

ความแม่นยำของวิธีการสุ่มตัวอย่างแบบสามกรอบสี่เหลี่ยม สำหรับการวัดเชิงโครงสร้าง  
ของเส้นใยประสาทที่มีปลอกหุ้มในเส้นประสาทซิวรัลของมนุษย์

นางพินิดดา ชะอุ่มผล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-17-5569-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ACCURACY OF 3-WINDOW SAMPLING METHOD FOR MYELINATED FOR  
MYELINATED NERVE FIBER MORPHOMETRY IN HUMAN SURAL NERVE

Mrs Phinidda Cha-oumphol

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Medical Science

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2005

ISBN 974-17-5569-4

481613

หัวข้อวิทยานิพนธ์      ความแม่นยำของวิธีการสุ่มตัวอย่างแบบสามกรอบสี่เหลี่ยม  
สำหรับการวัดเชิงโครงสร้างของเส้นใยประสาทที่มีปลอกหุ้มใน  
เส้นประสาทขูร์ลของมนุษย์

โดย                                  นางพินิตดา ชะอุ่มผล

สาขาวิชา                          วิทยาศาสตร์การแพทย์

อาจารย์ที่ปรึกษา                  รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงวิไล ชินธเนศ

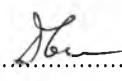
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม              ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์สิทธิพร แอกทอง

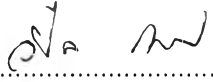
---

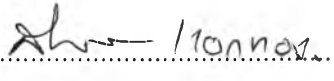
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน  
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

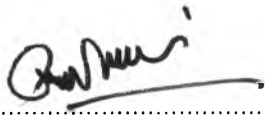
..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์  
( ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ภิรมย์ กมลรัตน์กุล )

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
( ศาสตราจารย์นายแพทย์มีชัย ศรีไธ )

..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
( รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงวิไล ชินธเนศ )

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
( ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์สิทธิพร แอกทอง )

..... กรรมการ  
( รองศาสตราจารย์นายแพทย์อดิสร ภัทราดุลย์ )

พินิตดา ชะอุ่มผล : ความแม่นยำของวิธีการสุ่มตัวอย่างแบบสามกรอบสี่เหลี่ยมสำหรับการวัดเชิงโครงสร้างของเส้นใยประสาทที่มีปลอกหุ้มในเส้นประสาทชิวรีลของมนุษย์  
(ACCURACY OF 3-WINDOW SAMPLING METHOD FOR MYELINATED FOR MYELINATED NERVE FIBER MORPHOMETRY IN HUMAN SURAL NERVE)

อ.ที่ปรึกษา : รศ.พญ.วิไล ชินธเนศ , อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.นพ.สิทธิพร แอกทอง : 61  
หน้า.ISBN 974-17-5569-4

การวัดเชิงโครงสร้างของเส้นประสาทชิวรีลจากการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อหาค่าปกติสำหรับใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการวัดเชิงโครงสร้างของเส้นประสาทชิวรีลในคนไทย โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการนับจำนวนเส้นใยประสาททั้งหมด และค่าที่ได้จากวิธีการสุ่มตัวอย่างแบบสามกรอบสี่เหลี่ยม ว่ามีความแม่นยำเพียงพอที่จะนำมาใช้วัดเพื่อลดระยะเวลาในการนับและเพิ่มความรวดเร็วในการช่วยวินิจฉัยและประเมินความรุนแรงของโรคที่มีอาการทางระบบประสาทส่วนปลาย

เมื่อทำการวัดเชิงโครงสร้างของเส้นประสาทชิวรีลทั้งเส้น (Total count) โดยใช้พารามิเตอร์ดังนี้คือ จำนวนmyelinated fiber ทั้งหมดในเส้นประสาทเฉลี่ยคือมี  $5672.8 \pm 1753.7$  เส้น และความหนาแน่นของ myelinated fiber เฉลี่ยเป็น  $6714.2 \pm 1560.7$  ต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางกลางของ myelinated fiber จะมีการกระจายเป็น 2 ฐานนิยม (bimodal) คือฐานนิยมต่ำกว่ามีค่า 3-4 ไมโครเมตรและฐานนิยมสูงกว่ามีค่า 8-9 ไมโครเมตร ค่าของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางกลางของค่าเฉลี่ยของ axon จะแปรผันตามไปกับ myelinated fibers พบว่ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $3.21 \pm 0.48$  ไมโครเมตร ส่วนค่า g-ratio จะมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.48 \pm 0.06$

