

การศึกษาเบื้องต้นอิทธิพลของการกระตุ้นสมองเล็ก (ซีลีเบลลัม) ด้วยไฟฟ้า
ต่อความตึงตัวของกล้ามเนื้อในกระดกที่มีพยาธิสภาพบริเวณกลุ่มเซลล์
ประสาทในสมองส่วนกลาง (สับสแตนเชียลในกรา)

**Effect of Cerebellar Electrical Stimulation on Triceps Surae
Muscle Tone in Subgtantia nigra-lesioned tree shrews**

นางเอมอร เจริญสรรพพืช
นางสาววนิดา ไตรพาณิษฐ์กุล
นางสาวสุมล จีงอุดมเจริญ
นางศรีลัดดา เงินสุทธีวรกุล

616.833
ก522

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

พ.ศ. 2539

การศึกษาเบื้องต้นอิทธิพลของการกระตุ้นสมองเล็ก (ซีลีเบลลัม) ด้วยไฟฟ้า
ต่อความตึงตัวของกล้ามเนื้อในกระต่ายที่มีพยาธิสภาพบริเวณกลุ่มเซลล์
ประสาทในสมองส่วนกลาง (สับสแตนเชียลในกรา)

**Effect of Cerebellar Electrical Stimulation on Triceps Surae
Muscle Tone in Substantia nigra-lesioned tree shrews**

14 ก.ค. 2540

นางเอมอร เจริญสรรพพืช
นางสาววนิดา ไตรพาณิชย์กุล
นางสาวสุมล จีงอุดมเจริญ
นางศรีลัดดา เงินสุทธีวรกุล

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร
พ.ศ. 2539

บทนำ

เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่าการเคลื่อนไหวของร่างกายได้อำนาจของจิตใจจะเริ่มจากการสั่งงานจากศูนย์บังคับการที่สมองใหญ่ (Cerebral cortex) ไปยังกล้ามเนื้อและไขสันหลัง จากนั้นไขสันหลังจะส่งสัญญาณไปควบคุมความตึงตัว (Muscle tone) ของกล้ามเนื้อลายให้เกิดการเคลื่อนไหวต่อไป วิธีประสาทดังกล่าวจะถูกส่งมา 2 ทางคือ Pyramidal tract และ Extrapyramidal tract โดยที่ Pyramidal System จะเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนไหวที่ละเอียดอ่อน เช่น การเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อเล็ก ๆ ที่มือและกล้ามเนื้อในสายเสียง ในขณะที่ Extrapyramidal system จะควบคุมความตึงของกล้ามเนื้อที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการทรงท่าซึ่งประกอบด้วยนิวเคลียสใน Basal ganglia (Corpus striatum) ได้แก่ Caudate nucleus , Putamen , Globus pallidus และ Substantia nigra กลุ่มนิวเคลียสในก้านสมองได้แก่ Red nucleus , Vestibular nuclei , Pontine nuclei และ Medullary reticular formation

นอกจากการควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อจะถูกควบคุมโดยสมองใหญ่แล้ว การประสานงานของกล้ามเนื้อเพื่อควบคุมการเคลื่อนไหวทางร่างกายและการปรับการทรงตัวจะเป็นหน้าที่ของสมองเล็ก (Cerebellum) เนื่องจากสมองเล็กไม่ได้ควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อโดยตรงแต่ทำหน้าที่เป็นเครื่องวัด (monitor) และแก้ไขดัดแปลงการทำงานของ Cerebral cortex เพื่อให้เกิดการเคลื่อนไหวที่ราบรื่น (Smooth) และการร่วมมือประสานงานกัน (Co-ordination) ระหว่างกล้ามเนื้อในกลุ่มหนึ่ง ๆ และระหว่างกลุ่มดังกล่าวคือ กระแสประสาทของ Cerebral cortex จาก Pyramidal และ Extrapyramidal system จะส่งกระแสประสาทข้างเคียง (Collateral impulse) ไปยังสมองเล็ก ทำให้กล้ามเนื้อและสมองเล็กได้รับสัญญาณการกระตุ้นในเวลาเดียวกัน เมื่อกล้ามเนื้อตอบสนองต่อสัญญาณสั่งงาน ตัวรับสัญญาณ (receptor) ที่อยู่ในกล้ามเนื้อและข้อต่อ เช่น Muscle spindle , Golgi tendon apparatus และตัวรับสัญญาณส่วนปลายอื่น ๆ จะส่งสัญญาณขึ้นไปยังสมองเล็กเพื่อควบคุมความผิดพลาด ซึ่งตามธรรมดาแล้ว Cerebral cortex มักจะส่งสัญญาณไปมากกว่าที่ต้องการเคลื่อนไหว , สมองเล็กจะต้องทำการยับยั้ง Cerebral cortex ในเวลาที่พอเหมาะหลังจากกล้ามเนื้อเริ่มเคลื่อนไหวประเมินอัตราการเคลื่อนไหวและคำนวณระยะเวลาที่ต้องการเพื่อการเคลื่อนไหวถึงจุดที่ต้องการ และการส่งสัญญาณยับยั้งที่เหมาะสมไปที่ cerebral cortex ยับยั้งกล้ามเนื้อที่ทำงานเสริมกัน (Agonist muscle) และกระตุ้นกล้ามเนื้อที่ทำงานต้านกัน (Antagonist muscle) ยิ่งกว่านั้นสมองเล็กยังเป็นศูนย์กลาง

สำคัญในการรักษาความตึงตัวของกล้ามเนื้อ (muscle tone) อีกด้วย อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่า การศึกษาเกี่ยวกับหน้าที่และกลไกการทำงานของสมองเล็กจะได้รับความสนใจจากนักประสาท สรีรวิทยาอย่างกว้างขวาง และ ได้ข้อมูลมากมายกว่าการศึกษาส่วนอื่นๆ แต่ข้อมูลที่ได้ก็ยังไม่ สามารถอธิบายกลไกการทำงานของสมองเล็กได้อย่างสมบูรณ์เพียงพอ

กลุ่มอาการของความผิดปกติของการเคลื่อนไหวที่ได้รับความสนใจมากที่สุดในการศึกษาวิจัย คือ Parkinsonism เนื่องจากเป็นโรคของ Basal ganglia ที่พบบ่อยที่สุด เกิดขึ้นโดยไม่ทราบสาเหตุและเกิดภายหลังภาวะสมองอักเสบหรือการใช้อายารักษาโรคทางจิต บางชนิดหรือได้รับพิษของแมงกานีสและคาร์บอนมอนอกไซด์ และพบว่าอัตราการเกิดโรค ดังกล่าวในประเทศไทยเพิ่มขึ้นอย่างมาก ทั้งนี้เนื่องจากอิทธิพลของสิ่งแวดล้อม , การพัฒนาทางอุตสาหกรรม , เทคโนโลยีและการคมนาคม ทำให้มีสารพิษตกค้างอยู่มากมาย สภาพสังคมที่ทำให้ประชากรในประเทศไทยเครียดมากขึ้น ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของพยาธิสภาพใน Nigrostriatal system คือมีการเสื่อมสลาย (Degeneration) ของตัวเซลล์ใน Substantia nigra ทำให้อัตราส่วนของสารสื่อประสาทไม่เหมาะสม คือมี Acetylcholine มากกว่า Dopamine จึงทำให้เซลล์บางตัวมีกิจกรรม (activity) มากกว่าปกติทำให้เกิดอาการสั่น (Tremor) ซึ่งอาการสั่นนี้จะหายไปหากทำการเคลื่อนไหวตามที่ตั้งใจ (Resting tremor) เกิดการเพิ่มความตึงตัวของกล้ามเนื้อ (Rigidity) ทำให้การเคลื่อนไหวเป็นไปด้วยความลำบากผู้ป่วยจึงเคลื่อนไหวลดลง (Hypokinesia) การให้ยาเพื่อปรับอัตราส่วนของสารสื่อประสาท พวก Precursor ของ Dopamine (Levo dopa) หรือ Anticholinergic drug (atropine) จะช่วยรักษา Parkinsonism ได้ อย่างไรก็ตามการให้ยายังทำให้เกิดอันตรายในกรณีการให้ยาผิดวิธี เช่น การให้ยาที่ความเข้มข้นสูง ๆ โดยทางเส้นโลหิตดำ (conc. 2.5-3% IV) สามารถทำให้ผู้ป่วยถึงแก่ชีวิตได้ นอกจากนี้ การให้ยานาน ๆ ยังสามารถทำให้อาการแข็งเกร็งมากขึ้นหลังจากให้ยาไปได้ 1-2 ปี (Rebound Phenomenon) จึงน่าจะมีวิธีอื่นที่สามารถช่วยให้อาการรักษา Parkinsonism มีประสิทธิภาพขึ้น จากการทดลองโดยฉีดสารละลายที่มีเซลล์ของต่อมหมวกไต (Adrenal suspension) เข้าในสมองเพื่อให้เซลล์ของต่อมหมวกไตสร้าง Dopamine แทน Substantia nigra ที่เสื่อมสลายไปก็ยังไม่ได้ผลการรักษาที่ดีเท่าใดนัก จากความสำคัญของ Cerebellum ในการควบคุมความตึงตัวของกล้ามเนื้อและการทรงท่าและเนื่องจากการกระตุ้น Cerebellar cortex ด้วยกระแสไฟฟ้าสามารถลดความตึงตัวของกล้ามเนื้อในโรคของระบบประสาทหลาย ๆ โรคได้ หากแต่การใช้ไฟฟ้ากระตุ้น Cerebellar cortex ในผู้ป่วย Parkinsonism ยังไม่ได้รับการศึกษาแต่อย่างใด ในกรณีที่ทำการทดลองได้ผลในสัตว์ทดลอง

