

ผลการใช้แก๊สโซลีนที่มีกลูโคซามีนและคอนดรอยตินต่อภาวะข้อเสื่อมในสุนัขภายหลังเข้ารับการ
ผ่าตัดแก้ไขเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาด

นาย ปราชญ์ หมายหาทรัพย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาสัตวแพทยศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์ทางสัตวแพทย์ ภาควิชาสัตวศาสตร์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2555

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

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 Graduate School.

THE EFFECT OF GLUCOSAMINE AND CHONDROITIN NUTRACEUTICAL ON
OSTEOARTHRITIS IN DOGS AFTER ANTERIOR CRUCIATE LIGAMENT RUPTURE SURGICAL
REPAIR

Mr.Prach Maihasap

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 2012

Copyright of Chulalongkorn University

ปราชญ์ หมายหาทรัพย์สิน : ผลการใช้เภสัชโภชนาที่มีกลูโคซามีนและคอนดรอยตินต่อภาวะข้อเสื่อมในสุนัข ภายหลังเข้ารับการผ่าตัดแก้ไขเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาด (THE EFFECT OF GLUCOSAMINE AND CHONDROITIN NUTRACEUTICAL ON OSTEOARTHRITIS IN DOGS AFTER ANTERIOR CRUCIATE LIGAMENT RUPTURE SURGICAL REPAIR) อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ.น.สพ.ดร.กัมปนาท สุนทรวิภาต 63 หน้า.

กลูโคซามีนและคอนดรอยตินซัลเฟต เป็นองค์ประกอบสำคัญของโครงสร้างนอกเซลล์ของกระดูกอ่อนข้อต่อ ดังนั้นจึงได้รับความสนใจในการรักษาภาวะข้อเสื่อม โดยพบว่าสารทั้ง 2 ชนิดมีความสามารถในการรักษาสมดุลการสร้างและสลายกระดูกอ่อนข้อต่อ จึงคาดว่าน่าจะให้ผลดีในการนำมารักษาภาวะข้อเสื่อมที่เกิดขึ้น รวมถึงมีการนำมาใช้ในการรักษาภาวะข้อเสื่อมในทางการแพทย์และสัตวแพทย์อย่างแพร่หลาย แต่อย่างไรก็ตามยังมีข้อโต้แย้งถึงผลการรักษาภาวะข้อเสื่อมด้วยสารดังกล่าวทางคลินิก ดังนั้นการศึกษานี้จึงเน้นถึงผลการเปลี่ยนแปลงของอาการทางคลินิก คะแนนความเจ็บปวดขณะเดิน คะแนนการเกิดภาวะข้อเสื่อมทางรังสีวิทยา การเปลี่ยนแปลงของระดับ Hyaluronic acid (HA) และ WF6-chondroitin epitope ในกระแสเลือดโดยใช้สุนัขที่เข้ารับการผ่าตัดแก้ไขภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาด (n=12) เป็นตัวอย่างในการศึกษาภาวะข้อเสื่อม หลังจากนั้นทำการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับ glucosamine ร่วมกับ chondroitin sulfate (GsCn) (n=6) และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก (Plab) (n=6) เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าภายหลังการได้รับ glucosamine ร่วมกับ chondroitin sulfate ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อทำการประเมินด้วยคะแนนการลงน้ำหนักขา คะแนนความเจ็บปวดขณะเดิน การเปลี่ยนแปลงของระดับ HA และ WF6 ในกระแสเลือด แต่อย่างไรก็ตามพบว่าในกลุ่ม GsCn มีการลดลงของระดับ WF6 ในกระแสเลือดร่วมกับพบการสูงขึ้นของระดับ HA ในกระแสเลือดต่ำกว่ากลุ่ม Plab ซึ่งอาจบ่งชี้ว่า glucosamine และ chondroitin sulfate อาจมีผลในการชะลอการทำลายกระดูกอ่อนข้อต่อและการเกิดภาวะข้อต่ออักเสบได้เล็กน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภายในเวลา 4 สัปดาห์หลังการผ่าตัด นอกจากนี้ยังไม่พบอาการข้างเคียงและการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาภายในระยะเวลา 16 สัปดาห์ของการศึกษา

ภาควิชา.....ศัลยศาสตร์.....ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....ศัลยศาสตร์ทางสัตวแพทย์.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา.....2555.....

##5475314231##:MAJOR VETERINARY SURGERY

KEYWORDS : GLUCOSAMINE/CHONDROITIN/NEUTRACEUTICAL/CANINE/WF6/HYARULONAN/CRANIAL CRUCIATE RUPTURE.

PRACH MAIHASAP : THE EFFECT OF GLUCOSAMINE AND CHONDROITIN NUTRACEUTICAL ON OSTEOARTHRITIS IN DOGS AFTER ANTERIOR CRUCIATE LIGAMENT RUPTURE SURGICAL REPAIR.

ADVISOR : ASSOC. PROF. KUMPANART SUNTHORNVIPAT, Ph.D., 63 pp.

Glucosamine and chondroitin sulfate is a key compositions of extracellular fluid, found in articular catilage. From previous studies, glucosamine and chondrotin sulfate have a positive effect in cartilage homeostasis .From these result, both glucosamine and chondroitin sulfate were used in treatment of osteoarthritis for long time ago,even in medicine and veterinary medicine.Although,glucosamine and chondroitin sulfate were discussed about their positive effect in treatment of osteoarthritis in many research.The result from weight bearing score, lameness score, radiological score, serum level of hyaluronic acid (HA) and WF6-chondroitin epitope in dogs after correction of anterior cruciate ligament rupture operation (n=12).Compared between glucosamine /chondroitin group GsCn(n=6) and placebo group (Plab) (n=6) ,we found that glucosamine and chondroitin sulfate have a high safety index and did not show any adverse effect in 16 weeks of this study and do not have a statistic significant between groupin all parameter.For conclusion, glucosamine and chodroitin sulfate did not have a significant positive effect in osteoarthritis dog by compared lameness score, ragiological score, serum HA and WF6 level. But may slow down the degradation process of articular cartilage and synovitis.

Department : Surgery Student's Signature

Field of Study : Veterinary Surgery Advisor's Signature

Academic Year : 2012

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับทุนสนับสนุนในการทำวิจัยทุน 72 พรรษาจากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยตลอดการศึกษา

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.น.สพ.ดร. กัมปนาท สุนทรวิภาต อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยที่สละเวลาและให้ความกรุณาช่วยเหลือในการให้คำปรึกษาตลอดจนทุกขั้นตอนการทำงานวิจัย จนในที่สุดวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีในเวลาที่กำหนด

ขอกราบขอบพระคุณ ศ. น.สพ. ดร. มาริษศักดิ์ กัลล์ประวิทย์, ผศ. น.สพ. ดร. วรพันธุ์ ฦ สงขลา, ผศ. น.สพ. ดร. สุมิตร คุณรงค์ษร, รศ.นสพ.ดร. กรกฎ งานวงศ์พาณิชย์ และอ.น.สพ.ดร.ประพุดดี ปิยะวิริยะกุลกรรม การสอบวิทยานิพนธ์ที่สละเวลาในการให้คำปรึกษาและคำแนะนำ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จออกมาสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบของพระคุณสัตวแพทย์ พยาบาล ประจำแผนกศัลยกรรม โรงพยาบาลสัตว์เล็กจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รวมถึงเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้การช่วยเหลือและความมีน้ำใจในการเก็บเคสตัวอย่าง การผ่าตัด จนถึงขั้นตอนในการดูแลหลังการผ่าตัด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ญาติพี่น้อง เพื่อนฝูงรวมถึงคณาจารย์ทุกท่านที่ให้การสนับสนุน ให้กำลังใจ รวมถึงให้คำปรึกษาที่มีประโยชน์มากมาย จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีในที่สุด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ญ
สารบัญแผนภูมิ.....	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฏ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 กายวิภาคกระดูกอ่อนข้อต่อ.....	4
2.2 ภาวะข้อเสื่อม.....	8
2.3 การตรวจวินิจฉัยและการรักษาภาวะข้อเสื่อมในปัจจุบัน.....	10
2.4 กายวิภาคข้อเข่า.....	19
2.5 ภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดในสุนัข.....	22

	หน้า
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย.....	24
3.1 ประชากร.....	24
3.2 ประชากรตัวอย่าง.....	24
3.3 การแบ่งกลุ่มตัวอย่าง.....	24
3.4 ขั้นตอนก่อนการผ่าตัด.....	25
3.5 ขั้นตอนการผ่าตัด.....	25
3.6 ขั้นตอนหลังการผ่าตัด.....	26
3.7 การติดตามผลการรักษา.....	27
บทที่ 4 วิเคราะห์ รายงานผล และอภิปรายผลการวิจัย.....	32
4.1 การวิเคราะห์เชิงพรรณา.....	32
4.2 ผลการตรวจร่างกาย.....	32
4.3 ผลการให้คะแนนความเจ็บขาขณะเดิน.....	32
4.4 ผลการตรวจทางรังสีวิทยา.....	33
4.5 ผลการประเมินการเปลี่ยนแปลงระดับ WF6 ในกระแสเลือด.....	34
4.6 ผลการประเมินการเปลี่ยนแปลงระดับ HA ในกระแสเลือด.....	35
4.7 วิจัยรณัผลการศึษา.....	36
4.8 สรุปลผลการศึษา.....	44
รายการอ้างอิง.....	46
ภาคผนวก.....	60
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนั.....	62

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ระดับคะแนนการลงน้ำหนักขาของสุนัข	28
ตารางที่ 2 ระดับคะแนนความเจ็บขาของสุนัข.....	28
ตารางที่ 3 ระดับคะแนนพิสัยข้อต่อ.....	28
ตารางที่ 4 ระดับคะแนนความเจ็บปวดขณะคลำตรวจ	29
ตารางที่ 5 ระดับคะแนนทางรังสีวิทยาของภาวะข้อเสื่อมในสุนัข	30
ตารางที่ 6 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติเชิงพรรณนาของสุนัขในแต่ละกลุ่ม.....	32
ตารางที่ 7 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ HA ในทั้ง 2 กลุ่มการศึกษาแต่ละสัปดาห์.....	60
ตารางที่ 8 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ WF6 ในทั้ง 2 กลุ่มการศึกษาแต่ละสัปดาห์.....	60
ตารางที่ 9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ Radiological score ในทั้ง 2 กลุ่มการศึกษาแต่ละสัปดาห์.....	60
ตารางที่ 10 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ Lameness score ในทั้ง 2 กลุ่มการศึกษาแต่ละสัปดาห์.....	60
ตารางที่ 11 แสดงผลการคำนวณทางสถิติของระดับ WF6 ในกระแสดูระหว่าง 2 กลุ่ม.....	61
ตารางที่ 12 แสดงผลการคำนวณทางสถิติของระดับ HA ในกระแสดูระหว่าง 2 กลุ่ม.....	61

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 การเรียงตัวขององค์ประกอบต่างๆในกระดูกอ่อนข้อต่อ.....	4
ภาพที่ 2 การเรียงตัวและการรับน้ำหนักของกระดูกอ่อนข้อต่อ.....	6
ภาพที่ 3 ขั้นตอนในการพัฒนาภาวะข้อเสื่อม.....	9
ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างโมเลกุลกลูโคซามีน.....	17
ภาพที่ 5 การวิภาคข้อเข่าสุนัข.....	20
ภาพที่ 5 ลักษณะจุดยึดเกาะของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า.....	21

สารบัญแผนภูมิ

	หน้า
แผนภูมิที่ 1 แสดงการลดระดับของความเจ็บขาของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มหลังผ่าตัด.....	33
แผนภูมิที่ 2 แสดงการสูงขึ้นของระดับคะแนนการเกิดข้อเสื่อมทางรังสีวิทยาของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มหลังผ่าตัด.....	34
แผนภูมิที่ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ WF6 ในกระแสเลือดของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มหลังผ่าตัด.....	35
แผนภูมิที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ HA ในกระแสเลือดของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มหลังผ่าตัด.....	35

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

1. OCD : osteochondrosis dissicans
2. aCIR : anterior cruciate ligament resection
3. aCL : anterior cruciate ligament
4. Il : interleukin
5. TNF : tumor necrotic factor
6. MMP : matrix metallo protease
7. PdGF : platelet derived growth factor
8. IGF : insulin-like growth factor
9. HA : hyaluronic acid
10. SYMOAD : symptom modify OA drug
11. STMOAD : structure modify OA drug

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ภาวะข้อเสื่อม (osteoarthritis) เป็นภาวะความผิดปกติของข้อต่อที่ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อกระดูกอ่อนข้อต่อ ซึ่งเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงสมดุลระหว่างการทำลายและการสร้าง ส่งผลให้เกิดการอักเสบและเกิดความเสียหายต่อกระดูกอ่อนข้อต่อ (articular cartilage) เกิดความเจ็บปวดเมื่อสัตว์มีการเคลื่อนไหวข้อต่อและ สูญเสียความสามารถในการทำงานของข้อต่อนั้นๆ ในที่สุด ภาวะข้อเสื่อมเป็นภาวะที่พบได้บ่อยครั้งทางคลินิกทั้งในสุนัขและแมว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสุนัขสูงอายุโดยมักพบภาวะข้อเสื่อมที่บริเวณ ข้อสะโพก ข้อเข่า และข้อหัวไหล่ โดยอาจเกิดจากความเสื่อมของข้อต่อที่เกิดขึ้นตามอายุสัตว์หรือเกิดจากความผิดปกติที่เกิดขึ้นภายหลัง รวมถึงมีปัจจัยโน้มนำในการเกิดความเสื่อมจากพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมที่สัตว์อาศัยอยู่ อย่างไรก็ตาม ในทางการแพทย์และสัตวแพทย์ยังไม่ทราบสาเหตุการเกิดที่แน่ชัด

ภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาด (anterior cruciate ligament rupture) ในสุนัขเป็นภาวะที่พบได้มากในสุนัข โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสุนัขพันธุ์ใหญ่โดยมีสาเหตุโน้มนำมาจากหลายปัจจัย เช่น ขนาดตัว สิ่งแวดล้อม การกระแทกอย่างรุนแรง รวมถึงระดับความชันของ tibial plateau เมื่อเกิดการขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าจะส่งผลให้เกิดความไม่มั่นคงของข้อเข่า และมีการกระแทกกันระหว่างกระดูกอ่อนข้อต่อของกระดูกต้นขา (femur) และกระดูกหน้าแข้ง (tibia) ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อกระดูกอ่อนข้อต่อและเกิดภาวะข้อเสื่อมตามมาในที่สุด อย่างไรก็ตามภายหลังการผ่าตัดแก้ไขภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดเป็นเพียงการเพิ่มความมั่นคงของข้อต่อเท่านั้น ดังนั้นจึงยังเกิดภาวะข้อเสื่อมอย่างต่อเนื่องภายในข้อเข่า สุนัขที่มีภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดจึงมีความเหมาะสมอย่างมาก และได้รับความนิยมในการนำมาเป็นตัวอย่างเพื่อศึกษาภาวะข้อเสื่อมทางคลินิก เนื่องจากระบวนการเกิดข้อเสื่อมมีลักษณะในการเกิดเหมือนกับภาวะข้อเสื่อม ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในข้อต่อสุนัข (Vilensky et al., 1997) ด้วยเหตุผลดังกล่าว การศึกษานี้จึงใช้สุนัขที่เข้ารับการผ่าตัดแก้ไข

ภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดเป็นกลุ่มตัวอย่างในการศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ที่ประกอบไปด้วย กลูโคซามีน และคอนดรอยติน ซัลเฟต ต่อการรักษาภาวะข้อเสื่อมที่เกิดขึ้น

กลูโคซามีน และ คอนดรอยติน ซัลเฟต เป็นองค์ประกอบสำคัญในการสังเคราะห์ กลัยโคซามิโนกลัยแคน และ โพรตีโอกลัยแคน ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญใน โครงสร้างนอกเซลล์ของกระดูกอ่อนข้อต่อ และเป็นปัจจัยสำคัญในการทำงานของข้อต่อ เนื่องจากเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ แอกรีแคน ซึ่งทำหน้าที่ในการเพิ่มความหนืดของน้ำไขข้อเพื่อช่วยในการหล่อลื่นเมื่อมีการเคลื่อนไหว (Cox et al., 1985; Strom et al., 1989; Todhunter and Johnston, 2003) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสุนัขที่ตรวจพบภาวะข้อสะโพกเสื่อมจากภาวะข้อสะโพกเจริญผิดปกติ (canine hip dysplasia) มีอาการแสดงทางคลินิกที่ดีขึ้น รวมถึงมีความสามารถในการลงน้ำหนักขาได้มากขึ้นและแสดงอาการเจ็บปวดลดลง รวมถึงพบความสามารถในการซ่อมแซมกระดูกอ่อนข้อต่อที่มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอก ภายหลังจากได้รับผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วย กลูโคซามีน และคอนดรอยติน ซัลเฟต อย่างต่อเนื่อง (Tamai et al., 2002; McCarthy et al., 2007; Minami et al., 2011)

ดังนั้น กลูโคซามีน และ คอนดรอยติน ซัลเฟต จึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมในการนำมาใช้ในการรักษาภาวะข้อเสื่อมในมนุษย์และสัตว์อย่างแพร่หลาย แต่อย่างไรก็ตามยังคงมีการถกเถียงถึงผลการรักษาภาวะข้อเสื่อมด้วยสารดังกล่าวว่า สามารถลดระดับความรุนแรงของภาวะข้อเสื่อมที่เกิดขึ้นทางคลินิกได้จริงหรือไม่ เนื่องจากการศึกษาบางฉบับพบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสุนัขที่มีภาวะข้อเสื่อมภายหลังจากได้รับผลิตภัณฑ์ที่ประกอบไปด้วย กลูโคซามีน และ คอนดรอยติน ซัลเฟต กับสุนัขที่ได้รับยาหลอก ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Aragon et al., 2007; Henrotin et al., 2005; Henrotin et al., 2011; Mcalindon et al., 2004) ด้วยสาเหตุดังกล่าว ผลิตภัณฑ์ที่ประกอบไปด้วย กลูโคซามีน และ คอนดรอยติน ซัลเฟต จึงควรได้รับการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมถึงผลการรักษาภาวะข้อเสื่อมทางคลินิกต่อไป (Bana et al., 2006; Richette et al., 2004; Yang et al., 2004)

1.2.วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ที่มี กลูโคซามีน และคอนดรอยติน ซัลเฟต เป็นองค์ประกอบหลัก ต่อการรักษาภาวะข้อเข่าเสื่อมภายหลังเข้ารับการผ่าตัดแก้ไขภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาด โดยทำการประเมินจากการเปลี่ยนแปลงทางคลินิก คะแนนความเจ็บขาขณะเดิน คะแนนการเกิดภาวะข้อเสื่อมทางรังสีวิทยา และการเปลี่ยนแปลงของระดับตัวชี้วัดทางชีวภาพในกระแสเลือด เพื่อเป็นข้อมูลในการนำผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วย กลูโคซามีน และ คอนดรอยติน ซัลเฟต ที่มีอยู่หลายชนิดในท้องตลาดมาประยุกต์ใช้เพื่อการรักษาภาวะข้อเสื่อมในสุนัขทางคลินิกในอนาคต

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

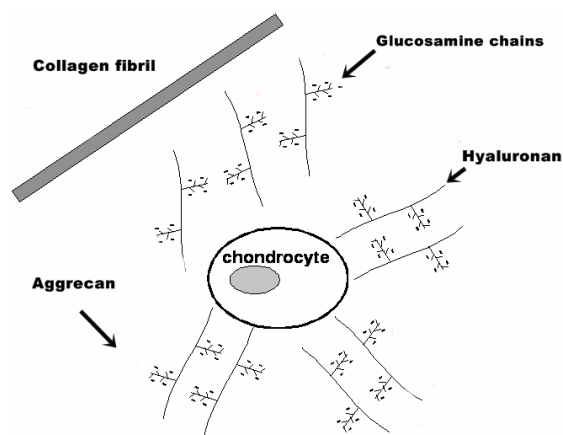
ผลการศึกษาที่ได้สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการตัดสินใจเลือกใช้ผลิตภัณฑ์เภสัชโภชนาในการรักษาภาวะข้อเสื่อมในสุนัขและแมวทางคลินิก รวมถึงยังเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาวิจัยภาวะข้อเสื่อมในสุนัขต่อไปในอนาคต

บทที่ 2

บททวนการศึกษาที่เกี่ยวข้อง

2.1 กายวิภาคของกระดูกอ่อนข้อต่อ

กระดูกอ่อนข้อต่อของสุนัขและแมวที่โตเต็มวัยจะประกอบไปด้วยน้ำมากกว่าร้อยละ 70 และสารอื่นๆ ร้อยละ 30 เมื่อคิดเป็นน้ำหนักแห้งจะประกอบไปด้วย คอลลาเจน ร้อยละ 50 (ประกอบด้วย คอลลาเจน ชนิดที่ 2 เป็นหลัก) โปรตีนโอกลัยแคน ร้อยละ 35 แร่ธาตุต่างๆ ร้อยละ 3 ไขมัน ร้อยละ 1 และเซลล์กระดูกอ่อน ร้อยละ 1-12 ตามลักษณะของข้อต่อในแต่ละตำแหน่งโดยพบว่า โปรตีนโอกลัยแคน เป็นโมเลกุลแข็งที่พบได้มากที่สุดรองจาก คอลลาเจน ชนิดที่ 2 เป็นซึ่งจะประกอบไปด้วย กลัยโคซามิโนกลัยแคน (GAGs) หนึ่งสายหรือมากกว่าเกาะจับอยู่กับ โปรตีนแกนหลักด้วยพันธะ โควาเลนต์ (รูปภาพที่ 1) โดยอาจจะแบ่งออกเป็น หลากหลายชนิดตามแต่หน้าที่ของ โปรตีนโอกลัยแคน แต่ละชนิด เช่นกลุ่มที่ทำหน้าที่ในการเกาะจับเช่น แอกรีแคน (โปรตีนโอกลัยแคนชนิดเกาะจับ) ซึ่งจะทำหน้าที่ในการเกาะจับกับโมเลกุลอื่นๆเช่น ไฮยาลูโรแนน ซึ่งเป็น น้ำตาลหลายโมเลกุล ที่สร้างมาจาก เซลล์เยื่อหุ้มข้อชนิดที่ 2 ทำหน้าที่ในการป้องกันไม่ให้สารที่มีขนาดโมเลกุลเล็กหลุดลอดออกไปจากน้ำไขข้อ (synovial fluid) หรือบางชนิดทำหน้าที่การเกาะจับกับ คอลลาเจน ชนิดที่ 1 และ 2 เป็นเพื่อสร้างความแข็งแรงให้แก่ โครงสร้างนอกเซลล์เช่น คอนดรอยติน ซัลเฟต และ เดอมาแทน ซัลเฟต (โปรตีนโอกลัยแคนชนิดที่ไม่เกาะจับ)



