลักษณะของการอัดตัวกันแน่นเป็นแถบของเซลล์ประสาทยาวตลอดทั้งชั้นที่ 2 การจัดเรียงตัวในลักษณะเช่นนี้ทำให้มีความหนาแน่นมากกว่าทุกชั้น เมื่อทำการวัดความหนาแน่นของเซลล์ประสาทด้วย image analyser ปรากฏว่ามีเหตุผลเพียงพอที่จะสรุปว่า ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของจำนวนเซลล์ต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ระหว่างชั้นที่ 2 และชั้นอื่นๆของพรีซูบิวลัมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ด้วยโอกาสผิดพลาดไม่เกิน 5% ($P < 0.05$) โดยชั้นที่ 2 จะมีความหนาแน่นประมาณ 7900 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร (cells/mm^2) ซึ่งอยู่กันหนาแน่นมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชั้นอื่นๆ ของสมองส่วนพรีซูบิวลัม (ตารางที่ 1) นอกจากนั้นเซลล์ประสาทในชั้นที่ 2 ยังมีลักษณะพิเศษคือ การเกาะกันเป็นกลุ่มๆ (cell islands) เห็นได้อย่างชัดเจน และเมื่อเปรียบเทียบขนาดของเซลล์ประสาทแต่ละเซลล์โดยเฉลี่ยในแต่ละชั้นพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$) โดยในชั้นที่ 2 จะมีขนาดเล็กที่สุดดังนี้ พื้นที่ของเซลล์ (area) ประมาณ 24.18 ตารางไมโครเมตร (μm^2) เส้นรอบวง (perimeter) ประมาณ 20.51 ไมโครเมตร (μm) เส้นผ่านกลางเซลล์ (spherical diameter) ประมาณ 5.52 ไมโครเมตร (ตารางที่ 1)

ชั้นที่ 3 (layer III) จาก AChE staining เป็นชั้นที่มีความกว้างมากกว่าชั้นอื่นๆ ของสมองส่วนพรีซูบิวลัมโดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

1. ส่วนตื้น (superficial part) เป็นส่วนที่มีการติดสีน้ำตาลของตะกอนซิลเวอร์ฮัลไฟด์ในระดับตื้น
2. ส่วนลึก (deep part) เป็นส่วนที่มีการติดสีน้ำตาลของตะกอนซิลเวอร์ฮัลไฟด์ ในระดับปานกลาง เมื่อเปรียบเทียบกับชั้นตื้นจะมีลักษณะความเข้มของสีในระดับที่จางกว่าและไม่สามารถแยกขอบเขตออกจากกันได้อย่างชัดเจน แต่เมื่อสังเกตภาพรวมทั้งหมดของชั้นนี้สามารถบอกได้ว่าเป็นชั้นตื้นหรือชั้นลึก

จาก Nissl stain พบว่า ลักษณะของเซลล์ประสาทในชั้นที่ 3 มีการจัดเรียงตัวเป็นแถวอยู่ภายในขอบเขตของชั้นอย่างเป็นระเบียบและมีการจัดตัวกันแน่นเป็นแถบของเซลล์ แต่ความหนาแน่นของเซลล์น้อยกว่าในชั้นที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) คือ ประมาณ 4000 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 1) เซลล์ในชั้นนี้มีรูปร่างคล้ายรูปปิรามิด (pyramidal cell) และมีขนาดใหญ่กว่าในชั้นที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีพื้นที่ประมาณ 47.89 ไมโครเมตร เส้นรอบวงประมาณ 26.52 ไมโครเมตร และเส้นผ่านกลางเซลล์ประมาณ 7.77 ไมโครเมตร

ชั้นที่ 4 (layer IV) สมองส่วนนี้ไม่ปรากฏชั้นที่ 4 ชัดเจนนัก ด้วยวิธีการย้อมหาเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จากการศึกษาของ Sripanidkulchai (1986) พบว่าชั้นที่ 4 ของสมองส่วนซิงกูเลต (cingulate cortex) เป็นโครงสร้างที่ได้รับเส้นใยประสาทติดต่อเชื่อมโยงมาจากทาลามัส (thalamocortical structure) ซึ่งแสดงได้ด้วยวิธีการฉีดสาร

กัมมันตภาพรังสีเข้าไปที่ตัวเซลล์ประสาท ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงไม่สามารถแยกชั้นที่ 4 ออกจากชั้นที่ 3 และชั้นที่ 5 ได้

ชั้นที่ 5 (layer V) จาก AChE staining เป็นชั้นที่มีลักษณะเป็นแถบบางๆ ยาว มีการติดสีของตะกอนซิลเวอร์ซัลไฟด์ในระดับที่เข้มมาก โดยอยู่ในส่วนลึกตลอดความยาวของสมองส่วนพรีฮิปโปแคมปัส วางตัวขนานไปกับความโค้งของไวท์แมทเทอร์ (white matter) ส่วนล่าง (ventral) ของชั้นนี้ไปสิ้นสุดคล้ายกับไปกั้นแ่งส่วนของพรีฮิปโปแคมปัสออกจากฮิปโปแคมปัส โดยส่วนบนของสมองส่วนฮิปโปแคมปัสจะโค้งสอดประสานขึ้นไประหว่างส่วนปลายของชั้นที่ 5 และ 6 ของพรีฮิปโปแคมปัส ทางด้านหน้า (rostral) ของสมองส่วนนี้ พบว่าส่วนปลายด้านบน (dorsal) ของชั้นที่ 5 จะไปต่อเนื่องกับชั้นที่ 5 ของสมองส่วนรีโทรสเปรียล จนแยกขอบเขตออกจากกันได้ไม่ชัดเจนนัก แต่ถ้ามองภาพรวมสามารถบอกได้ว่าเป็นชั้นที่ 5 ของสมองส่วนใด แถบเข้มของชั้นที่ 5 นี้สามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจนตลอดส่วนของพรีฮิปโปแคมปัส สำหรับขนาดของเซลล์ประสาทรุ่นนี้มีเหตุผลเพียงพอที่จะสรุปว่าเซลล์ประสาทในชั้นที่ 5 มีขนาดปานกลาง เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ประสาทของชั้น 6 บี (layer VIb) ซึ่งพบว่ามีขนาดเล็กกว่ากันไม่มากนัก แต่ถ้าเปรียบเทียบกับชั้นอื่นๆ แล้วขนาดของเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 จะใหญ่กว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังนี้ พื้นที่ของเซลล์ประมาณ 67.67 ไมโครเมตร เส้นรอบวงของเซลล์ประมาณ 31.97 ไมโครเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ประมาณ 9.21 ไมโครเมตร (ตารางที่ 1) รูปร่างของเซลล์ประสาทมีลักษณะคล้ายรูปปิรามิด จัดเรียงตัวเป็นแถวอยู่ภายในส่วนที่ติดสีเข้มของตะกอนซิลเวอร์ซัลไฟด์นี้ โดยเซลล์ประสาทจะวางตัวไม่หนาแน่นมากนักในชั้นนี้เมื่อเปรียบเทียบกับความหนาแน่นของชั้นที่ 5 กับชั้นอื่นๆ ของสมองส่วนพรีฮิปโปแคมปัสปรากฏว่ามีความหนาแน่นน้อยที่สุดคือ ประมาณ 1500 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 1)

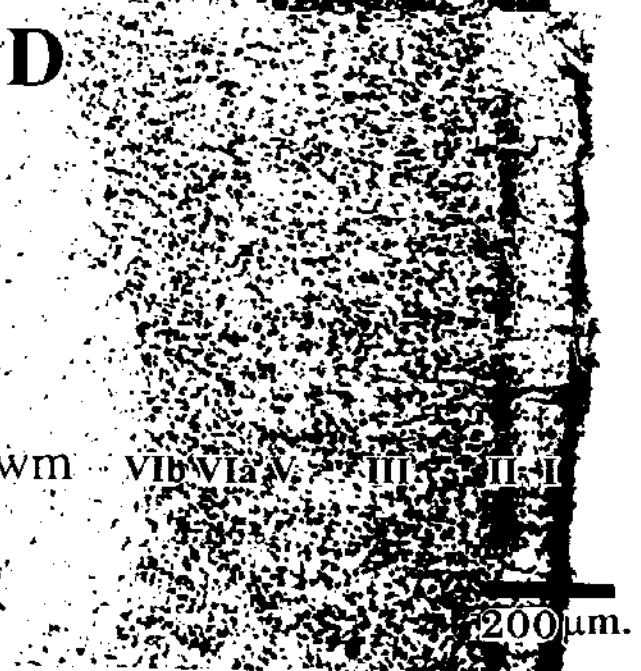
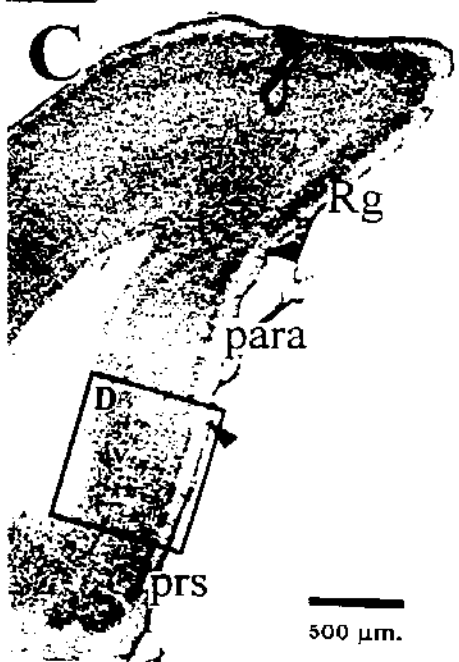
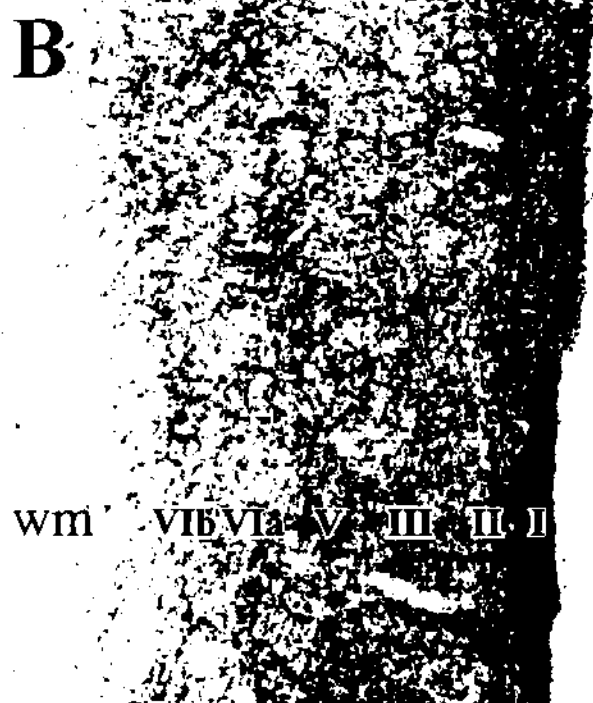
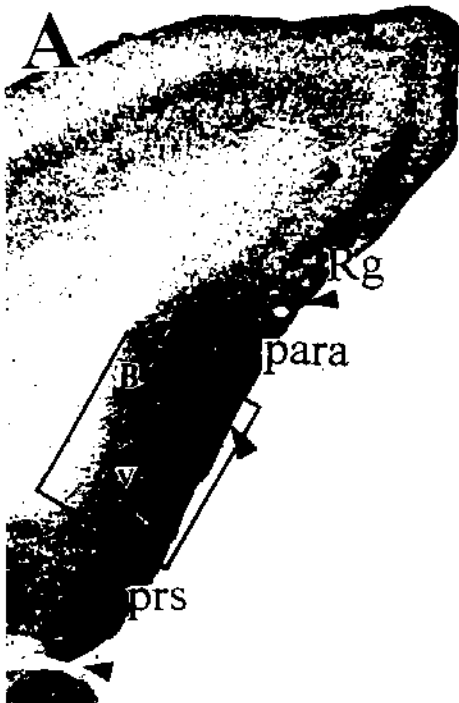
ชั้นที่ 6 (layer VI) เป็นชั้นที่อยู่ลึกที่สุดโดยอยู่ติดกับส่วนไวท์แมทเทอร์ ตำแหน่งของชั้นนี้จะอยู่ระหว่างไวท์แมทเทอร์กับชั้นที่ 5 Sripamukulchai (unpublished observation, 1991) แบ่งชั้นที่ 6 ออกเป็น 2 ส่วนคือ 6เอ, 6บี ดังนี้

