บทที่ 3

ผลการศึกษา

จากการศึกษาเนื้อเยื่อสมองส่วน entorhinal cortex โดยวิธีการศึกษาทั้ง 3 วิธี ตามที่กล่าวในบทที่ 2 สามารถอธิบายลักษณะการจัดเรียงตัวเป็นชั้นของเซลล์ประสาทภายในเนื้อเยื่อ ดังนี้

1. ผลการศึกษาโดยการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน (acetylcholinesterase, AChE)

(ดูภาพที่ 1)

แผ่นเนื้อเยื่อที่นำมาศึกษาหลังจากผ่านกระบวนการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนแล้ว พบว่าแผ่นเนื้อเยื่อมีตะกอนสีน้ำตาลของซิลเวอร์ซัลไฟด์ (silver sulphide, Ag_2S) เกิดขึ้นในระดับที่แตกต่างกัน และแยกเป็นชั้นๆ (lamination) อย่างชัดเจน อาศัยลักษณะของการติดสีทำให้สามารถแบ่งสมองส่วน entorhinal cortex ออกเป็น 2 ส่วนใหญ่ๆ คือ ส่วนที่อยู่ทางด้าน dorsomedial และทางด้าน ventrolateral โดยส่วนแรกก็คือ medial entorhinal cortex (MEC) และส่วนที่สองก็คือ lateral entorhinal cortex (LEC) (Storm-Matisen and Blackstad, 1964)ในการอธิบายผลการศึกษาครั้งนี้จะกล่าวถึงการจัดเรียงตัวเป็นชั้นของเซลล์ประสาทตามลักษณะของการเกิดตะกอนสีแต่ละบริเวณ ดังนี้

1.1 บริเวณ medial entorhinal cortex (MEC)

ชั้นที่ 1 (layer I) อยู่ผิวนอกสุดติดสีระดับปานกลาง ในปฏิกิริยาการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนนี้ชั้นที่ 1 แยกออกจากชั้นที่ 2 ได้ยาก ไม่มีขอบเขตชัดเจน แต่เมื่อดูเนื้อเยื่อรวมๆแล้วจะเห็นว่าชั้นที่ 1 มีตะกอนของสีเข้มกว่าเล็กน้อย และในชั้นที่ 1 เห็นเส้นใยประสาทติดสีเข้มวิ่งทอดในแนวขนานกับผิวของ cortex อย่างชัดเจน ในชั้นนี้ไม่มีเซลล์ประสาท (ดูภาพที่ 1, A-H บริเวณ MEC)

ชั้นที่ 2 (layer II) อยู่ได้ต่อชั้นที่ 1 แต่แยกออกจากกันได้ยากไม่มีขอบเขตชัดเจนติดสีจางกว่าชั้นที่ 1 เล็กน้อย ส่วนที่ติดเป็นตัวเซลล์ประสาทที่อยู่กระจายตลอดชั้น ลักษณะของเซลล์ที่ติดสีเห็นเป็นเม็ดหยาบๆติดสีไม่เนียนสม่ำเสมอ และมีเส้นใยประสาทผ่านขึ้นมาจากชั้นที่ 3 ไปยังชั้นที่ 1 แทรกอยู่เป็นระยะๆ จากระนาบการตัดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าทางด้าน dorsal ของเนื้อเยื่อนั้นชั้นที่ 2 อยู่ได้ต่อ parasubiculum (ดูภาพที่ 1 A, B, C บริเวณ MEC)

ตรงตำแหน่งของชั้นที่ 1 และชั้นที่ 2 ของ MEC ติดต่อกับชั้นที่ 1 และชั้นที่ 2 ของ LEC นั้นเห็นได้ชัดเจนตรงที่ชั้นที่ 1 ของ LEC มีสีจางกว่าอย่างฉับพลันตัดกับสีเข้มปานกลาง ของชั้นที่ 1 ของ MEC (ดูภาพที่ 1, A-H บริเวณ MEC ติดต่อกับ LEC) ในขณะที่ชั้นที่ 2 ของทั้งสองส่วนติดสีใกล้เคียงกัน แต่ชั้นที่ 2 ของ LEC กว้างกว่า

ชั้นที่ 3 (layer III) เป็นบริเวณที่ติดสีจางที่สุด และขอบเขตของชั้นกว้างกว่าทุกๆชั้นของ MEC จากเนื้อเยื่อที่ใช้ศึกษาพบว่าชั้นที่ 3 มีความกว้างทางด้าน dorsal ทั้งนี้เนื่องจากเป็นการตัดผ่านแนวโค้งทางด้านหน้าของสมอง (tangential cut) ขอบด้านนอกของชั้นที่ 3 แยกจากชั้นที่ 2 โดยลักษณะสีเข้มของชั้นที่ 2 ตัดกับสีจางของชั้นที่ 3 อย่างชัดเจน (ดูภาพที่ 1, A-D บริเวณ MEC)

จากแผ่นเนื้อเยื่อที่ใช้ศึกษาพบว่าบริเวณรอยต่อระหว่างชั้นที่ 3 ของ MEC กับชั้นที่ 3 ของ LEC ซึ่งอยู่ทั้งทางด้าน lateral และด้าน medial ของแผ่นเนื้อเยื่อ ตรงตำแหน่งบริเวณ รอยต่อทางด้าน medial นั้นเป็นจุดสิ้นสุดของส่วนสีจางของชั้นที่ 3 ของ MEC ตัดกับสีเข้มของ ชั้นที่ 3 ของ LEC (ดูภาพที่ 1, F-H) และรอยต่อทางด้าน lateral นั้นพบว่าไม่สามารถ แยกได้ชัดเจน แต่มีลักษณะผสมผสานกันค่อยๆเข้มขึ้นไปทางด้าน LEC (ดูภาพที่ 1, A-H บริเวณ MEC) อย่างไรก็ตามแม้ว่าชั้นที่ 3 ของ MEC ติดสีจางมาก แต่ยังคงเห็นว่ามีเซลล์ประสาทที่ติดสีย้อมอยู่ประปราย และสามารถสังเกตเห็นเส้นประสาทวิ่งขึ้นไปในแนวตั้งไปยังชั้นที่ 1 ซึ่งอยู่บนกว่าบ้างประปรายและเซลล์ประสาทที่ติดสีจะอยู่ระหว่างเส้น ใยประสาท เหล่านั้น

ชั้นที่ 4 (layer IV) อยู่ระหว่างชั้นที่ 3 และชั้นที่ 5 เชื่อว่าชั้นนี้ของ entorhinal cortex อยู่กระจัดกระจายตรงแนวรอยต่อระหว่างชั้นที่ 3 และชั้นที่ 5 ไม่มีลักษณะเป็นชั้นชัดเจน (diffuse layer) ทั้งนี้เพราะในการย้อม Nissl stain ไม่ปรากฏลักษณะของ internal granular ประกอบกับผลการศึกษาของ Sripanidkulchai and Wyss (1986a, 1987) ได้แสดงให้เห็นว่าชั้นที่ 4 ของ retrosplenial cortex เป็นชั้นที่รับเส้นใยประสาทที่ส่งมาจาก thalamus ซึ่งแสดงให้เห็นได้โดยการฉีดสารกัมมันตภาพรังสีเข้าเซลล์ประสาท (thalamocortical neurons) เพื่อดูตำแหน่งสิ้นสุดของปลายประสาท (anterograde autoradiography) และจากการศึกษาของ Brodmann (1909) โดยการย้อม Nissl stain ได้ระบุว่าชั้นที่ 4 ของ entorhinal cortex ไม่พัฒนาเท่าที่ควร เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้ไม่สามารถศึกษาโดยวิธีฉีดสารกัมมันตภาพรังสีได้ จึงไม่สามารถ แสดงชั้นที่ 4 ได้

ชั้นที่ 5 (layer V) (ดูภาพที่ 1, A-H บริเวณ MEC) จากเนื้อเยื่อที่ใช้ศึกษาพบเป็นแถบติดสีเข้มกว่าทุก ๆ ชั้นเป็นวงรี อยู่ได้ต่อส่วนจางของชั้นที่ 3 ทั้ง MEC และ LEC อย่างชัดเจนในการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ในส่วนที่ติดสีเข้มของชั้นนี้ มีเซลล์ประสาทที่ส่งเส้นประสาทไปยัง subcortical structures ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะของเซลล์ ประสาทชั้นที่ 5 ของ neocortex

ชั้นที่ 6 (layer VI) (ดูภาพที่ 1, A-G บริเวณ MEC) อยู่ระหว่างชั้นที่ 5 กับ white matter แต่มีสีจางกว่าชั้นที่ 5 อย่างไรก็ตามเมื่อเทียบกับชั้นที่ 3 ของ MEC แล้วยังคงติดสีเข้มกว่าเล็กน้อย และภายในส่วนลึกสุดของชั้นที่ 6 ที่ติดกับ white matter เห็นเป็นแถบ สีเข้มอยู่ชิดกับ white matter (ดูภาพที่ 1, A-E บริเวณ MEC) จากลักษณะที่ชั้นที่ 6 มีทั้ง ส่วนจางและเข้ม ทำให้ Sripanidkulchai and Wyss (1986a,b) แยกชั้นที่ 6 เป็น 2 ชั้น คือ ชั้นนอกมีสี จางเรียกว่า ชั้น 6a (layer VIa) ส่วนชั้นในมีสีเข้มกว่าเรียกว่า ชั้น 6b (layer VIb)

1.2 บริเวณ lateral entorhinal cortex (LEC) (ดูภาพที่ 1)

ชั้นที่ 1 (layer I) การติดสีของชั้นที่ 1 ของ LEC มีลักษณะเด่นชัดเป็นพิเศษ ซึ่งแตกต่างจากชั้นที่ 1 ของ MEC โดยที่ชั้นที่ 1 ของ LEC ติดสีจางมากและเมื่อเปรียบเทียบกับชั้นที่ 3 ของ MEC ยังติดสีจางกว่า จากการที่ชั้นที่ 1 ติดสีจาง จึงสามารถแยก ออกจากชั้นที่ 2 ได้ง่าย และตรงตำแหน่งที่ต่อกับชั้นที่ 1 ของ MEC นั้นเห็นส่วนสีจางตัดกับ ส่วนสีเข้มชัดเจนดังนั้นจึงใช้ประเด็นนี้เป็นข้อบ่งชี้ในการแยกขอบเขตของ LEC และ MEC ออกจากกัน (ดูภาพที่ 1, A-H บริเวณ LEC)

ชั้นที่ 2 (layer II) เป็นส่วนติดสีเข้มระดับปานกลาง เป็นแนวกว้างลึกต่อชั้นที่ 1 แยกออกจากชั้นที่ 1 ได้ง่าย การติดสีของชั้นที่ 2 นี้จะติดเป็นหย่อมๆ มีสีเข้มและจางสลับกัน ในแนวตั้ง โดยส่วนมีสีเข้มมีเซลล์ประสาทอยู่หนาแน่นกว่าส่วนสีจาง และในส่วนสีจางสามารถเห็นเส้นใยประสาทซึ่งต่อเนื่องขึ้นมาจากชั้นที่ 3 ผ่านไปยังชั้นที่ 1

ชั้นที่ 2 ของ LEC ต่อเนื่องเกือบเป็นเนื้อเดียวกันกับชั้นที่ 2 ของ MEC แต่มีข้อสังเกตว่าทางด้าน lateral ของแผ่นเนื้อเยื่อนั้น ชั้นที่ 2 ของ LEC ค่อย ๆ กลมกลืน กับชั้นที่ 1 และ 2 ของ MEC ซึ่งมีลักษณะเรียวบางกว่าอย่างเห็นได้ชัด ส่วนทางด้าน medial ของแผ่นเนื้อเยื่อนั้น ชั้นที่ 2 ของ LECกลืนเป็นเนื้อเดียวกันกับชั้นที่ 2 ของ MEC (ดูภาพ ที่ 1, A-H บริเวณ LEC)

ชั้นที่ 3 (layer III) การติดสีของชั้นที่ 3 ของ LEC แตกต่างจากชั้นที่ 3 ของ MEC อย่างชัดเจน แม้ว่าชั้นที่ 3 ของทั้งสองส่วนนี้จะอยู่ในความลึกระดับเดียวกัน พบว่าชั้นที่ 3 ของ LEC จะติดสีเข้มกว่า การติดสีนั้นเห็นได้ชัดว่าติดทั้งเส้นใยประสาทและเซลล์ประสาท ซึ่งเห็นเป็นจุดๆ กระจายไปทั้งชั้นทางด้าน lateral ของเนื้อเยื่อนั้น เมื่อดูต่อเนื่องจากชั้นที่ 3 ของ MEC ยังคงเห็นแนวสีจางที่ต่อเนื่องมาค่อยๆเปลี่ยนเป็นสีเข้มขึ้น เมื่อเป็นชั้นที่ 3 ของ LEC ส่วนทาง ด้าน medial ของเนื้อเยื่อนั้นพบว่ารอยต่อของชั้นที่ 3 ของ LEC และ MEC ตัดกันชัดเจน (ดูภาพที่ 1, E-H บริเวณ LEC)

ชั้นที่ 4 (layer IV) ยังคงอธิบายเช่นเดียวกับชั้นที่ 4 ของ MEC คือ แทรกกระจัดกระจายอยู่ระหว่างชั้นที่ 3 และชั้นที่ 5 ซึ่งในการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนไม่สามารถแสดงให้เห็นได้จนกว่าจะใช้วิธีศึกษาโดยการฉีดสารกัมมันตภาพรังสีเข้าตัวตัวเซลล์ประสาท

ชั้นที่ 5 (layer V) การติดสีจากการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอะเซทิลโคลีนของชั้นที่ 5 มีความโดดเด่นมากเป็นพิเศษเมื่อเปรียบเทียบกับทุกๆชั้น ตรงที่มีการติดสีเข้มทึบและเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อดูแผ่นเนื้อเยื่อทั้งหมดพบว่าชั้นที่ 5 ของ LEC หนากว่า และติดสีเข้มกว่าชั้นที่ 5 ของ MEC และหนามากขึ้นทางด้าน ventral แต่อย่างไรก็ตาม ชั้นที่ 5 ของ entorhinal cortex ต่อเนื่องกันไป ทั้งในส่วน MEC และ LEC ซึ่งผลจากการตัดเนื้อเยื่อในระนาบนี้ เมื่อนำเนื้อเยื่อไปย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน พบว่ารูปร่างของชั้นที่ 5 นี้คล้ายกับอักษรตัว "D" ในภาษาอังกฤษ (ดูภาพที่ 1, E, F, G ทั้งบริเวณ MEC และ LEC)