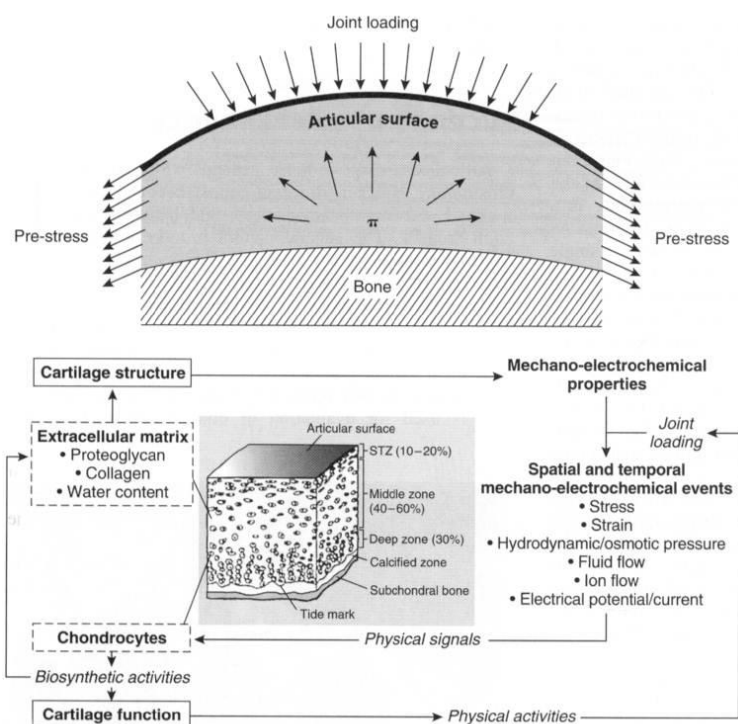
ภาพที่ 1: การเรียงตัวขององค์ประกอบต่างๆในกระดูกอ่อนข้อต่อ(ปรับปรุงจาก <http://www.physiol.ox.ac.uk>)

นอกจากนี้ยังอาจประกอบไปด้วยโมเลกุลกลัยโคโปรตีนอื่นๆ เช่น ไฟโบรเนคติน ซึ่งทำหน้าที่เป็นโครงร่างเพื่อช่วยในการยึดจับระหว่างเซลล์กระดูกอ่อนและ โครงสร้างนอกเซลล์ โดยรูปแบบของ ไฟโบรเนคติน (isoform) ที่พบได้มากที่สุดที่กระดูกอ่อนข้อต่อ (ร้อยละ 50 - 70) ได้แก่ (V+C) ไฟโบรเนคติน และจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าเมื่อเกิดความเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อจะส่งผลให้เกิดการสลาย ไฟโบรเนคตินจากโครงสร้างนอกเซลล์ ออกมาและสามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ (biomarker) เพื่อตรวจสอบความเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อที่เกิดขึ้นในระยะเริ่มแรกได้ (Steffey et al.,2004)

ในภาวะปกติเซลล์กระดูกอ่อนข้อต่อในสụnขและแมวมจะมีการเรียงตัวเป็นชั้น โดยแบ่งออกเป็น 5 ชั้นตามลักษณะการเรียงตัวของเซลล์ โดย 3 ชั้นแรกจะเป็นชั้นเซลล์กระดูกอ่อนที่ไม่มีการสะสมแร่ธาตุ (unmineralized chondrocyte zone) ประกอบไปด้วย ชั้นที่ 1 ได้แก่ tangential zone ซึ่งมีเซลล์กระดูกอ่อนที่มีขนาดเล็กและค่อนข้างแบนเป็นองค์ประกอบหลัก และชั้นนี้เป็นชั้นที่มีความหนาแน่นของเซลล์กระดูกอ่อนมากที่สุด ชั้นที่ 2 ได้แก่ transitional zone ประกอบไปด้วยเซลล์กระดูกอ่อนที่มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ในชั้นที่ 1 และมีรูปร่างค่อนข้างกลม ชั้นที่ 3 ได้แก่ radial zone ซึ่งประกอบไปด้วยเซลล์กระดูกอ่อนขนาดใหญ่เรียงตัวในแนวตั้งและเป็นชั้นที่พบว่ามีอวัยวะภายในเซลล์ (organelle) และมีการทำงานของเซลล์มากที่สุดเนื่องจากเซลล์กระดูกอ่อนในชั้นนี้เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการสร้างกระดูกแข็งของกระดูกกระยางค์ โดยเกิดกระบวนการสร้างกระดูกแบบ endochondral ossification มีการเปลี่ยนจากเซลล์กระดูกอ่อนให้เกิดมีการสะสมแร่ธาตุต่างๆและเปลี่ยนเป็นเซลล์กระดูกแข็ง (osteocyte) ในที่สุด ชั้นที่ 4 ได้แก่ calcified zone ซึ่งประกอบไปด้วยเซลล์กระดูกแข็งที่มีการสะสมแร่ธาตุต่างๆจากชั้น radial zone และชั้นที่ 5 ได้แก่ subchondral bone ซึ่งประกอบไปด้วยเซลล์กระดูก เส้นเลือด และเส้นประสาท เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน รวมถึง cytokines ในกลุ่ม proinflammatory cytokines ที่สร้างจากเซลล์กระดูกอ่อนชั้นนี้เช่น interleukin-1 (IL-1) และ tumor necrotic factor alpha (TNF- α) ซึ่งมีหน้าที่สำคัญในกระบวนการอักเสบและกระตุ้นให้เกิดการผลิต matrix metalloproteinase (MMP) ที่มีหน้าที่ในการย่อยสลายเซลล์กระดูกอ่อนข้อต่อ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง MMP-3 และ MMP-13 นอกจากนั้นยังพบการผลิต growth factors ต่างๆเช่น transforming growth factor beta (TGF- β) , insulin like growth factor (IGF) และ platelet derived

growth factor (PdGF) ซึ่ง growth factor เหล่านี้มีหน้าที่ในการควบคุมการเจริญเติบโตของ กระดูกอ่อนข้อต่อในทุกๆชั้น

รูปร่าง ความหนาแน่นและการเรียงตัว รวมถึงอัตราส่วนของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของกระดูกอ่อนในชั้นต่างๆทั้ง 5 ชั้น มีลักษณะทางกายวิภาคที่สอดคล้องกับการทำงานในการรับน้ำหนักทางกลศาสตร์ (biomechanical) ที่ส่งผ่านข้อต่อลงมายังกระดูกกระยางค์ร่วมกับการเปลี่ยนแปลงของสมดุลการไหลของน้ำไขข้อ (synovial fluid) และสารน้ำใน โครงสร้างนอกเซลล์ขณะที่เกิดการเคลื่อนที่ โดยพบว่าเซลล์กระดูกอ่อนในชั้น tangential zone จะมีความสามารถในการถ่ายเทน้ำหนักแรงเฉือน (shear loading) เนื่องจากความแบนและความหนาแน่นของเซลล์ในชั้นนี้ เซลล์ในชั้นต่อมาจะมีความสามารถในการรับน้ำหนักกดทับ (compression loading) ตามลักษณะเซลล์ที่กลมและขนาดที่ใหญ่ ร่วมกับปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มากขึ้น (รูปภาพที่ 2)



ภาพที่ 2: การเรียงตัวและการรับน้ำหนักของกระดูกอ่อนข้อต่อ (ปรับปรุงจาก: Douglas, S.2003.Textbook of small animal surgery 3th edition.Saunders:Philadelphia.p.2214.)

จากการศึกษาในปัจจุบันทั้งแพทย์และสัตวแพทย์ต่างให้ความสนใจในการทำงานของเซลล์ชั้น subchondral bone เนื่องจากเป็นชั้นเซลล์ที่มีความสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์กระดูกอ่อนข้อต่อ ดังนั้นจึงมีการตั้งข้อสังเกตว่า ภาวะข้อเสื่อมที่เกิดขึ้นอาจมีสาเหตุมาจากความผิดปกติของสมดุลการทำงานในเซลล์ชั้น subchondral bone โดยที่ในภาวะปกติเซลล์ในชั้นนี้จะทำหน้าที่สำคัญในการส่งสารอาหารไปยังเซลล์กระดูกอ่อนข้อต่อในชั้นต่างๆ เนื่องจากเซลล์กระดูกอ่อนข้อต่อนั้นเป็นเซลล์ที่ไม่มีเลือดมาเลี้ยงจึงต้องอาศัยการส่งผ่านสารอาหารและของเสียผ่านทางชั้น subchondral bone และการไหลของน้ำไขข้อ

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาพบว่า ลักษณะของเซลล์กระดูกในชั้นนี้จะประกอบไปด้วย trabecular และ cortical bone ผสมกัน โดยส่วนที่เป็น cortical bone นั้นจะให้ความแข็งแรง (stiffness) ขณะที่ trabecular bone ซึ่งมีช่องว่าง (porosity) ระหว่างเซลล์มากกว่าจะทำให้เกิดความยืดหยุ่นขึ้น (elasticity) และสามารถทนต่อความเครียด (stress) ได้มากกว่า ร้อยละ 50 ของแรงกดทับที่เกิดขึ้น

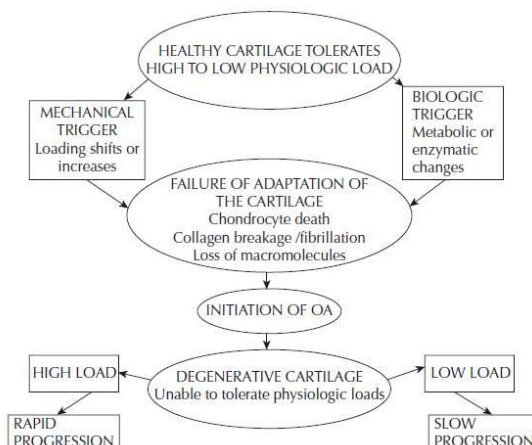
ดังนั้นเมื่อมีความผิดปกติเกิดขึ้นที่เซลล์กระดูกในชั้นนี้ จะส่งผลกระทบต่อได้รับสารอาหารและการรับน้ำหนักของกระดูกอ่อนข้อต่อ โดยในขั้นตอนของการเกิดภาวะข้อเสื่อม พบว่ามีการเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อและพบการหนาตัว (sclerosis) ของชั้น subchondral bone ส่งผลให้มีการส่งผ่านของสารอาหารไปยังกระดูกอ่อนข้อต่อลดลง จนเกิดการความผิดปกติของสมดุลในการเจริญเติบโตและการทำลายของกระดูกอ่อนข้อต่อ ทำให้เกิดการสูญเสียชั้นเซลล์กระดูกอ่อนข้อต่อในที่สุด รวมถึงสูญเสียหน้าที่ในการรับความเครียด (stress) โดยมีสาเหตุมากจากการเกิดการหนาตัวของกระดูกชั้น subchondral bone ที่เกิดจากการปรับตัวเองของเซลล์กระดูกให้มีจำนวนมากและหนาขึ้นเพื่อรับแรงกดทับให้ที่มากขึ้นในช่วงแรกของการเกิดภาวะข้อเสื่อม ส่งผลให้ความยืดหยุ่นของกระดูกอ่อนลดลงจนทำให้สูญเสียคุณสมบัติในการดูดซับแรงกระแทกของกระดูกอ่อนข้อต่อ เกิดความเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อ จนเกิดการสูญเสียสมดุลระหว่างการสร้างและการสลายของกระดูกอ่อนข้อต่อและพัฒนาเป็นภาวะข้อเสื่อมในที่สุด (Karsdal et al.,2008; Kuroki et al.,2011; Kwan Tat et al.,2010; Santos et al.,2011; Suri et al.,2011)

2.2 ภาวะข้อเสื่อม

ภาวะข้ออักเสบ(arthritis) เป็นความผิดปกติของข้อต่อที่ตรวจพบได้บ่อยครั้งในทางคลินิก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสุนัขและแมวสูงอายุ ในปัจจุบันยังไม่สามารถระบุถึงสาเหตุเริ่มต้นได้อย่างได้ อย่างชัดเจน แต่จากลักษณะการเกิดและพัฒนาการที่ต่างกันจึงอาจแบ่งภาวะข้อต่ออักเสบออกเป็น 3 แบบ ได้แก่ ภาวะข้อต่ออักเสบที่เกิดจากความเสื่อม (degenerative arthritis, osteoarthritis) ภาวะ ข้อต่ออักเสบจากการติดเชื้อ (infectious arthritis) และภาวะข้อต่ออักเสบที่เกิดจากภาวะภูมิคุ้มกัน บกพร่อง (autoimmune arthritis)

ภาวะข้ออักเสบที่สามารถตรวจพบได้บ่อยครั้งที่สุดในทางคลินิกได้แก่ ภาวะข้อต่ออักเสบที่ เกิดจากความเสื่อม อย่างไรก็ตามสาเหตุของการเกิดภาวะดังกล่าวยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดทางคลินิก แต่อย่างไรก็ตามสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด ตามลักษณะการเกิดได้แก่ ภาวะข้อเสื่อมปฐมภูมิ (primary osteoarthritis) ซึ่งพบว่ามักเกิดจากความเสื่อมที่เกิดขึ้นตามอายุหรือภาวะข้อเสื่อมทุติยภูมิ (secondary osteoarthritis) ที่มักเกิดจากภาวะโน้มนำอื่นๆ เช่นการเสียหายของเอ็นภายในข้อต่อ ส่งผลให้ข้อต่อสูญเสียความมั่นคงและเกิดการเปลี่ยนแปลงของสมดุลในการรับน้ำหนักของกระดูก อ่อนข้อต่อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า (anterior cruciate ligament rupture ; ACLR) ในสุนัขพันธุ์ใหญ่ หรือ การเกิดความเสียหายของโครงสร้างข้อต่อต่างๆ จากการได้รับ อุบัติเหตุ (traumatic induced osteoarthritis)

จากปัจจัยต่างๆเหล่านี้ ส่งผลให้เกิดความผิดปกติต่อกระบวนการทำงานของกระดูกอ่อนข้อ ต่อ และเกิดความเสียหายต่อโครงสร้างของกระดูกอ่อนข้อต่อ ร่วมกับการอักเสบของข้อต่อและถุง หุ้มข้อต่อ (synovitis) จนพัฒนาเป็นภาวะข้อเสื่อมในที่สุด (Hayami et al.,2006; Suri et al.,2011) (รูปภาพที่3)



ภาพที่ 3: ขั้นตอนในการพัฒนาภาวะข้อเสื่อม(ปรับปรุงจาก: Peter,M.2010.Advances in the canine cruciate ligament.willey Blackwell.Iowa.p.40.)

สมดุลในการเจริญเติบโตและการทำลายเซลล์กระดูกอ่อนข้อต่อ มีความสำคัญต่อการเกิดภาวะข้อเสื่อม โดยพบว่าเซลล์ที่มีหน้าที่สำคัญในการควบคุมสมดุลดังกล่าวได้แก่ เซลล์กระดูกอ่อนที่เป็นเซลล์เด็ก (chondroblast) ซึ่งเป็นเซลล์ที่เจริญเติบโตกลายเป็นเซลล์กระดูก และเซลล์เก็บกินกระดูก (osteoclast) ที่ทำหน้าที่ในการทำลายเซลล์กระดูกอ่อน โดยกระบวนการทั้ง 2 กระบวนการจะถูกควบคุมโดย cytokines และ growth hormone หลายชนิด แต่ที่มีบทบาทเด่นชัดจะแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มที่ให้ผลในเชิงยับยั้งการเจริญเติบโต ได้แก่ proinflammatory cytokines บางชนิด เช่น interleukins-1 beta (IL-1 β) , tumor necrotic factor alpha (TNF- α) และ nuclear factor-kB (NF-kB) โดยที่ IL-1 β , TNF- α และ NF-kB มีผลในการกระตุ้นให้เกิดการผลิต matrix metalloprotease (MMP) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง MMP-1, MMP-3 และ MMP-13 ที่สร้างจาก chondrocyte และส่งผลให้เกิดการทำลายองค์ประกอบต่างๆของกระดูกอ่อนข้อต่อ ขณะที่พบว่า TNF- α มีความสามารถในการกระตุ้นการเพิ่มขึ้นของตัวรับ IL-1 ที่ผนังเซลล์กระดูกอ่อน และส่งผลในการยับยั้งการสร้าง โปรตีนโอกลัยแคน และ คอลลาเจนชนิดที่ 1 และ 2 นอกจากนี้ยังพบการเพิ่มขึ้นของปริมาณ TNF- α รวมถึงปริมาณตัวรับของ TNF- α ในกระดูกอ่อนข้อต่อที่เกิดภาวะข้อเสื่อมในชั้นต้น (kammermann et al.,1996) และจากการศึกษาพบว่า nuclear factor-kB (NF-kB) เป็นตัวการสำคัญที่กระตุ้นการทำงานของ MMP จาก chondrocyte

ส่วนกลุ่มที่ให้ผลในการกระตุ้นการเจริญของกระดูกอ่อนข้อต่อ ได้แก่ growth factors บางชนิด เช่น transforming growth factor beta (TGF- β), insulin like growth factor (IGF) และ platelet derived growth factor (PDGF) โดยที่ growth factor เหล่านี้มีความสามารถในการกระตุ้นการสร้าง proteoglycan type I-II collagen รวมถึงเพิ่มการสังเคราะห์โปรตีนต่างๆซึ่งทำหน้าที่เป็น โปรตีนแกนหลัก ชนิดต่างๆที่เป็นโครงสร้างสำคัญของ โปรตีนโอกลัยแคน และกลัยโคโปรตีนที่จำเป็นอย่างต่างๆ รวมถึงยังมีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ MMP ชนิดต่างๆ ส่งผลในการลดการทำลายกระดูกอ่อนข้อต่ออีกด้วย (Doom et al., 2008)

2.3 การตรวจวินิจฉัยและการรักษาภาวะข้อเสื่อมในปัจจุบัน

ในปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยภาวะข้อเสื่อมทางคลินิก สามารถทำได้จากการตรวจร่างกาย ประเมินจากท่าทางการเดินของสัตว์ การลดลงของพิสัยข้อ (range of motion) ความเจ็บปวดของสัตว์ขณะทำการเหยียดและงอข้อต่อ (extend and flex) มีการเดินตัวเกร็ง (stiffness) ซึ่งโดยมากมักจะพบหลังจากที่สุนัขไม่ได้เคลื่อนไหวเป็นระยะเวลาานาน เมื่อทำการเจาะตรวจน้ำไขข้อ (synovial fluid) เพื่อตรวจสอบลักษณะของน้ำไขข้อ มักพบว่าปริมาณที่มากขึ้น ร่วมกับการลดลงของความหนืด (viscosity) เนื่องจากในข้อต่อที่มีภาวะข้อเสื่อมจะมีการลดลงของปริมาณ hyaluronan และ proteoglycan ชนิดอื่นๆที่มีหน้าที่ในการเพิ่มความหนืดและช่วยในการหล่อลื่นของข้อต่อในขณะที่มีการเคลื่อนไหว รวมถึงมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำที่เกิดจากการขยายตัวของเส้นเลือด จากภาวะการอักเสบของเยื่อหุ้มข้อต่อที่เกิดขึ้น ซึ่งมักเกิดร่วมกันกับภาวะข้อเสื่อม (Bruin et al., 2005) หลังจากนั้นควรนำตัวอย่างน้ำไขข้อที่ได้ไปตรวจคุณสมบัติต่างๆร่วมกับการเพาะเชื้อเพื่อทำการวินิจฉัยแยกแยะกับภาวะติดเชื้อในข้อต่อ (septic arthritis) ที่อาจเกิดได้จากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา

การตรวจวินิจฉัยทางรังสีวิทยาอาจพบการเกิดกระดูกงอก (osteophyte) ที่เกิดจากการกระตุ้นเซลล์ต้นกำเนิดบริเวณเยื่อหุ้มข้อต่อจากการเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อ จนในที่สุดเกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์และเกิดการเจริญเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์กระดูก เพื่อเพิ่มความสามารถในการรับน้ำหนักและความมั่นคงให้แก่ข้อต่อ โดยกระบวนการในการเกิดกระดูกงอกมีลักษณะการเกิดเช่นเดียวกับการเจริญเติบโตของกระดูกแบบ endochondral ossification และพบว่า TGF- β เป็น