1. ชั้น 6เอ (layer VIa) ลักษณะของชั้นจะมีความหนาแน่นมากกว่าชั้น 6บี รวมทั้งการติดสีของตะกอนซิลเวอร์ซัลไฟด์ในระดับที่จางกว่าชั้น 6บี ด้วย เซลล์ประสาทมีรูปร่างคล้ายรูปปิรามิด มีขนาดเล็กกว่าชั้น 6บี และชั้นที่ 5 เมื่อเปรียบเทียบกับกัน ขนาดพื้นที่ของเซลล์ประมาณ 39.05 ไมโครเมตร เส้นรอบวงประมาณ 24.11 ไมโครเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ประมาณ 7.00 ไมโครเมตร (ตารางที่ 1)

2. ชั้น 6บี (layer VIb) ลักษณะของชั้นจะบางกว่า และการติดสีของตะกอนซิลเวอร์ซัลไฟด์ในระดับเข้มมากกว่าชั้น 6เอ เซลล์มีรูปร่างคล้ายรูปปิรามิดเช่นกันแต่มีขนาดใหญ่กว่า เมื่อเปรียบเทียบกับขนาดของเซลล์กับชั้นอื่นๆ พบว่ามีขนาดใหญ่ที่สุดในสมองส่วนนี้ แต่อย่างไรก็ตามบางเซลล์มีขนาดใกล้เคียงกับเซลล์ประสาทที่อยู่ในชั้นที่ 5 ทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างของขนาดออกจากชั้นที่ 5 ได้ชัดเจนนัก สำหรับความหนาแน่นของเซลล์ประสาท

ในชั้นนี้จะน้อยกว่าชั้น 6เอ ถ้าสังเกตจากการข้อมเนื้อเยื่อสมองด้วยเมทิลีนบลู พบว่า เซลล์ประสาทจะจัดเรียงตัวแยกออกจากชั้น 6เอ ได้อย่างชัดเจน

- ภาพที่ 1** แสดงการแบ่งชั้นของสมองส่วนพรีซูบิคิวลัมด้วยวิธีการย้อมเนื้อเยื่อสมอง เพื่อหาเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรส (AChE staining) และการย้อมเนื้อเยื่อสมองด้วยเมทิลีนบลู (Nissl stain)
- ภาพ A แสดงเนื้อเยื่อสมองที่ถูกย้อมหาเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรส
- ภาพ B ภาพขยายจากกรอบเล็กของภาพ A แสดงชั้นต่าง ๆ ภายในสมองส่วนพรีซูบิคิวลัมที่แตกต่างกัน เนื่องจากการติดสีไม่เท่ากันจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่อยู่ภายในชั้น
- ภาพ C แสดงเนื้อเยื่อสมองที่ถูกย้อมด้วยเมทิลีนบลู
- ภาพ D ภาพขยายจากกรอบเล็กของภาพ C แสดงลักษณะของเซลล์ประสาทในชั้นต่าง ๆ ของสมองส่วนพรีซูบิคิวลัม ซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งทางด้านรูปร่าง ขนาด และความหนาแน่น โดยจัดเรียงตัวอยู่ในชั้นที่มีระดับของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสที่แตกต่างกัน
- (prs = presubiculum, para = parasubiculum, sub = subiculum, wm = white matter, Rg = retrosplenial granular cortex)
- สัญลักษณ์ปลายลูกศรแสดงขอบเขตของสมองแต่ละส่วน

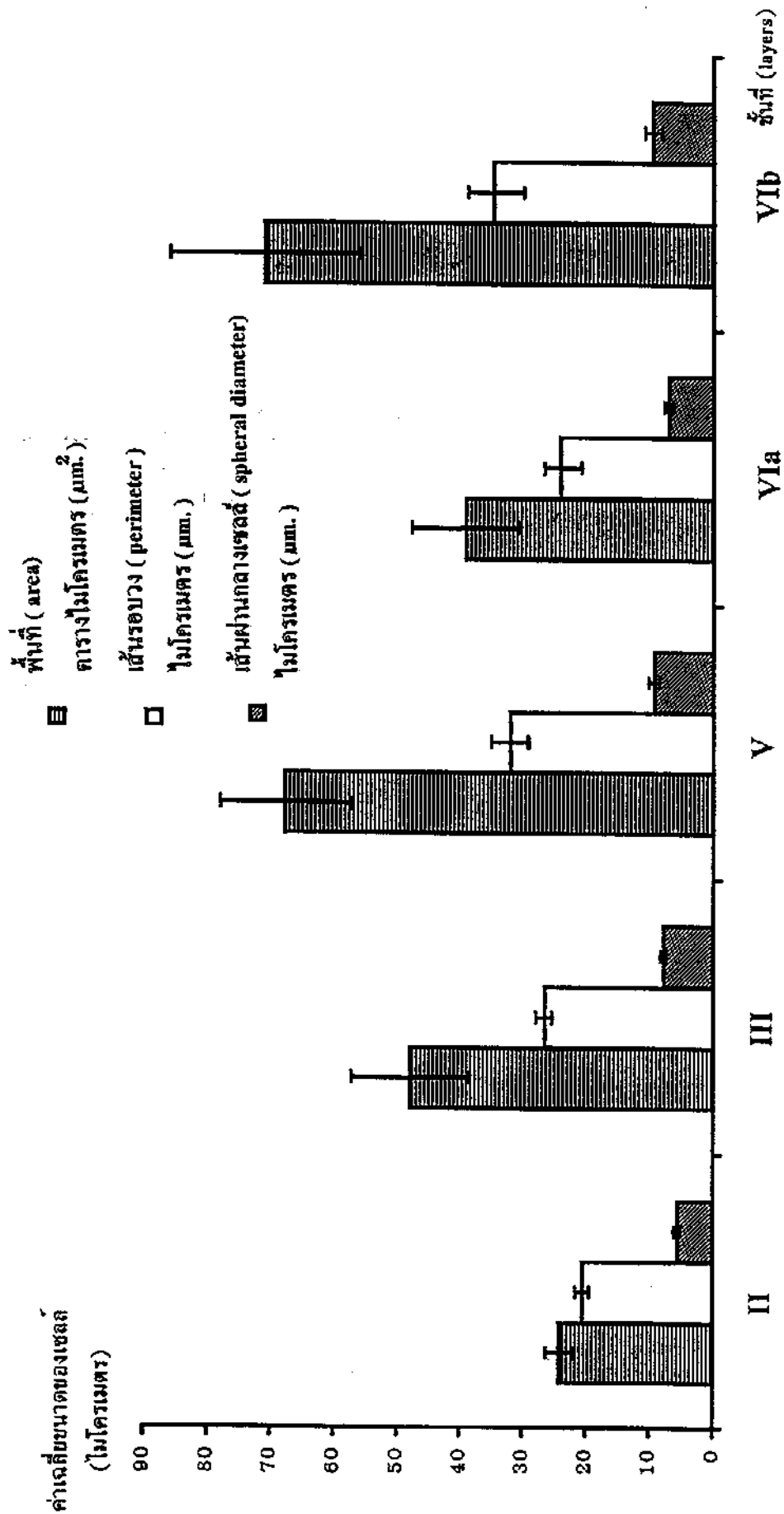


1.2 การแสดงผลการศึกษาด้วยการเปรียบเทียบลักษณะที่แตกต่างกันระหว่างชั้นต่าง ๆ ของสมองส่วนพรีซูบิวคิวลัม