ภาพที่ 1 ภาพแสดงการแบ่งชั้นของสมองส่วน entorhinal cortex ด้วยวิธีการย้อมเนื้อเยื่อสมองหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน (AChE) ในเนื้อเยื่อที่ตัดเรียงลำดับอย่างต่อเนื่องจากส่วนหน้ามายังส่วนหลัง ภาพชิ้นเนื้อในแต่ละภาพห่างกัน 0.12 มิลลิเมตร

ภาพ A ห่างจาก caudal pole ประมาณ 1.44 มิลลิเมตร

ภาพ H ห่างจาก caudal pole ประมาณ 0.45 มิลลิเมตร

สัญญลักษณ์ปลายลูกศรแสดง ขอบเขตของสมองแต่ละส่วน

(MEC = medial entorhinal cortex

LEC = lateral entorhinal cortex

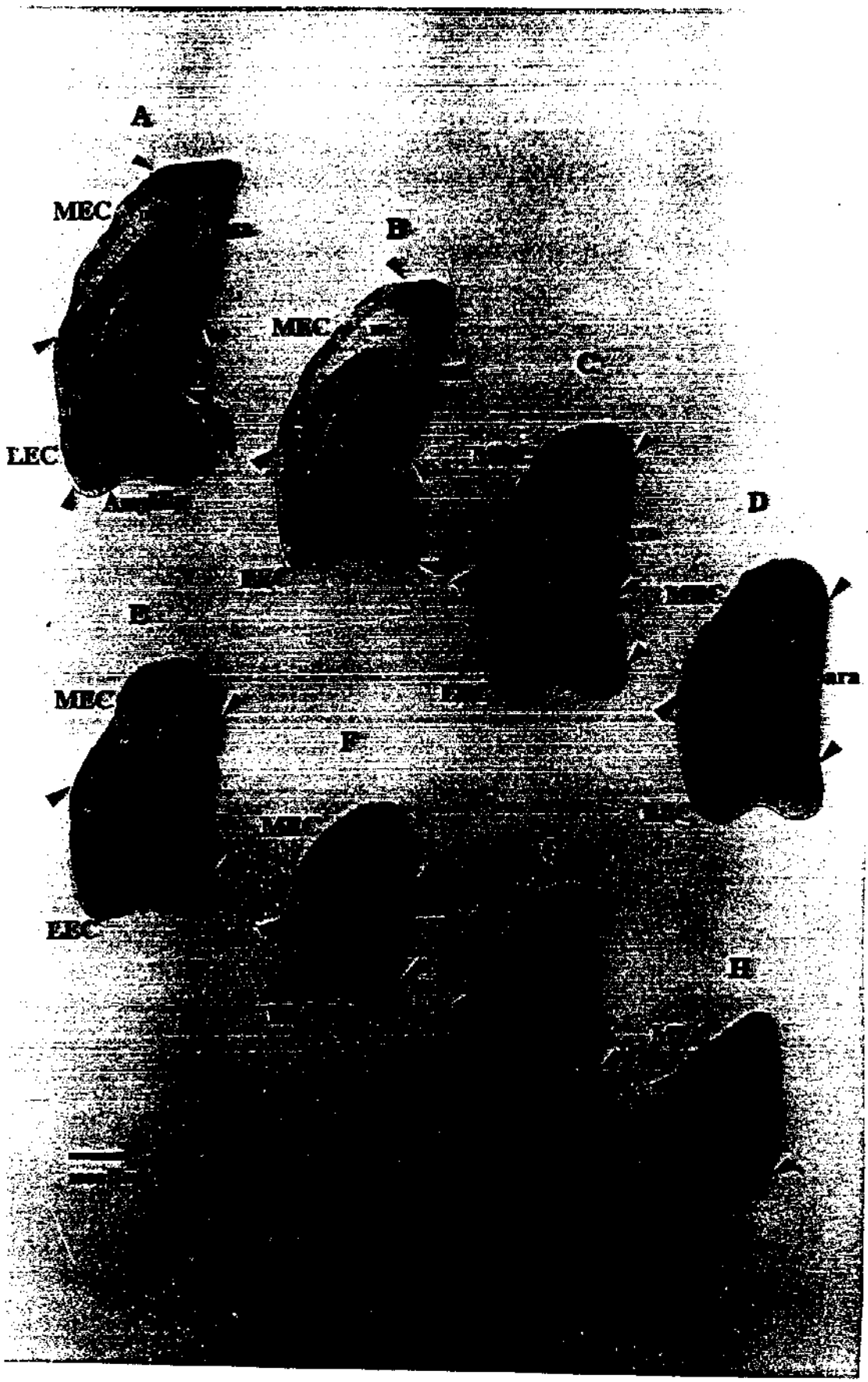
para = parasubiculum

pre = presubiculum

sub = subiculum

wm = white matter

AmyHip = amygdalohippocampal junction)


A
MEC
B
MEC
C
LEC
D
E
MEC
F
LEC
H

ชั้นที่ 6 (layer VI) เป็นส่วนสีจางอยู่ลึกต่อจากชั้นที่ 5 และต่อเนื่องเป็นชั้นเดียวกันกับ ชั้นที่ 6 ของ MEC อย่างแยกไม่ออก และเช่นเดียวกันกับ MEC คือ สามารถแยกออกเป็นชั้น 6a (layer VIa) และชั้น 6b (layer VIb) โดยมีลักษณะเช่นเดียวกัน คือ ชั้น 6a ติดสีจางส่วน ชั้น 6b ติดสีเข้มกว่า (ดูภาพที่ 1, A-H ทั้งบริเวณ MEC และ LEC)

2. ผลการศึกษาโดยวิธีย้อมเนื้อเยื่อสมองด้วย methylene blue (Nissl stain) (ดูภาพที่ 2)

แผ่นเนื้อเยื่อสมองที่นำมาศึกษาภายหลังการย้อมด้วย methylene blue พบว่า granule ใน cytoplasm ภายใน cell body ติดสีน้ำเงิน จึงมองเห็นรูปร่างของเซลล์ประสาทได้ชัดเจน ทำให้สามารถศึกษาขนาดและรูปร่างของเซลล์รวมทั้งการจัดตัวเป็นชั้นของเซลล์ภายในเนื้อเยื่อสมองส่วน entorhinal cortex ได้ เมื่อนำเอาภาพเนื้อเยื่อที่ย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนมาเปรียบเทียบกับภาพเนื้อเยื่อที่ย้อมด้วย methylene blue พบว่าเซลล์ประสาทที่แยกออกเป็นชั้นๆนั้นอยู่ในชั้นที่แสดงคุณสมบัติของการติดสีแตกต่างกัน (ดูภาพที่ 3, ภาพที่ 4, ภาพที่ 5) ดังนั้นในการอธิบายผลการศึกษาโดยการย้อม methylene blue นี้ได้อธิบายลักษณะของการแบ่งชั้นเซลล์ประสาทที่พบในบริเวณ MEC และ LEC ตามผลการแบ่งบริเวณโดยการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนตามที่กล่าวแล้วข้างต้นดังนี้

2.1 บริเวณ medial entorhinal cortex (MEC) (ดูภาพที่ 2)

ชั้นที่ 1 (layer I) จากการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนเห็นเป็นแถบอยู่นอกสุดติดสีปานกลางนั้น ในการย้อมด้วย methylene blue พบว่าไม่มีเซลล์ประสาทในชั้นนี้

ชั้นที่ 2 (layer II) อยู่ใต้ต่อชั้นที่ 1 ระดับเดียวกับชั้นที่ 2 ที่พบโดยการย้อมหาเอนไซม์ทำลาย อเซทิลโคลีน ซึ่งในการย้อม methylene blue พบว่าเซลล์ประสาทในชั้นนี้มีรูปดาว (stellate cell) ขนาดใหญ่ มีพื้นที่เฉลี่ยของเซลล์ประมาณ 107.13 $\pm$ 24.75 ตารางไมโครเมตร เส้นรอบวงเฉลี่ย 42.19 $\pm$ 5.39 ไมโครเมตร เส้นผ่านกลางเฉลี่ย 11.60 $\pm$ 1.31 ไมโครเมตร เซลล์ในชั้นนี้มีความหนาแน่นต่อพื้นที่ประมาณ 2,400 $\pm$ 500 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร (ดูตารางที่ 1) มองเห็นเป็นแถบทึบเรียวยาวชัดเจน (ดูภาพที่ 2, A-H บริเวณ MEC)

ชั้นที่ 3 (layer III) เป็นชั้นที่กว้างที่สุดในสมองส่วนนี้อยู่ใต้ต่อจากชั้นที่ 2 ตรงกับ บริเวณติดสีจาง จากการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน เซลล์ประสาทในชั้นนี้มีรูปร่างปิรามิดขนาดเล็กกว่าเซลล์ประสาทชั้นที่ 2 มีพื้นที่เฉลี่ยของเซลล์ประมาณ 70.62 $\pm$ 14.86 ตารางไมโครเมตร เส้นรอบวงเฉลี่ย 33.02 $\pm$ 3.94 ไมโครเมตร เส้นผ่านกลางเฉลี่ย 9.43 $\pm$ 0.98 ไมโครเมตร เซลล์ในชั้นอยู่กระจายด้วยความหนาแน่นต่อพื้นที่ประมาณ 2,400 $\pm$ 500 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร (ดูตารางที่ 1) แยกออกจากเซลล์ชั้นที่ 2 ได้ง่าย เนื่องจากมีขนาด แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามเฉพาะภายในชั้นที่ 3 ของ MEC พบว่าส่วนนอกที่อยู่ใต้ต่อชั้นที่ 2 มีเซลล์ประสาทอยู่หนาแน่นกว่าส่วนล่างที่อยู่ลึกลงไป และนอกจากนี้ส่วนล่างสุดของชั้นที่ 3 พบมีช่องว่างเป็นแถบยาวตลอดบริเวณ MEC ซึ่งบริเวณนี้ไม่พบเซลล์ประสาทอยู่เลย (ดูภาพที่ 2, A-H บริเวณ MEC ที่มีเครื่องหมายดอกจัน)

ชั้นที่ 4 (layer IV) ในการศึกษาโดยวิธีการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน นั้นไม่อาจจำแนกลักษณะของชั้นที่ 4 ได้ แต่จากการย้อมด้วย methylene blue พบว่า บริเวณ ที่อยู่ระหว่างชั้นที่ 3 และชั้นที่อยู่ลึกถัดไปมีช่องว่างเป็นแถบยาว ซึ่ง Ramon y Cajal (1903) จัดว่า เป็นชั้นที่ 4 และ Lorente de No' (1933) จัดว่าเป็นชั้น 3a (layer IIIa) ส่วน Rose (1927); Sgonina (1938); Braak (1972) และ Stephan (1975) เรียกว่า lamina dissecans (ดูภาพที่ 2, A-H บริเวณ MEC ที่มีเครื่องหมายดอกจัน) แต่ Sripanidkulchai and Wyss (1986 a) ได้อธิบายลักษณะของชั้นที่ 4 ว่าเป็นชั้นที่รับปลายประสาทที่มาจาก thalamus และเซลล์ที่อยู่ในชั้นนี้จะมีลักษณะ เป็นเซลล์ติดต่อเชื่อมโยง ภายในบริเวณระยะใกล้ (short association) ดังนั้นหาขอบเขตของชั้นได้ก็ต่อเมื่อเห็นปลายประสาทที่มาจาก thalamus มาสิ้นสุดใน cortex ซึ่งต้องศึกษาโดยการฉีดสารกัมมันตภาพรังสีเข้าตัวเซลล์ และผลจากการศึกษาของ Brodmann (1909) ที่พบว่า ใน entorhinal cortex ไม่มีลักษณะของเซลล์ชั้นที่ 4 (internal granular cell) อย่างที่พบใน cortex อื่น ซึ่ง Sripanidkulchai (personal communication) เชื่อว่าเซลล์ประสาทในชั้นที่ 4 ของ entorhinal cortex มีลักษณะกระจัดกระจายแทรกอยู่ทั้งในชั้นที่ 3 และชั้นที่ 5 (diffuse type) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงไม่สามารถกำหนดขอบเขตของชั้นที่ 4 ได้

ชั้นที่ 5 (layer V) ในการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนนั้น พบว่าชั้นที่ 5 ติดสีเข้มและเด่นชัดกว่าชั้นอื่น ๆ เมื่อศึกษาด้วยการย้อม methylene blue พบว่าในชั้นนี้มีเซลล์รูปร่างปิรามิดขนาดใหญ่ มีพื้นที่เฉลี่ยของเซลล์ประมาณ 113.46 $\pm$ 39.29 ตาราง ไมโครเมตร เส้นรอบวงเฉลี่ย 43.75 $\pm$ 8.83 ไมโครเมตร เส้นผ่านกลางเฉลี่ย 11.85 $\pm$ 2.01 ไมโครเมตร เซลล์ในชั้นนี้อยู่ด้วยความหนาแน่นต่อพื้นที่ประมาณ 1,300 $\pm$ 297 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร (ดูตารางที่ 1) จากการที่เซลล์ในชั้นนี้มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ชั้นที่ 3 และชั้นที่ 6 ซึ่งขนาบอยู่ทั้งสองข้าง จึงทำให้แยกขอบเขตของชั้นที่ 5 ได้ชัดเจน (ดูภาพที่ 2, A-H บริเวณ MEC)

ภาพที่ 2 ภาพแสดงการแบ่งชั้นของสมองส่วน entorhinal cortex ด้วยวิธีการย้อมเนื้อเยื่อสมองด้วย methylene blue (Nissl stain) ในเนื้อเยื่อที่ตัดเรียงลำดับอย่างต่อเนื่องจากส่วนหน้ามายังส่วนหลัง ภาพชิ้นเนื้อในแต่ละภาพห่างกัน 0.12 มิลลิเมตร