และเมื่อนำวิธี สุ่มตัวอย่างแบบสามกรอบสี่เหลี่ยม มาทำการนับและนำข้อมูลมาหาค่าความสอดคล้อง Single Measure Intraclass Correlation ได้ดังต่อไปนี้คือ MF เท่ากับ 0.8669 ,DMF เท่ากับ 0.7400 ,Ds เท่ากับ 0.7862 , Da เท่ากับ 0.7762 ,ความหนาของ myelin เท่ากับ 0.8800 และ g-ratio เท่ากับ 0.8671 ซึ่งโดยสรุปพบว่าวิธีสุ่มตัวอย่างแบบสามกรอบสี่เหลี่ยมมีความแม่นยำเพียงพอที่จะใช้แทนการนับทั้งหมด ซึ่งมีพารามิเตอร์ดังต่อไปนี้คือ MF ,DMF ,Ds , Da , g-ratio โดยมีค่าความสัมพันธ์ Single Measure Intraclass Correlation ที่เข้าใกล้ 1 มากคืออยู่ในช่วง 0.7400-0.8800

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การแพทย์

ปีการศึกษา 2548

ลายมือชื่อนิตดา ..... หางพ้าอิตก ชะอุ่มผล .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..... ๐๖๐ น .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ..... สหุ / ๑๓๓๖ .....

## 4674652130 : MAJOR MEDICAL SCIENCE

KEY WORD : MYELINATED NERVE FIBER / SURAL NERVE NECROPSY / NERVE MORPHOMETRY

PHINIDDA CHA-OUMPHOL : ACCURACY OF 3- WINDOW SAMPLING METHOD FOR MYELINATED NERVE FIBER MORPHOMETRY IN HUMAN SURAL NERVE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. VILAI CHENTANEZ ,M.D. , Ph.D. THESIS CO- ADVISOR : ASST. PROF. SITHIPORN AGTHONG ,M.D. , Ph.D. 61 pp. ISBN 974-17-5569-4

The aim of this study was to ascertain the minimum sample required to accurately measure the total number of myelinated fiber (MF) , myelinated fiber density (MFD) , myelinated fiber diameter (Ds) and axonal diameter (Da) in morphometric studies of the sural nerve necropsies. Measurement were obtained by 3-window sampling method and total count of normal sural nerve . Nerve morphometric result from the total count were 1) the nerve consisted 4-16 fascicles , 2) the smallest of cross – sectional area of the fascicle was 0.3378 mm<sup>2</sup> and the largest fascicle was 1.3768 mm<sup>2</sup> . The mean cross-sectional area of the whole nerve was 0.8540 ± 0.2277 mm<sup>2</sup> . The density of the myelinated axon was ranged from 5154 to 8275 and its mean was 6714.2 ± 1560.7 .The total number of myelinated axon fiber ranged from 3919 to 7427 (mean = 5,672.8 ± 1753.7) . The diameter distribution of myelinated fiber was bimodal , the lower mode was 3-4 µm and the upper mode was 8-9 µm .The mean diameter of axon and g-ratio were 3.21 ± 0.48 µm. and 0.48 ± 0.06 . The myelin thickness of the most fibers was 1.83 ± 0.34 µm.

These result were compared to these measured by 3-window sampling method. The intraclass correlations of the MF, DMF , Ds , Da ,myelin thickness and g-ratio were 0.8669 , 0.7400 , 0.7862 , 0.7762 , 0.8800 and 0.8671 respectively . Since the correlation was closed to 1, therefore it may be concluded that the 3-window sampling method could be accurated for nerve fiber morphometry in human sural nerve.