ดังที่กล่าวแล้วว่าสมองส่วนพรีซูบิวคิวลัมสามารถแบ่งได้ 6 ชั้น แต่ละชั้นมีความแตกต่างกันทั้งทางด้านขนาด รูปร่าง และความหนาแน่นของเซลล์ประสาท การศึกษาด้วยการเปรียบเทียบลักษณะที่แตกต่างกันระหว่างชั้นต่าง ๆ จึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อสามารถบอกถึงความแตกต่างได้อย่างเป็นรูปธรรม (quantity data) ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงได้นำวิธีการวิเคราะห์ภาพ (image analysis) มาใช้ประโยชน์ เนื่องจากเครื่องมือวิเคราะห์ภาพ (image analyser) สามารถแปลงข้อมูลจากภาพออกมาเป็นค่าที่เป็นตัวเลข ทำให้การเปรียบเทียบความแตกต่างกระทำได้ง่ายและมีความชัดเจน จากตารางที่ 1 ซึ่งเป็นตารางแสดงข้อมูลการเปรียบเทียบขนาดและความหนาแน่นของเซลล์ประสาทในแต่ละชั้นของสมองส่วนพรีซูบิวคิวลัม ที่ได้จากการวัดด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ภาพ ในการศึกษาเปรียบเทียบขนาดของเซลล์ประสาทเป็นการเปรียบเทียบทั้งทางด้านพื้นที่ของเซลล์ เส้นรอบวงของเซลล์ และเส้นผ่านกลางเซลล์ พบว่ามีลักษณะเป็นไปในทิศทางเดียวกันทั้ง 3 ด้าน คือ ชั้น 6 บี ประกอบด้วยเซลล์ประสาทขนาดใหญ่ ขนาดพื้นที่ของเซลล์ประสาทส่วนใหญ่ประมาณ 55.90 - 85.78 ตารางไมโครเมตร ($\bar{x} = 70.84 \pm 14.94$) เส้นรอบวงประมาณ 30.89 - 38.49 ไมโครเมตร ($\bar{x} = 34.69 \pm 3.80$) และเส้นผ่านกลางเซลล์ประมาณ 8.55 - 10.41 ไมโครเมตร ($\bar{x} = 9.48 \pm 0.93$) ในชั้นที่ 2, 3 และชั้น 6 เอ ประกอบด้วยเซลล์ประสาทที่มีขนาดเล็กจนถึงขนาดปานกลาง พื้นที่ของเซลล์ประสาททั้ง 3 ชั้นโดยเฉลี่ยแล้วจะอยู่ในช่วง 22.69 - 53.93 ตารางไมโครเมตร เส้นรอบวงของเซลล์อยู่ในช่วง 19.42 - 28.08 ไมโครเมตร และเส้นผ่านกลางเซลล์อยู่ในช่วง 5.45 - 8.25 ไมโครเมตร สำหรับชั้นที่ 5 ประกอบด้วยเซลล์ประสาทขนาดปานกลาง โดยมีพื้นที่ของเซลล์ประมาณ 57.76 - 77.58 ตารางไมโครเมตร ($\bar{x} = 67.67 \pm 9.91$) เส้นรอบวงเซลล์ประมาณ 29.68 - 34.25 ไมโครเมตร ($\bar{x} = 31.97 \pm 2.28$) และเส้นผ่านกลางเซลล์ประมาณ 8.55 - 9.87 ไมโครเมตร ($\bar{x} = 9.21 \pm 0.66$) ทางด้านความหนาแน่นของเซลล์ประสาทในแต่ละชั้นพบว่าชั้นที่ 2 จะอยู่กันอย่างหนาแน่นมากที่สุด โดยเฉลี่ยแล้วในพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตรจะพบเซลล์ประสาทในชั้นที่ 2 ถึง 7900 เซลล์ แต่ในชั้นที่ 5 อยู่กันอย่างหนาแน่นน้อยที่สุดโดยพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตรจะมีเซลล์ประสาทเฉลี่ยประมาณ 1500 เซลล์ เท่านั้น (ตารางที่ 1) ความแตกต่างในแต่ละชั้นของสมองส่วนพรีซูบิวคิวลัมจะเห็นได้อย่างชัดเจน จากแผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบขนาดและความหนาแน่นของเซลล์ประสาทในแต่ละชั้น (ภาพที่ 2, 3)

ตารางที่ 1 ตารางแสดงข้อมูลการเปรียบเทียบขนาดและความหนาแน่นของเซลล์ประสาทในแต่ละชั้นของสมองส่วนพรีพิวทิคัม

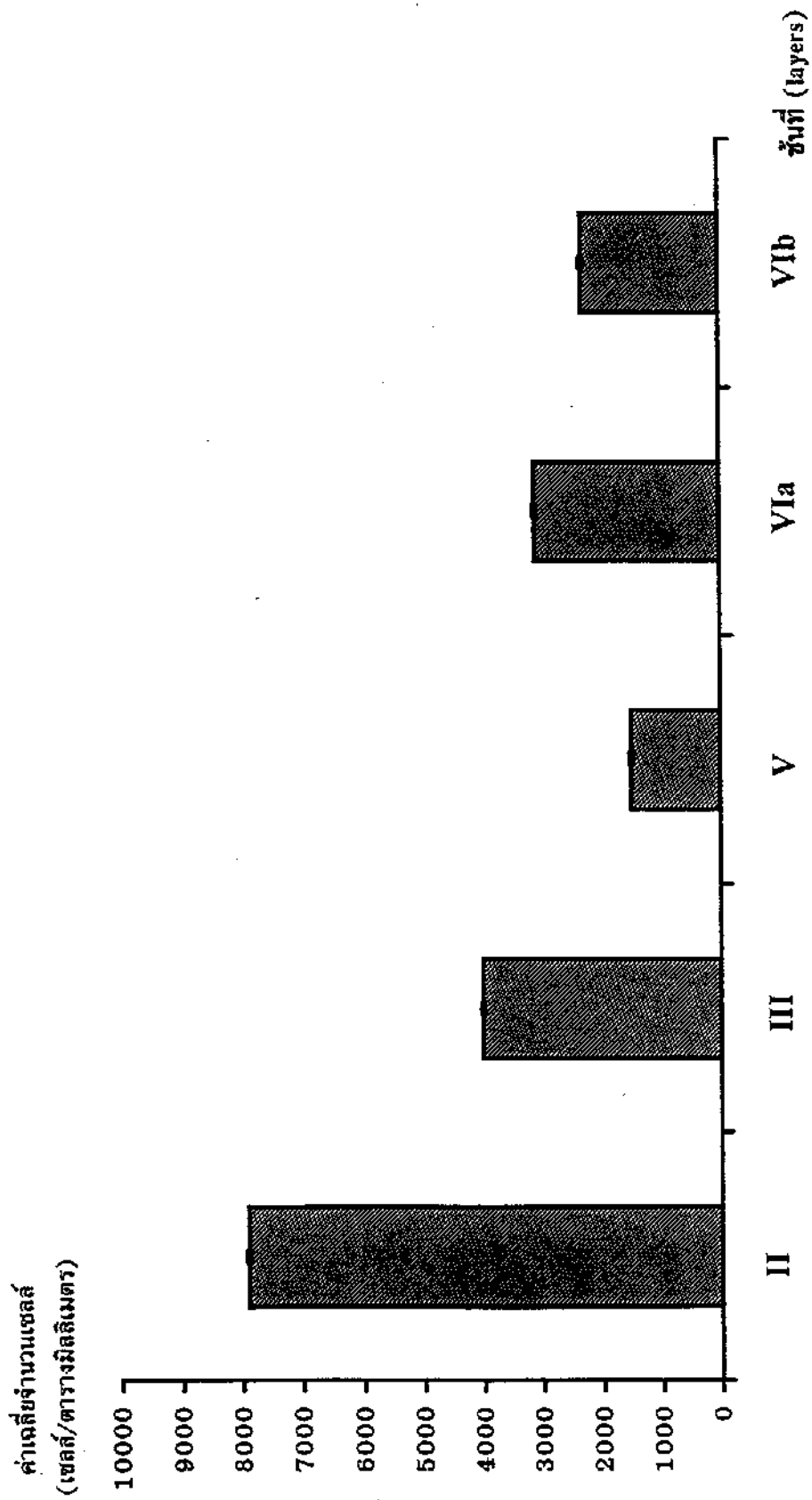
ค่าที่ได้จากการวัด (data)	ค่าเฉลี่ยของเซลล์ประสาทในแต่ละชั้น $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\pm$ s.d.)					
	2 (II)	3 (III)	5 (V)	6 เอ (VIa)	6 บี (VIb)	
พื้นที่ของเซลล์ (area ; μm^2)	24.18 $\pm$ 1.49	47.89 $\pm$ 6.09	67.67 $\pm$ 9.91	39.05 $\pm$ 6.10	70.84 $\pm$ 14.94	
เส้นรอบวงเซลล์ (perimeter ; μm)	20.51 $\pm$ 0.69	26.52 $\pm$ 1.56	31.97 $\pm$ 2.28	24.11 $\pm$ 1.54	34.69 $\pm$ 3.80	
เส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ (spherical diameter ; μm)	5.52 $\pm$ 0.17	7.77 $\pm$ 0.48	9.21 $\pm$ 0.66	7.00 $\pm$ 0.57	9.48 $\pm$ 0.93	
ความหนาแน่นของเซลล์ (count/unit area ; cells /mm. ²)	7900 $\pm$ 0.00	4000 $\pm$ 10.00	1500 $\pm$ 0.00	3100 $\pm$ 0.00	2900 $\pm$ 0.00	



ภาพที่ 2 แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบขนาดของเซลล์ประสาทในชั้นต่างๆ ของสมองส่วนพรีพิวคิวลัม



กระทรวงศึกษาธิการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น



ภาพที่ 3 แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบความหนาแน่นของเซลล์ประสาทในชั้นต่างๆ ของสมองส่วนพรีซีรีบิลัม

1.3 การแสดงผลการศึกษาคุณลักษณะชั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีฮิปโปแคมปัส จากเนื้อเยื่อสมองที่ถูกตัดเรียงลำดับอย่างต่อเนื่องจากด้านหน้าไปยังด้านหลังของสมอง (rostrocaudal extent) (ภาพที่ 4)

การศึกษาเนื้อเยื่อสมองที่ถูกตัดเป็นลำดับอย่างต่อเนื่องจากด้านหน้าไปยังด้านหลังของสมอง (rostrocaudal) ซึ่งวางในลักษณะเอียงทำมุมประมาณ 20° กับแนวระนาบ (oblique position) ทำให้ทราบขอบเขตและลักษณะชั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีฮิปโปแคมปัสทั้งหมด โดยใช้เส้นลากผ่านกลางส่วนหูของสัตว์ทดลอง (interaural line; IA) เป็นจุดอ้างอิง ดังนี้

