

ประสิทธิภาพของการใช้ไฮยาโลโรนิก แอซิด โดยการบริหารยาเข้าทางข้อต่อภาวะข้อเข่าเสื่อมภายหลัง
รับการผ่าตัดรักษาภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดในสุนัข

นายนที เตชะอารมณ์กุล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์ทางสัตวแพทย์ ภาควิชาสัตวศาสตร์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFICACY OF INTRAARTICULAR ADMINISTRATION OF HYALURONIC ACID IN OSTEOARTH
RITIS AFTER SURGICAL CORRECTION OF CANINE CRANIAL CRUCIATE LIGAMENT RUPTU

RE

Mr. Natee Techaarpornkul



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

Department of Veterinary Surgery

Faculty of Veterinary Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2014

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพของการใช้ไฮยาโลโรนิก แอซิด โดยการบริหารยาเข้าทางข้อต่อภาวะข้อเข่าเสื่อมภายหลังรับการผ่าตัดรักษาภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดในสุนัข
โดย	นายณที เตชะอารมณ์กุล
สาขาวิชา	ศัลยศาสตร์ทางสัตวแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. กัมปนาท สุนทรวิภาต

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. สุमितร์ ดุรงค์พงษ์ธร)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. กัมปนาท สุนทรวิภาต)
.....กรรมการ
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. มาริษศักดิ์ กัลป์ประวิทย์)
.....กรรมการ
(อาจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ประพฤติดี ปิยะวิริยะกุล)
.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. กรกฎ งานวงศ์พานิชย์)



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญ.....	1
รายการอ้างอิง.....	37
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	41



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ญ
สารบัญแผนภูมิ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย.....	12
3.1 ประชากร.....	12
3.2 ประชากรตัวอย่าง.....	12
3.3 การแบ่งกลุ่มตัวอย่าง.....	13
3.4 ขั้นตอนก่อนการผ่าตัด.....	1 3
3.5 ขั้นตอนการผ่าตัด.....	13

	หน้า
3.6 ขั้นตอนหลังการผ่าตัด.....	14
3.7 การติดตามผลการรักษา.....	15
3.8 การแปลผลทางสถิติ.....	18
บทที่ 4 วิเคราะห์ รายงานผล และอภิปรายผลการวิจัย.....	19
4.1 การวิเคราะห์เชิงพรรณนา.....	19
4.2 ผลการตรวจร่างกาย.....	19
4.3 ผลการศึกษาระดับการกะเผลกของขา.....	19
4.4 ผลการศึกษาระดับการลงน้ำหนักของขา.....	20
4.5 ผลการตรวจทางรังสีวิทยา.....	21
4.6 ผลการศึกษาระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ในซีรัม.....	22
4.7 วิจาร์ณผลการศึกษา.....	23
4.8 สรุปผลการศึกษา.....	27
เอกสารอ้างอิง.....	29
ภาคผนวก.....	35
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	38

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 เกณฑ์คะแนนระดับการกะผลกของขา.....	16
ตารางที่ 2 เกณฑ์การลงน้ำหนักของขา.....	16
ตารางที่ 3 การให้คะแนนภาพถ่ายรังสีวิทยา.....	17
ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์สถิติเชิงพรรณนา.....	19
ตารางที่ 5 แสดงระดับคะแนนการกะผลกของขา.....	36
ตารางที่ 6 แสดงระดับคะแนนการลงน้ำหนัก.....	36
ตารางที่ 7 แสดงระดับคะแนนภาพถ่ายรังสีวิทยา.....	36
ตารางที่ 8 แสดงระดับคะแนนสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6	36
ตารางที่ 9 แสดงผลการคำนวณทางสถิติของระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ในกระแสเลือด.....	37

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 องค์ประกอบของกระดูกอ่อนผิวข้อ.....	5
ภาพที่ 2 เอ็นไขว้หน้าหัวเข่า.....	7
ภาพที่ 3 ลักษณะโครงสร้างของไฮยาลูโรแนน.....	11



สารบัญแผนภูมิ

หน้า

แผนภูมิที่ 1 แสดงผลการศึกษาระดับการกะเผลกของขา.....	20
แผนภูมิที่ 2 แสดงผลการศึกษาระดับการลงน้ำหนักของขา.....	21
แผนภูมิที่ 3 แสดงระดับคะแนนภาพถ่ายทางรังสีวิทยา.....	22
แผนภูมิที่ 4 แสดงระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ในซีรัม.....	22



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ภาวะข้อเสื่อมในสุนัข (canine osteoarthritis) คือภาวะที่กระดูกอ่อนบริเวณผิวข้อเกิดการเสื่อมสภาพลงจากปัจจัยต่างๆ ภาวะดังกล่าวเป็นภาวะที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของสุนัข โดยสุนัขที่พบภาวะนี้มักจะเกิดอาการปวดบริเวณข้อต่อ รวมถึงพิสัยของข้อต่อที่เปลี่ยนแปลงไป ร่วมกับอาการที่ไม่จำเพาะอื่นๆ โดยมักจะเกิดอย่างเรื้อรัง ในปัจจุบันสามารถพบภาวะนี้ได้บ่อยครั้งในคลินิก โดยสาเหตุของภาวะดังกล่าวยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

ภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดในสุนัข (canine cranial cruciate ligament rupture) เป็นปัญหาของข้อเข่าที่พบได้บ่อยในสุนัข ในปัจจุบันพบว่าสาเหตุของปัญหามักจะเกิดจากการเสื่อมสภาพจากปัจจัยต่างๆ มากกว่าการบาดเจ็บ เมื่อเกิดภาวะนี้อย่างเรื้อรังมักจะเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเสื่อมตามมา เนื่องจากเกิดความไม่มั่นคงของข้อเข่า ในปัจจุบันการรักษาภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดในสุนัขคือการรักษาทางศัลยกรรม โดยมีจุดประสงค์หลักคือการทำให้ข้อเข่ามีความมั่นคง เพื่อลดโอกาสการเกิดข้อเข่าเสื่อม

ในปัจจุบันอุปกรณ์และเทคโนโลยีในการตรวจวินิจฉัยภาวะข้อเสื่อมมีอย่างหลากหลาย เช่น การตรวจวินิจฉัยด้วยเครื่องแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic Resonance Imaging; MRI) รวมถึงการตรวจทางห้องปฏิบัติการ และการตรวจระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) เป็นต้น ซึ่งการตรวจระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ เป็นการตรวจวัดโมเลกุล หรือส่วนของสารประกอบที่ถูกขับออกมาอยู่ในส่วนของเหลวในร่างกาย โดยอาศัยวิธีทางภูมิคุ้มกันวิทยา (immunoenzymatic technique) การตรวจด้วยวิธีนี้มีข้อดีคือสามารถตรวจหาความผิดปกติตั้งแต่ในระยะเริ่มแรกในระดับโมเลกุลก่อนที่รอยโรคจะพัฒนาจนแสดงออกมาให้เห็นเป็นความผิดปกติทางกายวิภาค

การรักษาภาวะข้อเสื่อมในสัตว์โดยมากแล้วเป็นการรักษาเพื่อบรรเทาอาการโดยการให้ยา และผลิตภัณฑ์เภสัชโภชนา โดยกลุ่มยาที่นิยมใช้ในการรักษาคือกลุ่มยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่ส

เตียรอยด์ (Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs; NSAIDs) ซึ่งมีผลในการลดอาการปวด และการอักเสบจากภาวะข้อเสื่อม แต่ยาในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ข้างเคียง ทำให้เกิดอันตรายต่อสัตว์ การใช้ผลิตภัณฑ์ เกสซ์โกชานาจึงเป็นทางเลือกของการรักษาภาวะข้อเสื่อมที่น่าสนใจ โดยผลิตภัณฑ์เกสซ์โกชานาที่ นำมาใช้รักษาภาวะข้อเสือนั้นมีหลายกลุ่ม ซึ่งไฮยาลูโรนิกแอซิด (Hyaluronic Acid; HA) ซึ่งเป็น ส่วนประกอบโดยธรรมชาติของน้ำไขข้อ เป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์ที่ถูกเลือกใช้เช่นกัน แต่ไฮยาลูโรนิกแอซิด ที่ใช้ในการรักษาภาวะข้อเสื่อม มักจะอยู่ในรูปแบบฉีดเข้าข้อต่อ ดังนั้นจึงมีชื่อเรียกวิธีการรักษา ภาวะข้อเสื่อมชนิดนี้ว่าการฉีดสารเพิ่มความยืดหยุ่น (viscosupplementation) อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพของไฮยาลูโรนิกแอซิด ต่อการรักษาภาวะข้อเสื่อมทั้งในสุนัข และในมนุษย์นั้นยังไม่แน่ ชัด จึงเป็นเหตุผลที่ทำให้ควรมีการศึกษาประสิทธิภาพของไฮยาลูโรนิกแอซิด ต่อการรักษาภาวะข้อ เสื่อม เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการรักษาภาวะข้อเสื่อม

1.2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การทดสอบประสิทธิภาพของการใช้ไฮยาลูโรนิกแอซิด โดยการบริหารยาเข้าทางข้อ ในการ รักษาภาวะข้อเสื่อม ภายหลังจากการผ่าตัดแก้ไขภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดในสุนัข โดยการประเมิน จากระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ในซีรัม ภาพถ่ายรังสีวิทยา และอาการทางคลินิก เพื่อเป็น ประโยชน์ต่อการรักษาภาวะข้อเสื่อม

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบประสิทธิภาพของไฮยาลูโรนิกแอซิด ต่อการรักษาภาวะข้อเสื่อมในสุนัข เพื่อ ประโยชน์ในการนำมาใช้ทางคลินิก และเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการรักษาภาวะข้อเสื่อมในมนุษย์ต่อไป

บทที่ 2

ทบทวนการศึกษาที่เกี่ยวข้อง

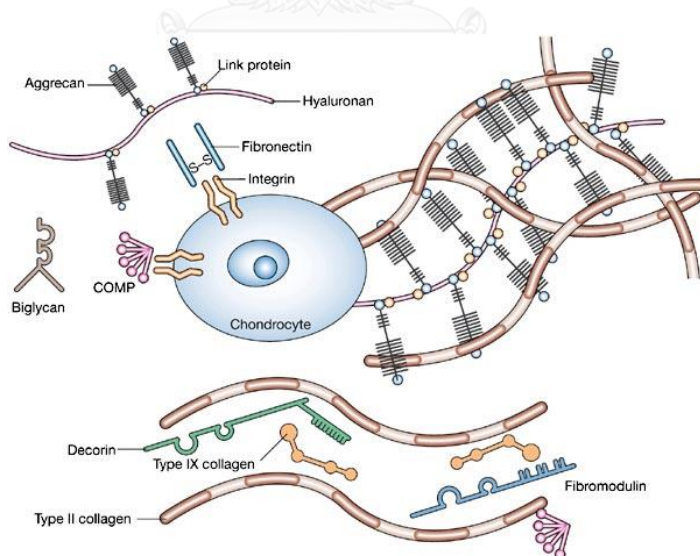
ภาวะข้อเสื่อม คือภาวะที่กระดูกอ่อนบริเวณผิวข้อเกิดการเสื่อมสภาพลงอย่างช้าๆโดยไม่มีกลไกการอักเสบเข้ามาเกี่ยวข้อง ภาวะนี้มักเกิดร่วมกับการมีกระดูกงอกขึ้นใหม่ (osteophyte) การหนาตัวของถุงหุ้มข้อ (capsular fibrosis) และกระดูกรอบข้อ (subchondral bone sclerosis) และตามด้วยการเกิดการอักเสบของเยื่อหุ้มข้อ (synovial tissue) (Todhunter and Johnston, 2003) อาการของสุนัขที่มักจะสัมพันธ์กับภาวะนี้คือ การเจ็บปวดของข้อต่อ การบวมของข้อต่อ พิสัยของข้อที่เปลี่ยนแปลงไป ลักษณะการเคลื่อนไหวที่ผิดปกติ ร่วมกับอาการที่ไม่จำเพาะ เช่น ซึม เบื่ออาหาร พฤติกรรมเปลี่ยนแปลงไป เป็นต้น ในปัจจุบันสาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะข้อเสื่อมยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่ปัจจัยซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดปัญหาได้แก่ กรรมพันธุ์ อายุ พันธุ์ของสุนัข โภชนาการ ฮอร์โมน น้ำหนัก ความผิดปกติในการลงน้ำหนัก และการรับน้ำหนักอย่างรุนแรงเป็นเวลานาน (Ghosh, 1999; Felson, 2004) รวมถึงความผิดปกติอื่นๆ ดังเช่นในปี 2011 มีผู้ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนการเมตาบอลิซึมของไขมันกับภาวะข้อเสื่อมและพบว่ามีความสัมพันธ์กัน เป็นต้น (Gkretsi et al., 2011)

ในภาวะปกติ ข้อมีหน้าที่ในการเคลื่อนไหว และการรับน้ำหนักของร่างกาย ลักษณะทางกายวิภาคของข้อเป็นกระดูกสองชิ้นที่มาสัมผัสกัน ข้อมีส่วนประกอบต่างๆคือ กระดูกอ่อนผิวข้อ (articular cartilage) เยื่อหุ้มข้อ น้ำไขข้อ (synovial fluid) รวมถึงเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเอ็นต่างๆ เมื่อสังเกตจะพบว่าผิวของข้อ จะถูกปกคลุมด้วยกระดูกอ่อนผิวข้อซึ่งมีลักษณะเรียบลื่น เป็นมันเงา และมีสีขาว ลักษณะสำคัญของกระดูกอ่อนผิวข้อคือไม่มีเลือด เส้นประสาท และน้ำเหลืองมาเลี้ยง เมื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของข้อจะพบว่ากระดูกอ่อนผิวข้อสามารถแบ่งได้เป็น 3 ถึง 4 ชั้น ชั้นแรกคือชั้นผิว (superficial or tangential zone) ชั้นนี้พบว่ามีเซลล์กระดูกอ่อน (chondrocyte) อยู่หนาแน่นมากที่สุด ลักษณะเซลล์กระดูกอ่อนที่อยู่ในชั้นนี้จะมีลักษณะแบนและเรียงตัวตามแนวขนานกับผิวข้อ เช่นเดียวกับเส้นใยคอลลาเจน (collagen fiber) ชั้นที่สองคือชั้นกลาง (middle or intermediate zone) ชั้นนี้เซลล์กระดูกอ่อนจะมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์กระดูกอ่อนชั้นผิว และเป็น

