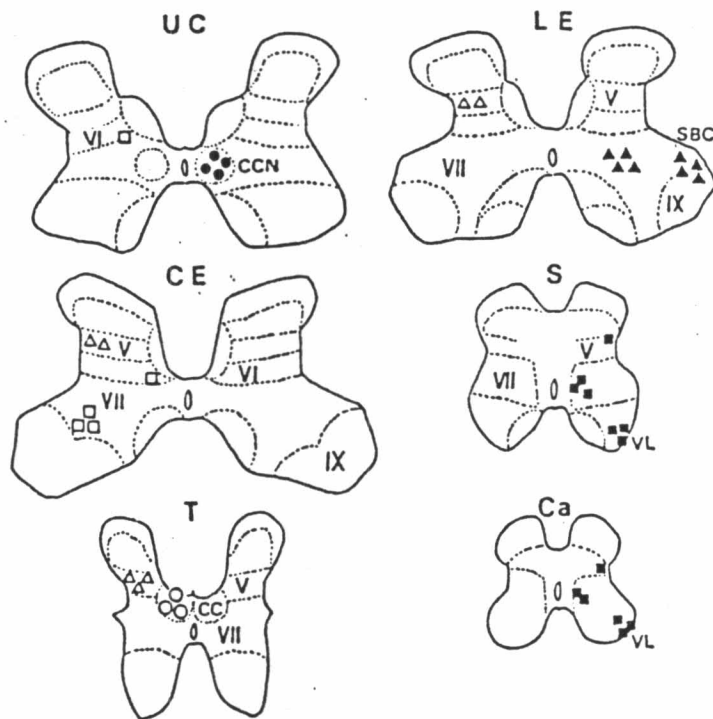


ปริทัศน์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาเกี่ยวกับเซลล์ต้นกำเนิดวิถีประสาท spinocerebellum โดยใช้ electrophysiological methods พบว่า dorsal spinocerebellar tract neurons (DSCT neurons) เริ่มจากกลุ่มเซลล์บริเวณ Clarke's column (CC) และ ventral spinocerebellar tract neurons (VSCT neurons) เริ่มจากกลุ่มเซลล์บริเวณ spinal border cells (SBC) (Oscarsson, 1973) และส่งเส้นใยประสาทไปยังสมองส่วน cerebellum การใช้ microelectrode technique ยังพบกลุ่มเซลล์บริเวณ dorsal horn ของไขสันหลังระดับ L5 ถึง L6 ซึ่งอยู่ต่ำกว่า CC ส่งเส้นใยประสาทไปยังสมองส่วน cerebellum ด้วย เซลล์กลุ่มนี้รับ afferent มาจาก group I muscle ซึ่งเป็นแบบ monosynaptic (Aoyama, Hongo and Kudo, 1973) เมื่อมีการนำเอา glycohemoprotein ชนิดหนึ่ง ชื่อ Horseradish Peroxidase (HRP) มาเป็น retrograde tracer HRP จะถูก uptake ที่ nerve terminal โดยขบวนการ bulk endocytosis คือ ไม่มี specific binding กับ plasma membrane และถูกนำไปสู่ soma ในรูปของ membrane bound tubular elements ขบวนการ transport อาศัย microtubule (Kristensson and Olsson, 1971; La Vail and La Vail, 1972) และโดย histochemical process รวมทั้งการใช้สาร Diaminobenzidine (DAB) หรือสาร tetramethylbenzidine (TMB) เป็น chromogen ทำให้สามารถแสดงเซลล์ประสาทที่มี granule ของ HRP ในส่วนของ soma ได้ และได้มีการนำเอาวิธีการนี้มาศึกษาเซลล์ต้นกำเนิดของวิถีประสาท spinocerebellum อย่างกว้างขวางโดยการทำให้ unilateral lesion ที่ไขสันหลังระดับต่างๆ เพื่อแยก axons ของกลุ่มเซลล์ต้นกำเนิดว่ามีเส้นทางเดินแบบ crossed หรือ uncrossed ในไขสันหลัง ตามด้วยการฉีด HRP เข้า cerebellum ซึ่งเป็นบริเวณที่สิ้นสุดของ axons ของ SCT neurons โดยอาศัย drawing attachment ที่ต่อกับกล้องจุลทรรศน์สามารถลงตำแหน่งของ SCT neurons ใน lamina ต่าง ๆ ของไขสันหลัง (Rexed, 1954) และยังสามารถแบ่งเส้นทางเดินของ axons เป็น 2 กลุ่มดังนี้ uncrossed SCT neurons เริ่ม