สมองส่วนพรีฮิปโปแคมปัสทางด้านหน้าสุด (rostral end) ปรากฏขึ้นในระยะประมาณ 1.53 มม. หน้าต่อ IA (ภาพที่ 4A) ตำแหน่งจะอยู่ระหว่างสมองส่วนรีโทรสเปรียลทางด้านบน (dorsal) และฮิปโปแคมปัสด้านล่าง (ventral) มีลักษณะโค้งเล็กน้อยไปตามแนวความโค้งของคอร์เทกซ์ พบว่าชั้นที่ 5 จะอยู่ในส่วนลึกจากทางด้านใน (medial) ของพรีฮิปโปแคมปัส โดยมีลักษณะเป็นแถบโค้งขนาดบางๆ เรียวยาวขึ้นไปขนานกับแนวของไวท์แมทเทอร์ มีการติดสีในระดับชั้นของตะกอนซิลเวอร์ซัลไฟด์เท่ากันตลอดทั้งชั้นมองเห็นได้ชัดเจน ทางด้านบนของชั้นที่ 5 จะต่อเนื่องกันไปกับชั้นที่ 5 ของสมองส่วนรีโทรสเปรียล ซึ่งติดสีจางมองเห็นความแตกต่างได้แต่แยกความแตกต่างได้ไม่ชัดเจน ทางด้านล่างชั้นที่ 5 จะไปสิ้นสุดที่ปลายบนของสมองส่วนฮิปโปแคมปัส ซึ่งมีลักษณะโค้งสอดขึ้นไปอยู่ในส่วนล่างของพรีฮิปโปแคมปัสจนแยกขอบเขตออกจากกันได้ไม่ชัดเจนนัก ชั้นที่ 5 ของพรีฮิปโปแคมปัสจะมีการเพิ่มขนาดทางด้านความยาวมากขึ้นเป็นลำดับไปอย่างต่อเนื่องตามระยะที่เข้าใกล้ IA ดังภาพที่ 4B ซึ่งเป็นระยะประมาณ 0.81 มม. หน้าต่อ IA ในระยะที่เข้าใกล้ IA นี้พบว่าทางส่วนบนของชั้นที่ 5 ยังคงมีลักษณะที่ต่อเนื่องกันไปกับชั้นที่ 5 ของสมองส่วนรีโทรสเปรียลอย่างแยกขอบเขตออกจากกันไม่ชัดเจนเช่นเดิม (ภาพที่ 4C) และทางด้านล่างพบว่า ส่วนบนของฮิปโปแคมปัสที่มีลักษณะโค้งจะยื่นแทรกแล้วสอดประสานกันเข้ามาระหว่างส่วนล่างของชั้นที่ 5 และชั้นที่ 6 ของพรีฮิปโปแคมปัส ทำให้มองดูคล้ายกับชั้นที่ 5 และชั้นที่ 6 แยกออกจากกันทางด้านล่าง เมื่อถึงระยะของ IA (ภาพที่ 4D) ในการตัดเนื้อเยื่อสมองลักษณะนี้เริ่มพบสมองส่วนพาราฮิปโปแคมปัสเข้ามาแทนที่ส่วนบนของพรีฮิปโปแคมปัส ทำให้ชั้นที่ 5 ของพรีฮิปโปแคมปัสมีขนาดสั้นลง นอกจากนั้นทางด้านข้างส่วนหลัง (dorsolateral) ของคอร์เทกซ์นี้เริ่มพบส่วนหน้า (rostral) ของเอนโดโรนัลคอร์เทกซ์ส่วนนอก (lateral entorhinal cortex; LEC) ปรากฏอยู่ทางด้านล่างต่อไรนัลซัลคัส (rhinal sulcus) ในระยะหลังต่อ IA นี้สมองส่วนพาราฮิปโปแคมปัสพบมากขึ้นเป็นลำดับอย่างต่อเนื่อง และขนาดของชั้นที่ 5 เล็กลงเรื่อยๆ ตามลำดับดังภาพที่ 4E และภาพที่ 4F ซึ่งเป็นระยะ 0.21 มม. และระยะ 0.33 มม. หลังต่อ IA นอกจากนั้นแล้วสมองส่วนนอกของเอนโดโรนัล (LEC) ก็จะมีขนาดใหญ่ขึ้นเป็นลำดับเช่นกัน จนกระทั่งในระยะประมาณ 0.45 มม. หลังต่อ IA ดังภาพที่ 4G จะพบส่วนหลังสุดของชั้นที่ 5 ของพรีฮิปโปแคมปัสมีลักษณะเป็นแถบติดสีเข้มขนาดไม่ยวดยิ่งโอบอยู่ด้านนอก (lateral) ของสมองส่วน

ภาพที่ 4 แสดงลักษณะชั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีฮิปโปแคมปัสจากเนื้อเยื่อสมองที่ถูกตัดเรียงลำดับจากด้านหน้าไปยังด้านหลังของสมอง ในลักษณะเอียงทำมุมประมาณ 20° กับแนวระนาบ ด้วยวิธีการย้อมเนื้อเยื่อเพื่อหาเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส

ภาพ A เป็นระยะประมาณ 1.53 มม. หน้าต่อ IA

ภาพ B เป็นระยะประมาณ 0.81 มม. หน้าต่อ IA

ภาพ C เป็นระยะประมาณ 0.33 มม. หน้าต่อ IA

ภาพ D เป็นระยะ IA โดยประมาณ

ภาพ E เป็นระยะประมาณ 0.21 มม. หลังต่อ IA

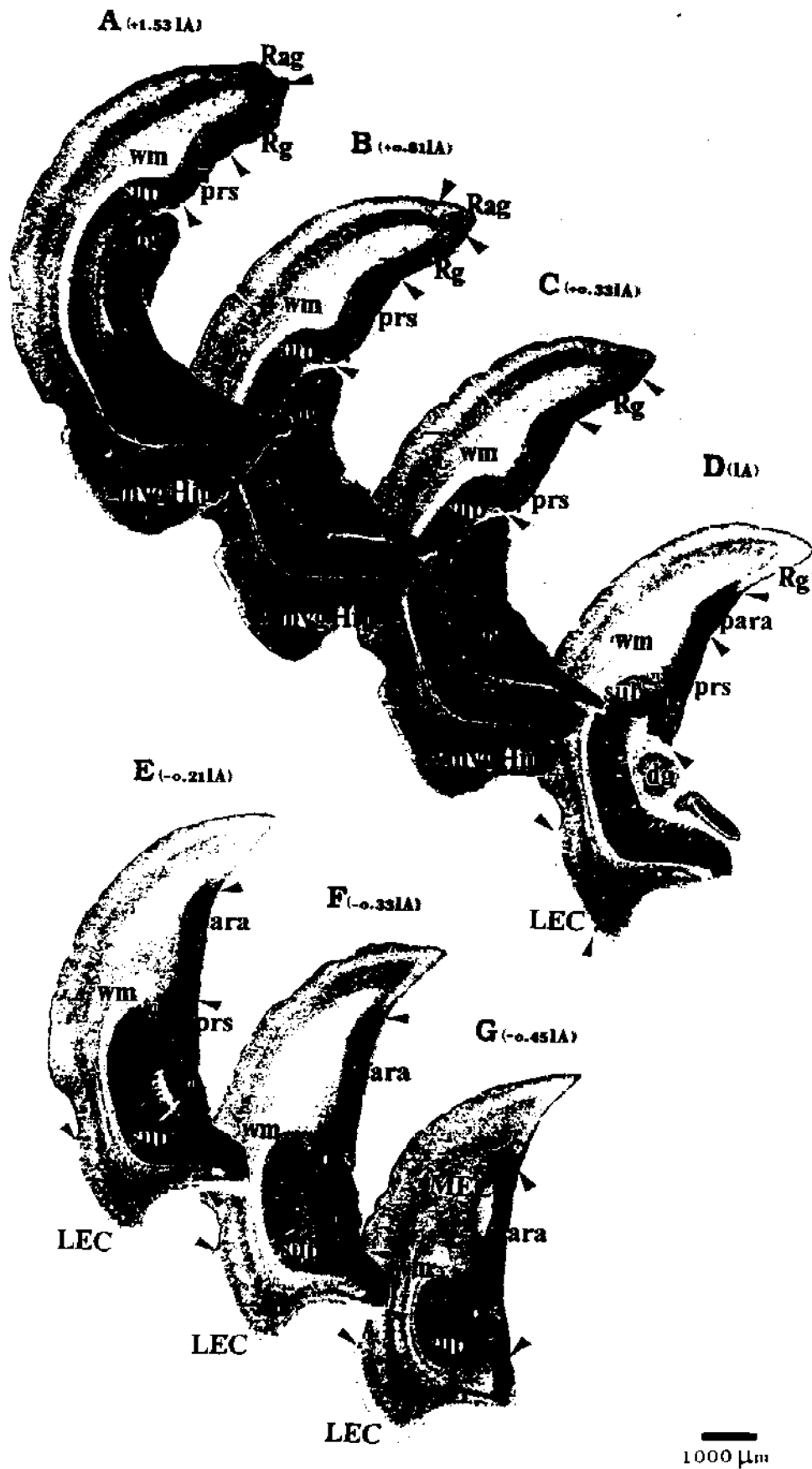
ภาพ F เป็นระยะประมาณ 0.33 มม. หลังต่อ IA

ภาพ G เป็นระยะประมาณ 0.45 มม. หลังต่อ IA

สังเกตลักษณะชั้นที่ 5 เป็นส่วนที่ติดสีในระดับเข้มยาวนานกับแนวของไวท์แมทเทอร์

(AmygHip = amygdalohippocampal area, MEC = medial entorhinal cortex, LEC = lateral entorhinal cortex, Rg = retrosplenial granular cortex, Rag = retrosplenial agranular cortex, para = parasubiculum, sub = subiculum, prs = presubiculum, dg = dentate gyrus, wm = white matter, IA = Interaural line)

สัญลักษณ์ปลายลูกศรแสดงขอบเขตของสมองแต่ละส่วน



2. ผลการศึกษาลักษณะของเซลล์ประสาทต้นกำเนิดด้วยการฉีดสารเรืองแสงชนิดต่าง ๆ

เนื่องจากคุณสมบัติของเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ของคอร์เทกซ์โดยทั่วไปจะส่งเส้นใยประสาทระยะไกลติดต่อไปยังโครงสร้างที่อยู่ลึกลงไปของสมอง (subcortical structure) ตามผลการศึกษาของ Jones (1984b) ดังนั้นการแสดงตำแหน่งและคุณลักษณะของเซลล์ประสาทในชั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีซูบิวลัม จึงได้ใช้สารเรืองแสงชนิดใดชนิดหนึ่งฉีดเข้าไปยังบริเวณต่างๆ ของโครงสร้างที่อยู่ลึกลงไปของสมองส่วนต่างๆ เช่น สโตรเอตัม (striatum) เบดนิวเคลียสของสเตรียเทอมินาลิส (bed nucleus of stria terminalis; BSTN) ฮัยโปธาลามัส (hypothalamus) เพื่อศึกษาว่าในชั้นที่ 5 ของพรีซูบิวลัมมีการติดต่อเชื่อมโยงกับกลุ่มเซลล์ประสาทใดในส่วนลึกของสมอง โดยสังเกตการเรืองแสงของเซลล์ประสาทต้นกำเนิด ถ้าปรากฏว่ามีเซลล์ประสาทเรืองแสงอยู่ในชั้นเดียวกับที่ได้รับการวิเคราะห์แล้วว่าเป็นชั้นที่ 5 ด้วยวิธีการย้อมหาเอนซิมอะเซติลโคลีนเอสเตอเรส ร่วมกับวิธีการย้อมเนื้อเยื่อสมองด้วยเมทิลีนบลู ดังที่กล่าวไว้ข้างต้นนั้นจริง แสดงว่ากลุ่มเซลล์ประสาทที่อยู่ในส่วนลึกของสมอง ซึ่งได้รับการฉีดสารเรืองแสงนี้มีการติดต่อกับชั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีซูบิวลัม ซึ่งในที่สุดก็พบว่าเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีซูบิวลัมมีการติดต่อเชื่อมโยงไปยังเบดนิวเคลียส