ชั้นที่เซลล์กระดูกอ่อนมีการสังเคราะห์โปรตีนเป็นจำนวนมาก ส่วนการเรียงตัวของเส้นใยคอลลาเจนนั้นจะเรียงตัวกันแบบไม่เป็นระเบียบ ชั้นที่สามเรียกว่าชั้นลึก (deep or radial zone) ชั้นนี้เซลล์กระดูกอ่อนจะมีลักษณะคล้ายเซลล์กระดูกอ่อนในชั้นกลาง และเส้นใยคอลลาเจนจะเรียงตัวในแนวตั้งฉากกับผิวข้อ โดยด้านใต้ของชั้นนี้จะพบเส้นสีน้ำเงินเรียกว่า tidemark ชั้นสุดท้ายเป็นชั้นที่มีการสะสมแคลเซียม (calcified zone) ชั้นนี้จะพบเซลล์กระดูกอ่อนน้อย และเริ่มมีแคลเซียมมาสะสม โดยชั้นนี้จะติดอยู่กับกระดูกใต้กระดูกอ่อน (subchondral bone) ซึ่งการเรียงตัวของเซลล์กระดูกอ่อน และเส้นใยคอลลาเจนในแต่ละชั้นนั้นมีความสำคัญต่อแรงที่มากระทำต่อข้อ กล่าวคือในชั้นผิว การเรียงตัวของเซลล์กระดูกอ่อนและเส้นใยคอลลาเจนจะเป็นไปในลักษณะขนานกับผิวข้อ ดังนั้นจึงสามารถรับแรงเฉือน (shear force) ได้ดี ส่วนในชั้นลึกการเรียงตัวของเซลล์กระดูกอ่อนและเส้นใยคอลลาเจนจะเป็นไปในลักษณะตั้งฉากกับผิวข้อ ดังนั้นจึงสามารถรับน้ำหนัก (loading force) ได้ดี (กรกฎ, 2008; Mankin, 1985; Weisbrode, 1995; Todhunter and Johnston, 2003; Lorenz and Richter, 2006)

องค์ประกอบของกระดูกอ่อนผิวข้อแบ่งได้เป็นสองส่วนใหญ่คือ เซลล์กระดูกอ่อน และเนื้อกระดูกอ่อน (bone matrix) เซลล์กระดูกอ่อนซึ่งมีปริมาณร้อยละ 1-12 ของน้ำหนักกระดูกอ่อน จะอยู่ในช่องที่เรียกว่า lacuna ส่วนเนื้อกระดูกอ่อนนั้นประกอบไปด้วยน้ำเป็นส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 70 โดยน้ำในเนื้อกระดูกอ่อน จะอยู่ร่วมกับโปรตีโอไกลแคน (Proteoglycan) ซึ่งเป็นสารชอบน้ำ (hydrophilic) ส่วนอื่นๆประกอบด้วยคอลลาเจน (collagen) ไกลโคโปรตีน (glycoprotein) และสารอนินทรีย์ต่างๆ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารประกอบ calcium hydroxyapatite (กรกฎ, 2008) คอลลาเจนในกระดูกอ่อนผิวข้อพบได้ประมาณร้อยละ 50 ของน้ำหนักแห้ง โดยส่วนใหญ่เป็นคอลลาเจนชนิดที่สอง (collagen type II) ปริมาณถึงร้อยละ 85- 90 ของคอลลาเจนทั้งหมด ส่วนคอลลาเจนชนิดอื่นๆที่สามารถพบได้เช่นชนิดที่ 9 10 และ 11 เป็นต้น (Kuivaniemi et al., 1997) ประโยชน์ของคอลลาเจนในกระดูกอ่อนผิวข้อคือ ช่วยในการเคลื่อนไหว และกระจายแรงที่มากระทำต่อกระดูกอ่อนผิวข้อ ส่วนโปรตีโอไกลแคนเป็นสารประกอบระหว่างโปรตีนและน้ำตาล โครงสร้างจะมีโปรตีนเป็นแกน (protein core) ที่มีน้ำตาล (glycosaminoglycan) มาเกาะ โดยน้ำตาลที่มาเกาะอยู่กับแกนของโปรตีนสามารถพบได้หลายชนิด แบ่งชื่อชนิดได้ตามหน้าที่ ตำแหน่ง และโครงสร้างของน้ำตาลนั้นๆ (Todhunter and Johnston, 2003) น้ำตาลหลักที่พบคือ เคอราแตน ซัลเฟต (keratin

sulfate) และคอนดรอยอิติน ซัลเฟต (chondroitin sulfate) (Weisbrode, 1995) ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นๆที่พบเช่น เดอร์มาแทน ซัลเฟต (dermatan sulfate) ดีคอร์ริน (decorin) และ ไบโกลแคน (biglycan) เป็นต้น ส่วนใหญ่แล้วโปรตีโอไกลแคนมักจะเชื่อมต่อกับโปรตีโอไกลแคนตัวอื่นๆ เกิดเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่เรียกว่าแอกกรีแคน (aggrecan) แอกกรีแคนนี้จะมาเชื่อมต่อกับไฮยาลูโรแนน (hyaluronan) ซึ่งเป็นสารน้ำตาลที่ไม่รวมอยู่ใน โปรตีโอไกลแคนโดยอาศัยโปรตีนเชื่อมต่อ (link protein) ที่อยู่บนโปรตีนแกนเป็นตัวเชื่อม ไฮ-ยาลูโรแนนในเนื้อกระดูกอ่อนนั้นมีหน้าที่หล่อเลี้ยงผิวข้อ ลดแรงเสียดสีของกระดูกอ่อนผิวข้อขณะเคลื่อนไหวจากการทำหน้าที่เป็นของเหลวคล้ายเจล (gel) เคลือบอยู่ด้านบนของกระดูกอ่อน เป็นสารควบคุมการทำงานของเซลล์บางชนิด และเป็นตัวแลกเปลี่ยนสารอาหารและของเสียของกระดูกอ่อนผิวข้อ (Laurent et al., 1996) และจากการที่โปรตีโอไกลแคนเป็นสารมีประจุลบ สารประกอบนี้จึงเกิดการผลักกันเอง และชอบดึงน้ำเข้ามา จึงทำให้กระดูกอ่อนมีลักษณะตึง ยืดหยุ่น และสามารถทนต่อแรงกดได้ (กรกฎ, 2008; Weisbrode, 1995) ส่วนไกลโคโปรตีนเป็นสารประกอบที่มีหลายชนิดและมีหน้าที่หลากหลายเช่นหน้าที่การสื่อสารระหว่างกระดูกอ่อนอื่น หรือเป็นโครงสร้างของเซลล์ เป็นต้น (กรกฎ, 2008; Todhunter and Johnston, 2003)



ภาพที่ 1 : องค์ประกอบของกระดูกอ่อนผิวข้อ (ปรับปรุงจาก <http://www.nature.com>)

ส่วนประกอบอื่นของข้อซึ่งได้แก่เยื่อหุ้มข้อ น้ำไขข้อ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และเอ็นต่าง ๆ นั้น มีหน้าที่แตกต่างกันไป ในส่วนของเยื่อหุ้มข้อนั้นเป็นเนื้อเยื่อที่อยู่ชั้นในสุดของถุงหุ้มข้อ (joint capsule) โดยเยื่อหุ้มข้อนี้เป็นส่วนที่มีเส้นเลือด น้ำเหลืองและเส้นประสาทมาเลี้ยง ทำหน้าที่ในกระบวนการเก็บกินสิ่งแปลกปลอม (phagocytosis) และสร้างน้ำไขข้อ ซึ่งน้ำไขข้อมีส่วนประกอบสำคัญคือไฮยาลูโรแนน ไฮยาลูโรแนนในน้ำไขข้อนอกจากจะมีหน้าที่ช่วยหล่อลื่นแล้ว ยังช่วยป้องกันข้อจากสารสื่ออักเสบ (Moreland, 2003) และส่งผลให้น้ำไขข้อมีความหนืด โดยปกติแล้วของไฮยาลูโรแนนในน้ำไขข้อสุนัขจะมีความเข้มข้นประมาณ 2.3 ± 0.2 mg/ml (Smith et al., 2001) จากการศึกษาของ Balazs (Balazs, 1974) พบว่า เมื่อเกิดข้ออักเสบหรือข้อเสื่อม ไฮยาลูโรแนนในน้ำไขข้อจะลดลงทั้งด้านจำนวนและขนาด ซึ่งส่งผลให้ความหนืดของน้ำไขข้อลดลง ในขณะที่ส่วนสุดท้ายคือเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และเอ็นต่าง ๆ มีหน้าที่เพิ่มความมั่นคง และช่วยในการเคลื่อนไหวของข้อกระดูก (กรกฎ, 2008; Todhunter and Johnston, 2003)

เมื่อข้อกระดูกเริ่มเสื่อมสภาพจากปัจจัยดังที่กล่าวแล้วข้างต้น พยาธิสภาพของข้อจะเริ่มเกิดขึ้น ซึ่งมีการศึกษาในด้านพยาธิวิทยาของโรคข้อเสื่อมหลายการศึกษาทั้งในมนุษย์ และในสัตว์หลายชนิด เช่นการศึกษาในสุนัขของ Gilbertson (Gilbertson, 1975) เรื่องการเกิดกระดูกงอกในภาวะข้อเสื่อมในสุนัข การศึกษาของ Visco และคณะ (Visco et al., 1996) ในหัวข้อการเปรียบเทียบการทำให้เกิดภาวะข้อเสื่อมในสุนัข โดยการเปรียบเทียบวิธีการของ Pond-Nuki และวิธีเปิดผ่าข้อเข้า การศึกษาการเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมในสุนัขโดยการเจาะร่อง (groove model) โดย Mastbergen และคณะ (Mastbergen et al., 2006) และ Marijnissen และคณะ (Marijnissen et al., 2002) และการศึกษาด้านจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อสุนัขที่มีภาวะข้อเสื่อมของ Cook และคณะ (Cook et al., 2010) เป็นต้น ส่วนสัตว์ชนิดอื่นก็มีการทำการศึกษาในเรื่องพยาธิวิทยาของภาวะข้อเสื่อมเช่นกัน ซึ่งโดยมากแล้วจะทดลองในสัตว์ทดลอง เช่นการศึกษาในกระต่ายของ Yoshioka และคณะ (Yoshioka et al., 1996) การศึกษาในหนูของ Kamekura และคณะ (Kamekura et al., 2005) และ Levin และคณะ (Levin et al., 1999) เป็นต้น จากการศึกษาข้างต้นสามารถกล่าวถึงพยาธิสภาพโดยสรุปว่า ในขั้นแรกนั้น พยาธิสภาพจะเกิดขึ้นกับกระดูกอ่อนผิวข้อในบริเวณที่รับน้ำหนักมาก่อน รอยโรคที่สามารถพบได้คือสิ่งที่เปลี่ยนแปลงไป ความขรุขระ รอยแตก ลักษณะผิว และการลอกหลุดของกระดูกอ่อนผิวข้อ ต่อมาเมื่อเกิดการเกิดมากขึ้น ส่วนอื่นๆของข้อจะเกิดการ

เปลี่ยนแปลงเช่นกัน คือการสร้างกระดูกงอกบริเวณรอบข้อ การลอกหลุดของกระดูกอ่อนจนถึงชั้นกระดูกใต้กระดูกอ่อน ทำให้กระดูกบริเวณนี้หนาตัวขึ้น เช่นเดียวกับเยื่อข้อที่มีการเปลี่ยนสี และหนาตัวขึ้น ในส่วนของน้ำไขข้อจะพบลักษณะของการอักเสบของน้ำไขข้อและพบว่าความหนืดของน้ำไขข้อจะลดลง ส่วนทางจุลพยาธิวิทยาของข้อที่เกิดภาวะข้อเสื่อม จะพบว่าเซลล์กระดูกอ่อนจะลดจำนวนลง และมีการอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม โปรตีโอไกลแคนจะลดจำนวนลงเช่นเดียวกับคอลลาเจน เส้น tidemark จะหายไปและมีหลอดเลือดเข้ามาแทนที่ เยื่อหุ้มข้อจะพบการหนาตัว พบเซลล์เม็ดเลือดขาว และการเพิ่มจำนวนของหลอดเลือด ซึ่งแสดงถึงลักษณะของการอักเสบ เมื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของพยาธิสภาพของภาวะข้อเสื่อมในระดับเซลล์พบว่าในภาวะปกติข้อกระดูกจะมีการสร้าง และการสลายขององค์ประกอบภายในในระดับต่ำ (Hedbom and Häuselmann, 2002) โดยมีไซโตไคน์ (cytokine) ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและการสลายอยู่หลายชนิด ซึ่งไซโตไคน์เหล่านี้ถูกสร้างมาจากเซลล์กระดูกอ่อนและเยื่อหุ้มข้อ แต่เมื่อเกิดภาวะข้อเสื่อมระดับของการสร้างและการสลายจะเกิดความไม่สมดุลกัน กล่าวคือจะเกิดการสลายของคอลลาเจน โปรตีโอไกลแคน และสารประกอบอื่นเพิ่มขึ้น โดยมีไซโตไคน์สื่อการอักเสบ เช่น tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin 1 (IL-1), interleukin 17 (IL-17) และ interleukin 18 (IL-18) เป็นตัวเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ย่อยสลาย เช่น คอลลาจีเนส (collagenase) โปรตีเนส (proteases) และแมทริกซ์ เมทัลโลโปรตีเนส (matrix metalloproteinases; MMPs) มาย่อยสลายกระดูกอ่อนเมื่อเกิดภาวะนี้เซลล์กระดูกอ่อนจะตอบสนองโดยการเพิ่มจำนวน และสร้างคอลลาเจนและโปรตีโอไกลแคนมากขึ้นจากปกติเพื่อทดแทนการสูญเสีย โดยไซโตไคน์ที่มีส่วนเกี่ยวข้องคือ transforming growth factor- β (TGF- β), bone morphogenetic proteins (BMPs) และ insulin-like growth factor I (IGF-I) อย่างไรก็ตามเมื่อพยาธิสภาพรุนแรงขึ้น เซลล์กระดูกอ่อนจะไม่สามารถสร้างกระดูกอ่อนไว้ได้ เป็นผลให้เกิดการย่อยสลายมากขึ้นและเกิดรอยโรคทางกายภาพขั้นในที่สุด (Lohmander, 1994; Goldring, 1999; Martel-Pelletier et al., 1999; Poole, 1999; Sandell and Aigner, 2001; Hedbom and Häuselmann, 2002; Lorenz and Richter, 2006)