สามารถนำไปประยุกต์ทดลองใช้ในคนใช้ได้ เพราะว่า ในปัจจุบันมีเครื่องมือที่สามารถกระตุ้น บน ศีรษะได้ เพราะสมองเล็กอยู่ติดกับกระดูกโกลนศีรษะด้านหลังมาก การที่เราสามารถลดการ ตึงตัวของกล้ามเนื้อได้จะทำให้คนไข้สามารถชักกล้ามเนื้อทำงานได้ เคลื่อนไหวได้ดี สามารถดำเนินชีวิตได้ในชีวิตประจำวัน ซึ่งโดยปกติแล้วคนไข้ Parkinson จะประสบปัญหาไม่สามารถเคลื่อนไหวกล้ามเนื้อในการดำเนินชีวิตประจำวันได้ เนื่องจากกล้ามเนื้อมีความแข็งตัว (Rigidity) มาก



วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการกระตุ้น cerebellum cortex ด้วยกระแสไฟฟ้าว่าสามารถลดความตึงตัวของกล้ามเนื้อในกรณีที่ substantia nigra ถูกทำลายได้ มีประสิทธิภาพมากมายเพียงไร
2. เพื่อจะได้ข้อมูลเพิ่มเติมสนับสนุนความเข้าใจในการอธิบายกลไกการทำงานของ Cerebellum กับการควบคุมการทำงานกล้ามเนื้อ
3. เพื่อจะได้ทราบตำแหน่งของ cerebellar cortex ที่เหมาะสมในการใช้ไฟฟ้ากระตุ้นและรูปแบบรวมทั้งความแรงของกระแสที่เหมาะสมที่และมีประสิทธิภาพในการลดความตึงตัวของกล้ามเนื้อในภาวะที่ Substantia nigra ถูกทำลาย
3. เพื่อจะได้ทราบผลการกระตุ้นด้วยรูปแบบและความแรงของกระแสที่มีประสิทธิภาพและตำแหน่งที่เหมาะสมสม่ำเสมอในระยะเวลาหนึ่งว่าจะสามารถลดความตึงตัวของกล้ามเนื้อขณะพักได้หรือไม่
4. นำผลที่ได้ไปเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการวิจัยในสัตว์อื่นสูงกว่ากระแต
5. นำผลที่ได้ไปประยุกต์ในการให้การรักษาผู้ป่วย Parkinsonism ของแพทย์และนักกายภาพบำบัด

วรรณคดีที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาผลของการกระตุ้น Cerebellar cortex ด้วยกระแสไฟฟ้าต่อความตึงตัวของกล้ามเนื้อลายเริ่มมาตั้งแต่ประมาณ 95 ปีที่แล้ว โดย Lowenthal และ Horsley (1) พบว่าการกระตุ้น Cerebellum ส่วน Paleocerebellum สามารถลดความแข็งเกร็งของกล้ามเนื้อ (Decerebrate rigidity) ได้ ซึ่งต่อมาก็ได้มีผลการวิจัยสนับสนุนผลดังกล่าวเป็นจำนวนมาก (2-6) นอกจากนี้ยังมีการทดลองกระตุ้น cerebellum ที่ส่วน Neocortex พบว่ากระแสของความถี่ 100-200 Hz , แรงเคลื่อน 14 volts ช่วงกระตุ้น 1 msec เวลา 2-4 ชั่วโมง จะสามารถยับยั้งการเพิ่มความตึงตัวของกล้ามเนื้อ (muscular hypertonus) ได้ (7)

เนื่องจากกลไกของการกระตุ้น Cerebellum cortex สร้างจะกลับซับซ้อนแต่การกระตุ้น Cerebellum ก็มีประโยชน์ต่อผู้ป่วยที่เกิดการทำลายของระบบประสาทอย่างรุนแรง (severe damaged motor system) ได้ ทั้งนี้อาจจะโดยการแก้ไขความผิดปกติหรือปรับสมดุลใหม่ระหว่างส่วนที่ถูกทำลายและส่วนที่ยังคงเหลืออยู่ (8-9) ยิ่งกว่านั้นผลของการกระตุ้น Cerebellum ต่อความตึงตัวของกล้ามเนื้อและการทรงท่าในผู้ป่วยที่มีความพิการทางสมอง (Cerebral palsy) ยังได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางโดย Davis และคณะได้นำงานวิจัยในช่วงปี 1977-1978 โดยใช้ไฟ 150-200 Hz , 0.5 msec , 0.3-1 mA สามารถควบคุมการเคลื่อนไหวนอกอำนาจทางจิตใจ (Involuntary movement) และการเพิ่มความตึงตัวจากกล้ามเนื้อ (Spasticity) ด้วย ต่อมาในปี 1982 Ebner และ คณะ (11) พบว่าสัญญาณไฟฟ้าของกล้ามเนื้อ Anterior tibial และ Gastrosoleus ที่วัดโดยเครื่องบันทึกวัดสัญญาณไฟฟ้าของกล้ามเนื้อ (Electromyogram; EMG) แสดงถึงการลด Rigidity ได้ เมื่อใช้ไฟฟ้าความถี่ 20-3 Hz และ 200 Hz , 0.5 msec , 6-20 mA กระตุ้นที่ cerebellum

6-hydroxydopamine เมื่อฉีดเข้าไปในสมองบริเวณ Substantia Nigra จะทำลายเซลล์ประสาทในนิวเคลียสนี้เฉพาะที่สร้างสารสื่อประสาทประเภท Dopamine เท่านั้น (12-14) และทำให้สัตว์ทดลองเกิดอาการคล้ายอาการของโรค Parkinson สัตว์ทดลองที่ Substantia nigra ถูกทำลายจะเป็น Animal Model ของโรค Parkinson ที่เราสามารถนำมาใช้ทดลองแทนผู้ป่วยได้

วิธีการวิจัย

ตัวอย่างสัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองที่ใช้เป็นกระแต (Tupaia glis) เพศผู้และเพศเมีย น้ำหนักประมาณ 120-160 กรัม ซึ่งจะนำมาเลี้ยงในกรงอุณหภูมิห้องให้วงจรแสงตามปกติ (Standard light dark cycle) และให้อาหารและน้ำตามเวลาเท่าที่กระแตต้องการ

สถานที่ทำการทดลองที่ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร สุขุมวิท 23

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

สารเคมี

1. Pentobarbital
 2. 6-OHDA , MPTP
 3. Paraformaldehyde
 4. Liquid freezing medium
 5. glass slide
 6. Coverslip
 7. สีย้อมเนื้อเยื่อสมอง
 8. Sucrose
 9. Heparin
 10. น้ำยาฆ่าเชื้อโรค
 11. เข็ม-ด้ายใช้ในการผ่าตัด
 12. ยาปฏิชีวนะ
 13. หลอดไฟใช้ขณะผ่าตัด
- กระดาดบ้านที่กักสัญญาณไฟฟ้ากล้ามเนื้อ

- สายไฟที่ใช้ต่อระหว่างอิเล็กโทรดกับเครื่องบันทึกสัญญาณไฟฟ้า
- อิเล็กโทรดเพื่อใช้ในการกระตุ้นไฟฟ้า
- Dental Cement

อุปกรณ์ ที่ใช้ในการวิจัยที่มีอยู่แล้ว

1. เครื่องบันทึกสัญญาณไฟฟ้าของกล้ามเนื้อ (ELECTRO MYOGRAPH)
2. STEREOTAXIC APPARATUS FOR RAT
3. SQUARE WAVE STIMULATOR
4. OSCILLOSCOPE
5. FREEZING MICROTOME
6. กล้อง STEREOMICROSCOPE
7. กล้องจุลทรรศน์ 2 ตา
8. ชุดเครื่องมือผ่าตัด

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

ตอนที่ 1 : เพื่อหาดำแหน่งของ cerebellum ที่เหมาะสมในการกระตุ้น

ขั้นที่ 1 ก่อนจะนำกระแตมาศึกษาจะบันทึกสัญญาณไฟฟ้าของกล้ามเนื้อน่อง (Triceps surae หรือ Gastrosoleus) ปกติทั้ง 2 ข้าง