จาก 1) medial part ของ lamina VI ในไขสันหลังระดับ C2 ถึง C8 2) central part ของ lamina VII ในไขสันหลังระดับ C4 ถึง C8 3) lamina V ในไขสันหลังระดับ C7 ถึง L3 และ CC ส่วน crossed SCT neurons เริ่มจาก 1) central cervical nucleus ในไขสันหลังระดับ C1 ถึง C3 2) intermediate zone และ ventral horn ของไขสันหลังระดับ lower thoracic และ lumbar (T11 ถึง L6) 3) dorsal และ ventral horn ของไขสันหลังระดับ sacral และ coccygeal (รูปที่ 1) (Matsushita and Hosoya, 1979; Matsushita, Hosoya and Ikeda, 1979)

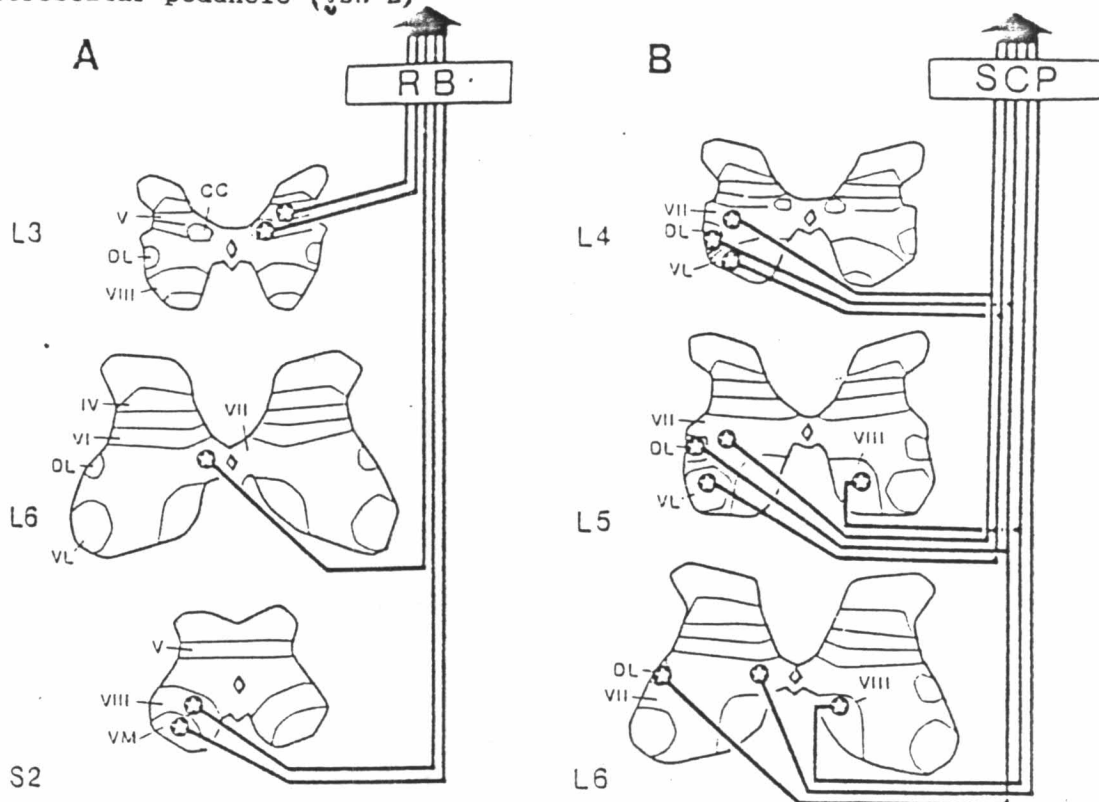


รูปที่ 1 แสดงตำแหน่งของ SCT neurons ในไขสันหลังทุมแรกตั้งแต่มระดับ cervical จนถึง caudal โดยแบ่งตามเส้นทางเดินของ axons เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ uncrossed axons (ซ้าย) และ crossed axons (ขวา) (Matsushita and Hosoya, 1979)