ภาพ A ห่างจาก caudal pole ประมาณ 1.41 มิลลิเมตร

ภาพ H ห่างจาก caudal pole ประมาณ 0.42 มิลลิเมตร

สัญญลักษณ์ปลายลูกศร แสดง ขอบเขตของสมองแต่ละส่วน

(MEC = medial entorhinal cortex

LEC = lateral entorhinal cortex

para = parasubiculum

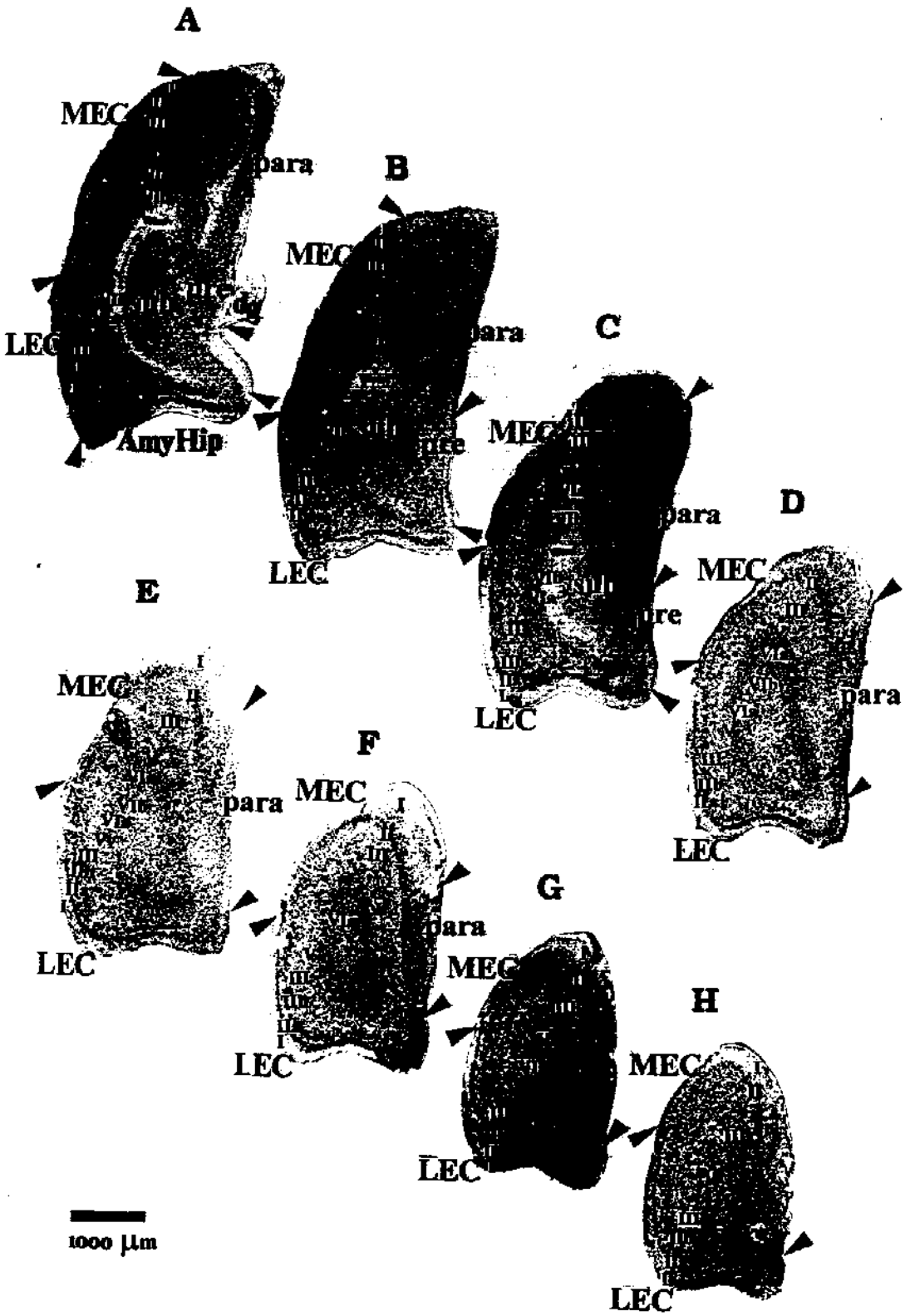
pre = presubiculum

sub = subiculum

wm = white matter

AmyHip = amygdalohippocampal junction

เครื่องหมายดอกจัน = แนวของ lamina dissecans)


A
MEC
LEC
AmyHip
B
MEC
LEC
C
MEC
LEC
D
MEC
para
LEC
E
MEC
para
LEC
F
MEC
LEC
G
MEC
LEC
H
MEC
LEC
1000 µm

ชั้นที่ 6 (layer VI) อยู่ใต้ต่อชั้นที่ 5 เห็นได้ชัดเจนเมื่อตัดเนื้อเยื่อลึกจนถึง white matter (ดูภาพที่ 2, A-D บริเวณ MEC) จากการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนพบว่าแยกจาก ชั้นที่ 5 อย่างชัดเจน ส่วนการย้อมด้วย methylene blue พบว่าเซลล์ในชั้นนี้มีรูปร่างเป็นรูปปิรามิด มี 2 ขนาด คือ ขนาดใหญ่กว่าอยู่ติดกับ white matter และขนาดเล็กกว่า อยู่ห่างออกมา กลุ่มเซลล์ขนาดเล็กนี้อยู่ในบริเวณที่ถูกจำแนกโดยการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนเป็นชั้น 6a (layer VIa) เซลล์ในชั้นนี้มีพื้นที่เฉลี่ยประมาณ 46.67 ± 11.72 ตารางไมโครเมตร เส้นรอบวงประมาณ 26.75 ± 3.49ไมโครเมตร เส้นผ่านกลาง ประมาณ 7.64 ± 0.99 ไมโครเมตร มีความหนาแน่นต่อพื้นที่ 3,700 ± 1,300 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร (ดูตารางที่ 1) สำหรับกลุ่มเซลล์ ที่มีขนาดใหญ่และอยู่ใกล้ white matter นั้นจะอยู่ภายในบริเวณที่ถูกจำแนก เป็นชั้น 6b (layer VIb) มีพื้นที่เฉลี่ยประมาณ 110.85 ± 31.15ตารางไมโครเมตร มีเส้นรอบวงประมาณ 42.15 ± 7.04 ไมโครเมตร มีเส้นผ่านกลางประมาณ 11.73 ± 1.88 ไมโครเมตร ความหนาแน่นของเซลล์ต่อพื้นที่ภายในชั้นประมาณ 1,800± 571 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร(ดูตารางที่ 1)

2.2 บริเวณ Lateral entorhinal (LEC) (ดูภาพที่ 2)

จากการศึกษาด้วยวิธีย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน สามารถจำแนกบริเวณ MEC และ LEC ได้อย่างชัดเจน เมื่อศึกษาเนื้อเยื่อที่ย้อมด้วย methylene blue ให้ผลสอดคล้องกัน คือ พบว่าบริเวณรอยต่อระหว่าง MEC และ LEC มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเซลล์ประสาทมีการติดสีที่แตกต่างกันเนื่องจากการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน ซึ่งจากการศึกษา สามารถอธิบายชั้นต่างๆของ LEC ได้ดังนี้

ชั้นที่ 1 (layer I) จากการย้อม methylene blue พบว่ามีลักษณะเช่นเดียวกันกับชั้นที่ 1 ของ MEC และ cortex อื่น คือ ไม่พบเซลล์ประสาท แต่ในการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน สามารถเห็นความแตกต่างระหว่างชั้นที่ 1 ของ MEC และชั้นที่ 1 ของ LEC อย่างชัดเจนตามการอธิบายผลการศึกษาที่กล่าวมาแล้ว

ชั้นที่ 2 (layer II) ต่อเนื่องมาจากชั้นที่ 2 ของ MEC เมื่อถึงบริเวณรอยต่อ ระหว่างชั้นที่ 1 ของ MEC และชั้นที่ 1 ของ LEC พบว่าเซลล์ประสาทในชั้นที่ 2 ของ LEC แยกออกเป็นกลุ่มๆ กลุ่มละ 3-4 เซลล์ และที่สำคัญคือ เซลล์ในชั้นนี้แยกเป็น 2 ชั้นย่อย ชัดเจน คือ ชั้น 2a (layer IIa) และชั้น 2b (layer IIb) (ดูภาพที่ 2, A-H บริเวณรอยต่อ MEC และ LEC) ซึ่งในวิธีย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนไม่สามารถจำแนกได้ เซลล์ประสาทใน ชั้นที่ 2 ของ LEC นี้มีขนาดใหญ่มาก กล่าวได้ว่ามีขนาดใหญ่ที่สุดในกลุ่มเซลล์ประสาท ของ entorhinal cortex โดยมีพื้นที่เฉลี่ยของเซลล์ประมาณ 135.39 ± 30.51 ตารางไมโครเมตร เส้นรอบวงประมาณ 48.05 ± 5.46ไมโครเมตร เส้นผ่านกลางประมาณ 12.95 ± 1.46ไมโครเมตร จัดตัวเป็นชั้นด้วยความหนาแน่นต่อพื้นที่ประมาณ 2,900 ± 1,100 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร (ดูตารางที่ 1)

วพ
QL
ว๗๗
จ.1
ท 60684
หอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ห้ามยืมออก

ชั้นที่ 3 (layer III) ในการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน พบว่าชั้นนี้ของ entorhinal cortex มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนระหว่างบริเวณ MEC และ LECแต่ผลจากการย้อมด้วย methylene blue พบว่าเซลล์ประสาทในชั้นที่ 3 นี้มีขนาดเล็กกว่าเซลล์ ประสาท ในชั้นที่ 2 และชั้นที่ 5 โดยเซลล์ประสาทในชั้นนี้มีพื้นที่เฉลี่ยของเซลล์ประมาณ 102.65 ± 27.40 ตารางไมโครเมตร เส้นรอบวงประมาณ 40.41 ± 5.95 ไมโครเมตร เส้นผ่านกลาง ประมาณ 11.33 ± 1.49 ไมโครเมตร เซลล์อยู่ด้วยความหนาแน่นต่อพื้นที่ประมาณ 1,600 ± 400 เซลล์ต่อตาราง มิลลิเมตร(ดูตารางที่ 1) และเมื่อเปรียบเทียบขนาดของเซลล์ในชั้นที่ 3 ของ MEC และ LEC พบว่า เซลล์ประสาทในชั้นที่ 3 ของ LEC มีขนาดโตกว่า (ดูตารางที่ 2) และอยู่กระจัดกระจายกว่า (ดูตารางที่ 3) นอกจากนี้ยังพบ ว่าบริเวณแถบว่างที่อยู่ส่วนล่างสุดของชั้นที่ 3 ของ MEC (lamina dissecans) (ดูภาพที่ 2, A-H บริเวณดอกจัน) เมื่อมาถึงบริเวณ LEC แล้ว ลักษณะแถบว่างดังกล่าวจะจางเลือนไปและพบว่ามีเซลล์ประสาทเข้าไปแทรกอยู่จนแยกไม่ได้กับชั้นที่ 3 ที่อยู่บนกว่า (ดูภาพที่ 2, A-H บริเวณ LEC)

ชั้นที่ 4 (layer IV) อธิบายเช่นเดียวกับชั้นที่ 4 ของ MEC

ชั้นที่ 5 (layer V) จากการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนในเนื้อเยื่อสมองส่วน entorhinal cortex พบว่าชั้นที่ 5 ติดสีเข้มเป็นแถบชัดเจนสะดุดตามากกว่าชั้นอื่นทุกๆชั้น และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชั้นที่ 5 ของ MEC และ LEC แล้วชั้นที่ 5 ของ MEC แคบ และเรียวบางกว่าทางด้าน LEC และยิ่งเมื่อตัดชิ้นเนื้อไปทางด้านหน้าแล้ว จะเห็นว่าทางด้าน medial ของเนื้อเยื่อยิ่งบางมากเป็นลำดับ จนในที่สุดจะต่อเนื่องไปกับชั้นเซลล์ประสาทของ subiculum ส่วนทางด้าน lateral ของเนื้อเยื่อจะต่อเนื่องไปกับชั้นที่ 5 ของ neocortex

จากการศึกษาด้วยวิธีการย้อมด้วย methylene blue สามารถเห็นเซลล์ประสาทในชั้นนี้อยู่ในขอบเขตของชั้นที่ 5 แต่ตามผลการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนไม่สามารถแบ่งแยกระหว่างชั้นที่ 5 ของ LEC และ MEC เพราะเซลล์จะอยู่เรียงรายติดต่อกันครบวงรูปตัว "D" ดังนั้นขนาดของเซลล์จึงเท่าๆกัน (ดูภาพที่ 2, A-H ทั้ง MEC และ LEC) โดยมีค่าเฉลี่ยขนาดของเซลล์ประมาณ 113.46 ± 39.29 ตารางไมโครเมตร เส้นรอบวงของเซลล์ประมาณ 43.75 ± 8.83 ไมโครเมตร เส้นผ่านกลางของเซลล์ประมาณ 11.85 ± 2.01 ไมโครเมตร อยู่ในชั้นด้วยความหนาแน่นต่อพื้นที่ประมาณ 1,300 ± 297 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร (ดูตารางที่ 1)

ภาพที่ 3 ภาพเปรียบเทียบการแบ่งชั้นภายในของสมองส่วน entorhinal cortex ด้วยวิธีการย้อมเนื้อเยื่อสมองหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน (AChE) และการย้อมเนื้อเยื่อสมองด้วย methylene blue (Nissl stain) ในเนื้อเยื่อบริเวณส่วนหน้าของ entorhinal cortex ชิ้นเนื้อเยื่อในภาพห่างจาก caudal pole ประมาณ 1.11 มิลลิเมตร

ภาพ A เป็นภาพเนื้อเยื่อที่ย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน

ภาพ B เป็นภาพเนื้อเยื่อที่ย้อมด้วย methylene blue

ภาพ C เป็นภาพขยายในกรอบของภาพ A แสดงให้เห็นความแตกต่างของชั้นที่เกิดจากการ ติดสี ที่เนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ภายในชั้นไม่เท่ากันในภาพจะเริ่ม เห็น white matter อยู่ตรงกลาง โดยมีชั้น 6b ซึ่งติดสีเข้มอยู่ล้อมรอบ

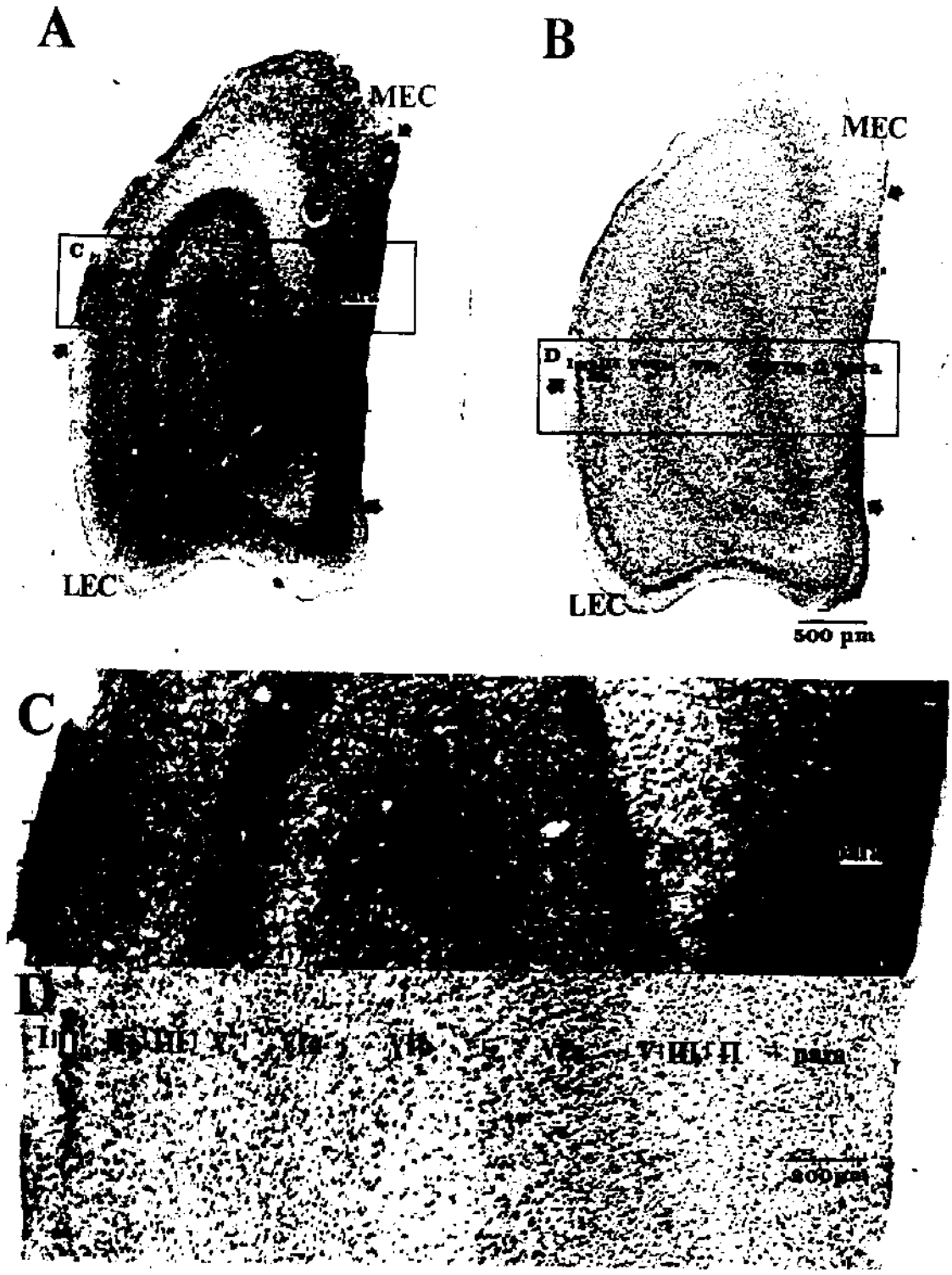
ภาพ D เป็นภาพขยายในกรอบของภาพ B แสดงให้เห็นเซลล์ประสาทที่จัดตัวเป็นชั้นต่างๆ มีรูปร่าง ขนาด และความหนาแน่นไม่เท่ากันซึ่งกลุ่มเซลล์แต่ละชั้นอยู่ภาย ในชั้น ที่มีระดับของเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนที่ แตกต่างกัน นอกจากนี้จะเห็นว่าชั้นที่ 1 ชั้นที่ 2 และชั้นที่ 3 ของ MEC ทางด้าน medial มาชนกับ parasubiculum

สัญญลักษณ์ปลายลูกศร แสดง ขอบเขตของสมองแต่ละส่วน

(MEC = medial entorhinal cortex

LEC = lateral entorhinal cortex

para = parasubiculum)


A
MEC
C
LEC
B
MEC
D
LEC
500 µm
C
D
500 µm

ภาพที่ 4 ภาพเปรียบเทียบการแบ่งชั้นของสมองส่วน entorhinal cortex ด้วยวิธีการย้อมเนื้อเยื่อสมองหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน (AChE) และการย้อมเนื้อเยื่อด้วย methylene blue (Nissl stain) ในเนื้อเยื่อส่วนกลางของ entorhinal cortex ชิ้นเนื้อเยื่อในภาพห่างจาก caudal pole ประมาณ 0.72 มิลลิเมตร

ภาพ A เป็นภาพเนื้อเยื่อที่ย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน (AChE)

ภาพ B เป็นภาพเนื้อเยื่อที่ย้อมด้วย methylene blue

ภาพ C เป็นภาพขยายในกรอบของภาพ A แสดงให้เห็นชั้นต่างๆที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ภายในชั้นไม่เท่ากัน ในภาพนี้จะเริ่มเห็นชั้น 6b อยู่ตรงกลางซึ่งติดสีเข้ม และมีชั้น 6a ซึ่งติดสีจางกว่าล้อมอยู่โดยรอบ และมีชั้นที่ 5 ซึ่งติดสีเข้มที่สุดล้อมปิดชั้น 6a

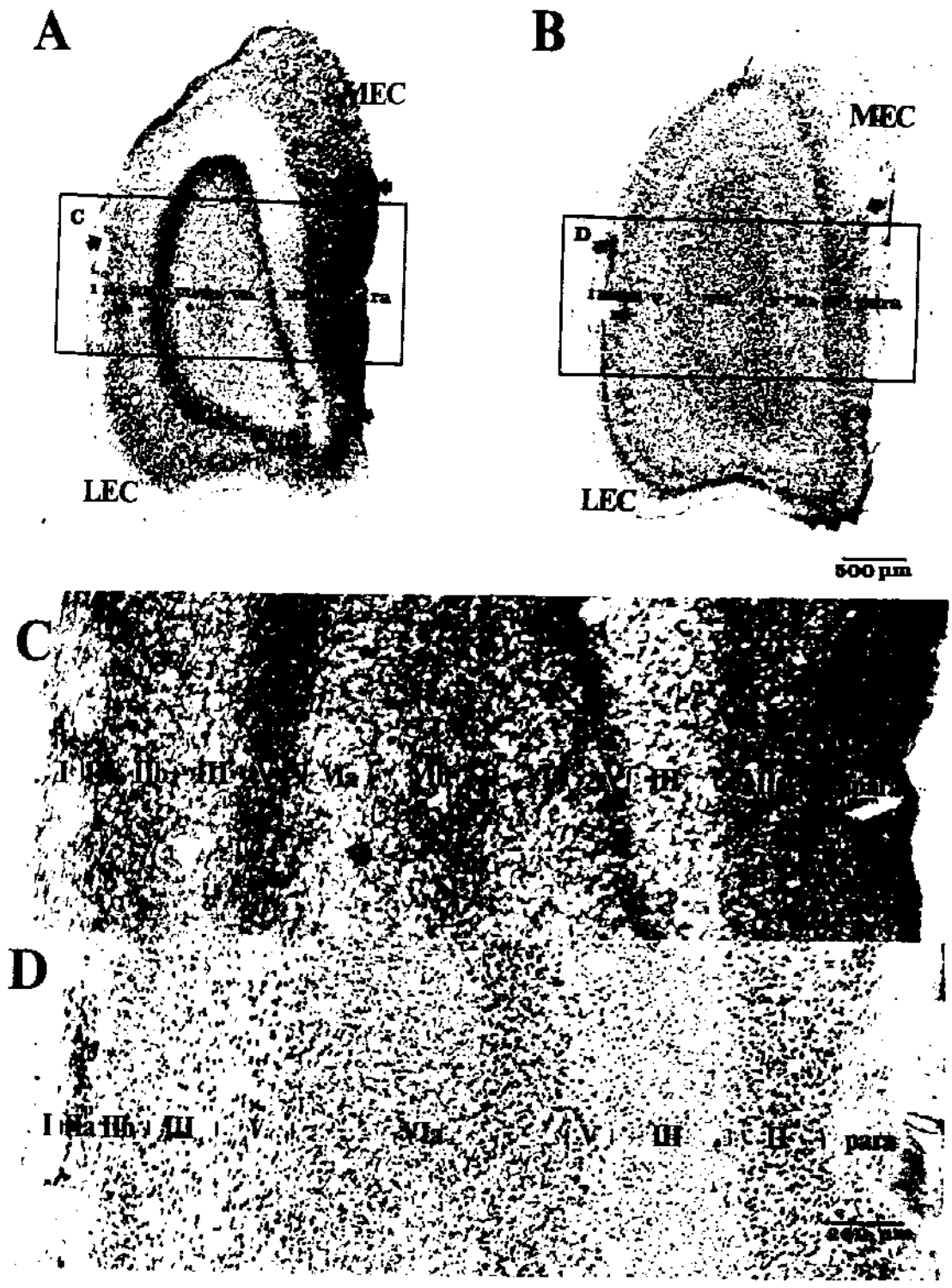
ภาพ D เป็นภาพขยายในกรอบของภาพ B แสดงให้เห็นเซลล์ประสาทที่จัดตัวเป็นชั้น ในภาพยังไม่สามารถแยกชั้น 6b ออกจากชั้น 6a ได้ นอกจากนี้จะเห็นชั้นที่ 5 ซึ่งมีเซลล์ประสาทขนาดใหญ่อยู่ใต้ต่อบริเวณ lamina dissecans

สัญญลักษณ์ปลายลูกศร แสดง ขอบเขตของสมองแต่ละส่วน

(MEC = medial entorhinal cortex

LEC = lateral entorhinal cortex

para = parasubiculum)


A
MEC
C
LEC
B
MEC
D
LEC
500 µm
C
D
para

ภาพที่ 5 ภาพเปรียบเทียบการแบ่งชั้นของสมองส่วน entorhinal cortex ด้วยวิธีการย้อมเนื้อเยื่อสมองหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน (AChE) และการย้อมเนื้อเยื่อด้วย methylene blue (Nissl stain) ในเนื้อเยื่อส่วนหลังของ entorhinal cortex ชิ้นเนื้อเยื่อในภาพอยู่ห่างจาก caudal pole ประมาณ 0.54 มิลลิเมตร

ภาพ A เป็นภาพเนื้อเยื่อที่ย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน (AChE)

ภาพ B เป็นภาพเนื้อเยื่อที่ย้อม methylene blue

ภาพ C เป็นภาพขยายในกรอบของภาพ A แสดงให้เห็นชั้นต่างๆที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ภายในชั้นไม่เท่ากัน ในภาพจะเห็นชั้นที่ 5 ของ entorhinal cortex ติดสีเข้มที่สุด ล้อมรอบชั้น 6a ซึ่งติดสีจางกว่า และอยู่ตรงกลาง ส่วนทางด้าน medial จะเห็นชั้นที่ 1 ของ parasubiculum ซึ่งจะหมดไปเมื่อตัดเนื้อเยื่อไปด้านหลังกว่านี้

ภาพ D เป็นภาพขยายในกรอบ B แสดงให้เห็นเซลล์ประสาทที่จัดตัวเป็นชั้นต่างๆ โดยอาศัยรูปร่าง ขนาด และความหนาแน่นของเซลล์ภายในชั้น