ข้อเข่าเป็นข้อหนึ่งที่เกิดการเสื่อมได้บ่อย โดยปกติแล้วข้อเข่ามีหน้าที่ 2 ประการคือการรับน้ำหนัก และการช่วยในการยืดและหดขา (Todhunter and Johnston, 2003) ส่วนประกอบที่สำคัญของข้อเข่าจะประกอบไปด้วยกระดูกแล้ว ยังประกอบไปด้วยเส้นเอ็น (ligament) จำนวนมาก ซึ่งแต่ละเส้นจะมีหน้าที่แตกต่างกันออกไป เอ็นเส้นหนึ่งที่มีความสำคัญคือเอ็นไขว้หน้าหัวเข่า (cranial cruciate ligament) ซึ่งเรียงตัวอยู่ระหว่างส่วนปลายของกระดูกต้นขา (lateral condyle of femur) กับส่วนต้นของกระดูกหน้าแข้ง (intercondyloid of tibia) เอ็นเส้นนี้มีหน้าที่ป้องกันการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของกระดูกหน้าแข้ง ช่วยป้องกันการบิดของข้อเข่า รวมถึงควบคุมมุมของการเหยียดขา (Vasseur, 2003)



ภาพที่ 2 : เอ็นไขว้หน้าหัวเข่า (ปรับปรุงจาก www.clydevetgroup.co.uk)

ภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาด เป็นปัญหาของข้อเข่าที่พบได้บ่อยในสุนัข โดยเฉพาะในสุนัขอายุมาก ในระยะยาวภาวะนี้มักจะเหนียวนาให้เกิดภาวะข้อเสื่อม อาการที่มักพบเมื่อเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดในระยะแรกคือ ขากะเผลกหรือไม่ลงน้ำหนักขา และ ข้อเข่าบวม ในระยะต่อมามักจะพบการลืบของกล้ามเนื้อ การหนาตัวของข้อ และภาวะข้อเข่าเสื่อม การตรวจวินิจฉัยภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดทำได้โดยการซักประวัติ และการตรวจร่างกายคือ การดูรูปร่างและลักษณะการเดินของสุนัข การคลำข้อเข่า และการทดสอบการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของกระดูกหน้าแข้ง (cranial drawer motion) ซึ่งมี 2 วิธีคือ cranial drawer sign และ tibial compression test นอกจากนี้การถ่ายภาพทางรังสี

วิทยา ก็เป็นทางเลือกที่สามารถช่วยสนับสนุนการวินิจฉัยของภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดเช่นกัน (Vasseur, 2003)

การรักษาภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดในสุนัขแบ่งเป็น 2 วิธีใหญ่คือ การรักษาทาง อายุรกรรม และการรักษาทางศัลยกรรม ซึ่งการรักษาทางศัลยกรรมสามารถทำได้หลากหลายวิธี เช่น Extracapsular Stabilization Technique, Tibial Plateau Leveling Osteotomy (TPLO) และ Triple Tibial Osteotomy เป็นต้น โดยแต่ละวิธีการมีข้อดีและข้อเสียต่างกันไป แต่จุดประสงค์หลักของการรักษาทางศัลยกรรมในภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดคือการทำให้อข้อเข่ามีความมั่นคง และลดโอกาสการเกิดข้อเข่าเสื่อม (Vasseur, 2003)

ในปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยภาวะข้อเสื่อมสามารถทำได้หลายวิธี เริ่มจากการซักประวัติ เจ้าของสุนัข การตรวจร่างกาย การวินิจฉัยภาพถ่ายทางรังสีวิทยา และการตรวจวินิจฉัยด้วยเครื่องมือเหล็กไฟฟ้า รวมถึงการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เช่นการตรวจน้ำไขข้อ เป็นต้น ซึ่งวิธีเหล่านี้สามารถบ่งบอกถึงรอยโรคและความรุนแรงของภาวะข้อเสื่อม แต่ไม่สามารถบอกถึงความผิดปกติในระดับโมเลกุล ซึ่งเป็นระยะสำคัญในการป้องกันไม่ให้เกิดความผิดปกติทาง กายวิภาค รวมถึงยังไม่สามารถพยากรณ์การพัฒนาของความผิดปกติได้อย่างแน่ชัด (Garnero, 2006) ดังนั้นจึงมีการคิดค้นวิธีการวินิจฉัยภาวะข้อเสื่อมในระดับโมเลกุล คือการตรวจระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) เพื่อประโยชน์ในตรวจหาความผิดปกติตั้งแต่ในระยะเริ่มแรกในระดับโมเลกุลก่อนที่รอยโรคจะพัฒนาจนแสดงออกมาให้เห็นเป็นความผิดปกติทางกายวิภาค

การตรวจระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ เป็นการตรวจวัดโมเลกุล หรือส่วนของสารประกอบที่ถูกขับออกมาในร่างกาย มีข้อดีคือสามารถตรวจความผิดปกติในระดับโมเลกุลของภาวะต่างๆก่อนการเกิดความผิดปกติทางด้านกายวิภาค และจุลกายวิภาค อีกทั้งยังสามารถบอกถึงระยะและการดำเนินไปของความผิดปกติได้ ทำให้สามารถป้องกัน และรักษาความผิดปกติต่างๆได้อย่างรวดเร็ว และแม่นยำ สารบ่งชี้ทางชีวภาพแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ ตัวชี้วัดในกระบวนการสร้าง (anabolic biomarker) และตัวชี้วัดในกระบวนการสลาย (catabolic biomarker) ในปัจจุบันมีการศึกษาด้านสารบ่งชี้ทางชีวภาพในภาวะข้อเสื่อมอย่างแพร่หลายทั้งในมนุษย์และสัตว์ ซึ่งตัวชี้วัดที่นำมาใช้ตรวจมีทั้งชนิดที่เป็นส่วนประกอบจำเพาะและไม่จำเพาะต่อภาวะข้อเสื่อม เช่น สารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6, 3-

B-3, 7-D-4 และ CS 846 ของคอนดรอยอิ-ตินซัลเฟต PIICP และ PIIANP ของคอลลาเจน ส่วนประกอบไฮยาลู-โรแนน และ Bc-3 และ Bc-14 ของเอนไซม์แมทริกซ์ เมทัลโลโปรตีนเอส เป็นต้น (กรกฎและคณะ, 2005; Caterson et al., 1995; Garnero, 2006; Garvican et al., 2010a; Garvican et al., 2010b) ซึ่งสารบ่งชี้ทางชีวภาพแต่ละชนิดจะถูกขับออกมาในช่วงเวลาที่ต่างกัน เช่น การศึกษาสารบ่งชี้ทางชีวภาพ 3-B-3 ในการศึกษาตัดเอ็นไขว้หน้าในสุนัขพบว่าสารบ่งชี้ทางชีวภาพ 3-B-3 ซึ่งเป็นตัวชี้วัดในกระบวนการสร้างจะถูกขับออกมาภายใน 3-4 สัปดาห์ และจะค่อยๆ ลดลง ส่วนสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ซึ่งเป็นตัวชี้วัดในกระบวนการสลาย จะมีระดับไม่คงที่ โดยจะเพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 3 และหลังสัปดาห์ที่ 5 เป็นต้นไป (กรกฎและคณะ, 2005; Johnson et al., 2001) ดังนั้น การตรวจระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพหลายตัวร่วมกัน จึงสามารถให้ผลการพยากรณ์ที่แม่นยำมากกว่า การตรวจระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพเพียงตัวเดียว (Williams, 2009)

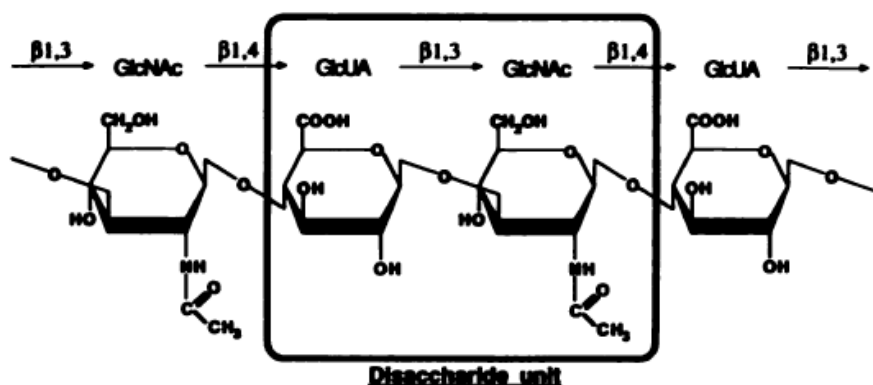
สารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 เป็นตัวชี้วัดที่เป็นส่วนประกอบจำเพาะของกระดูกอ่อน โดยเป็นตัวชี้วัดในกระบวนการสลายของ ครอนดอยอิติน ซัลเฟต ซึ่งอีพิโทป (epitope) ของสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 จะถูกจับกับโมโนโคลนอลแอนติบอดี WF6 (WF6 monoclonal antibody) แอนติบอดีชนิดนี้ เป็นแอนติบอดีที่จำเพาะต่อสาย chondroitin-6-sulfate และ chondroitin 2,6 disulfate โดยไม่ต้องใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายสายคอน-ดรอยอิตินเพื่อทำปฏิกิริยา (native chondroitin sulfate epitope) (Nganvongpanit and Ong-Chai, 2004) โมโนโคลนอลแอนติบอดี WF6 เป็นโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ถูกค้นคว้าโดยห้องปฏิบัติการวิจัยโรคกระดูกและข้อ (Bone and Joint Research Laboratories) คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (มณี et al., 2011)

ปัจจุบันการรักษาหลักสำหรับภาวะข้อเสื่อมคือการรักษาทางอายุรกรรมร่วมกับการทำกายภาพบำบัด กลุ่มยาทางอายุรกรรมที่ใช้รักษาในภาวะข้อเสื่อมมีหลายกลุ่ม ได้แก่ ยาลดปวดซึ่งเป็นกลุ่มยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ หรือยาลดปวดกลุ่มอื่น รวมถึงผลิตภัณฑ์เภสัชโภชนา ซึ่งการใช้ยาในแต่ละกลุ่มนั้นมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันออกไป แต่มีเพียงกลุ่มเดียวที่มีฤทธิ์ทั้งในการยับยั้งการเสื่อม และเสริมสร้างส่วนประกอบของข้อ คือกลุ่มผลิตภัณฑ์เภสัชโภชนา

ผลิตภัณฑ์เภสัชโภชนาที่ใช้สำหรับการรักษาภาวะข้อเสื่อมมีหลายชนิด เช่น กลูโคซามีน คอนดรอยติน ไฮยาลูโรนิกแอซิด กรดไขมันชนิดโอเมกา 3 (omega-3 fatty acid) รวมถึงวิตามิน และแร่ธาตุต่างๆ เป็นต้น จะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้เป็นสารที่มีอยู่ในข้อหรือร่างกาย ดังนั้น อันตรายที่พบจากการใช้ผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้จึงมีน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ในกลุ่มอื่น และฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์ กลุ่มนี้จะแตกต่างกันไปตามแต่ละสารตั้งต้นในผลิตภัณฑ์

ไฮยาลูโรนิกแอซิด หรือไฮยาลูโรแนนเป็นสารกลุ่มผลิตภัณฑ์เภสัชโภชนาเช่นกัน แต่ไฮยาลูโรแนนที่ใช้ในการรักษาภาวะข้อเสื่อม มักจะอยู่ในรูปแบบฉีดเข้าข้อต่อ ดังนั้นจึงมีชื่อเรียกวิธีการรักษาภาวะข้อเสื่อมชนิดนี้ว่าการฉีดสารเพิ่มความยืดหยุ่น (viscosupplementation) ดังที่กล่าวข้างต้น ไฮยาลูโรแนนทำหน้าที่ซึ่งเป็นประโยชน์กับข้อกระดูกหลายอย่าง และเมื่อข้อกระดูกเริ่มมีการเสื่อม ไฮยาลูโรแนนจะถูกทำลายจากเอนไซม์ต่างๆ ทำให้น้ำไขข้อมีความหนืดลดลง ดังนั้นจึงมีการศึกษาหลายการศึกษาที่ทดลองให้ไฮยาลูโรนิกแอซิดในรูปแบบต่างๆ เพื่อใช้ในการรักษาภาวะข้อเสื่อม เช่น ในการศึกษาของ Strauss และคณะ (Strauss et al., 2009) ในการศึกษากรีดกระดูกอ่อนในข้อเข่า กระต่ายพบว่าทำให้ไฮยาลูโรนิกแอซิดเข้าทางข้อเข่าสามารถป้องกันการอักเสบ และป้องกันกระดูกอ่อนจากการโดนทำลาย เช่นเดียวกับการศึกษาในกระต่ายของ Hulmes และคณะ (Hulmes et al., 2004) ซึ่งพบว่าไฮยาลูโรนิกแอซิดสามารถป้องกันโปรตีโอไกลแคนไม่ให้ถูกทำลาย ส่วนการศึกษาในมนุษย์โดย Wang และคณะ (Wang et al., 2004) ได้ยืนยันประสิทธิภาพของการให้ไฮยาลูโรนิกแอซิดเข้าทางข้อกระดูกในการรักษาภาวะข้อเข่าเสื่อมในมนุษย์เช่นกัน อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในหลายการศึกษาพบว่าทำให้ไฮยาลูโรนิกแอซิดไม่มีผล หรือส่งผลเสียต่อการรักษาภาวะข้อเสื่อม เช่น การศึกษาของ Gonzalez-Fuentes และคณะ (Gonzalez-Fuentes et al., 2010) พบว่าการให้ไฮยาลูโรนิกแอซิดในผู้ป่วยภาวะข้อเข่าเสื่อมอาจเร่งให้กระดูกอ่อนถูกทำลายเร็วขึ้น หรือในการศึกษาของ DeGroot และคณะ (DeGroot et al., 2012) พบว่าการให้ ไฮยาลูโรนิกแอซิดชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (low-molecular-weight hyaluronic acid) ให้ผลไม่ต่างกับการให้สารน้ำชนิด normal saline ในการรักษาภาวะข้อเข่าเสื่อมในมนุษย์ ส่วนการศึกษาในด้านอื่น เช่นการศึกษาของ Gomis และคณะ (Gomis et al., 2007) ได้ศึกษาฤทธิ์แก้ปวดของ ไฮยาลูโรนิกแอซิดในหนูตะเภา พบว่าการให้ไฮยาลูโรนิกแอซิดเข้าทางข้อกระดูกสามารถลดอาการปวดได้ จากการลดกระแสประสาทส่วนรับอาการปวด และการศึกษาของ Wobig และคณะ (Wobig et al., 1999) แสดงถึงการเปรียบเทียบ