- |                            |                                  |
|----------------------------|----------------------------------|
| Ca = caudal spinal cord    | , CCN = central cervical nucleus |
| CE = cervical enlargement  | , LE = lumbar enlargement        |
| S = sacral spinal cord     | , SBC = spinal border cell       |
| T = thoracic               | , UC = upper cervical cord       |
| VL = ventrolateral nucleus |                                  |

นอกจากการศึกษา retrograde tracer ด้วย HRP แล้วยังมีผู้ศึกษาโดยใช้วิธี retrograde degeneration เพื่อศึกษาเซลล์ต้นกำเนิดวิถีประสาท spinocerebellum ซึ่งพบ neurons ใน CC และ SBC จากการทำ cerebellectomy (Lafleur, DeLean and Poirier, 1974; Petras and Cummings, 1977) โดยอาศัยหลักการว่า เมื่อเส้นใยประสาทถูกตัดขาดหรือได้รับบาดเจ็บ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ cell body และที่ proximal stump คือบริเวณที่ cell body หรือ perikaryon ของเซลล์ประสาทจะบวม Nissl bodies จะมีการสลายตัวเรียกว่า Chromatolysis และ nucleus จะเคลื่อนไปอยู่ชิดขอบเซลล์บริเวณ proximal stump พบ axons แตกเป็นชิ้นเล็ก ๆ และ myelin แตกเป็นเม็ดเล็ก ๆ (มีชัยศรีใส, 2530) มีรายงานเปรียบเทียบ retrograde tracer ด้วย HRP กับ retrograde degeneration ในการศึกษาเซลล์ต้นกำเนิดวิถีประสาท spinocerebellum ในไขสันหลังระดับ lumbosacral พบว่าจำนวนเซลล์ที่ติดสาร HRP จะมากกว่า chromatolytic cells ที่เกิดจาก degeneration แต่ตำแหน่งของเซลล์ในไขสันหลังทั้ง 2 วิธีคล้ายกัน (Grant et al., 1982) มีการศึกษาในสัตว์ทดลองหลาย species เช่น แมว (Synder, Fall and Mehler, 1978; Matsushita, Hosoya and Ikeda, 1979; Wiksten, 1979; Matsushita and Ikeda, 1980; Grant and Xu, 1988), ลิง rhesus (Petras, 1977), ลิง squirrel (Synder, Fall and Mehler, 1978), ลูกลิง (Cumming and Petras, 1977; Petras and Cumming, 1977), หนูแรท (Synder, Fall and Mehler, 1978; Matsushita and Hosoya, 1979) พบว่าตำแหน่งของ SCT neurons ในสัตว์แต่ละ species คล้ายกัน แต่ละกลุ่มของ SCT neurons ส่งเส้นใยประสาทเข้าสู่ cerebellum โดยผ่านทาง restiform body หรือ superior cerebellar peduncle เพื่อที่จะแยกว่า แต่ละกลุ่มใช้เส้นทางไหนนั้นศึกษาโดยใช้เทคนิคการทำ lesion ที่ restiform body หรือ superior cerebellar peduncle ร่วมกับการทำ lesion ในไขสันหลังด้านตรงข้ามกับที่ทำ peduncle lesion ตามด้วยการฉีด HRP เข้าใน cerebellum (Grant and Xu, 1988) พบว่า กลุ่มของ uncrossed axons จาก CC และ dorsal horn ใน lamina IV-VI และ crossed axons จาก L6 และระดับ caudal ซึ่งได้แก่ medial part ของ lamina VII และจาก lamina VIII และ Ventromedial nucleus (VM) ในระดับ sacral axons ของ neurons กลุ่มนี้เข้าสู่ cerebellum โดยผ่านทาง restiform body ส่วน neurons ที่เป็น crossed axons