เบดนิวเคลียสเป็นกลุ่มเซลล์ประสาทที่มีขนาดใหญ่และมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสเตรียเทอมินาลิส (stria terminalis; ST) (Weller and Smith, 1982) Johnston (1923) เป็นบุคคลแรกที่ทำให้คำจำกัดความเกี่ยวกับเบดนิวเคลียสไว้ว่าเป็นแถบ (ribbon) ของกลุ่มเซลล์ประสาท (gray matter) ที่อยู่ตามสเตรียเทอมินาลิส ซึ่งมีลักษณะขยายออกในส่วนหน้าสุด (rostral end) และส่วนหลังสุด (caudal end) โดยในส่วนหลังสุดนี้เซลล์ประสาทกลุ่มใน และกลุ่มกลางของอมิกดาลา (medial and central amygdaloid nucleus) จะเป็นจุดเริ่มต้นของเบดนิวเคลียส สำหรับส่วนหน้าของเบดนิวเคลียสที่ขยายออกนั้นเป็นกลุ่มเซลล์ประสาทที่อยู่ใกล้ชิดกับคอมมิชเชอร์ส่วนหน้า (anterior commissure) ตรงบริเวณที่สเตรียเทอมินาลิสแยกออกไปประกอบเป็นเส้นใยประสาทกลุ่มต่างๆ (pathway) ต่อมา Young (1936) เรียกส่วนที่อยู่ทางด้านหน้า (rostral group) ว่าเป็นกลุ่มอินเตอร์สตีเชียลของสเตรียเทอมินาลิส (interstitial nucleus of stria terminalis) และเรียกกลุ่มเซลล์ประสาทขนาดใหญ่ที่กระจายอยู่ตามสเตรียเทอมินาลิส ว่าเป็นกลุ่มอินตราอมิกดาลอยด์ของสเตรียเทอมินาลิส (intraamygdaloid nucleus of stria terminalis) อย่างไรก็ตาม Young (1936) ศึกษาในสัตว์จำพวกฟันแทะพบว่ามียังมีกลุ่มเซลล์ประสาทที่อยู่กระจายระหว่างเส้นใยประสาทของสเตรียเทอมินาลิสน้อยมาก แต่จะรวมกันอยู่เป็นกลุ่มเล็กๆ กับคอมมิชเชอร์ส่วนหน้าเป็นส่วนใหญ่ DeOlmos (1990) จัดแบ่งเบดนิวเคลียสออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ตามการจัดเรียงตัวของเซลล์ประสาทที่มีลักษณะตามยาวโดยทอดตัวจากด้านหน้าต่ออมิกดาลอยด์บอดี้ (amygdaloid body) จนถึงบริเวณพาราเซปทัลเพอริคอมมิชเชอร์ (paraseptal pericommissural region) ดังนี้

1. กลุ่มเซลล์ประสาทเบดนิวเคลียสที่อยู่ในอมิกดาลา (intraamygdaloid sector)

2. กลุ่มเซลล์ประสาทเบตนิวเคลียสที่อยู่เหนือต่ออมิกดาลา (supraamygdaloid sector)

3. กลุ่มเซลล์ประสาทเบตนิวเคลียสที่อยู่รอบๆ บริเวณเซปทัล (paraseptal sector)

สำหรับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมรวมทั้งมนุษย์ กลุ่มเซลล์ประสาทที่อยู่ล้อมรอบบริเวณเซปทัล (กลุ่มที่ 3 ของ DeOlmos) จะเป็นกลุ่มสำคัญที่สุดของเบตนิวเคลียส โดยมีรูปร่างคล้ายรูปปิรามิดขนาดยาวที่ไม่เรียบ (elongate irregularly pyramidal shaped) ส่วนฐาน (base) อยู่เหนือต่อคอมมิชเชอร์ส่วนหน้าและบริเวณพรีออปติก (preoptic region) ส่วนยอด (apex) จะสิ้นสุดโดยอยู่บนธาละมัสกลุ่มบนด้านข้าง (dorsolateral of thalamus) ตำแหน่งของกลุ่มนี้จะอยู่หลังต่อนิวเคลียสแอคคัมเบนส์ (nucleus accumbens) หน้าต่อสเตรียเมดูลลาริสของธาละมัส (stria medullaris of thalamus) อยู่ทางด้านในต่ออินเตอร์นัลแคปซูล (internal capsule), ด้านข้างต่อขาคู้หน้าของโฟร์นิกซ์ (anterior pillars of fornix) ทำให้การวางตัวของมันอยู่ล้อมรอบส่วนหน้าของคอมมิชเชอร์อย่างสมบูรณ์ก่อนที่จะมีการพาดเข้าไปฝั่งตรงข้ามจากการที่เบตนิวเคลียส มีความสัมพันธ์กับส่วนหน้าของคอมมิชเชอร์นี้เอง DeOlmos จึงแบ่งเบตนิวเคลียสกลุ่มนี้ออกตามลักษณะตำแหน่งที่มีความสัมพันธ์กับส่วนหน้าของคอมมิชเชอร์ออกเป็น กลุ่มหน้าต่อคอมมิชเชอร์ (precommissural section) กลุ่มบนต่อคอมมิชเชอร์ (supracommissural section) กลุ่มใต้ต่อคอมมิชเชอร์ (infracommissural section) และกลุ่มหลังต่อคอมมิชเชอร์ (postcommissural section) จากลักษณะตำแหน่งของเบตนิวเคลียสนี้เองทำให้ DeOlmos แบ่งกลุ่มของเบตนิวเคลียสโดยสรุปออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. กลุ่มเซลล์ประสาทเบตนิวเคลียสด้านใน (medial subdivision; BSTM)

2. กลุ่มเซลล์ประสาทเบตนิวเคลียสด้านนอก (lateral subdivision; BSTL)

นอกจากนั้นยังแบ่งกลุ่มเพิ่มออกเป็นกลุ่มด้านหน้า (anterior subdivision; BSTA) และกลุ่มด้านหลัง (posterior subdivision; BSTP) ด้วย การแบ่งในลักษณะเช่นนี้จะคล้ายกับ Sun et al., (1991) ที่ศึกษาการติดต่อเชื่อมโยงระหว่างอมิกดาลา และเบตนิวเคลียส ด้วยการฉีดสารเรืองแสง (retrograde axoplasmic tracer) 2 ชนิด คือ ฟาสท์บลู (Fast blue; FB) และ บิสเบนซิมายด์ (bisbensimide; BB) เข้าไปที่เบตนิวเคลียสด้านต่าง ๆ ทำให้สามารถแบ่งเบตนิวเคลียสออกได้เป็น 4 กลุ่ม ใหญ่ๆ คือ

1. กลุ่มเซลล์ประสาทเบตนิวเคลียสกลุ่มหน้าด้านใน (anterior medial BSTN)

2. กลุ่มเซลล์ประสาทเบตนิวเคลียสกลุ่มหน้าด้านข้าง (anterior lateral BSTN)

3. กลุ่มเซลล์ประสาทเบตนิวเคลียสกลุ่มหลังด้านใน (posterior medial BSTN)

4. กลุ่มเซลล์ประสาทเบตนิวเคลียสกลุ่มหลังด้านนอก (posterior lateral BSTN)

สำหรับ Martin et al., (1991) ศึกษาลักษณะทางโครงสร้างของเซลล์ประสาทในสมองมนุษย์และลิง ได้ทำการแบ่งเบตนิวเคลียสออกเป็น 6 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. กลุ่มเซลล์ประสาททางด้านหน้า (anterior subdivision; BSTA)

2. กลุ่มเซลล์ประสาททางด้านข้าง (lateral subdivision; BSTL)

3. กลุ่มเซลล์ประสาททางด้านล่าง (ventral subdivision; BSTV)
4. กลุ่มเซลล์ประสาททางด้านใน (medial subdivision; BSTM)
5. กลุ่มเซลล์ประสาทที่อยู่บนแคปซูล (supracapsular subdivision; BSTS)
6. กลุ่มเซลล์ประสาทที่อยู่ใต้ต่อกลุ่มเซลล์ประสาทรูปเลนส์ (sublenticular subdivision; BSTL)

โดยส่วนหน้า (rostral) ทางด้านล่าง (ventral) ของเบตนิวเคลียสจะไปต่อเนื่องกับส่วนหลังของกลุ่มเซลล์ประสาทแอกคัมเบนส์ ทางด้านบน (dorsal) จะติดต่อกับคอเคตนิวเคลียส (caudate nucleus) ด้านใน (medial) เป็นขอบเขตส่วนล่าง (ventral division) ของเซปทัลนิวเคลียสกลุ่มนอก (lateral septal nucleus) ด้านหลังของเบตนิวเคลียสเป็นขอบเขตด้านในของแอตเทอรัลเวนทรีเคิล (lateral ventricle) และโฟร์นิก (fornix) ทางด้านข้าง (lateral) เบตนิวเคลียสติดต่อกับอินเทอรันัลแคปซูล (internal capsule) สำหรับทางด้านล่าง (ventral) เบตนิวเคลียสจะติดต่อกับพรีออปติก (preoptic) และ ส่วนหน้าของบริเวนฮัยโปธาลามัส (anterior hypothalamic area) นอกจากนั้น Martin et al. ยังแบ่งแต่ละกลุ่มย่อย (subdivision) ออกไปอีก ซึ่งจะไม่กล่าวถึงในที่นี้

ดังที่กล่าวข้างต้น จะพบว่า การแบ่งกลุ่มเบตนิวเคลียสของนักประสาทวิทยามีความแตกต่างกันตามหลักเกณฑ์ที่นำมาใช้ในการตัดสินใจ สำหรับการศึกษาวิจัยครั้งนี้ด้วยการฉีดสารเรืองแสงฟอสฟอรัสและฟลูออโรโกลด์ ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือทั้ง 2 ชนิดเข้าไปในเบตนิวเคลียสกลุ่มต่างๆ ในลักษณะที่เรียงเป็นลำดับจากด้านนอกเข้าไปด้านใน และจากด้านหน้าไปด้านหลัง ซึ่งจะคล้ายกับลักษณะของกลุ่มที่ DeOlmos และ Sun et al. แบ่ง (anteromedial, anterolateral, posteromedial และ posterolateral) นั่นเอง จนกระทั่งพบว่ามีกลุ่มเซลล์ประสาทของเบตนิวเคลียสเพียงกลุ่มเดียวเท่านั้นคือ กลุ่มหลังด้านในของเบตนิวเคลียส (posteromedial subdivision of bed nucleus of stria terminalis) ที่มีการเรืองแสงของเซลล์ประสาทต้นกำเนิดในชั้นที่ 5 ของพรีซูบิวลัม และยังพบว่าการติดต่อเชื่อมโยงภายในสมองซีกเดียวกัน (ipsilateral) กับตำแหน่งที่ฉีดสารเรืองแสงด้วย เซลล์ประสาทที่พบจะจัดเรียงตัวอยู่ในส่วนที่มีการติดสีของตะกอนซิลเวอร์ซัลไฟด์ที่เข้มมากนี้ และเรียงเป็นแถวบางๆ ยาวตลอดส่วนของพรีซูบิวลัม โดยมีรูปร่างคล้ายรูปปิรามิด ขนาดปานกลาง ดังรายละเอียดที่จะเสนอตามลำดับดังต่อไปนี้

ผลการฉีดสารเรืองแสงเข้าไปในเซลล์ประสาทของฮาลามัสทางด้านหน้า (anteroventral thalamus; AV)