ขั้นที่ 2 ทำสาย substantianigra ข้างซ้ายโดยฉีด 6- hydroxydopamine HBr (6-OHDA , Sigma Chemical Co.) ความเข้มข้น 10 ug in 2 ul ด้วย

Hamilton microsyringe ด้วยอัตราไหล 1 ul/min plus 3 min diffysing time

ขั้นที่ 3 หลังจากนำสาย substantia nigra ข้างซ้าย 24-48 ชั่วโมงนำมาวัดสัญญาณไฟฟ้าของกล้ามเนื้อน่องทั้ง 2 ข้าง อีกครั้ง

ขั้นที่ 4 บันทึกลักษณะการกระตุ้น cerebellar cortex ด้วยไฟฟ้า ที่ความถี่ต่าง ๆ ได้แก่ 1 , 10 , 50 , 100 และ 200 Hz ช่วยกระตุ้นต่าง ๆ ได้แก่ 0.02 , 0.05 , 0.1 , 0.2 mSec. ความแรงของไฟจะเริ่มจาก 0 mA และเพิ่มขึ้นทีละ 0.05 mA ทุก ๆ 40 วินาที จนกระทั่ง ไม่พบ EM activity ที่ผิดปกติ โดยจะกระตุ้นที่บริเวณต่าง ๆ ของ anterior lobe ของส่วน - paleocerebellum ที่ควบคุมความตึงตัวของกล้ามเนื้อ

ขั้นที่ 5 หลังจากทำการทดสอบเสร็จ นำสมองส่วน substantia nigra มาตรวจ - ลักษณะของเนื้อเยื่อว่า substantia nigra ถูกทำลายจากปลายของ 6 OHDA มากน้อยเพียงไร

ตอนที่ 2 : เพื่อศึกษามลของการกระตุ้น cerebellum อย่างต่อเนื่อง ต่อสัญญาณไฟฟ้า กล้ามเนื้อขณะพัก

ขั้นที่ 1-3 เช่นเดียวกับตอนที่ 1 ขั้นที่ 1-3

ขั้นที่ 4 ทำการติดอิเล็กโทรดที่ตำแหน่งที่เหมาะสมตามผลการทดลองตอนที่ 1 อย่างถาวร เพื่อนำไฟฟ้าความถี่ , ช่วยกระตุ้นและ ความแรงที่เหมาะสมตามการทดลองตอนที่ 1 มากระตุ้น cerebellum ทุก 10-12 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง โดยกระตุ้นแต่ละครั้งจะใช้เวลาในการกระตุ้น - เป็น 2 เท่าของเวลาที่ไม่มีพบ EMG activity ที่ผิดปกติ

ขั้นที่ 5 10-12 ชั่วโมง หลังจากการกระตุ้นครั้งสุดท้ายจะบันทึกสัญญาณ กล้ามเนื้อในขณะที่พักว่าแตกต่างจากก่อนกระตุ้นอย่างต่อเนื่องหรือไม่

ขั้นที่ 6 เข้าสู่ตอนที่ 5 ตอนที่ 1

การวิเคราะห์ผล

1. จากแบบบันทึกสัญญาณไฟฟ้า (EMG activity pattern) ที่บันทึก ได้จากเครื่อง EMG จะนำมาเปรียบเทียบกันเพื่อบันทึกเปรียบเทียบการตอบสนองต่อการ - กระตุ้นระหว่างข้างควบคุม (control side ; ซ้าย) และช่วงที่ทำการทดลอง (Experimental side) ระหว่างการใช้ไฟความถี่ , ช่วงกระตุ้น และความแรงต่าง ๆ กันและระหว่างตำแหน่งต่าง ๆ
2. คำนวณหา Latency period (after effect period) คือระยะเวลาตั้งแต่เริ่มกระตุ้นจน กระทั่งไปพบ EMG activity ที่ผิดปกติ และนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น ๆ โดยใช้ สถิติ unpair-t-test และเปรียบเทียบในกลุ่มเดียวกันโดยใช้ psir-t-test

วิธีการทดลอง

การทดลองทำในกระแดทั้งเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งมีน้ำหนักตัวอยู่ระหว่าง 120-160 กรัม โดยมีขั้นตอนในการดำเนินการดังต่อไปนี้

1. วัดคลื่นกระแสไฟฟ้าที่เกิดจากการทำงานของกล้ามเนื้อ (กล้ามเนื้อ Triceps surae หรือ Gastrosoleus) ในสัตว์ทดลองที่ไม่ได้วางยาสลบโดยใช้เครื่อง Electromyograph - (Nihon Kohden)
2. ฉีดยา Pentobarbital sodium (dose 25 มก./น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) และตรึงศีรษะให้อยู่กับที่ด้วยเครื่องตรึงศีรษะ จากนั้นฉีดสาร 6-hydroxy dopamine (ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัม ใน 2 ไมโครลิตร) ที่ละลายในสารละลาย Ascorbate-saline (ความเข้มข้น 0.1 มก./มิลลิลิตร) ด้วยเข็มฉีดยาชนิดพิเศษ (Hamilton Syringe) ในปริมาณ 2 ไมโครลิตร เพื่อทำลายบริเวณของสมองที่มีชื่อว่า Substantia nigra เพียงข้างเดียว (อาจจะเป็นหรือข้างขวาซ้ายก็ได้)
3. เลือกนำสัตว์ทดลองที่มีความผิดปกติในการทรงตัวและมีการหมุนตัวเองไปรอบ ๆ โดยหมุนไปข้างที่ส่วนของสมองถูกทำลาย มาวัดกระแสไฟฟ้าที่เกิดจากการทำงานของกล้ามเนื้อดังกล่าวข้างต้นทั้งสองขาหลังจากที่ทำลายส่วนของสมองไปแล้วประมาณ 24-36 ชั่วโมง
4. นำสัตว์ทดลองในข้อ 3 มาทำให้สลบอีกครั้งด้วยยาสลบ Pentobarbital sodium และนำศีรษะไปตรึงให้อยู่กับที่ด้วยเครื่องตรึงศีรษะ จากนั้นเจาะกะโหลกศีรษะบริเวณสมองน้อย (Cerebellum) บริเวณต่าง ๆ (รูปที่ 1) ให้เป็นรูเล็กเพื่อจะใส่ Tungsten electrode ที่มีปลายแหลมและเล็ก (ขนาดของปลาย = 10-20 ไมโครมิเตอร์) ผ่านกระแสไฟฟ้าตรงเข้าไปกระตุ้นบริเวณผิวของสมองดังกล่าว ด้วยความแรงที่ระดับ 0.05 , 0.1 , 0.15 และ 0.2 มิลลิแอมแปร์ ในระดับความถี่ (Frequency 1 , 5 , 10 , 50 , 100 และ 200 เฮิรท์ (Hz) โดยระยะเวลาของการกระตุ้นนาน 0.05 , 0.1 และ 0.2 มิลลิวินาที (millisecond)
5. วัดกระแสไฟที่เกิดจากการทำงานของกล้ามเนื้อ Triceps surae ก่อนที่สมองน้อยถูกกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าตรง ในขณะที่ถูกกระตุ้นและหลังจากที่ถูกกระตุ้น จากนั้นนำเอาผลมาเปรียบเทียบกัน

6. นำเอาสมองสัตว์ทดลองที่ผ่านการกระตุ้นสมองน้อยด้วยไฟฟ้าทุกตัวมาผ่านขบวนการตัดและย้อมเนื้อเยื่อสมองเพื่อตรวจให้ชัดเจนอีกครั้งว่า สมองส่วน Substantia nigra ถูกทำลายจริง ๆ



ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าในสภาวะปกติคลื่นไฟฟ้าที่บันทึกได้จากกล้ามเนื้อขณะที่พักจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณไฟฟ้าที่บันทึกได้ในสัปดาห์ทดลอง (รูปที่ 2a , 3a ในสัปดาห์ทดลอง ที่สมองส่วน substantia nigra ถูกทำลายไปข้างหนึ่ง จะมีการเกร็งของกล้ามเนื้อขาข้างเดียวกับสมองส่วนที่ถูกทำลาย เมื่อเปรียบเทียบกับกล้ามเนื้อขาข้างตรงข้ามคลื่นไฟฟ้าที่บันทึกได้จะอยู่ในสภาวะปกติ ส่วนคลื่นไฟฟ้าที่เกิดจากการทำงานของกล้ามเนื้อขาข้างเดียวกับสมองที่ถูกทำลายจะมีค่าเปลี่ยนแปลงสูงขึ้น (รูปที่ 2b , 3b)