จาก medial และ lateral part ของ lamina VII และ uncrossed axons ใน lamina VIII axons ของ neurons กลุ่มนี้เข้าสู่ cerebellum โดยผ่านทาง superior cerebellar peduncle (รูปที่ 2)

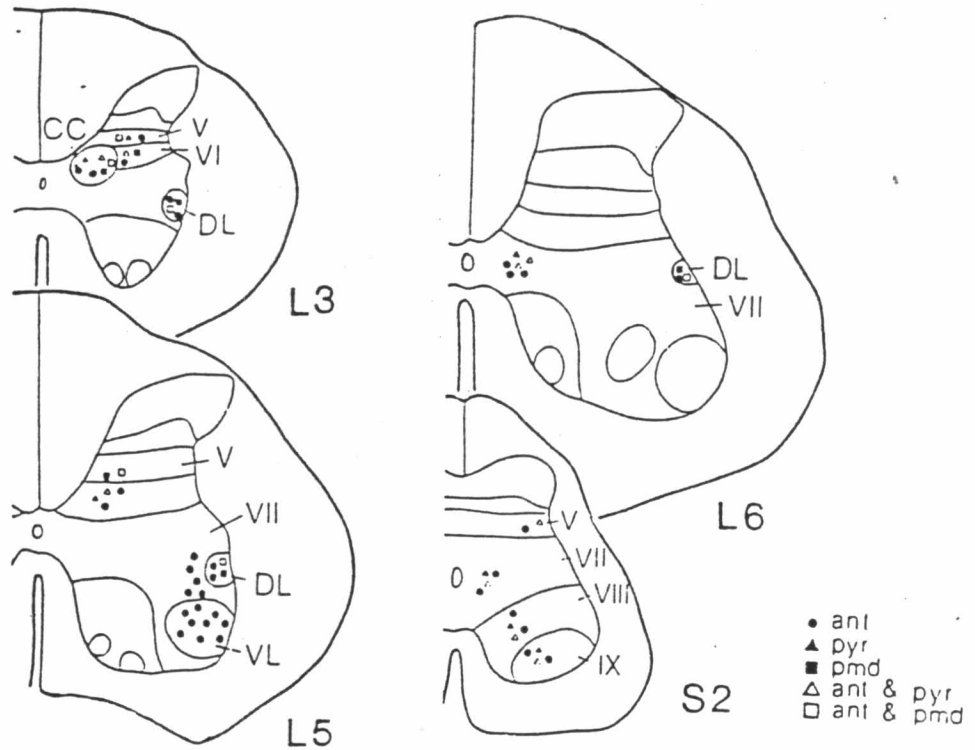


**รูปที่ 2** แสดงกลุ่มของ SCT neurons และเส้นทางเดินของ axons เข้าสู่ cerebellum ในไขสันหลังแมวระดับ lumbar และ sacral (Grant and Xu, 1988)

A. กลุ่มของ SCT neurons ที่ส่งวิถีประสาทเข้าสู่ cerebellum โดยผ่าน restiform body (RB)

B. กลุ่มของ SCT neurons ที่ส่งวิถีประสาทเข้าสู่ cerebellum โดยผ่าน superior cerebellar peduncle (SCP)

การศึกษาว่า SCT neurons กลุ่มใดส่งเส้นใยประสาทไปสิ้นสุดใน cerebellum ส่วน anterior lobe หรือ posterior lobe หรือทั้ง 2 บริเวณ ใช้เทคนิค retrograde fluorescent double labeling โดยฉีด fluorescent tracer ชนิดหนึ่งใน cerebellum ส่วน anterior lobe และอีก tracer หนึ่งใน posterior lobe (Xu and Grant, 1988b) พบว่า บางกลุ่มของ SCT neurons ส่งเส้นใยประสาทสิ้นสุดใน anterior lobe แล้วมี axon collaterals ไปที่ posterior lobe และบางกลุ่มก็ส่งเส้นใยประสาทสิ้นสุดใน anterior lobe เท่านั้น (รูปที่ 3)