ปัจจัยสำคัญในการกระตุ้นให้เกิด osteophyte (Blom et al.,2004) ซึ่งพบได้ใน 2-3 วันภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเสื่อม โดยพบว่ามักเกิดบริเวณที่เชื่อมข้อต่อยึดเกาะกับส่วนของกระดูกอ่อนข้อต่อ (enthesiophyte) (Gilbertson,1975; Van der Kraan et al.,2007) และสามารถตรวจพบได้จากการตรวจทางรังสีวิทยาได้เมื่อเกิดการสะสมของแคลเซียม การตรวจพบ osteophyte เป็นเกณฑ์สำคัญที่ใช้ในการประเมิน ระดับความรุนแรงของภาวะข้อเสื่อมทางรังสีวิทยา (Emrani et al.,2008; Takahashi et al.,2004) ร่วมกับการเจริญหนาตัวของชั้น subchondral bone (Kwan Tat ,2010; Karsdal et al.,2008) รวมถึงมีความสัมพันธ์กับระดับตัวชี้วัดทางชีวภาพที่เพิ่มขึ้นในซีรัมและปัสสาวะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Takahashi et al.,2004) นอกจากนี้ อาจพบการบวมของข้อต่อเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำไขข้อ โดยสามารถประเมินได้จากการลดลงปริมาณไขมันที่พบได้ในข้อเข่า (intra-fat pad) ซึ่งเป็นลักษณะที่พบได้เป็นอันดับแรกในการเกิดภาวะข้อเสื่อม การศึกษาก่อนหน้านี้ยังมีการวัดระยะห่างระหว่างข้อต่อ (joint space) ในขณะที่สุนัขยืนเพื่อทดสอบระดับความรุนแรงของโรค และพบว่าเป็นการทดสอบที่ให้ความแม่นยำและเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นองค์ประกอบในการระดับความรุนแรงของโรค (Anderst et al.,2005) แต่อย่างไรก็ตาม อาจเป็นวิธีที่ไม่สะดวกในการนำมาใช้จริงในทางคลินิกเท่าไรนัก แต่อย่างไรก็ตามการระดับความรุนแรงของความเสียหายที่เกิดขึ้นกับกระดูกอ่อนข้อต่อ ไม่สามารถตรวจวินิจฉัยได้จากการตรวจทางรังสีวิทยาเพียงอย่างเดียว ดังนั้นจึงมีการนำเทคนิคอื่น ๆ มาใช้ในการตรวจความเสียหายที่เกิดขึ้นในข้อต่อเช่นการส่องกล้อง (arthroscopy) ซึ่งให้ความแม่นยำในการวินิจฉัยสูงเนื่องจากสามารถเห็นความเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อได้โดยตรงแต่จำเป็นต้องวางยาสลบสัตว์และมีขั้นตอนในการผ่าตัดเพื่อส่องกล้องเข้าไปในข้อต่อรวมถึงมีข้อจำกัดในบางข้อต่อที่มีช่องว่างในข้อต่อน้อย เช่น ข้อสะโพก (coxofemoral joint) เป็นต้น (Ayrat et al.,2003)

การศึกษาในปัจจุบันเน้นไปในทางการพัฒนาเครื่องมือที่สามารถตรวจหา ภาวะข้อเสื่อมได้ในระยะเริ่มต้นเพื่อลดความรุนแรงของรอยโรคที่เกิดขึ้น และมุ่งหวังการควบคุมอาการเจ็บปวดที่ตรวจพบได้พบมากขึ้นในระยะเรื้อรัง โดยเครื่องมือที่ได้รับการพัฒนาในปัจจุบันอาจแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ dry biomarker และ wet biomarker (Mobasheri , 2011) dry biomarker ได้แก่เครื่องมือต่างๆที่อาศัยหลักการจากการศึกษาทางรังสีวิทยา เช่นการถ่ายภาพทางรังสีวิทยาด้วยเครื่องมือต่างๆ การศึกษาด้วยการใช้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic resonance imaging;MRI) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่

สามารถตรวจลักษณะทางกายภาพของกระดูกอ่อนได้อย่างละเอียด ดังนั้นจึงสามารถบ่งชี้ถึงภาวะข้อเสื่อมรวมถึงความผิดปกติที่เกิดขึ้นในข้อต่อได้อย่างชัดเจน เช่นเกิดการแตกหักของ medial coronoid process ในข้อศอกสุนัข (fragmented medial coronoid process; FMCP) ซึ่งตรวจพบได้ยากจากการตรวจวินิจฉัยจากภาพถ่ายทางรังสีวิทยาเพียงอย่างเดียว และสามารถตรวจพบการเกิดภาวะข้อเสื่อมตั้งแต่ในระยะเริ่มต้น รวมถึงสามารถระดับการพัฒนาของรอยโรคได้แม่นยำ แต่อย่างไรก็ตามการตรวจด้วย MRI ในปัจจุบันยังมีค่าใช้จ่ายสูงทำให้เกิดข้อจำกัดในการใช้ในทางสัตวแพทย์ในปัจจุบัน (Lozano et al.,2009; Petefly et al.,2006; Boulocher et al.,2011)

ในส่วนของ Wet biomarker ได้แก่ การตรวจหาตัวชี้วัดทางชีวภาพที่ได้จากตัวอย่าง เลือด ซีรัม น้ำไขข้อหรือปัสสาวะ โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มการสร้าง (anabolic biomarker) และกลุ่มการทำลาย (catabolic marker) ในกลุ่มการสร้างอาศัยหลักการที่ว่าร่างกายจะพยายามสังเคราะห์สารต่างๆขึ้นมาใหม่ (neo-epitope) เพื่อชดเชยจากความเสียหายที่เกิดจากภาวะข้อเสื่อม ขณะที่ในกลุ่มการทำลายอาศัยหลักการจากความเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อที่เกิดขึ้น จากภาวะข้อเสื่อมทำให้สารต่างๆที่อยู่ในกระดูกอ่อนข้อต่อ เช่น คอลลาเจนชนิดที่ 1 และ 2 หรือ โปรตีโกลัยแคน ต่างๆเกิดการหลุดออกมาอยู่ในน้ำไขข้อ (Miller et al.,1979; Wolheim et al.,1999) และถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือด จากนั้นจึงขับออกมาพร้อมกับปัสสาวะ จากหลักการดังกล่าว การตรวจพบปริมาณที่เพิ่มขึ้นของตัวชี้วัดทางชีวภาพชนิดต่างๆสามารถบ่งชี้ถึงความเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อ ที่เกิดขึ้นได้ในระยะเริ่มต้นที่มีความเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อเพียงเล็กน้อย (Trakulsantirat et al.,2010; Caterson et al.,1995; Nganvongpanit et al.,2008) แต่อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าการตรวจหาตัวชี้วัดทางชีวภาพ จะให้ความแม่นยำในการตรวจหาภาวะข้อเสื่อมที่เกิดขึ้นแต่ไม่สามารถระบุระดับความรุนแรงได้จากการตรวจเพียงครั้งเดียว ดังนั้นจึงควรทำการแปลผลร่วมกับการตรวจวินิจฉัยอื่นๆเช่น การตรวจร่างกาย การใช้ระบบการให้คะแนนความเจ็บขาขณะเดิน และการศึกษาทางรังสีวิทยาควบคู่กัน (Takahashi et al.,2004) จึงจะทำให้สามารถแปลผลระดับความรุนแรงของรอยโรคได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้น

ตัวชี้วัดทางชีวภาพที่ได้รับความสนใจในขณะนี้ได้แก่ monoclonal antibody ที่มีความจำเพาะต่อสาย คอนครอยติน ซัลเฟต (คอนครอยติน ซัลเฟต chain glycosaminoglycan) ซึ่ง

เป็นองค์ประกอบสำคัญใน โปรตีนโอกลัยแคน ชนิด aggregating โปรตีนโอกลัยแคน (aggrecan) และเป็นส่วนประกอบที่สำคัญใน โครงสร้างนอกเซลล์ของกระดูกอ่อนข้อต่อ โดยเมื่อเกิดความเสียหายต่อกระดูกอ่อนข้อต่อขึ้น จะส่งผลให้เกิดการสลายสาย คอนดรอยติน ซัลเฟต ออกมาจาก โครงสร้างของอะกรีแคน ดังกล่าวร่วมกับมีการสังเคราะห์สาย คอนดรอยติน ซัลเฟต สายใหม่ขึ้นมาทดแทน สายคอนดรอยติน ซัลเฟต ที่ถูกสลายไป โดยในทั้ง 2 กรณีสามารถตรวจพบสาย คอนดรอยติน ซัลเฟต ได้ในน้ำไขข้อ กระแสเลือด หรือในน้ำปัสสาวะ โดยสาย คอนดรอยติน ซัลเฟต ที่พบมากที่สุดในการตรวจข้อต่อได้แก่ chondroitin-4-sulfate และ chondroitin-6-sulfate (Carterson et al.,1995)

Monoclonal antibody ที่มีการนำมาศึกษา ในการวัดระดับสาย คอนดรอยติน ซัลเฟต ในระดับเลือดเพื่อบ่งชี้ถึงภาวะข้อเสื่อมในสุนัข ได้แก่ 3B3 – chondroitin epitope และ WF6 – chondroitin epitope โดย 3B3 เป็น monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อ คอนดรอยติน ซัลเฟต ที่สร้างขึ้นมาใหม่ (neo epitope) chondroitin sulfate เป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ (polymer) ที่ประกอบไปด้วยหน่วยย่อย 2 หน่วย (monomer) เข้าไปเข้ามาซึ่งประกอบไปด้วย glucuronic acid และ N-acetyl galactosamine โดยพบว่าภายหลังการเกิดภาวะข้อเสื่อมสาย คอนดรอยติน ซัลเฟต ที่สร้างขึ้นมาใหม่นั้น จะประกอบไปด้วย ส่วนของ คอนดรอยติน ซัลเฟต ที่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ chondroitinase ABC ส่งผลให้เกิดความเปลี่ยนแปลงที่บริเวณ non-reduction terminal ของ ปลายที่ต่อกับ N-acetyl galactosamine โดยมีการเปลี่ยนแปลงจาก unsaturated uronic acid กลายเป็น saturated uronic acid ซึ่ง 3B3 IgM จะมีความจำเพาะกับการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว จึงสามารถตรวจสอบปริมาณ คอนดรอยติน ซัลเฟต ที่สร้างขึ้นมาใหม่เพื่อตอบสนองภาวะข้อเสื่อมที่เกิดขึ้น ดังนั้นเมื่อทำการตรวจระดับ 3B3 อย่างต่อเนื่องภายหลังเกิดภาวะข้อเสื่อมจะสามารถบอกระดับการตอบสนองต่อภาวะข้อเสื่อมที่เกิดขึ้นได้ (Carterson et al.,1990; Carterson et al.,1995; Chu et al.,2002; Hegemann et al.,2002; Johnson et al.,2001; Johnson et al.,2002; Kraus ,2011; Nganvonparnit et al.,2008; Pruksakorn et al.,2006; Pothacharoen et al.,2009; Strom et al.,1989; Trakulsantirat et al.,2010; Uebelhart et al.,1998; Visco et al.,1993; Wollheim ,1999) แต่จะลดลงภายหลังการเกิดการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเสื่อมแต่อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของระดับ 3B3 epitope นั้นไม่ได้สัมพันธ์ต่อระดับความรุนแรงของโรคหากไม่มีการวัดระดับ epitope อย่างต่อเนื่อง (Belcher et

al.,1997) แต่อย่างไรก็ตามระดับของ 3B3 epitope อาจเพิ่มขึ้นจากภาวะอื่นนอกเหนือจากภาวะข้อเสื่อมเช่น การเกิดมะเร็งที่รังไข่ เป็นต้น (Pothacharoen et al.,2006) ดังนั้นจึงควรแปลผลร่วมกับอาการแสดงทางคลินิก และการศึกษาทางรังสีวิทยา

ในขณะที่ WF6 คอนดรอยติน ซัลเฟต epitope เป็น epitope ที่มีความจำเพาะต่อ ของ chondroitin-6-sulfate ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในกระแสเลือดเมื่อเกิดความเสียหายของกระดูกอ่อน ข้อต่อ (catabolic biomarker) โดยการใช้ monoclonal antibody ที่มีความจำเพาะต่อ chondroitin-6-sulfate และ chondroitin2, 6 disulfate เพื่อตรวจสอบปริมาณ และแปลผลถึงความเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อได้ นอกจากนั้นยังพบการสูงขึ้นของระดับ WF6 ในผู้สูงอายุที่ไม่แสดงอาการข้อเสื่อม ซึ่งอาจบ่งชี้ถึงความสามารถในการชีวิตความเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อในระดับต่ำได้อีกด้วย (Nganvonpanit et al.,2004; Nganvonpanit et al.,2008; Pothacharoen et al.,2006; Pruksakorn et al.,2009; Trakulsantirat et al., 2010)

จากการศึกษาก่อนหน้าพบว่าสุนัขที่มีการขาดของเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าส่งผลให้ระดับ 3B3 epitope ในซีรัมสูงกว่าสุนัขปกติภายในช่วง 4 อาทิตย์ หลังการเหนี่ยวนำ เนื่องจากในระยะแรกร่างกายมีความพยายามในการสังเคราะห์ คอนดรอยติน ซัลเฟต เพื่อชดเชยกับภาวะข้อเสื่อมที่เกิดขึ้นแต่พบว่าระดับของ 3B3 epitope กลับลดลงในช่วง 4 อาทิตย์หลังการเหนี่ยวนำและต่ำไปตลอดการศึกษา เนื่องจากร่างกายไม่สามารถสร้าง คอนดรอยติน ซัลเฟต ขึ้นมาชดเชยได้อย่างเพียงพอ และมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณ WF6 อย่างต่อเนื่องตลอดการศึกษา (Nganvongpanit et al., 2004) ดังนั้น WF6 epitope จึงเป็นตัวชี้วัดที่ได้รับความสนใจในการติดตามภาวะการเกิดข้อเสื่อมภายหลังจากเกิดการขาดของเอ็นไขว้หน้าหัวเข่ามากกว่าการใช้ 3B3 epitope

Hyaluronic acid/ไฮยาลูโรแนน (HA) เป็นน้ำตาลหลายโมเลกุลที่ประกอบไปด้วยสาย N-acetyl กลูโคซามีน และ glucuronic acid โดยจะถูกสังเคราะห์ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เยื่อบุฉลข้อต่อ โดยอาศัย hyaluronan synthetases เป็น โมเลกุลที่พบได้ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของสิ่งมีชีวิต เช่น น้ำไขข้อ vitreous humor และ ผิวหนว้ เป็นต้น โดยคุณสมบัติเฉพาะตัวของ ไฮยาลูโรแนน มีความสามารถเพิ่ม osmotic pressure เนื่องมาจากขนาดโมเลกุลขนาดใหญ่ (300-2,000 kDa) และมีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำ โดยในข้อต่อพบว่า เป็นองค์ประกอบสำคัญในกระดูกอ่อนข้อต่อและน้ำไขข้อมีหน้าที่

สำคัญในการคงความหนืดของน้ำไขข้อเพื่อทำหน้าที่ในการหล่อลื่น ลดการเกิดแรงเสียดทานและช่วยในการดูดซับแรงกระแทกที่บริเวณผิวหน้ากระดูกอ่อนขณะที่มีการเคลื่อนไหวของข้อต่อ เมื่อเกิดภาวะข้ออักเสบ inflammatory cytokines หลายชนิดที่ถูกกระตุ้นจะมีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสังเคราะห์ HA เพิ่มขึ้นจาก เซลล์เยื่อหุ้มข้อชนิดที่ 2 แต่อย่างไรก็ตามขนาดของ HA ที่มีการสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่นั้นจะมีขนาดโมเลกุลที่เล็กกว่าปกติ ทำให้สูญเสียความสามารถในการดูดซับน้ำและทำหน้าที่ในการหล่อลื่นข้อต่อไป รวมถึงพบการเพิ่มขึ้นของปริมาณ HA ในกระแสเลือดในผู้ป่วยและสัตว์ป่วยที่ตรวจพบภาวะข้ออักเสบ (Prusakorn et al.,2009) โดยในภาวะปกติ HA เกือบทั้งหมดจะถูกกำจัดที่ตับ ดังนั้นในกรณีที่มีการลดลงของการทำงานของตับ เช่นในรายสัตว์ป่วยโรคตับ สามารถพบการสูงขึ้นของระดับ HA ในกระแสเลือด รวมถึงสามารถพบการสูงขึ้นของระดับ HA ในผู้ป่วยที่ตรวจพบมะเร็งผิวหนัง เนื่องจากมีการสังเคราะห์ HA เพิ่มขึ้นจากเซลล์ชั้นใต้ผิวหนังเช่นกัน (Henrotin et al.,2005; Necas et al.,2008; Nganvongpanit et al.,2008; Pothachanoroen et al.,2006; Stern, 2005; Todhunter and Johnston, 2003; Torsteinsdottir et al.,1999; Wollheim, 1999)

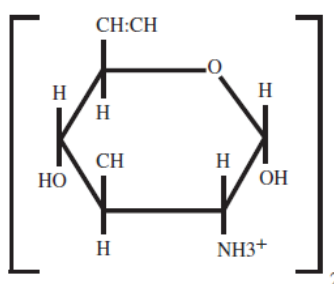
ในปัจจุบันยังไม่มีการรักษาใดที่สามารถรักษาภาวะข้อเสื่อมให้หายขาดได้ สามารถทำได้เพียงลดความเจ็บปวด เสริมสร้างกล้ามเนื้อและรักษาความสามารถในการทำงานของข้อต่อต่างๆให้ใกล้เคียงภาวะปกติมากที่สุด โดยจำเป็นต้องอาศัยการจัดการหลายๆอย่างร่วมกัน (Henrotin et al.,2011) อย่างไรก็ตามการรักษาภาวะข้อเสื่อมในปัจจุบันอาจแบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลักๆ ได้แก่ การรักษาทางศัลยกรรม และการรักษาทางอายุรกรรม

การรักษาทางศัลยกรรมนั้น เป็นการผ่าตัดเพื่อเสริมสร้างความมั่นคงแก่ข้อต่อเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดความเสียหายต่อข้อต่อมากขึ้นไปอีก แต่อย่างไรก็ตามการผ่าตัดแก้ไขทางศัลยกรรมไม่สามารถแก้ไขภาวะข้อเสื่อมที่เกิดขึ้นแล้วได้ เช่น การผ่าตัดแก้ไขภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาด เป็นต้น สำหรับการรักษาทางอายุรกรรม อาจแบ่งยาในการรักษาได้เป็น 2 กลุ่มได้แก่ ยาในกลุ่มบรรเทาอาการ (symptom-modifying OA drugs, SYMOAD) เช่นยาในกลุ่มต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (non-steroidal anti-inflammatory drugs) โดยยาในกลุ่ม NSAIDs มีความสามารถในการลดการอักเสบผ่านการยับยั้งผ่านเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส (cyclooxygenase) และ ไลโปออกซีจีเนส

(lipoxgenase) ส่งผลให้กระบวนการอักเสบภายในข้อต่อลดลง อย่างไรก็ตามยาในกลุ่มนี้ส่วนมากเป็นยาที่มีผลข้างเคียงจากการที่เข้าไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cox-1 ซึ่งมีหน้าที่ทางสรีรวิทยาในการสร้างเยื่อเมือกที่ทางเดินอาหาร ควบคุมการหลั่งกรดเกลือและมีผลต่อปริมาณเลือดที่มาเลี้ยงไต ทำให้ยาในกลุ่มนี้นิยมใช้ใน ช่วงเริ่มต้นของการรักษาเป็นระยะเวลาสั้นๆ เพื่อลดการอักเสบและบรรเทาความเจ็บปวดในระยะแรก ในปัจจุบันยังมีการเสนอยาตัวใหม่ที่สามารถให้ผลการรักษาที่เป็นที่น่าพอใจ และมีผลข้างเคียงที่ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากมีความจำเพาะต่อสารกระตุ้นการอักเสบต่างๆมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง เช่น firocoxib, tepoxalin, licodelone และ infliximab เป็นต้น (GülerYüksel et al.,2010; Henrotin et al.,2005)

สำหรับยาในกลุ่มกลุ่มเสริมโครงสร้าง อาจหมายถึงความรวมถึงสารในกลุ่มเภสัชโภชนา (nutraceutical) ซึ่งเป็นแนวทางการรักษาภาวะข้อเสื่อมที่ได้รับความนิยมในปัจจุบันร่วมกับการใช้ยาในกลุ่มบรรเทาอาการยาในกลุ่ม NSAIDs เนื่องจากสามารถลดการใช้ยาในกลุ่ม NSAIDs ซึ่งมีผลข้างเคียง (side effect) จากการที่ใช้เป็นระยะเวลานาน นอกจากนั้นผลิตภัณฑ์เภสัชโภชนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำได้ง่ายตามท้องตลาด รวมถึงมีความปลอดภัยในการใช้สูงโดยอาศัยหลักความรู้ความเข้าใจในกระบวนการเกิดโรค (etiopathology) ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นโดยส่วนประกอบหลักของเภสัชโภชนานั้นจะประกอบไปด้วยยาในกลุ่มเสริม รวมถึงสารที่มีผลในการยับยั้งกระบวนการเกิดภาวะข้อเสื่อมต่างๆเช่นกรดไขมันไม่อิ่มตัว (n-3 polyunsaturated fatty acid) ที่ได้จากพืชหรือสัตว์บางชนิด, สารกลูโคซามีน/คอนดรอยติน ซัลเฟต, ยาไดอะเซอรีน (diacerhein) ที่มีความสามารถในการยับยั้ง MMP, สารสกัดที่ได้จากผลโวกาโดและน้ำมันมววมเข้มข้น ซึ่งพบว่ามีความสามารถในการยับยั้งกระบวนการย่อยสลายกระดูกอ่อนข้อต่อ รวมถึงยังมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์กระดูกอ่อนข้อต่อ (Henrotin et al.,2005; Henrotin et al.,2011) นอกจากนั้นการฉีดสารในกลุ่มไฮยาลูโรแนนเข้าไปยังข้อต่อยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ โปรตีนโอกลัยเคน ในข้อต่อด้วย (Hulmes et al.,2004) แต่อย่างไรก็ตามการนำไปใช้จริงในทางคลินิกนั้น ยังให้ผลการรักษาไม่เด่นชัดและยังอยู่ในขั้นตอนการศึกษาเพิ่มเติม รวมถึงค้นหาสารตัวใหม่ที่จะให้ผลในการลดความรุนแรงของภาวะข้อเสื่อมที่เกิดขึ้น (Henrotein et al., 2011; GülerYüksel et al.,2010)

กลูโคซามีน ซัลเฟต และ คอนดรอยติน ซัลเฟต เป็นกลุ่มเสริมโครงสร้าง ที่ใช้กันมา ยาวนานในการรักษาภาวะข้อเสื่อมในมนุษย์และสัตว์โดยสารทั้งสองชนิด เป็นสารในกลุ่ม aminosaccharides ที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ กลัยโคซามิโนกลัยแคน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ โปรตริโอกลัยแคน ที่บริเวณกระดูกอ่อนข้อต่อ นอกจากนั้นยังเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ แอกรีแคน เช่นกัน โดยพบว่าสุนัขและหนูทดลองได้รับ กลูโคซามีน ซัลเฟต และ คอนดรอยติน ซัลเฟต มีอาการแสดงออกทางคลินิกที่ดีขึ้น มีความสามารถในการใช้ขามากขึ้น และมี lameness score ลดลง (Homandberg et al.,2006; McCarthy et al.,2007; Wen et al.,2010; Minami et al.,2011; Uitterlinden et al.,2006) นอกจากนั้นพบว่า การได้รับ กลูโคซามีน sulfate ร่วมกับ คอนดรอยติน ซัลเฟต ในสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเสื่อม ส่งผลเนื่องมาจากความสามารถในการลดการอักเสบและกระตุ้นการซ่อมแซมกระดูกอ่อนข้อต่อที่เกี่ยวข้อง (Tamai et al.,2002)