ผลจากการทำงานของกล้ามเนื้อ Triceps surae หลังจากทำให้เกิดอาการที่ Substantia nigra แล้วกระตุ้นผิวของสมองส่วนต่าง ๆ โดยใช้ความแตกต่างของความแรงของกระแสไฟฟ้าพบว่า กลุ่มควบคุมก่อนทำการกระตุ้น คลื่นไฟฟ้าที่เกิดขึ้นขณะที่กล้ามเนื้อพักแสดงความผิดปกติของหน่วยประสาทยนต์ต่อเนื่อง (continuous motor unit) (รูปที่ 4a) ดังกล่าว ผลของการกระตุ้นทำให้เกิดความแตกต่างของคลื่นกระแสไฟฟ้าของกล้ามเนื้อในระดับความถี่ 100 เฮิรท์ ในระยะเวลา 0.2 มิลลิวินาที และเมื่อมีการกระตุ้นที่ตำแหน่ง C2 (รูปที่ 4D) ใช้เวลา 0.2 มิลลิวินาที ความถี่ 100 เฮิรท์ 0.2 มิลลิแอมแปร์ การกระตุ้นในระดับดังกล่าวจะช่วยลดความผิดปกติของคลื่นไฟฟ้าที่เกิดขึ้น แต่ถ้ากระตุ้นด้วยระดับความแรงที่ 0.05 ถึง 0.15 มิลลิแอมแปร์จะไม่มีอาการตอบสนอง (รูปที่ 4a , b , c) ค่าเฉลี่ยของ threshold ของการตอบสนองของบริเวณ C2 คือ 0.18 ± 0.05 มิลลิแอมแปร์

หลังจากทำการกระตุ้นพบว่าคลื่นไฟฟ้าของกล้ามเนื้อที่เกิดขึ้นอย่างผิดปกติจะไม่ถูกยับยั้งโดยทันที จะมีระยะ latent period โดยที่บริเวณ C2 ค่า latent period ประมาณ 25.8 ± 3.47 วินาที ช่วงเวลาจากการหยุดกระตุ้นไปจนถึงความผิดปกติของคลื่นไฟฟ้าหายไปเรียก After effect period ของ C2 กินเวลาเฉลี่ยประมาณ 25.6 ± 3.96 วินาที

ผลจากการกระตุ้นสมองน้อย cerebellum ในระดับความถี่แตกต่างกัน 6 ระดับ (1 , 5 , 10 , 50 , 100 , 200 เฮิรท์) โดยใช้เวลาคงที่คือ 0.02 , 0.05 , 0.1 , 0.2 มิลลิวินาที การยับยั้งของหน่วยประสาทยนต์ต่อเนื่องเกิดขึ้นที่การกระตุ้นในระยะเวลา 0.2 มิลลิวินาทีในระดับความถี่ 50 เฮิรท์ , 100 เฮิรท์ (รูปที่ 5) เมื่อใช้กระแสไฟฟ้าที่ความถี่ 50 เฮิรท์ ถูกใช้ในการยับยั้งความผิดปกติของหน่วยประสาทยนต์ต่อเนื่อง ได้ผลมากกว่าการใช้ความถี่ที่ 100 เฮิรท์ ขณะที่ใช้ระยะเวลาในการกระตุ้น 0.2 มิลลิวินาทีเท่ากัน (รูปที่ 5 แถวที่ 4)

ผลจากการวัดคลื่นไฟฟ้าของกล้ามเนื้อขณะที่มีการกระตุ้นสมองน้อย (cerebellum) โดยใช้ความแตกต่างในระดับความเข้มของกระแสไฟฟ้าใช้เป็นตัวบ่งชี้ threshold ของแต่ละบริเวณที่ถูกสร้างโดยการยับยั้งค่าคลื่นไฟฟ้าของกล้ามเนื้อ การยับยั้งต่อหน่วยประสาทยนต์ต่อเนื่องต่อคลื่นไฟฟ้าปกติของ กล้ามเนื้อแสดงให้เห็นเมื่อใช้ความเข้มของกระแสไฟฟ้าต่อการกระตุ้นที่สมองน้อย (Cerebellum) ไปจนถึงระดับ threshold (รูปที่ 6) การกระตุ้นดังกล่าวทำขึ้นที่ตำแหน่ง Vermis (C_1 , C_2 , C_3) และ intermediate part ของ anterior lobe ของสมองน้อย ด้านซ้าย (L_1 , L_2 , L_3) และด้านขวา (R_1 , R_2 , R_3) โดยใช้ความถี่ 100 Hz เวลา 0.2 มิลลิวินาที ค่า threshold ของแต่ละบริเวณเปรียบเทียบกับ threshold จากผลของการต่อต้านการกระตุ้นที่บริเวณเดียวกัน

การทำ Ipsilateral stimulation พบว่าความเข้มของกระแสไฟฟ้าที่ใช้น้อยกว่า Contralateral และ Central stimulation ของ intermediate part ของ anterior lobe จะไวต่อการกระตุ้นมากกว่าการกระตุ้นที่ Vermis (รูปที่ 7 , ตารางที่ 1)

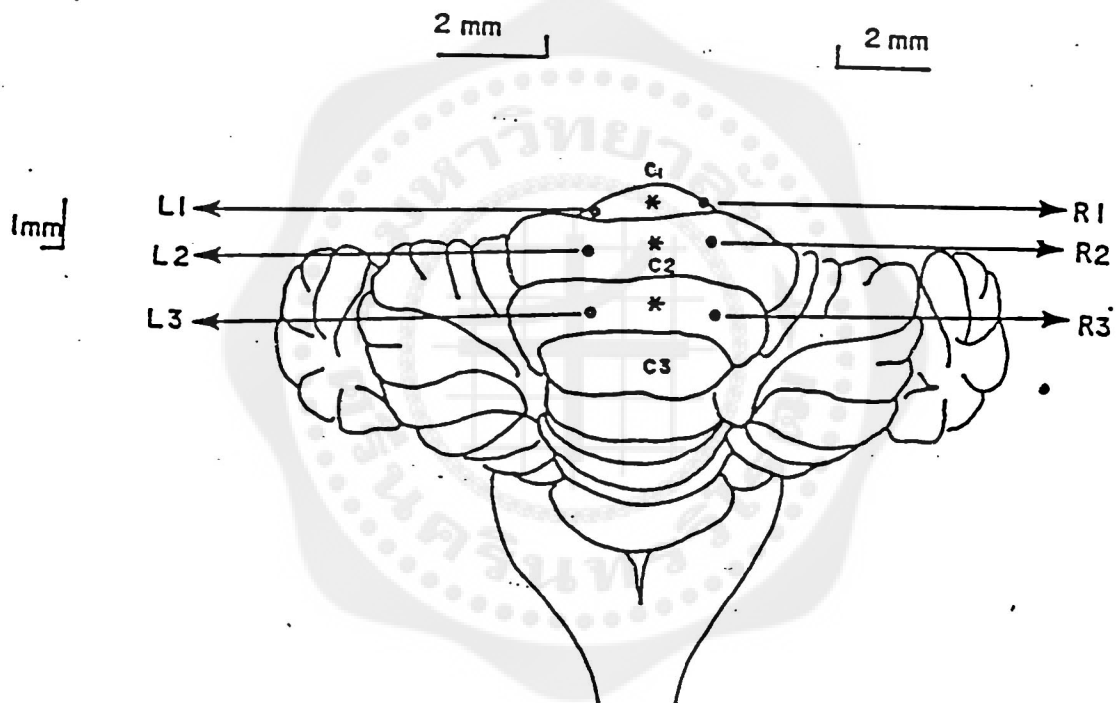
ดังนั้นค่า Threshold ของการยับยั้งความผิดปกติของคลื่นไฟฟ้าบริเวณ Vermis (C_1) จะสูงกว่าทั้ง intermediate part (L_1 และ R_1) และที่ lobule I , lobule II ($C_1 > L_2$, R_2)

การกระตุ้นที่เหมาะสมและตำแหน่งของการกระตุ้นบนสมองน้อย (cerebellum) ทำให้เกิดการยับยั้งการเกิดความผิดปกติของคลื่นกระแสไฟฟ้าของกล้ามเนื้อของ triceps sural เมื่อทำให้เกิดอาการที่ substantia nigra

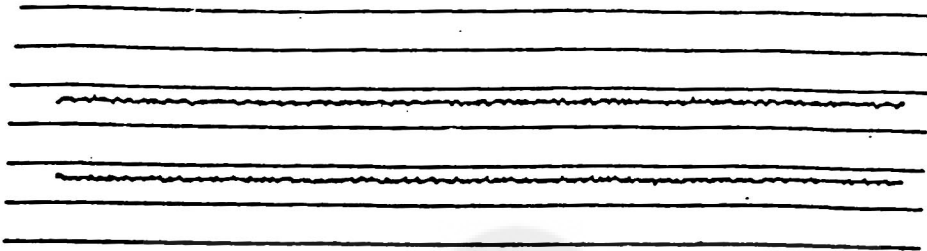
latency period ที่พบในขณะที่ทำการกระตุ้นโดยระยะเวลาไม่มีผลต่อการกระตุ้นที่ (cerebellum) หลังจากเริ่มเปิดปิดเครื่องไปจนเวลาที่ความผิดปกติของคลื่นไฟฟ้าของกล้ามเนื้อที่ถูกกระตุ้นนั้นหายไป (ตารางที่ 2) latency period ของ anterior cerebellar cortex อยู่ระหว่าง 18.7 ± 1.05 ถึง 28.1 ± 3.34 วินาที (ตารางที่ 2)