การให้ไฮยาลูโรนิกแอซิดชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และน้ำหนักโมเลกุลสูง (high-molecular-weight hyaluronic acid) เข้าทางข้อเข่าในผู้ป่วยข้อกระดูกเสื่อม พบว่าไฮยาลูโรนิกแอซิดชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูง สามารถลดอาการปวดในผู้ป่วยได้ดีกว่า



ภาพที่ 3 : ลักษณะโครงสร้างของไฮยาลูโรแนน (ที่มา : Laurent and Fraser.,1992)

อย่างไรก็ตามการศึกษาทั้งหมดเป็นการศึกษาโดยการให้ไฮยาลูโรนิกแอซิดมากกว่า 1 ครั้ง มีเพียงการศึกษาเดียวที่ทดลองให้ไฮยาลูโรแนนเข้าข้อกระดูกหลังการผ่าตัดข้อเข่าในสุนัข คือการศึกษาของ Nganvongpanit และคณะ (Nganvongpanit et al., 2013) โดยทดลองให้ไฮยาลูโรนิกแอซิดเข้าข้อเข่าสุนัขภายหลังการผ่าตัดแก้ไขสะบ้าเคลื่อน ซึ่งผลการศึกษาโดยวัดจากระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ แสดงให้เห็นว่าการให้ไฮยาลูโรนิกแอซิดเข้าข้อเข่าสามารถลดโอกาสในการเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมได้เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ให้อย่างมีนัยสำคัญ ในระยะเวลาทำการการศึกษา 1 เดือน

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายในการศึกษาผลของไฮยาลูโรนิกแอซิดภายหลังการผ่าตัดรักษาเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาด ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานการศึกษามาก่อน โดยทำการศึกษาทั้งทางด้านการวัดระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ การประเมินอาการทางคลินิก การประเมินภาพถ่ายทางรังสีวิทยา และความพึงพอใจของเจ้าของสัตว์ เพื่อยืนยันผลของการให้ไฮยาลูโรนิกแอซิดเข้าข้อเข่าว่าสามารถลดอาการปวด และการเกิดภาวะโรคข้อเสื่อมได้หรือไม่ เพื่อเป็นทางเลือกในการใช้ผลิตภัณฑ์เภสัชโภชนาภายหลังจากผ่าตัดข้อกระดูกในสุนัขและมนุษย์ต่อไป

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 ประชากร

กลุ่มประชากรเป้าหมายของการวิจัยนี้ ได้แก่สุนัขที่ตรวจพบภาวะข้อเสื่อมในข้อต่อตำแหน่งต่างๆ และสุนัขที่เข้ารับการผ่าตัดเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาต ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล สัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 ประชากรตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่นำมาทำการวิจัยคือสุนัข อายุ 2 ถึง 10 ปี น้ำหนักระหว่าง 15 กิโลกรัม ถึง 30 กิโลกรัม ไม่จำกัดเพศ จำนวน 16 ตัว ที่เข้ารับการรักษาภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาตด้วยการผ่าตัดวิธี Extracapsular Stabilization Technique ในโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยไม่มีความผิดปกติอื่นๆ และไม่มีการขาดของเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าของขาอีกข้าง การวินิจฉัยภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาตประกอบการซักประวัติ การตรวจตรวจร่างกาย และการตรวจภาพถ่ายทางรังสีวิทยาของข้อสะโพก ข้อเข่า และกระดูกบริเวณขาหลังทั้ง 2 ข้าง โดยทำการถ่ายภาพรังสีวิทยา 2 ท่าคือ ventrodorsal extended leg และ lateral view เพื่อคัดแยกความผิดปกติอื่นๆ ออกจากภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาต

กลุ่มตัวอย่างทั้งหมดต้องได้รับความยินยอมจากเจ้าของในการเข้าร่วมการศึกษา โดยจัดทำเอกสารสำหรับการยินยอมเข้าร่วมการศึกษา รวมถึงเอกสารข้อมูลการศึกษา ที่ผ่านการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเพื่อให้เจ้าของรับทราบ และลงชื่อเพื่อยินยอมให้สุนัขเข้าร่วมในการศึกษา และจะหยุดทำการศึกษาในกรณีที่สุนัขมีความผิดปกติของระบบอื่นๆในร่างกาย สุนัขมีการขาดของเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าของขาอีกข้างระหว่างการศึกษ สุนัขเกิดผลข้างเคียงที่

เป็นอันตรายจากผลิตภัณฑ์ที่ได้รับ สุนัขเกิดปัญหาอื่นซึ่งส่งผลกระทบต่อการศึกษา หรือเจ้าของสุนัข ไม่ยินยอมให้สุนัขเข้ารับการศึกษาก่อต่อไป

3.3 การแบ่งกลุ่มตัวอย่าง

ทำการแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ตัว ด้วยวิธี blind randomized สุนัข กลุ่มที่หนึ่งจะได้รับ hyaluronic acid (Hyalgan[®]) โดยการบริหารผลิตภัณฑ์เข้าทางข้อเข่า ส่วนสุนัข กลุ่มที่สองเป็นกลุ่มควบคุม

ไฮยาลูโรนิกแอซิดที่ใช้ในการศึกษาคั้งนี้คือ hyaluronic acid sodium salt (Hyalgan[®]) ขนาดโมเลกุล 500 – 730 กิโลดาลตัน (500-730 kDa) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 1) บรรจุในไซริงค์ขนาด 2 มิลลิลิตร สำหรับฉีดเข้าข้อโดยเฉพาะ

3.4 ขั้นตอนก่อนการผ่าตัด

ก่อนทำการศึกษาสุนัขแต่ละตัวจะได้รับการตรวจร่างกายเพื่อประเมินอาการทางคลินิก การตรวจภาวะข้อเสื่อม รวมถึงการตรวจเพื่อวินิจฉัยภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาด โดยวิธี cranial drawer sign และ tibial compression test จากนั้นทำการเก็บเลือดของสุนัขแต่ละตัวจำนวนปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อนำไปตรวจค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด ตรวจวัดเอ็นไซม์ที่บ่งชี้การทำงานของตับคือ alanine aminotransferase (ALT; SGPT) และ alkaline phosphatase และสารบ่งชี้การทำงานของไตคือ ระดับยูเรียในกระแสเลือด (blood urea nitrogen; BUN) และระดับครีเอตินินในกระแสเลือด (serum creatinine) และตรวจระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 รวมถึงทำการถ่ายภาพทางรังสีวิทยาของข้อสะโพก ข้อเข่า และกระดูกบริเวณขาหลังทั้งหมด ทำการเก็บบันทึกข้อมูลเพื่อนำไปประเมินเปรียบเทียบภายหลังการศึกษา สุนัขที่มีความผิดปกติทางโลหิตวิทยา สุนัขที่ไม่เข้าเกณฑ์การตรวจร่างกาย สุนัขที่ไม่เข้าเกณฑ์ภาพถ่ายทางรังสีวิทยา ดังที่กล่าวข้างต้นจะถูกคัดออกจากการศึกษา จากนั้นเจ้าของสัตว์ที่ยินยอมให้สุนัขเข้ารับการวิจัยลงชื่อเพื่อเข้ารับการการศึกษา

3.5 ขั้นตอนการผ่าตัด

สุนัขที่เข้าร่วมการศึกษาทุกตัวจะได้รับการผ่าตัดแก้ไขภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดโดยวิธี extracapsular stabilization technique โดยเหนี่ยวนำการสลบโดยใช้ยาสลบชนิด acepromazine (Combistress®) ขนาด 0.02-0.03 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับ morphine (ผลิตโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา) ขนาด 0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เข้าทางกล้ามเนื้อต้นขา หลังจากนั้นเมื่อสุนัขซึม สุนัขจะถูกนำมานอนบนโต๊ะวางยาสลบ เปิดหลอดเลือดดำเพื่อเก็บเลือด ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ให้สารน้ำและให้ยาชักนำสลบชนิด propofol (Lipuro®) ขนาด 4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เข้าทางหลอดเลือดดำ เมื่อสุนัขสลบทำการสอดท่อช่วยหายใจ (endotracheal tube) และรักษาระดับการสลบด้วยยาสลบชนิดสูดดม isoflurane ขนาด 1.5-2 เปอร์เซ็นต์ตลอดการผ่าตัด

สุนัขทุกตัวจะได้รับการยาปฏิชีวนะชนิด cefazolin (Zefa M.H.®) ขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เข้าทางหลอดเลือดดำ จากนั้นทำการโกนขนบริเวณขาหลังด้านที่ทำการผ่าตัดตั้งแต่บริเวณต่ำกว่าระดับข้อเท้าขึ้นไปจนถึงสะโพก ทำการปลอดเชื้อด้วยสารละลายชนิด chlorhexidine scrubb นำสุนัขเข้าห้องผ่าตัด โดยนอนในท่า lateral recumbency ให้ขาข้างที่จะทำการผ่าตัดอยู่ด้านบน จากนั้นทำการปลอดเชื้ออีกครั้งหนึ่งด้วย 95% ethyl alcohol และ povidone-iodine คลุมผ้าผ่าตัดชนิดปลอดเชื้อ และพันขาบริเวณที่ไม่ได้โกนขนโดยผ้ายึดปราศจากเชื้อ

ทำการผ่าตัดโดยเปิดข้อเข่าสุนัขจากทางด้านข้าง (lateral approach) ทำการสำรวจภายในข้อเข่า และตัดส่วนที่เหลื่อมอยู่ของเอ็นไขว้หน้าหัวเข่ารวมทั้งการตัดกระดูกอ่อน meniscus ออกบางส่วนจากนั้นล้างข้อเข่า และเย็บปิดชั้นถุงหุ้มข้อเข่า โดยใช้ไหมเย็บชนิด polydioxanone (PDS-II®) ขนาด 3-0 หลังจากเย็บปิดข้อเข่า แก้ไขภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดโดยวิธี extracapsular stabilization technique ใช้ไหม CCL lateral suture system ขนาด 100 lb คล้องกระดูก lateral fabella และนำมาร้อยผ่านรูใต้กระดูกบริเวณจุดยึดเกาะของเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าเดิมบน tibial plateau ซึ่งได้ทำการเจาะไว้ก่อนแล้ว จากนั้นดึงไหมเย็บให้ตึง และผูกไหมเย็บเข้าด้วยกันโดยใช้ clamp หลังจากนั้นทำการทดสอบ cranial drawer motion ในขั้นตอนนี้สุนัขในกลุ่มทดลองจะได้รับการฉีดไฮยาลูโรนิกแอซิดเข้าข้อเข่า ส่วนกลุ่มควบคุมไม่ได้รับยาหรือสารละลายใดๆ จากนั้นเย็บ

ปิดเนื้อเยื่อและผิวหนังด้วยไหมเย็บชนิด polyglactin (Monosyn[®]) และ polyamide (Dafilon[®]) ขนาด 2-0 ถึง 4-0 ตามขนาดสุนัข

3.6 ขั้นตอนหลังการผ่าตัด

หลังผ่าตัดสุนัขทุกตัวจะได้รับยาลดอักเสบชนิด caprofen (Rimadyl[®]) ขนาด 4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เข้าทางชั้นใต้ผิวหนัง จากนั้นในวันที่ 1-4 หลังการผ่าตัดสุนัขทุกตัวจะได้รับการดูแลแผลผ่าตัด และรับยาปฏิชีวนะ cephalexin (Toflex[®]) ขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ชนิดรับประทาน วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 7 วัน ยาลดอักเสบ caprofen (Rimadyl[®]) ขนาด 4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ชนิดรับประทาน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 4 วัน และยาลดปวด tramadol hydrochloride (Anadol[®]) ขนาด 4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ชนิดรับประทาน วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นทำการตัดไหมในวันที่ 10-14 หลังการผ่าตัด

3.7 การติดตามผลการรักษา

สุนัขทุกตัวจะได้รับการประเมิน 3 ส่วนคือ การประเมินอาการทางคลินิก การประเมินภาพถ่ายทางรังสีวิทยา และการประเมินระดับเลือด และระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ การประเมินอาการทางคลินิกใช้ระบบการให้คะแนนทางคลินิก (clinical scoring system) ดังตารางที่ 1 (McCarthy et al., 2007) ระดับการกะเผลกของขา (lameness) และตารางที่ 2 การลงน้ำหนักของขา (weight bearing) และการประเมินภาพถ่ายทางรังสีวิทยา โดยการให้คะแนนตามระบบของ Kellgren และ Lawrence (Kellgren and Lawrence scoring system) ดังตารางที่ 3 (Kellgren and Lawrence, 1957; Takahashi et al., 2004) ส่วนการประเมินระดับเลือด และระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพใช้เลือดปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยการประเมินทั้ง 3 ส่วนจะทำในระยะก่อนการศึกษา และระหว่างการศึกษาในสัปดาห์ที่ 2, 4, และ 8

3.7.1 การประเมินอาการทางคลินิก

การประเมินอาการทางคลินิกประกอบด้วย การตรวจร่างกายทั่วไป การประเมินระดับการกะเผลกของขา (ตารางที่ 1) และการลงน้ำหนักของขา (ตารางที่ 2) การประเมินทำโดยให้สุนัขเดินในระยะไม่น้อยกว่า 6 เมตร จำนวน 3 ครั้ง เพื่อให้สัตวแพทย์ผู้ประเมินทำการให้คะแนนและคำนวณหาค่าเฉลี่ยคะแนนในแต่ละรอบการประเมิน เพื่อนำข้อมูลไปประเมินทางสถิติภายหลังการศึกษา โดยการประเมินอาการทางคลินิกจะทำโดยสัตวแพทย์ชุดเดิมจำนวน 2 คนตลอดการศึกษา

ตารางที่ 1 : เกณฑ์คะแนนระดับการกะเผลกของขา

ระดับคะแนน	อาการทางคลินิก
1	ไม่พบอาการขากระเผลกขณะเดิน
2	พบอาการขากระเผลกเล็กน้อยขณะเดิน
3	พบอาการขากระเผลกปานกลางขณะเดิน
4	พบอาการขากระเผลกอย่างรุนแรงขณะเดิน
5	พบอาการไม่ยอมลุกขึ้นยืน และไม่สามารถเดินได้เกิน 5 ก้าว