ภาพที่ 4 : แสดง โครงสร้างโมเลกุล กลูโคซามีน (ที่มา : Thakral et al., 2007)

กลูโคซามีนซัลเฟต มีความสามารถในการกระตุ้นการทำงานของ mRNA ที่มีส่วนในการสร้าง แอกรีแคน รวมถึงมีความสามารถในการยับยั้ง MMP ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักที่มีหน้าที่ในการสลายกระดูกอ่อนจากการทดลองในเซลล์เพาะเลี้ยง (Dodge et al.,2003) นอกจากนั้นยังพบความสามารถในการกระตุ้นเซลล์เยื่อข้อต่อให้สร้าง ไฮยาลูโรแนน ในข้อต่อมากขึ้น ส่งผลให้น้ำไขข้อมีความสามารถในการหล่อลื่นและดูดซับแรงกระแทก ขณะที่มีการเคลื่อนไหวของข้อต่อได้ดีขึ้น (McCarthy ,1998) และพบความสามารถในการลดการกระตุ้นความเจ็บปวดในหนูทดลองจากการลดสารการทำงานของสารสื่อประสาทบางชนิด และลดปริมาณตัวรับความเจ็บปวดที่กระดูกอ่อนข้อต่อเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับกลูโคซามีน (Wen at.al.,2010) นอกจากนี้มีผู้เสนอว่า คุณสมบัติในการชะลอภาวะข้อเสื่อมของ กลูโคซามีน นั้นมาจากความสามารถในการยับยั้งการ

กระตุ้นยีนที่มีหน้าที่ในการสลายกระดูกอ่อนข้อต่อ มากกว่าคุณสมบัติในการซ่อมแซมกระดูกอ่อน ข้อต่อที่เสียหาย (Uitterlinden et al.,2006) จากความสามารถในยับยั้งการทำงานของ TGF α ,IL-1 β และ PGE $_2$ ส่งผลให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์กระดูกอ่อนได้ดียิ่งขึ้น (Kim et al.,2007; Largo et al.,2003) รวมถึงพบการลดลงของการสังเคราะห์ fibronectin และ MMP (MMP-3 และ MMP-9) ซึ่งเป็น proteolytic enzyme ที่สำคัญในการสลาย โปรตีนโอกลัยแคน ในกระดูกอ่อนข้อต่อเมื่อทำการเปรียบเทียบกับกลุ่มยาหลอก (Homanberg et al.,2006) นอกจากนี้พบว่าเมื่อได้รับ กลูโคซามีน จะส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของการสังเคราะห์ โปรตีนโอกลัยแคน และ type I-II collagen (Minami et al.,2011) และยังพบว่าในสุนัขที่ได้รับ กลูโคซามีน มีการซ่อมแซมรอยโรคที่กระดูกอ่อนได้มากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับสุนัขที่ได้รับยาหลอก (Tamai et al.,2002)

ในปัจจุบัน กลูโคซามีน ที่นิยมใช้ในการรักษาจะอยู่ในรูปของ กลูโคซามีน ซัลเฟตมากกว่า กลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์ เนื่องจากพบว่า กลูโคซามีนซัลเฟต มีความสามารถในการดูดซับทางารกินและมีแพร่กระจายเข้าไปในข้อต่อได้มากกว่า รวมถึงมีผลต่อเมตาโบริซึมของกลูโคสในมนุษย์น้อยกว่า (Anderson et al.,2005; Meulyzer et al.,2008)

คอนดรอยติน ซัลเฟต เป็นองค์ประกอบหลักที่พบได้มากที่สุด ใน โปรตีนโอกลัยแคน ที่พบในกระดูกอ่อนข้อต่อ โดยการได้รับ chondroitin อย่างต่อเนื่องพบว่ามีความสามารถในการชะลอการเกิดรอยโรคที่กระดูกอ่อนข้อต่อจากการตรวจวินิจฉัยทางรังสีวิทยา โดยพบการลดลงของปริมาณ osteophyte (Uebelhart et al.,2004) และพบการลดลงของระยะห่างระหว่างข้อต่อจากการศึกษาในทางการแพทย์ (Hockberg, 2010) ซึ่งคาดว่าเกิดจากการที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ โปรตีนโอกลัยแคน ได้มากขึ้นภายหลังการได้รับ คอนดรอยติน ซัลเฟต จึงมีส่วนช่วยในการปรับสมดุลระหว่างการสร้างและการสลายกระดูกอ่อนข้อต่อให้กลับมาอยู่ในสมดุลที่เหมาะสม (Moller et al.,2010) นอกจากความสามารถในการรักษาสมดุลของกระดูกอ่อนข้อต่อแล้ว คอนดรอยติน ซัลเฟต ยังมีคุณสมบัติในยับยั้งกระบวนการในการกระตุ้นการอักเสบเช่นกัน โดยมีรายงานการศึกษาพบว่า มีการลดลงของการสังเคราะห์ TNF- α (Egea et al.,2010) พบการลดลงของการสังเคราะห์ MMP (MMP3 และ MMP13) (Lovu et al.,2008) และพบการลดลงของการสังเคราะห์ Nk-kB จากเซลล์กระดูกอ่อนและเซลล์เยื่อหุ้มข้อต่อ ซึ่ง NF-kB นี้เป็นตัวการสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดการ

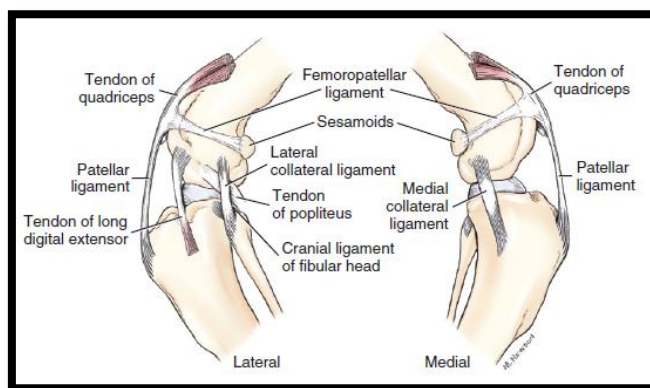
สังเคราะห์ MMP, IL-1 และ TNF- α (Andres et al.,2013; Egea et al.,2010; Lovu et al.,2008) นอกจากนี้ยังพบรายงานการศึกษาถึงความสามารถในการช่วยลดค่าเสียดทานภายในข้อต่อ (friction coefficient) จากการที่ช่วยเพิ่มการสังเคราะห์ aggrecan ซึ่งมีการเกาะจับกับ HA และทำหน้าที่ในการรักษาสภาพของน้ำไขข้อได้อีกด้วย (Basalo et al.,2006)

รายงานการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า การได้รับ กลูโคซามีนซัลเฟตร่วมกับ คอนดรอยตินซัลเฟต ให้ผลในการกระตุ้นการสังเคราะห์ โพรตีโกลัยแคน ในกระดูกอ่อนข้อต่อมากกว่าการได้รับ กลูโคซามีนซัลเฟต หรือ คอนดรอยติน ซัลเฟต เพียงอย่างเดียว (Yue et al,2012) และมีผลในการลดการเกิด osteophyte มากกว่าเช่นกัน (Das et al.,2000) รวมถึงมีความสามารถในการยับยั้งกระบวนการกระตุ้นการอักเสบที่มากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในตระกูล prostaglandins ซึ่งพบว่าเมื่อได้รับ กลูโคซามีนซัลเฟต ร่วมกับ คอนดรอยติน ซัลเฟต จะมีความสามารถในการยับยั้ง COX-2 จึงมีความสามารถในการระงับปวดและลดการอักเสบที่เกิดขึ้นได้ (Chan et al.,2005) รวมถึงสามารถสลายไฟบรินที่เกิดขึ้นได้ดีกว่า (Messier et al.,2007; Homandberg et al.,2006) ความแตกต่างของน้ำหนักที่ผ่านข้อต่อเป็นปัจจัยหนึ่ง ที่ส่งผลต่อการตอบสนองของกระดูกอ่อนข้อต่อภายหลังการได้รับ กลูโคซามีนซัลเฟต และ คอนดรอยติน ซัลเฟต โดยพบว่าการสังเคราะห์ โพรตีโกลัยแคนมากขึ้นในกลุ่มที่มีการออกกำลังกายที่เหมาะสม (Lippiello , 2003)

2.4 กายวิภาคของข้อเข่า

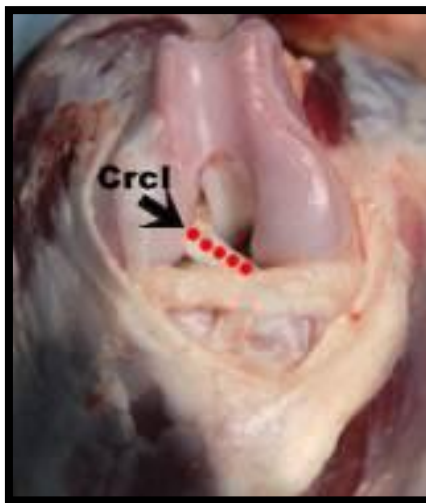
ข้อเข่าเป็นข้อต่อที่ประกอบไปด้วยกระดูก 3 ชิ้นได้แก่บริเวณ distal condyle ของ กระดูก femur, proximal condyle ของกระดูก tibia และกระดูกสะบ้า เชื่อมต่อกันเป็น 2 ข้อต่อได้แก่ femerotibia joint และ femeropatellar joint ทำหน้าที่หลักในการเหยียดและหดยาโดยมีสะบ้าเป็นกระดูกที่อยู่ใต้อันของกล้ามเนื้อ quadriceps femoris และวิ่งอยู่ในร่องของกระดูก femur (trochlear groove) โดยจะเชื่อมต่อจากกล้ามเนื้อดังกล่าวไปเกาะที่บริเวณ tibia tuberosity เพื่อช่วยหล่อลื่นขณะที่มีการยืดหดข้อเข่า ระหว่างกระดูก femur และ tibia จะมีหมอนรองกระดูกข้อเข่า (meniscus) ที่มีลักษณะเป็นกระดูกอ่อนชนิดไฟบรัส (fibrocartilage) รูปตัวซีแทรกอยู่ด้านในและ

ด้านข้างของข้อเข่า ทำหน้าที่หลักในการดูดซับแรงกระแทกและน้ำหนักที่เกิดจากการลงน้ำหนักขาของสัตว์ ซึ่งพบว่าเกิดการแตกที่บริเวณ medial meniscus มากกว่า lateral meniscus รวมถึงมีความรุนแรงมากกว่าเช่นกัน (Smith et al.,2002) ในสัตว์ที่ตรวจพบภาวะการขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า เนื่องจากเกิดการกระแทกของกระดูก femur และ tibia ขณะที่สัตว์ลงน้ำหนักขา โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่บริเวณด้านในข้อเข่า นอกจากนั้นข้อเข่าประกอบไปด้วยเอ็นหลายเพื่อช่วยในการเคลื่อนที่และเพิ่มความมั่นคงของข้อเข่า โดยแบ่งออกเป็น กลุ่มเอ็นที่ช่วยยึด meniscus ทั้งหมด 6 เส้น, patellar ligament, เอ็นของกล้ามเนื้อ long digital extensor และเอ็นในกลุ่ม femorotibial ligament (collateral ligaments, cruciate ligaments)



ภาพที่ 5 : กายวิภาคของข้อเข่าสุนัข (ที่มา : Evans, E.E. and Lahunta,D.A. 2013. Miller's anatomy of the dog. Saunders, Missouri. p. 178.)

Cruciate ligament เป็นเส้นเอ็นที่เชื่อมต่อระหว่างกระดูก femur และกระดูก tibia แบ่งออกเป็น 2 เส้นได้แก่ เอ็นไขว้หน้าข้อเข่า (anterior cruciate ligament) และ เอ็นไขว้หลังข้อเข่า (posterior cruciate ligament) เอ็นไขว้หน้าข้อเข่าจะเชื่อมจากบริเวณ caudomedial ของ lateral femoral condyle ไปยังบริเวณ intercondyloid fossa ของกระดูก tibia เพื่อทำหน้าที่ในการป้องกันการเคลื่อนไปข้างหน้าร่วมกับการหมุนเข้าด้านในของกระดูก tibia ขณะที่เอ็นไขว้หลังข้อเข่าจะเชื่อมจากบริเวณ lateral ของ medial femoral condyle ไปยังบริเวณ popliteal notch ของกระดูก tibia เพื่อทำหน้าที่ในการป้องกันการเคลื่อนไปด้านหลังและป้องกันการหมุนออกด้านนอกของกระดูก tibia (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6: ลักษณะจุดยึดเกาะของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า (ปรับปรุงจาก: Peter, M. 2010. Advances in the canine cruciate ligament. Willey Blackwell. Iowa. p. 6.)

เอ็นไขว้หน้าข้อเข่าสามารถแบ่งออกเป็น 2 ส่วนโดยสามารถแยกได้จากตำแหน่งในการยึดเกาะของเอ็นบน tibial plateau สามารถแบ่งออกได้เป็น craniomedial band และ caudolateral band โดยที่ craniomedial band จะมีจุดยึดเกาะบนกระดูก femur และ tibia ด้านหน้า และเป็นส่วนที่มีความยาวและมีลักษณะบิดเป็นเกลียวมากกว่าในขณะที่มีขนาดเล็กกว่า caudolateral band ในส่วนของ caudolateral band จะมีจุดยึดเกาะที่บริเวณ distal และ lateral บนกระดูก femur และเกาะที่บริเวณด้าน caudal ของกระดูก tibia โดยมีลักษณะเป็นเส้นตรงและมีขนาดใหญ่กว่า craniomedial band

เอ็นไขว้หน้าข้อเข่ามีหน้าที่หลักในการป้องกันการเคลื่อนที่ไปด้านหน้าและการบิดเข้าด้านในของกระดูก tibia โดยเกิดจากการทำงานร่วมกันของ craniomedial band และ caudolateral band เอ็นทั้ง 2 เส้นจะมีการทำงานร่วมกันในลักษณะของ non-isometric mechanism เพื่อช่วยรักษาระยะที่เหมาะสมของข้อเข่าในขณะที่เกิดการเคลื่อนที่ต่างกัน ขณะที่สัตว์งอข้อเข่า craniomedial band จะถูกดึงรั้งจนถึงขณะที่ caudolateral band จะหย่อนและมีขนาดสั้นลง ดังนั้น craniomedial band จึงเป็นเส้นหลักที่ช่วยในการป้องกันการเคลื่อนที่ไปด้านหน้าของกระดูก tibia ในขณะที่สัตว์งอข้อเข่ามากกว่า caudolateral band รวมถึงมีการบิดไขว้กันของเอ็นทั้ง 2 เส้น มากขึ้นเพื่อช่วยในการป้องกันการบิดเข้าด้านในของข้อเข่าในขณะที่สัตว์งอข้อเข่าและ มีการหย่อนของ collateral ligament ทั้ง 2

เส้น ในขณะที่สัต์ว์เหยียดเข้าเอ็นทั้ง 2 เส้นนี้จะถูกดึงรั้งจนตึงและมีการบิดไขว้กันลดลง โดยที่ caudolateral band จะเป็นเส้นหลักที่ช่วยในการป้องกันการเคลื่อนที่ไปด้านหน้าของข้อเข่าเนื่องจากขนาดที่ใหญ่และมีลักษณะเส้นที่ตรงมากกว่า craniomedial band ในขณะที่สัต์ว์เหยียดข้อเข่า anterior cruciate ligament จะทำหน้าที่ในการป้องกันการบิดเข้าด้านในของข้อเข่าลดลงเนื่องจากการตึงของ collateral ligament ทั้ง 2 เส้น จากระบบการทำงานที่สอดคล้องของเอ็นทั้ง 2 เส้น ดังกล่าวส่งผลให้สัต์ว์สามารถรักษาระยะ และความมั่นคงของข้อเข่าได้อย่างเหมาะสมในการเคลื่อนที่ต่างๆ (Muir, 2010)

เอ็นไขว้หลังข้อเข่าทำหน้าที่ในการป้องกันการเคลื่อนที่ไปด้านหลังและการบิดออกด้านนอกของกระดูก tibia โดยมีลักษณะทางกายวิภาคที่คล้ายกันกับ เอ็นไขว้หน้าข้อเข่า แตกต่างกันที่มีความยาวมากกว่าและขนาดที่ใหญ่กว่า มีลักษณะแผ่เป็นใบพัดที่บริเวณจุดยึดเกาะที่กระดูก femur และ tibia โดยสามารถแบ่งได้ออกเป็น 2 ส่วนในลักษณะเดียวกับเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า แต่แบ่งแยกได้ยากและมีความสำคัญน้อยกว่า

2.5 ภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาด

เมื่อเกิดการขาดของ เอ็นไขว้หน้าข้อเข่าจะส่งผลต่อความมั่นคงของข้อเข่า เกิดการเคลื่อนไปข้างหน้าและการบิดเข้าด้านในของกระดูก tibia ส่งผลให้เกิดการกระทบกันของกระดูก femur และกระดูก tibia เกิดการแตกของกระดูกอ่อนข้อต่อและ meniscus จนเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมตามมา จากสาเหตุดังกล่าวทำให้สุนัขแสดงอาการเจ็บขาขณะเดิน มีการลดลงของพิสัยข้อและไม่สามารถลงน้ำหนักขาได้ปกติ (Hasler et al.,1998) การขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าเป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดภาวะข้อเสื่อมบริเวณข้อเข่าในมนุษย์และสุนัข เนื่องจากการขาดของเอ็นไขว้หน้าดังกล่าวจะส่งผลให้เกิดการเคลื่อนไปข้างหน้าของกระดูก tibia (cranial drawer motion) และส่งผลกระทบต่อความมั่นคงในข้อต่อ มีการเปลี่ยนแปลงต่อความสามารถในการลงน้ำหนักของสุนัขทดลองและมีการลดลงของพิสัยข้อ เมื่อเทียบกับข้อเข่าในสุนัขปกติปกติ (Hasler et al.,1998; Louboutin et al.,2009; Vilensky et al.,1997) ซึ่งส่งผลให้เกิดภาวะข้อเสื่อมตามมาอย่างรุนแรง เนื่องมาจากการสูญเสียความมั่นคงของข้อเข่า โดยพบว่าในสุนัขทดลองที่ทำการตัดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าออกและเกิดความเสียหายที่กระดูกอ่อนข้อต่อโดยพบว่ามี การเพิ่มขึ้นของไฟบรินที่บริเวณพื้นผิวของกระดูก

อ่อนข้อต่อ และเกิดความเสียหายที่ meniscus โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ medial meniscus โดยพบว่าสามารถพบความเสียหายของ medial meniscus ได้มากกว่า lateral meniscus ภายใน 12 สัปดาห์หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดการขาดของเอ็นไขว้หน้า (Smith et al.,2002) และพบว่ามี การแบ่งตัวเพิ่มขึ้นของเซลล์กระดูกอ่อนข้อต่อ และมีการหนาตัวของเยื่อหุ้มข้อต่อ (Amin et al.,2008; Boulocher et al., 2011; Lopez et al.,2003) รวมถึงส่งผลให้เกิดความผิดปกติที่ชั้น subchondral bone พบ subchondral bone sclerosis มีการบางลงของชั้นกระดูกอ่อนข้อต่อ รวมถึงพบการเกิด osteophyte ในข้อต่อภายในเวลา 12 อาทิตย์หลังการตัดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าออก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มทดลองที่ตัดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าออกร่วมกับการทำ medial meniscectomy (Hayami et al.,2006; Intema et al.,2010; Lavigne et al.,2005) นอกจากนี้จากการศึกษาในสุนัขพบว่า การขาดของเอ็นไขว้หน้าในสุนัขส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการปล่อยเอนไซม์ collagenase บางชนิดเช่น cathepsin K และ MMP-9 จากเซลล์ macrophage ให้สูงขึ้นจากการทดลองในเซลล์เพาะเลี้ยงสุนัข (Muir et al.,2006) ด้วยสาเหตุดังกล่าวในการทดสอบการเกิดภาวะข้อเสื่อมทั้งในมนุษย์และสัตว์จึงนิยมใช้การตัดเอ็นไขว้หน้าเพื่อเป็นการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเสื่อม (Amin et al.,2008; Boulocher et al.,2011; Hayami et al.,2006; Hasler et al.,1998; Intema et al.,2010; Johnson et al.,2001; Johnson et al.,2002; Lopez et al.,2003; Louboutin et al.,2009; Nganvonpanitet al.,2004; Smith et al.,2002; Vilensky et al.,1997) และพบว่าในสุนัขที่มีการขาดของเอ็นไขว้หน้าส่งผลให้ระดับ 3B3 epitope ในซีรัมสูงกว่าในสุนัขปกติภายในช่วง 4 อาทิตย์แรกหลังการเหนี่ยวนำเนื่องจากในระยะแรกร่างกายมีความพยายามในการสร้างสังเคราะห์ คอนดรอติติน ซัลเฟต เพื่อชดเชยกับภาวะข้อเสื่อมที่เกิดขึ้นแต่พบว่าระดับของ 3B3 epitope กลับลดลงในช่วง 4 อาทิตย์หลังการเหนี่ยวนำและต่ำไปตลอดการศึกษาเนื่องจากร่างกายไม่สามารถสร้าง คอนดรอติติน ซัลเฟต ขึ้นมาชดเชยได้อย่างเพียงพอ (Nganvongpanit et al.,2004) แต่อย่างไรก็ตามพบว่า การเพิ่มขึ้นของปริมาณ โปรตีนโอกลัยแคน s ในสุนัขที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเสื่อมด้วยการตัดเอ็นไขว้หน้านั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันการเกิดภาวะข้อต่อในภาวะปกติ เนื่องจากจะมีการสูงขึ้นของ โปรตีนโอกลัยแคน อย่างรวดเร็วแตกต่างกับการสูงขึ้นอย่างช้าๆในภาวะปกติ (Liu et al.,2003)