หลังจาก effect period ทำการวัดทันทีหลังจากหยุดการกระตุ้นคลื่นไฟฟ้าจะกลับเข้าสู่ช่วงเวลาก่อนที่มีการกระตุ้นผลของการกระตุ้นต่อ anterior cerebellar cortex จะคงอยู่เป็นวินาทีจนถึงนาที (ตารางที่ 3)

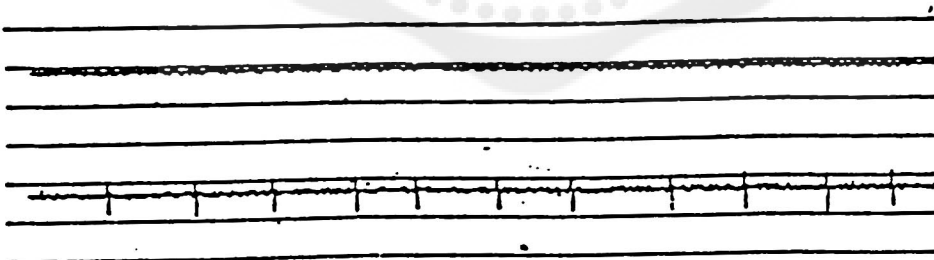
การศึกษาบริเวณที่ทำให้เกิดอาการและบริเวณที่ถูกกระตุ้นบนสมองแสดงในรูปที่ 8 , 9



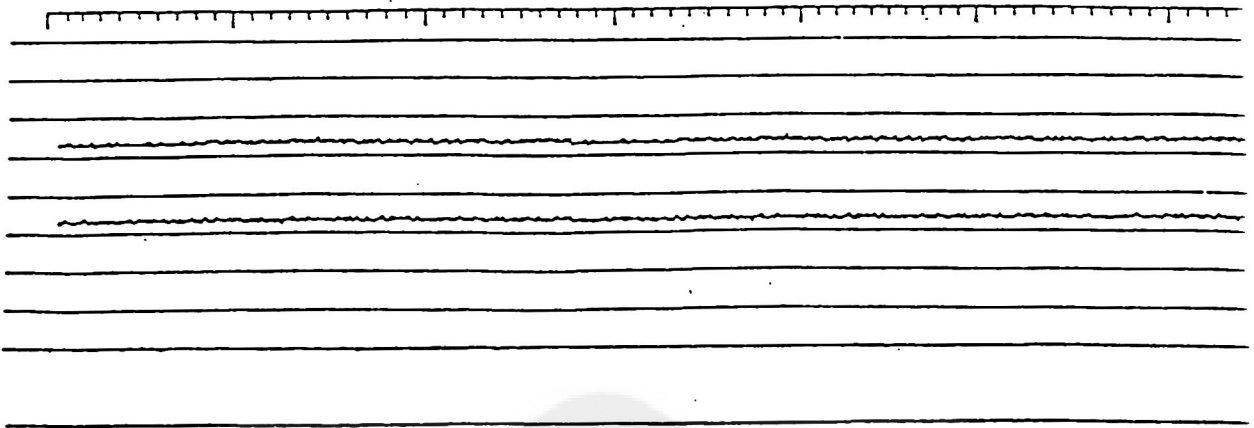
รูปที่ 1 ผิวด้านบนของสมองน้อย (Cerebellum) ของกระแตแสดงตำแหน่งต่าง ๆ ของ Vermis ที่ถูกกระตุ้น (C_1 , C_2 , C_3) และ anterior lobe ด้านซ้าย (L_1 , L_2 , L_3) และด้านขวา (R_1 , R_2 , R_3)



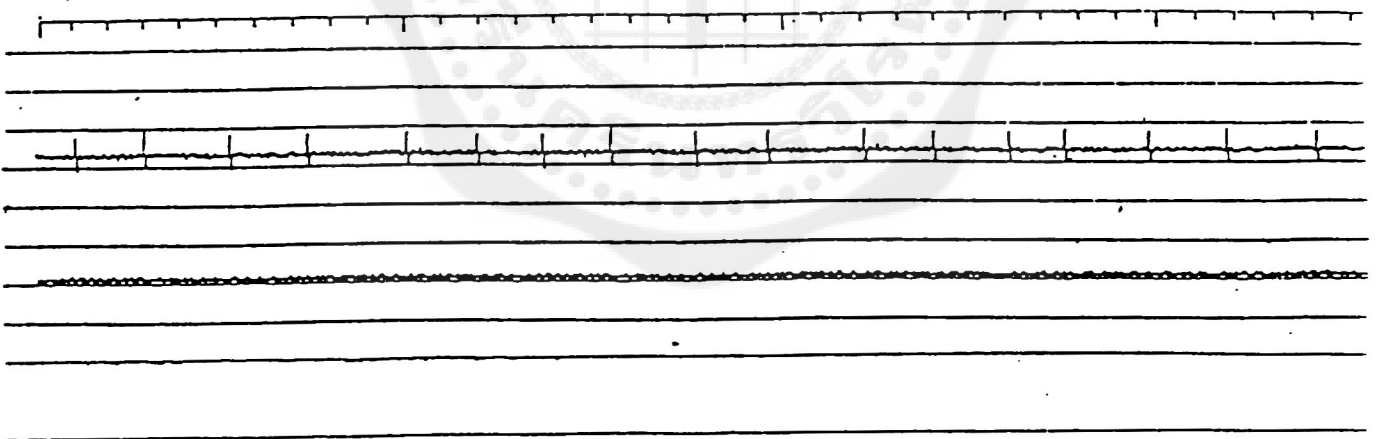
รูปที่ 2a แสดงคลื่นไฟฟ้าของกล้ามเนื้อขณะที่กล้ามเนื้อ triceps surae ยังไม่ถูกกระตุ้นขาขวา (กราฟบน) และ ขาซ้าย (กราฟล่าง) ก่อนทำให้เกิด
อาการที่ Substantia nigra



รูปที่ 2b แสดงคลื่นไฟฟ้า ของกล้ามเนื้อขณะที่ทำให้เกิดอาการที่ Substantia nigra ของสมอง ด้านซ้ายแสดง motor units จาก triceps surae ของขาซ้าย (กราฟล่าง) แต่ไม่พบความเปลี่ยนแปลงของคลื่นไฟฟ้าจากขาขวา

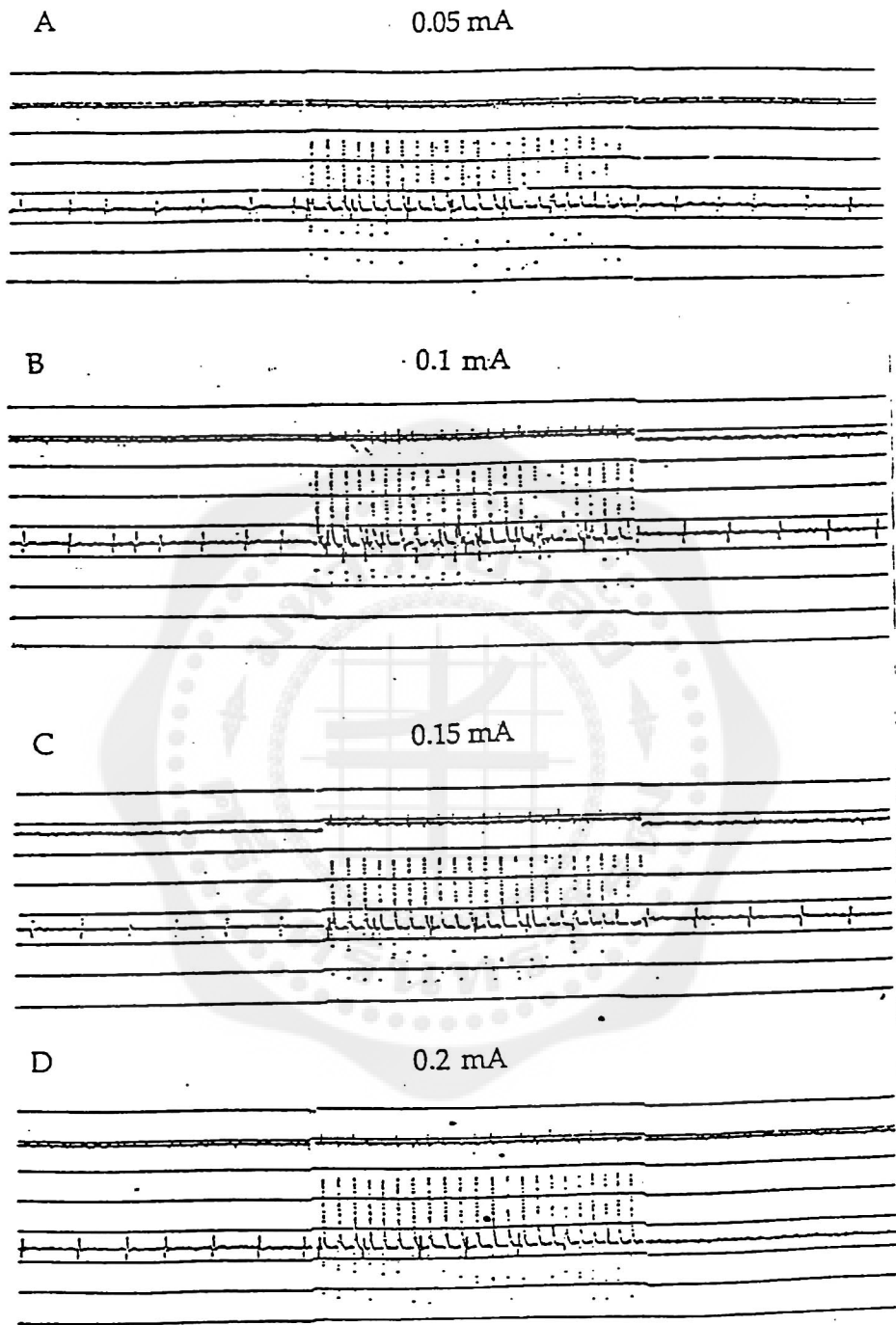


รูปที่ 3a แสดงคลื่นไฟฟ้าของกล้ามเนื้อขณะที่กล้ามเนื้อ Triceps sural ยังไม่ถูกกระตุ้นของชาวก่อนที่จะทำให้เกิดอาการที่ Substantia nigra ข้างขวา

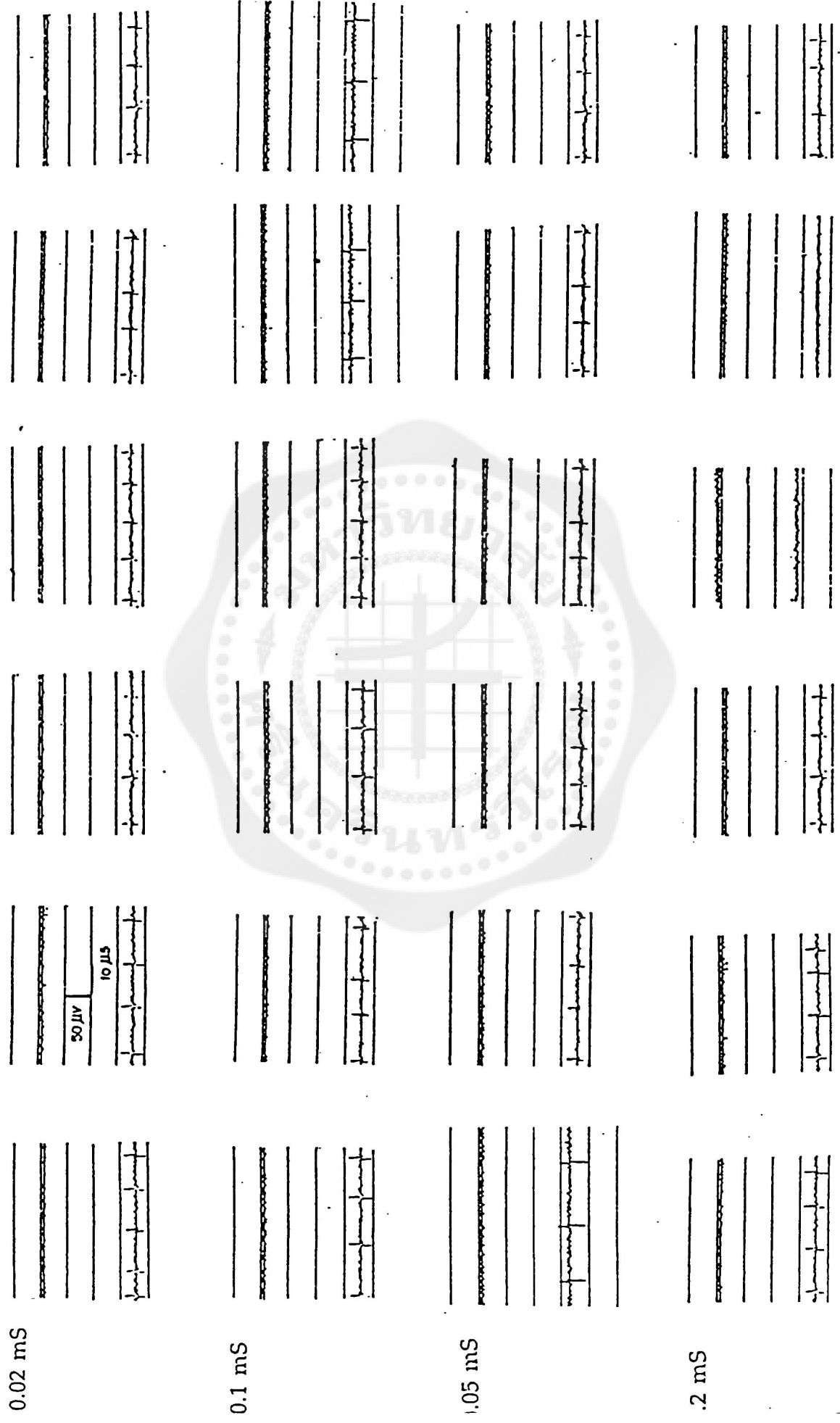


รูปที่ 3b แสดงคลื่นไฟฟ้าของกล้ามเนื้อขณะที่กล้ามเนื้อ triceps sural ชา
แสดงการเกิดการเปลี่ยนแปลงของหน่วยประสาทยนต์ (กราฟบน)
หลังจากทำให้เกิดอาการที่ SN ซ้าย

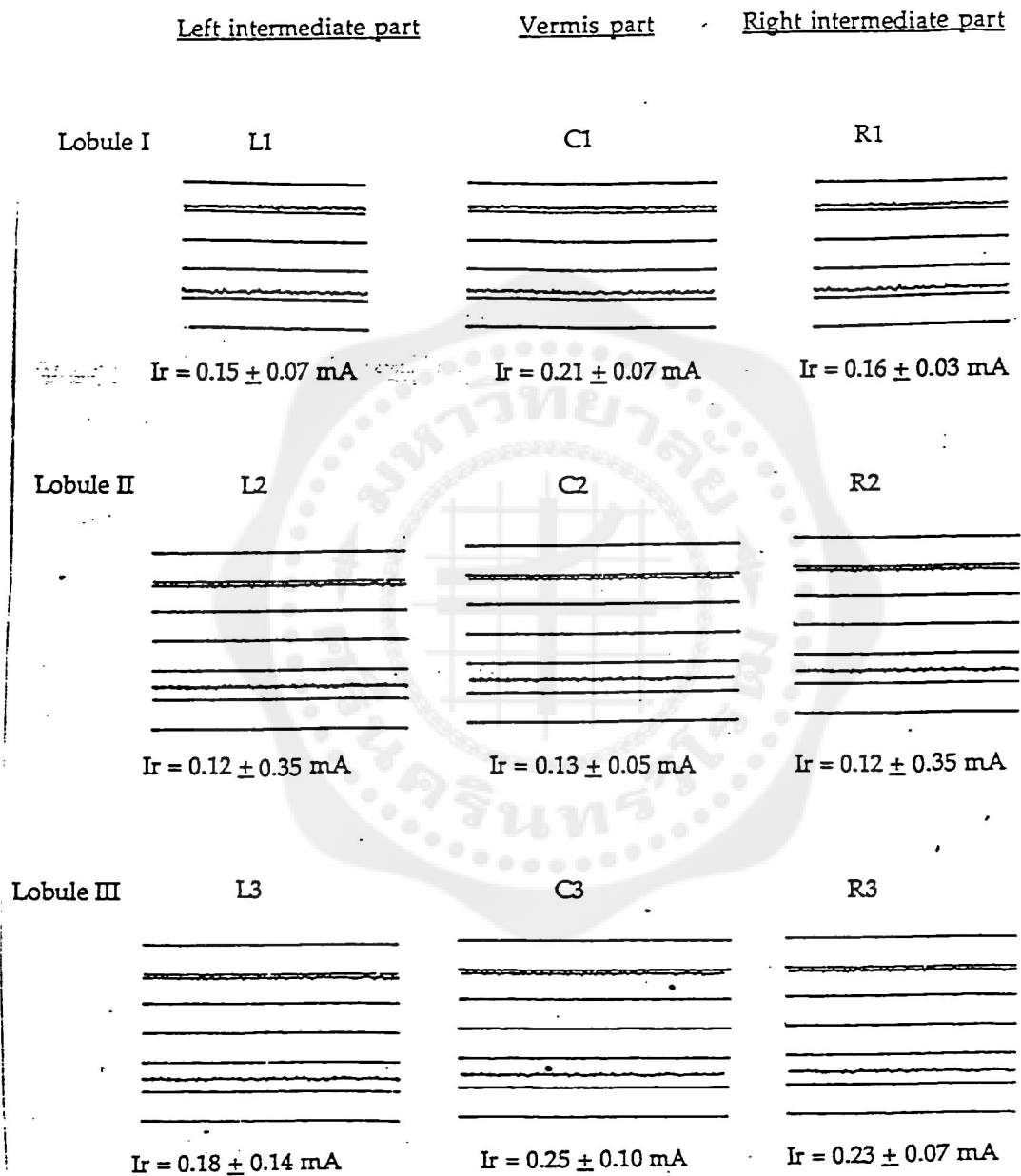
Pre-stimulation control Cerebellar stimulation Post-stimulation period