การทดลองที่ SUB 70 ได้รับการฉีดสารเรืองแสงฟลูออโรโกลด์ (Fluoro-gold) เข้าไปในส่วนหน้าสุดของฮาลามัสกลุ่มหน้าด้านล่าง (AV) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่อยู่ใกล้ชิดกับส่วนหลังสุดของเซลล์ประสาทกลุ่มหลังด้านใน (posteromedial subdivision) ของเบตนิวเคลียส พบว่ามีเซลล์ประสาทเรืองแสงสีเหลืองทองของฟลูออโรโกลด์ในส่วนของซูบิวลัม นอกจากนั้นส่วนปลาย

ด้านบน (dorsal) ของซูบิควิลัม มีลักษณะของเซลล์ประสาทจัดเรียงตัวต่อเนื่องขึ้นไปเป็นแถวบาง ๆ ขนานไปกับแนวของไวท์แมทเทอร์ ซึ่งอยู่ในส่วนของพรีซูบิควิลัม (ภาพที่ 5A) ตำแหน่งของเซลล์ประสาทที่จัดเรียงตัวเป็นแถวบาง ๆ นี้ เมื่อเปรียบเทียบกับการย้อมเนื้อเยื่อสมองด้วยเมทิลีนบลู และการย้อมเนื้อเยื่อเพื่อหาเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรส พบว่าจะสอดคล้องกับตำแหน่งของเซลล์ประสาทที่มีขนาดปานกลาง รูปปรีรามิด และตรงกับบริเวณที่ติดสีเข้มของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรส ซึ่งได้รับการวินิจฉัยแล้วว่าเป็นชั้นที่ 5 ของพรีซูบิควิลัม เพื่อพิสูจน์ให้ชัดเจนว่า เซลล์ประสาทในชั้นที่ 5 มีการติดต่อกับส่วนใดของสมองระหว่างเบตนิวเคลียส กับ ฮาลามัส จึงได้ทำการทดลองฉีดสารเรืองแสงเข้าไปยังเซลล์ประสาทอย่างจำเพาะเจาะจงของเบตนิวเคลียสกลุ่มต่าง ๆ และ ฮาลามัส จนกระทั่งพบว่าการแสดงลักษณะของเซลล์ประสาทที่เรืองแสงเกิดขึ้นเฉพาะในส่วนของชั้นที่ 5 ของพรีซูบิควิลัม ในการฉีดสารเรืองแสงเข้าไปยังเบตนิวเคลียสกลุ่มหลังด้านใน เท่านั้น ดังการทดลองที่ SUB 94 ซึ่งได้รับการฉีดสารเรืองแสงฟลูออโรไกลเข้าไปในเบตนิวเคลียสกลุ่มหลังด้านใน และแสดงลักษณะเซลล์ประสาทเรืองแสงสีเหลืองทองในชั้นที่ 5 ของพรีซูบิควิลัม (ภาพที่ 5B) สำหรับการทดลองที่ SUB 48 ซึ่งได้รับการฉีดสารเรืองแสงฟลูออโรไกล เข้าไปในฮาลามัสกลุ่มหน้าด้านล่าง (AV) และฟาสท์บูลเข้าไปในฮาลามัสกลุ่มบนด้านข้าง (LD) พบว่าการเรืองแสงสีเหลืองทองของฟลูออโรไกลในส่วนของซูบิควิลัมโดยไม่มีการเรืองแสงเข้ามาในส่วนของพรีซูบิควิลัมแม้แต่เซลล์เดียว นอกจากนั้นยังพบด้วยว่ามีการเรืองแสงสีฟ้าตรงกับบริเวณที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นชั้นที่ 6 ของพรีซูบิควิลัมจากการศึกษาทั้ง 2 วิธีดังกล่าว (ภาพที่ 6C)

ผลการฉีดสารเรืองแสงเข้าไปในเซลล์ประสาทที่อยู่ในส่วนลึกของสมองบริเวณต่าง ๆ

เพื่อเป็นการแสดงผลการทดลองว่า เซลล์ประสาทของเบตนิวเคลียสเท่านั้นที่มีการติดต่อเชื่อมโยงกับชั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีซูบิควิลัม จึงได้ทำการทดลองฉีดสารเรืองแสงเข้าไปยังบริเวณต่าง ๆ ในส่วนลึกของสมอง ดังเช่นการทดลองที่ SUB 95 (ภาพที่ 7B) ได้รับการฉีดสารเรืองแสงฟลูออโรไกล เข้าไปในสมองส่วนแอคคัมเบนส์ พบว่าไม่มีการเรืองแสงของเซลล์ประสาทในส่วนของพรีซูบิควิลัมเลยแม้แต่เซลล์เดียว ในการทดลองที่ SUB 48 (ภาพที่ 7C) ได้รับการฉีดสารเรืองแสงฟาสท์บูล เข้าไปยังฮาลามัสกลุ่มในด้านล่าง (LD) และสารเรืองแสงฟลูออโรไกล เข้าไปยังฮาลามัสกลุ่มหน้าด้านล่าง (AV) ปรากฏว่ามีการเรืองแสงสีเหลืองทองของฟลูออโรไกลในซูบิควิลัม และเซลล์ประสาทเรืองแสงสีฟ้าของฟาสท์บูลในชั้นที่ 6 ของพรีซูบิควิลัม แต่ไม่พบว่า มีเซลล์ประสาทในชั้นที่ 5 ปรากฏแม้แต่เซลล์เดียว สำหรับการทดลองที่ SUB 94 ได้รับการฉีดสารเรืองแสงฟลูออโรไกลเข้าไปในเบตนิวเคลียสกลุ่มในทางด้านหลัง พบว่ามีการเรืองแสงสีเหลืองทองของเซลล์ประสาทในชั้นที่ 5 ของพรีซูบิควิลัม (ภาพที่ 7D) ซึ่งสามารถเปรียบเทียบความสอดคล้องของเซลล์ประสาทในชั้นที่ 5 นี้ได้จากการย้อมเนื้อเยื่อด้วยเมทิลีนบลู (ภาพที่ 7A)

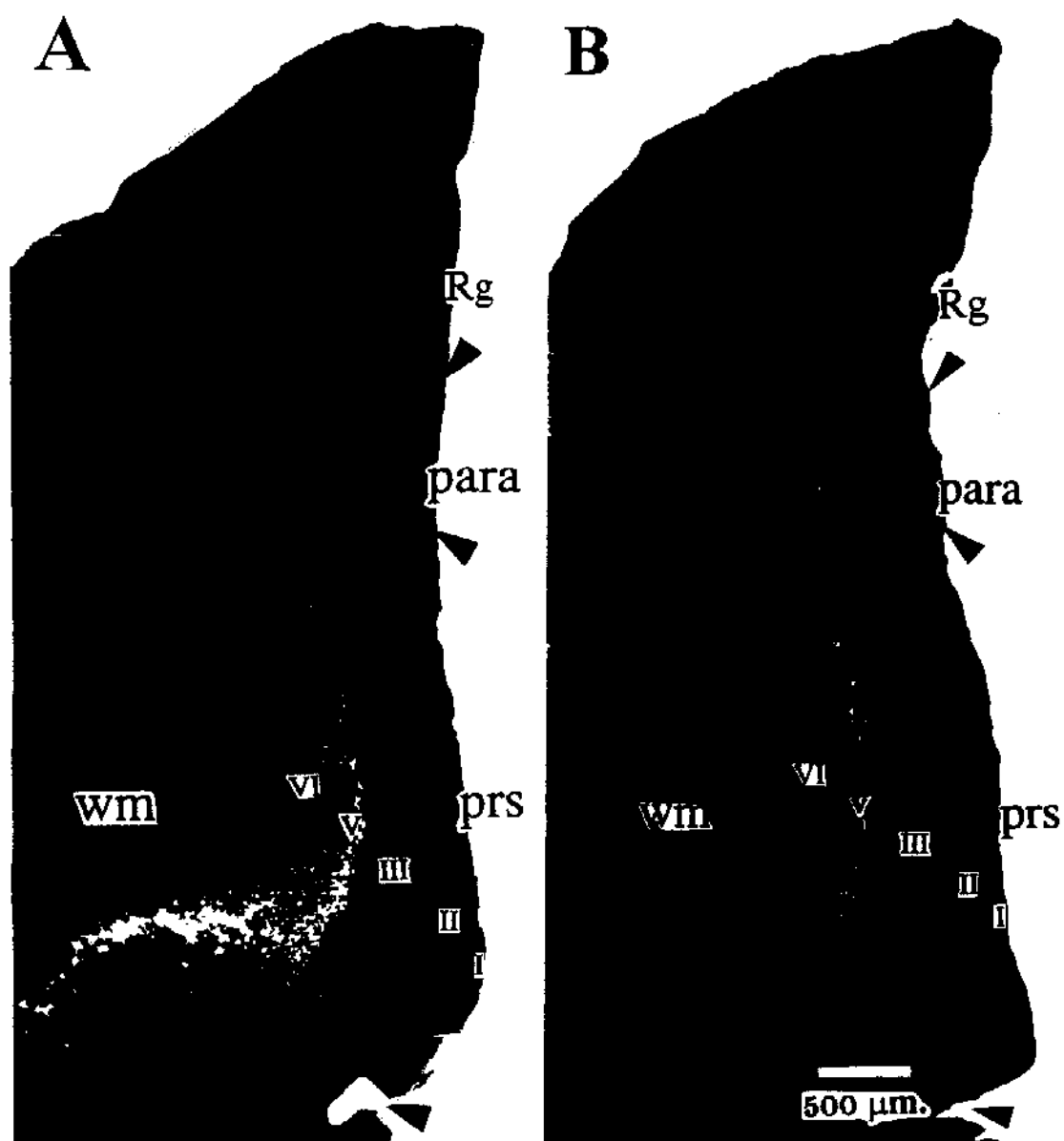
ภาพที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างลักษณะของเซลล์ประสาทต้นกำเนิดที่ได้จากการฉีดสารเรืองแสงเข้าไปที่ส่วนหน้าสุดของธาลามัสกลุ่มหน้าด้านล่าง (AV) และ เบคนิวเคลียสกลุ่มหลังด้านใน (postero medial subdivision) จากเนื้อเยื่อสมองที่ถูกตัดในลักษณะเอียงทำมุมประมาณ 20° กับแนวระนาบ

ภาพ A แสดงเซลล์ประสาทที่เรืองแสงสีเหลืองทอง ของสารเรืองแสงฟลูออโรไกลที่บริเวณซูปราคิวลัมจากการฉีดสารเรืองแสงเข้าไปที่ส่วนหน้าสุดของธาลามัสกลุ่มหน้าด้านล่าง สังเกตลักษณะของเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ของพรีซูปราคิวลัมเรียงเป็นแถวบาง ๆ ต่อเนื่องขึ้นมาจากส่วนบนของซูปราคิวลัม