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 ประชากร

กลุ่มประชากรเป้าหมายของการศึกษานี้ ได้แก่สุนัขที่ตรวจพบภาวะข้อเสื่อมในข้อต่อแต่ละตำแหน่งซึ่งพบได้บ่อยครั้งในทางคลินิก เช่นสุนัขที่เกิดภาวะข้อสะโพกเสื่อมจากภาวะข้อสะโพกเจริญผิดปกติ (canine hip dysplasia) ภาวะข้อศอกเสื่อม (Elbow dysplasia) รวมถึงสุนัขที่เข้ารับการผ่าตัดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าเพื่อเป็นข้อมูลในการตัดสินใจ เลือกใช้ผลิตภัณฑ์เภสัชโภชนาในการจัดการภาวะข้อเสื่อมที่เกิดขึ้น

3.2 ประชากรตัวอย่าง

สุนัขที่ใช้ในการศึกษาเป็นสุนัขอายุ 5-15 ปี น้ำหนักอยู่ระหว่าง 8-43 กิโลกรัม จำนวน 12 ตัวที่เข้ารับการผ่าตัดแก้ไขภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าด้วยวิธี extracapsular synthetic ligament (lateral suture technique) และไม่พบความผิดปกติของข้อต่ออื่นๆ โดยสุนัขทุกตัวจะต้องได้รับความยินยอมจากเจ้าของสุนัขเพื่อเข้ารับการศึกษาและ จะได้รับการยุติการศึกษาในกรณีที่มีการกลับมาเป็นใหม่ของภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า เพื่อที่จะเข้ารับได้รับการผ่าตัดแก้ไขหรือกรณีที่สุนัขป่วยจากโรคอื่นและจำเป็นต้องได้รับยาอื่นๆเพื่อการรักษาเพิ่มเติมนอกเหนือจาก กลูโคซามีน และ chondroitin รวมถึงกรณีที่สุนัขแสดงอาการแพ้ต่อสารที่ใช้ในการศึกษา หรือในกรณีที่เจ้าของสุนัขไม่ยินยอมให้ทำการศึกษาต่อไป

3.3 การแบ่งกลุ่มตัวอย่าง

แบ่งสุนัขออกเป็น 2 กลุ่มโดยวิธี blind randomized สุนัขในกลุ่มที่ 1 (GsCn) จำนวน 6 ตัว และสุนัขในกลุ่มที่ 2 (Plab) จำนวน 6 ตัว

3.4 ขั้นตอนก่อนการผ่าตัด

ก่อนเข้ารับการผ่าตัด สุนัขทุกตัวจะได้รับการตรวจหาภาวะเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าขาดโดยประเมินจาก cranial drawer sign, tibial compression test, การบวมของข้อเข่า และการถ่ายภาพทางรังสีวิทยา รวมถึงการประเมินภาวะข้อเสื่อมในข้อต่ออื่นๆ โดยสุนัขตัวอย่างต้องไม่พบการเกิดภาวะข้อเสื่อมที่ข้อต่ออื่นๆ เพื่อลดการรบกวนระดับของตัวชี้วัดทางชีวภาพ นอกจากนี้สุนัขทุกตัวจะได้รับการตรวจร่างกายอย่างละเอียดเพื่อประเมินสุขภาพร่างกายก่อนเข้ารับการผ่าตัด โดยการตรวจร่างกายและการเก็บตัวอย่างเลือด เพื่อประเมินความสมบูรณ์ของปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว เกร็ดเลือดและค่าการทำงานของตับและไต นอกจากนี้เจ้าของสัตว์จะได้รับการแจ้งข้อมูลการวิจัยโดยละเอียดก่อนที่จะลงชื่อยินยอมเข้าร่วมการศึกษา

3.5 ขั้นตอนการผ่าตัด

สุนัขทุกตัวจะได้รับการตรวจร่างกายครั้งสุดท้ายเพื่อประเมินความพร้อม ในการเข้ารับการวางยาสลบ ทำการให้นายาสลบโดยจะใช้ acepromazine ขนาด 0.02-0.03 mg/kg ร่วมกับ morphine ขนาด 0.5 mg/kg เข้าทางกล้ามเนื้อ และเมื่อสุนัขสงบจะทำการเปิดเส้นเลือดดำที่บริเวณ cephalic vein ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 5 ml เพื่อนำไปตรวจตัวชี้วัดทางชีวภาพ (day 0) จากนั้นทำการเหนี่ยวนำการสลบด้วย propofol® ขนาด 5 -6 mg/kg เข้าทางเส้นเลือดดำ ทำการสอดท่อหายใจ จากนั้นเมื่อสุนัขสลบดีแล้วจะทำ epidural anesthesia ด้วย morphine ขนาด 0.1 mg/kg ร่วมกับ bupivacaine ขนาด 1 mg/kg เพื่อลดความเจ็บปวด

ก่อนทำการผ่าตัดสุนัขจะได้รับการเตรียมพร้อมโดยการโกนขนบริเวณขาหลัง ตั้งแต่ข้อเท้าจนถึงสะโพก และทำการฆ่าเชื้อด้วยวิธีทางศัลยกรรม ทำการผ่าตัดเปิดเข้าหาข้อเข่าด้วยวิธี lateral incision approach (Pierrmattei, 1993) ทำการสำรวจกระดูกอ่อนของกระดูก femur และ tibia ตัดส่วนที่เหลือของเอ็นไขว้หน้าหัวเข่าที่เหลืออกด้วยมีดผ่าตัด เบอร์ 11 ทำการล้างข้อต่อเพื่อนำเศษไฟบรินและก้อนเลือดต่างๆออกจากข้อต่อด้วย normal saline solution ทำการเย็บ joint capsule ด้วย polydioxanone (PDS-II®) ขนาด 2-0 ถึง 4-0 ตามขนาดตัวของสุนัข จากนั้นทำการเจาะรูที่บริเวณ proximal tibia และใช้ไหม CCL lateral suture system ขนาด 80 ในสุนัขน้ำหนักน้อยกว่า 16

กิโลกรัม และขนาด 100 lbs. ในสุนัขน้ำหนักมากกว่า 16 กิโลกรัม ทำการคล่องระหว่างรูที่เจาะและ lateral fabella นำไหมทั้ง 2 ปลายร้อยผ่าน metal cramp จัดขาสุนัขให้อยู่ในท่าปกติและทำการดึงไหมทั้ง 2 เส้นจนถึง จากนั้นทำการหนีบ metal cramp ด้วย pin and wire cutter หลังจากนั้นจึงทำการทดสอบ cranial drawer motion หากไม่พบ ทำการเย็บปิดชั้น retinaculum ด้วย PDS-II® ขนาด 2-0 ถึง 3-0 เย็บปิดชั้น subcutaneous ด้วย polygractin (Monosyn®) ขนาด 3-0 หรือ 4-0 ตามขนาดตัวสุนัข และทำการเย็บปิดชั้นผิวหนังด้วย polyamide (Defilon®) ขนาด 2-0 หรือ 3-0 ตามขนาดสุนัขเช่นกัน

3.6 ขั้นตอนหลังการผ่าตัด

สุนัขทุกตัวจะได้รับการดูแลแผลผ่าตัดตามขั้นตอนทางศัลยกรรมและ จะได้รับยาปฏิชีวนะ cephalixin(Toflex®) ขนาด 25 mg/kg วันละ 2 ครั้ง ทางการกินก่อนอาหารเป็นเวลา 7 วันติดต่อกัน และ ยาระงับปวดลดอักเสบ carprofen (Rimadyl®) ขนาด 4.4 mg/kg วันละ 1 ครั้งทางการกินหลังอาหาร เป็นเวลา 3 วันติดต่อกัน และ ยาระงับปวด Tramadol hydrochloride(Anadol®) ขนาด 4 mg/kg วันละ 2 ครั้งทางการกินหลังอาหาร เป็นเวลา 5 วันติดต่อกัน และในกลุ่ม GsCn จะได้รับผลิตภัณฑ์ที่ประกอบไปด้วย กลูโคซามีน sulfate 500 mg และ คอนครอยติน ซัลเฟต 400 mg ในขนาด 1,500 mg/day และ 1,200 mg/day ตามลำดับ หลังการผ่าตัดเป็นเวลา 4 เดือน จะได้รับผลิตภัณฑ์ในกลุ่ม Plab จะได้รับยาหลังการผ่าตัดและการตรวจเหมือนกันทุกประการเว้นแต่ได้รับยาหลอก (placebo) ที่มีส่วนประกอบของครีมเทียมร่วมกับ corn sugar เป็นหลัก วันละ 1 แคปซูล หลังการผ่าตัดเป็นเวลา 4 เดือนเช่นกัน

จากนั้นสุนัขทุกตัวจะได้รับการดูแลแผลผ่าตัดจนหายดีและทำการตัดไหมที่ผิวหนังในเวลา 2 สัปดาห์หลังการผ่าตัด

3.7 การติดตามผลการรักษา

การประเมินผลการรักษาภายหลังการผ่าตัดจะทำการประเมินต่อเนื่องเป็นเวลา 16 สัปดาห์ หลังการผ่าตัด โดยทำการประเมินในสัปดาห์ที่ 2, 4, 8, 12 และ 16 หลังการผ่าตัด แบ่งการประเมิน ออกเป็น 4 ส่วนดังนี้

3.7.1. การตรวจร่างกาย

สุนัขทุกตัวจะได้รับการตรวจร่างกายทั่วไปในทุกสัปดาห์ที่ทำการประเมิน จากลักษณะทั่วไปของสุนัข ความสามารถในการกินอาหารและขับถ่าย ลักษณะการหายใจและอุณหภูมิร่างกาย เพื่อประเมินสุขภาพทั่วไปว่าสุนัขมีร่างกายสมบูรณ์เพียงพอที่จะเข้ารับการศึกษาต่อไป ในกรณีที่สุนัขแสดงอาการเจ็บป่วยอื่นๆ และจำเป็นต้องได้รับการรักษาทางอายุรกรรม หรือการรักษาทาง ศัลยกรรมใดๆ เจ้าของสัตว์จะได้รับการแจ้งข้อมูลโดยละเอียดและถูกคัดออกจากการศึกษาเพื่อรับ การรักษาที่จำเป็นต่อไป

3.7.2. การให้คะแนนความเจ็บขาของสุนัขขณะเดิน

การประเมินความเจ็บขาของสุนัขขณะเดิน สัตวแพทย์จำนวน 1 คนจะทำการประเมินการ เดินของสุนัขและไม่ทราบว่าคุณสุนัขตัวใดอยู่ในกลุ่มใดเพื่อลดอคติที่อาจจะเกิดขึ้น ทำการงูงเดินเป็น ระยะทางอย่างน้อย 6 เมตร ในบริเวณพื้นที่เรียบและไม่ลื่น โคนจะทำการสังเกตุดทางด้านหน้า ด้านหลัง และด้านข้าง ทำการประเมิน 3 ครั้งเพื่อนำมาหาค่าเฉลี่ย จากนั้นจะนำค่าเฉลี่ยรวมต่อครั้งที่ ได้มาทำการคำนวณหาค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มเพื่อทำการประเมินระดับการเปลี่ยนแปลงของอาการ แสดงทางคลินิกในแต่ละกลุ่มการทดลองต่อไป

การประเมินจะแบ่งรายละเอียดย่อยออกเป็น 4 ส่วน โดยส่วนที่ 1 ได้แก่การให้คะแนนการ ลงน้ำหนักขาของสุนัข (ตารางที่ 1) และคะแนนความเจ็บขา (ตารางที่ 2) คะแนนพิสัยข้อ (ตารางที่ 3) และคะแนนความเจ็บปวดระหว่างคลำตรวจ (ตารางที่ 4) (McCarthy et al., 2007) จากนั้นจึงนำ คะแนนย่อยในส่วนต่างๆมาหาค่าเฉลี่ยเพื่อประเมินระดับคะแนนความเจ็บขาทางสถิติ (score 1-5)

ตารางที่ 1. ระดับคะแนนการลงน้ำหนักขาของสุนัข

Grade	Clinical evaluation
1	ลงน้ำหนักขาเท่ากันทั้ง 4 ขาขณะยืน/เดิน
2	ยืนปกติ/ลงน้ำหนักขาข้างที่เจ็บได้
3	ลงน้ำหนักขาข้างที่เจ็บไม่เต็มที่ขณะเดิน/ยืน
4	ลงน้ำหนักขาข้างที่เจ็บได้บ้างขณะยืนแต่ไม่ลงน้ำหนักขณะเดิน
5	ไม่ลงน้ำหนักขาข้างที่เจ็บขณะยืน/เดิน

คัดแปลงจาก: (McCarthy et al., 2007)

ตารางที่ 2. ระดับคะแนนความเจ็บขาของสุนัข

Grade	Clinical evaluation
1	ไม่พบอาการเจ็บขาขณะเดิน
2	สังเกตเห็นอาการเจ็บขาเล็กน้อยขณะเดิน
3	สังเกตเห็นอาการเจ็บขาปานกลางขณะเดิน
4	สังเกตเห็นอาการเจ็บขารุนแรงขณะเดิน
5	สุนัขไม่ยอมลุกเดิน/ไม่สามารถเดินได้มากกว่า 5 ก้าว

คัดแปลงจาก: (McCarthy et al., 2007)

ตารางที่ 3. ระดับคะแนนพิสัยข้อ

Grade	Clinical evaluation
1	ไม่มีการพบลดลงของพิสัยข้อ
2	พิสัยข้อลดลง 10-20% ไม่พบ creptitation
3	พิสัยข้อลดลง 10-20% พบ creptitation
4	พิสัยข้อลดลง 20-50%
5	พิสัยข้อลดลงอย่างรุนแรง >50%

คัดแปลงจาก: (McCarthy et al., 2007)

ตารางที่ 4 . ระดับคะแนนความเจ็บปวดขณะคลำตรวจ

Grade	Clinical evaluation
1	สุนัขไม่แสดงอาการเจ็บปวด
2	สุนัขแสดงอาการเจ็บปวดเล็กน้อย
3	สุนัขแสดงอาการเจ็บปวดปานกลาง
4	สุนัขแสดงอาการเจ็บปวดรุนแรง
5	สุนัขไม่ยอมให้คลำตรวจ

คัดแปลงจาก: (McCarthy et al., 2007)

การคำนวณทางสถิติจะใช้ wilcoxon sign rank test ในการประเมินความแตกต่างภายในกลุ่ม ขณะที่ใช้ kruskal-wallis ANOVA test ในการประเมินความแตกต่างระหว่างกลุ่มในแต่ละสัปดาห์ โดยทั้ง 2 การทดสอบจะตั้งค่าความน่าเชื่อถือทางสถิติไว้ที่ 95% ($p < 0.05$)

3.7.3 การประเมินผลทางรังสีวิทยา

การประเมินทางรังสีวิทยาจะทำโดยการถ่ายภาพทางรังสีวิทยาของข้อเข่าสุนัขในสัปดาห์ที่ 0,2,4,8,12 และ 16 ในท่า Anterior-Posterior (AP) และ Medio-Lateral (ML) เพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงของภาวะข้อเสื่อมโดยสัตวแพทย์ 1 ท่าน ซึ่งจะไม่ทราบว่าคุณสุนัขตัวใดอยู่ในกลุ่มใดเพื่อลดอคติที่อาจจะเกิดขึ้นการให้คะแนนจะประเมินจากขนาดของ osteophyt, การเกิด subchondral bone sclerosis และระยะห่างของข้อเข่า โดยคะแนนที่ได้จะถูกนำมาคำนวณหาความแตกต่างเฉลี่ยเพื่อประเมินระดับการเปลี่ยนแปลงทางรังสีวิทยาต่อไป การประเมินจะให้คะแนนโดยอ้างอิงจากระบบการให้คะแนนของ Kellgren-Lawrence Grading Scale (Takahashi et al., 2004) (ตารางที่ 3)

การคำนวณทางสถิติจะใช้ wilcoxon sign rank test ในการประเมินความแตกต่างภายในกลุ่ม ขณะที่ใช้ kruskal-wallis ANOVA test ในการประเมินความแตกต่างระหว่างกลุ่มในแต่ละสัปดาห์ โดยทั้ง 2 การทดสอบจะตั้งค่าความน่าเชื่อถือทางสถิติไว้ที่ 95% ($p < 0.05$)

ตารางที่ 5. ระดับคะแนนทางรังสีวิทยาของภาวะข้อเสื่อมในสุนัข

Grade		Radiographic evaluation
0	Normal	ไม่พบภาวะข้อเสื่อม
1	Mild	สงสัยว่าเกิด osteophyte
2	Moderate	พบ osteophyte เล็กน้อย
3	Severe	พบ osteophyte ปานกลาง มีการเกิดsubchondral sclerosis พบการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างกระดูกเล็กน้อย
4	Very severe	พบ osteophyte ขนาดใหญ่ มีการเกิดsubchondral sclerosis พบการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างกระดูกรุนแรง

คัดแปลงจาก: (Takahashi et al., 2004)

3.7.4. การประเมินผลการเปลี่ยนแปลงในกระแสเลือด

การประเมินค่าการเปลี่ยนแปลงในกระแสเลือดจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วนได้แก่ ผลการตรวจนับเม็ดเลือด (complete blood count ;CBC) ร่วมกับค่าเอนไซม์ SGPT, ALP, BUN และ Creatinine เพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาที่อาจจะเกิดขึ้นภายหลังได้รับยาและการตรวจระดับตัวชี้วัดทางชีวภาพ WF6 และ HA

ตัวอย่างเลือดและซีรัมจะทำการเก็บจากหลอดเลือดดำที่ขาหน้า (cephalic vein) หรือจากหลอดเลือดดำที่ขาหลัง (saphenous vein) จำนวน 5 มิลลิลิตร ตัวอย่างที่จะนำไปตรวจค่า CBC จะถูกเก็บในสารกันเลือดแข็งตัว (100 IU/ml heparin; APS Finchem, Australia) ตัวอย่างที่จะนำไปตรวจค่าเอนไซม์ในซีรัมจะเก็บในหลอดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งตัวเพื่อเก็บตัวอย่างซีรัม การตรวจจะทำภายใน 24 ชั่วโมงหลังการเก็บตัวอย่างโดยห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตัวอย่างเลือดที่เหลือจำนวน 4 มิลลิลิตรจะถูกนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 15 นาที เพื่อเก็บตัวอย่างซีรัม จากนั้นจะทำการเก็บไว้ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อส่งไปตรวจระดับตัวชี้วัดทางชีวภาพยังศูนย์วิจัยเพื่อความเป็นเลิศด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ซึ่งมีแข่งจะถูกส่งไปยังศูนย์วิจัยเพื่อความเป็นเลิศด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่เพื่อตรวจหาปริมาณ WF6 epitope และ HA ในกระแสเลือดโดยอาศัยหลักการ competitive ELISA โดยนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมี monoclonal antibody WF6 เป็น primary antibody และ anti-mouse serum เป็น secondary antibody จากนั้นจะมีการนำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณทางสถิติเพื่อทำการประเมินการเปลี่ยนแปลงของระดับ WF6 epitope ในกระแสเลือดต่อไป ในส่วนของ HA

การคำนวณทางสถิติจะใช้ wilcoxon sign rank test ในการประเมินความแตกต่างภายในกลุ่ม ขณะที่ใช้ kruskal-wallis ANOVA test ในการประเมินความแตกต่างระหว่างกลุ่มในแต่ละสัปดาห์ โดยทั้ง 2 การทดสอบจะตั้งค่าความน่าเชื่อถือทางสถิติไว้ที่ 95% ($p < 0.05$)

อนึ่ง การศึกษานี้จะเริ่มดำเนินการศึกษาหลังจากได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการควบคุมดูแลการเลี้ยงและการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

วิเคราะห์ รายงานผล และอภิปรายผลการวิจัย

4.1 การวิเคราะห์เชิงพรรณนา

ในการศึกษานี้พบว่าสุนัขจำนวน 12 ตัว มีอายุเฉลี่ยอยู่ที่ 6.2 ± 1.85 ปี และมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ที่ 18.0 ± 10.45 กิโลกรัม ในกลุ่ม GsCn เป็นตัวผู้ 2 ตัว ตัวเมีย 4 ตัว อายุเฉลี่ยภายในกลุ่มอยู่ที่ 6.2 ± 2.64 ปี และมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ที่ 21.5 ± 12.26 กิโลกรัม กลุ่ม Plab เป็นตัวผู้จำนวน 3 ตัวและเป็นตัวเมียจำนวน 3 ตัว อายุเฉลี่ยภายในกลุ่มอยู่ที่ 6.8 ± 1.17 ปี และมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ที่ 17.8 ± 10.06 กิโลกรัม และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง 2 กลุ่มการศึกษา ($p > 0.05$)

ตารางที่ 6: แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติเชิงพรรณนาของสุนัขในแต่ละกลุ่ม

Group	N	Sex		Weight (Kg)	Age (years)
		M	F		
GC group	6	2	4	21.5 ± 12.26	6.2 ± 2.64
Placebo group	6	3	3	17.8 ± 10.06	6.8 ± 1.17

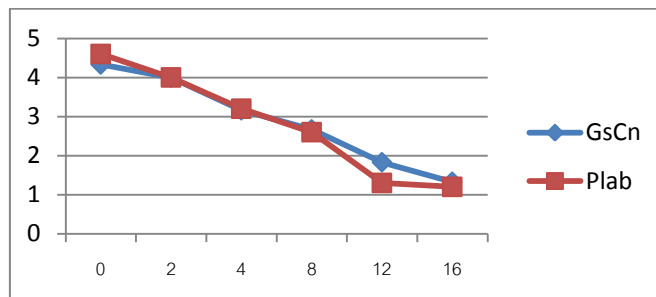
4.2. ผลการตรวจร่างกาย

ผลการตรวจร่างกายและสุขภาพทั่วไปของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มพบว่าตลอดการศึกษาสุนัขทุกตัวมีสุขภาพแข็งแรงปกติจากการประเมินด้วยการตรวจร่างกายและผลเลือดทางคลินิก และไม่มีสุนัขตัวใดที่ถูกคัดออกจากการศึกษาเนื่องมาจากปัญหาสุขภาพในระบบอื่นๆ

4.3. ผลการให้คะแนนความเจ็บปวดขณะเดิน

จากการศึกษาพบว่าผลการให้คะแนนความเจ็บปวดขณะเดินของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องตลอดการศึกษาโดย พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในสัปดาห์ที่ 8