(คัดมาจาก McCarthy et al., 2007)

ตารางที่ 2 : เกณฑ์การลงน้ำหนักของขา

ระดับคะแนน	อาการทางคลินิก
1	ลงน้ำหนักทุกขาเท่ากันในขณะยืนและเดิน
2	ยืนปกติ ลงน้ำหนักผิดปกติเล็กน้อยขณะเดิน
3	ลงน้ำหนักได้บางส่วนในขณะยืนและเดิน
4	ลงน้ำหนักได้บางส่วนในขณะยืน ไม่ลงน้ำหนักในขณะเดิน
5	ไม่ลงน้ำหนักในขณะยืนและเดิน

(คัดมาจาก McCarthy et al., 2007)

3.7.2 การศึกษาทางรังสีวิทยา

การถ่ายภาพทางรังสีวิทยาของสุนัขในกลุ่มตัวอย่าง จะใช้ภาพถ่ายทางรังสีวิทยาของข้อเข่าในท่า anterior-posterior (AP) และ medio-lateral (ML) ซึ่งเป็นท่ามาตรฐานของการถ่ายภาพรังสีวิทยาของข้อเข่าในสุนัข โดยทำการถ่ายภาพทางรังสีวิทยาก่อนการศึกษา และระหว่างการศึกษาในสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 8 การถ่ายภาพทางรังสีวิทยาใช้ผู้ถ่ายคนเดิม การตั้งค่าเครื่องถ่ายภาพทางรังสีวิทยา จะใช้ค่า kVp และค่า mAs เดิมในสุนัขตัวเดียวกัน และการประเมินผลใช้นักรังสีวิทยาชุดเดิมจำนวน 2 คนตลอดการศึกษา โดยการให้คะแนนตามระบบของ Kellgren และ Lawrence (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 : การให้คะแนนภาพถ่ายรังสีวิทยา

ระดับคะแนน	ภาพถ่ายรังสีวิทยาที่พบ
0	ไม่พบความผิดปกติในภาพถ่ายรังสีวิทยา
1	มีความเป็นไปได้ในการพบกระดูกงอก แต่ไม่ชัดเจน
2	พบกระดูกงอกระดับเล็กน้อย
3	พบกระดูกงอกระดับปานกลางหลายตำแหน่ง พบการหนาตัวของกระดูกรอบข้อ และอาจพบการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกระดูก
4	พบกระดูกงอกขนาดใหญ่ พบการหนาตัวของกระดูกรอบข้ออย่างรุนแรง และพบการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกระดูก

(คัดมาจาก Kellgren and Lawrence, 1957; Takahashi et al., 2004)

3.7.3 การเก็บตัวอย่างเลือด

การเก็บตัวอย่างเลือดของสุนัขจะทำการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 4 ครั้ง ได้แก่การเก็บตัวอย่างเลือดก่อนการศึกษา และระหว่างการศึกษาในสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 8 ขั้นตอนคือใช้เข็มเบอร์ 22 เก็บเลือดจากหลอดเลือดดำของขาหน้า (cephalic vein) หรือขาหลัง (lateral saphenous vein) ของสุนัข จำนวน 5 มิลลิลิตร เลือดจะถูกแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ส่วนแรกปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จะถูกเก็บ

ในหลอดเก็บเลือดที่ผสมสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดชนิด ethylene diaminetetraacetic acid (EDTA) เพื่อนำไปตรวจค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด ส่วนที่สองปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จะถูกเก็บในหลอดเก็บเลือดที่ไม่ผสมสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด เพื่อนำไปตรวจวัดเอ็นไซม์ที่บ่งชี้การทำงานของตับ และสารบ่งชี้การทำงานของไต ส่วนสุดท้ายปริมาตร 4 มิลลิลิตรจะถูกเก็บในหลอดเก็บเลือดที่ไม่ผสมสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดเช่นกัน เพื่อนำไปตรวจระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6

เลือดสองส่วนแรกจะถูกเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำไปตรวจภายใน 24 ชั่วโมง โดยห้องปฏิบัติการทางโลหิตวิทยา โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) เลือดส่วนสุดท้ายปริมาตร 4 มิลลิลิตรด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงโดยใช้ความเร็วขนาด 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อเก็บซีรัมปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำซีรัมที่ได้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปตรวจระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 โดยศูนย์วิจัยเพื่อความเป็นเลิศด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.7.3.1 การตรวจค่าทางโลหิตวิทยา

การตรวจค่าทางโลหิตวิทยา แบ่งเป็น 2 ส่วนคือ การตรวจค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด ซึ่งประกอบไปด้วย การตรวจปริมาณเม็ดเลือดแดง (red blood cell; RBC) การตรวจฮีโมโกลบินในเลือด (hemoglobin) การตรวจค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit) การตรวจปริมาณเม็ดเลือดขาว (white blood cell; WBC) การตรวจแยกชนิดเม็ดเลือดขาว (differential white blood cell count) และการตรวจปริมาณเกล็ดเลือด (platelet count) ส่วนที่สองคือการตรวจวัดเอ็นไซม์ที่บ่งชี้การทำงานของตับคือ alanine aminotransferase (ALT; SGPT) และ alkaline phosphatase และสารบ่งชี้การทำงานของไตคือ ระดับยูเรียในกระแสเลือด (blood urea nitrogen; BUN) และระดับครีเอตินินในกระแสเลือด (serum creatinine)

3.7.3.2 การตรวจหาระดับ WF6

สารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ในซีรัมจะทำการตรวจด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) โดยหลักการตรวจสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ใช้วิธี competitive inhibition ELISA สารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 จะถูกจับโดย monoclonal antibody WF6 ซึ่งเป็นแอนติบอดีปฐมภูมิ (primary antibody) จากนั้นสารประกอบจะถูกเคลือบด้วย embryonic shark skeletal cartilage aggrecan เพื่อเป็นแอนติเจนและนำลง microplate จากนั้นทำการเติม conjugated anti-mouse IgM antibody ซึ่งเป็นแอนติบอดีทุติยภูมิ เพื่อทำการแปลผลสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6

โดยทำการตรวจตัวอย่างและการแปลผลทั้งหมดที่ ศูนย์วิจัยเพื่อความเป็นเลิศด้านวิศวกรรม เนื้อเยื่อ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.8 การแปลผลทางสถิติ

การแปลผลทางสถิติใช้วิธี wilcoxon sign rank test ในการประเมินภายในกลุ่ม และใช้ kruskal-wallis ANOVA test ในการประเมินระหว่างกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 2,4 และ 8 โดยการศึกษาที่ตั้งระดับความน่าเชื่อถือไว้ที่ 95% ($p < 0.05$)

บทที่ 4

วิเคราะห์ รายงานผล และอภิปรายผลการวิจัย

4.1 การวิเคราะห์เชิงพรรณนา

ผลการศึกษาพบว่าสุนัข 8 ตัวในกลุ่ม HA มีอายุเฉลี่ยที่ 6.13 ± 2.23 ปี น้ำหนัก 19.75 ± 11.69 กิโลกรัม โดยแบ่งเป็นสุนัขเพศผู้จำนวน 3 ตัว และสุนัขเพศเมียจำนวน 5 ตัว ส่วนกลุ่ม control มีอายุเฉลี่ยที่ 6.29 ± 1.80 ปี น้ำหนัก 16.36 ± 9.93 กิโลกรัม โดยแบ่งเป็นสุนัขเพศผู้จำนวน 5 ตัว และสุนัขเพศเมียจำนวน 3 ตัว โดยไม่พบความแตกต่างด้านอายุและน้ำหนักของกลุ่ม HA และกลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4 : ผลการวิเคราะห์สถิติเชิงพรรณนา

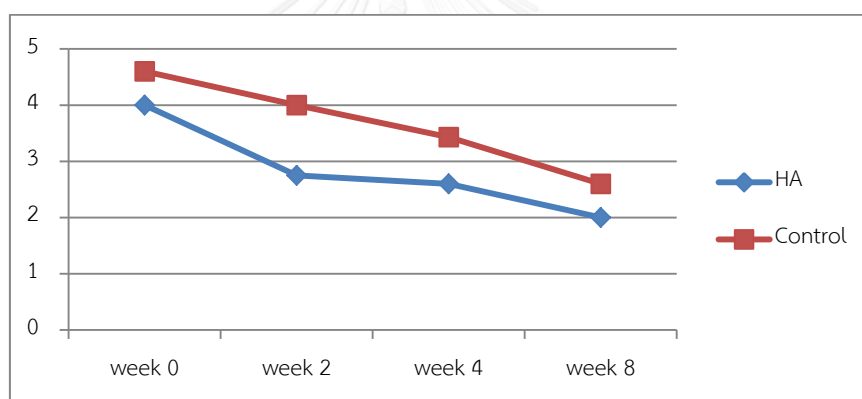
Group	N	sex		Age (yr.)	Weight (kg.)
		M	F		
HA	8	3	5	6.13 ± 2.23	19.75 ± 11.69
control	8	5	3	6.29 ± 1.80	16.36 ± 9.93

4.2.ผลการตรวจร่างกาย

จากการศึกษาพบว่า ไม่พบความผิดปกติทางกายภาพในการตรวจทางคลินิก และไม่พบความผิดปกติของค่าทางโลหิตวิทยา ของสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม ตั้งแต่เริ่มทำการศึกษาจนกระทั่งจบการศึกษาในสัปดาห์ที่ 8 และไม่มีสุนัขตัวใดถูกคัดออกจากการศึกษาตลอดการวิจัย

4.3.ผลการศึกษาระดับการกะเผลกของขา

จากการศึกษาพบว่าคะแนนระดับการกะเผลกของขาของสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม ดีขึ้นอย่างต่อเนื่อง กล่าวคือสุนัขมีการกะเผลกของขาที่ลดลง โดยผลการศึกษาภายในกลุ่มสรุปได้ว่า กลุ่ม HA พบว่าระดับการกะเผลกของขาลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบระหว่าง ก่อนการผ่าตัดและสัปดาห์ที่ 2 หลังผ่าตัด ก่อนการผ่าตัดและสัปดาห์ที่ 4 หลังผ่าตัด ก่อนการผ่าตัดและสัปดาห์ที่ 8 หลังผ่าตัด และสัปดาห์ที่ 4 หลังผ่าตัดและสัปดาห์ที่ 8 หลังผ่าตัด กลุ่ม control ระดับการกะเผลกของขาลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบระหว่างก่อนการผ่าตัด และ สัปดาห์ที่ 8 หลังการผ่าตัด และ สัปดาห์ที่ 2 หลังการผ่าตัดและสัปดาห์ที่ 8 หลังการผ่าตัด ส่วนการศึกษาระหว่างกลุ่มสรุปได้ว่าคะแนนระดับการกะเผลกของขาในกลุ่ม HA ดีกว่ากลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 2 ($p < 0.05$)

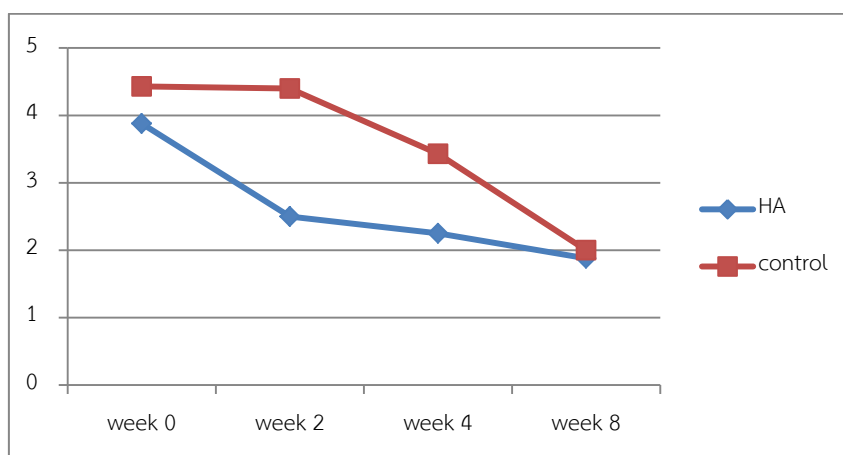


แผนภูมิที่ 1 : แสดงผลการศึกษาค่าเฉลี่ยคะแนนระดับการกะเผลกของขาของสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม โดยแกนนอนแสดงระยะเวลาในการศึกษา ส่วนแกนตั้งแสดงถึงคะแนนระดับการกะเผลกของขา เส้นสีฟ้าคือคะแนนระดับการกะเผลกของขาในกลุ่ม HA ส่วนเส้นสีแดง คือคะแนนระดับการกะเผลกของขาในกลุ่ม control

4.4.ผลการศึกษาระดับการลงน้ำหนักของขา

จากการศึกษาพบว่าคะแนนระดับการลงน้ำหนักของสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม ดีขึ้นอย่างต่อเนื่อง เช่นเดียวกับระดับการกะเผลกของขา ซึ่งแปลผลได้ว่าสุนัขมีการลงน้ำหนักของขาดีขึ้น โดยผลการศึกษาภายในกลุ่มสรุปได้ว่า กลุ่ม HA พบว่าคะแนนระดับการลงน้ำหนักของขาดีขึ้นอย่างมี

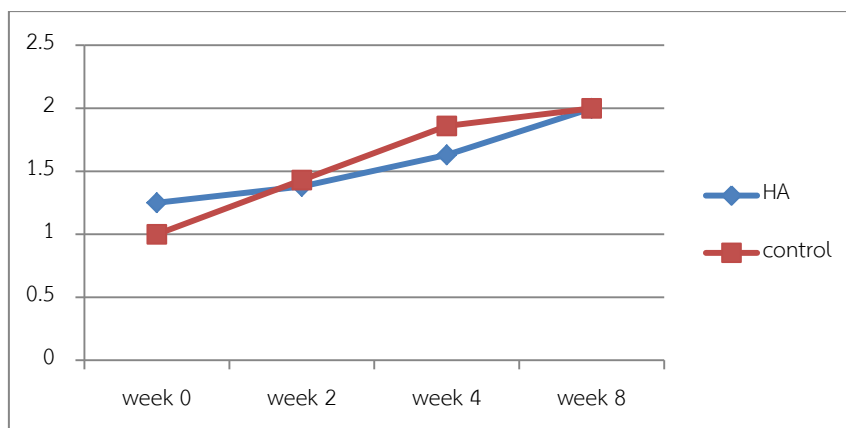
นัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบระหว่างก่อนการผ่าตัดและสัปดาห์ที่ 2 หลังผ่าตัด ก่อนการผ่าตัดและสัปดาห์ที่ 4 หลังผ่าตัด และก่อนการผ่าตัดและสัปดาห์ที่ 8 หลังผ่าตัด กลุ่ม control คะแนนระดับการการลงน้ำหนักของขาดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบระหว่างก่อนการผ่าตัด และสัปดาห์ที่ 4 หลังการผ่าตัด ก่อนการผ่าตัด และสัปดาห์ที่ 8 หลังการผ่าตัด และสัปดาห์ที่ 2 หลังการผ่าตัดและสัปดาห์ที่ 8 หลังการผ่าตัด ส่วนการศึกษาระหว่างกลุ่มสรุปได้ว่า คะแนนระดับการการลงน้ำหนักของขาในกลุ่ม HA ต่ำกว่ากลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 2 ($p < 0.05$)