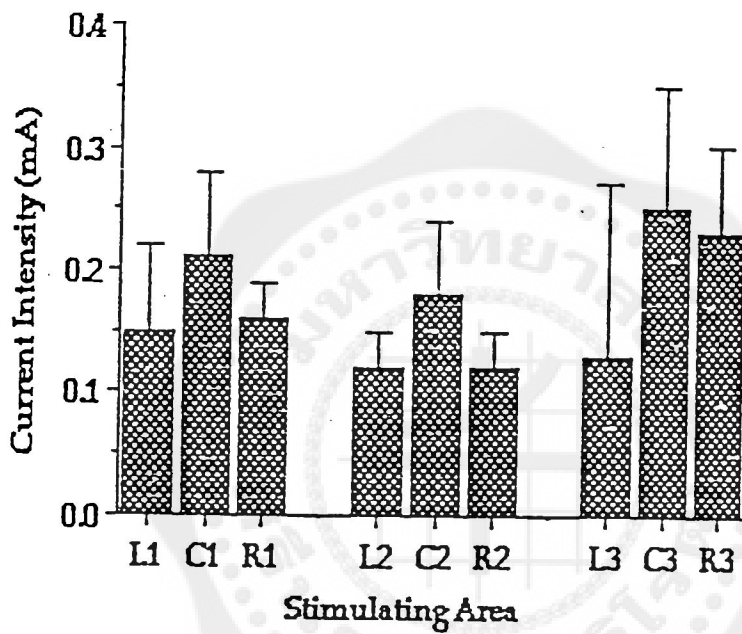
รูปที่ 4 แสดงคลื่นไฟฟ้าของกล้ามเนื้อ Triceps surae เมื่อทำให้เกิดการขึ้นที่ Substantia nigra แสดงการเปลี่ยนแปลงของคลื่นไฟฟ้าของกล้ามเนื้อ เมื่อมีการกระตุ้นที่บริเวณ C2 โดยใช้กระแสไฟฟ้าที่ความถี่ 100 เฮิรตซ์ ระยะเวลา 0.2 มิลิวินาที



- รูปที่ 5** แสดงผลของการกระตุ้นสมองในระดับความถี่ที่แตกต่างกัน 6 ระดับ ใช้ระยะเวลาที่ต่างกันที่บริเวณ C2 เมื่อทำให้เกิดอาการที่ Substantia nigra บันทึกออกมาในรูปคลื่นไฟฟ้าของกล้ามเนื้อ triceps surae
- แถวแรก แสดงผลของการกระตุ้นโดยใช้ระยะเวลาที่คงที่คือ 0.02 มิลลิวินาที ใช้กระแสไฟฟ้าคงที่ 0.25 มิลลิแอมแปร์ ถึง 0.4 มิลลิแอมแปร์ ในระดับความถี่ที่แปรผันจาก 1 เฮิรตซ์ไปถึง 200 เฮิรตซ์
- แถวที่ 2 แสดงผลของการกระตุ้นโดยใช้ระยะเวลาที่คงที่คือ 0.12 มิลลิวินาที และ 0.2 มิลลิวินาที กระแสไฟฟ้า 0.05 มิลลิแอมแปร์ โดยใช้ความถี่ที่แปรผัน
- แถวที่ 3,4 แสดงผลของการกระตุ้นโดยใช้ระยะเวลาที่คงที่คือ 0.01 ถึง 0.1 มิลลิวินาที

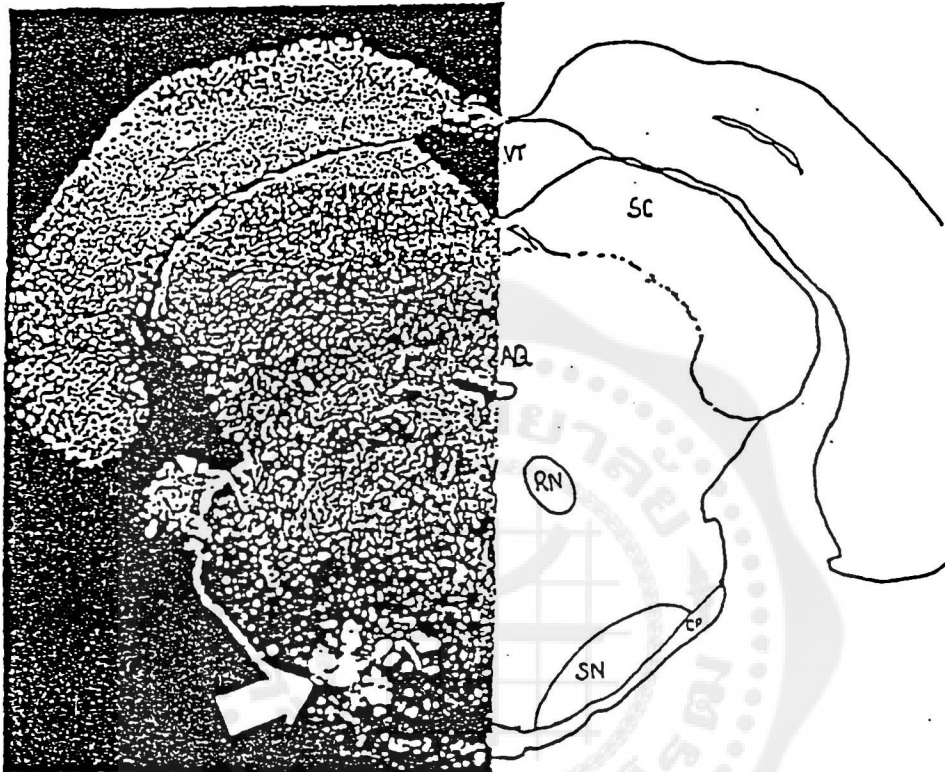


รูปที่ 6 คลื่นไฟฟ้าของกล้ามเนื้อแสดงผลของการกระตุ้นสมอง 9 บริเวณ โดยใช้
ความถี่ 100 เฮิรท์ ระยะเวลา 0.2 มิลลิวินาทีโดยแปรผันความเข้ม
ของกระแสไฟฟ้า



รูปที่ 7 แสดงระดับความเข้มของการกระตุ้นต่อ Vermis (C_1 , C_2 , C_3) และ Intermediate part ของ anterior cerebellar cortex ด้านซ้าย (L_1 , L_2 , L_3) และด้านขวา (R_1 , R_2 , R_3) เมื่อไปยับยั้งการเกิดหน่วยประสาทยนต์เคลื่อนที่