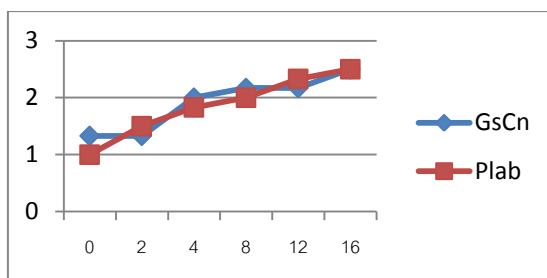
($p=0.043$ และ $p=0.026$) และต่ำที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 หลังเข้ารับการรักษา แต่อย่างไรก็ตามจากการคำนวณทางสถิติพบว่าระหว่าง 2 กลุ่มการทดลองมีระดับการลดลงของคะแนนความเจ็บปวดขณะเดินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละสัปดาห์ ($p>0.05$)



แผนภูมิที่ 1: แสดงการลดระดับของคะแนนความเจ็บปวดของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มหลังการผ่าตัด โดยในแกนนอนแสดงระยะเวลาในการศึกษา ขณะที่แกนตั้งแสดงถึงระดับคะแนนความเจ็บปวดขณะเดิน จุดสีแดงคือระดับคะแนนในกลุ่ม GsCn ขณะที่จุดสีฟ้า คือระดับคะแนนในกลุ่ม Plab

4.4.ผลการตรวจทางรังสีวิทยา

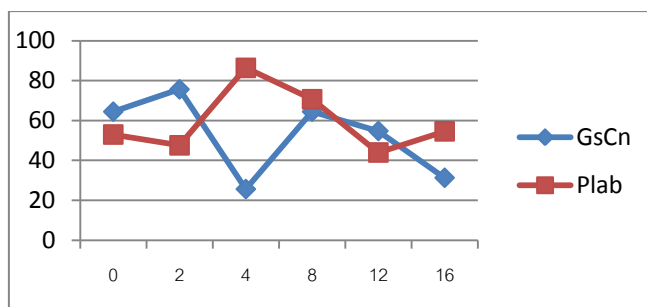
จากการศึกษาพบว่าผลการให้คะแนนการเกิดภาวะข้อเสื่อมของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มซึ่งทำการประเมินจากการเกิด osteophyte และ subchondral bone sclerosis เป็นหลักนั้นมีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดการศึกษาโดยพบการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการคำนวณด้วย Wilcoxon sign ranks test ที่สัปดาห์ที่ 4 ($p=0.046$ และ $p=0.025$) และสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 หลังเข้ารับการรักษา แต่อย่างไรก็ตามจากการคำนวณทางสถิติโดยวิธี Kruskal-wallis one-way ANOVA พบว่าระหว่าง 2 กลุ่มการทดลองมีระดับการสูงขึ้นของระดับคะแนนการเกิดข้อเสื่อมทางรังสีวิทยาอย่างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละสัปดาห์ ($p>0.05$)



แผนภูมิที่ 2: แสดงการสูงขึ้นของระดับของกระดูกสันหลังของระดับของกระดูกสันหลังของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มหลังการผ่าตัด โดยในแกนนอนแสดงระยะเวลาในการศึกษา ขณะที่แกนตั้งแสดงถึงระดับกระดูกสันหลังของกระดูกสันหลังของสุนัข จุดสีแดงคือระดับกระดูกสันหลังในกลุ่ม GsCn ขณะที่จุดสีฟ้า คือระดับกระดูกสันหลังในกลุ่ม Plab

4.5.ผลการประเมินการเปลี่ยนแปลงของระดับ WF6 ในกระสแลเลือด

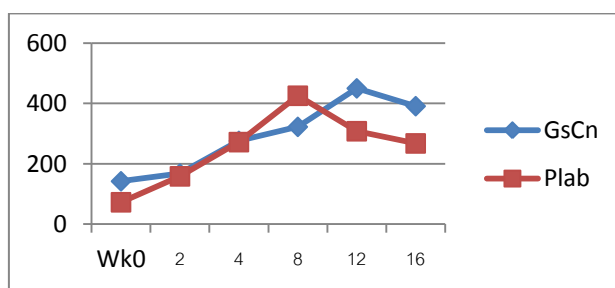
จากการศึกษาพบว่าระดับของ WF6 ในกระสแลเลือดของสุนัขในกลุ่ม GsCn สูงขึ้นใน 2 อาทิตย์แรกหลังเข้ารับการผ่าตัดและเริ่มต่ำลงในสัปดาห์ที่ 4 ต่อมากลับมาสูงอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 8 หลังจากนั้นต่ำลงจนถึงสัปดาห์ที่ 16 ในขณะที่สุนัขในกลุ่ม Plab พบการลดลงของระดับ WF6 ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการผ่าตัด และกลับมาสูงอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 8 หลังจากนั้นลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 12 และพบการสูงขึ้นอีกครั้งสัปดาห์ที่ 16 แต่อย่างไรก็ตามจากการคำนวณทางสถิติโดยวิธี Kruskal-wallis one-way ANOVA พบว่าภายในกลุ่มการทดลองและระหว่าง 2 กลุ่มการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงของระดับ WF6 ในกระสแลเลือดอย่างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละสัปดาห์ ($p > 0.05$)



แผนภูมิที่ 3: แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ WF6 ในกระแสเลือดของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มหลังการผ่าตัด โดยในแกนนอนแสดงระยะเวลาในการศึกษา ขณะที่แกนตั้งแสดงถึงระดับ WF6 ในกระแสเลือด (ng/ml) จุดสีแดงคือระดับคะแนนในกลุ่ม GsCn ขณะที่จุดสีฟ้า คือระดับคะแนนในกลุ่ม Plab

4.6.ผลการประเมินการเปลี่ยนแปลงของระดับ HA ในกระแสเลือด

จากการศึกษาพบว่าระดับของ HA ในกระแสเลือดของสุนัขในกลุ่ม GsCn สูงขึ้นอย่างต่อเนื่องอย่างมีนัยสำคัญจากการคำนวณทางสถิติด้วย wilcoxon sign ranks test ในสัปดาห์ที่ 2 ($p > 0.05$) จนถึงสัปดาห์ที่ 12 หลังเข้ารับการผ่าตัดและพบการลดลงในสัปดาห์ที่ 16 ในขณะที่สุนัขในกลุ่ม Plab พบการเพิ่มขึ้นของระดับ HA อย่างต่อเนื่องอย่างมีนัยสำคัญจากการคำนวณทางสถิติด้วย wilcoxon sign ranks test ในสัปดาห์ที่ 2 ($p < 0.05$) จนถึงสัปดาห์ที่ 8 และพบการลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 16 แต่อย่างไรก็ตามจากการคำนวณทางสถิติโดยวิธี Kruskal-wallis one-way ANOVA พบว่าระหว่างสุนัขทั้ง 2 กลุ่มการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงของระดับ HA ในกระแสเลือดอย่างไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละสัปดาห์ ($p > 0.05$)



แผนภูมิที่ 4: แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ HA ในกระแสเลือดของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มหลังการผ่าตัด โดยในแกนนอนแสดงระยะเวลาในการศึกษา ขณะที่แกนตั้งแสดงถึงระดับ HA ในกระแสเลือด (ng/ml) จุดสีแดงคือระดับคะแนนในกลุ่ม GsCn ขณะที่จุดสีฟ้า คือระดับคะแนนในกลุ่ม Plab

4.7 วิจารณ์ผลการศึกษา

กระบวนการเกิดภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดในสุนัขแตกต่างจากสาเหตุในมนุษย์ ซึ่งมักเกิดจากการได้รับกระแทกและ เกิดการบิดอย่างรุนแรงของข้อเข่าจนเส้นเอ็นไม่สามารถรับน้ำหนักดังกล่าวได้ ในขณะที่ในสุนัขโดยมากไม่พบประวัติการกระแทกอย่างรุนแรง และมักพบการขาดที่บริเวณกึ่งกลางของเส้นเอ็น จากการทดลองดึงขาเพื่อเหยียดข้อเข่า มักจะพบการขาดของเส้นเอ็นแบบ avulsion fracture ที่บริเวณจุดยึดเกาะที่กระดูก tibia แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบัน กระบวนการเกิดโรคของภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดในสุนัขยังคงเป็นที่ถกเถียงกัน ถึงสาเหตุที่แท้จริง แต่ในปัจจุบันมีการศึกษาหลายฉบับที่เสนอว่า สาเหตุน่าจะเกิดจากภาวะความเสื่อมที่เกิดขึ้นอย่างอ่อนๆ เป็นระยะเวลานานก่อนเกิดการขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบในการศึกษาฉบับนี้พบว่าสุนัขที่เกิดภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดทั้ง 12 ตัวมีอายุเฉลี่ยอยู่ที่ 6.2 ± 1.85 ปี และทั้ง 12 ตัวพบว่าเกิดการขาดของเส้นเอ็นแบบสมบูรณ์โดยพบการขาดทั้ง craniomedial และ caudolateral band ซึ่งสามารถอธิบายลักษณะการเกิดได้โดยอาศัยหลักการทางภูมิคุ้มกันวิทยาเข้ามาช่วยในการอธิบายกระบวนการเกิดโรค (Doom et al.,2008; Muir et al.,2006) ในภาวะปกติ เอ็นไขว้หน้าข้อเข่าจะถูกห่อหุ้มด้วยเยื่อหุ้มข้อต่อ ทำให้ภูมิคุ้มกันของร่างกายไม่สามารถเข้าถึงและกระตุ้นให้เกิดการอักเสบได้ แต่ในขณะที่มีความเสียหายของเส้นเอ็นจะให้ผลให้เกิดการหลุดลอกขององค์ประกอบต่างๆออกมาภายนอกเยื่อหุ้มข้อ โดยองค์ประกอบที่สำคัญในการกระตุ้นการอักเสบนั้น ได้แก่ collagen type I ซึ่งเป็น collagen ชนิดที่พบมากที่สุดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า โดยเฉพาะชั้นส่วนที่หลุดออกมาจะถูกจับด้วยเซลล์ macrophage ที่อยู่ในข้อต่อและนำตัวอย่าง antigen ไปเสนอต่อ T-lymphocyte ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นเกิดการหลั่ง inflammatory cytokines และเกิดการทำลายเส้นเอ็นที่เหลือตามมา ส่งผลให้เอ็นสูญเสียความแข็งแรง เกิดความเสียหาย และเกิดการขาดในที่สุด (Doom et al.,2008)

เมื่อมีการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเสื่อมจะเกิดการหลั่ง proinflammatory mediator หลายชนิดภายในข้อเข่า โดยเฉพาะอย่างยิ่ง TGF- β เป็นปัจจัยสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดการสร้าง osteophyte (Van der kraan et al.,2005) ซึ่งสามารถตรวจพบได้ภายใน 3 วันภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเสื่อม โดยพบว่ามักเกิดที่บริเวณเยื่อหุ้มข้อต่อยึดเกาะกับส่วนของ fibrocartilage ที่บริเวณจุดยึด

เกาะของเยื่อหุ้มข้อต่อ (enthesisophyte) (Gilbertson, 1975) ร่วมกันการเกิดการหนาตัวของกระดูกในชั้น subchondral bone เนื่องมาจากการเพิ่มสูงขึ้นของ IGF-1 และ TGF- β ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสมดุลการสร้างและสลายกระดูกรวมถึงเพิ่มความแข็งของกระดูกในชั้นนี้ (Karsdal et al.,2008; Kwan Tat, 2010; Pothacharoen et al.,2006) จากเหตุผลดังกล่าวการวินิจฉัยทางรังสีวิทยาในภาวะข้อเสื่อมจึงได้รับความนิยมในการใช้วินิจฉัยข้อเสื่อม ซึ่งจากการศึกษาก่อนหน้านี้หลายฉบับพบความสัมพันธ์ระหว่างอาการแสดงทางคลินิก การเปลี่ยนแปลงของระดับตัวชี้วัดทางชีวภาพในกระแสเลือด และการเปลี่ยนแปลงทางรังสีวิทยา (Anderst et al.,2005; Takahashi et al.,2004) เช่นเดียวกับผลจากการศึกษานี้ที่พบการสูงขึ้นของระดับคะแนนการเกิดข้อเสื่อมทางรังสีวิทยาอย่างต่อเนื่องในสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม โดยพบการสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 เป็นต้นไป ($p=0.046$ และ $p=0.025$) และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง 2 กลุ่มการทดลอง ($p>0.05$) ผลการศึกษาในการศึกษานี้พบการเกิดภาวะข้อเสื่อมทั้งในสุนัขกลุ่มที่ได้รับ กลูโคซามีน และ chondroitin sulfate อย่างต่อเนื่องภายหลังเข้ารับการผ่าตัด บ่งชี้ถึงกระบวนการเกิดภาวะข้อเสื่อมถึงแม้ว่าข้อเข้าจะมีความมั่นคงแล้วภายหลังการผ่าตัดก็ตาม จึงเป็นการสนับสนุนผลการศึกษาก่อนหน้าที่เสนอว่าการเกิดภาวะข้อเข้าเสื่อม เนื่องมาจากการขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข้าคาดว่ามีสาเหตุมาจากการสูญเสียความสามารถ ในการรักษาสมดุลระหว่างการสร้างและการสลายกระดูกอ่อนข้อต่อรวมถึง องค์ประกอบต่างๆของน้ำภายในข้อต่อซึ่งเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงทางภูมิคุ้มกันวิทยา มากกว่าเกิดความเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อจากการกระแทกกันของกระดูกต้นขาและกระดูกหน้าแข้งเพียงอย่างเดียว (Doom et al.,2008; Muir et al.,2006)

แต่อย่างไรก็ตามมีการศึกษาที่พบว่า กลูโคซามีนและคอนดรอยติน ซัลเฟต มีความสามารถในการกระตุ้นการสังเคราะห์ TGF- β (Thrakal et al.,2007) ซึ่งเป็นตัวการที่สำคัญในการกระตุ้นการสร้าง osteophyte จึงอาจเป็นเหตุผลที่ไม่พบการลดลงของขนาด osteophyte ภายหลังการได้รับกลูโคซามีนและคอนดรอยตินซัลเฟต ซึ่งขนาดของ osteophyte เป็นตัวแปรสำคัญในการประเมินคะแนนข้อเสื่อมทางรังสีวิทยาของKellgren-Lawrence score ร่วมกับระยะห่างของข้อต่อและ subchondral bone sclerosis และส่งผลให้พบการสูงขึ้นของระดับคะแนนข้อเสื่อมทางรังสีวิทยาดลอดการศึกษา

จากการศึกษานี้พบการลดลงอย่างต่อเนื่องของการให้คะแนนความเจ็บปวดขณะเดิน ตลอดการศึกษาและต่ำที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 หลังการผ่าตัด โดยในทั้ง 2 กลุ่มสุนัขจะเริ่มลงน้ำหนักขาได้ ขณะเดินหรือยืน ภายใน 2 สัปดาห์หลังการผ่าตัด ซึ่งคาดว่าจะจะเป็นผลมาจากผ่านพ้นระยะการอักเสบและความเจ็บปวดที่เกิดขึ้นจากการผ่าตัด และพบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ สัปดาห์ที่ 4 หลังการผ่าตัด ($p=0.034$ และ $p=0.041$) แต่อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่าง 2 กลุ่มการทดลอง ดังนั้นผลการศึกษาที่ได้จากการศึกษานี้ให้ผลขัดแย้งกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่า กลูโคซามีน และ chondroitin sulfate ให้ผลการประเมินทางคลินิกที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม (McCarthy et al.,2007; Minami et al.,2011; Uitterlinden et al.,2005; Wen et al.,2010) ขณะเดียวกันให้ผลสนับสนุนผลการศึกษาก่อนหน้าที่เสนอว่าไม่พบความแตกต่าง จาก การประเมินอาการแสดงทางคลินิกระหว่างกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วย กลูโคซามีน และ คอนดรอยติน ซัลเฟต และกลุ่มควบคุม (Aragon et al.,2007; Dobenecker, 2006; Henrotin et al., 2005; Henrotin et al., 2011; Mcalindon et al.,2004; Messier et al.,2007; Peterson et al.,2011)

แต่อย่างไรก็ตามการแปลผลการรักษา จากระดับคะแนนความเจ็บปวดขณะเดินที่เกิดขึ้น ขณะที่สุนัขเดินหลังผ่าตัดแก้ไขภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาด ขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆอีก หลายปัจจัย เช่น การเกิดความเสียหายของ medial meniscus ที่พบได้มาก โดยจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบการเกิดความเสียหายของ medial meniscus ภายใน 12 สัปดาห์หลังเกิดการฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า ซึ่งจะเป็ตัวกระตุ้นให้เกิดความเจ็บปวดขณะที่สัตว์ลงน้ำหนักและเป็นปัจจัยสำคัญในกระบวนการเกิดข้อเสื่อมต่อไป นอกจากนี้ยังพบความเสียหายของ lateral meniscus ได้ภายใน 12 สัปดาห์เช่นเดียวกันแต่ความรุนแรงจะน้อยกว่า ความเสียหายของ medial meniscus มาก ซึ่ง (Intema et al.,2010; Smith et al.,2002) รวมถึงลักษณะนิสัยและการดูแลของเจ้าของสัตว์ซึ่งอยู่นอกเหนือขอบเขตของการศึกษานี้

ผลการศึกษาพบว่าตลอดการศึกษาสุนัขทุกตัวในทั้ง 2 กลุ่มมีผลการสุขภาพปกติ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงจากการตรวจร่างกายและผลการเปลี่ยนแปลงในกระแสเลือด ผลดังกล่าวแสดงถึงความปลอดภัยของการใช้ กลูโคซามีน และ chondroitin sulfate ในการรักษาภาวะข้อเสื่อมในสุนัขเป็นเวลาติดต่อกัน 16 สัปดาห์ แต่อย่างไรก็ตามมีการศึกษาบางฉบับที่แสดงถึงผลข้างเคียงของการใช้

กลูโคซามีน ในรูปแบบของการฉีดเข้าหลอดเลือดดำโดยพบการเปลี่ยนแปลงของ glucose metabolism ในหนูทดลองเป็นระยะเวลานาน ในขณะที่ในระยะเวลาดังกล่าวไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ glucose metabolism (Anderson et al.,2005) จากการศึกษาทางการแพทย์พบผลข้างเคียงจากการได้รับ กลูโคซามีน และ คอนดรอยติน ซัลเฟต โดยพบอาการทางระบบทางเดินอาหารเป็นหลักโดยอาการที่พบมากที่สุดได้แก่ อาการอาเจียน และท้องเสีย แต่อย่างไรก็ตามอาการดังกล่าวหายไปหลังจากหยุดการรักษาด้วย กลูโคซามีน (Henrotin et al.,2004) นอกจากนี้ยังมีผลการศึกษาดังกล่าวถึงความปลอดภัยในการได้รับ คอนดรอยติน ซัลเฟต ในขนาด 1,200 mg/day โดยไม่พบอาการข้างเคียงใดภายหลังการได้รับยาติดต่อกันเป็นเวลา 3 อาทิตย์ นอกจากนี้ยังพบว่า การได้รับ คอนดรอยติน ซัลเฟต ขนาด 1,200 mg 1 ครั้งต่อวันไม่แตกต่างจากการได้รับ คอนดรอยติน ซัลเฟต ขนาด 400 mg 3 ครั้งต่อวัน ทั้งในแง่ผลการรักษาและผลข้างเคียง (Bourgeois et al.,1998; Zegels et al.,2013) และไม่พบผลข้างเคียงภายหลังได้รับ กลูโคซามีน sulfate ในขนาด 2,000 mg/day ร่วมกับ คอนดรอยติน ซัลเฟต ขนาด 1,200 mg/day เช่นกัน (Hatchcock et al.,2007) จากผลการตรวจร่างกายและการตรวจค่าการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มสามารถสรุปได้ว่าการรักษาภาวะข้อเสื่อมในสุนัขโดยใช้ กลูโคซามีน และ คอนดรอยติน ซัลเฟต ในรูปแบบกิน ไม่พบอาการข้างเคียงและการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาภายใน 16 สัปดาห์หลังการรักษา แต่อย่างไรก็ตามข้อจำกัดในระยะเวลาของการศึกษาจึงไม่สามารถสรุปผลการเกิดภาวะข้างเคียง และการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาในการรักษาระยะยาวได้ ดังนั้นการรักษาภาวะข้อเสื่อมด้วย กลูโคซามีน และ คอนดรอยติน ซัลเฟต ในขนาด 1,500 mg/day และ 1,200 mg/day ตามลำดับติดต่อกันเป็นระยะเวลานานมากกว่า 16 สัปดาห์ สุนัขควรได้รับการสังเกตอาการอย่างต่อเนื่องถึงผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นได้

HA เป็นน้ำตาล polysaccharide ขนาดใหญ่ที่พบได้มากในข้อต่อ ซึ่งประกอบไปด้วย น้ำตาล glucuronic acid และ N-acetylกลูโคซามีน เป็นหน่วยย่อย โดยพบว่านอกจากในข้อต่อยังพบ HA ตาม extracellular matrix ของ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันหลายชนิด (Necas, et al.,2008) สำหรับ metabolism ของ HA นั้นถูกสังเคราะห์ขึ้นที่เซลล์เยื่อหุ้มข้อต่อ โดยถูกกระตุ้นจากเอนไซม์ hyaluronan synthases และถูกส่งผ่านมายังระบบน้ำเหลือง ต่อมาเมื่อผ่านไปทีดับจะถูกจับโดย liver endothelial cell และกำจัดออกจากร่างกายในที่สุดดังนั้นจึงพบว่าเมื่อเกิดพยาธิสภาพที่ดับจะส่งผลให้ระดับ HA ใน

กระแสเลือดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Guechot et al.,1995; Neces et al.,2008) นอกจากนี้ยังพบการกำจัดออกที่ไตอีกด้วย (Torsteinsdottir et al.,1999) และเนื่องจาก HA เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างนอกเซลล์ของ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันหลายชนิด และเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์เซลล์ต่างๆจึงพบว่าการสูงขึ้นของ HA ในกรณีที่เกิดเนื้องอก และมีการใช้ HA เป็น biomarker ในการติดตามการเกิดเนื้องอกและภาวะความเสียหายของตับอีกด้วย (Stern, 2005)