แผนภูมิที่ 2 : แสดงผลการศึกษาค่าเฉลี่ยคะแนนระดับการลงน้ำหนักของขาของสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม โดยแกนนอนแสดงระยะเวลาในการศึกษา ส่วนแกนตั้งแสดงถึงคะแนนระดับการลงน้ำหนักของขา เส้นสีฟ้าคือคะแนนระดับการลงน้ำหนักของขาในกลุ่ม HA ส่วนเส้นสีแดง คือคะแนนระดับการลงน้ำหนักของขาในกลุ่ม control

4.5.ผลการตรวจทางรังสีวิทยา

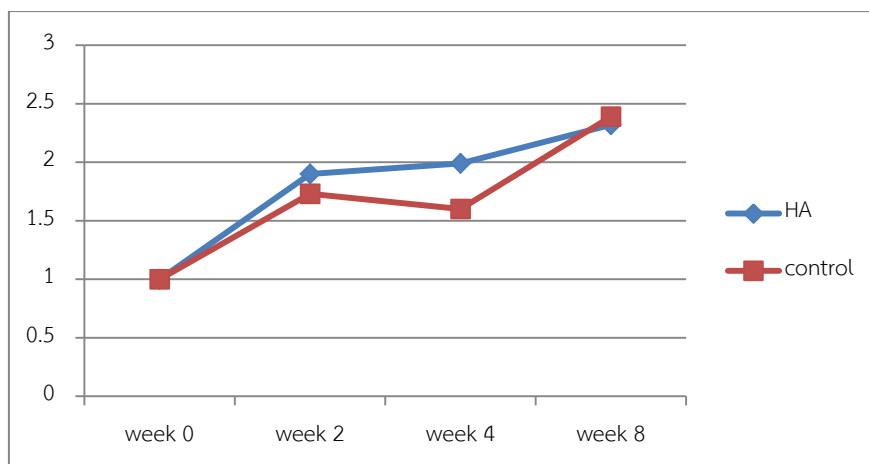
จากการศึกษาพบว่าระดับคะแนนภาพถ่ายทางรังสีวิทยาของสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งแปลผลได้ว่าสุนัขทั้ง 2 กลุ่มมีกระดูกงอกเพิ่มขึ้น โดยผลการศึกษารายในกลุ่มสรุปได้ว่า กลุ่ม HA ระดับคะแนนภาพถ่ายทางรังสีวิทยาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบระหว่างก่อนการผ่าตัด และสัปดาห์ที่ 8 หลังการผ่าตัด ส่วนกลุ่ม control พบว่าระดับคะแนนภาพถ่ายทางรังสีวิทยาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบระหว่างก่อนการผ่าตัด และสัปดาห์ที่ 4 หลังการผ่าตัด ก่อนการผ่าตัด และสัปดาห์ที่ 8 หลังการผ่าตัด และสัปดาห์ที่ 2 หลังการผ่าตัดและสัปดาห์ที่ 8 หลังการผ่าตัด ในขณะที่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการศึกษาระหว่างกลุ่ม ($p > 0.05$)



แผนภูมิที่ 3 : แสดงผลการศึกษาค่าเฉลี่ยคะแนนภาพถ่ายทางรังสีวิทยาของสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม โดยในแกนนอนแสดงระยะเวลาในการศึกษา ขณะที่แกนตั้งแสดงระดับคะแนนภาพถ่ายทางรังสีวิทยา เส้นสีฟ้าคือระดับคะแนนในกลุ่ม HA ส่วนเส้นสีแดง คือระดับคะแนนในกลุ่ม control

4.6.ผลการศึกษาระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ในซีรัม

จากการศึกษาพบว่าระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ในซีรัมของสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม สูงขึ้นใน 2 สัปดาห์แรกหลังการผ่าตัด จากนั้นเริ่มคงที่ในสัปดาห์ที่ 2 ถึง สัปดาห์ที่ 4 และสูงขึ้นอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 4 ถึง สัปดาห์ที่ 8 โดยที่ซีรัมในกลุ่ม HA จะสูงกว่าในกลุ่ม control เล็กน้อย ยกเว้นในสัปดาห์ที่ 8 ซึ่งซีรัมในกลุ่ม control มีระดับสูงกว่า อย่างไรก็ตามระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ของทั้ง 2 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)



แผนภูมิที่ 4 : แสดงผลการศึกษาค่าเฉลี่ยระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ในซีรัมของสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม โดยในแกน
 นอนแสดงระยะเวลาในการศึกษา ขณะที่แกนตั้งแสดงถึงระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ในซีรัม (ng/ml) เส้นสีฟ้า
 คือระดับ WF6 ในกลุ่ม HA ส่วนเส้นสีแดง คือระดับ WF6 ในกลุ่ม control

4.7. วิจารณ์ผลการศึกษา

การเกิดภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าเสื่อมในสุนัขนั้นมักเกิดได้จาก 2 สาเหตุคือ การบาดเจ็บ ซึ่งมักจะพบได้บ่อยในลูกสุนัข และการเกิดภาวะอักเสบของน้ำในข้อต่อร่วมกับการเสื่อมของเอ็นไขว้หน้า เนื่องจากเกิดการเสื่อมของข้อเข่าเป็นเวลานาน ซึ่งมักพบได้ในสุนัขอายุมาก (Hayashi et al., 2004) ซึ่งต่างจากในมนุษย์ที่มักจะมีสาเหตุจากอุบัติเหตุ โดยช่วงอายุของสุนัขที่มักเกิดมักอยู่ในระหว่าง 7-10 ปี (Whitehair et al., 1993) ซึ่งใกล้เคียงกับผลการศึกษานี้คือ 6.13 ± 2.23 ปีในกลุ่ม HA และ 6.29 ± 1.80 ปี ในกลุ่มควบคุม ส่วนเพศของสุนัขไม่พบว่ามีเกี่ยวข้องกับภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าเสื่อม ในขณะที่น้ำหนักของสุนัขที่พบภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าเสื่อมได้บ่อยคือ 22 กิโลกรัมขึ้นไป (Whitehair et al., 1993) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษานี้ที่อยู่ในช่วง 19.75 ± 11.69 กิโลกรัม ในกลุ่ม HA และ 16.36 ± 9.93 กิโลกรัม ในกลุ่มควบคุม โดยจากการศึกษาครั้งนี้อายุ และน้ำหนักของสุนัขทั้งสองกลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ไฮยาลูโรแนนคือสารประกอบจำพวกไกลโคซามิโนไกลแคน (glycosaminoglycan) ที่ประกอบด้วยสายโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) เชื่อมต่อกัน โดยมีองค์ประกอบเป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็ก 2 ชนิดคือ D-glucuronic acid และ N-acetyl-D-glucosamine โดยตัวเชื่อมต่อกัน β 1-3 linkage และ β 1-4 linkage ที่ปลายสายโพลีเมอร์ นักวิทยาศาสตร์พบการสังเคราะห์ไฮยาลูโรแนนภายในร่างกายจากหลายอวัยวะ โดยไฮยาลูโรแนนในน้ำไขข้อนั้นพบว่าสร้างมาจากพลาสมาเมมเบรน (plasma membrane) ของเซลล์เยื่อข้อ (synovial cell) (Laurent and Fraser, 1992) ส่วนการหมุนเวียนและการทำลายไฮยาลูโรแนนของร่างกายนั้น เริ่มจากการที่ไฮยาลูโรแนนถูกขับออกจากร่างกายผ่านทางระบบน้ำเหลือง (lymph system) โดยมีส่วนน้อยที่เข้าสู่กระแสเลือด หลังจากนั้นไฮยาลูโรแนนจะถูกนำเข้าสู่ตับ และถูกทำลายโดยเซลล์ตับ (hepatocyte) เปลี่ยนเป็น glucuronic acid และ N-acetylglucosamine โดยกระบวนการหมุนเวียนและการทำลายทั้งหมดใช้เวลาประมาณ 20 นาที และไฮยาลูโรแนนมีค่าครึ่งชีวิตหลังฉีดเข้าข้อในกระต่ายประมาณ 10-13 ชั่วโมง ตามขนาดโมเลกุลของไฮยาลูโรแนน (Brown and Laurent, 1991) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Laurent และคณะในปี 1992 (Laurent et al., 1992) ซึ่งทำการศึกษาฉีดไฮยาลูโรแนนที่เคลือบสาร [125I]-tyramine cellobiose ในกระต่ายพบว่า หลังจากผ่านไป 48 ชั่วโมง สามารถพบไฮยาลูโรแนนในน้ำไขข้อเล็กน้อย โดยไฮยาลูโรแนนที่พบมีขนาดโมเลกุลเล็กกว่าไฮยาลูโรแนนที่ให้เข้าไป

และพบไฮยาลูโรแนนในเนื้อเยื่อรอบข้อเข่าถึงร้อยละ 32 อีกทั้งยังพบสารประกอบของไฮยาลูโรแนนในเนื้อเยื่อรอบข้อเข่าอีกด้วย จึงเป็นไปได้ว่าไฮยาลูโรแนนบางส่วนไม่ได้ถูกส่งเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองหรือระบบเลือด แต่ถูกทำลายในเนื้อเยื่อบริเวณรอบข้อเข่า นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับประโยชน์ของไฮยาลูโรแนนโดย Smith และ Ghosh ในปี 1987 (Smith and Ghosh, 1987) ถึงการเหนี่ยวนำการสร้างไฮยาลูโรแนนของเซลล์เยื่อบุผิวข้อ ภายหลังจากฉีดไฮยาลูโรแนน เข้าไปในข้อเข่าของผู้ป่วยจากการศึกษาภายในห้องทดลอง พบว่ามีการสร้างไฮยาลูโรแนนจากเซลล์เยื่อข้อที่ได้รับ การฉีดไฮยาลูโรแนน จึงสามารถสรุปได้ว่า การฉีดไฮยาลูโรแนนเข้าข้อนั้น ส่งผลให้เกิดการสร้างไฮยาลูโรแนนขึ้นจากร่างกายของผู้ป่วย อีกทั้งยังมีรายงานว่า การฉีดไฮยาลูโรแนน สามารถลดการตายของเซลล์กระดูกอ่อนผิวข้ออีกด้วย (Lisignoli et al., 2001) ดังนั้นในปัจจุบัน การใช้ไฮยาลูโรแนน ในรูปแบบสารเพิ่มความยืดหยุ่นในการรักษาภาวะข้อเข่าเสื่อมในมนุษย์และสัตว์ในคลินิก จึงหวังผลในด้านช่วยรักษาภาวะข้อเข่าเสื่อม โดยกระตุ้นการสร้างไฮยาลูโรแนนในร่างกาย ลดการตายของเซลล์กระดูกอ่อนผิวข้อ ป้องกันกระดูกอ่อนจากการโดนทำลาย ป้องกันการอักเสบจากการทำหน้าที่เป็นตัวป้องกันสารสื่ออักเสบบริเวณเยื่อข้อ ทำหน้าที่เป็นตัวเก็บกวาดเซลล์อักเสบ และลดการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และแมโครฟาจ (macrophage) และลดอาการปวดภายในข้อ (Corrado et al., 1995; Moreland, 2003; Wang, 2004; Gomis et al 2007; Strauss et al., 2009)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเกิดภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดส่งผลให้สุนัขเกิดอาการกะเผลกของขา ในการศึกษาครั้งนี้จากการคำนวณทางสถิติ โดยวิธี wilcoxon sign rank test สุนัขทั้ง 2 กลุ่มมีคะแนนการกะเผลกของขาที่ดีขึ้นอย่างต่อเนื่องในแต่ละสัปดาห์ที่ประเมินอาการทางคลินิก แต่สุนัขในกลุ่มที่ได้รับการฉีดไฮยาลูโรแนนเข้าข้อเข่ามีคะแนนการกะเผลกของขาที่ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่ในสัปดาห์ที่ 2 ส่วนสุนัขในกลุ่มควบคุมมีคะแนนการกะเผลกของขาที่ดีขึ้นในอัตราส่วนที่เกือบจะเท่ากันในแต่ละครั้งที่ทำการประเมินทางคลินิก และมีคะแนนการกะเผลกของขาที่ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 8 เมื่อเทียบกับก่อนได้รับการผ่าตัด เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มโดยใช้การคำนวณทางสถิติ โดยวิธี kruskal-wallis ANOVA test สุนัขกลุ่ม HA มีคะแนนการกะเผลกของขาดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ในสัปดาห์ที่ 2 ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่า ในการศึกษาครั้งนี้การฉีดไฮยาลูโรแนนเข้าข้อเข่าส่งผลต่อการลดอาการปวดของข้อเข่าของสุนัข ทำให้สุนัขกลับมาใช้ขาได้เร็วขึ้น เนื่องจาก

ไฮยาลูโรแนนช่วยในการทำให้น้ำไขข้อมีความหนืด ช่วยหล่อลื่นข้อเข่า ทำให้เคลื่อนไหวข้อเข่าได้ดีขึ้น (Moreland, 2003) และลดกระแสประสาทส่วนรับอาการปวด ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาเรื่องการลดอาการปวดหลังการฉีดยาไฮยาลูโรแนนของ Gomis และคณะ (2007) และ Wobig และคณะ (1999) แต่ไม่สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Gonzalez-Fuentes และคณะ (2010) และ DeGroot และคณะ (2012) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการศึกษาสุนัขในคลินิก ดังนั้นจึงยังมีปัจจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับการกะเผลกของขาในการเกิดภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาด เช่น อาการปวดหลังการผ่าตัดระยะเวลาในการเกิดภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาด และการฉีกขาดของ meniscus ก่อนการผ่าตัด ซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ในการศึกษาทางคลินิก

จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าเกิดการกระตุ้นการงอกของกระดูกอ่อน เป็นผลมาจากการเกิดภาวะข้อเสื่อม การศึกษาของ Gilbertson (1975) พบว่ากระดูกงอกของข้อนั้นสามารถพบได้ตั้งแต่วันที่ 3 ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดข้อเข่าเสื่อมในสุนัข และกระบวนการนี้ยังสามารถเกิดต่อเนื่องไปอีกอย่างน้อย 48 สัปดาห์ โดยตำแหน่งที่พบกระดูกงอกของข้อได้มากคือจุดยึดเกาะของเยื่อหุ้มข้อ ตรงบริเวณจุดเชื่อมต่อระหว่างกระดูกอ่อน และเยื่อหุ้มข้อ โดยมีเอนไซม์ Transforming growth factor β (TGF β) และ Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) เป็นตัวเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างกระดูกงอกของข้อ (van der Kraan and van den Berg, 2007) ส่วนภายในข้อนั้นสามารถพบการสร้างกระดูกใหม่ภายในชั้นใต้กระดูกอ่อนโดยมีเอนไซม์ที่สำคัญคือ vascular endothelial growth factor (VEGF) เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการสร้างหลอดเลือด และเหนี่ยวนำให้เกิดการหนาตัวของกระดูกชั้นใต้กระดูกอ่อน (Hashimoto et al., 2002) ลักษณะดังกล่าวจึงถูกนำไปใช้แปลผลทางรังสีวิทยาเพื่อประเมินภาวะข้อเสื่อม

การศึกษาทางรังสีวิทยาในการศึกษานี้พบว่าระดับคะแนนภาพถ่ายทางรังสีวิทยาของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ตั้งแต่ในสัปดาห์แรกจนถึงสัปดาห์ที่ 8 โดยในกลุ่ม HA ระดับคะแนนทางรังสีวิทยาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 8 เมื่อเทียบกับกับก่อนผ่าตัด ส่วนกลุ่มควบคุมระดับคะแนนทางรังสีวิทยาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 4 อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม ผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาของ Ghosh และคณะ (1993) ซึ่งทำการศึกษาในแกะ สรุปผลได้ว่าการให้ไฮยาลูโรนิก แอซิดชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำเข้าข้อเข่า ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับคะแนนภาพถ่ายทางรังสีวิทยาเมื่อเทียบกับการฉีดยาน้ำ

อย่างไรก็ตามจากการศึกษาเดียวกันพบว่า การให้ไฮยาลูโรนิกแอซิดชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูง ทำให้เกิดกระดูกงอกรอบข้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งผู้ทำการศึกษาสรุปความเป็นไปได้ว่า ไฮยาลูโรนิกแอซิดชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูงช่วยให้น้ำไขข้อมีความหนืด ช่วยในการเคลื่อนไหวข้อเข้าได้ดีกว่า จึงทำให้สัตว์ทดลองลงน้ำหนักขาได้มากกว่ากลุ่มอื่น จึงเกิดกระดูกงอกรอบข้อเพิ่มมากขึ้นตามกระบวนการเกิดภาวะข้อเสื่อม

สารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF 6 เป็นตัวชี้วัดของคอนดรอยิติน ซัลเฟต อิพีโทป ในกระบวนการสลายคอน-ดรอยิติน ซัลเฟต ที่เป็นส่วนประกอบจำเพาะของกระดูกอ่อน สารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 จะถูกจับกับโมโน-โคลนอลแอนติบอดี WF6 ที่จำเพาะต่อสาย chondroitin--6sulfate และ chondroitin 2,6 disulfate จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า เมื่อเกิดภาวะข้อเสื่อมระดับการสลายของคอนดรอยิติน ซัลเฟต จะเพิ่มขึ้น ทำให้สารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้น (Nganvongpanit et al., 2008; Nganvongpanit et al., 2013) ดังนั้นจึงสามารถใช้สารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 เพื่อบ่งบอกถึงภาวะข้อเข่าเสื่อมได้

ในการศึกษานี้ระดับของสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทั้ง 2 กลุ่ม ระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงสัปดาห์ที่ 2 จากนั้นจะเริ่มคงที่ และเพิ่มสูงอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 4 เป็นต้นไปจนจบการศึกษาในสัปดาห์ที่ 8 โดยระดับของสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ในกลุ่ม HA สูงกว่ากลุ่มควบคุมเล็กน้อยตลอดการศึกษา ยกเว้นในสัปดาห์ที่ 8 ซึ่งลักษณะกราฟของระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพโดยรวม สอดคล้องกับการศึกษาของ Nganvongpanit และคณะ (2013) ซึ่งทำการศึกษาฉีดไฮยาลูโรนิกเข้าข้อเข่าสุนัขภายหลังการผ่าตัดแก้ไขกระดูกสะบ้าเคลื่อน อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพภายในกลุ่มการศึกษาพบว่า มีขัดแย้ง เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการศึกษาการของ Nganvongpanit และคณะพบว่า การฉีดไฮยาลูโรนเข้าข้อต่อสามารถลดระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 2-4 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ฉีดไฮยาลูโรน

จากการศึกษาเกี่ยวกับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ในครั้งนี้ ระดับของสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มมีระดับเพิ่มขึ้นจนถึงสิ้นสุดการศึกษาในสัปดาห์ที่ 8 และระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ

ระหว่างกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดการศึกษา ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าการเกิดภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาด เป็นเหตุโน้มนำให้เกิดภาวะข้อเสื่อม และแม้ว่าสุนัขทั้ง 2 กลุ่มได้รับการผ่าตัดแก้ไขโดยวิธี extracapsular stabilization technique แล้วภาวะข้อเสื่อมยังสามารถดำเนินต่อไป โดยที่การฉีดไฮยาลูโรแนน ไม่สามารถยับยั้งการเกิดภาวะข้อเสื่อมได้ในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งขัดแย้งกับหลายการศึกษาก่อนหน้านี้ที่กล่าวว่าไฮยาลูโรแนนสามารถปกป้องการถูกทำลายของเซลล์กระดูกอ่อนได้ (Corrado et al., 1995; Moreland, 2003; Wang, 2004; Gomis et al 2007; Strauss et al., 2009)

ผลการศึกษาด้านความปลอดภัยในการใช้ไฮยาลูโรแนนในการศึกษาครั้งนี้ ไม่พบความผิดปกติในกระแสเลือดตลอดการศึกษาในสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม ทั้งในการตรวจนับเม็ดเลือด (complete blood count ;CBC) และค่าเอนไซม์ SGPT, ALP, BUN และ Creatinine ซึ่งสอดคล้องกับหลายการศึกษา โดยพบความผิดปกติเพียงอย่างเดียวคืออาการปวดบวมในข้อต่อ ซึ่งจะหายได้เองใน 48 ชั่วโมงหลังให้ไฮยาลูโรแนน (Fernandez Lopez and Ruano-Ravina, 2006; Sun et al., 2006) จึงกล่าวได้ว่าไฮยาลูโรแนนเป็นผลิตภัณฑ์เภสัชโภชนาที่มีความปลอดภัยสูง อย่างไรก็ตามคำแนะนำในการให้ไฮยาลูโรนิกแอซิดเข้าข้อทั้งในมนุษย์ และสัตว์นั้นควรให้ติดต่อกันหลายครั้งภายในช่วงเวลาที่กำหนด โดยการใช้ในสัตว์นิยมทำในขณะที่สัตว์อยู่ในภาวะสลบทั้งตัว ดังนั้นจึงควรคำนึงถึงความเสี่ยงในการวางยาสลบสัตว์ และเทคนิคของผู้ฉีดไฮยาลูโรแนน อีกทั้งการศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาการฉีดไฮยาลูโรนิกแอซิดเข้าข้อหลังการผ่าตัดเพียงครั้งเดียว ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความปลอดภัยในการใช้ไฮยาลูโรนิกแอซิด ในสัตว์ต่อไป

กลุ่มควบคุมในการศึกษาครั้งนี้ ไม่ได้รับการฉีดสารน้ำเข้าในข้อเขาเพื่อเป็นยาหลอก เนื่องจากมีรายการถึงผลเสียของสารน้ำต่อกระดูกอ่อนผิวข้อ กล่าวคือสารน้ำที่ให้เข้าไปจะกระตุ้นให้เกิดการทำลายของโปรตีโอไกลแคน การหนาตัวและรอยแตกของกระดูกอ่อน และเกิดการสร้างเอนไซม์ทำลายกระดูกอ่อน สารน้ำที่ส่งผลเสียของกระดูกอ่อนมากที่สุดคือน้ำกลั่น และสารน้ำชนิดมีประจุ (ionic solution) เช่นสารละลาย NSS และสารละลาย Lactated Ringer's เป็นต้น ส่วนสารน้ำที่ส่งผลเสียกับกระดูกอ่อนน้อยคือสารน้ำจำพวกคาร์โบไฮเดรต อย่างไรก็ตามหากมีความจำเป็นในการใช้สารละลายเพื่อล้างข้อ ควรใช้สารละลายที่มีอุณหภูมิใกล้เคียงกับตัวสัตว์ (37 องศาเซลเซียส)

เนื่องจากจะทำอันตรายกับกระดูกอ่อนน้อยกว่าสารน้ำที่มีอุณหภูมิเย็น หรือร้อนเกินไป (Bert et al., 1990; Jurvelin et al., 1994; Gradinger et al., 1995; Cheng et al., 2004)

ในปัจจุบัน ผลิตภัณฑ์ไฮยาลูโรแนนที่ใช้เป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่นในการฉีดเข้าข้อต่อ มีหลายชนิด แต่ละชนิดมีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกันไป โดยสามารถแบ่งได้เป็นไฮยาลูโรแนนชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูงและ ไฮยาลูโรแนนชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ การศึกษาในครั้งนี้ใช้ไฮยาลูโรแนนชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่ 500 – 730 KDal ซึ่งจากการศึกษาให้ผลดีในด้านคะแนนการลงน้ำหนักของสุนัข แต่ไม่สามารถสรุปผลในการป้องกันการเกิดภาวะข้อเสื่อม อย่างไรก็ตามมีการศึกษาเปรียบเทียบการใช้ไฮยาลูโรแนนชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูง และไฮยาลูโรแนนชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ พบว่าการใช้ไฮยาลูโรแนนชนิดน้ำหนักโมเลกุลสูงให้ประสิทธิภาพทั้งในด้านการปกป้องกระดูกอ่อน และการลดปวดดีกว่าไฮยาลูโรแนนชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และไฮยาลูโรแนนทั้ง 2 ชนิด ให้ผลดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Wobig et al., 1999; Greenberg et al., 2006)

4.8.สรุปผลการศึกษา

จากผลการศึกษาการใช้ไฮยาลูโรแนนในการศึกษาครั้งนี้พบว่า การใช้ไฮยาลูโรแนนมีผลทำให้อาการระเผลกของขา และการลงน้ำหนักของขา หลังผ่าตัดแก้ไขภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดดีขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ใช้ไฮยาลูโรแนน ภายในสัปดาห์ที่ 2 ซึ่งสามารถแปลผลได้ว่าการใช้ไฮยาลูโรแนนทำให้อาการกลับมาใช้ขาได้เร็วขึ้น ส่วนผลทางด้านอื่นๆคือ ระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 และภาพถ่ายทางรังสีวิทยา ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในด้านความปลอดภัยไม่พบความผิดปกติของระดับค่าต่างๆในกระแสเลือดเมื่อเทียบระหว่างกลุ่มที่ให้และไม่ให้ไฮยาลูโรแนน ดังนั้นการฉีดไฮยาลูโรแนนเข้าข้อต่อจึงไม่มีผลต่อความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดและเกล็ดเลือด การถูกทำลายของเซลล์ตับ และการทำงานของไต

อย่างไรก็ตามการศึกษาค่าการใช้ไฮยาลูโรแนนหลังการผ่าตัดในคลินิกในสัตว์ยังมีน้อย และการศึกษาไม่สามารถควบคุมปัจจัยหลายด้าน เช่นระยะเวลาการเกิดภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าเสื่อม ระดับการเกิดข้อเสื่อมก่อนเข้ารับการรักษา รวมถึงความเสียหายลักษณะโครงสร้างภายในข้อเข่า ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการใช้ ไฮยาลูโรแนนในคลินิกเพิ่มเติมต่อไป

เอกสารอ้างอิง (Reference)

- Balazs EA. 1974. The Physical Properties of Synovial Fluid and the Special Role of Hyaluronic Acid. Disorders of the Knee, JB Lippincott Co., Philadelphia. 63-75.
- Bert JM, Posalaky Z, Snyder S, McGinley D and Chock C. 1990. Effect of various irrigating fluids on the ultrastructure of articular cartilage. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. 6(2): 104-111.
- Brown T and Laurent U. 1991. Turnover of hyaluronan in synovial joints: elimination of labelled hyaluronan from the knee joint of the rabbit. *Experimental physiology*. 76(1): 125-134.
- Caterson B, Hughes CE, Roughley P and Mort JS. 1995. Anabolic and catabolic markers of proteoglycan metabolism in osteoarthritis. *Acta Orthopaedica*. 66(S266): 121-124.
- Cheng S-C, Jou I, Chern T-C, Wang P-H and Chen W-C. 2004. The effect of normal saline irrigation at different temperatures on the surface of articular cartilage: an experimental study in the rat. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. 20(1): 55-61.
- Cook J, Kuroki K, Visco D, Pelletier J-P, Schulz L and Lajeunesse F. 2010. The OARSI histopathology initiative—recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the dog. *Osteoarthritis and Cartilage*. 18: S66-S79.
- Corrado E, Peluso G, Gigliotti S, De Durante C, Palmieri D, Savoia M, Oriani G and Tajana G. 1995. The effects of intra-articular administration of hyaluronic acid on osteoarthritis of the knee: a clinical study with immunological and biochemical evaluations. *European journal of rheumatology and inflammation*. 15(1): 47-56.
- DeGroot H, Uzunishvili S, Weir R, Al-omari A and Gomes B. 2012. Intra-Articular Injection of Hyaluronic Acid Is Not Superior to Saline Solution Injection for Ankle Arthritis: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *The Journal of Bone & Joint Surgery*. 94(1): 2-8.
- Felson DT. 2004. An update on the pathogenesis and epidemiology of osteoarthritis. *Radiologic clinics of North America*. 42(1): 1-9.