Lt



รูปที่ 8 แสดงบริเวณของสมองที่เข้มแดง (ลูกศรสีขาว) เข้าไปเพื่อทำให้เกิดอาการที่

Substantia nigra

AQ = Aqueduct

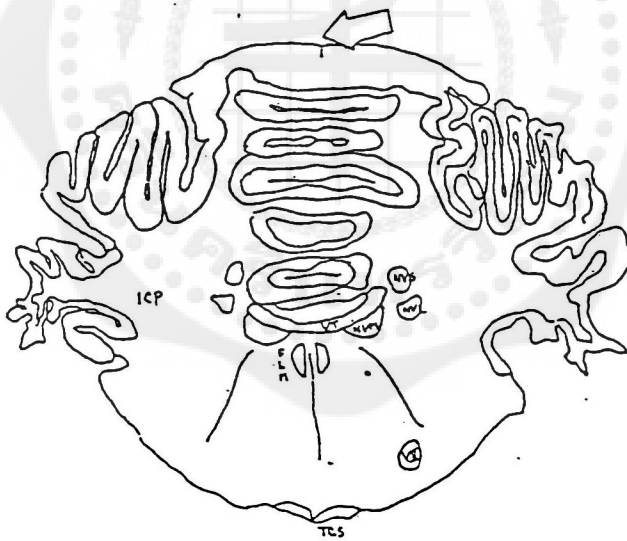
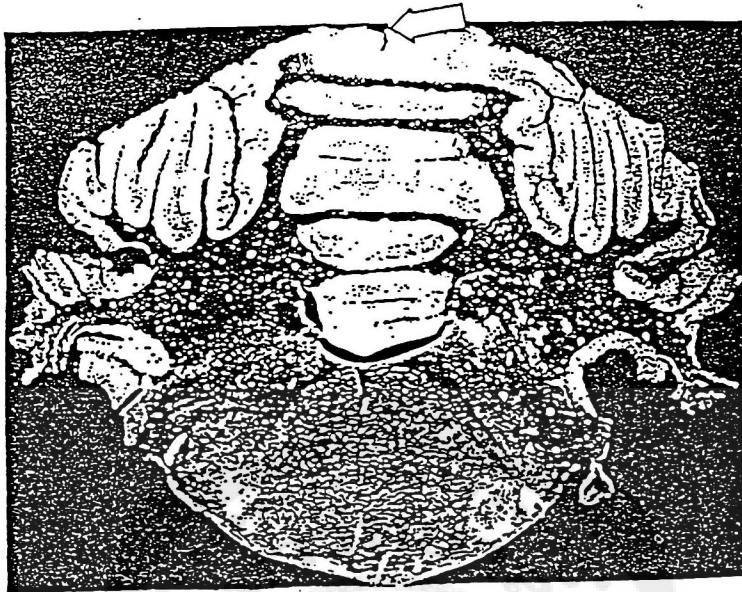
Cp = Cerebral peduncle

RN = Red nucleus

Sc = Superior colliculus

SN = Substantia nigra

VT = vertricle



รูปที่ 9 แสดงบริเวณที่ทำการกระตุ้นสมองในส่วนของ cerebellar cortex
บริเวณ C₂ (ลูกศรขาว) FLM = Medial longitudinal fasciculus ,
ICP = Inferior cerebellar peduncle, NUM = medial vestibular nucleus ,
NVL = lateral vestibular nucleus , NVS = Superior vestibular Nucleus
TCS = Corticospinal tract, VII = Facial nerve

Average Threshold (sec)	Lobule I			Lobule II			Lobule III		
	L ₁	C ₁	R ₁	L ₂	C ₂	R ₂	L ₃	C ₃	R ₃
Mean ± SEM	0.15 ± 0.07	0.21 ± 0.07	0.16 ± 0.03	0.12 ± 0.35	0.18 ± 0.05	0.12 ± 0.35	0.13 ± 0.14	0.25 ± 0.1	0.23 ± 0.076

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย Threshold ของแต่ละบริเวณของ Anterior cerebellar cortex

Latency period (sec)	Lobule I			Lobule II			Lobule III		
	L ₁	C ₁	R ₁	L ₂	C ₂	R ₂	L ₃	C ₃	R ₃
Mean ± SEM	18.79 ± 1.05	20.8 ± 4.73	18.7 ± 2.48	19.33 ± 1.1	25.8 ± 3.47	21.18 ± 2.21	19.18 ± 1.69	28.1 ± 3.34	23.16 ± 2.87

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ย Latency period ของการกระตุ้นที่สมองส่วนต่าง ๆ

After effect period (sec)	Lobule I			Lobule II			Lobule III		
	L ₁	C ₁	R ₁	L ₂	C ₂	R ₂	L ₃	C ₃	R ₃
Mean ± SEM	79.8 ± 4.32	54.5 ± 7.02	61.6 ± 4.24	21.0 ± 0.72	25.6 ± 3.96	23.2 ± 7.56	62.0 ± 8.42	71.5 ± 2.26	44.3 ± 4.26

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของ effect period ในสมองส่วนต่าง ๆ

สรุปและวิจารณ์ผล

การศึกษาในครั้งนี้พบว่า 6-hydroxy dopamine จะทำลาย เซลล์ประสาทในสมองส่วน substantia nigra จะทำให้เกิดการเกร็งของกล้ามเนื้อขาข้างเดียวกับส่วนสมองที่ถูกทำลาย (Sotelo et al., 1973., Robinson and Becker, 1983, Ziegler and Szechman, 1990) และหนูจะมีการทรงตัวที่ผิดปกติด้วย ผลการทดลองนี้จะเหมือนกับการทดลองในหนู (Ungerstedt and Arbuthnott, 1970 Ungerstedt et al 1973 ; Siegfried and Bures, 1979) ในลิง (Sambrooke., 1979) และในคนที่เป็นโรคพาร์กินสันเพียงข้างเดียว (Wilson, 1925) ซึ่งผู้ทำการทดลองอธิบายว่าการที่เซลล์ประสาทในสมองส่วน substantia nigra ถูกทำลายจะทำให้การยับยั้ง activity ของเซลล์ประสาทใน caudate nucleus หายไป ทำให้เกิดการกระตุ้นเซลล์ประสาทใน caudate Nucleus หายไป จึงทำให้แรงกระตุ้นที่มีต่อ α - motor neuron และ γ - motor neuron ถูกกระตุ้นมากขึ้น จึงทำให้กล้ามเนื้อมีอาการเกร็ง (Thomas, 1961, Schultz, 1984)

ผลการทดลองในครั้งนี้พบว่าการกระตุ้นส่วนของสมองเล็ก (cerebellum) จะทำให้เกิดอาการเกร็งของกล้ามเนื้อขาข้างเดียวกับสมองส่วนที่ถูกทำลาย ถ้าใช้กระแสไฟที่มีความถี่ 50 หรือ 100 เฮิรท์ กระตุ้นเป็นระยะเวลา 0.2 มิลลิวินาที ใช้ความแรงของกระแสไฟฟ้าเท่ากันพบว่าการกระตุ้นที่ความถี่ 100 เฮิรท์ จะยับยั้งการเกร็งของกล้ามเนื้อได้มากกว่าเมื่อใช้ความถี่ 50 เฮิรท์ และพบว่าการกระตุ้นทุกจุดของบนผิวของ cerebellum จะให้ผลในการยับยั้งการเกร็งของกล้ามเนื้อได้เช่นเดียวกัน ถ้าใช้ความแรงของกระแสไฟฟ้ามากกว่า 0.12 มิลลิแอมแปร์ ขึ้นไป แต่ไม่เกิน 1 มิลลิแอมแปร์ ผลการทดลองในลิงและคนพบว่าต้องใช้ความแรงของกระแสไฟฟ้าประมาณ 1.5 มิลลิแอมแปร์ (Cooper et al., 1976) จึงได้ผลดี

Threshold ของการกระตุ้น cerebellum ที่ Vermis จะสูงกว่าบริเวณของ Intermediate Part ของ Anterior lobe

ผลของการยับยั้งการเกร็งของกล้ามเนื้อขาจะเกิดขึ้นในขณะที่กระตุ้นและหลังจากกระตุ้น เวลาที่ใช้กระตุ้นประมาณ 40 วินาที และเวลาหลังจากการกระตุ้น 20.8 วินาที คำนีใกล้เคียงกับผลการทดลองใน Spastic patient (Cooper et al., 1977)

เอกสารอ้างอิง

1. Sotelo, C., Javoy , F., Agid , Y. and Glowinski , J. Injection of 6- hydroxydopamine in the substantia nigra of the rat. Brain Res. 58 (1973) : 269-290
2. Robinson, T.E. and Becker, J.B. The rotational behavior model; asymmetry in the effects of unilateral 6-OHDA lesions of the substantia nigra in rat Brain Res. 264(1983) : 127-131
3. Ziegler, M.G.M and Szechtman, H. Relation between motor asymmetry and direction of rotational behavior under amphetamine and apomorphine in rat with unilateral degeneration of the nigrostriatal dopamine system Behavioral Brain Res. 39 (1990) : 123-133
4. Thomas, J.E. Muscle tone, spasticity , rigidity. J. of Nerve and Movement Dis. 132 (1961) : 505-514.
5. Schultz , W. Recent physiological and pathophysiological aspects of Parkinsonian movement disorders. Life Sci. 34 (1984) : 2213-2223.
6. Cooper, I.S., Riklan M., Amin, I., Waltz, J and and Cullinan, T. Chronic cerebellar stimulation in cerebral palsy. Neurology. 26 (1976) : 744-753
7. Cooper, I.S., Amin, I., Upton, A. Rikl, M., Watkins, S. and Mclellan , L. Safety and efficacy of chronic stimulation. Neurosurgery., (1977) : 203-204
8. Wilson, SAK. Disorders of motility and muscle tone, with special reference to the striatum. Lancet. 2(1925) : 1-53
9. Sambrook, M., Crossman, A. and Slater, P. Experimental torticollis in the marmoset produced by injection of 6-hydroxydopamine into the ascending nigro - striatal pathway Experimental of Neu. 63(1979) : 583-593