**รูปที่ 3** แสดงตำแหน่งของ SCT neurons ที่ส่งเส้นใยประสาทไปสิ้นสุดใน lobe ต่าง ๆ ของ cerebellum ในไขสันหลังแนวระดับ lumbar และ sacral โดย single และ double retrograde fluorescent tracer จาก cerebellum

• แสดง SCT neurons ที่ส่งเส้นใยประสาทไปสิ้นสุดใน anterior lobe ของ cerebellum

▲ " \_\_\_\_\_ " pyramis lobe

ของ cerebellum

■ " \_\_\_\_\_ " paramedian lobe

ของ cerebellum

△ " \_\_\_\_\_ " ทั้ง anterior lobe

และ pyramis lobe ของ cerebellum

□ " \_\_\_\_\_ " ทั้ง anterior lobe

และ paramedian lobe

SCT neurons ใน ventral horn โดยเฉพาะที่อยู่ใน lamina IX (Rexed, 1954) นั้นประกอบด้วยกลุ่มของ SCT neurons ที่เรียกว่า dorsolateral nucleus (DL) ในไขสันหลังระดับ L3 ถึง L6, ventrolateral nucleus (VL) ในไขสันหลังระดับ L4 ถึง L5 และ ventromedial nucleus (VM) ในไขสันหลังระดับ sacrococcygeal neurons ใน DL และ VL ตรงกับ SCT neurons ที่อยู่ใน lateral lumbar nucleus (LLN) และ spinal border cell (SBC) ซึ่งรายงานโดย Cooper and Sherrington ในปี 1940 และ VM ตรงกับ SCT neurons บริเวณ lamina VIII ในไขสันหลังระดับ sacrococcygeal กลุ่มของ SCT neurons ที่อยู่ในบริเวณ DL, VL และ VM (Rexed, 1954) มีขนาดใหญ่ และรูปร่างลักษณะเหมือนกับ motoneurons (Jankowska and Lindstrom, 1970; Matsushita, Hosoya and Ikeda, 1979; Grant et al., 1982) และเนื่องจากใน lamina นี้ประกอบด้วย motoneurons ด้วย เพื่อเป็นการพิสูจน์ว่ามี neurons อยู่ 2 กลุ่ม จึงได้ใช้วิธี retrograde fluorescent double labeling โดยฉีด tracer หนึ่งใน cerebellum ซึ่งจะ retrograde ไปยัง SCT neurons และอีก tracer หนึ่งใน peripheral nerves ซึ่งจะ retrograde ไปยัง motoneurons (Xu and Grant, 1988c) ผลการทดลองไม่พบ double labeled neurons แสดงว่า SCT neurons ใน lamina IX ของ Rexed เป็นคนละกลุ่มกับ motoneurons สรุปรูป SCT neurons กลุ่มต่าง ๆ ในไขสันหลังระดับ lumbar และ sacral, เส้นทางเดินของ axons, ทางเข้าสู่ cerebellum และบริเวณที่สิ้นสุดของ axons กลุ่มต่าง ๆ ใน cerebellum (ตาราง 1)

Cell group	Segmental location (below L1)	Crossing in spinal cord	Lateral funiculus (cervical level)	Cerebellar peduncle	Termination area	Divergent collaterals
CC	L2-L4	-	dl	RB	ant, pyr, pmd	+
Lam. IV-VI	L2-L6	-	dl	RB	ant, pyr, pmd	+
DL	L2-L6	-	vl	SCP	ant, pmd	+
lat. lam. VII	L3-L5	-	vl	SCP	ant	-
VL	L4-L5	-	vl	SCP	ant	-
Med. lam. VIII	L6-Ca1	-	vl, dl	SCP, RB	ant, pyr	+
Lam. VIII-LX	S1-Ca1	-	dl	RB	ant, pyr	+

ตารางที่ 1 แสดงกลุ่มต่าง ๆ ของ SCT neurons ในไขสันหลังระดับ lumbar และ sacral ของแมว, เส้นทางเดินของ axons ในไขสันหลังเข้าสู่ cerebellum และบริเวณที่สิ้นสุดของ axons ใน cerebellum, (Grant and Xu, 1988; Xu and Grant, 1988a, 1988b, 1988c)