Field of study :	Medical Science	Student 's signature	<i>Phinidda Cha-oumphol</i>
Academic year :	2005	Advisor 's signature	<i>Vilai Chentanez</i>
		Co-advisor 's signature	<i>Sithiporn Agthong</i>

## กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงวิไล ชินธเนศ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์สิทธิพร แอกทอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และช่วยตรวจสอบ แก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ตลอดจนให้ความรู้และข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานวิทยานิพนธ์ครั้งนี้มาด้วยดีมาตลอด

ขอขอบพระคุณ หน่วยนิติเวช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อนุญาตให้เก็บตัวอย่างเส้นประสาทเพื่อนำมาศึกษาในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ หน่วยวิจัยเส้นประสาท คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อนุญาตให้ใช้ห้องปฏิบัติการในการทำงานวิจัยรวมถึงสนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ที่เป็นจำเป็น

ขอขอบพระคุณ อาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความรู้ ข้อเสนอแนะและช่วยติดต่อประสานงานในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ และท่านอธิการบดี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ที่อนุมัติให้ลาศึกษาต่อระดับปริญญาโทในครั้งนี้

สุดท้ายขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่และทุกๆ คนในครอบครัว โดยเฉพาะลูกสาวและลูกชายที่คอยเป็นกำลังใจให้อย่างสม่ำเสมอ และขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ ในสาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกคนที่ให้การช่วยเหลือในการเรียน ในการทำวิทยานิพนธ์ตั้งแต่เริ่มต้นงานวิจัยจนสำเร็จการศึกษา

## สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ .....	ฉ
สารบัญ .....	ช
สารบัญตาราง .....	ซ
สารบัญรูป .....	ฌ
สารบัญกราฟ .....	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฏ
<b>บทที่</b>	
<b>1. บทนำ</b>	
- โครงสร้างของระบบประสาท .....	1
- ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย .....	4
- วัตถุประสงค์การวิจัย .....	7
<b>2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	
- เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	9
- คำถามการวิจัย .....	11
<b>3. วิธีดำเนินการวิจัย</b>	
- การกำหนด กลุ่มตัวอย่างประชากร .....	12
- ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย	
1. เก็บตัวอย่างเส้นประสาทชูรัล .....	13
2. การเตรียมชิ้นเนื้อเยื่อเส้นประสาท .....	14
3. การตัดเนื้อเยื่อเส้นประสาทตามขวาง .....	16
4. การวัดเชิงโครงสร้างเส้นประสาท .....	19
<b>4. ข้อมูลและผลการวิเคราะห์ข้อมูล .....</b>	<b>26</b>
<b>5. อภิปรายผล ข้อเสนอแนะ และสรุปผลการวิจัย .....</b>	<b>32</b>
รายการอ้างอิง .....	37
ภาคผนวก .....	40
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ .....	49

## สารบัญตาราง

ตารางประกอบ		หน้า
ตาราง 1	แสดงข้อมูลตัวอย่างประชากร ทั้ง 78 ตัวอย่าง .....	26
ตาราง 2	แสดงค่าข้อมูลของ NF,FA.....	27
ตาราง 3	แสดงค่าเฉลี่ยต่างๆที่ได้จากการนับด้วยวิธีการนับทั้งหมด .....	28
ตาราง 4	แสดงค่าข้อมูลเฉลี่ยที่ได้โดยวิธีการนับแบบ Three-window .....	30
ตาราง 5	แสดงค่า ICCจากวิธีนับทั้งหมดเทียบกับ Three- window .....	31
ตาราง 6	แสดงข้อมูลที่นับได้จากสองวิธีเทียบกัน .....	32
ตาราง 7	แสดงข้อมูลวัดเชิงโครงสร้างการศึกษาคั้งนี้เทียบกับการศึกษาที่ผ่านมา...	35
ตาราง 8	แสดงรายละเอียดของตัวอย่างประชากร 78 ตัวอย่าง .....	41
ตาราง 9	แสดงรายละเอียดข้อมูลเฉลี่ยจากวิธีการนับทั้งหมด .....	44
ตาราง 10	แสดงรายละเอียดข้อมูลจากวิธีสุ่มตัวอย่างด้วยสามกรอบสี่เหลี่ยม .....	46



## สารบัญรูป

รูปประกอบ	หน้า
รูปที่ 1 แสดงภาพเส้นประสาทซัวร์ตัดตามขวางเพื่อให้เห็นลักษณะเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน .....	3
รูปที่ 2 แสดงภาพตัดตามยาวและตามขวางของ myelinated nerve fiber เส้นเดียว .....	4
รูปที่ 3 แสดง myelinated nerve fiber ย้อมด้วยสี osmic stain ที่กำลังขยายสูง .....	4
รูปที่ 4 แสดงตำแหน่งของเส้นประสาท ซัวร์ .....	5
รูปที่ 5 แสดงขนาดของ Ds, Da, myelin thickness .....	7
รูปที่ 6 แสดงอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บเส้นประสาท .....	13
รูปที่ 7 แสดงการตรึงเส้นประสาทซัวร์ .....	14
รูปที่ 8 แสดงเครื่องมือเหวี่ยงสารชื่อ rotator .....	14
รูปที่ 9 แสดงชิ้นเนื้อเส้นประสาทที่เปลี่ยนสีจาก osmium .....	15
รูปที่ 10 แสดง ชิ้นเนื้อเส้นประสาทที่นำไปใส่ลงในแคปซูล .....	16
รูปที่ 11 แสดง ชิ้นเนื้อเส้นประสาทซัวร์ที่ผ่านขั้นตอนเสร็จ เป็นบล็อกสำหรับตัด .....	16
รูปที่ 12 แสดงเครื่องมือตัดกระจกให้เป็นมีดสำหรับตัดเนื้อเยื่อ .....	17
รูปที่ 13 แสดง เครื่องตัดเนื้อเยื่อ ultramicrotome และอุปกรณ์ .....	17
รูปที่ 14 แสดง การใช้ใบมีดที่ติดโบทเพื่อไว้ใส่น้ำสำหรับลอยเนื้อเยื่อที่ตัดได้ .....	18
รูปที่ 15 แสดง hot plate วางสไลด์ .....	18
รูปที่ 16 แสดง สไลด์สำเร็จที่ได้จากการตัดเนื้อเยื่อเส้นประสาท .....	19
รูปที่ 17 แสดง การครอบ 1 fascicle .....	20

รูปที่ 18 แสดง การครอบ 2 fascicle จุลทรรศน์ .....	20
รูปที่ 19 แสดงการทำงานเมื่อจัดตั้งอุปกรณ์ที่ต่อเข้าใช้งานร่วมกัน .....	21
รูปที่ 20 แสดงหน้าต่างที่ส่งภาพมาจากกล้องจุลทรรศน์ .....	21
รูปที่ 21 แสดงภาพตัดตามขวางของเส้นประสาท 40x .....	22
รูปที่ 22 แสดงภาพตัดตามขวางของเส้นประสาท 40x ช่วงทำภาพขาวดำเสร็จ .....	23
รูปที่ 23 แสดง ภาพที่ได้จากการ เลือก automatic bright object .....	23
รูปที่ 24 แสดง ภาพที่ได้จากการ เลือก automatic dark object .....	24
รูปที่ 25 แสดง ข้อมูลที่ได้จากภาพในการจับคู่ของโปรแกรม area match .....	24

## สารบัญกราฟ

กราฟประกอบ		หน้า
กราฟที่ 1	แสดงการกระจายตัวของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง myelinated fiber ของวิธีการนับจำนวน MF ทั้งหมด .....	28
กราฟที่ 2	แสดงการกระจายตัวของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง myelinated fiber ของวิธีการนับจำนวน MF ด้วยวิธี Three –window .....	30
กราฟที่ 3	แสดงการกระจายตัวของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง myelinated fiber ของทั้ง 2 วิธี .....	33

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

สัญลักษณ์ , คำย่อ	ความหมาย
MF	Myelinated fiber
DMF	Myelinated fiber density
Ds	Myelinated fiber diameter
Da	axonal diameter
g-ratio	ค่าอัตราส่วนของขนาด axon ต่อ ขนาดของ fiber
Nerve Morphometry	การวัดเชิงโครงสร้างของเส้นประสาท
ICC	Intraclass correlations