ระหว่างการศึกษาไม่พบการสูงขึ้นของค่า parameter การทำงานของตับและไต ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของระดับ HA ในกระแสเลือดที่เกิดขึ้นจึงเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงภาวะข้อเสื่อมเพียงอย่างเดียว

จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าในสัตว์และมนุษย์ที่เกิดภาวะข้อเสื่อม จะพบการสูงขึ้นของระดับ HA ในกระแสเลือดและพบการลดลงของระดับ HA ในน้ำไขข้อส่งผลให้สูญเสียความสามารถในการทำหน้าที่หล่อลื่นข้อต่อและรับแรงกระแทกขณะเคลื่อนไหว ส่งผลให้เกิดภาวะข้อเสื่อมมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วย rumathoid arthritis ที่พบการอักเสบอย่างรุนแรงซึ่งสาเหตุดังกล่าวคาดว่ามีสาเหตุมาจากภาวะการอักเสบของเซลล์เยื่อข้อต่อ มากกว่าเกิดจากความเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อโดยตรง (Pruksakorn et al.,2009; Wollheim, 1999) และพบว่าระดับของ IL-1 และ TNF- α ที่สูงขึ้นจากภาวะข้อเสื่อมจะเป็นตัวกระตุ้นการสังเคราะห์ HA จากเยื่อหุ้มข้อเพิ่มสูงขึ้น ขณะที่ HA ที่ได้ออกมาจะมีขนาดโมเลกุลที่เล็กกว่าปกติ ส่งผลให้พบการสูงขึ้นของระดับ HA ในกระแสเลือด (Torsteinsdottir et al.,1999) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่ได้จากการศึกษานี้โดยพบว่าภายหลังการผ่าตัด พบการสูงขึ้นของระดับ HA ในกระแสเลือดอย่างต่อเนื่อง ในทั้ง 2 กลุ่มการทดลอง และพบว่าระดับ HA ในกระแสเลือดของสุนัขที่ได้รับ กลูโคซามีน และ chondroitin สูงขึ้นต่อเนื่องอย่างไม่มีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 2 ($p>0.05$) จนถึงสัปดาห์ที่ 12 หลังเข้ารับการผ่าตัดและพบการลดลงในสัปดาห์ที่ 16 ในขณะที่สุนัขในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกพบการเพิ่มขึ้นของระดับ HA ต่อเนื่องอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 2 ($p<0.01$) จนถึงสัปดาห์ที่ 8 และพบการลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 16 แต่อย่างไรก็ตามจากการคำนวณทางสถิติโดยวิธี Kruskal-wallis sign ranks test one-way ANOVA พบว่าระหว่างสุนัขทั้ง 2 กลุ่มการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงของระดับ HA ในกระแสเลือดอย่างไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) จากผลดังกล่าวบ่งชี้ถึงการ

เกิดภาวะเยื่อหุ้มข้ออักเสบซึ่งเป็นลักษณะสำคัญในการเกิดภาวะข้อเสื่อมอย่างต่อเนื่องและลดระดับลงในสัปดาห์ที่ 12 และ 8 ตามลำดับ บ่งชี้ถึงการลดความรุนแรงของภาวะเยื่อหุ้มข้ออักเสบที่เกิดขึ้นภายหลังการผ่าตัดซึ่งสอดคล้องกับผลการประเมินความสามารถในการลงน้ำหนักขาและความเจ็บปวดขณะเดินซึ่งให้ผลดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังการผ่าตัดอย่างต่อเนื่องเช่นกัน และจากผลดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่าการได้รับ กลูโคซามีน และ chondroitin sulphate ให้ผลในการลดระดับความรุนแรงของภาวะเยื่อหุ้มข้ออักเสบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอก

อย่างไรก็ตามระดับ HA ในกระแสเลือดเป็นเพียงการวัดระดับ HA โดยอ้อม ซึ่งระดับในกระแสเลือดนั้นไม่ใช่ระดับของ HA ในเยื่อหุ้มข้อซึ่งทำหน้าที่ในการหล่อลื่นข้อต่อโดยตรง ดังนั้นผลดังกล่าวเป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาระดับ HA ในกระแสเลือดซึ่งสะท้อนถึงระดับ HA เท่านั้น โดยถ้าต้องการวัดระดับ HA ที่ส่งผลต่อการทำงานของข้อต่อโดยตรงควรวัดระดับ HA ในเยื่อหุ้มข้อมากกว่าการวัดในกระแสเลือด (Belcher et al.,1997)

WF6 คอนดรอยติน ซัลเฟต epitope เป็น epitope ของ chondroitin-6-sulfate ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของ aggrecan ร่วมกับ chondroitin-4-sulfate ใน โครงสร้างนอกเซลล์ของกระดูกอ่อนข้อต่อ ดังนั้นเมื่อเกิดความเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อจึงพบการสูงขึ้นของระดับ chondroitin-6-sulfate ในน้ำไขข้อและกระแสเลือดตามลำดับ (Belcher et al.,1997; Caterson et al.,1995; Pothacharoen et al.,2006) จึงสามารถตรวจพบได้ในซีรัมเมื่อเกิดการเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อ (catabolic biomarker) โดยการใช้ monoclonal antibody ที่มีความจำเพาะต่อ chondroitin-6-sulfate และ chondroitin2, 6 disulfate เพื่อตรวจสอบปริมาณ และแปลผลถึงความเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อได้ (Cox et al., 1985; Strom et al., 1989; Slatter, 2003) และจากการศึกษาก่อนหน้าพบว่าระดับ WF6 ในซีรัมมีการสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในสุนัขที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเสื่อม และมีความเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดที่สำคัญในการประเมินและติดตามการพัฒนาของภาวะข้อเสื่อมที่เกิดขึ้น (Nganvongpanit et al.,2009; Pruksakorn et al.,2009)

ผลจากการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับ WF6 และ HA ในกระแสเลือดระหว่างกลุ่มในแต่ละสัปดาห์ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่เสนอว่าการได้รับ กลูโคซามีน sulfate ร่วมกับ คอนดรอยติน ซัลเฟต ในผู้ป่วยและสัตว์ป่วยที่มีภาวะข้อเสื่อม ให้ผลในการรักษาไม่แตกต่างกับการให้ placebo (Aragon et al.,2007; Dobenecker, 2006; Henrotin et al., 2005; Henrotin et al., 2011; Mcalindon et al.,2004; Messier et al.,2007; Peterson et al.,2011)แต่อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาที่พบว่าสุนัขในกลุ่มที่ได้รับ กลูโคซามีน และ คอนดรอยติน ซัลเฟต มีการลดลงของระดับซีรัม WF 6 จนต่ำที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 หลังการผ่าตัด ขณะที่กลุ่มที่ได้รับยาหลอก พบการลดลงจนต่ำที่สุดในสัปดาห์ที่ 12 หลังการผ่าตัด และพบการสูงขึ้นของระดับ HA ในกระแสเลือดสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 12 ขณะที่ กลุ่มที่ได้รับยาหลอกพบการสูงขึ้นของระดับ HA ในกระแสในสัปดาห์ที่ 8 จากผลดังกล่าวอาจสรุปได้ว่าการได้รับ กลูโคซามีน และ คอนดรอยติน ซัลเฟต มีผลในการชะลอการทำลายกระดูกอ่อนข้อต่อและชะลอการเกิดภาวะเยื่อหุ้มข้ออักเสบ ได้นานกว่าเล็กน้อย เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอก

กลูโคซามีน มีความสามารถในการกระตุ้นการทำงานของ mRNA ที่มีส่วนในการสร้าง แอกรีแคน รวมถึงมีความสามารถในการยับยั้ง MMP ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักที่มีหน้าที่ในการสลายกระดูกอ่อนจากการทดลองในเซลล์เพาะเลี้ยง (Dodge et al.,2003) นอกจากนี้ยังพบความสามารถในการกระตุ้นเซลล์เยื่อข้อต่อให้สร้าง ไฮยาลูโรแนน ในข้อต่อมากขึ้น ส่งผลให้น้ำไขข้อมีความสามารถในการหล่อลื่นและดูดซับแรงกระแทก ขณะที่มีการเคลื่อนไหวของข้อต่อได้ดีขึ้น (McCarthy ,1998) และพบความสามารถในการลดการกระตุ้นความเจ็บปวดในหนูทดลองจากการลดสารการทำงานของสารสื่อประสาทบางชนิดเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับ กลูโคซามีน (Wen at.al.,2010) นอกจากนี้มีผู้เสนอว่าคุณสมบัติในการชะลอภาวะข้อเสื่อมของ กลูโคซามีน นั้นมาจากความสามารถในการยับยั้งการกระตุ้นยีนที่มีหน้าที่ในการสลายกระดูกอ่อนข้อต่อมากกว่าคุณสมบัติในการซ่อมแซมกระดูกอ่อนข้อต่อที่เสียหาย (Uitterkinden et al.,2006) จากความสามารถในยับยั้งการทำงานของ $TGF\alpha$, $IL-1\beta$ และ PGE_2 ส่งผลให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์กระดูกอ่อนได้ดียิ่งขึ้น (Kim et al.,2007; Largo et al.,2003) รวมถึงพบการลดลงของการสังเคราะห์ fibronectin และ MMP (MMP-3 และ MMP-9) ซึ่งเป็น proteolytic enzyme ที่สำคัญในการสลาย โปรตีโอไกลัยแคน ในกระดูกอ่อนข้อต่อเมื่อทำการเปรียบเทียบกับกลุ่มยาหลอก (Homanberg et al.,2006) นอกจากนี้

พบว่าเมื่อได้รับ กลูโคซามีน จะส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของการสังเคราะห์ โพรตีโอไกลัยแคน และ type I-II collagen (Minami et al.,2011) และยังพบว่าในสุนัขที่ได้รับ กลูโคซามีน มีการซ่อมแซมรอยโรคที่กระดูกอ่อนได้มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสุนัขที่ได้รับยาหลอก (Tamai et al.,2002)

ในปัจจุบัน กลูโคซามีน ที่นิยมใช้ในการรักษาจะอยู่ในรูปของ กลูโคซามีน sulfate มากกว่า กลูโคซามีน hydrochloride เนื่องจากพบว่า กลูโคซามีน sulfate มีความสามารถในการดูดซับทางกรีนและมีแพร่กระจายเข้าไปในข้อต่อได้มากกว่ารวมถึงมีผลต่อเมตาโบริซึมของกลูโคสในมนุษย์น้อยกว่า (Anderson et al.,2005; Meulyzer et al.,2008)

คอนดรอยติน ซัลเฟต เป็นองค์ประกอบหลักที่พบได้มากที่สุด ใน โพรตีโอไกลัยแคนส์ ที่พบในกระดูกอ่อนข้อต่อ โดยการได้รับ chondroitin อย่างต่อเนื่องพบว่ามีประสิทธิภาพในการลดการเกิดรอยโรคที่กระดูกอ่อนข้อต่อจากการตรวจวินิจฉัยทางรังสีวิทยา โดยพบการลดลงของปริมาณ osteophyte (Uebelhart et al.,2004) และพบการลดลงของระยะห่างระหว่างข้อต่อจากการศึกษาในทางการแพทย์ (Hockberg, 2010) ซึ่งคาดว่าเกิดจากการที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ โพรตีโอไกลัยแคน ได้มากขึ้นภายหลังการได้รับ คอนดรอยติน ซัลเฟต จึงมีส่วนช่วยในการปรับสมดุลระหว่างการสร้างและการสลายกระดูกอ่อนข้อต่อให้กลับมาอยู่ในสมดุลที่เหมาะสม (Moller et al.,2010) แต่อย่างไรก็ตามในกรณีที่สาเหตุหลักยังคงอยู่การได้รับ คอนดรอยติน ซัลเฟต น่าจะมีส่วนช่วยในการรักษาสมดุลการสร้างและการสลายดังกล่าวในช่วงแรกเท่านั้น และเมื่อถึงจุดที่เกินความสามารถในการรักษาสมดุล การได้รับ คอนดรอยติน ซัลเฟต อาจมีส่วนช่วยในการรักษาภาวะข้อเสื่อมเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่ได้ในการศึกษานี้และการศึกษาก่อนหน้านี้บางฉบับ (Aragon et al.,2007; Mcalindon et al.,2004; Peterson et al.,2011)

นอกจากความสามารถในการรักษาสมดุลของกระดูกอ่อนข้อต่อแล้ว คอนดรอยติน ซัลเฟต ยังมีคุณสมบัติในยับยั้งกระบวนการในการกระตุ้นการอักเสบเช่นกัน โดยมีรายงานการศึกษาพบว่ามีการลดลงของการสังเคราะห์ TNF- α (Egea et al.,2010) พบการลดลงของการสังเคราะห์ MMP (MMP3 และ MMP13) (Lovu et al.,2008) และพบการลดลงของการสังเคราะห์ Nk-kB จากเซลล์กระดูกอ่อนและเซลล์เยื่อหุ้มข้อต่อ ซึ่ง NF-kB นี้เป็นตัวการสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์ MMP, IL-1 และ TNF- α (Andres et al.,2013; Egea et al.,2010; Lovu et al.,2008)

นอกจากนี้ยังพบรายงานการศึกษาถึงความสามารถในการช่วยลดค่าเสียดทานภายในข้อต่อ (friction coefficient) จากการที่ช่วยเพิ่มการสังเคราะห์ aggrecan ซึ่งมีการเกาะจับกับ HA และทำหน้าที่ในการรักษาสภาพของน้ำไขข้อได้อีกด้วย (Basalo et al.,2006)

รายงานการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า การได้รับ กลูโคซามีนซัลเฟตร่วมกับ คอนดรอยตินซัลเฟต ให้ผลในการกระตุ้นการสังเคราะห์ โพรตีโกลัยแคน ในกระดูกอ่อนข้อต่อมากกว่าการได้รับ กลูโคซามีน sulfate หรือ คอนดรอยติน ซัลเฟต เพียงอย่างเดียว (Yue et al,2012) และมีผลในการลดการเกิด osteophyte มากกว่าเช่นกัน (Das et al.,2000) รวมถึงมีความสามารถในการยับยั้งกระบวนการกระตุ้นการอักเสบที่มากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในตระกูล prostaglandins ซึ่งพบว่าเมื่อได้รับ กลูโคซามีน sulfate ร่วมกับ คอนดรอยติน ซัลเฟต จะมีความสามารถในการยับยั้ง COX-2 จึงมีความสามารถในการระงับปวดและลดการอักเสบที่เกิดขึ้นได้ (Chan et al.,2005) รวมถึงสามารถสลายไฟบรินที่เกิดขึ้นได้ดีกว่า (Homandberg et al.,2006; Messier et al.,2007) ความแตกต่างของน้ำหนักที่ผ่านข้อต่อเป็นปัจจัยหนึ่ง ที่ส่งผลต่อการตอบสนองของกระดูกอ่อนข้อต่อภายหลังการได้รับ กลูโคซามีน sulfate และ คอนดรอยติน ซัลเฟต โดยพบว่ามีการสังเคราะห์ โพรตีโกลัยแคน มากขึ้นในกลุ่มที่มีการออกกำลังกายที่เหมาะสม (Lippiello , 2004)

4.7 สรุปผลการศึกษา

จากผลการศึกษาข้างต้นสามารถสรุปได้ว่าการได้รับ กลูโคซามีน และ คอนดรอยติน ซัลเฟต ติดต่อกันเป็นเวลา 16 สัปดาห์ไม่พบอาการแทรกซ้อนใดๆรวมถึงการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยาตลอดการศึกษา และให้ผลการรักษาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการประเมินด้วยระดับคะแนนการลงน้ำหนักขา คะแนนความเจ็บปวดขณะเดิน ระดับคะแนนการเกิดภาวะข้อเสื่อมทางรังสีวิทยา การเปลี่ยนแปลงของระดับ HA และ WF6 ในกระแสเลือด แต่อย่างไรก็ตามพบว่าในกลุ่มที่ได้รับ กลูโคซามีน และ คอนดรอยติน ซัลเฟต มีมีแนวโน้มในการลดลงของระดับ WF6 ในกระแสเลือดเร็วกว่า และพบแนวโน้มการเพิ่มสูงขึ้นของระดับ HA ในกระแสเลือดช้ากว่า

ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอก บ่งชี้ถึงความสามารถในการชะลอการเสียหายของกระดูกอ่อนข้อต่อ รวมถึงชะลอการเกิดภาวะเยื่อหุ้มข้ออักเสบของ กลูโคซามีน และ คอนครอยติน ซัลเฟต ได้เล็กน้อย

อย่างไรก็ตามการศึกษานี้มีข้อจำกัดในเรื่องของการควบคุมปัจจัยต่างๆ ที่อาจส่งผลต่อการประเมินผลการเปลี่ยนแปลงต่างๆ เช่น การดูแลของเจ้าของสัตว์ พฤติกรรมของสัตว์ และอาหารที่สัตว์กิน เป็นต้น เนื่องจากการศึกษาโดยทำการเก็บข้อมูลจากสัตว์ที่ป่วยทางคลินิกจริง ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดการคลาดเคลื่อนของการนำข้อมูลที่ได้มาทำการประเมินผลการรักษา ดังนั้นการใช้สัตว์ทดลองในการศึกษาและการเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่มากขึ้นอาจให้ผลการศึกษาที่แม่นยำมากขึ้นต่อไปในการศึกษาภาคหน้า

รายการอ้างอิง (Reference)

- Anderson, J W., Nicolosi, R. J. and Borzelleca, R. F. 2005. Glucosamine effects in humans : a review of effects on glucose metabolism, side effects, safety considerations and efficacy. Food Chem. Toxicol. (43): 187–201.
- Anderst, W J., Les, C. and Tashman, S. 2005. In vivo serial joint space measurements during dynamic loading in a canine model of osteoarthritis. Osteoarthr Cartilage (13): 808-816.
- Andres, R. M., Pay, M., Montesinos, M. C., Ubeda, A., Naval, A., Herrero, M., Vergés, J. and Terencio, M. C. 2013. Potential antipsoriatic effect of chondroitin sulfate through inhibition of NF- κ B and STAT3 in human keratinocytes. Pharmaceut Res (7):20– 26.
- Amin , S., Guermazi , A., LaValley, M P., Niu, J., Clancy, M., Hunter, J., Grigoryan, M. and Felson, D T. 2008. Complete anterior cruciate ligament tear and the risk for cartilage loss and progression of symptoms in men and women with knee osteoarthritis. Osteoarthr Cartilage (16): 897-902.
- Aragon, C.L., Hofmeister, E.H. and Budberg, S.C. 2007. Systematic review of clinical trials of treatments for osteoarthritis in dogs. Am. Vet. Med. Assoc (4):514-521.
- Ayral, X., Mackillop, N., Kirkpatrick, H.K.J., Beaulieu, A., Pippingskio, P., Will, R.K., Alava, S. 2003. Arthroscopic evaluation of potential structure-modifying drug in osteoarthritis of the knee . OsteoArthritis and Cartilage (11): 198–207.
- Bana, G., Jamard, B., Verrouil, E., Mazie`res, B. 2006. Chondroitin sulfate in the management of hip and knee osteoarthritis: an overview. Adv phramacol,(53) :507-522.
- Basalo, I. M., Chahine, N. O., Kaplun, M., Chen, F. H. and Hung, C. T., Ateshia, G.A..2006. Chondroitin sulfate reduces the friction coefficient of articular cartilage. J Biomech (40):1847–1854

- Belcher, C., Yaqub, R., Fawthrop, F., Bayliss, M. and Doherty, M. 1997. Synovial fluid chondroitin and keratan sulfate epitopes, glycosaminoglycans, and hyaluronan in arthritic and normal knees. Ann. Rheum. Dis. (56): 299–307.
- Blom, A.B., Van Lent, P.L., Holthuysen, A.E., Van der Kraan, P.M., Roth, J., Van Rooijen, N. and Van Berg, W.B. 2004. Synovial lining macrophages mediate osteophyte formation during experimental osteoarthritis. Osteoarthr Cartilage.(8):627-635.
- Boulocher, C., Verset, M., Arnault, F., Maitre, P., Fau, D., Roger, T., and Viguiet, T. 2011. Atlas of macroscopic and microscopic lesions of the knee joint in an osteoarthritis anterior cruciate ligament transaction dog model 90 days after surgery. Osteoarthr Cartilage (19): 53–236.
- Bourgeois, P., Chales, G.I., Dehais, J., Delcambre, B., Kuntzi, J.L. and Rozenberg, S. 1998. Efficacy and tolerability of chondroitin sulfate 1200 mg/day vs chondroitin sulfate 3 x 400 mg/day vs placebo. Osteoarthr Cartilage (6):25-30.
- Bruin, T D., Rooster, H D., Bree, H V. and Cox, E. 2005. Interleukin-8 mRNA expression in synovial fluid of canine stifle joints with osteoarthritis. Vet Immunol Immunop. (108): 387–397.
- Caterson, B., Hughes, C E., Roughley, T. and Mort, J S. 1995. Anabolic and catabolic markers of proteoglycan metabolism in osteoarthritis. Acta Orthop Scand (66): 121-124.
- Carterson, B., Marmoodian, F., Sorrell, J M., Hardingram, T., Bayliss, T M., Carney, S L., Ratcliffe, A. and Muir, H. 1990. Modulation of native chondroitin sulfate structure in tissue development and in disease. J. Cell Sci (97): 411-417.

- Chan, P. S., Caron, J. P. and Rosa, G.J .M.2005. Glucosamine and chondroitin sulfate regulate gene expression and synthesis of nitric oxide and prostaglandin E2 in articular cartilage explants. Osteoarthr Cartilage (13): 387–394.
- Chu, Q., Lopez, M., Hayashi, K., Ionescu, M., Billinghamurst, R.C., Johnson, K.A., Poole, A.R. and Markel, M.D.2002. Elevation of a collagenase generated type II collagen neoepitope and proteoglycan epitopes in synovial fluid following induction of joint instability in the dog. Osteoarthr Cartilage (10): 662-669.
- Cox , M J., McDevitt, C A., Arnoczky, S P. and Warren, R F. 1985. Changes in the chondroitin sulfate-rich region of articular cartilage proteoglycans in experimental osteoarthritis.Biochimica et Biophysica A cta (840): 228-234.
- Das, A. and Hammad, T.A. 2000. Efficacy of a combination of FCHG49Y glucosamine \ hydrochloride, TRH122Y low molecular weight sodium chondroitin sulfate and manganese ascorbate in the management of knee osteoarthritis. Osteoarthr Cartilage (8): 343–350.
- Dobenecker, B. 2006. Effect of Chondroitin Sulfate as Nutraceutical in Dogs with Arthropathies. Adv Pharmacol. 53: 467-474.
- Dodge, G R. and Jimenez, S A. 2003. Glucosamine sulfate modulates the levels of aggrecan and matrix metalloproteinase-3 synthesized by cultured human osteoarthritis articular chondrocytes. Osteoarthr Cartilage (11) : 424–432.
- Doom, M., Bruin, T.D., Rooster,H.D., Bree,H.V. and Cox,E. 2008. Immunopathological mechanisms in dogs with rupture of the cranial cruciate ligament. Vet. Immunol. Immunop.(125):143–161.