ภาพ B แสดงเซลล์ประสาทที่เรืองแสงสีเหลืองทอง ของสารเรืองแสงฟลูออโรไกลที่บริเวณพรีซูปราคิวลัม จากการฉีดสารเรืองแสงเข้าไปที่บริเวณเบคนิวเคลียสกลุ่มหลังด้านใน

(Rg = retrosplenial granular cortex, prs = presubiculum, para = parasubiculum, wm = white matter)

สัญลักษณ์ปลายลูกศรแสดงขอบเขตของสมองแต่ละส่วน



ภาพที่ 6 แสดงเซลล์ประสาทที่เรืองแสงบริเวณต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อสมอง จากการฉีดสารเรืองแสงเข้าไปในส่วนลึกของสมองส่วนต่าง ๆ เปรียบเทียบกับลักษณะของเซลล์ประสาทที่ถูกย้อมด้วยสารละลายเมทิลีนบลู ในเนื้อเยื่อสมองที่ถูกตัดในแนวเอียงทำมุมประมาณ 20° กับแนวระนาบ

ภาพ A แสดงลักษณะของเซลล์ประสาทบริเวณต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อสมองที่ถูกย้อมด้วยสารละลายเมทิลีนบลู (Methyl stain)

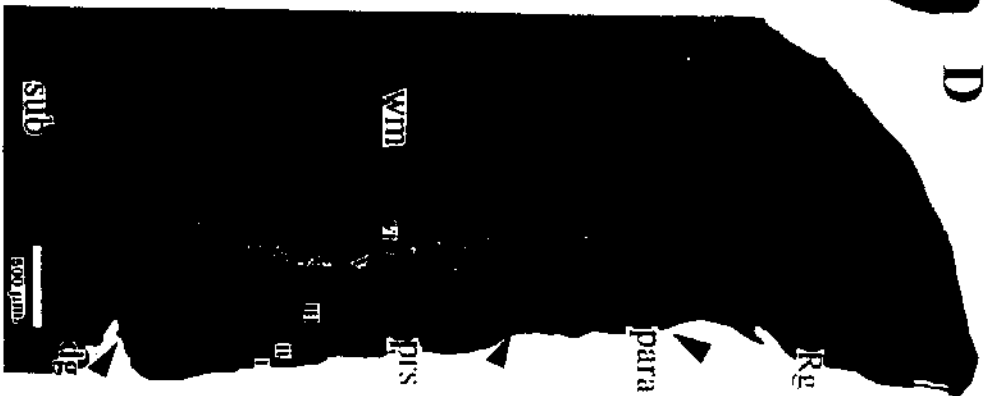
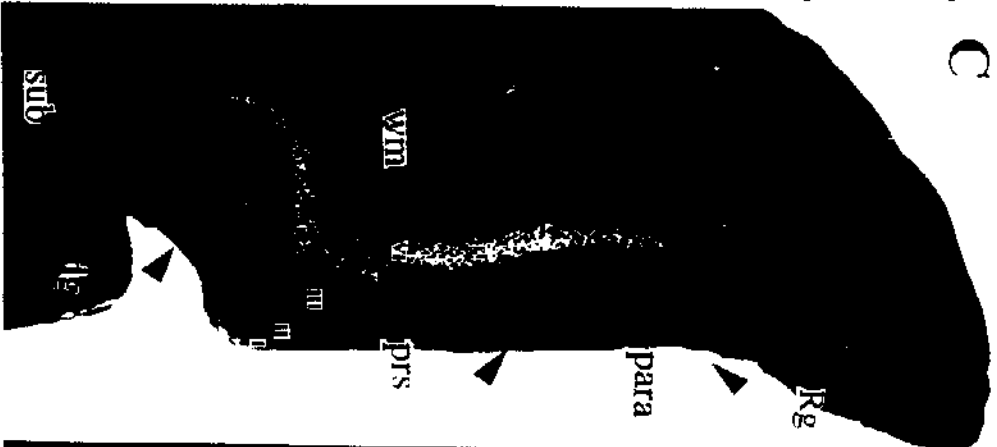
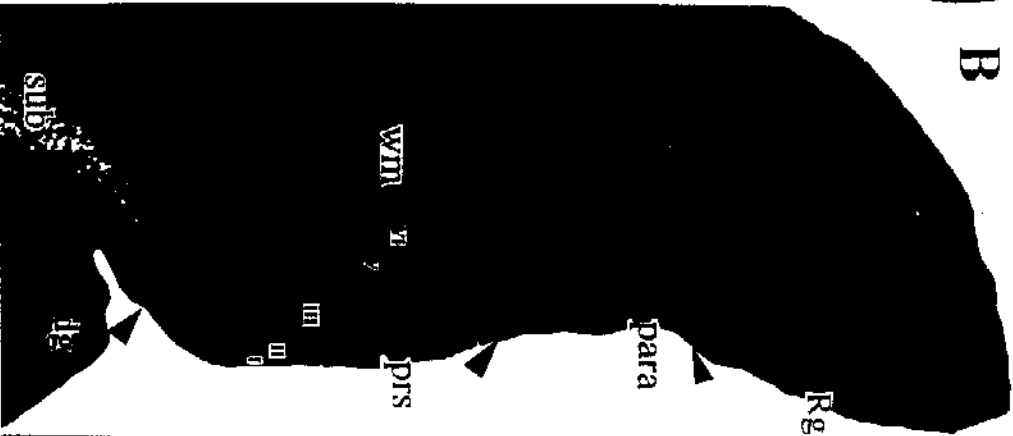
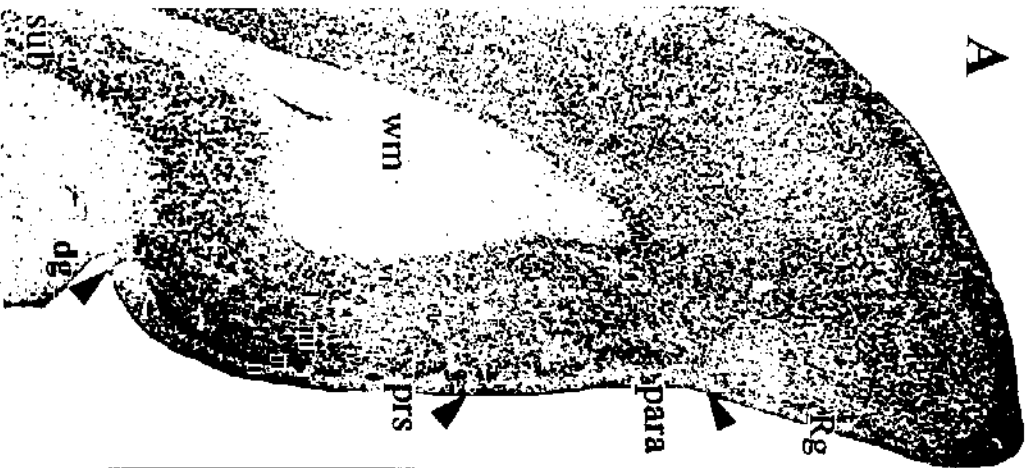
ภาพ B แสดงเซลล์ประสาทที่เรืองแสงสีเหลืองของบริเวณซูบิวคิวลัมจากการฉีดสารเรืองแสงฟลูออโรไกลเข้าไปที่แอกซัมเบนส์ จากการทดลองที่ SUB 95

ภาพ C แสดงเซลล์ประสาทที่เรืองแสงสีฟ้าบริเวณชั้น 6 ของพรีซูบิวคิวลัม และเซลล์ประสาทที่เรืองแสงสีเหลืองของที่บริเวณซูบิวคิวลัม จากการฉีดสารเรืองแสงฟอสฟอรัสเข้าไปที่กลามัสกลุ่มบนด้านข้าง (LD) และสารเรืองแสงฟลูออโรไกลเข้าไปที่กลามัสกลุ่มด้านล่าง (AV) จากการทดลองที่ SUB 48

ภาพ D แสดงเซลล์ประสาทที่เรืองแสงสีเหลืองของบริเวณชั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีซูบิวคิวลัม จากการฉีดสารเรืองแสงฟลูออโรไกลเข้าไปที่เบตนิวเคลียสกลุ่มหลังด้านใน (posteromedial subdivision of the bed nucleus of stria terminalis) จากการทดลองที่ SUB 94

(Rg = retrosplenial granular cortex, prs = presubiculum, para = parasubiculum, sub = subiculum, dg = dentate gyrus, wm = white matter)

สัญลักษณ์ปลายลูกศรแสดงขอบเขตของสมองแต่ละส่วน



ผลการฉีดสารเรืองแสงเข้าไปในเซลล์ประสาทกลุ่มในส่วนหลัง (posteromedial subdivision) ของเบคนิวเคลียส

การทดลองที่ SUB 46 (ภาพที่ 7) ได้ฉีดสารเรืองแสงฟาสท์บลูเข้าไปในตำแหน่งกลุ่มเซลล์ประสาทที่อยู่ทางด้านหลังส่วนในของเบคนิวเคลียสข้างขวา พบเซลล์ประสาทต้นกำเนิดเรืองแสงสีฟ้าจัดเรียงตัวเป็นแถวบาง ๆ อยู่ภายในชั้นลึกของสมองส่วนพรีซูบิวลัม เมื่อเปรียบเทียบกับ การย้อมเนื้อเยื่อสมองเพื่อหาเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสแล้วจะตรงกับส่วนที่มีการติดสีเข้มของตะกอนซิลเวอร์ซัลไฟด์ และพบว่าเซลล์ประสาทมีขนาดปานกลาง เป็นรูปปริมาตรชัดเจน เช่นเดียวกับผลที่ได้จากการย้อมเนื้อเยื่อสมองด้วยเมทิลีนบลูซึ่งขั้นนี้เป็นขั้นที่ได้รับการวิเคราะห์มาแล้วว่าเป็นขั้นที่ 5 ของพรีซูบิวลัมจากการศึกษาทั้ง 2 วิธีดังกล่าว ลักษณะการจัดเรียงตัวของเซลล์ประสาทจะพบว่า มีการจัดเรียงตัวอยู่เฉพาะภายในข้างเดียวกันกับตำแหน่งที่ฉีดสารเรืองแสง (ipsilateral) เท่านั้น โดยที่เซลล์ประสาททางด้านหน้าสุดจะมีการเรืองแสงเป็นแถวบาง ๆ ขนาดไม่ยาวนานนักเริ่มพบที่ระยะประมาณ 1.53 มม. หน้าต่อ IA และจะเพิ่มขนาดความยาวของขั้นที่ 5 มากขึ้นเป็นลำดับอย่างต่อเนื่องจนถึงระยะ IA หลังจากระยะ IA แล้วขนาดของขั้นที่ 5 จะลดขนาดความยาวลงเป็นลำดับอย่างต่อเนื่อง จนถึงส่วนหลังสุดที่ระยะประมาณ 0.45 มม. หลังต่อ IA เช่นเดียวกันกับที่พบในการศึกษาด้วยการตัดเนื้อเยื่อสมองเรียงลำดับจากด้านหน้าไปยังด้านหลังของสมองส่วนพรีซูบิวลัม (ภาพที่ 8) โดยส่วนหลังสุดของขั้นที่ 5 จะพบว่ามีเซลล์ประสาทจัดเรียงตัวอยู่เป็นกลุ่มเล็ก ๆ โค้งอยู่ทางด้านในต่อซูบิวลัม เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลองที่ได้นี้ว่าเป็นจริง จึงได้ทำการทดลองซ้ำในตำแหน่งเดิมในการทดลองที่ SUB 94 และ SUB 112 ซึ่งได้รับการฉีดสารเรืองแสงฟลูออโรไกลและฟาสท์บลูตามลำดับ เข้าไปในตำแหน่งเดิมข้างขวา ปรากฏว่ามีการเรืองแสงสีเหลืองทอง และสีฟ้าของเซลล์ประสาทขั้นที่ 5 ในลักษณะที่เหมือนกับ SUB 46 ทุกประการ นอกจากนั้นยังทำการทดลองต่อไปอีกเพื่อพิสูจน์ว่าขั้นที่ 5 ของพรีซูบิวลัมมีการติดต่อกับ ส่วนอื่นของเบคนิวเคลียสหรือไม่ โดยทำการทดลองที่ SUB 90 ด้วยการฉีดสารเรืองแสงฟาสท์บลูเข้าไปในเซลล์ประสาทกลุ่มด้านหน้าของเบคนิวเคลียส และการทดลองที่ SUB 103 ฉีดสารเรืองแสงฟาสท์บลูเข้าไปในเซลล์ประสาทกลุ่มด้านข้างของเบคนิวเคลียสที่ข้างขวา และพบว่าไม่มีเซลล์ประสาทของขั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีซูบิวลัม มีการเรืองแสงแม้แต่เซลล์เดียว แสดงให้เห็นว่าขั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีซูบิวลัมมีลักษณะของการทำหน้าที่อย่างจำเพาะเจาะจงในการติดต่อเชื่อมโยงกับสมองส่วนเบคนิวเคลียส โดยมีการติดต่อเชื่อมโยงเฉพาะกลุ่มเซลล์ประสาทด้านในส่วนหลังของเบคนิวเคลียสเพียงกลุ่มเดียวเท่านั้น

ภาพที่ 7

แสดงการเปรียบเทียบลักษณะชั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีซูบิวคิวลัมที่ถูกตัด
ในลักษณะเอียงทำมุมประมาณ 20° กับแนวระนาบ ด้วยวิธีการศึกษาทั้ง
3 วิธี จากการทดลองที่ SUB 112 ของชิ้นเนื้อเยื่อสมองที่ 9d ช้างขาว

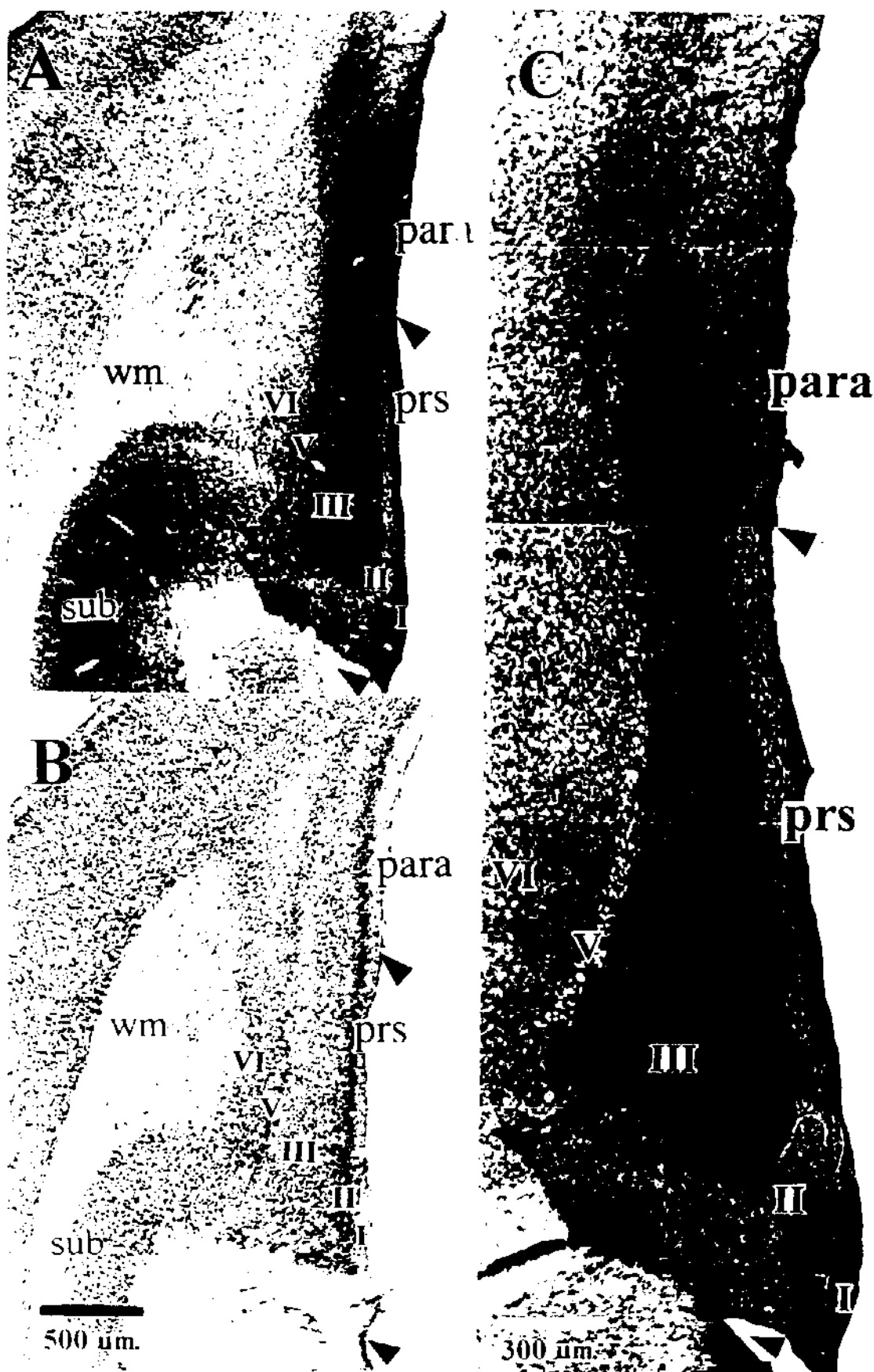
ภาพ A ภาพถ่ายชิ้นเนื้อเยื่อสมองที่ได้รับการย้อมแอนติบอดีอะเซติลโคลีน
เอสเตอเรส แสดงลักษณะชั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีซูบิวคิวลัมที่
ติดสีในระดับชั้นของตะกอนซิลเวอร์ซัลไฟด์

ภาพ B ภาพถ่ายเปรียบเทียบชิ้นเนื้อเยื่อสมอง ที่ได้รับการย้อมด้วย
เมทิลีนบลูแสดงลักษณะเซลล์ประสาทในชั้นที่ 5 ของสมองส่วน
พรีซูบิวคิวลัมที่จัดเรียงตัวเป็นแถวบาง ๆ ยาวขนานไปกับแนวของ
ไวท์แมทเทอร์

ภาพ C ภาพถ่ายซ้ำ (double exposure) แสดงเซลล์ประสาทเรืองแสงสีฟ้า
อยู่ในชั้นที่มีการติดสีของตะกอนซิลเวอร์ซัลไฟด์ในระดับชั้นจากการ
ย้อมเนื้อเยื่อเพื่อหาแอนติบอดีอะเซติลโคลีนเอสเตอเรส และ
ด้วยการฉีดสารเรืองแสงฟอสฟอรัส ปริมาณ 30 นาโนลิตร เข้าไป
ในตำแหน่งเบดนิวเคลียสกลุ่มหลังด้านใน ของสมองช้างขาว

(sub = subiculum, prs = presubiculum, para = parasubiculum,
wm = white matter)

สัญลักษณ์ปลายลูกศรแสดงขอบเขตของสมองแต่ละส่วน



- ภาพที่ 8 ภาพวาดลายเส้นแสดงลักษณะเซลล์ประสาทที่เรืองแสงของเนื้อเยื่อสมองที่ถูกตัดในแนวเอียงทำมุมประมาณ 20° กับแนวระนาบ ในลักษณะที่เรียงต่อกันอย่างเป็นลำดับจากด้านหน้ามายังด้านหลังของสมองจาก A ถึง G และ H แสดงตำแหน่งที่ได้รับการฉีดสารเรืองแสงเข้าไป โดยระยะห่างระหว่างเนื้อเยื่อสมองแต่ละชิ้นประมาณ 210 ไมโครเมตร จากการทดลองที่ SUB 112 ซึ่งได้รับการฉีดสารเรืองแสงฟอสฟอรัส ปริมาณ 30 นาโนลิตร เข้าไปในตำแหน่ง BSTN กลุ่มหลัง ด้านใน ของสมองข้างขวา
- ภาพ A แสดงเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ในส่วนหน้าสุดของของสมองส่วนพรีฮิปโปแคมปัสที่ระยะประมาณ 1.53 มม. หน้าต่อ IA
- ภาพ B แสดงเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ในระยะประมาณ 0.81 มม. หน้าต่อ IA
- ภาพ C แสดงเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ในระยะประมาณ 0.33 มม. หน้าต่อ IA
- ภาพ D แสดงเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ในระยะ IA โดยประมาณ
- ภาพ E แสดงเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ในระยะประมาณ 0.21 มม. หลังต่อ IA
- ภาพ F แสดงเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ในระยะประมาณ 0.33 มม. หลังต่อ IA
- ภาพ G แสดงเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ในส่วนหลังสุดของชั้นที่ 5 ของสมองส่วนพรีฮิปโปแคมปัสที่ระยะประมาณ 0.45 มม. หลังต่อ IA
- (AmygHip = amygdalohippocampal area, Rg = retrosplenial granular cortex, Rag = retrosplenial agranular cortex, sub = subiculum, prs = presubiculum, para = parasubiculum, dg = dentate gyrus, wm = white matter, LEC = lateral entorhinal cortex, MEC = medial entorhinal cortex)
- สัญลักษณ์ปลายลูกศรแสดงขอบเขตของสมองแต่ละส่วน ตำแหน่งที่ฉีดสารเรืองแสงฟอสฟอรัสในชั้นเนื้อเยื่อ H แสดงด้วยจุดวงกลมทึบ
- ตำแหน่งที่เซลล์ประสาทเรืองแสงสีฟ้าในชั้นเนื้อเยื่อ A ถึง G แสดงด้วยจุด