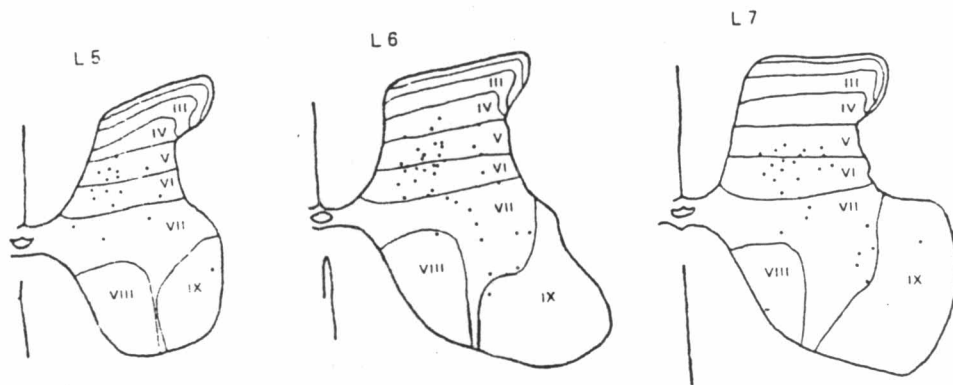
มีรายงานว่า DSCT neurons ได้รับความกระตุ้นและการยับยั้งจาก group I muscle afferent การกระตุ้นเป็นแบบ monosynaptic (Lindstrom and Takata, 1972) และการยับยั้งเป็นแบบ disynaptic (Curtis, Eccles and Lundburg, 1958; Eccles, Hubbard and Oscarsson, 1961) แสดงว่าการยับยั้งต้องมี interneurons เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย ตำแหน่งของ interneurons ที่ถูกกระตุ้นโดย group I muscle afferent แล้วมีผลยับยั้ง DSCT neurons ได้มีการศึกษาทางสรีรวิทยาไฟฟ้าพบว่า อยู่ในไขสันหลังระดับเดียวกับ CC และระดับต่ำกว่า CC ลงมา และหาตำแหน่งของ interneurons โดยการบันทึกแบบ antidromic ตามการกระตุ้นใน CC ขณะเดียวกัน การกระตุ้น group I muscle afferents ซึ่งเป็น monosynaptic พบตำแหน่ง

interneurons ตรงบริเวณที่พบกันของ impulse orthodromic กับ antidromic บริเวณ lamina V-VI ในไขสันหลังระดับ L6 และ L7 ส่วนการศึกษาทางการติดต่อของเซลล์ประสาท โดยฉีด HRP ใน CC พบตำแหน่งของ interneurons ที่ retrograde transport จาก CC ใน lamina V, VI, VII ในไขสันหลังระดับ L5 ถึง S1 (รูปที่ 4) (Hongo et al., 1983a) มีรายงานเกี่ยวกับ interneurons ใน lamina V-VI ว่าได้รับการกระตุ้นจาก group Ia muscle afferent และ group Ib tendon organ afferent แล้วมีผลยับยั้ง motoneurons ที่เป็น non-reciprocal (Fetz et al., 1979; Jankowska, McCrea and Mackel, 1981b; Brink et al., 1983a; Harrison, Jankowska and Johannisson, 1983; Hongo et al., 1983b; Jankowska and McCrea, 1983) แสดงว่า interneurons ใน lamina V-VI กลุ่มนี้ทำหน้าที่ยับยั้งทั้ง DSCT neurons และ motoneurons ที่เป็น non-reciprocal โดยมีเหตุผลสำคัญ 2 ประการคือ