- Fernandez Lopez J and Ruano-Ravina A. 2006. Efficacy and safety of intraarticular hyaluronic acid in the treatment of hip osteoarthritis: a systematic review. *Osteoarthritis and Cartilage*. 14(12): 1306-1311.
- Garnero P. 2006. Use of biochemical markers to study and follow patients with osteoarthritis. *Current rheumatology reports*. 8(1): 37-44.
- Garvican ER, Vaughan-Thomas A, Clegg PD and Innes JF. 2010a. Biomarkers of cartilage turnover. Part 2: Non-collagenous markers. *The Veterinary Journal*. 185(1): 43-49.
- Garvican ER, Vaughan-Thomas A, Innes JF and Clegg PD. 2010b. Biomarkers of cartilage turnover. Part 1: Markers of collagen degradation and synthesis. *The Veterinary Journal*. 185(1): 36-42.
- Ghosh P. 1999. The pathobiology of osteoarthritis and the rationale for the use of pentosan polysulfate for its treatment. *Seminars in arthritis and rheumatism*. P 211-267.
- Ghosh P, Read R, Armstrong S, Wilson D, Marshall R and McNair P. 1993. The effects of intraarticular administration of hyaluronan in a model of early osteoarthritis in sheep I. Gait analysis and radiological and morphological studies. *Seminars in arthritis and rheumatism*. P 18-30.
- Gilbertson E. 1975. Development of periarticular osteophytes in experimentally induced osteoarthritis in the dog. A study using microradiographic, microangiographic, and fluorescent bone-labelling techniques. *Annals of the rheumatic diseases*. 34(1): 12-25.
- Gkretsi V, Simopoulou T and Tsezou A. 2011. Lipid metabolism and osteoarthritis: lessons from atherosclerosis. *Progress in lipid research*. 50(2): 133-140.
- Gomis A, Miralles A, Schmidt RF and Belmonte C. 2007. Nociceptive nerve activity in an experimental model of knee joint osteoarthritis of the guinea pig: effect of intra-articular hyaluronan application. *Pain*. 130(1): 126-136.
- Gonzalez-Fuentes AM, Green DM, Rossen RD and Ng B. 2010. Intra-articular hyaluronic acid increases cartilage breakdown biomarker in patients with knee osteoarthritis. *Clinical rheumatology*. 29(6): 619-624.

- Gradinger R, Träger J and Klauser RJ. 1995. Influence of various irrigation fluids on articular cartilage. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. 11(3): 263-269.
- Greenberg D, Stoker A, Kane S, Cockrell M and Cook J. 2006. Biochemical effects of two different hyaluronic acid products in a co-culture model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 14(8): 814-822.
- Hashimoto S, Creighton-Achermann L, Takahashi K, Amiel D, Coutts R and Lotz M. 2002. Development and regulation of osteophyte formation during experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 10(3): 180-187.
- Hayashi K, Manley PA and Muir P. 2004. Cranial cruciate ligament pathophysiology in dogs with cruciate disease: a review. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 40(5): 385-390.
- Hedbom E and Häuselmann H. 2002. Molecular aspects of pathogenesis in osteoarthritis: the role of inflammation. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. 59(1): 45-53.
- Hulmes D, Marsden M, Strachan R, Harvey R, McInnes N and Gardner D. 2004. Intra-articular hyaluronate in experimental rabbit osteoarthritis can prevent changes in cartilage proteoglycan content. *Osteoarthritis and Cartilage*. 12(3): 232-238.
- Johnson K, Hulse D, Hart R, Kochevar D and Chu Q. 2001. Effects of an orally administered mixture of chondroitin sulfate, glucosamine hydrochloride and manganese ascorbate on synovial fluid chondroitin sulfate 3B3 and 7D4 epitope in a canine cruciate ligament transection model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 9(1): 14-21.
- Jurvelin J, Jurvelin J, Kiviranta I and Klauser R. 1994. Effects of different irrigation liquids and times on articular cartilage: an experimental, biomechanical study. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. 10(6): 667-672.
- Kamekura S, Hoshi K, Shimoaka T, Chung U, Chikuda H, Yamada T, Uchida M, Ogata N, Seichi A and Nakamura K. 2005. Osteoarthritis development in novel experimental mouse models induced by knee joint instability. *Osteoarthritis and Cartilage*. 13(7): 632-641.

- Kellgren J and Lawrence J. 1957. Radiological assessment of osteo-arthritis. *Ann Rheum Dis.* 16(4): 494-502.
- Kuivaniemi H, Tromp G and Prockop DJ. 1997. Mutations in fibrillar collagens (types I, II, III, and XI), fibril-associated collagen (type IX), and network-forming collagen (type X) cause a spectrum of diseases of bone, cartilage, and blood vessels. *Human mutation.* 9(4): 300-315.
- Laurent TC and Fraser J. 1992. Hyaluronan. *The FASEB Journal.* 6(7): 2397-2404.
- Laurent TC, Laurent UB and Fraser JRE. 1996. The structure and function of hyaluronan: An overview. *Immunology and cell biology.* 74(2): A1-A7.
- Laurent UB, Fraser JRE, Engström-Laurent A, Reed RK, Dahl LB and Laurent TC. 1992. Catabolism of hyaluronan in the knee joint of the rabbit. *Matrix.* 12(2): 130-136.
- Levin D, Norman D, Zinman C, Misselevich I, Reis DN and Boss JH. 1999. Osteoarthritis-like Disorder in Rats with Vascular Deprivation—induced Necrosis of the Femoral Head. *Pathology-Research and Practice.* 195(9): 637-647.
- Lisignoli G, Grassi F, Zini N, Toneguzzi S, Piacentini A, Guidolin D, Bevilacqua C and Facchini A. 2001. Anti-Fas-induced apoptosis in chondrocytes reduced by hyaluronan: Evidence for CD44 and CD54 (intercellular adhesion molecule 1) involvement. *Arthritis & Rheumatism.* 44(8): 1800-1807.
- Lohmander LS. 1994. Articular cartilage and osteoarthritis. The role of molecular markers to monitor breakdown, repair and disease. *Journal of anatomy.* 184(Pt 3): 477.
- Lorenz H and Richter W. 2006. Osteoarthritis: cellular and molecular changes in degenerating cartilage. *Progress in histochemistry and cytochemistry.* 40(3): 135-163.
- Mankin, H.J. 1985. Synovium and Cartilage in Health and Disease. In: *Textbook of Small Animal Orthopaedics.* C.D. Newton and D.M. Nunamaker (ed.)

Philadelphia: J.B.

Lippincott Company. 90-103.

- Marijnissen A, Van Roermund P, TeKoppele J, Bijlsma J and Lafeber F. 2002. The canine 'groove' model, compared with the ACLT model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 10(2): 145-155.
- Martel-Pelletier J, Alaaeddine N and Pelletier J-P. 1999. Cytokines and their role in the pathophysiology of osteoarthritis. *Front Biosci*. 4: D694-703.
- Mastbergen SC, Marijnissen AC, Vianen ME, van Roermund PM, Bijlsma JW and Lafeber FP. 2006. The canine 'groove' model of osteoarthritis is more than simply the expression of surgically applied damage. *Osteoarthritis and Cartilage*. 14(1): 39-46.
- McCarthy G, O'Donovan J, Jones B, McAllister H, Seed M and Mooney C. 2007. Randomised double-blind, positive-controlled trial to assess the efficacy of glucosamine/chondroitin sulfate for the treatment of dogs with osteoarthritis. *The Veterinary Journal*. 174(1): 54-61.
- Moreland LW. 2003. Intra-articular hyaluronan (hyaluronic acid) and hylans for the treatment of osteoarthritis: mechanisms of action. *Arthritis Research and Therapy*. 5(2): 54-67.
- Nganvongpanit K, Boonsri B, Sripratak T and Markmee P. 2013. Effects of one-time and two-time intra-articular injection of hyaluronic acid sodium salt after joint surgery in dogs. *Journal of veterinary science*. 14(2): 215-222.
- Nganvongpanit K, Itthiarbha A, Ong-Chai S and Kongtawelert P. 2008. Evaluation of serum chondroitin sulfate and hyaluronan: biomarkers for osteoarthritis in canine hip dysplasia. *Journal of veterinary science*. 9(3): 317-325.
- Nganvongpanit K and Ong-Chai S. 2004. Changes of serum chondroitin sulfate epitope in a canine cranial cruciate ligament transection model of osteoarthritis. *Khon Kaen University Veterinary Journal*. 14: 94-103.
- Poole AR. 1999. An introduction to the pathophysiology of osteoarthritis. *Front Biosci*. 4(1): D662-670.
- Sandell LJ and Aigner T. 2001. Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis. *Arthritis Res*. 3(2): 107-113.

- Smith GN, Mickler EA, Myers SL and Brandt KD. 2001. Effect of intraarticular hyaluronan injection on synovial fluid hyaluronan in the early stage of canine post-traumatic osteoarthritis. *The Journal of rheumatology*. 28(6): 1341-1346.
- Smith M and Ghosh P. 1987. The synthesis of hyaluronic acid by human synovial fibroblasts is influenced by the nature of the hyaluronate in the extracellular environment. *Rheumatology international*. 7(3): 113-122.
- Strauss E, Schachter A, Frenkel S and Rosen J. 2009. The efficacy of intra-articular hyaluronan injection after the microfracture technique for the treatment of articular cartilage lesions. *The American journal of sports medicine*. 37(4): 720-726.
- Sun S-F, Chou Y-J, Hsu C-W, Hwang C-W, Hsu P-T, Wang J-L, Hsu Y-W and Chou M-C. 2006. Efficacy of intra-articular hyaluronic acid in patients with osteoarthritis of the ankle: a prospective study. *Osteoarthritis and Cartilage*. 14(9): 867-874.
- Takahashi M, Naito K, Abe M, Sawada T and Nagano A. 2004. Relationship between radiographic grading of osteoarthritis and the biochemical markers for arthritis in knee osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 6(3): R208-R212.
- Todhunter, R.J. and Johnston, S.A. 2003. Osteoarthritis. In: *Textbook of small animal surgery*. 3rd ed. D. Slatter (ed.) Philadelphia: Saunders: 2208-2246.
- van der Kraan PM and van den Berg WB. 2007. Osteophytes: relevance and biology. *Osteoarthritis and Cartilage*. 15(3): 237-244.
- Vasseur, P.B. 2003. Stifle Joint. In: *Textbook of small animal surgery*. 3rd ed. D. Slatter (ed.) Philadelphia: Saunders: 2090-2133.
- Visco DM, Hill MA, Widmer WR, Johnstone B and Myers SL. 1996. Experimental osteoarthritis in dogs: a comparison of the Pond-Nuki and medial arthrotomy methods. *Osteoarthritis and Cartilage*. 4(1): 9-22.
- Wang C-T, Lin J, Chang C-J, Lin Y-T and Hou S-M. 2004. Therapeutic effects of hyaluronic acid on osteoarthritis of the knee: A meta-analysis of randomized controlled trials. *The Journal of Bone & Joint Surgery*. 86(3): 538-545.

Weisbrode, S.E. 1995. Function, Structure, and Healing of the Musculoskeletal System.

In: Small Animal Orthopaedics. M.L. Olmstead (ed.) St.Louis: Mosby: 27-55.

Whitehair J, Vasseur P and Willits N. 1993. Epidemiology of cranial cruciate ligament rupture in dogs. Journal of the American Veterinary Medical Association. 203(7): 1016-1019.

Williams FM. 2009. Biomarkers: in combination they may do better. Arthritis Research and Therapy. 11(5): 130.

Wobig M, Bach G, Beks P, Dickhut A, Runzheimer J, Schwieger G, Vetter G and Balazs E. 1999. The role of elastoviscosity in the efficacy of viscosupplementation for osteoarthritis of the knee: a comparison of hylan GF 20 and a lower-molecular-weight hyaluronan. Clinical therapeutics. 21(9): 1549-1562.

Yoshioka M, Coutts RD, Amiel D and Hacker SA. 1996. Characterization of a model of osteoarthritis in the rabbit knee. Osteoarthritis and Cartilage. 4(2): 87-98.

กรรกฎ งานวงศ์พาณิชย์. 2008. โรคข้อเสื่อมในสุนัข. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: 3-106.

มณี ศพเส, รงค์ ชนัญตณ, เลิศ ปคท and ไชย ศรวอ. 2011. การศึกษา คอน ด รอย ติน ซัลเฟต โพร ดี โอ ก ลัย แคน ใน ซี รุ่ม ของ ม้า ปกติ และ ม้า ที่ เป็น โรค ข้อ เสื่อม. Chiang Mai Veterinary Medicine Journal. 1.

รายการอ้างอิง





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Group.	Week 0	Week 2	Week4	Week8
HA	3.5±0.53	2.8±0.71	2.6±1.06	2.0±1.31
Control	4.6±0.79	4.0±1.00	3.4±1.13	2.6±0.7

ตารางที่ 5 : แสดงระดับคะแนนการกะเผลกของขาของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มในแต่ละสัปดาห์

Group.	Week 0	Week 2	Week4	Week8
HA	3.4±0.52	2.5±0.53	2.3±0.71	1.9±0.99
Control	4.4±0.79	3.4±0.53	3.0±0.82	2.0±0.82

ตารางที่ 6 : แสดงระดับคะแนนการลงน้ำหนักของขาของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มในแต่ละสัปดาห์

Group.	Week 0	Week 2	Week4	Week8
HA	1.3±0.46	1.4±0.52	1.6±0.52	2.0±0.76
Control	1.00±0.00	1.4±0.53	1.9±0.38	2.0±0.00

ตารางที่ 7 : แสดงระดับคะแนนภาพถ่ายรังสีวิทยาของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มในแต่ละสัปดาห์

Group.	Week 0	Week 2	Week4	Week8
HA	189.41±442.54	286.58±672.77	291.81±666.24	399.93±942.65
Control	61.44±31.26	86.91±108.54	80.08±42.88	403.81±492.79

ตารางที่ 8 : แสดงระดับคะแนนตัวชี้วัดทางชีวภาพ WF6 ของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มในแต่ละสัปดาห์

Test Statistics^{a,b}

	Before Sx	wk2	wk4	wk8
Chi-Square	3.429	.013	.335	.482
df	1	1	1	1
Asymp. Sig.	.064	.908	.563	.487

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: group research

ตารางที่ 9 : แสดงผลการคำนวณทางสถิติของระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพ WF6 ของสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม โดยโปรแกรม SPSS 20 โดยวิธี Kruskal Wallis one way ANOVA