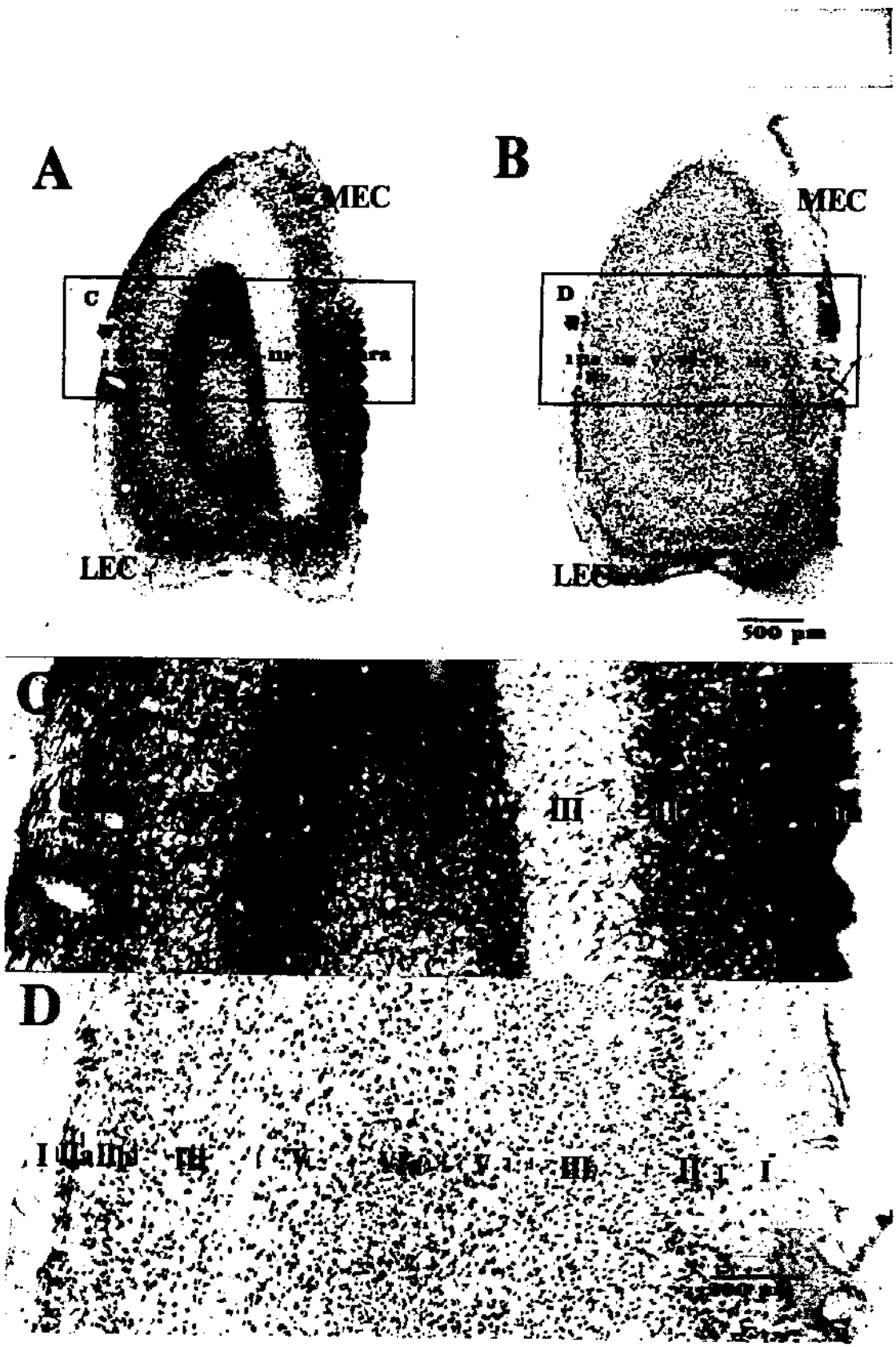
ภาพ C และภาพ D แสดงให้เห็นถึงความสอดคล้องของการแบ่งเป็นชั้นต่างๆด้วยวิธีการทั้งสอง

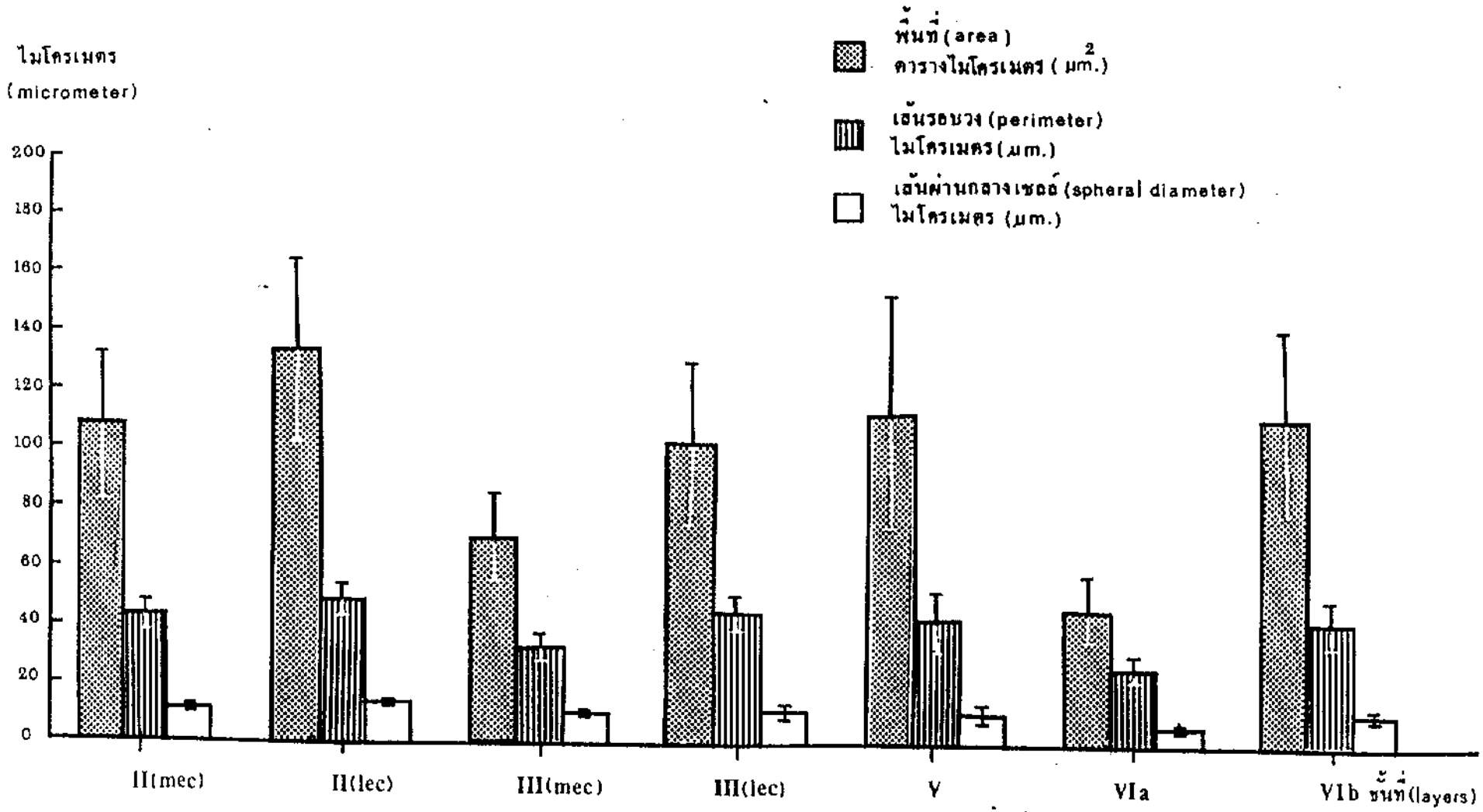
สัญญลักษณ์ปลายลูกศร แสดง ขอบเขตของสมองแต่ละส่วน

(MEC = medial entorhinal cortex

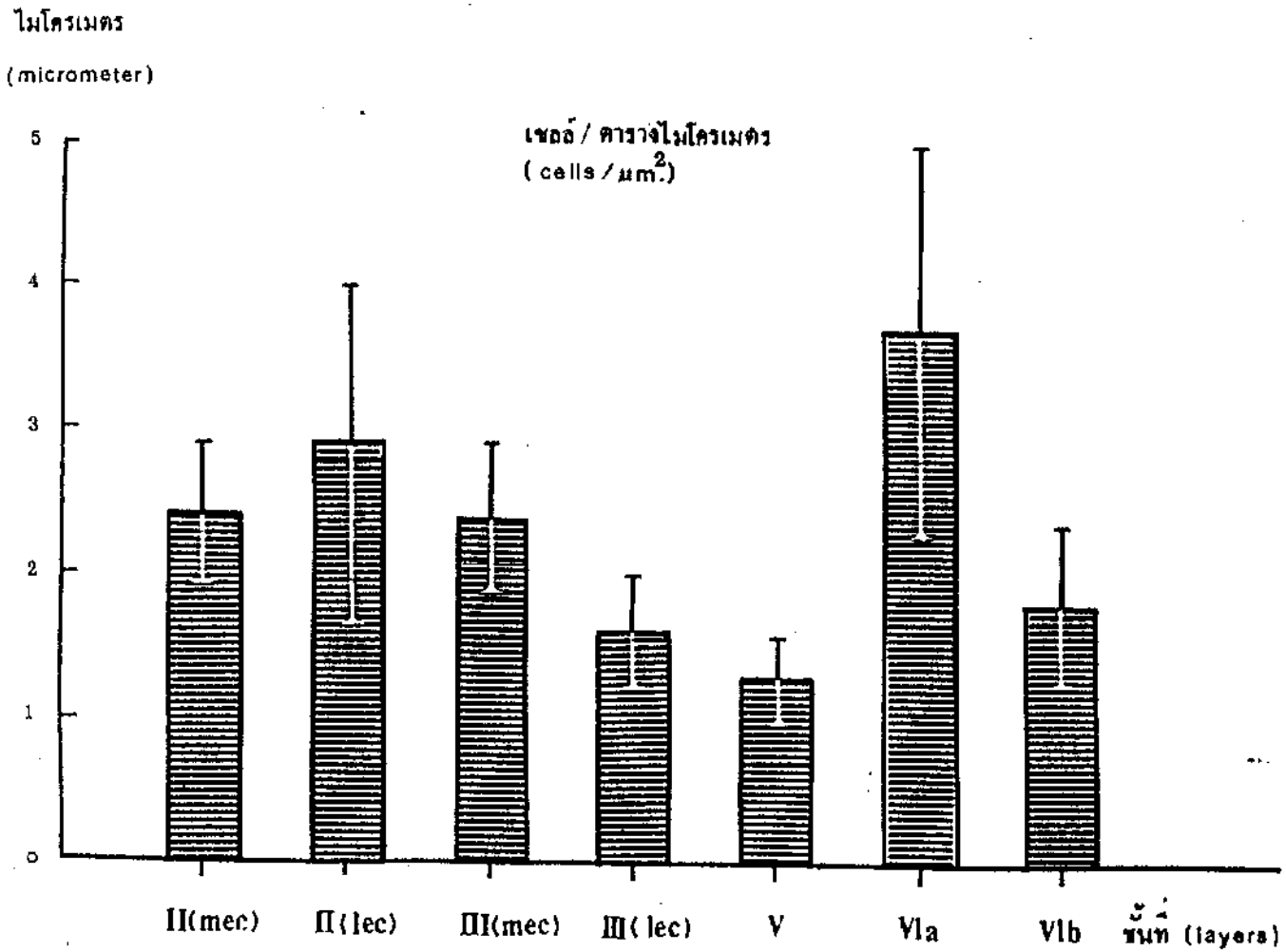
LEC = lateral entorhinal cortex

para = parasubiculum)


A
MEC
C
LEC
B
MEC
D
LEC
500 µm
C
III
D
I
II
I



ภาพที่ 6 แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบขนาดของเซลล์ประสาทในชั้นต่างๆของสมองส่วน entorhinal cortex



ภาพที่ 7 แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบความหนาแน่นของเซลล์ประสาทในชั้นต่างๆของสมองส่วน entorhinal cortex

ตารางที่ 1 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยขนาดและความหนาแน่นของเซลล์แต่ละชั้นในสมองส่วน entorhinal cortex

ชั้น	ค่าเฉลี่ยของเซลล์ประสาทแต่ละชั้น+ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (X ± S.D.)						
	II MEC	II LEC	III MEC	III LEC	V MEC, LEC	VIa MEC, LEC	VIb MEC, LEC
พื้นที่ (ตารางไมโครเมตร)	107.13±24.75	135.39±30.51	70.62±14.86	102.65±27.40	113.46±39.29	46.67±11.72	110.85±31.15
เส้นรอบวง (ไมโครเมตร)	42.19±5.39	48.05±5.46	33.02±3.94	40.41±5.95	43.75±8.83	26.75±3.49	42.15±7.04
เส้นผ่านกลาง (ไมโครเมตร)	11.60±1.31	12.95±1.46	9.43±0.98	11.33±1.49	11.85±2.01	7.64±0.99	11.73±1.88
ความหนาแน่นของเซลล์ในชั้น (จำนวนเซลล์ต่อตารางไมโครเมตร)	2.4±0.50	2.9±1.10	2.4±0.50	1.6±0.4	3.7±1.30	1.8±0.50	

ตารางที่ 2 ตารางเปรียบเทียบขนาดของเซลล์ในแต่ละชั้นของ entorhinal cortex โดยใช้ค่าเฉลี่ยของพื้นที่เซลล์แต่ละชั้นเป็นตัวเปรียบเทียบ

ชั้นที่	ค่าเฉลี่ยของพื้นที่เซลล์ (ตารางไมโครเมตร)	ชั้นที่เปรียบเทียบ	T-Value	P-Value
II MEC	107.13	II MEC : 554 LEC	-3.45	0.00
II LEC	135.39	II LEC : III MEC	0.63	0.54
III MEC	70.62	II MEC : IIILEC	6.20	0.00
III LEC	102.65	III MEC : III LEC	-5.92	0.00
V (MEC, LEC)	113.46	V : III MEC	3.91	0.00
VIa (MEC, LEC)	46.67	V : III LEC	1.47	0.17
VIb (MEC, LEC)	110.35	V : VIa	6.78	0.00
		V : VIb	0.55	0.597
		VIa : VIB	-10.95	0.00
		V : II LEC	-1.84	0.90
		V : II MEC	0.78	0.45

ตารางที่ 3 ตารางเปรียบเทียบความหนาแน่นของเซลล์ในแต่ละชั้นของ entorhinal cortex โดยใช้ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ต่อ ตารางไมโครเมตรเป็นตัวเปรียบเทียบ

ชั้นที่	ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ในชั้น (เซลล์ต่อตารางไมโครเมตร)	ชั้นที่เปรียบเทียบ	T-Value	P-Value
II MEC	2.4	II MEC : II LEC	2.65	0.02
II LEC	2.9	II MEC : III MEC	-0.13	0.90
III MEC	2.4	II LEC : III LEC	13.82	0.00
III LEC	1.6	III MEC : III LEC	-3.82	0.004
V (MEC, LEC)	1.3	V : III MEC	-6.54	0.00
VIa (MEC, LEC)	3.7	V : III LEC	-1.70	0.12
VIb (MEC, LEC)	1.8	V : VIa	-5.11	0.00
		VIa : VIb	4.24	0.00

ชั้นที่ 6 (layer VI) ชั้นที่ 6 ของ LEC ต่อเนื่องเป็นชั้นเดียวกันกับชั้นที่ 6 ของ MEC ซึ่งจากการศึกษาทั้งโดยวิธีย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน และการย้อมด้วย methylene blue พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างชั้นที่ 6 ของบริเวณทั้งสอง และทำนองเดียวกันชั้นที่ 6 ของ LEC ก็สามารถแยกได้เป็น 2 ชั้นย่อยอีก คือ ชั้น 6a (layer VIa) และชั้น 6b (layer VIb) (ดูภาพที่ 2, A-H ทั้ง MEC และ LEC) โดยชั้น 6a มีค่าเฉลี่ยของขนาดเซลล์ประมาณ 46.67 ± 11.72 ตารางไมโครเมตร ค่าเส้นรอบวงประมาณ 26.75 ± 3.49 ไมโครเมตร เส้นผ่านกลาง ประมาณ 7.64 ± 0.99 ไมโครเมตร อยู่ในชั้นด้วยความหนาแน่นต่อพื้นที่ประมาณ 3,700 ± 1,300เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร (ดูตารางที่ 1) สำหรับชั้น 6b นั้น พบว่ามีค่าเฉลี่ยพื้นที่ของ เซลล์ประมาณ 110.85 ± 31.15 ตารางไมโครเมตร ค่าเส้นรอบวงของเซลล์ประมาณ 42.15 ± 7.04 ไมโครเมตร เส้นผ่ากลางของเซลล์ประมาณ 11.73 ± 1.88 ไมโครเมตร ความหนาแน่นต่อพื้นที่ภายในชั้นประมาณ 1,800 ± 571 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร (ดูตารางที่ 1)

3. ผลการศึกษาโดยการฉีดสารเรืองแสงเข้าบริเวณปลายประสาท เพื่อแสดงลักษณะของเซลล์ประสาทต้นกำเนิดในชั้นที่ 5 ของ entorhinal cortex (retrograde axoplasmic tracing with fluorescent dye) (ดูภาพที่ 8)

การศึกษานี้ตั้งอยู่บนสมมติฐานว่า เซลล์ประสาทในแต่ละชั้นของบริเวณต่างๆ ในสมองส่วน neocortex มีคุณสมบัติในการติดต่อเชื่อมโยงอย่างมีแบบแผนชัดเจนไปยังสมองส่วนอื่น (Jones, 1984; Sripanidkulchai and Wyss, 1987) สำหรับเซลล์ประสาทสมอง ในชั้นที่ 5 เป็นเซลล์ประสาทที่ส่งเส้นใยประสาทระยะไกลไปยัง subcortical structures (Jones, 1984) ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จะเป็นการพิสูจน์ว่าใน entorhinal cortex มีเซลล์ประสาท ที่ส่งเส้นใยประสาทไปยัง subcortical structures หรือไม่ ถ้ามีเซลล์ประสาท ดังกล่าวอยู่ในชั้นที่ได้รับการวิเคราะห์ว่าเป็นชั้นที่ 5 โดยการย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน และจากการย้อมด้วย methylene blue ตามที่กล่าวไว้ในผลการทดลองข้างต้นหรือไม่ ถ้าอยู่ในชั้นเดียวกันจริงย่อมแสดงให้เห็นว่าชั้นที่ 5 ของ entorhinal cortex กับชั้นที่ 5 ของ neocortex มีคุณสมบัติเดียวกัน อย่างไรก็ตามจากการศึกษาลักษณะของเซลล์ประสาท (cytoarchitectonic) ในสมองส่วน entorhinal cortex ของ Lorente de No′ (1933) พบว่า ชั้นที่ลึกกว่า lamina dissecans เป็นชั้นที่ 4 ทั้งนี้โดย Lorente de No′ ระบุว่าตรงตำแหน่งของชั้น lamina dissecans เป็นชั้น 3a (layer IIIa) ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการพิสูจน์ว่า ชั้นที่ 4 ของ Lorente de No′ ในสมองส่วน entorhinal cortex มีคุณสมบัติเทียบได้กับชั้นที่ 5 ของ neocortex (Jones, 1984) หรือไม่

ในการทดลองได้ทำการฉีดสารเรืองแสงทั้ง Fluoro-Gold และ Fast blue เข้าบริเวณ subcortical structures ต่างๆ จนในที่สุดพบว่าเมื่อฉีดสารเรืองแสงเข้าในบริเวณ nucleus accumbens สามารถแสดงให้เห็นเซลล์ประสาทต้นกำเนิดใน entorhinal cortex อย่างชัดเจนทั้ง ในบริเวณ MEC และ LEC (ดูภาพที่ 8) และเมื่อนำเนื้อเยื่อมาย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน พบว่าเซลล์ประสาทที่เรืองแสงนั้นอยู่ในบริเวณที่มีเอนไซม์เข้ม (AChE rich) ซึ่งได้รับ การวิเคราะห์ว่าเป็นชั้นที่ 5 ตามการอธิบายผลการศึกษาข้างต้น (ดูภาพที่ 9)

ลักษณะการเรืองแสงของเซลล์ประสาทต้นกำเนิด ทางด้าน caudal ของ entorhinal cortex นั้นพบการเรืองแสงเฉพาะเซลล์ประสาทในชั้นที่ 5 ทั้งส่วน MEC และ LEC เพียงชั้นเดียว แต่เมื่อตัดเนื้อเยื่อไปทาง rostral มากขึ้น จะเห็นการเรืองแสงอยู่ในชั้นที่ 6 ประปราย (ดูภาพที่ 8C, 8D) นอกจากนี้ยังพบว่าในชั้นที่ 3 ของ LEC ซึ่งอยู่ทางด้าน ventrolateral ของสมองส่วนนี้มีเซลล์ประสาทเรืองแสงอยู่แต่จำนวนน้อยมาก (ดูภาพที่ 8 B และ C) จากการสังเกตพบว่าเซลล์ประสาทที่เรืองแสงทางด้าน LEC มีจำนวนมากกว่าทางด้าน MEC ซึ่งสัมพันธ์กับจำนวนเซลล์และความกว้างของชั้นตามผลการศึกษาโดยการย้อม methylene blue ในส่วนหน้าสุดของบริเวณ entorhinal cortex จะเห็นว่าเซลล์ประสาทที่เรืองแสง ของ LEC จะเหลืออยู่เล็กน้อย และต่อเนื่องไปกับเซลล์ประสาทที่เรืองแสงใน subiculum

จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า ใน entorhinal cortex มีเซลล์ประสาทที่ส่งเส้นใยประสาทระยะไกลไปยัง subcortical structures และเซลล์ประสาท ดังกล่าวอยู่ในขอบเขตที่มีเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีนเข้ม และเป็นบริเวณที่มีเซลล์ประสาทขนาดใหญ่ ซึ่งได้รับการจำแนกว่าเป็นชั้นที่ 5 ทั้งในส่วน MEC และ LEC ตามผลการศึกษา ข้างต้น และจากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า เซลล์ประสาทสมองชั้นที่ 4 ของ Lorente de No′ (1933) มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ของ neocortex (Jones, 1984)

ภาพที่ 8 ภาพแสดงลักษณะการเรืองแสงของเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ของ entorhinal cortex ในเนื้อเยื่อที่ตัดเรียงลำดับอย่างต่อเนื่องจากส่วนหน้ามายังส่วนหลังเมื่อฉีดสารเรืองแสง (Fluoro-Gold) ที่บริเวณ nucleus accumbens (ห่างจาก bregma ไปทางด้านหน้าประมาณ 3.6 มิลลิเมตร) (การทดลองที่sub.95)

ภาพ A เป็นภาพส่วนหน้าสุดของ entorhinal cortex ห่างจาก caudal pole ประมาณ 1.1 มิลลิเมตร สามารถเห็นเซลล์ประสาทชั้นที่ 5ของ entorhinal cortex ที่เรืองแสงต่อเนื่องไปกับเซลล์ประสาทของ subiculum

ภาพ B ถึงภาพ G แสดงลักษณะของเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ของ entorhinal cortex ที่เรืองแสง ชิ้นเนื้อเยื่อในแต่ละภาพห่างกันประมาณ 0.12 มิลลิเมตร

ภาพ H เป็นภาพตัดผิว (tangential cut) ชั้นที่ 5 ของ entorhinal cortex ห่างจาก occipital pole ประมาณ 0.45 มิลลิเมตร

สัญญลักษณ์ปลายลูกศร แสดง ขอบเขตของสมองแต่ละส่วน

(MEC = medial entorhinal cortex

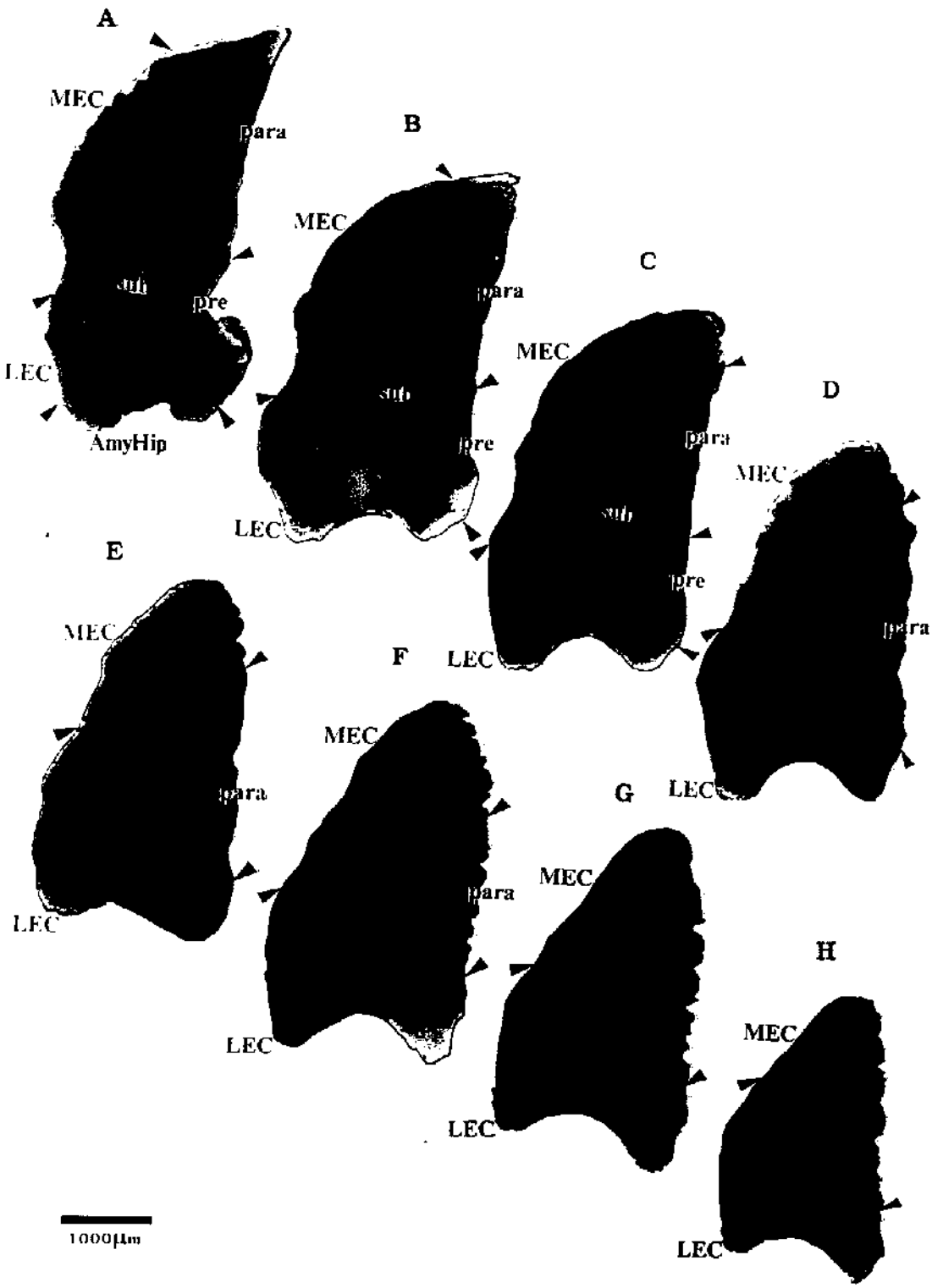
LEC = lateral entorhinal cortex

para = parasubiculum

pre = presubiculum

sub = subiculum

AmyHip = amygdalohippocampal junction)

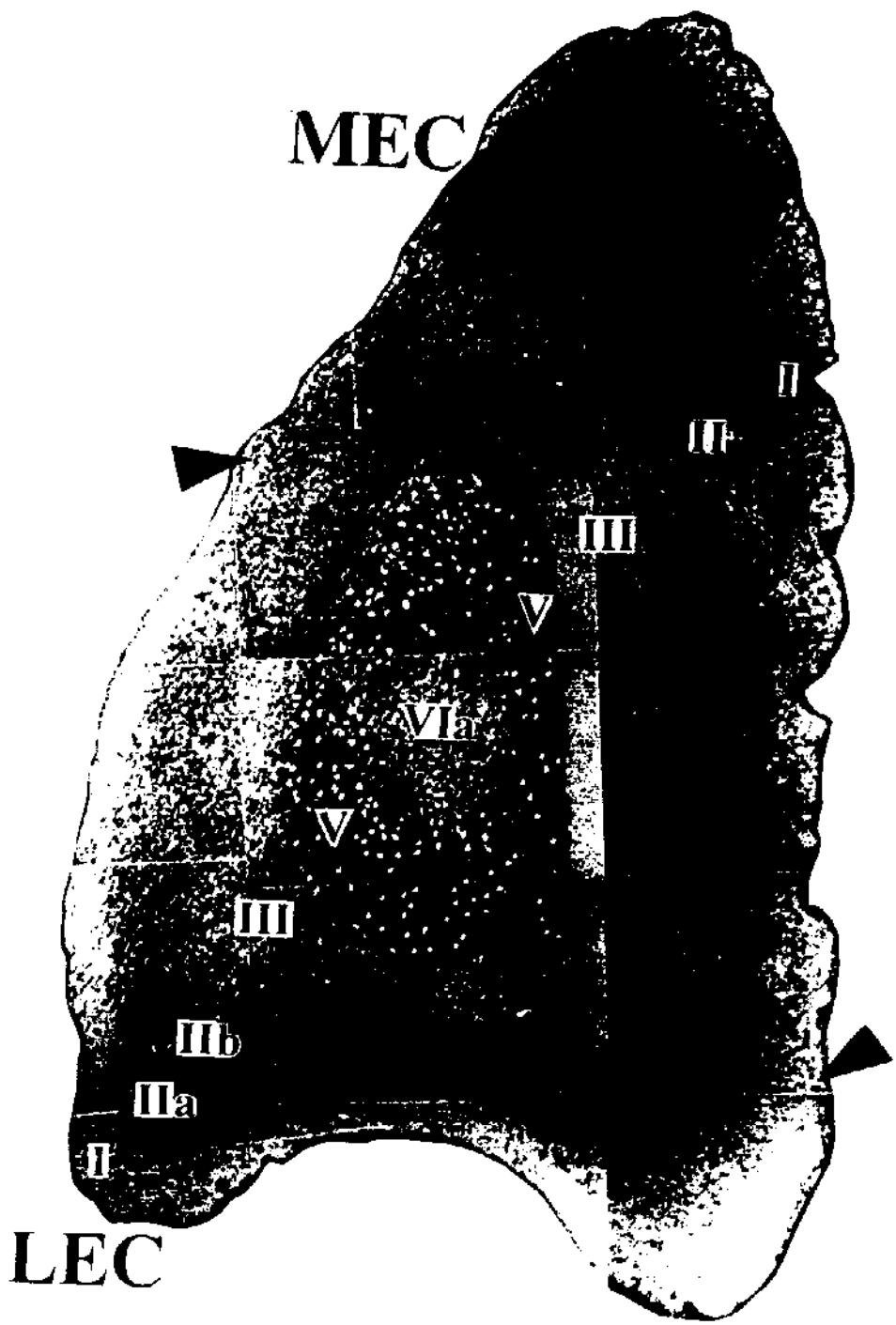

A
MEC
para
sub
pre
LEC
AmyHip
B
MEC
para
sub
pre
LEC
C
MEC
para
sub
pre
LEC
D
MEC
para
LEC
E
MEC
para
LEC
F
MEC
para
LEC
G
MEC
LEC
H
MEC
LEC
1000µm

ภาพที่ 9 ภาพถ่ายซ้ำ (double exposure) แสดงลักษณะการเรืองแสงของเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ของสมองส่วน entorhinal cortex ในเนื้อเยื่อที่ย้อมหาเอนไซม์ทำลายอเซทิลโคลีน (AChE) จากภาพจะสังเกตเห็นเซลล์ประสาทที่เรืองแสงอยู่ภายในชั้นที่ 5 ซึ่งติดสีเข้มเนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์

สัญญลักษณ์ปลายลูกศร แสดง ขอบเขตของสมองแต่ละส่วน

(MEC = medial entorhinal cortex

LEC = lateral entorhinal cortex)


MEC
LEC
II
III
V
VIa
V
III
IIb
IIa
II
500 µm

ภาพที่ 10 ภาพวาดแสดงลักษณะการเรืองแสงของเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ของสมองส่วน entorhinal cortex ในเนื้อเยื่อที่ตัดเรียงต่อกันเป็นลำดับจากส่วนหน้ามายังส่วนหลัง เมื่อฉีดสารเรืองแสง (Fluoro-Gold) ที่บริเวณส่วนหน้าของ nucleus accumbens (ห่างจาก bregma ไปทางด้านหน้าประมาณ 4.0 มิลลิเมตร) (การทดลองที่ sub.89) ตำแหน่งวงกลมทึบในภาพสมองหนูที่ตัดในแนว coronal (ภาพมุมขวาบน) เป็นตำแหน่งที่ฉีดสารเรืองแสง

สัญญลักษณ์ปลายลูกศรแสดง ขอบเขต สมองแต่ละส่วน

(MEC = medial entorhinal cortex

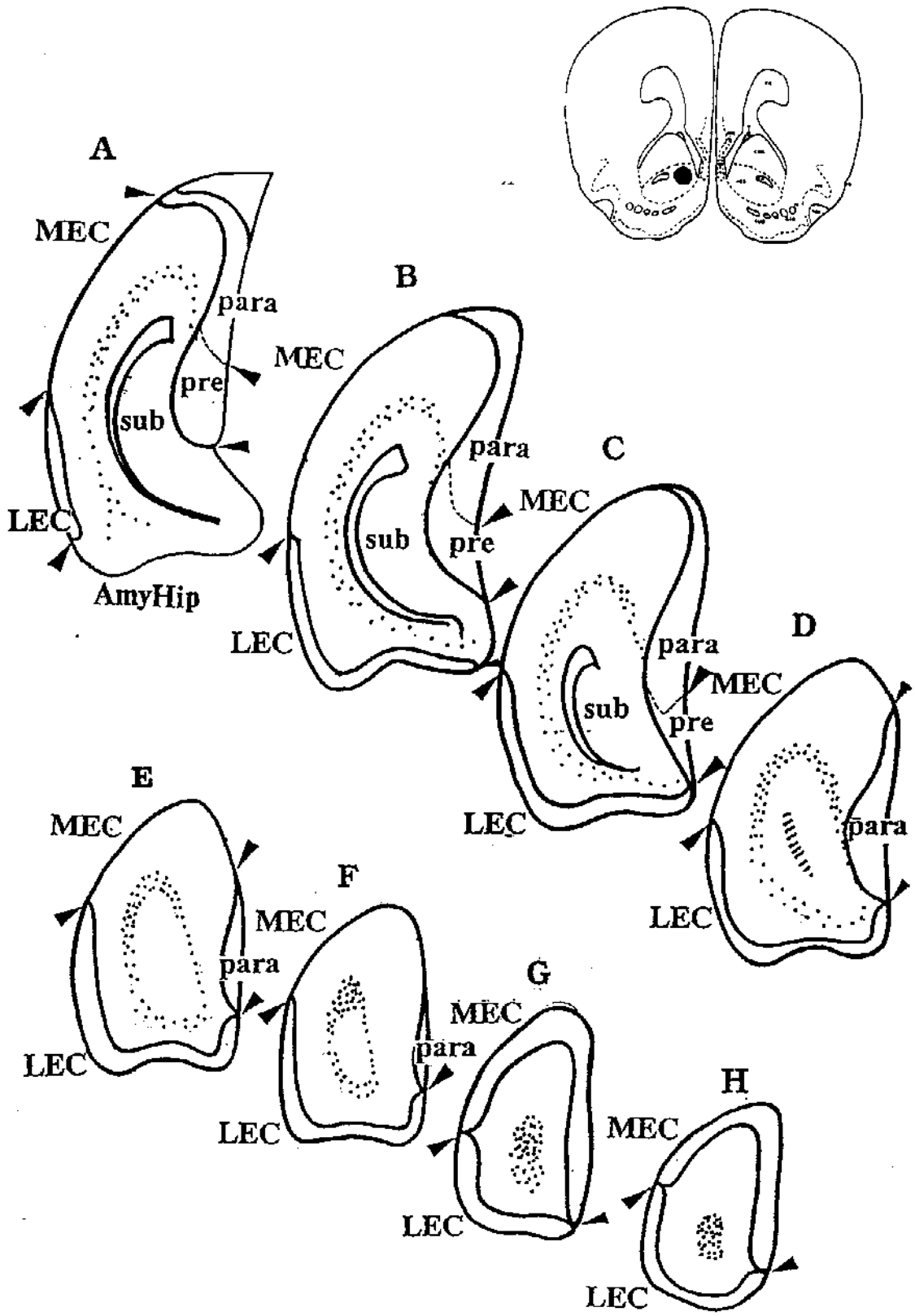
LEC = lateral entorhinal cortex

para = parasubiculum

pre = presubiculum

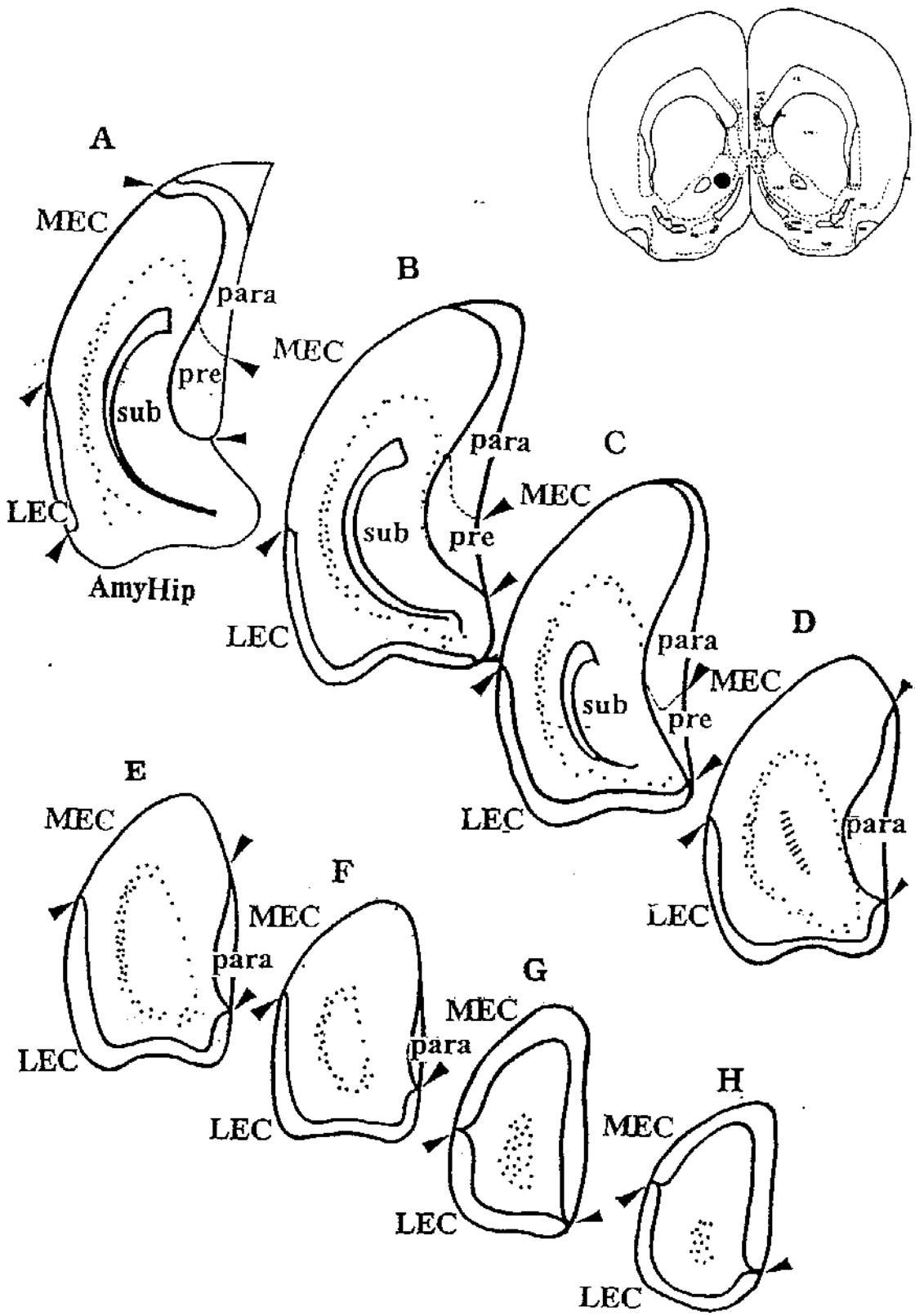
sub = subiculum

AmyHip = amygdalohippocampal junction)


A
MEC
para
pre
sub
LEC
AmyHip
B
MEC
para
pre
sub
LEC
C
MEC
para
pre
sub
LEC
D
MEC
para
LEC
E
MEC
MEC
para
LEC
F
para
LEC
G
MEC
LEC
H
MEC
LEC

ภาพที่ 11 ภาพวาดแสดงลักษณะการเรืองแสงของเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ของสมองส่วนentorhinal cortex ในเนื้อเยื่อที่ตัดเรียงต่อกันเป็นลำดับจากส่วนหน้ามายังส่วนหลัง เมื่อฉีดสารเรืองแสง (Fluoro-Gold) ที่บริเวณส่วนกลางของ nucleus accumbens (ห่างจาก bregma ไปทางด้านหน้าประมาณ 3.2 มิลลิเมตร) (การทดลองที่ sub.91) ตำแหน่งวงกลมทึบในภาพสมองหนูที่ตัดในแนว coronal (ภาพมุมขวาบน) เป็นตำแหน่งที่ฉีดสารเรืองแสง สัญญลักษณ์ปลายลูกศรแสดง ขอบเขต สมองแต่ละส่วน

(MEC = medial entorhinal cortex
LEC = lateral entorhinal cortex
para = parasubiculum
pre = presubiculum
sub = subiculum
AmyHip = amygdalohippocampal junction)


A
MEC
para
pre
sub
LEC
AmyHip
B
MEC
para
sub
pre
LEC
C
MEC
para
sub
pre
LEC
D
MEC
para
LEC
E
MEC
MEC
para
LEC
F
para
LEC
G
MEC
LEC
H
MEC
LEC

ภาพที่ 12 ภาพวาดแสดงลักษณะการเรืองแสงของเซลล์ประสาทชั้นที่ 5 ของสมองส่วนentorhinal cortex ในเนื้อเยื่อที่ตัดเรียงต่อกันเป็นลำดับจากส่วนหน้ามายังส่วนหลัง เมื่อฉีดสารเรืองแสง (Fluoro-Gold) เข้าบริเวณส่วนหลังของ nucleus accumbens (ห่างจาก bregma ไปทางข้างหน้าประมาณ 2.2 มิลลิเมตร) (การทดลองที่ sub.83) ตำแหน่งวงกลมทึบในภาพสมองหนูที่ตัดในแนว coronal (ภาพมุมขวาบน) เป็นตำแหน่งที่ฉีดสารเรืองแสง สัญญลักษณ์ปลายลูกศรแสดง ขอบเขต สมองแต่ละส่วน

(MEC = medial entorhinal cortex

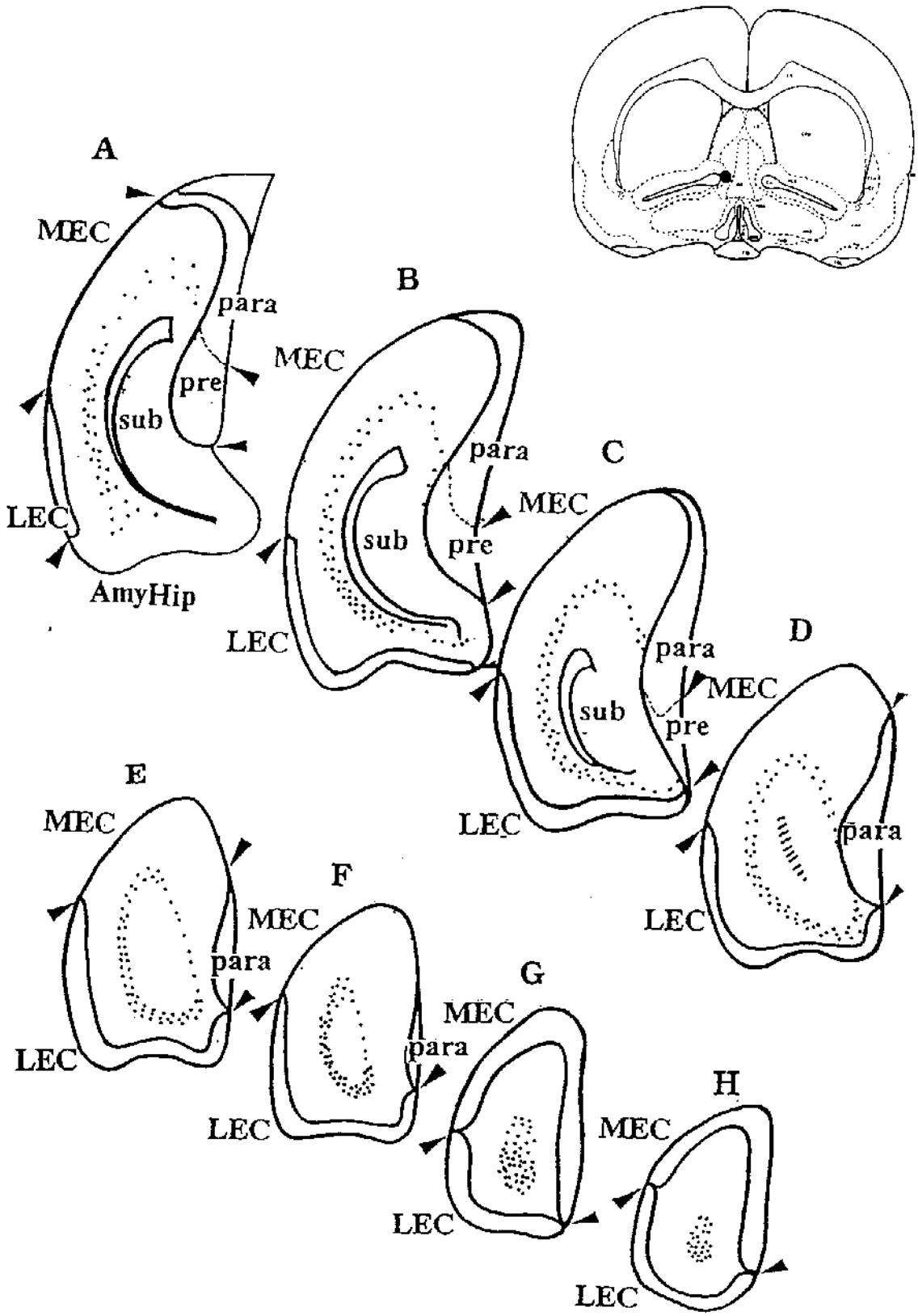
LEC = lateral entorhinal cortex

para = parasubiculum

pre = presubiculum

sub = subiculum

AmyHip = amygdalohippocampal junction)


A
MEC
para
pre
sub
LEC
AmyHip
B
MEC
para
pre
sub
LEC
C
MEC
para
pre
sub
LEC
D
MEC
para
LEC
E
MEC
MEC
para
LEC
F
para
LEC
G
MEC
LEC
H
MEC
LEC

ภาพที่ 13 ภาพวาดแสดงลักษณะการเรืองแสงของเซลล์ประสาทในชั้นที่ 5 ของสมองส่วน entorhinal cortex ที่ตัดเรียงต่อกันเป็นลำดับจากส่วนหน้ามายังส่วนหลังเมื่อฉีดสารเรืองแสง 2 ชนิด คือ ฉีด Fluoro-Gold เข้า nucleus accumbens ตำแหน่งเดียวกับที่ฉีดในการทดลองที่ sub.89 (ภาพที่ 10)และฉีด Fast blue เข้า nucleus accumbens ตำแหน่งเดียวกับที่ฉีดใน การทดลองที่ sub.83 (ภาพที่ 12) สัญญลักษณ์รูปสามเหลี่ยมทึบภายในเนื้อเยื่อแสดงแทนเซลล์ประสาทที่เรืองแสง เนื่องจากการฉีด Fluoro-Gold ซึ่งจะอยู่บริเวณ MEC เป็นส่วนใหญ่ สัญญลักษณ์จุดทึบแสดงแทนเซลล์ประสาท ที่เรืองแสงเนื่องจากฉีด Fast blue ซึ่งจะอยู่บริเวณ LEC เป็นส่วนใหญ่

สัญญลักษณ์ปลายลูกศรแสดง ขอบเขต สมองแต่ละส่วน

(MEC = medial entorhinal cortex

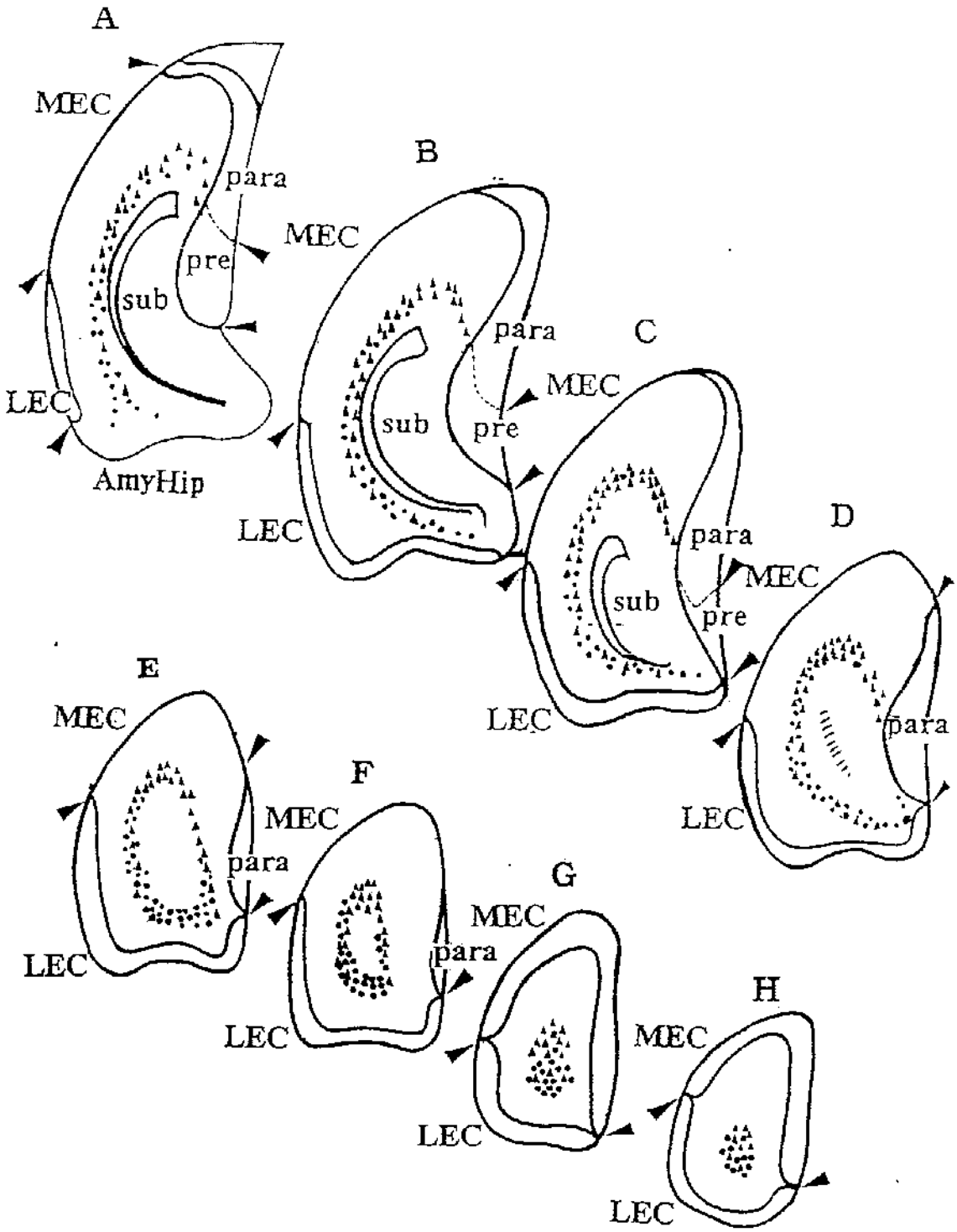
LEC = lateral entorhinal cortex

para = parasubiculum

pre = presubiculum

sub = subiculum

AmyHip = amygdalohippocampal junction)


A
MEC
para
pre
sub
LEC
AmyHip
B
MEC
para
pre
sub
LEC
C
MEC
para
pre
sub
LEC
D
MEC
para
pre
sub
LEC
E
MEC
para
LEC
F
MEC
para
LEC
G
MEC
para
LEC
H
MEC
LEC

4. การจัดระเบียบแบบแผนการติดต่อเชื่อมโยง (topography of connection)

จากการพบว่าเมื่อฉีดสารเรืองแสงเข้าที่บริเวณ nucleus accumbens สามารถแสดง ให้เห็นเซลล์ประสาทต้นกำเนิดในชั้นที่ 5 ของ entorhinal cortex จึงได้ศึกษาต่อพบว่าการเรืองแสงในส่วน MEC และ LEC มีความแตกต่างกันเมื่อฉีดสารเรืองแสงในตำแหน่งที่ต่างกัน คือ ในการทดลอง sub.89 เมื่อฉีดสารเรืองแสง (Fluoro-Gold) ที่ส่วนหน้าของ nucleus accumbens (+4.0 หน้าต่อ bregma) พบว่าเซลล์ประสาทในชั้นที่ 5 ของ MEC จะเรืองแสงเป็นส่วนใหญ่ (ดูภาพที่ 10) และในการทดลอง sub.91 เมื่อฉีดสารเรืองแสง (Fluoro-Gold) ที่ส่วนหลังของ nucleus accumbens (+2.2 หน้าต่อ bregma) พบว่าเซลล์ ประสาทในชั้นที่ 5 ของ LEC จะเรืองแสงเป็นส่วนใหญ่ (ดูภาพที่ 12) และในการทดลอง sub.83 เมื่อฉีดสารเรืองแสงเข้าบริเวณกึ่งกลางของ nucleus accumbens (+3.2 หน้าต่อ bregma) พบว่าเซลล์ประสาทเรืองแสงส่วนใหญ่จะอยู่บริเวณติดต่อระหว่าง MEC และ LEC (ดูภาพที่ 11) นอกจากนี้ยังได้ทดลองฉีดสารเรืองแสง 2 ชนิดในหนูตัวเดียวกัน (sub. 105) คือ ฉีด Fluoro-Gold เข้าที่ส่วนหน้าของ nucleus accumbens และฉีด Fast blue เข้าส่วนหลังของ nucleus accumbens พบลักษณะของการเรืองแสงในตำแหน่งที่แตกต่างกัน คือ ทางด้าน MEC จะเรืองแสงสีเหลืองของ Fluoro-Gold และทางด้าน LEC จะเรืองแสงสีน้ำเงินของ Fast blue (ดูภาพที่ 13) ซึ่งยืนยันผลการทดลองข้างต้น

5. ขอบเขตบริเวณ entorhinal cortex

จากผลการศึกษาทั้ง 3 วิธีตามที่กล่าวมาแล้ว จะเห็นได้ชัดเจนว่า entorhinal cortex ตั้งอยู่ทางด้าน dorsoposterior ของ cerebral hemisphere ทั้งนี้โดย MEC จะอยู่ตรงตำแหน่ง caudal pole และวางตัวอยู่ในแนว dorsomedial ส่วน LEC อยู่ในแนว ventrolateral ขอบเขตของสมองส่วนนี้จะอยู่ติดกับบริเวณอื่นๆ ดังนี้

ขอบเขตทางด้าน dorsal พบว่าเป็นแนวขอบบนของ MEC อยู่ติดกับขอบล่างของ parasubiculum ซึ่ง parasubiculum นี้จะโอบโค้งมาจากทางด้าน medial ของ cerebral hemisphere ไปจนจรดกับตำแหน่งหลังสุดของ rhinal fissure ซึ่งอยู่หน้าต่อ interaural line เล็กน้อย

ขอบเขตทางด้าน medial พบว่ายังคงเป็น MEC โดยอยู่ชิดกับส่วนต้นของ parasubiculum และทางด้านหน้าสุดของ MEC จรดกับ presubiculum

ขอบเขตทางด้าน lateral ทางด้าน lateral แบ่งเป็น 2 ส่วนโดยประมาณ คือ ส่วนแรก 1/3 ทางด้าน dorsoposterior เป็นขอบทางด้าน lateral ของ MEC ซึ่งตำแหน่ง สิ้นสุด MEC ทางด้าน lateral นี้ตรงกับระดับ interaural line ส่วนที่สองเป็นบริเวณ 2/3 ด้าน ventrolateral เป็น

บริเวณของ LEC ทั้งหมด ซึ่งขอบทางด้าน lateral จรดกับแนวของ perirhinal cortex ซึ่งอยู่ต่ำกว่า rhinal fissure เล็กน้อย

ขอบเขตทางด้าน ventral ทางด้าน ventral ของ entorhinal cortex เป็นบริเวณของ LEC ซึ่งตำแหน่งสิ้นสุดทางด้าน rostroventral นั้นจรดกับด้านหลัง ของ periamydaloid complex ซึ่งเรียกบริเวณที่ติดต่อนี้ว่า amygdalohippocampal junction