- Egea, J., García, A. G., Verges, J., Montell, E. and López, M.G. 2010. Antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective actions of chondroitin sulfate and proteoglycans. Osteoarthr Cartilage (18):24-27.
- Emrani, P. S., Katz, J. N., Kessler, C. L., Reichmann, W. L., Wright, E. D., McAlindon, T. E., M.P.H. and Losina, E. 2008. Joint space narrowing and KellgrenLawrence progression in kneeosteoarthritis: an analytic literature synthesis. Osteoarthr Cartilage(16): 873-882.
- Evans, E. E. and Lahunta, D. A. 2013. Arthrology. Miller's anatomy of the dog. Saunders :Missouri. 158-181.
- Gilbertson, E. 1975. Development of periarticular osteophytes in experimentally induced osteoarthritis in the dog. Ann Rheum Dis (34).P:12-25.
- Guechot, J., Loria, A., Serfaty, L., Giral, P., Giboudeau, J. and Poupon, R. 1995. Serum hyaluronan as a marker of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C: effect of α -interferon therapy. J Hepatol (22): 22-26.
- Güler-Yüksel, M., Allaart, C.F., Watt, I., Goekoop-Ruiterman, Y.P.M., Vries-Bouwstra, J.K., Schaardenburg, D.V., Krugten, M.V.V., Dijkmans, B.A.C., Huizinga, T.W.J., Lems, W.F. and Kloppenburg, M. 2010. Treatment with TNF- α inhibitor infliximab might reduce hand osteoarthritis in patients with rheumatoid arthritis. Osteoarthr Cartilage (18): 1256–1262.
- Hayami, T., Pickarski, M., Zhuo, M., Wesolowski, G. A., Rodan, G. A. and Duong, L. T. 2006. Characterization of articular cartilage and subchondral bone changes in the rat anterior cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis. Bone (38): 234–243.

- Hathcock, J. N., Shao, A. 2007. Risk assessment for glucosamine and chondroitin sulfate . Regul Toxicol Pharm(47):78-83.
- Hasler, E M., Herzog, W., Leonard, T R., Stano, A. and Nguyen, H. 1998. In vivo knee joint loading and kinematics before and after ACL transection in an animal model. J. Biomech (31): 253- 262.
- Hegemann, N., Kohn, B., Brunnberg, L. and Schmidt, M F. 2002. Biomarkers of joint tissue metabolism in canine osteoarthritic and arthritic joint disorders. Osteoarthr Cartilage (10): 714–721.
- Henrotin , Y., Sanchez, C. and Balligand, M. 2005. Pharmaceutical and nutraceutical management of canine osteoarthritis: Present and future perspectives. Vet J (170): 113–123.
- Henrotin, Y., Lambert, C., Couchourel, D., Ripoll, C. and Chiotelli, E. 2011. Nutraceuticals: do they represent a new era in the management of osteoarthritis? a narrative review from the lessons taken with five products. Osteoarthr Cartilage (19): 1-21.
- Hochberg, M. C. 2010. Structure modifying effects of chondroitin sulfate in knee osteoarthritis: an updated meta-analysis of randomized placebo-controlled trials of 2-year duration . Osteoarthr Cartilage (18):28-S31.
- Homandberg, G A., Guo, D., Ray, L M. and Ding, L .2006. Mixtures of glucosamine and chondroitin sulfate reverse fibronectin fragment mediated damage to cartilage more effectively than either agent alone. Osteoarthr Cartilage (14): 793-806.

- Intema, F., Hazewinkel, H A W., Gouwens, D., Bijlsma, J W J., Weinans, H., Lafeber, F P J G. and Mastbergen, S C. 2010. In early OA, thinning of the subchondral plate is directly related to cartilage damage: results from a canine ACLT-meniscectomy model. Osteoarthr Cartilage (18): 691–698.
- Johnson, K A., Hulse, D A., Hart, R C, 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. Osteoarthr Cartilage (9): 14–21.
- Johnson, K A., Hay, C W., Chu, Q., Roe, S C. and Caterson, B. 2002. Cartilage-derived biomarkers of osteoarthritis in synovial fluid of dogs with naturally acquired rupture of the anterior cruciate ligament. Am J Vet Res. (6): 775-81.
- Kammermann, J.R., Kincaid, S.A., Rump, P.F., Baird, D.K. and Visco, D.M..1996. Tumor necrosis factor- (TNF-) in canine osteoarthritis: Immunolocalization of TNF-, stromelysin and TNF receptors in canine osteoarthritic cartilage. Osteoarthr Cartilage (4):23-34.
- Karsdal, M A., Leeming, D J., Dam, E B., Henriksen.K., Alexandersen, P., Pastoureau, P., Altman, R. and Christiansen, C. 2008. Should subchondral bone turnover be targeted when treating osteoarthritis?. Osteoarthr Cartilage (16): 638-646.
- Kim, M. M., Mendis, E., Rajapaks, N. and Kim, S. K. 2007. Glucosamine sulfate promotes osteoblastic differentiation of MG-63 cells via anti-inflammatory effect. Bioorg Med Chem Lett (17):1938–1942.

- Kraus, V B. 2011. Osteoarthritis year 2010 in review: biochemical markers. Osteoarthr Cartilage (19): 346-353.
- Kuroki, K., Cook, C. R. and Cook, J. L. 2011. Subchondral bone changes in three different canine models of osteoarthritis. Osteoarthr and Cartilage (18):1142-1149.
- Kwan Tat, S K., Lajeunesse, D., Pelletier, J P. and Pelletier, J M. 2010. Targeting subchondral bone for treating osteoarthritis:what is the evidence?. Best Pract Res Cl Rh (24): 51–70.
- Lippiello, L. 2003. Glucosamine and chondroitin sulfate: biological response modifiers of chondrocytes under simulated conditions of joint stress. Osteoarthr Cartilage (11): 335–342.
- Liu, W., Wurster, N. B., Glant, T. T., Tashman, S., Sumner , D. R., Kamath, R. V., Lust , G., Kimura, J. H. and Szabo, G. C. 2003. Spontaneous and experimental osteoarthritis in dog: similarities and differences in proteoglycan levels. J Orthop Res (21): 730–737.
- Lopez, M. J., Kunz, D., Vanderby, J., Heisey, D., Bogdanske, J. and Markel, M. D. 2003. A comparison of joint stability between anterior cruciate intact and deficient knees: a new canine model of anterior cruciate ligament disruption. J Orthop Res (21): 224–230.
- Louboutin, H., Debarge, R., Richou, J., Selmi, T K S., Donell , S T., Neyret, P. and Dubrana , F. 2009. Osteoarthritis in patients with anterior cruciate ligament rupture: A review of risk factors. Knee (16): 239–244.
- Lovu, M., Dumais, G. and Souich, P.D. 2008. Anti-inflammatory activity of chondroitin sulfate. Osteoarthr Cartilage (16):14-18.

- Lozano, J., Saadat, E., Li, X., Majumdar, S. and Benjamin, C. 2009. Magnetic resonance T1 ρ imaging of ACL transection osteoarthritis: a rabbit model. Magn Reson Imaging (27): 611–616.
- Lavigne, P., Bendoric, M., Lajeunesse, D., Reboul, P., Shi, Q., Pelletier, J. P., Martel-Pelletier, J. and Fernandes, J.C. 2005. Subchondral and trabecular bone metabolism regulation in canine experimental knee osteoarthritis. Osteoarthr Cartilage (13): 310-317.
- Largo, R., Alvarez-Soria, M. A., Díez-Ortego, I., Calvo, E., Pernaute, O., Egido, J. and Beaumont, G. 2003. Glucosamine inhibits IL-1-induced NF- κ B activation in human osteoarthritic chondrocytes. Osteoarthr Cartilage (11): 290–298.
- Minami, S., Hata, M., Tamai, Y., Hashida, M., Takayama, T., Yamamoto, S., Okada, M., Funatsu, T., Tsuka, T., Imagawa, T. and Okamoto, Y. 2011. Clinical application of d-glucosamine and scale collagen peptide on canine and feline orthopedic diseases and spondylitis deformans. Carbohydr Polymers (84): 831–834.
- McAlindon, T., Formica, M., LaValley, M., Lehmer, M. and Kabbara, K. 2004. Effectiveness of glucosamine for symptoms of knee osteoarthritis: results from an internet-based randomized double-blind controlled trial. Am J Med (11): 643–649.
- McCarthy, M F. 1998. Enhanced synovial production of hyaluronic acid may explain rapid clinical response to high-dose glucosamine in osteoarthritis. Med Hypotheses (50): 507-510.
- 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. Vet J (174): 54–61.

- Messier, S. P., Mihalko, S., Loeser, R.F., Legault, C., Jolla, J., Pfruender, J., Prosser, B., Adrian, A. and Williamson, J D. 2007. Glucosamine/chondroitin combined with exercise for the treatment of knee osteoarthritis: a preliminary study. Osteoarthr Cartilage (15): 1256-1266.
- Meulyzer, M., Vachon, P., Beaudry, F., Vinardell, T., Richard, H., Beauchamp, G. and Laverty, S. 2009. Joint inflammation increases glucosamine levels attained in synovial fluid following oral administration of glucosamine hydrochloride. Osteoarthr Cartilage (17): 228-234.
- Miller, D. R. and Lust, G. 1979. Accumulation of procollagen in the degenerative articular cartilage of dogs with osteoarthritis. Biochimica et Biophysica Acta(598). 218-231.
- Mobasher, A. 2011. Identification and validation of early biomarkers of osteoarthritis in companion animals: Are we ready for the challenge. Vet J (190): 1-4.
- Möller, I., Pérez, M., Monfort, J., Benito, P., Cuevas, J., Perna, C., Doménech, G., Herrero, M., Montell, E. and Vergés, J. 2010. Effectiveness of chondroitin sulphate in patients with concomitant knee osteoarthritis and psoriasis: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. Osteoarthr Cartilage (18): 32-40.
- Muir, P., Manley, P. A. and Hao, Z. 2006. Collagen fragmentation in ruptured canine anterior cruciate ligament explants. Vet J (172): 121-128.
- Muir, P. 2010. Structure and function. In *Advances in the canine cruciate ligament*. Wiley-Blackwell: Iowa. 3-37.
- Necas, J., Bartosikova, L., Brauner, P. and Kolar, J. 2008. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. A Review. Vet. Med. (8): 397-411.

- Nganvongpanit, K. and Ong-Chai, S. 2004. Changes of serum chondroitin sulfate epitope in a canine anterior cruciate ligament transaction model of osteoarthritis. KKU Vet J (14): 94-103.
- 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. J.Vet.Sci. (3): 317-325.
- Peterfy, C.G., Gold, G., Eckstein, F., Cicuttini, F., Dardzinski, B. and Stevens, R. 2006. MRI protocols for whole-organ assessment of the knee in osteoarthritis. Osteoarthr Cartilage (14) : 95-111.
- Petersen, S. G., Beyer, N., Hansen, M., Holm, L., Aagaard, P., Mackey, A.L. and Kjaer, M. 2011. Nonsteroidal anti-inflammatory drug or glucosamine reduced pain and improved muscle strength with resistance training in a randomized controlled trial of knee osteoarthritis patients. Arch Phys Med Rehabil (92):1185-1193.
- Piermattie, D. L. Craniolateral approach to stifle joint. An atlas of surgical approaches to the bone and joint of the dog and cat, 3rd edition. 1993. Saunders: Philadelphia. 276-277.
- Pothacharoen, P., Teekachunhateanz, S., Louthrenoox, W., Yingsungy, W., Ong-Chaiy, S., Hardinghamk, T. and Kongtawelerty, P. 2006. Raised chondroitin sulfate epitopes and hyaluronan in serum from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. Osteoarthr Cartilage (14): 299-301.
- Pruksakorn, D., Rojanasthien, S., Pothacharoen, P., Luevitoonvechkij, S., Wongtratanachai, P., Ong-chai, S. and Kongtawelert, P. 2009. Chondroitin sulfate epitope (WF6) and hyaluronic acid as serum markers of cartilage degeneration in patients following anterior cruciate ligament injury. J. Sports Sci. Med. (12): 445-448.

- Richette, P. and Bardin, T. 2004. Structure-modifying agents for osteoarthritis: an update. Joint Bone Spine(71):18–23.
- Santos, C.A., Jorge, A., Roman-Blas, B., Raquel L.B. and Gabriel, H.B..2011. Subchondral bone as a key target for osteoarthritis treatment. Bio. Phramacol.(Article in press)
- Smith, G N., Mickler, E A., Albrecht, M E., Myers, S L. and Brandt, K D. 2002. Severity of medial meniscus damage in the canine knee after anterior cruciate ligament transaction. Osteoarthr Cartilage (10): 321–326.
- Steffey, M. A., Miura, N., Todhunter, R. J., Nykamp. S. G., Freeman, .K.P, Scarpino, V., Vernier- Singer, M.A., Erb, H.N., MacLeod , J.N., Lust, G. and Burton-Wurster, N.2004. The potential and limitations of cartilage-specific (V+C)(-) fibronectin and cartilage oligomeric matrix protein as osteoarthritis biomarkers in canine synovial fluid. Osteoarthr Cartilage (10): 818-825.
- Stern, R.2005. Hyaluronan metabolism: a major paradox in cancer biology. Pathol. Biol (53): 372–382.
- Strom, H., Alexandersen, S., Poulsen, O M. and Hau, J. 1989. Synovial Fluid Proteins in Degenerative Joint Disease in Dogs.Vet Immunol Immunop (22): 187-196.
- Suri, S. and Walsh, D. A. 2011 .Osteochondral alterations in osteoarthritis.Bone.(In press).
- 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): 208-212.

- Tamai, Y., Miyatake, K., Okamoto, Y., Takamori, Y., Sakamoto, H. and Minami, S. 2002. Enhanced healing of cartilaginous injuries by glucosamine hydrochloride. Carbohydrate polymer (48): 369-378.
- Thakral, R., Debnath, U.K. and Dent, C. 2007. Role of glucosamine in osteoarthritis. Curr orthopaed.(21): 386-389.
- Todhunter, R. J. and Johnston, S. A. 2003. Osteoarthritis. in Text book of small animal surgery. 3th edition. Saunders: Philadelphia. 2208-2254.
- Torsteinsdottir, I., Groth, T. and Lindqvist, U. 1999. Production and elimination of hyaluronan in rheumatoid arthritis patients: estimation with a loading test. Semin Arthritis Rhe(128): 268-279.
- Trakulsantirat, P., Pothacharoen, P., Sukon, P., Kampa, N., Vongsahai, N., Sawatsing, P. and Butudom, P. 2010. The Comparative Study of Chondroitin Sulfate Epitopes (3B3 and WF6) in Serum of Normal Dogs and Dogs with Osteoarthritis. KKU.Vet.J. (20): 143-153.
- Uebelhart, D., Thonar, E., Delmas, P., Chantaine, A. and Vignon, E. 1998. Effects of oral chondroitin sulfate on the progression of knee osteoarthritis: a pilot study. Osteoarthr Cartilage (6): 39-46.
- Uebelhart, D., Malaise, M., Marcolongo, R., Vathaire, F. D., Piperno, M., Mailleux, E., Fioravanti, A., Matoso, L. and Vignon, E. 2004. Intermittent treatment of knee osteoarthritis with oral chondroitin sulfate: a one-year, randomized, double-blind, multicenter study versus placebo. Osteoarthr Cartilage (12): 269-276
- Uebelhart, D. 2008. Clinical review of chondroitin sulfate in osteoarthritis. Osteoarthr Cartilage (16): 19-21.

- Uitterlinden, E., Jahr, H., Koevoet, J., Jenniskens, Y., Zeinstra, B., DeGroot, J., Verhaar, J., Weinans, H. and Osch, G. 2006. Glucosamine decreases expression of anabolic and catabolic genes in human osteoarthritic cartilage explants. Osteoarthr Cartilage (14): 250-257.
- Van der kraan, P.M. and Van den berg, W.B.2007. Osteophyte:relevance and biology. Osteoarthr Cartilage (15): 237-244.
- Visco, D M., Johnstone, B., Hill, M A., Jolly, G A. and Caterson, B. 1993. Immunohistochemical analysis of 3-B-3(-) and 7-D-4 epitope expression in canine osteoarthritis. Arth et Rheu.(36): 1718-1735.
- Vilensky, J. A., O'Conner, B. L., Brandt, K, D., Dunn, E A. and Roger, P. I. 1997. Serial kinematic analysis of the canine hindlimb joints after deafferentation and anterior cruciate ligament transection. Osteoarthr Cartilage (5): 173-182.
- Wen , Z. H., Tang , C. C., Chang, Y. C., Huang, S. Y., Hsieh, S P., Lee, C. H., Huang, G. S., Ng, H F., Neoh, C. A., Hsieh, C .S., Chen, W. F. and Jean, . H. 2010. Glucosamine sulfate reduces experimental osteoarthritis and nociception in rats: association with changes of mitogen-activated protein kinase in chondrocytes. Osteoarthr Cartilage (18): 1192-1202.
- Wollheim, F A. 1999. Serum markers of articular cartilage damage and repair. Rheum Dis Clin North (25): 417-432.
- Yang, K. G. A., Saris, D. B. F., Dhert, W. J. A., and Verbout, A.J. 2004. Osteoarthritis of the knee: current treatment options and future directions. CUOR (18):311-320.
- Yue, J., Yang, M., Yi, S., Dong, N., Li, W., Yang, Z., Luy, J., Zhang, R. and Yong, J. 2012. Chondroitin sulfate and/or glucosamine hydrochloride for Kashin-Beck disease:a cluster-randomized, placebo-controlled study. Osteoarthr Cartilage (20): 622-629.

Zegels, B., Crozes, P., Uebelhart, D., Bruyère, O. and Reginster, J.Y. 2013. Equivalence of a single dose (1200 mg) compared to a three-time a day dose(400 mg) of chondroitin 4&6 sulfate in patients with knee osteoarthritis. Results of a randomized double blind placebo controlled study. Osteoarthr Cartilage (21):22-27.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

Group.	Week 0	Week 2	Week4	Week8	Week12	Week 16
GsCn	142.0±157.45	134.1±142.67	231.1±152.81	238.5±178.15	390.8±279.82	227.8±246.08
Control	78.8±79.39	144.5±95.41	255.0±77.95	361.4±102.48	327.1±109.02	133.4±264.22

ตารางที่ 7 : แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ HA ในทั้ง 2 กลุ่มการศึกษาแต่ละสัปดาห์ (ng/ml)

Group.	Week 0	Week 2	Week4	Week8	Week12	Week 16
GsCn	64.4±41.02	62.1±44.9	32.9±29.52	64.4±15.11	54.8±48.62	31.3±39.58
Control	66.3±31.14	95.3±116.42	74.5±44.06	77.3±33.43	44.7±35.93	67.6±41.15

ตารางที่ 8 : แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ WF6 ในทั้ง 2 กลุ่มการศึกษาแต่ละสัปดาห์ (ng/ml)

Group.	Week 0	Week 2	Week4	Week8	Week12	Week 16
GsCn	1.3±0.52	1.3±0.52	2±0.63	2.2±0.41	2.2±0.41	2.5±0.55
Control	1.0±0.00	1.5±0.55	1.8±0.41	2.0±0.00	2.3±0.52	2.5±0.55

ตารางที่ 9 : แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ Radiological score ในทั้ง 2 กลุ่มการศึกษาแต่ละสัปดาห์

Group.	Week 0	Week 2	Week4	Week8	Week12	Week 16
GsCn	4.3±0.82	4.0±0.89	3.2±0.98	2.7±1.21	1.8±0.75	1.3±0.52
Control	4.7±0.82	4.2±0.98	3.5±1.22	2.7±0.82	1.5±0.84	1.3±0.52

ตารางที่ 10 : แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ Lameness score ในทั้ง 2 กลุ่มการศึกษาแต่ละสัปดาห์

Test Statistics^{a,b}

	ก่อนผ่าตัด	week 2	week 4	week 8	week 12	week 14
Chi-Square	.103	.000	3.103	.410	.410	3.692
df	1	1	1	1	1	1
Asymp. Sig.	.749	1.000	.078	.522	.522	.055

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: อยู่ในกลุ่ม

ตารางที่ 11: แสดงผลการคำนวณทางสถิติของระดับ WF6 ในกระแสเลือดระหว่าง 2 กลุ่ม (คำนวณโดยโปรแกรม SPSS 11.5 for window : Kruskal Wallis one way ANOVA)

Test Statistics^{a,b}

	ก่อนผ่าตัด	week 2	week 4	week 8	week 12	week 14
Chi-Square	.103	.410	.231	1.256	.231	.923
df	1	1	1	1	1	1
Asymp. Sig.	.749	.522	.631	.262	.631	.337

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: อยู่ในกลุ่ม

ตารางที่ 12: แสดงผลการคำนวณทางสถิติของระดับ HA ในกระแสเลือดระหว่าง 2 กลุ่ม (คำนวณโดยโปรแกรม SPSS 11.5 for window : Kruskal Wallis one way ANOVA)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

- ชื่อ นาย ปราชญ์ นามสกุล หมายหาทรัพย์
- เกิดวันจันทร์ ที่ 11 สิงหาคม พ.ศ. 2555 , กรุงเทพมหานคร
- สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจาก โรงเรียนนวมินทร์ทราชนูทิศ บดินทร์เดชา พ.ศ. 2547
- สำเร็จการศึกษาสัตวแพทยศาสตรบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ. 2554
- ได้รับการสนับสนุนการศึกษาโดย ทูน72 พรรษา ในการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาจากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ปัจจุบันดำรงตำแหน่งสัตวแพทย์ประจำโรงพยาบาลสัตว์เล็กจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย