

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

สัตว์ทดลอง

สุนัขพันธุ์ผสม ไม่จำกัดเพศ อายุประมาณ 1-5 ปี สุขภาพดี จำนวน 12 ตัว สุนัขทุกตัวจะได้รับการตรวจสุขภาพและรักษาก่อนทำการทดลอง คือ

1. สุขภาพทั่วไปของร่างกาย
2. สุขภาพของช่องปาก ได้แก่ เหงือกและการสบของฟัน
3. ถ่ายภาพเอ็กซเรย์ของกระดูกขากรรไกรทั้งในท่านอนหงายและนอนตะแคง

การวางยาพิษสำหรับการทำศัลยกรรม

งดอาหารและน้ำก่อนผ่าตัดสุนัขทุกตัวเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนผ่าตัดได้รับ atropine sulphate ขนาด 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว ฉีด เข้ากล้ามเนื้อ คอมาให้น้ำนำสลบ thiopental sodium ขนาด 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว ฉีดเข้าหลอดคอเลือดดำ หลังจากนั้นควบคุมการสลับตลอดการผ่าตัด โดยให้สัตว์ดมก๊าซ halothane ร่วมกับ O₂

ศัลยกรรมย้ายปลูกกระดูก

1. การผ่าตัดสร้างกรณีกระดูกขากรรไกรต่างหัก ชนิดนี้กระดูกสูญหายเพื่อรับการย้ายปลูกด้วยชิ้นกระดูก (recipient site)

จับสุนัขนอนหงายเตรียมบริเวณที่จะผ่าตัดโดยโกนขนทำความสะอาดบริเวณด้านข้างและใต้ขากรรไกรต่างข้างถึงใต้คอ ทาผิวหนังบริเวณนั้นด้วยน้ำยา povidone iodine ซึ่งมีความเข้มข้น 10% ใช้ผ้าคลุมผ่าตัดคลุมบริเวณขากรรไกร ใช้มีดกรีดผ่าผิวหนังและเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังที่ได้คางเป็นแนวขนานกับความยาวของขากรรไกรตั้งแต่หน้าฟันซี่หัวถึงใต้ฟันกรามซี่สุดท้าย (ภาพที่ 1) ใช้ allis tissue forceps จับขอบแผลทั้งสองข้างแยกออกจากกันไว้พยายามแยกเนื้อเยื่อต่าง ๆ ออกด้านข้างเพื่อให้มองเห็นด้านข้างกระดูกอย่างชัดเจน ใช้มีดตัดกระดูกขากรรไกรตามแนวขวางกระดูกขากรรไกรต่างหน้าและหลังฟันกรามน้อยซี่ที่ 4 (ภาพที่ 2) ดึงชิ้นกระดูกนั้นออกเพื่อให้เกิดช่องว่างคล้ายกับมีการหักของกระดูกขากรรไกรต่างชนิดมีกระดูกบางส่วนสูญหายไป (ภาพที่ 3) นำผ้าชุบเกลือ 0.9% normal saline ปิดบาดแผลเพื่อรอการย้ายปลูกกระดูก



ภาพที่ 1 รอยผ่าผิวหนังตามแนวด้านล่างของกระดูกขากรรไกรล่างจากหน้าฟินเขียวถึง ฟันกรามซี่สุดท้าย



ภาพที่ 2 การเตรียมบริเวณรับกราฟท์โดยตัดกระดูกขากรรไกรล่างยาวประมาณ 2 ซม.

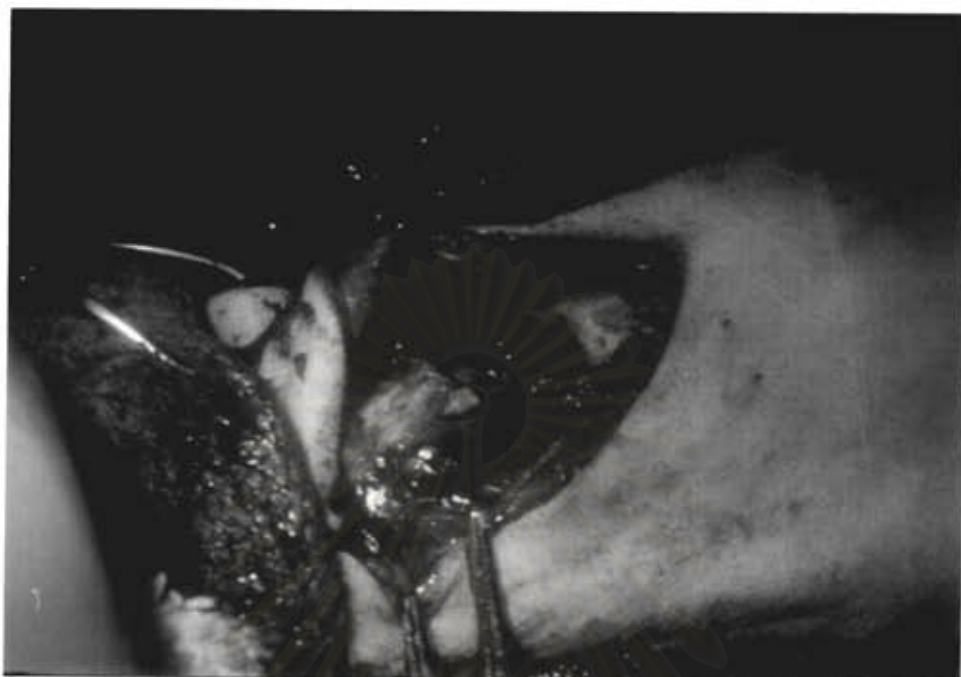
2. การเตรียมชิ้นกระดูกจากปีกกระดูกเชิงกรานสำหรับนำไปปลูก (bone graft)

เตรียมบริเวณที่จะผ่าตัดตั้งแต่ด้านหน้าเชิงกรานจนถึงโคนหาง และจากแนวกลางหลังถึงกลางขาหลังส่วนต้น ใช้ผ้า drape คลุมบริเวณที่จะทำการผ่าตัด ให้สัตว์นอนตะแคงขวา คลำให้พบ cranial dorsal iliac spine ของเชิงกรานด้านซ้าย ใช้มีดกรีดผ่าเชิงกรานด้านซ้ายที่ได้ทำความสะอาดไว้แล้ว รอยผ่าขนานกับแนวกึ่งกลางลำตัวซึ่งยาวจากส่วนหน้าของ spine นี้ถึงบริเวณข้อสะโพก (ภาพที่ 4) ผ่าแยกชั้นพังพืดได้ผิวหนัง ไขมัน และ gluteal fascia แล้วใช้ allis tissue forceps จับขอบแผลทั้งสองข้างแยกออกจากกันไว้ จะสามารถคลำ crest และ cranial dorsal spine ของกระดูก ilium ได้ ใช้มีดคัตเชื่อมกระดูกตรงที่เป็นที่เริ่มต้นของกล้ามเนื้อ middle gluteal ซึ่งเริ่มมาจากขอบด้านนอกของ crest และ spine ของกระดูกสันหลัง แยกกล้ามเนื้อ middle gluteal ออกจาก crest ใช้มีดคัตเชื่อมกระดูกตรงที่เป็นที่เริ่มต้นของกล้ามเนื้อ sacrospinalis ซึ่งเริ่มมาจากขอบด้านในของ crest และ spine แยกกล้ามเนื้อ sacrospinalis ออกจาก crest ใช้มีดคัตส่วนบนของ crest เป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 2 x 1 เซนติเมตร (ภาพที่ 5) ยกกระดูกออกเพื่อใช้เป็นชิ้นกราฟท์กระดูก (bone graft) ที่จะนำไปปลูกต่อที่ขากรรไกร ย้ายชิ้นกราฟท์กระดูกไปปลูกที่กระดูกขากรรไกรล่างที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ตามวิธีข้อ 3 เย็บ wound beath ของกล้ามเนื้อ sacrospinalis กับ middle gluteal และกล้ามเนื้อ sacrospinalis กับ superficial gluteal ด้วย simple continuous sutures โดยใช้ polyglactin 910 เย็บชั้นพังพืดชั้นได้ผิวหนัง ไขมัน และ gluteal fascia โดยใช้ polyglactin 910 เย็บผิวหนังแบบ simple interrupted sutures โดยใช้ไหม แล้วปิดผิวหนังด้วย stent

3. การย้ายปลูกกระดูก

3.1 การยึดตรึงด้วยลวด

สุนัข 3 ตัว(หมายเลข 1, 2 และ J)ใช้การยึดตรึงชิ้นกราฟท์กระดูกแบบ Ivy loop โดยใช้ส่วนเจาะรูจากด้านข้างกระดูกด้านในของกระดูกขากรรไกรล่างห่างจากแนวที่ตัดกระดูกออกแล้วประมาณ 4 มิลลิเมตรได้พื้นกรามน้อยซี่ที่ 3 และได้พื้นกรามซี่ที่ 1 ตำแหน่งละ 1 รู และใช้ส่วนเจาะ 1 รู ทะลุด้านนอกด้านในที่กึ่งกลางชิ้นกราฟท์กระดูก ซึ่งย้ายมาปลูกกับกระดูกขากรรไกร ชิ้นกราฟท์นั้นถูกวางแทนที่กระดูกขากรรไกรที่ได้ตัดออกไป การยึดตรึงด้วยลวดใช้ลวดขนาดเบอร์ 24 พับทบเส้นลวดตรงกึ่งกลางเป็นเส้นคู่และร้อยส่วนงอพับผ่านรูซึ่งเจาะไว้แล้วจากด้านในทะลุออกด้านนอก แล้วร้อยปลายลวดข้างหนึ่งโดยร้อยจากด้านในทะลุออกด้านนอกผ่านรูได้พื้นกรามน้อยซี่ที่ 3 แล้วร้อยลวดผ่านบ่วงทบตรงกลางของลวดเส้นนั้นที่อยู่บนชิ้นกราฟท์ ปลายลวดอีกข้างหนึ่งร้อยจากด้านในทะลุออกด้านนอกที่รูได้พื้นกรามซี่ที่ 1 จัดกระดูกทั้งสองให้อยู่ในแนวเดียวกันและรอยตัดกระดูกทั้งสองชิดกันแล้วจึงมัดปลายลวด 2 ข้างเข้าด้วยกัน นำลวดขนาดเดียวกันอีกเส้นหนึ่งร้อยจากด้านในทะลุออกด้านนอกผ่านรู



ภาพที่ 3 ช่องว่างบริเวณรับกราฟท์ที่กระดูกขากรรไกรล่างภายหลังตัดเอากระดูกออก



ภาพที่ 4 รอยผ่าผิวหนังตามแนว iliac crest เพื่อตัดกระดูก ilium สำหรับนำมาใช้เป็นกราฟท์

ได้พื้นกราฟที่ 1 แล้วร้อยต่อ โคบายร้อยจากด้านในทะลุออกด้านนอกผ่านรูได้พื้นกราฟน้อยที่ 3 จากนั้นมีคปลายลวดเส้นที่สอง ลวดเส้นหลังนี้ร้อยรับภายนอกชั้นกราฟ (ภาพที่ 6) เย็บชั้นกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อได้ผิวหนังด้วย polyglactin 910 และเย็บผิวหนังด้วยไหม

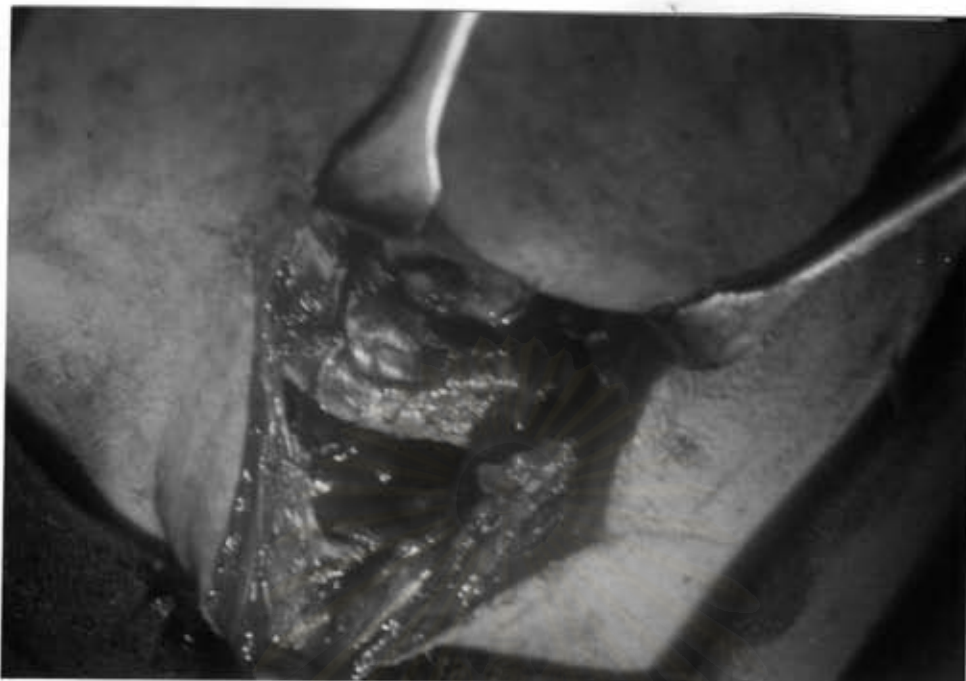
สุนัขอีก 3 ตัว (หมายเลข P,Q และ R) ใช้การยึดตรึงด้วยลวดแบบ cross wiring โดยใช้ส่วนเจาะรูจากด้านข้างทะลุด้านในของกระดูกขากรรไกรล่างห่างจากแนวที่ตัดกระดูกออกแล้วประมาณ 4 มิลลิเมตรได้พื้นกราฟน้อยที่ 3 และพื้นกราฟที่ 1 แห่งละ 2 รู ขนานกับรอยตัดครุ่ห่างกันประมาณ 4 มิลลิเมตร และใช้ส่วนเจาะ 2 รูทะลุด้านนอกด้านในที่กึ่งกลางชั้นกราฟที่ซึ่งย้ายมาปลูกกับกระดูกขากรรไกร รูห่างกัน 4 มิลลิเมตรเรียงขนานกันกับรอยตัดของชั้นกระดูก ชั้นกระดูกนั้นถูกวางแทนที่กระดูกขากรรไกรที่ได้ตัดออกไป ใช้ลวดเส้นเดียว 3 เส้นเป็นลวดขนาดเบอร์ 24 ใช้เส้นที่ 1 ร้อยผ่านรูได้ใกล้ตัวพื้นกราฟน้อยที่ 3 ซึ่งเจาะไว้แล้วจากด้านนอกทะลุออกด้านใน แล้วร้อยปลายลวดเส้นที่ 1 นี้ย้อนกลับผ่านรูที่สองได้พื้นซึ่งเดียวกันที่อยู่ใกล้กับขอบล่างขากรรไกร ลวดเส้นที่ 2 ร้อยในทำนองเดียวกันกับลวดเส้นที่ 1 ผ่านรูที่เจาะไว้แล้วบนกระดูกขากรรไกรล่างได้พื้นกราฟที่ 1 แล้วร้อยปลายลวดที่ 1 และ 2 ผ่านรู 2 รูบนชั้นกราฟที่โดยจัดให้ปลายของเส้นเดียวกันไขว้เป็นรูปตัว X ทับกันตรงรอยกระดูกขนานกัน จัดกระดูกทั้งสองให้อยู่ในแนวเดียวกันและรอยตัดกระดูกทั้งสองชิดกัน นำลวดเส้นที่ 3 ร้อยผ่านรูได้ใกล้พื้นกราฟที่ 1 และรูได้พื้นกราฟน้อยที่ 3 ทะลุด้านในออกด้านนอกแล้ว จึงมีคผูกลวดแต่ละเส้น (ภาพที่ 7) เย็บชั้นกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อได้ผิวหนังด้วย polyglactin 910 และเย็บผิวหนังด้วยไหม

3.2 การยึดตรึงด้วยแผ่นพลาสติกคามกระดูก¹ และสกรูยึดกระดูก

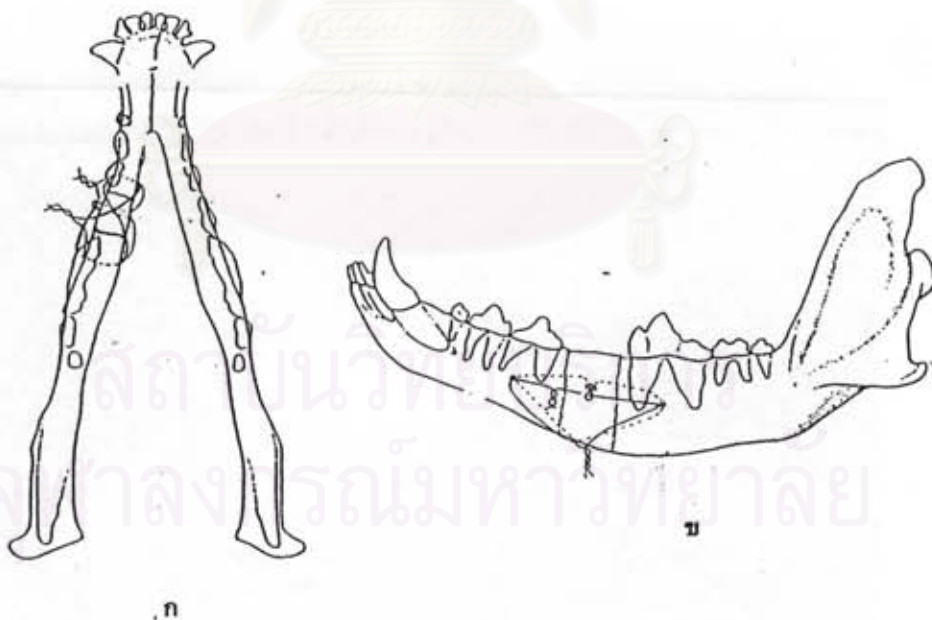
(ภาพที่ 8)

วิธีนี้ทำในสุนัข 6 ตัว (หมายเลข S, T, U, V, W และ X) โดยใช้ส่วนเจาะรูทะลุด้านนอกด้านในที่กึ่งกลางชั้นกราฟ ใช้ tap สำหรับทำเกลียวสกรูทำเกลียวในรูที่เจาะเตรียมการไว้ก่อนไขสกรูแต่ละตัว ใช้สกรูยึดกระดูกขนาด 2.7 มิลลิเมตร ยาว 14-16 มิลลิเมตรขึ้นกับความหนาของกระดูก ไขสกรูยึดกระดูกยึดตรึงแผ่นพลาสติกติดกับชั้นกราฟ กระดูกนั้นถูกวางแทนที่กระดูกขากรรไกรที่ได้ตัดออกไป จัดกระดูกทั้งสองให้อยู่ในแนวเดียวกันและจัดรอยตัดกระดูกทั้งสองให้ชิดกันกับชั้นกราฟ ใช้ส่วนเจาะรูกระดูกขากรรไกรล่างให้ตรงกับรูบนแผ่นพลาสติก ไขสกรูยึดกระดูกขนาด 2.7 มิลลิเมตรยึดตรึงแผ่นพลาสติกให้ติดกับกระดูกขากรรไกรปลายละ 2 ตัว (ภาพที่ 9) เย็บชั้นกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อได้ผิวหนังด้วย polyglactin 910 และเย็บผิวหนังด้วยไหม (ภาพที่ 10)

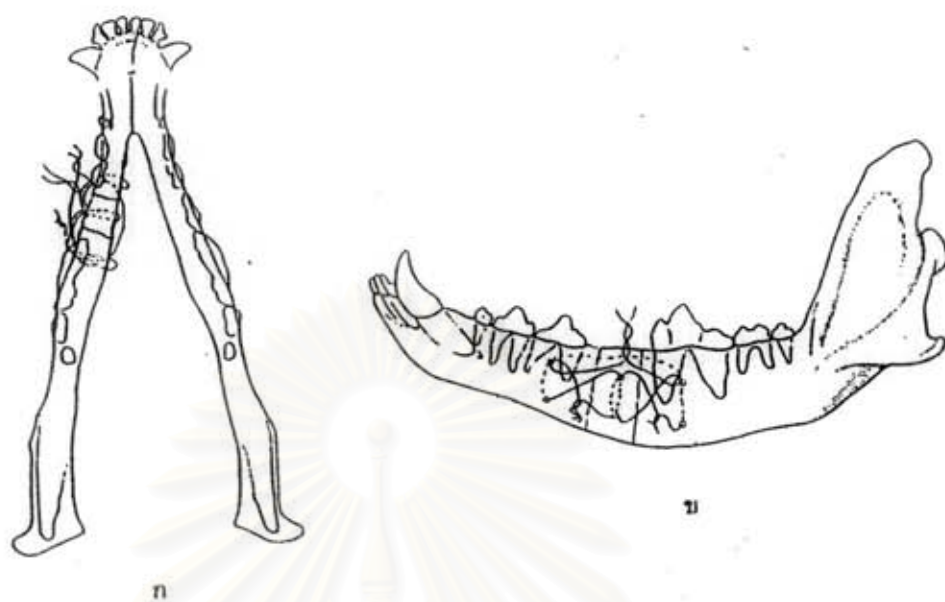
1 - Lubra plate, The Lubra Company, Fort Collins, Colorado, USA