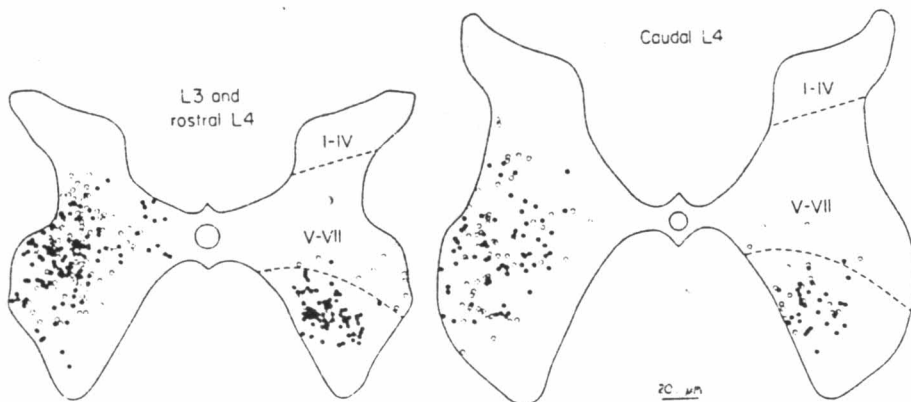
- 1) มี input เหมือนกันที่เข้ามาถึง interneurons แล้วมีผลยับยั้งทั้ง DSCT neurons และ motoneurons ที่เป็น non-reciprocal input นั้นได้แก่ group Ia และ Ib muscle afferent, cutaneous และ joint afferent และ rubrospinal tract fibres (Fetz et al., 1979; Jankowska, McCrea and Mackel, 1981b; Harrison, Jankowska and Johannisson, 1983; Jankowska and McCrea, 1983)
- 2) เมื่อกระตุ้น CC ในไขสันหลังระดับ L4 ถึง L5 จะพบ monosynaptic ที่มีผลยับยั้ง motoneurons ใน hind-limb ในทางตรงข้ามกระตุ้นที่ motoneurons จะพบ monosynaptic ที่มีผลยับยั้ง CC ซึ่งการกระตุ้นทั้ง 2 ครั้ง ใช้แรง กระตุ้นที่ต่ำมาก และ latency สั้นเพียงพอที่จะเป็น monosynaptic แสดงว่า การยับยั้ง DSCT neurons และ motoneurons ที่เป็น non-reciprocal เกิดจาก interneurons บริเวณ lamina V-VI ของไขสันหลังระดับ lumbar และมี axon collaterals ทั้ง 2 บริเวณ (Hongo et al., 1983b) ขณะที่ motoneurons ที่เป็น reciprocal ถูกยับยั้งโดย interneurons ที่อยู่ใน lamina VII ของ Rexed (Eccles and Lundberg, 1958; Hultborn, Illert and Santini, 1976a, 1976b, 1976c) นอกจากนี้ตำแหน่งของ interneurons ยังได้จากการฉีด Wheat Germ Agglutinin conjugate กับ HRP (WGA-HRP) เข้า peripheral hind limb nerves ซึ่งจะ retrograde transport ไปยัง motoneurons และ transneuronal transport ไปยัง interneurons ซึ่งอยู่ใน lamina V-VII ด้าน



เดียวกัน และ lamina VIII ด้านตรงข้าม (รูปที่ 5) (Harrison, Jankowska and Zytnicki, 1986; Jankowska and Skoog, 1986)



**รูปที่ 4** ตำแหน่งของ interneurons ที่เกิดจากการ retrograde transport ของ HRP จาก Clarke's column ในไขสันหลังแมวระดับ L5, L6 และ L7 (Hongo et al, 1983a)



**รูปที่ 5** ตำแหน่งของ interneurons ที่เกิดจาก transneuronal transport ของ WGA-HRP จาก semitendinosus nerve และ medial gastrocnemius nerve ในไขสันหลังแมวระดับ L3 และ L4 (Jankowska and Skoog, 1986)

- แมวที่ได้รับยาสลบ แล้วกระตุ้น pyramidal tract หลังจากฉีด WGA-HRP
- แมวที่ได้รับการฝึกให้กระโดด

interneurons ถูกควบคุมโดย input ต่าง ๆ ทั้งที่มาจากระดับสูงกว่าไขสันหลัง โดยผ่านทาง descending tract ต่าง ๆ และจากอวัยวะรับสัมผัสต่าง ๆ เช่น muscle spindle ในกล้ามเนื้อ, golgi tendon organ ใน tendon และจากปลายประสาทใน เยื่อหุ้มของข้อและผิวหนัง เป็นต้น (Lundberg, 1979; Jankowska, 1983) input จาก แหล่งกำเนิดที่ต่างกันที่มายัง interneurons ทำให้เกิด output ที่ต่างกัน และเกิดการ เคลื่อนไหวที่ต่างกัน เช่น vestibulo-spinal fibres กระตุ้น interneurons แล้วมีผล ยับยั้ง motoneurons ที่เป็น reciprocal โดยเฉพาะ flexors แต่ไม่ใช่ extensors (Hultborn, Illert and Santini, 1976c) cutaneous afferents มากระตุ้น interneurons แล้วมีผลยับยั้ง motoneurons ที่เป็น non-reciprocal มากกว่า reciprocal (Brink et al., 1983a) nerve impulses จากแหล่งหนึ่งมายังกลุ่มของ interneurons จำนวนมาก (80-90%) ซึ่งจะกระตุ้น interneurons พร้อมกัน แต่จะมี interneurons บางกลุ่มที่ถูกคัดเลือกให้ทำหน้าที่นั้น พบว่า ระบบควบคุมการยับยั้ง (inhibit control) ในแต่ละกลุ่มของ interneurons จะมีบทบาทสำคัญในการคัดเลือกที่จะให้เกิด reaction แบบไหน เช่น interneurons ที่ทำหน้าที่ยับยั้ง motoneurons ที่เป็น reciprocal จะถูกควบคุมโดย Renshaw cells (Hultborn, Illert and Santini, 1976a; Ryall, 1981) และ interneurons ที่ทำหน้าที่ยับยั้ง motoneurons ที่เป็น non-reciprocal จะ ถูกควบคุมโดย reticulo-spinal system (Baldissera, Hultborn and Illert, 1981; Brink et al, 1983b) หน้าที่ของ interneurons คือ ดัดแปลงข้อมูลที่ได้รับ เช่น ขยายสัญญาณ (amplifier) หน้าที่ที่เป็น valves คือ ยอมให้สัญญาณผ่านหรือคอยยับยั้ง

#### WGA-HRP

WGA (Wheat Germ Agglutinin) เป็นพืชพวก lectin (*Triticum vulgare*) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 17,000 มี receptor จำเพาะต่อ N-acetyl-D glucosamine และ sialic acid carbohydrate residues แต่เดิมใช้ในการ identify และ localize carbohydrate containing sites บนเยื่อหุ้มเซลล์ประสาท พวกคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนโดยเฉพาะอย่างยิ่ง glycoprotein ซึ่งจะมีจำนวนมากบริเวณรอยต่อระหว่างเซลล์ประสาทตัวหนึ่งกับเซลล์อีกตัวหนึ่ง และมีความสำคัญในกลไกของ cell recognition, cell

to cell adhesion, receptor binding และ interneuronal interconnection (Gurd, 1977) WGA ถูกนำมาใช้เป็น retrograde tracer โดย label กับ tritium, radioactive iodine, conjugated กับ HRP หรือใช้กับ immunohistochemical techniques ก็ได้ แต่ WGA ก็มีข้อจำกัดในการใช้เนื่องจาก lectin binding sites กระจายแบบ non-uniform ในทุกเซลล์ประสาทพบว่าวิธีประสาทบางอย่างแสดงให้เห็นได้โดยใช้ HRP แต่ใช้ WGA ไม่ได้ (Schwab, Javoy-Agid and Agid, 1978) การใช้ lectin หรือ WGA conjugate กับ HRP และใช้ในการศึกษา retrograde axonal transport แทน Free HRP พบว่า WGA-HRP sensitive กว่า Free HRP ถึง 40 เท่า (Gonatas et al., 1979) และยังสามารถเกิด anterograde transport, transganglionic transport และ transneuronal transport ด้วย ซึ่งไม่พบใน Free HRP เลย (Itaya, Williams and Engel, 1978; Gerfen, O'Leary and Cowan, 1982; Itaya and Van Hoesen, 1982) ปัจจัยที่ทำให้ WGA-HRP conjugated มีข้อได้เปรียบกว่า HRP คือ WGA-HRP เข้าสู่ neuron โดยขบวนการ absorption endocytosis คือ มี special affinity กับ neuronal cell membrane.