ภาพที่ 5 การตัดกระดูก ilium ให้มีขนาดเท่ากับหรือใหญ่กว่ากระดูกที่ตัดจากกระดูกขากรรไกรล่างเล็กน้อย



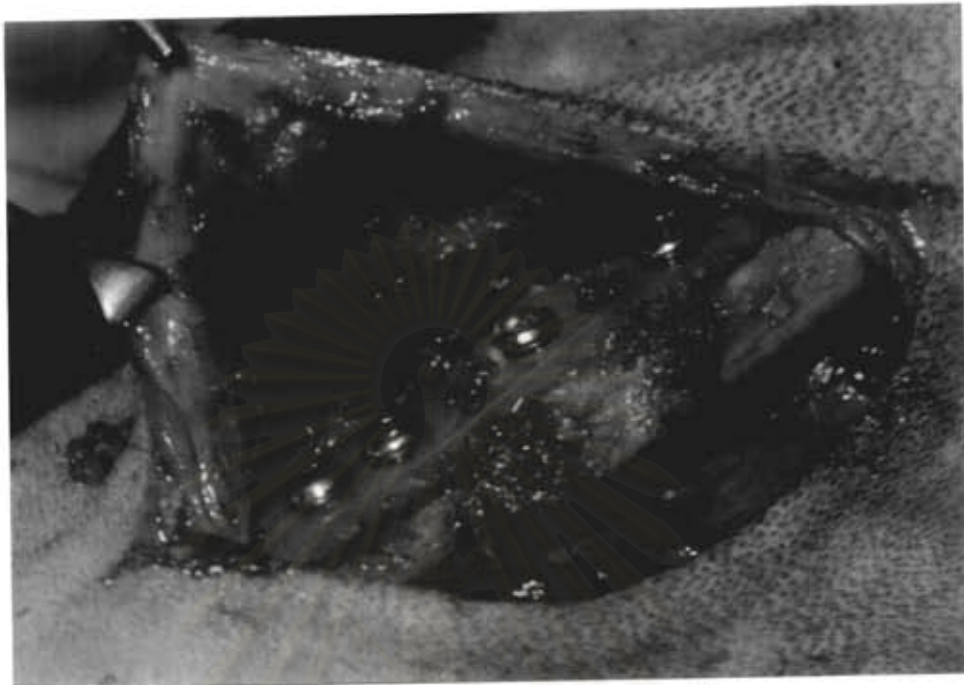
ภาพที่ 6 ภาพลายเส้นแสดงการตรึงชิ้นกราฟท์กับกระดูกขากรรไกรล่างโดยการมัดลวดแบบ Ivy loop 6ก - ด้านล่างของกระดูกขากรรไกรและชิ้นกราฟท์ 6ข - ด้านข้างของกระดูกขากรรไกรและชิ้นกราฟท์



ภาพที่ 7 ภาพลายเส้นแสดงการตรึงซันกราฟท์กับกระดูกขากรรไกรล่างโดยการมัดลวด
แบบ cross wiring 7ก - ด้านล่างของกระดูกขากรรไกรและซันกราฟท์ 7ข - ด้านข้าง
ของกระดูกขากรรไกรและซันกราฟท์



ภาพที่ 8 แผ่นพลาสติกตามกระดูกและสกรูยึดกระดูก



ภาพที่ 9 ลักษณะการปลุกกระดูกขากระดูกล่างภายหลังตรึงชิ้นกราฟท์ด้วยแผ่นพลาสติก คามกระดูกและสกรู



ภาพที่ 10 ผิวหนังที่เย็บปิดภายหลังเย็บชั้นใต้ผิวหนัง

การดูแลหลังผ่าตัด (postoperative care)

สุนัขทดลองทุกตัวจะได้รับการดูแลหลังผ่าตัด ดังนี้

1. ได้รับยาปฏิชีวนะ cephalexin ขนาด 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวฉีดใต้ผิวหนัง วันละ 2 ครั้ง นาน 10 วัน
2. รักษาแผลผ่าตัดภายนอกด้วยน้ำยา povidone iodine วันละครั้ง
3. ใส่ muzzle นาน 7 วันหลังจากผ่าตัด
4. ให้อาหารอ่อนติดต่อกันเป็นเวลานาน 12 สัปดาห์หลังผ่าตัด ห้ามสุนัขเลียหรือแทะอาหารแข็ง

อุปกรณ์

1. เครื่องมือผ่าตัดกระดูก
2. เครื่องมือผ่าตัดและชุดผ่าตัด
3. เครื่องถ่ายภาพเอ็กซเรย์และฟิล์ม
4. อุปกรณ์ถ่ายภาพ
5. เครื่องคอมพิวเตอร์

การประเมินผล

สุนัขทดลองทุกตัวจะได้รับการตรวจการสั่นของฟันและการใช้ขากรรไกรเคี้ยวอาหารอ่อนและตรวจการเชื่อมติดกันของกระดูกจากภาพเอ็กซเรย์และจากภาพทางจุลกายวิภาค

1. การประเมินจากภาพเอ็กซเรย์ (radiographic evaluation)

ถ่ายภาพเอ็กซเรย์ของกระดูกขากรรไกร 2 ท่าคือท่านอนหงาย (ventral position) และท่านอนตะแคง (lateral oblique position) เพื่อตรวจการเชื่อมติดกันของกระดูก โดยจะถ่ายภาพเอ็กซเรย์กระดูกขากรรไกรของสุนัขทดลองทันทีหลังการผ่าตัดและสัปดาห์ที่ 2 4 6 8 10 และ 12 หลังจากผ่าตัด

2. การประเมินทางจุลกายวิภาค (histological evaluation)

ตัดกระดูกบริเวณรอยต่อของสุนัข 2 กลุ่มมาตรวจดูโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างเพื่อศึกษาการเชื่อมต่อของชิ้นกระดูกที่ได้รับการย้ายปะที่ 4 8 และ 12 สัปดาห์หลังจากการผ่าตัดเป็นชิ้นตัวอย่างที่ได้รับการตรึงชิ้นกราฟท์กระดูกด้วยวิธีใช้ลวดมัดจากสุนัข 3 ตัว และใช้แผ่นพลาสติกร่วมกับสกรู 3 ตัว เพื่อนำมาประเมินการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างที่ระยะเวลาดังกล่าว ส่วนอีก 6 ตัวเก็บไว้เพื่อศึกษาทางภาพเอ็กซเรย์อย่างน้อย 12 สัปดาห์

ตัดแบ่งชิ้นตัวอย่างแต่ละชิ้นออกเป็นสามส่วนตามแนวขนานกับกระดูกขากรรไกรล่าง โดยให้แต่ละส่วนมีทั้งตัวกราฟท์และส่วนรับกราฟท์ทั้งด้านหน้าและด้านหลัง ของตัวกราฟท์ด้วย นำชิ้นกราฟท์กระดูกที่ตัดออกเพื่อตรวจทางการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างเนื้อเยื่อต่าง ๆ แช่ใน 10% formalin แล้วนำไปผ่านกระบวนการละลายเอาแร่ธาตุออก (decalcification) ด้วย formic acid-sodium citrate method (Luna, 1968a) จากนั้นชิ้นเนื้อเยื่อจะถูกผ่านกระบวนการดึงนำออกก่อนวางเนื้อเยื่อใน paraffin เพื่อตัดเป็นชิ้นบาง ๆ และย้อมสี haematoxylin and eosin (Luna, 1968b)

การวิเคราะห์ผล

นำผลที่ได้จากการประเมินมาวิเคราะห์โดยใช้วิธีสถิติแบบพรรณนา (descriptive statistics) โดยวิเคราะห์เป็นสัดส่วนของจำนวนสุนัขทดลองที่พบมีการเชื่อมของกระดูกในแต่ละช่วงระยะเวลาที่ประเมิน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย