

## รายงานการวิจัย

### เรื่อง

การประเมินผลทางคลินิกและรังสีวิทยาของ การพัฒนาโรคข้อเข่าเสื่อมใน  
สุนัขภายหลังการให้ยา Glucosamine

Clinical and Radiographic Evaluations of the Canine stifile Osteoarthritic  
development after Glucosamine Administration

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. กัมปนาท สุนทรวิภาต

อาจารย์ น.สพ. สุวิชา จุฑาเทพ

อาจารย์ สพ.ญ. ชาลิกา หวังดี

ศาสตราจารย์ น.สพ. อติชาติ พรหมาสา

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

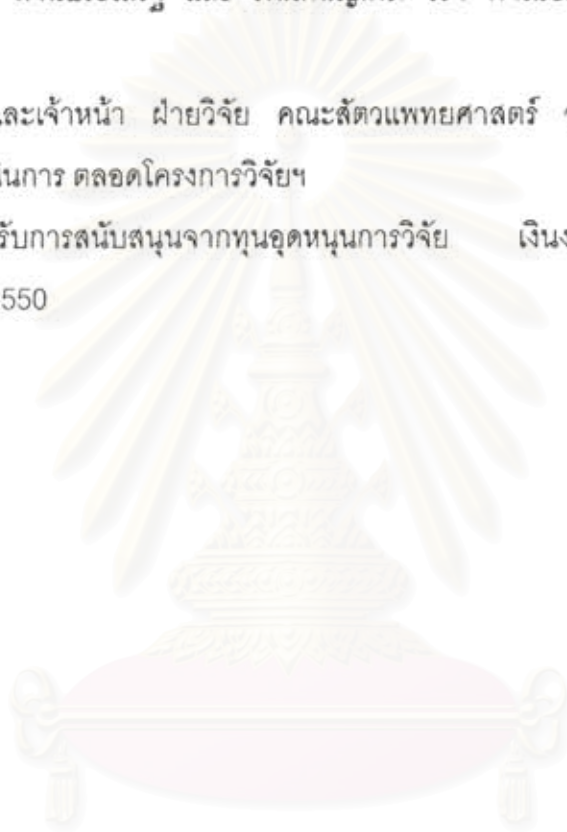
## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ

เจ้าหน้าที่และบุคลากร ภาควิชาคัลยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
น.สพ. ปิยะ ทานประเสริฐ และ รศ.สพ.ญ.ดร. วรา พานิชเกรียงไกร ในการตรวจ วิเคราะห์  
ของเหลวในข้อต่อ

คุณอรสา และเจ้าหน้าที่ ฝ่ายวิจัย คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอย  
ช่วยเหลือในการดำเนินการ ตลอดโครงการวิจัยฯ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัย เงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี  
งบประมาณ 2548 -2550



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เลขานุการ
เลขทะเบียน 014127
วัน, เดือน, ปี 6 พ.ค. 52

**สารบัญเรื่อง**  
(Table of Contents)

บทที่/ หัวข้อ	หน้า
กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)	2
สารบัญเรื่อง (Table of contents)	3
สารบัญตาราง (List of tables)	4
สารบัญรูป (List of illustration)	5
บทที่ 1: บทนำ (Introduction)	6
บทที่ 2: อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods)	22
บทที่ 3: ผลการศึกษา (Results)	25
บทที่ 4: สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา (Conclusion and Discussion)	32
บรรณานุกรม (References)	36
ประวัตินักวิจัย	37
การเผยแพร่ผลงานวิจัย (publication)	39

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกของสุนัขกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับ glucosamine และกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine	27
ตารางที่ 2 : แสดงค่าเฉลี่ยของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อ ( $\mu\text{g/ml}$ ) ของสุนัข กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับ glucosamine และกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine	29



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญรูป

รูป	หน้า
รูปที่ 1 ลักษณะทางกายวิภาคของข้อ ซึ่งประกอบด้วยถุงหุ้มข้อต่อ, น้ำไขข้อ, กระดูกอ่อนผิวข้อ, เยื่อข้อและเส้นเอ็น	7
รูปที่ 2 กระดูกอ่อนผิวข้อแบ่งออกเป็น 4 ชั้นได้แก่ tangential layer, transitional layer, radial layer และ calcified cartilage	8
รูปที่ 3 โครงสร้างของ collagen ซึ่งมีลักษณะเป็น polypeptide chains 3 เส้นเกี่ยวพันกันโดย collagen แต่ละชนิดจะมีชนิดของ polypeptide chain ต่างกัน	10
รูปที่ 4 โครงสร้าง aggrecan ซึ่งประกอบด้วยแกนโปรตีนที่มีโมเลกุลของ glycosaminoglycans มากมายมาเกาะ	10
รูปที่ 5 โครงสร้างของ proteoglycan ประกอบด้วยแกนกลางที่เป็นโปรตีนและมี chondroitin, keratin sulfate และ hyaluronate หลายร้อยโมเลกุลมาเกาะ	11
รูปที่ 6 พยาธิกำเนิดของภาวะข้อเสื่อม	12
รูปที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของ glucosamine hydrochloride	17
รูปที่ 8 Glucosamine pathways	18
รูป 9 ศัลยกรรมเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเอ็นไขว้หน้าขาด	23
รูปที่ 10 คะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกของสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine กับกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine	26
รูปที่ 11 ระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายที่ปกติและขาขวาที่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมของสุนัขในกลุ่มที่ได้รับ glucosamine	28
รูปที่ 12 คะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกกับระดับ sGAG ภายในของเหลวในข้อต่อเข่าขวาของสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine	30
รูปที่ 13 แสดงระดับคอนครอยตินซัลเฟตที่ตรวจได้จากของเหลวในข้อเข่าในสุนัขกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกลูโคซามีน	30
รูปที่ 14 ภาพถ่ายทางรังสีบริเวณข้อเข่าของสุนัข	31
รูปที่ 15 แสดงระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมที่ตรวจพบจากภาพถ่ายทางรังสี	31

## บทที่ 1

### บทนำ (Introduction)

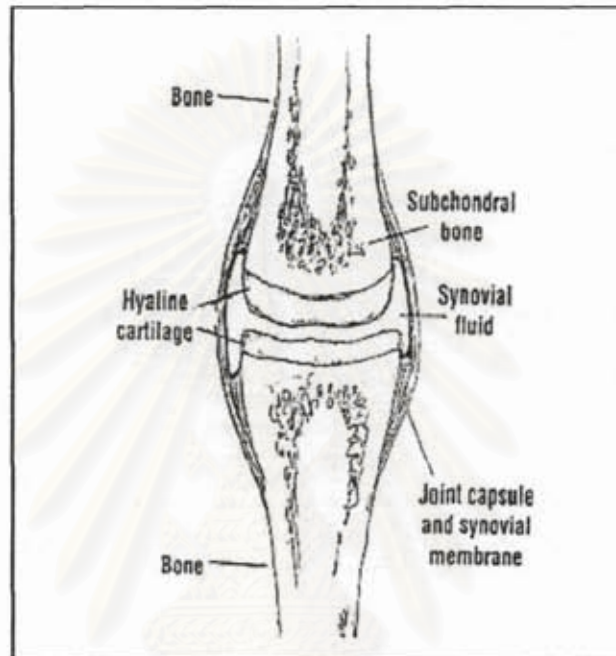
โรคข้อเสื่อม (osteoarthritis; OA, degenerative joint disease (DJD)) (May, 1994) เป็นกลุ่มอาการที่เกิดความผิดปกติกับข้อต่อที่มีเยื่อข้อ (synovial joint) เป็นภาวะการเสื่อมของกระดูกอ่อนผิวข้อ รวมทั้งมีการเสื่อมของเนื้อเยื่อบริเวณใกล้เคียงได้แก่ เยื่อหุ้มข้อต่อ (synovium) กล้ามเนื้อ (muscle) ถุงหุ้มข้อต่อ (joint capsule) กระดูกที่อยู่ใต้กระดูกอ่อน (subchondral bone) เอ็นยึดกระดูก (ligament) และเอ็นยึดกล้ามเนื้อ (tendon) นอกจากนี้จะพบการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี (biochemistry) และเมแทบอลิซึม (metabolism) ของ กระดูกอ่อนผิวข้อ ซึ่งความผิดปกติที่กล่าวมานั้น ในที่สุดจะส่งผลทำให้สัตว์เกิดอาการเจ็บปวด บริเวณข้อต่อและไม่ใช้ขา จากการศึกษาของ Huber และ Bill (1994) พบว่า 78% ของสุนัขที่แสดง อาการข้ออักเสบมีสาเหตุมาจากโรคข้อเสื่อม แสดงให้เห็นว่าข้อเสื่อมเป็นสาเหตุของโรคที่เกี่ยวข้องกับข้อที่พบมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสาเหตุอื่นที่ทำให้มีความผิดปกติของข้อในสุนัข โรคกระดูกและข้ออักเสบ (osteoarthritis) หรือโรคข้อเสื่อม (degenerative joint disease) เป็นภาวะที่เกิดจากการเสื่อมอย่างช้าๆ ของกระดูกอ่อนที่หุ้มผิวกระดูกข้อต่อ (articular cartilage) และเนื้อเยื่อบริเวณใกล้เคียงได้แก่ ซึ่ง ความผิดปกติที่กล่าวมานั้นจะส่งผลทำให้สัตว์เกิดอาการปวดข้อ เคลื่อนไหวลำบาก คลำได้ ความรู้สึกมีการเสียดสี (crepitus) ขณะเคลื่อนไหว มีข้อผิดรูปและเดินกระเผลก (lameness) ในที่สุด ข้อที่พบความผิดปกติได้บ่อยส่วนใหญ่เป็นข้อที่รับน้ำหนักตัวเช่น ข้อเข่าและข้อสะโพก จากการศึกษา ของ May (1994) พบว่าโรคข้อเสื่อมเป็นโรคเกี่ยวกับข้อที่พบมากในสุนัข โดยพบว่าร้อยละ 78 ของ สุนัขที่ป่วยด้วยอาการข้ออักเสบ (arthritis) ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคข้อเสื่อม แสดงให้เห็นว่าโรค ข้อเสื่อมเป็นโรคที่พบมากเมื่อเปรียบเทียบกับโรคที่มีความผิดปกติเกี่ยวกับข้อชนิดอื่นๆ ที่พบใน สุนัข

การวินิจฉัยโรคข้อเสื่อมในปัจจุบันจะอาศัยการซักประวัติ อาการที่สัตว์แสดงออกทางคลินิก การตรวจร่างกาย (physical examination) และการตรวจทางภาพถ่ายรังสี (radiography) ซึ่ง จะสามารถตรวจพบได้ก็ต่อเมื่อสัตว์มีรอยโรคค่อนข้างรุนแรงจนเกิดความผิดปกติขึ้นจนทำให้สัตว์แสดงอาการที่เด่นชัดออกมา โดยสัตว์จะมีอาการเจ็บปวดและไม่ใช้ขา ซึ่งจัดว่าเป็นปัญหาที่สำคัญที่สุดของโรคข้อเสื่อม ดังนั้นจุดประสงค์ที่สำคัญในการรักษาโรคข้อเสื่อมก็เพื่อบรรเทาอาการปวด โดยใช้ยาหรือการกายภาพบำบัด และทำให้ข้อสามารถทำงานได้อย่างเต็มที่ สัตว์ป่วยสามารถมีการเคลื่อนไหวและใช้ข้อได้ ดีขึ้น

ปัจจุบันมีการใช้ยาหลายชนิดเพื่อบรรเทาอาการปวดและการอักเสบ เมื่อเกิดโรคข้อเสื่อมในสัตว์เลี้ยง ยาเหล่านี้ ได้แก่ ยากลุ่มต้านอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (nonsteroidal anti-inflammatory drugs: NSAIDs) เช่น carprofen, meloxicam และ ketoprofen เป็นต้น ซึ่งสัตว์ป่วยจำเป็นต้องได้รับยาติดต่อกันเป็นระยะเวลาสั้น หรืออาจจะต้องได้รับยาไปตลอดชีวิต ส่งผลทำให้เกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากการใช้ยากลุ่มต้านอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ได้แก่ ผลต่อระบบทางเดินอาหาร โดยทำให้เกิดการระคายเคืองต่อเยื่อกระเพาะอาหาร ทำให้เกิดแผลหลุมในกระเพาะอาหาร ทำให้เกิดเลือดออกในทางเดินอาหารส่วนต้น ผลต่อตับและไต ทำให้มีการทำหน้าที่ผิดปกติไปและอาจมีผลทำให้เซลล์ตับและไตเสื่อมสภาพได้ จึงควรหลีกเลี่ยงการใช้ยากลุ่มดังกล่าวในสัตว์ป่วยที่มีความผิดปกติของตับ ไต หรือรายที่มีปัญหาเลือดออกในทางเดินอาหาร

### กายวิภาคของข้อต่อ

ข้อต่อชนิดที่มีเยื่อข้อ หรือ synovial joint เป็นข้อต่อที่สร้างขึ้นเพื่อรองรับการเคลื่อนไหวได้หลายระดับและทิศทาง ประกอบด้วยกระดูก 2 ชิ้นเชื่อมติดกันโดยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เรียกว่า ถุงหุ้มข้อต่อ ช่องตรงกลาง บรรจุด้วยของเหลว คือ น้ำไขข้อ (synovial fluid) ส่วนปลายกระดูกทั้ง 2 ชิ้นปกคลุมด้วยกระดูกอ่อนผิวข้อ ผิวด้านในถุงหุ้มข้อต่อมีเยื่อเรียกว่า เยื่อข้อ และมีเส้นเอ็น (tendon and ligament) บริเวณรอบข้อ ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1: ลักษณะทางกายวิภาคของข้อ ซึ่งประกอบด้วยถุงหุ้มข้อต่อ (joint capsule), น้ำไขข้อ (synovial fluid), กระดูกอ่อนผิวข้อ (articular cartilage; hyaline cartilage), เยื่อข้อและเส้นเอ็น (synovium)

(<http://www.zoology.ubc.ca/~lacombe/biomania/tutorial/bonejnt/jt01ac01.htm>, cited 2006 September 11th )

#### กระดูกอ่อนผิวข้อ (articular cartilage)

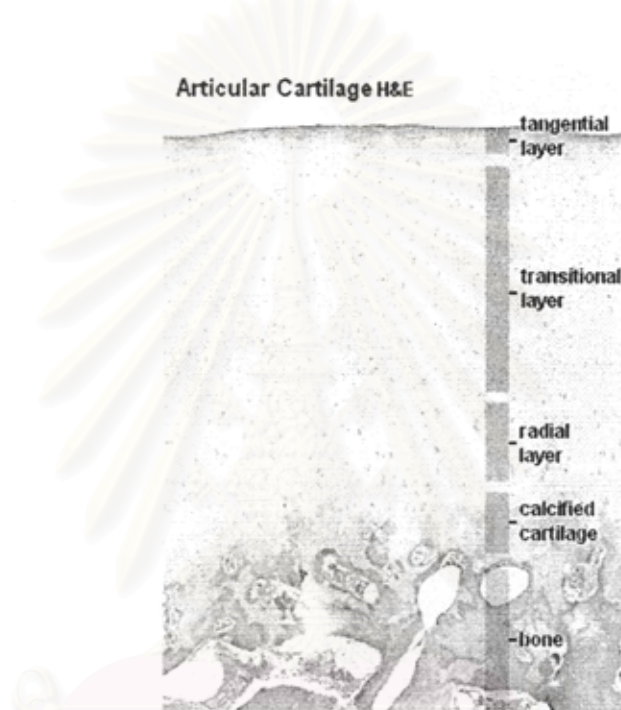
ส่วนปลายกระดูกทั้ง 2 ด้านที่ประกอบเป็นข้อจะถูกคลุมด้วยกระดูกอ่อนผิวข้อซึ่งเป็นกระดูกอ่อนชนิด hyaline cartilage กระดูกอ่อนเป็นเนื้อเยื่อพิเศษที่ปราศจากหลอดเลือด ระบบน้ำเหลือง และเส้นประสาท (Porter, 1997 ; Rosenberg, 1999) กระดูกอ่อนประกอบไปด้วยเซลล์กระดูกอ่อน (chondrocytes) ที่ล้อมรอบด้วยส่วนเนื้อเยื่อออกเซลล์ (extracellular matrix) ซึ่งมีองค์ประกอบสำคัญเป็นเส้นใย collagen type II และ amorphous ground substance ที่ส่วนใหญ่เป็น proteoglycans เซลล์กระดูกอ่อนเจริญมาจาก mesenchymal cells โดยเริ่มจากการเปลี่ยนแปลงเป็น chondroblasts ซึ่งในระยะแรกจะอยู่กันอย่างหนาแน่น ต่อมามีการสร้าง extracellular matrix เพิ่มขึ้น เซลล์จึงอยู่กระจายห่างกันและเจริญต่อเป็น chondrocytes การเปลี่ยนแปลงนี้ถูกควบคุมและส่งเสริมโดย growth factors ต่างๆ เช่น bone morphogenetic proteins (BMPs) โดยเฉพาะ BMP-2 (transforming growth factor หรือ TGF- $\beta$ ) และ cartilage-derived morphogenetic proteins (Athanasou, 2001) กระดูกอ่อนผิวข้อมีความหนา 2-4 มิลลิเมตร แบ่งเป็น 4 ชั้น ตามลักษณะที่มองเห็นจากกล้องจุลทรรศน์และทิศทางการเรียงตัวของเส้น collagen (Bullough, 1997) ตามรูปที่ 2 ดังนี้

1. Superficial layer (tangential zone) ชั้นนี้เซลล์กระดูกอ่อนจะแบนและเรียงขนานกับผิวข้อ เช่นเดียวกับเส้นใย collagen

2. Intermediate layer (transitional zone) เซลล์กระดูกอ่อนกระจายอย่างไม่เป็นระเบียบ ท่ามกลางเส้นใย collagen ที่หนาแน่นและเรียงตัวเป็นระเบียบในแนวตั้งฉากกับผิวข้อ

3. Deep layer (radial zone) เซลล์กระดูกอ่อนเรียงเป็นแถวในแนวตั้ง (column) ท่ามกลางเส้นใย collagen ที่เรียงตัวในแนวตั้งฉากกับผิวข้อ

4. Calcified cartilage เป็นชั้นที่ติดกับกระดูกใต้กระดูกอ่อน เซลล์กระดูกอ่อนมีปริมาณน้อย และมีแคลเซียมมาฝังอยู่ใน extracellular matrix เป็นชั้นที่จำกัดการแพร่สารอาหารจากกระดูกใต้กระดูกอ่อนเข้าสู่กระดูกอ่อนผิวข้อ ทำให้กระดูกอ่อนผิวข้อได้รับสารอาหาร โดยตรงเพียงจากน้ำไขข้อ



รูปที่ 2 : กระดูกอ่อนผิวข้อแบ่งออกเป็น 4 ชั้นได้แก่ tangential layer, transitional layer, radial layer และ calcified cartilage

(จาก <http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/CorePages/Cartilage/Images/arc04he.jpg> , cited 2006 September 11th)

**เยื่อข้อ (synovial membrane)**

เยื่อข้อแบ่งเป็น 2 ชั้นได้แก่ ชั้น intima และชั้น subintima เยื่อข้อชั้น intima เป็นชั้นในสุด ประกอบด้วยเซลล์เยื่อข้อ (synovial lining cells หรือ synoviocytes) เป็นเซลล์รูปร่างแบนหรือสี่เหลี่ยมเรียงกันหนึ่งหรือสองชั้น จากลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนสามารถแบ่ง synoviocytes เป็น 2 ประเภทได้แก่

1. type A cells พบประมาณร้อยละ 25 มีลักษณะต่างๆ คล้ายเซลล์ macrophage ทำหน้าที่เก็บ กินเซลล์แปลกปลอมและเศษเซลล์ (phagocytic activity)

2. type B cells พบประมาณร้อยละ 75 เป็นเซลล์ที่มี rough endoplasmic reticulum, Golgi system และ pinocytic vesicles จำนวนมาก ทำหน้าที่สร้าง hyaluronic acid และ ส่วนประกอบต่างๆ ในน้ำไขข้อ ได้ชั้น intima ไม่มี basement membrane ชัดเจน แต่มี ส่วนประกอบของ basement membrane เช่น perlecan, laminin และเส้นใย collagen type IV

เยื่อข้อชั้น subintima เป็นชั้นที่อยู่ถัดเข้าไปจากชั้น intima ประกอบด้วยเซลล์หลายชนิด ได้แก่ เซลล์ไขมัน,



fibroblasts, histiocytes และ mast cells แทรกอยู่ใน extracellular matrix ซึ่งเป็น เส้นใย collagen type I, III, V, IV, glycosaminoglycans, proteoglycans, tenascin และ fibronectin

น้ำไขข้อสร้างจาก synoviocyte type B เป็นส่วนน้ำเลือด (plasma) ประกอบด้วย hyaluronic acid และ lubricin (small protein nitholigosaccharide chains) ทำหน้าที่ในการหล่อลื่นเคลือบผิวข้อ และให้สารอาหารแก่เซลล์กระดูกอ่อนในกระดูกอ่อนผิวข้อ (Bullough, 1997 ; Athanasou, 2001)

### น้ำไขข้อ

ข้อปกติจะมีน้ำไขข้อปริมาณเพียงเล็กน้อย น้ำไขข้อจะเคลือบผิวหน้าเยื่อข้อ ทำหน้าที่ เป็นแหล่งอาหารขององค์ประกอบข้อที่ไม่มีหลอดเลือดมาเลี้ยง เช่น กระดูกอ่อนผิวข้อและยังช่วย ในการหล่อลื่นทำให้การเคลื่อนไหวข้อเป็นไปได้อย่างสะดวก

น้ำไขข้อเกิดจากการกรองผ่านของน้ำและสารละลายขนาดเล็ก ซึ่งผ่านจากหลอดเลือดเข้าสู่ ข้อข้อ โดยอาศัยความแตกต่างความดันน้ำ (hydrostatic pressure) และความดัน osmotic (osmotic pressure) ระหว่างหลอดเลือดและข้อข้อ น้ำไขข้อมี albumin, hyaluronic acid และ lubricin ซึ่งเป็น สารที่ช่วยในการหล่อลื่นของข้อ นอกจากนี้ยังมี ส่วนประกอบอื่นๆ อันเนื่องมาจากเมแทบอลิซึม ของเยื่อข้อและกระดูกอ่อนผิวข้อ น้ำไขข้อจะถูกดูดกลับ (clearance) ผ่านทางระบบน้ำเหลืองใน เยื่อข้อ

คุณสมบัติที่สำคัญของน้ำไขข้อคือ ช่วยในการหล่อลื่น (lubrication) การหล่อลื่นในข้อแบ่ง ออกเป็น 2 แบบคือ

1. fluid – film lubrication มีของเหลวบางอยู่ที่บริเวณผิวข้อ เพื่อช่วยในขณะที่ยังมีการ เคลื่อนไหว
2. boundary lubrication เป็นการหล่อลื่นขณะที่มีการสัมผัสผิวข้อทั้งสองข้าง เพื่อช่วยลด แรงเสียดทานในขณะที่มีแรงกดกระทำต่อข้อที่อยู่กับที่ ในปัจจุบันมีการวัดองค์ประกอบของน้ำใน ข้อต่อ เพื่อประเมินภาวะเมแทบอลิซึมในข้อ และตัวบ่งชี้ (markers) ต่างๆ เช่น ตัวบ่งชี้การ หมุนเวียนกระดูกอ่อนผิวข้อและตัวบ่งชี้การอักเสบ

### ส่วนประกอบทางชีวเคมีของ extracellular matrix

extracellular matrix ถูกสร้างและควบคุมปริมาณโดยเซลล์กระดูกอ่อน ประกอบด้วย ส่วนประกอบหลักคือ น้ำ เส้นใย collagen และสารอินทรีย์ (organic substance) ได้แก่ proteoglycans, hyaluronic acid และ glycoproteins ส่วน matrix ที่อยู่ล้อมรอบชิดกับเซลล์กระดูก อ่อน (territorial matrix) จะมีความเข้มข้นของ proteoglycans มากกว่า และมีเส้นใย collagen ละเอียดกว่า matrix ที่อยู่ไกลออกไป (interterritorial matrix)

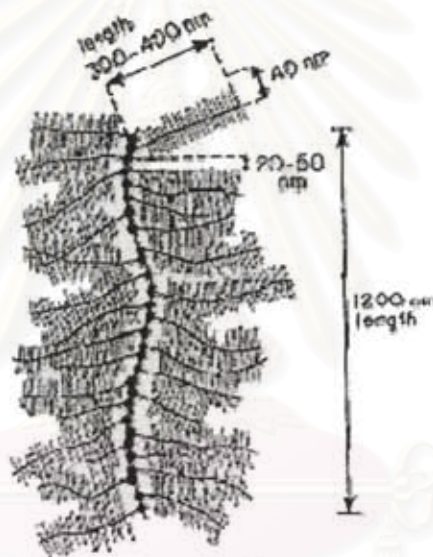
กระดูกอ่อนผิวข้อมีน้ำเป็นส่วนประกอบที่สำคัญประมาณร้อยละ 65-80 ของน้ำหนัก ทั้งหมด โดยจะพบมากที่สุด บริเวณชั้นผิวของกระดูกอ่อนผิวข้อ และน้อยลงในชั้นลึก ส่วนใหญ่ ประกอบอยู่ในโมเลกุลของ proteoglycans หรืออยู่ระหว่างเส้นใย collagen ทำให้เกิดเป็นลักษณะ อ่อนเหลวหรือเจล (gel) ส่วนน้อยที่สามารถแลกเปลี่ยนกับน้ำไขข้อได้ (Mankin, 2001) เมื่อได้รับ แรงกด กระดูกอ่อนผิวข้อจะค่อยๆ รีดน้ำออกสู่ผิวด้านนอกและช่วยสร้างเป็นแผ่นหล่อลื่นที่บริเวณ ผิว เมื่อแรงกดลดลง น้ำเหล่านี้จะแทรกซึมกลับเข้าสู่กระดูกอ่อนผิวข้อเช่นเดิม (Solomon, 2001)

เส้นใย collagen พบประมาณร้อยละ 48-62 ของน้ำหนักแห้ง ส่วนใหญ่ร้อยละ 80-90 เป็น เส้นใย collagen type II ซึ่งประกอบด้วย polypeptide chains ที่เหมือนกัน 3 เส้น (รูปที่ 3) แตกต่าง จากเส้นใย collagen type I ซึ่งมี polypeptide chain  $\alpha$ -1 จำนวน 2 เส้นและ  $\alpha$ -2 จำนวน 1 เส้น นอกจากนั้นเส้นใย collagen type II มี hydroxylasine และ galactosyl-glucosyl-disaccharides มากกว่า type I (Athanasou, 2001 ;Mankin, 2001)



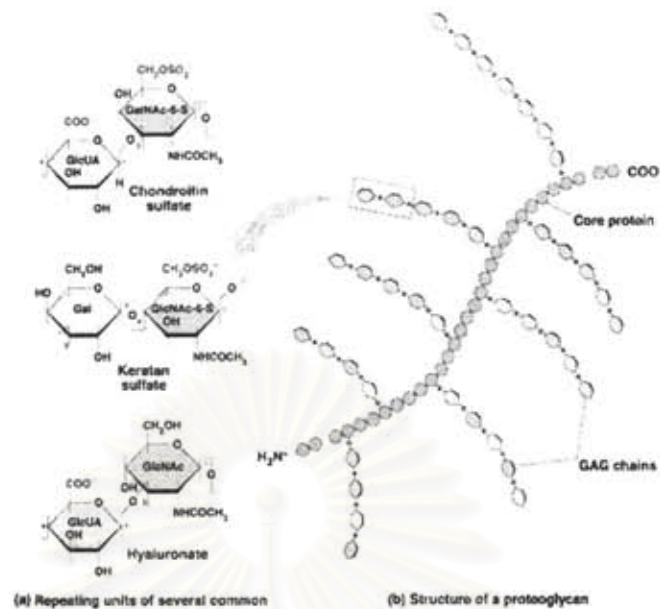
รูปที่ 3 : โครงสร้างของ collagen ซึ่งมีลักษณะเป็น polypeptide chains 3 เส้นเกี่ยวพันกันโดย collagen แต่ละชนิดจะมีชนิดของ polypeptide chain ต่างกัน (วรวิทย์, 2546)

proteoglycans เป็นส่วนประกอบของกระดูกอ่อนผิวข้อถึง 10% ของน้ำหนักทั้งหมด (Portor, 1997) ส่วนใหญ่ร้อยละ 80-90 เป็น large aggregating type เรียกว่า aggrecan ประกอบด้วย แกนโปรตีนและมีโมเลกุล glycosaminoglycans มาเกาะ โดย glycosaminoglycans มากถึง 100 โมเลกุลจะจับกับ protein core โดย covalent bond ก่อนที่ proteoglycans จะถูกส่งออกจากเซลล์ กระดูกอ่อนเข้าสู่ extracellular matrix



รูปที่ 4 : โครงสร้าง aggrecan ซึ่งประกอบด้วยแกนโปรตีนที่มีโมเลกุลของ glycosaminoglycans มากมายมาเกาะ (วรวิทย์, 2546)

proteoglycans มากถึง 200 โมเลกุลจะจับกับ hyaluronic acid ซึ่งเป็นสารโมเลกุลขนาดใหญ่ ได้เป็นโครงสร้างที่มีขนาดใหญ่มากซึ่งขบวนการนี้เกิดขึ้นใน extracellular matrix นอกจากนั้นยังมี proteoglycans ขนาดเล็กเป็น dermatan sulfate proteoglycans I หรือที่เรียกว่า biglycan และ dermatan sulfated proteoglycans II หรือเรียกว่า decorin โครงสร้างของ biglycan ประกอบด้วย protein core จับกับ dermatan sulfate 2 โมเลกุล ส่วนโครงสร้างของ decorin ประกอบด้วย protein core จับกับ dermatan sulfate เพียง 1 โมเลกุล โมเลกุลเหล่านี้จะจับกับเส้นใย collagen และโมเลกุลขนาดใหญ่เพื่อเพิ่มความแข็งแรงและความเหนียวแน่นให้กับกระดูกอ่อนผิว ข้อมากขึ้น



รูปที่ 5 : โครงสร้างของ proteoglycan ประกอบด้วยแกนกลางที่เป็นโปรตีนและมี chondroitin, keratin sulfate และ hyaluronate หลายร้อยโมเลกุลมาเกาะ

(<http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/CellBio11/1105.JPG> ,

cited 2006 September 11th )

ใน extracellular matrix ยังพบไซโตไคน์ (cytokines) และ growth factors มากมาย ที่มีผลต่อการสร้างกระดูกอ่อนผิวข้อเช่น insulin-like factor (IGF), transforming growth factor- $\beta$ , interleukin 1 และ tumor necrosis factor- $\alpha$  (Athanasou, 2001) ส่วนประกอบที่เป็นสารอนินทรีย์ (inorganic substances) ส่วนใหญ่เป็น calcium hydroxyapatite มีประมาณร้อยละ 5-6 ของน้ำหนักแห้ง

### เส้นเอ็น

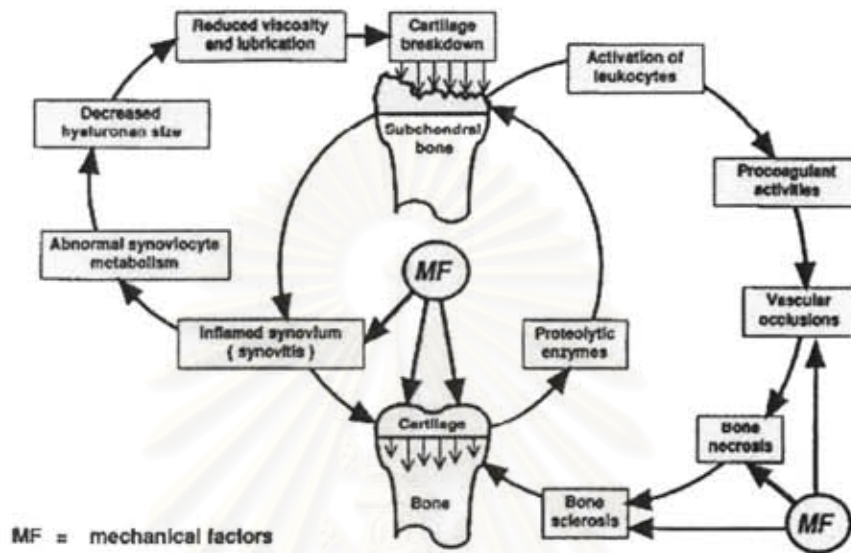
เส้นเอ็นประกอบด้วย

tendon มีโครงสร้างเป็นเส้นหรือแถบที่ยึดระหว่างกล้ามเนื้อและกระดูกทำให้เกิดการ เคลื่อนไหวและให้ความมั่นคงแก่ข้อ tendon ถูกออกแบบให้มีความทนทานต่อแรงดึง ดังนั้นเส้น โยที่ประกอบจะอยู่เรียงกันอย่างเป็นระเบียบในแนวเดียวกับแกนแรงดึง ligament เป็นโครงสร้างที่ยึดกระดูกที่ประกบกันเป็นข้อ ประกอบด้วย fibroblast และเส้น โย collagen เช่นเดียวกับ tendon แต่การเรียงตัวของเส้นโยมีความเป็นระเบียบน้อยกว่าและเป็น เนื้อเยื่อที่มีปลายประสาทมาสัมผัสมาก

### พยาธิวิทยาของโรคข้อเสื่อม (Pathology of osteoarthritis)

พยาธิกำเนิดและสาเหตุที่แท้จริงของการเกิดโรคข้อเสื่อมยังไม่ทราบแน่ชัดในปัจจุบัน จาก การศึกษาที่ผ่านมา เชื่อว่าพยาธิกำเนิดของโรคข้อเสื่อมเกิดจากการเปลี่ยนแปลงที่กระดูกอ่อนผิวข้อ โดยการเปลี่ยนแปลงในระยะแรกจะเกิด กับกระดูกอ่อนผิวข้อเพียงบางส่วน โดยเฉพาะส่วนที่รับ น้ำหนัก กระดูกอ่อนผิวข้อจะนิ่มลง (softening) และสัมพันธ์กับ ปริมาณ proteoglycans ใน extracellular matrix ที่ลดลงและมีปริมาณน้ำเพิ่มขึ้น (Bullough, 1997) กระดูกอ่อนผิวข้อ ซึ่งปกติมี ลักษณะเรียบและเป็นมันจะเปลี่ยนเป็นขรุขระ มีร่อง (fibrillation) สัมพันธ์กับการแตก (fragmentation) ของเส้นโย collagen (Solomon, 2001) ต่อมาเมื่อกระดูกอ่อนผิวข้อถูกทำลายมาก ขึ้นเรื่อยๆ จนถึงกระดูกใต้กระดูกอ่อนผิว ข้อ ส่งผลทำให้เนื้อเยื่อกระดูกใต้กระดูกอ่อนผิวข้อหนา ตัวมากขึ้น (bony sclerosis) และพบช่องหรือถุง (subchondral

bone cyst) ที่ภายในบรรจุด้วยเนื้อเยื่อ fibromyxoid หรือสารเหลวคล้าย mucin ซึ่งอาจมีทางติดต่อกับช่องข้อโดยตรง (Athanasou, 2001) บริเวณขอบข้อจะมีกระดูกยื่นออกมา (osteophyte) ซึ่งคลุมโดยกระดูกอ่อนบางๆ เยื่อหุ้มข้อจะหนาและแข็งขึ้น (Portor, 1997) ดังรูปที่ 6



รูปที่ 6 : พยาธิกำเนิดของภาวะข้อเสื่อม เกิดจากการเปลี่ยนแปลงที่กระดูกอ่อนผิวข้อ อันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงหลาย ๆ อย่างร่วมกัน เช่น การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี, โครงสร้างและเมแทบอลิซึมภายในกระดูกอ่อน (Goodrich and Nixon, 2004)

ความผิดปกติของกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนผิวข้อ จะพบมีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์กระดูกอ่อนรวมทั้งเนื้อกระดูกอ่อน ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยทาง กายภาพ (physical factor) เช่น การบาดเจ็บ หรือ ปัจจัยจากสารเคมี (chemical factor) เช่น ได้รับ สารสเตียรอยด์ (steroid) ทำให้เซลล์กระดูกอ่อนลดการสังเคราะห์ proteoglycans แต่การสังเคราะห์ เอนไซม์ matrix metalloproteinase (MMPs) ทำหน้าที่สลายสาร proteoglycans กลับเพิ่มมากขึ้น (May, 1994) นอกจากนั้นยังมีการผลิตเอนไซม์ collagenase ออกมาเพื่อทำการย่อยส่วนของ collagen ซึ่งส่วนมากเป็น collagen type II รวมทั้ง proteoglycans ต่างๆ ส่งผลให้เนื้อเยื่อกระดูก อ่อนผิวข้อบางลง ชั้นส่วนของ collagen และ proteoglycans ที่เกิดจากการสลายเหล่านี้จะถูกนำออกจากกระดูกอ่อนเข้าสู่ไซซอ

การสูญเสีย proteoglycans จากกระดูกอ่อนผิวข้อมีความสำคัญมากเนื่องจากสารชนิดนี้ทำหน้าที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับการทำหน้าที่ทางชีวภาพของกระดูกอ่อนผิวข้อ ปกติแล้ว proteoglycans จะจับอยู่กับ hyaluronic acid ในรูปของ proteoglycans-hyaluronate aggregate ทำให้มีน้ำหนัก โมเลกุลสูง มีคุณสมบัติชอบน้ำ และสอดแทรกอยู่ภายในร่างแหคอลลาเจน (collagen network) ดังนั้น proteoglycans-hyaluronate aggregate จึงช่วยในการรักษาปริมาณของเหลวภายในกระดูก อ่อน ช่วยให้กระดูกอ่อนผิวข้อมีลักษณะลื่น เป็นมัน ยืดหยุ่นและแข็งแรง สามารถรับน้ำหนักและแรงกดกระแทกตลอดจนลดแรงเสียดทาน ขณะเคลื่อนไหวได้เป็นอย่างดี หาก proteoglycanshyaluronate aggregate ถูกย่อยทำลาย จะส่งผลให้กระดูกอ่อนไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ

การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาขึ้นอยู่กับความรุนแรงของระยะเวลาที่ข้อถูกทำลาย การ เปลี่ยนแปลงที่พบได้ก่อนคือ เซลล์กระดูกอ่อนบางเซลล์จะตายไปโดยเฉพาะบริเวณผิวข้อ ทำให้ เกิดเป็นช่องว่าง (empty lacunae) (Schnitzer, 2000) กระดูกอ่อนผิวข้อชั้นบนสุด (superficial layer) จะติดสี safranin O จางลงเนื่องจากปริมาณ

proteoglycans ลดลงและมีปริมาณน้ำเพิ่มขึ้น เกิดร่องความยาวขนาดเล็กระหว่างเส้นใย collagen (Athanasou, 2001) ร่องนี้มีความลึกแตกต่างกัน อาจลึกถึงชั้นกระดูกใต้กระดูกอ่อนผิวข้อ (Rosai, 1996) เซลล์กระดูกอ่อนในชั้นลึกของกระดูก อ่อนผิวข้อจะเพิ่มจำนวนและมีขนาดใหญ่ขึ้น โดยจะเห็นเป็นกลุ่ม อาจมีจำนวนมากถึงกลุ่มละ 20 เซลล์และเห็นได้ชัดบริเวณขอบร่อง (Bullough, 1999; Schnitzer, 2000; Athanasou, 2001) รอย tidemark ซึ่งปกติมีเส้นเดียวจะมีจำนวนมากขึ้น (Portor, 1997) เมื่อมีการทำลายกระดูกอ่อนผิวข้อ มากขึ้น ร่างกายจะพยายามซ่อมแซมเกิดเป็นพังผืด (fibrous tissue) หรือ fibrocartilage tissue (Athanasou, 2001) ถ้าการทำลายยังดำเนินต่อไปกระดูกอ่อนผิวข้อจะถูกทำลายหมดถึงกระดูก ส่วนของกระดูกเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดยมีเส้นเลือดเจริญเข้ามาและมีการสร้างกระดูกมากขึ้น มีการเพิ่มจำนวน osteoblast และ bony trabeculae มีขนาดใหญ่ขึ้น (Bullough, 1997) ภายในกระดูก จะพบถุงที่มีขนาดแตกต่างกัน โดยถุงมีผนังเป็นพังผืด บรรจุด้วยของเหลวหรือเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน หลายแบบ (fibrous, fibroxyoid หรือ fibroosseous tissue) ขึ้นตอนการเกิดถุงยังไม่ทราบแน่ชัด อาจเกิดจากมีหย่อมกระดูกตาย (osteonecrosis) หรือเกิดจากแรงกดจากน้ำไขข้อผ่านช่องทางเชื่อม ระหว่างกระดูกกับช่องข้อ ทำให้น้ำไขข้อถูกบีบผ่านช่องเหล่านี้เข้าไปสะสมเป็นถุง (Athanasou, 2001; Solomon, 2001) การเปลี่ยนแปลงที่กระดูกผิวข้อทำให้ตำแหน่งการรับน้ำหนักผิดปกติไป โดยมีบางตำแหน่งไม่ได้รับน้ำหนักจะเกิดหย่อมกระดูกพรุน (localized osteopenia) bony trabeculae บางลงและอยู่ห่างกัน (Schnitzer, 2000) เยื่อข้อในโรคข้อเสื่อมส่วนใหญ่จะปกติ แต่จะพบการเปลี่ยนแปลงได้ โดยในช่วงแรกจะ พบเพียงการบวมในชั้น subintima ต่อมาจะมีการหนาตัวในชั้น intima โดยมีทั้งการเพิ่มขนาด (hypertrophy) และการเพิ่มจำนวน (hyperplasia) ของเซลล์เยื่อข้อ (Bullough, 1997) มีการ เปลี่ยนแปลงเป็นเมือก (mucinous change) หรือเกิดเป็นพังผืด มีเซลล์อักเสบชนิดต่างๆ เข้ามาสะสม เช่น lymphocytes และ plasma cells อาจพบ lymphoid follicle ได้ อาจมีเยื่อข้อบางส่วนยื่นขึ้นมา เป็นติ่งคล้ายนิ้วมือซึ่งมักอยู่บริเวณขอบข้อ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันของเยื่อหุ้มข้อจะเกิดการเสื่อมโดยมี ความหนามากขึ้นและเป็นพังผืดหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นเมือก รวมทั้งอาจเกิดรอยแยกระหว่าง เส้นใย collagen (Athanasou, 2001)

#### อาการทางคลินิก

สัตว์ที่เป็นโรคข้อเสื่อมจะแสดงอาการปวดข้อซึ่งอาจไม่ได้เป็นผลมาจากความผิดปกติของ กระดูกอ่อนผิวข้อ โดยตรง เพราะกระดูกอ่อนเป็นโครงสร้างที่ไม่มีเส้นประสาทมาเลี้ยง แต่อาจเป็น ผลมาจากการเพิ่มแรงกดดันที่บริเวณเยื่อหุ้มกระดูกจากกระดูกงอก การเพิ่มแรงดันต่อกระดูกอ่อน ใต้กระดูกอ่อนผิวข้อ หลอดเลือดดำคั่งจากการเพิ่มขึ้นของความดันในไขกระดูก เอ็นและกล้ามเนื้อ บริเวณรอบๆ ข้อถูกดึงรั้ง ยังรวมไปถึงการอักเสบบริเวณเยื่อข้อและถุงหุ้มข้อต่อ (Arnoldi, 1972; Hemborg, 1973; Gresham, 1975; Tokunaga, 1981) พิสัยการเคลื่อนไหวของข้อ (range of motion)

#### การวินิจฉัยภาวะข้อเสื่อม

ในปัจจุบันการวินิจฉัยโรคข้อเสื่อมอาศัยการซักประวัติของสัตว์ป่วย ประวัติการรักษา อาการที่สัตว์แสดงออก การตรวจร่างกาย การตรวจทางภาพถ่ายรังสีและการตรวจทาง ห้องปฏิบัติการเช่น การตรวจของเหลวในข้อ (May, 1994; Johnston, 1997; McLanghlin, 2002) พบว่าการวินิจฉัยโรคจากอาการที่สัตว์แสดงออกหรือการตรวจโดยอาศัยภาพถ่ายทางรังสีนั้น ไม่ สามารถใช้วินิจฉัยโรคในระยะแรกได้ จะตรวจพบได้ก็ต่อเมื่อสัตว์มีรอยโรค (lesion) ค่อนข้าง รุนแรงจนเกิดความผิดปกติกับสัตว์ ทำให้แสดงอาการที่เด่นชัดจนสามารถวินิจฉัยได้ อาการที่ แสดงออกส่วนมากพบว่า สัตว์จะมีอาการเจ็บปวดและไม่ใช้ขา ทั้งนี้ความรุนแรงของความเจ็บปวด จะขึ้นกับระดับความรุนแรงของโรค นอกจากนี้อาจพบการบวมของข้อที่เกิดจากการเสื่อนั้นด้วย ผลจากภาพถ่ายรังสีสามารถสังเกตเห็นการสึกกร่อนของกระดูกอ่อนผิวข้อ (cartilaginous erosion) สำหรับการตรวจของเหลวในข้อ โดยการเจาะดูด (aspiration) สามารถทำได้ง่ายในสุนัขที่มี

ขนาด กลางถึงใหญ่ เนื่องจากปริมาณของเหลวในข้อมีมากพออีกทั้งช่องว่างระหว่างกระดูกก็กว้าง การตรวจของเหลวในข้อนี้ใช้ช่วยสำหรับการวินิจฉัยแยกโรคระหว่างโรคข้อเสื่อมที่เกิดจากการติดเชื้อ กับโรคข้อเสื่อมที่ไม่เกิดจากการติดเชื้อ (May, 1994)

การตรวจสารบ่งชี้ทางชีวภาพ (biological markers) ก็เป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อใช้ในการ วินิจฉัยโรค สารบ่งชี้ทางชีวภาพ หมายถึง สารชีวโมเลกุลที่สามารถบอกถึงการเปลี่ยนแปลงทาง ชีวภาพที่เกิดขึ้นในร่างกายในภาวะปกติและภาวะที่เกิดพยาธิสภาพและสามารถใช้ในการบ่งชี้ กระบวนการและขั้นตอนการดำเนินของโรค อีกทั้งยังสามารถใช้บอกถึงการตอบสนองต่อการ รักษา สารบ่งชี้ทางชีวภาพนี้สามารถแบ่งได้สองประเภทคือ สารบ่งชี้โดยตรง (direct biological marker) และสารบ่งชี้โดยอ้อม (indirect biological marker) จะใช้สารบ่งชี้โดยตรงในการอธิบายถึง กระบวนการในระดับโมเลกุลที่มีความจำเพาะในแต่ละเนื้อเยื่อเช่น ในกระดูกอ่อนหรือเยื่อข้อ ในขณะที่สารบ่งชี้ทางชีวภาพโดยอ้อมนั้น จะใช้บ่งบอกสภาพการเปลี่ยนแปลงโดยทั่วไปที่เกิดขึ้น จากเนื้อเยื่อหลายชนิดประกอบกัน อาจรวมถึง matrix metalloproteinases (MMPs) สารซัยโตไคน์ สารกระตุ้นการเติบโตและสารบ่งชี้การอักเสบ (inflammatory markers) นอกจากนี้สารบ่งชี้โดย อ้อมอาจเรียกอีกอย่างว่า สารบ่งชี้ในการพยากรณ์ (prognostic biological marker) ที่จะทำ

ปัจจุบันมีงานวิจัยเพื่อศึกษาถึงสารบ่งชี้ทางชีวภาพที่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเกิดโรคข้อเสื่อม การศึกษาในมนุษย์พบว่าระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพที่เปลี่ยนแปลงช่วยให้การวินิจฉัยโรคทำได้เร็ว ขึ้น จากการศึกษาความสัมพันธ์ของสารบ่งชี้ทางชีวภาพในเลือดกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ ข้อโดยใช้ภาพถ่ายทางรังสีพบว่า การเปลี่ยนแปลงระดับของสารบ่งชี้ทางชีวภาพจะเกิดก่อนการ เปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของข้อ (Vilim, 2003) เมื่อมีความผิดปกติของภาวะสมดุลระหว่าง กระบวนการสร้างและกระบวนการทำลายทางชีวเคมีของเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน คือเกิดการทำลาย มากกว่า การสร้างโดยเฉพาะในระยะเริ่มแรกของโรคข้อเสื่อมจะไม่สามารถตรวจวินิจฉัยได้จาก อาการที่สัตว์แสดงออกหรือจาก ภาพถ่ายทางรังสี แต่สามารถตรวจระดับสารบ่งชี้ที่หลุดออกมาใน ของเหลวภายในข้อหรือในระบบหมุนเวียนโลหิตซึ่งช่วยให้สามารถวินิจฉัยโรคได้เร็วขึ้น (กรกฎ, 2547) โดยสารบ่งชี้ที่ใช้ในการตรวจเพื่อบอกการเปลี่ยนแปลงของข้อต่อที่เกิดจากภาวะโรคข้อเสื่อม นั้นได้แก่ สารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของกระดูกอ่อนเช่น keratan sulfate, hyaluronate, type II collagen รวมทั้ง sulfated glycosaminoglycans เป็นต้น โดยพบว่า ปริมาณ keratan sulfate ในซีรัมผู้ป่วยโรคข้อเสื่อมจะสูงเมื่อ เปรียบเทียบกับคนปกติสอดคล้องกับการศึกษาในสุนัขทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเข่าเสื่อม พบว่า มีระดับ keratan sulfate เพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน (Maincourt et al., 1991) ในภาวะโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis) จะมีการเพิ่มขึ้นสูง ของ hyaluronate โดยพบว่าระดับของ hyaluronate ในซีรัมจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนข้อ ในร่างกายที่เกิดการอักเสบรวมทั้งความรุนแรงของการอักเสบในข้อ (Paimela et al, 1991) การศึกษาในสุนัขที่เกิดโรคข้อเสื่อมพบว่า มีระดับของ hyaluronate เพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน (Leipold et al., 1989)

#### Sulfated glycosaminoglycans (sGAG)

เป็นสารจำพวกโพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลหน่วยย่อยโมโนแซคคาไรด์ (monosaccharide) 2 ชนิดคือ amino sugar และ acid sugar วางสลับกัน มีขนาดโมเลกุลระหว่าง 5,000 ถึง 50,000 ดาลตัน (กรกฎและศิริวรรณ, 2547) sulfated glycosaminoglycans เป็น องค์ประกอบย่อยของ proteoglycans ซึ่งมีคุณสมบัติที่สามารถยึดหยุ่นได้ดี ช่วยลดแรงกด (compressive force) และแรงเสียดทาน (shearing force) เมื่อมีแรงกดกระทำต่อกระดูกอ่อนผิวข้อ จากการศึกษาพบว่า ในภาวะโรคข้อเสื่อมปริมาณของ proteoglycans ใน extracellular matrix จะ ลดลง (Bullough, 1997) ทั้งนี้วิธีการวัดปริมาณของ sGAG ที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีที่ง่ายและ รวดเร็วคือ dimethylmethylene blue assay (Farndale et al., 1982) ซึ่งใช้หลักการของ colorimetric ในการทดสอบ Dimethylmethylene blue assay ถูกนำเสนอครั้งแรกในปี 1969 โดย Taylor และ Jeffree ใช้ ในการตรวจวัด sGAG โดยวิธีทาง histochemical ต่อมาได้มีการนำวิธี

ดังกล่าวมาใช้ในการวิเคราะห์ หา sGAG ใน cartilage culture media (Farndale et al., 1982) ซึ่งวิธีดังกล่าวใช้หลักการจับกัน ระหว่างประจุบวกของ dimethylmethylene blue และประจุลบของ sGAG วัดค่าการดูดกลืนแสง ของสีที่เกิดขึ้น โดยใช้เครื่อง spectrophotometer จากหลักการดังกล่าวส่งผลทำให้ค่าที่อ่านได้มี ความจำเพาะ (specificity) ต่ำ เนื่องจากถูกรบกวนโดยประจุลบต่าง ๆ เช่น hyaluronic acid, DNA และ RNA ในปี 1986 Farndale และคณะได้ศึกษาวิธีการเพิ่มความจำเพาะในการตรวจ sGAG ด้วยวิธี dimethylmethylene blue assay โดยเติมเอนไซม์ papain และ polysaccharide lyases ลงไปพบว่า การเติมเอนไซม์ papain และ polysaccharide lyases ช่วยขจัดกรรบกวนจาก สารจำพวก protein และ glycoprotein นอกจากนั้นยังช่วยเพิ่มความจำเพาะในการจับตัวกับ sGAG และช่วงความยาวคลื่นที่ดีที่สุดในการวัดค่าของสีที่เกิดขึ้นคือ 525 nm ช่วงความยาวคลื่นที่ให้ค่าน้อยที่สุดคือ 590 nm และควรวัดค่า หลังจากเติมสี dimethylmethylene blue ลงไปแล้วไม่เกิน 1 นาทีเนื่องจาก sGAG – dimethylmethylene blue complex เป็นสารที่ไม่คงตัวและจะเริ่มมีการจับตัวตกตะกอนภายใน 10 นาที

ในปี 1990 Goldberge และ Kolibas ได้พัฒนาวิธี microplate method ขึ้นมาเพื่อตรวจวัด sGAG โดยมี หลักการเช่นเดียวกับของ Farndale et al. แต่มีข้อดีตรงที่ใช้ตัวอย่างที่ต้องการตรวจและ สี dimethylmethylene blue ใน ปริมาณน้อยโดยใช้ 96 – well plate ทำการวัดผลที่ความยาวคลื่น 540 nm. ในปี 1996 Müller และ Hanschke พัฒนา วิธีการตรวจวัด sGAG โดยอาศัยหลักการจับกัน ระหว่าง sGAG และ dimethylmethylene blue เช่นกัน แต่ไม่ได้วัดค่า complex ที่เกิดขึ้นโดยตรง แต่ต่อมาในปี 2003 Oke และคณะได้คิดค้นวิธีการตรวจ sGAG ในน้ำไขข้อขึ้นมาใหม่เรียกว่า solid – phase DMMB assay ซึ่งสามารถตรวจวัดระดับของ sGAG ได้ในระดับนาโนกรัมและให้ผล ที่เทียบเคียงกับวิธี direct spectrophotometric assay และจากวิธีการตรวจวัดระดับของ sGAG โดยใช้ dimethylmethylene blue ทั้ง 4 วิธี พบว่า วิธีที่ได้รับการยอมรับและนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ ระดับของ sGAG ในงานวิจัยมากที่สุดคือ direct spectrophotometric assay ซึ่งเป็นวิธีที่มีขั้นตอน การตรวจที่ไม่ยุ่งยากรวมทั้งมี accuracy และ reproducibility ที่ ยอมรับได้ ทั้งนี้จากการทดลอง เบื้องต้นในการเปรียบเทียบวิธีการตรวจ 3 วิธีคือ direct, microplate และ indirect DMMB assay พบว่าวิธี direct spectrophotometric assay เป็นวิธีที่มีค่า validate test ดีที่สุด ทางผู้วิจัยจึงตัดสินใจใช้ วิธีดังกล่าวในการตรวจสอบระดับของ sulfated glycosaminoglycans ในน้ำไขข้อของงานวิจัยใน ครั้งนี้

### การรักษาโรคข้อเสื่อม

ปัญหาที่สำคัญที่สุดของโรคข้อเสื่อม คือ อาการปวดและความสามารถในการใช้ข้อทำงาน ได้น้อยลง ดังนั้น จุดประสงค์ที่สำคัญในการรักษาโรคข้อเสื่อมก็เพื่อบรรเทาอาการปวด ส่งเสริมให้ ข้อสามารถทำงานได้อย่างเต็มที่ ป้องกันไม่ให้ข้อถูกทำลายมากยิ่งขึ้นและช่วยให้สัตว์ป่วยสามารถ ช่วยเหลือตัวเองได้ สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้อย่างมีความสุข การรักษาจึงประกอบด้วยหลายวิธีดังนี้

#### การให้ความรู้กับเจ้าของสัตว์ (Client education)

การให้ความรู้กับเจ้าของสัตว์จัดว่าเป็นสิ่งสำคัญมากในการดูแลสัตว์ป่วย การให้คำอธิบาย เกี่ยวกับโรคข้อ เสื่อม การดำเนินของโรค สิ่งที่สัตว์แพทย์จะช่วยเหลือสัตว์ป่วยได้และสิ่งที่เจ้าของ สัตว์ป่วยควรปฏิบัติหรือหลีกเลี่ยงการ กระทำกิจกรรมบางอย่าง ตลอดจนให้ความร่วมมือในการ รักษาอย่างสม่ำเสมอและต่อเนื่อง จะช่วยให้การรักษาได้ผลดี ควรแนะนำวิธีการปฏิบัติต่อสัตว์ป่วย เช่น การออกกำลังกายที่ถูกต้องและเหมาะสม ในกรณีที่สัตว์เลี้ยงมีน้ำหนักตัวมาก ควรพิจารณาลด น้ำหนัก สิ่งเหล่านี้จะเป็นการช่วยปกป้องและทะนุถนอมข้อให้สามารถใช้งานได้เป็นระยะเวลานาน ถึงแม้โรคข้อเสื่อมจะเป็นโรคที่ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ แต่การปฏิบัติต่อสัตว์ป่วยอย่าง เหมาะสม การติดตามการ รักษาอย่างสม่ำเสมอจะมีส่วนช่วยให้คุณภาพชีวิตของสัตว์ป่วยดีขึ้นได้

### การรักษาด้วยยา (Pharmacological therapy)

จุดประสงค์หลักของการใช้ยาในการรักษาโรคข้อเสื่อมก็เพื่อบรรเทาอาการปวด ทำให้สัตว์ป่วยสามารถเคลื่อนไหวและใช้ข้อได้ดีขึ้น ในปัจจุบันมีการใช้ยาหลายชนิดในการบรรเทาอาการปวด และการอักเสบในโรคข้อเสื่อม ยาเหล่านี้ได้แก่ ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ และยา ระวังปวดที่ออกฤทธิ์ช้าและปรับเปลี่ยนโครงสร้างของข้อในโรคข้อเสื่อม อย่างไรก็ตามจาก ผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาในกลุ่มยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ ติดต่อกันเป็น ระยะเวลาานมีค่อนข้างมากและเป็นอันตรายต่อสัตว์ป่วยเช่น ผลต่อระบบทางเดินอาหาร โดยทำให้เกิดการระคายเคืองต่อเยื่อบุกระเพาะอาหาร ทำให้เกิดแผลหลุมในกระเพาะอาหาร ทำให้เกิด เลือดออกในทางเดินอาหาร ส่วนต้น ผลต่อดิบและไต ทำให้มีการทำหน้าที่ผิดปกติไปและอาจมีผล ทำให้เซลล์ตับและไตเสื่อมสภาพได้ (วราและคณะ, 2547 ; Plumb, 2005) จึงมีผู้นิยมใช้ยาระวังปวด ที่ออกฤทธิ์ช้าและปรับเปลี่ยนโครงสร้างของข้อในโรคข้อเสื่อมเพิ่มขึ้น ตัวอย่างของยากลุ่มนี้คือ glucosamine จากรายงานการใช้ยากลุ่มนี้เป็นระยะเวลาานพบว่า อาจมีผลชะลอไม่ให้ข้อเสื่อมมาก ขึ้น หรืออาจมีส่วนทำให้กระดูกผิวข้อเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีขึ้น ทำให้ในปัจจุบันมีการนำยา ระวังปวดที่ออกฤทธิ์ช้าและปรับเปลี่ยนโครงสร้างของข้อในโรคข้อเสื่อมมาใช้ร่วมในการรักษา อาการของโรคข้อเสื่อมเพิ่มมากขึ้น

### การรักษาด้วยการผ่าตัด (Surgical therapy)

การรักษาด้วยการผ่าตัดจะใช้ในกรณีที่ใช้ยารักษาแล้วไม่ได้ผล สัตว์ป่วยยังคงมีอาการปวด อยู่มากหรือข้อถูกทำลายอย่างมากและมีข้อผิดรูปเกิดขึ้นหรือมีภาวะแทรกซ้อน การรักษาด้วย วิธีการผ่าตัดมีหลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อบ่งชี้ในการทำ ข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันออกไป เช่น การ ศัลยกรรมตกแต่งข้อ (excision arthroplasty) หมายถึง การผ่าตัดเปลี่ยนแปลงส่วนของข้อเพียงส่วน ใดส่วนหนึ่ง เพื่อลดความเจ็บปวดในการเคลื่อนไหวของข้อและเพิ่มพิสัยในการเคลื่อนไหวข้อจาก การเกิด fibrous pseudoarthrosis เช่น การทำ femoral head and neck excision arthroplasty ในกรณี coxofemoral osteoarthritis ซึ่งหลังจากการผ่าตัดพบว่า อาการเจ็บชาลดลง 60-83 % การผ่าตัดวิธีนี้ จะให้ผลดีในกรณีที่มีน้ำหนักตัวไม่เกิน 18-20 กิโลกรัม ข้อแทรกซ้อนจากการผ่าตัดวิธีนี้ ได้แก่ มีการสั้นลงของขาข้างที่ทำการผ่าตัด, มีการเคลื่อนไหวและการทำหน้าที่ที่ผิดปกติของข้อ, ไม่ ใช้ขาหรือแสดงอาการเจ็บขา, กล้ามเนื้อลีบและเกิดภาวะลูกสะบ้าเคลื่อน (patellar luxation) นอกจากนี้ยังมีเทคนิคในการทำศัลยกรรมเกี่ยวกับการแก้ไขภาวะข้อเสื่อมอีกหลายวิธี เช่น การผ่าตัดเปลี่ยนข้อ (total joint replacement), การผ่าตัดเชื่อมข้อ (arthrodesis), การผ่าตัดโดยใช้กล้อง (arthroscopic debridement) และ tibial plateau leveling osteotomy (TPLO) ในกรณีของ stifle osteoarthritis เป็นต้น ซึ่งการผ่าตัดส่วนใหญ่ต้องการศัลยแพทย์ที่ได้รับการฝึกฝนและมีความ ชำนาญในการทำศัลยกรรม จึงจะสามารถทำการผ่าตัดแก้ไขได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งยังมีข้อ จากที่กล่าวมาจะเห็นว่า การรักษาภาวะข้อเสื่อมที่ได้ผลและเกิดผลข้างเคียงน้อยในระยะยาว คือ การให้ความรู้เจ้าของสัตว์ในการปฏิบัติต่อสัตว์ป่วยด้วยภาวะข้อเสื่อมร่วมกับการใช้ยา ระวัง ปวดที่ออกฤทธิ์ช้าและปรับเปลี่ยนโครงสร้างของข้อในโรคข้อเสื่อมเช่น glucosamine ทำให้ ปัจจุบันมีการศึกษาถึง ประสิทธิภาพในการรักษาอาการของภาวะข้อเสื่อมของยาในกลุ่มดังกล่าวมาก ขึ้น ทอปรกับในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์ของ glucosamine ที่ผลิตออกมาเพื่อใช้ในสัตว์โดยเฉพาะ ทำให้ แนวโน้มของการใช้ยากลุ่มดังกล่าวในการรักษาภาวะข้อเสื่อมเป็นที่นิยมมากยิ่งขึ้นในทางสัตวแพทย์

### **ข้อมูลเกี่ยวข้องกับ Glucosamine**

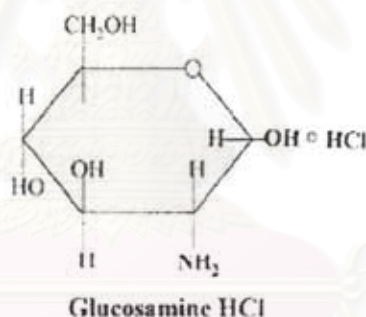
glucosamine เป็นส่วนประกอบของ glycosaminoglycans ใน matrix ของกระดูกอ่อน น้ำไขข้อและเป็น ส่วนประกอบในเกือบทุกเนื้อเยื่อของร่างกาย glucosamine มีประสิทธิภาพทำให้ โครงสร้างข้อ การทำงานของข้อ และ อาการผิดปกติทางข้อดีขึ้นโดย glucosamine จะทำหน้าที่เป็น สารตัวกลาง (intermediate) ในกระบวนการสังเคราะห์ mucopolysaccharide และสามารถบริหารยา ได้โดยการรับประทาน ช่วยทำให้อาการปวดข้อ ข้ออักเสบ อองศาการ



เคลื่อนไหว และความเร็วในการเดินดีขึ้น โดยยานี้กระตุ้นให้มีการสร้าง hyaluronic acid (Frizziero et al., 1998) และสามารถเพิ่มการสร้าง proteoglycans ในกระดูกอ่อน (Bassleer et al., 1998 ; Uebelhart et al., 1998)

glucosamine จัดเป็น amino-monosaccharides ที่มีในธรรมชาติ glucosamine ดูดซึมได้ดี จากทางเดินอาหารและกระจายทั่วร่างกาย รวมทั้งกระดูกอ่อนผิวข้อ glucosamine ช่วยเพิ่มการสร้าง proteoglycans โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ทำลายกระดูกอ่อน เช่น collagenase, phospholipase A2, stromelysin และ aggrecanase โดยปกติ glucosamine เป็นส่วนประกอบใน sulfated glycosaminoglycans ใน matrix ของกระดูกอ่อนและน้ำไขข้อ glucosamine จัดอยู่ในกลุ่มของ symptomatic slow-acting and disease modifying drugs โดยมีประสิทธิภาพทำให้โครงสร้าง ข้อ การทำงานและอาการของข้อดีขึ้น ซึ่ง glucosamine ทั้งจากที่ได้รับภายนอกร่างกายและจาก ภายในร่างกายซึ่งถูกสร้างจากเซลล์กระดูกอ่อนและน้ำตาล glucose ในภาวะที่มี glutamine นั้นล้วน เป็นวัตถุดิบที่สำคัญในการสังเคราะห์ glycosaminoglycans ซึ่งถูกนำไปใช้สร้าง proteoglycans (Vidal et al., 1987) ต่อไป

ผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับ glucosamine ที่มีอยู่ในท้องตลาด จะพบอยู่ในรูปแบบของเกลือชนิดต่างๆ เช่น glucosamine hydrochloride, glucosamine sulfate และ N-acetylglucosamine โดยเชื่อว่า ความแตกต่างระหว่างประจุลบของเกลือชนิดต่างๆ จะช่วยในการเพิ่มกระบวนการดูดซึมของ glucosamine ให้เพิ่มมากขึ้น แต่พบว่า ความแตกต่างกันระหว่างประจุลบของเกลือชนิดต่างๆ เช่น



รูปที่ 7 : โครงสร้างทางเคมีของ glucosamine hydrochloride (Fenton et al., 2000)

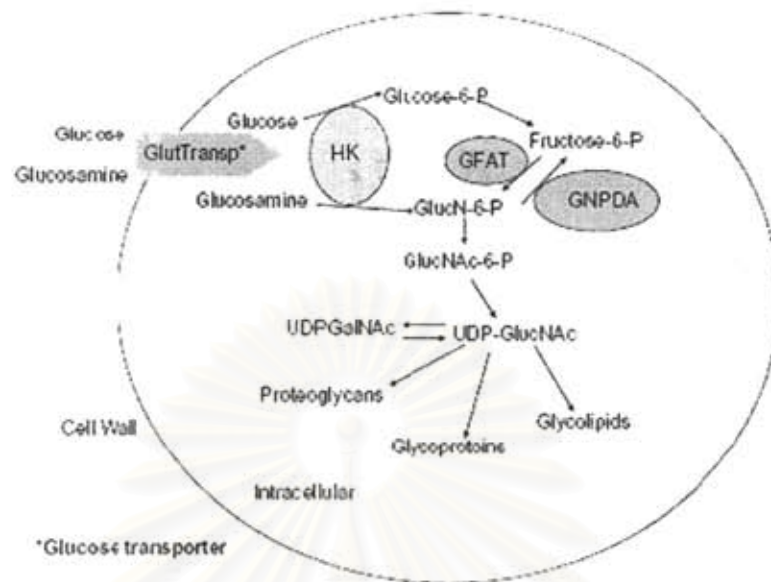
#### เภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetic)

จากการศึกษาทั้งในสัตว์ทดลองและในมนุษย์พบว่า glucosamine ถูกดูดซึมได้ดีที่ทางเดินอาหาร มากกว่าร้อยละ 90 ถึงระดับสูงสุดในเวลา 8-10 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะค่อยๆ ลดลง มีค่าครึ่งชีวิตนาน 68 ชั่วโมง ยาร้อยละ 10 ถูกขับออกทางปัสสาวะและร้อยละ 11.3 ขับออกทางอุจจาระ

(วรวิทย์และคณะ, 2546)

#### คุณสมบัติทางเภสัชวิทยา (Pharmacological properties)

Glucosamine ที่ได้รับจากนอกร่างกายเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในการสร้าง glycosaminoglycans ซึ่งต่อมาถูกนำไปใช้สร้าง proteoglycans โดยเซลล์กระดูกอ่อน (Vidal et al., 1987) โดย glucosamine จะผ่านเข้าสู่เซลล์ทาง glucose transporter โดยอาศัย insulin ในการนำพา เข้าสู่เซลล์ จากนั้น glucosamine จะถูกเติมหมู่ฟอสเฟต (phosphorylation) โดยเอนไซม์ hexokinase (HK) ได้เป็น glucosamine-6-phosphate (GlucN-6-P) ต่อมาจะถูกเติมด้วยหมู่ acetyl ที่ตำแหน่ง N terminal (acetylation) โดยเอนไซม์ glucosamine-phosphate N-acetyltransferase ได้ N-acetylglucosamine-6-phosphate (GlucNAc-6-P) และจะถูกเปลี่ยนเป็น uridine diphosphate-Nacetylglucosamine (UDP-GlucAc) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของ proteoglycans ดังรูปที่ 9 (Anderson et



รูปที่ 8 : Glucosamine pathways : glucosamine จะเข้าสู่เซลล์โดยผ่านทาง glucose transporter จากนั้นจะถูกเปลี่ยนรูปไปตามขั้นตอนต่าง ๆ ของกระบวนการเมแทบอลิซึม

(Anderson et al., 2005)

#### ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (Pharmacological effects)

##### 1. ผลต่อการสร้างกระดูกอ่อน (anabolic effects on cartilage metabolism)

ในการศึกษาพบว่า glucosamine มีส่วนในการสร้าง glycosaminoglycans ส่งเสริมให้มีการสร้าง proteoglycans (Harkness et al., 1984) ซึ่งผลการทำงานนี้สามารถพบจากการทดลอง เพาะเลี้ยงเซลล์กระดูกอ่อนของมนุษย์ที่เป็นโรคข้อเสื่อม การเติม glucosamine ลงไปในน้ำเลี้ยง เซลล์กระดูกอ่อนจะกระตุ้นให้เซลล์กระดูกอ่อนสร้าง proteoglycans ตามสัดส่วนของ glucosamine ที่เพิ่มเข้าไป (Oegema et al., 2002 ; Tiraloche et al., 2005) proteoglycans ที่สร้างขึ้นนี้มีคุณสมบัติ ทางสรีรวิทยาเหมือนกับที่สร้างโดยเซลล์กระดูกอ่อนปกติทั้งขนาดโมเลกุลและความสามารถที่จะ จับ hyaluronic acid (Bassleer et al., 1998)

##### 2. ผลต่อการสลายกระดูกอ่อน (catabolic effects on cartilage metabolism)

พบว่า glucosamine ลดการสลายกระดูกอ่อนโดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ collagenase และ phospholipase A2 ซึ่งเอนไซม์ phospholipase A2 มีฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของ collagenase ซึ่ง เท่ากับว่า glucosamine สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ collagenase อย่างสมบูรณ์ ในการศึกษา ทางพันธุกรรมพบว่า glucosamine สามารถลดระดับ stromelysin mRNA และ matrix metalloproteinases 1 และ 3 (MMP-1, MMP-3) (Dodge et al., 1999) นอกจากนี้ glucosamine สามารถยับยั้งการทำงานของ aggrecanase (Sandy et al., 1998) และยับยั้งการเพิ่มขึ้นของ nitric oxide (Fenton et al., 2000) จากการศึกษาในหลอดทดลองพบว่า เซลล์กระดูกอ่อนที่มาจากรกระดูกอ่อนที่เริ่มมีร่อง (fibrillated cartilage) สามารถจับตัวกับ fibronectin ได้น้อยกว่ากระดูกอ่อนโรคข้อเสื่อมที่ดูด้วยตาเปล่าว่ายังปกติ (macroscopically normal-appearing osteoarthritis cartilage) หลังจากได้รับ glucosamine พบว่า glucosamine สามารถทำให้การทำงานของเซลล์กระดูกอ่อนจับตัวกับ fibronectin ได้มากขึ้นและกลับมาสู่ระดับปกติได้ (Piperino et al., 1998) การจับยึดของเซลล์กระดูกอ่อนกับ fibronectin ถูกทำให้เพิ่มขึ้นจากฤทธิ์ของ protein

kinase C (PKC) และจากการที่ glucosamine สามารถกระตุ้นให้มีการสร้าง PKC เพิ่มขึ้น (วรวิทย์และคณะ, 2546) ข้อมูลเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่า glucosamine ทำให้การทำงานของเซลล์กระดูกอ่อนดีขึ้น

3. ผลในลดการอักเสบ (anti-inflammatory effects) จากการศึกษาพบว่า glucosamine สามารถลดการอักเสบในข้อที่เกิดการอักเสบจากการทำงาน ข้ออักเสบติดเชื้อและข้ออักเสบทั่วไป โดย glucosamine สามารถยับยั้งผลของสารก่อการอักเสบ (proinflammatory effects) ต่างๆ เช่น carrgeenin, dextran, formarin และ acetic acid นอกจากนี้ยังพบว่า glucosamine สามารถยับยั้งการสร้าง IL-1 $\beta$  โดยกระตุ้นการทำงานของ Nuclear Factor kappa B รวมทั้งยังสามารถยับยั้งการหลั่งของ PGE2 และการเกิด gene expression ของ COX-2 (Largo et al., 2003)

4. ผลต่อเมแทบอลิซึมของกระดูกอ่อน (effects on cartilage metabolism) ปริมาณของ glucosamine ในกระดูกอ่อนจะเพิ่มขึ้นหลังรับประทานยา (Shinkhman et al., 1999) โดยยาจะแทรกเข้าสู่ผิวกระดูกอ่อนและสัมผัสโดยตรงกับเซลล์กระดูกอ่อน ปฏิกริยาระหว่าง เซลล์กระดูกอ่อนกับ matrix มีบทบาทสำคัญต่อเมแทบอลิซึมของกระดูกอ่อน จากการศึกษาผลของ glucosamine ต่อเมแทบอลิซึมของเซลล์กระดูกอ่อนโดยใช้ ultrastructure ของเซลล์กระดูกอ่อนในหลอดทดลอง และประเมินปริมาณการเปลี่ยนแปลงในเซลล์ กระดูกอ่อน ซึ่งจะเป็นการบอถึงการทำงานของเซลล์กระดูกอ่อน (Anfeld et al., 1985) พบว่า glucosamine ช่วยป้องกันเซลล์กระดูกอ่อนให้ยังคงการทำงานทางด้านเมแทบอลิซึมเมื่อ เปรียบเทียบกับเซลล์กระดูกอ่อนที่มีการทำงานบกพร่องจากการได้รับ dexamethasone

#### ประสิทธิผล (Efficacy)

ในการศึกษาถึงผลของ glucosamine sulfate ต่อการทำลายกระดูกอ่อนของกระต่ายที่เป็น โรคข้อเสื่อม ได้มีการประเมินรอยโรคที่เกิดในกระดูกอ่อนโดยการส่องกล้องข้อ (arthroscopy) และ จัดกลุ่มรอยโรคออกเป็น 7 กลุ่มแล้ว ประเมินความเสียหายของกระดูกอ่อนโดยใช้ 100 มิลลิเมตร Visual Analog Scale ผลการศึกษาพบว่าการทำลายของกระดูกอ่อนลดลงในกลุ่มที่ได้รับ การรักษาด้วย glucosamine sulfate แสดงว่า glucosamine มีส่วนในการปรับเปลี่ยนโครงสร้างข้อใน โรคข้อเสื่อม (Conrozie et al., 1998) Oegema และคณะ (2002) ศึกษาถึงผลของ glucosamine hydrochloride ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของ sulfated glycosaminoglycans ในกระต่ายปกติและกระต่ายที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเสื่อมโดยการฉีด chymopapain พบว่า กระต่าย กลุ่มที่ได้รับ การป้อน glucosamine hydrochloride วันละครั้งติดต่อกัน 8 สัปดาห์ มีระดับของ sulfated glycosaminoglycans เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine ซึ่งสอดคล้องกับ Tiraloche และคณะ (2005) ที่ศึกษาผลของการป้อน glucosamine hydrochloride ต่อการทำลายกระดูกอ่อนของกระต่ายที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเสื่อมโดยการตัด anterior cruciate ligament และประเมินกระดูกอ่อนที่ถูกทำลายในระดับมหภาค (macroscopic assessment) และจุลภาค (histologic assessment of cartilage) , ปริมาณของ type II collagen รวมทั้ง การเปลี่ยนแปลงของ glycosaminoglycans ผลการศึกษาพบว่า glucosamine hydrochloride สามารถ ช่วยเพิ่มระดับของ glycosaminoglycans ในกระต่ายที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเสื่อมแต่ไม่ สามารถเพิ่มปริมาณของ type II collagen ได้

นอกจากนั้นยังมีการศึกษาในสุนัขที่เป็นโรคข้อเสื่อมจากการตัด anterior cruciate ligament (ACL) พบว่า glucosamine sulfate มีผลลดระดับ collagenase ในกระดูกอ่อนและเยื่อข้อ และลด ระดับ IL-1 $\beta$  ในน้ำไขข้อ รวมทั้ง ลดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านจุลภาคและมหภาคของกระดูก อ่อน (Pelletier et al., 1999) ซึ่งสอดคล้องกับผล การศึกษาของการลดการทำลายกระดูกอ่อนของ glucosamine hydrochloride ในหลอดทดลอง (in vitro) โดยนำกระดูก อ่อนของม้ามาเพาะเลี้ยงใน อาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากนั้นเติม 1-4 lipopolysaccharide หรือ recombinant human interleukin-1 เพื่อ กระตุ้นการทำลายกระดูกอ่อน ต่อมาเติม glucosamine hydrochloride ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

(0.25 , 2.5 หรือ 25 มก./มล.) พบว่าการเติม glucosamine hydrochloride ในระดับความเข้มข้น 25

Chan และคณะ (2005) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการควบคุม gene expression และการสังเคราะห์ nitric oxide และ PGE2 ของ glucosamine และ chondroitin sulfate ในเซลล์กระดูกอ่อนผิวข้อ โดยเติม IL-1 ลงไปในเซลล์กระดูกอ่อนผิวข้อ เพื่อกระตุ้นให้เกิดการสร้าง iNOS , eNOS , COX-2 และ mPGEs I จากนั้นวัดปริมาณของ NO และ PGE2 โดยใช้ quantitative real-time polymerase chain reaction (Q-RT-PCR) ผลการศึกษาพบว่า ทั้ง glucosamine และ chondroitin sulfate สามารถลดการเกิด gene expression และลดการสังเคราะห์ nitric oxide รวมทั้ง prostaglandin E2 ในเซลล์กระดูกอ่อนผิวข้อที่ถูกกระตุ้นด้วย IL-1

การศึกษาในโรคข้อเข่าเสื่อม เปรียบเทียบการกิน glucosamine sulfate 1,500 มก./วันกับ ibuprofen 1,200 มก./วัน พบว่าทั้ง glucosamine sulfate และ ibuprofen มีประสิทธิภาพในการลด อาการปวด วัดโดย Lequesne algo functional index ได้ร้อยละ 40 ภายหลังได้รับยา 4 สัปดาห์ แต่ พบว่า ibuprofen ออกฤทธิ์ได้เร็วกว่า glucosamine sulfate ผลของ glucosamine sulfate เริ่มสังเกต ได้ในสัปดาห์ที่ 2 ของการรักษา หลังจากนั้นผลการรักษาค้ำยกับ ibuprofen (Muller-Fabender et al., 1994) การศึกษาทั้งระยะสั้นและระยะกลาง พบว่า glucosamine sulfate ทำให้ อาการโรคข้อ เสื่อมดีขึ้น (McAlindon et al., 2002)

การศึกษาระยะยาวโดย Reginster และคณะ (2001) เปรียบเทียบระหว่าง glucosamine 1,500 มก./วัน กับยา หลอกเป็นระยะเวลา 3 ปี ประเมินความเจ็บปวดด้วย Western Ontario McMaster University Osteoarthritis Index (WOMAC) พบความเจ็บปวดลดลงจาก 39 มม.เป็น 31.4 มม. โดยคิดเป็นร้อยละ 19.5 ในขณะที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงใน กลุ่มที่ได้รับยาหลอก สอดคล้องกับ การศึกษาของ Pavelka และคณะ (2002) ซึ่งเปรียบเทียบ glucosamine 1,500 มก./วันกับยาหลอก ใน การรักษาผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมจำนวน 202 คนเป็นเวลา 3 ปีและทำการประเมินความกว้างช่องข้อ ทุกปี จากการประเมินเมื่อสิ้นสุดการศึกษาที่ 3 ปี พบว่าช่องข้อในกลุ่มยาหลอกแคบลง 0.19 มม. ในขณะที่ช่องข้อในกลุ่ม glucosamine เพิ่มขึ้น 0.04 มม. ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) เมื่อประเมินอาการปวดและการ ทำงานของข้อในผู้ป่วยที่สามารถอยู่ในการศึกษาครบ 3 ปีด้วย Lequesne index และ WOMAC index พบว่าอาการปวด การทำงานของข้อและความผิดเพี้ยนของข้อของกลุ่มที่ได้ glucosamine ได้ผลดีกว่ากลุ่มที่ได้รับยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ และ ไม่พบว่ามีผลข้างเคียงของการเกิดผลข้างเคียงของยาระหว่างกลุ่ม glucosamine กับกลุ่มยาหลอก

#### ผลข้างเคียง (side effects)

จากการศึกษาทั้งระยะสั้นและระยะยาว พบว่าผู้ป่วยสามารถรับประทานยาได้ดี มี ผลข้างเคียงน้อยกว่าการใช้ ยาต้านอักเสบชนิดไม่ใช่สเตียรอยด์ ผลข้างเคียงมักเป็นแบบชั่วคราว พบ ได้ประมาณร้อยละ 15 ผลข้างเคียงที่พบบ่อยกับอาการที่พบในกลุ่มที่ได้ยาหลอกเช่น อาการไม่สบายท้อง ปวดท้อง ท้องผูก ถ่ายเหลว คลื่นไส้ อาเจียน สำหรับอาการ แพ้ยาแบบ hypersensitivity reactions มีรายงานบ้างเช่น ผื่นคัน และผื่นแดงที่ผิวหนัง สำหรับอาการปวดศีรษะ การ มองเห็นภาพผิดปกติ ผม่วง พบได้น้อยมาก การหยุดยาเนื่องจากผลข้างเคียงพบได้ร้อยละ 10 ซึ่งนับเป็นตัวเลขที่ ใกล้เคียงกับการหยุดยาในกลุ่มยาหลอก จากการทบทวนวรรณกรรมข้างต้น จะเห็นว่า glucosamine มีฤทธิ์ในการระงับ ปวดและ ปรับเปลี่ยนโครงสร้างของข้อในโรคข้อเสื่อม ผ่านกลไกการทำงานต่างๆ เช่น มีผลเพิ่มการสร้าง และลดการ สลายกระดูกอ่อนรวมทั้งมีฤทธิ์ในการยับยั้งสารก่อการอักเสบต่างๆ จึงเป็นมูลเหตุจริงใจ ให้เกิดแนวคิดในการศึกษาผล ของการใช้ glucosamine hydrochloride ในสัตว์เลี้ยง เช่น สุนัข เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงผลของ การใช้ glucosamine hydrochloride เพื่อ รักษาหรือใช้ร่วมในการรักษาสุนัขป่วยจากภาวะข้อเข่าเสื่อม แม้ว่าจะมีการนำ glucosamine hydrochloride มาใช้กันอย่างแพร่หลายร่วมกับการใช้ยาในกลุ่ม NSAIDs ในการรักษาภาวะข้อเสื่อม ทั้งนี้ โดยต้องการชี้ชัดถึงผลของ glucosamine hydrochloride ต่ออาการทางคลินิกและต่อระดับของ sulfated

glycosaminoglycans ในน้ำไขข้อของสุนัขที่เป็นโรคข้อเข่าเสื่อมเปรียบเทียบกับกลุ่ม ควบคุม



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 2

### อุปกรณ์และวิธีการ

(Materials and Methods)

#### สุนัข

สุนัขพันธุ์ผสม ไม่จำกัดเพศ อายุ 3-5 ปี น้ำหนัก 12-16 กิโลกรัม จำนวน 10 ตัว ที่ได้รับการทำวัคซีนป้องกันโรคติดต่อที่สำคัญแล้ว มีสุขภาพสมบูรณ์ ไม่มีอาการเจ็บขา และไม่มีอาการของโรคข้อต่างๆ นำมาเลี้ยง ทำการตรวจสุขภาพ ตรวจเลือดรวมทั้งฉีดวัคซีนป้องกัน โรคต่างๆ จากการตรวจร่างกายและการตรวจทางออร์โทปิดิกส์ ไม่พบความผิดปกติของระบบโครงสร้างและกล้ามเนื้อ (musculoskeletal system) รวมทั้งได้รับการถ่ายภาพทางรังสีว่าไม่มีลักษณะผิดปกติในข้อเข่า โดยให้อาหารสำเร็จรูปคุณภาพดีชนิดเม็ด (premium grade; Royal canin สูตร Maxi adult) และจัดน้ำสะอาดให้เพียงพอตามความต้องการของสุนัขทดลอง ตลอดการศึกษา

นำสุนัขมาเลี้ยงเพื่อเป็นการปรับสภาพให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่และลดภาวะเครียดเป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากนั้นสุ่มแบ่งสุนัขออกเป็น 2 กลุ่มโดยแบ่งเป็นกลุ่มควบคุมที่ไม่ เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมจำนวน 4 ตัว และกลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมจำนวน 8 ตัว เจาะ เก็บตัวอย่างน้ำไขข้อของสุนัขทุกตัว เพื่อใช้เป็นข้อมูลค่าปกติของ sulfated glycosaminoglycans และประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกโดยใช้ผู้ทำการประเมินที่ไม่ทราบกลุ่มของ สัตว์ทดลองว่าเป็นกลุ่มใด จำนวน 1 คนตามตารางที่ 1

#### การเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเสื่อม

เหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเสื่อม (osteoarthritis) โดยการตัดเอ็นไขว้หน้าในข้อเข่าขวา (cranial cruciate ligament) และใช้วิธีการทำให้ข้อเข่าเกิดความมั่นคงโดยการยึดภายนอก (extracapsular technique) โดยวิธี lateral retinacular imbrication technique (Flo's technique) (Piermattei and Flo, 1995) (รูป 9) สุนัขทุกตัวได้รับมอร์ฟีน ซัลเฟต (morphine sulfate) ขนาด 0.5 มก/กก และ เว็ดาโปรเฟน (vedaprofen) ขนาด มก/กก เพื่อควบคุมความเจ็บปวดก่อนและหลังการทำศัลยกรรม ตามลำดับ ภายหลังจากทำศัลยกรรม สุนัขทุกตัวถูกควบคุมการออกกำลังกายและได้รับยาบรรเทาอาการปวดและอักเสบ (vedaprofen) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ แบ่งสุนัขออกเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 5 ตัว ได้แก่

กลุ่มที่ 1 (control group) สุนัขได้รับได้รับยาบรรเทาอาการปวดและอักเสบ (vedaprofen) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากนั้นสุนัขได้รับยาหลอก (placebo) ทุกวันเป็นเวลา 30 เดือน

กลุ่มที่ 2 (Glu/CS) สุนัขได้รับได้รับยาบรรเทาอาการปวดและอักเสบ (vedaprofen) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากนั้นสุนัขได้รับกลูโคซามีน ซัลเฟต ขนาด 1,500 มก และคอนดรอยติน ซัลเฟต ขนาด 250 มก ทุกวันเป็นเวลา 30 เดือน

#### การเก็บข้อมูลและตัวอย่าง

การประเมินอาการขาเจ็บทางคลินิก (clinical lameness) (ดัดแปลงจาก Johnston, 1997)

ระดับอาการขาเจ็บทำการประเมินโดยใช้ผู้ทำการประเมิน 1 คน ประเมินภายหลังจากทำศัลยกรรม เดือนละ 1 ครั้งเป็นเวลา 30 เดือน แบ่งระดับความเจ็บปวดขณะเดินและวิ่งออกเป็น 4 ระดับ ได้แก่

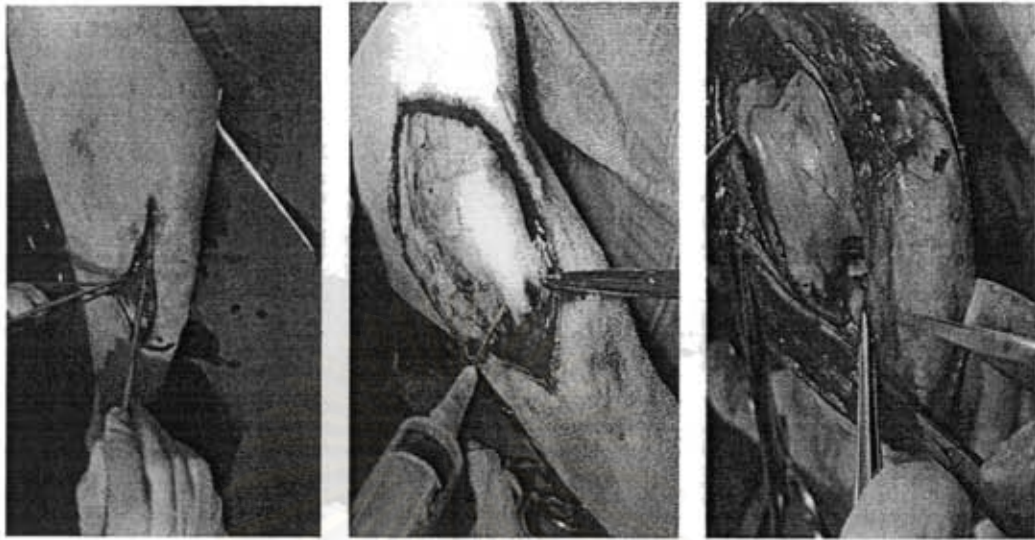
ระดับที่ 0 สุนัขไม่แสดงอาการเจ็บปวดขณะเดินหรือวิ่ง

ระดับที่ 1 สุนัขไม่แสดงอาการเจ็บปวดขณะเดิน แต่แสดงอาการเจ็บขณะวิ่ง

ระดับที่ 2 สุนัขแสดงอาการเจ็บปวดทั้งขณะเดินและวิ่ง

ระดับที่ 3 สุนัขแสดงอาการเจ็บปวดขณะเดิน และไม่ใช้ขาข้างที่เจ็บรับน้ำหนักขณะวิ่ง

ระดับที่ 4 สุนัขไม่ใช้ขาข้างที่เจ็บรับน้ำหนักทั้งขณะเดินและวิ่ง



รูป 9.1

รูป 9.2

รูป 9.3

รูป 9.1-9.3 ศัลยกรรมเหนียวทำให้เกิดภาวะเอ็นไขว้หน้าขาด

รูป 9.1 การเปิดเข้าข้อเข่าทางด้านข้าง (lateral stifle arthrotomy)

รูป 9.2 การเจาะของเหลวในข้อต่อ เพื่อส่งตรวจก่อนการเหนียวทำให้เกิดข้อเสื่อม

รูป 9.3 การตัดเอ็นไขว้หน้าในข้อเข่า



รูป 9.4



รูป 9.5

รูป 9.4-9.5 ศัลยกรรมภายนอกข้อต่อที่ทำให้เกิดความมั่นคง (extracapsular stabilization technique)

### การประเมินผลระดับความรุนแรงของโรคจากการเปลี่ยนแปลงของข้อเข่าจากภาพถ่ายทางรังสี

ระดับความรุนแรงของโรคข้อเข่าเสื่อมที่ประเมินจากภาพถ่ายทางรังสี บริเวณข้อเข่า จำนวน 2 ท่า ได้แก่ ท่า anteroposterior และ lateral views โดยใช้ผู้ประเมิน 1 คน และใช้หลักการประเมินการแบ่งระดับข้อเสื่อม (osteoarthritis scoring system) (Vasseur และ Berry, 1992) โดยพิจารณาจาก ตำแหน่งที่เกิดลักษณะข้อเสื่อมที่ตรวจพบได้แก่ ข้อบวม (joint effusion) การเกิดกระดูกงอกตำแหน่งต่างๆ ในข้อเข่า (osteophyte) และแบ่งความรุนแรงออกเป็น 4 ระดับ จาก 0-4 ได้แก่ ไม่มีอาการข้อเสื่อม ข้อเสื่อมเล็กน้อย (mild) ข้อเสื่อมระดับปานกลาง (moderate) ข้อเสื่อมระดับรุนแรง (severe) และข้อเสื่อมระดับรุนแรงมาก (mark severe) ตามลำดับ

### การเก็บตัวอย่างของเหลวภายในข้อต่อ

สุนัขทุกตัวได้รับยาไซลาซีน ไฮโดรคลอไรด์ (xylazine hydrochloride) ขนาด 1 มก/กก และยามอร์ฟิน ซัลเฟต ขนาด 0.5 มก/กก เพื่อให้เกิดอาการซึม (sedation) และบรรเทาอาการปวด เก็บตัวอย่างของเหลวภายในข้อเข่า โดยการเจาะข้อเข่าขวา (arthrocentesis) ทุก 1 เดือน ตัวอย่างของเหลวในข้อเข่า ถูกนำไปปั่น (centrifuge) ที่ 1,200 g เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80°C วัดระดับคอนดรอยตินซัลเฟตทางห้องปฏิบัติการ (Johnson et al., 2001) และนำของเหลวภายในข้อต่อมาหาค่า sulfated glycosaminoglycans (sGAG) โดยวิธี direct dimethylmethylene blue assay (Oke et al., 2003a, b) เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างค่าของ sulfated glycosaminoglycans ระดับคอนดรอยตินซัลเฟตกับการเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อม เพื่อประเมินผลของ glucosamine hydrochloride ในการรักษาโรคข้อเข่าเสื่อม

### การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical data analysis)

วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างข้อมูลของระดับ sGAG ในแต่ละกลุ่มทดลองโดยใช้ oneway analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD ส่วน ระดับของคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิก (lameness score) ทำการ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Mann-Whitney test จากนั้นรายงานผลการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่า ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (mean  $\pm$  standard error of mean) กำหนดค่าความเชื่อมั่น ทางสถิติเท่ากับ 95% วิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับอาการขาเจ็บทางคลินิกและระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมทางรังสีวิทยา หาความสัมพันธ์ของข้อมูลต่างๆ โดยวิธี regression test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



### บทที่ 3

#### ผลการศึกษา

(Results)

ผลของ glucosamine hydrochloride ต่ออาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกของสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมเปรียบเทียบกับสุนัขปกติ

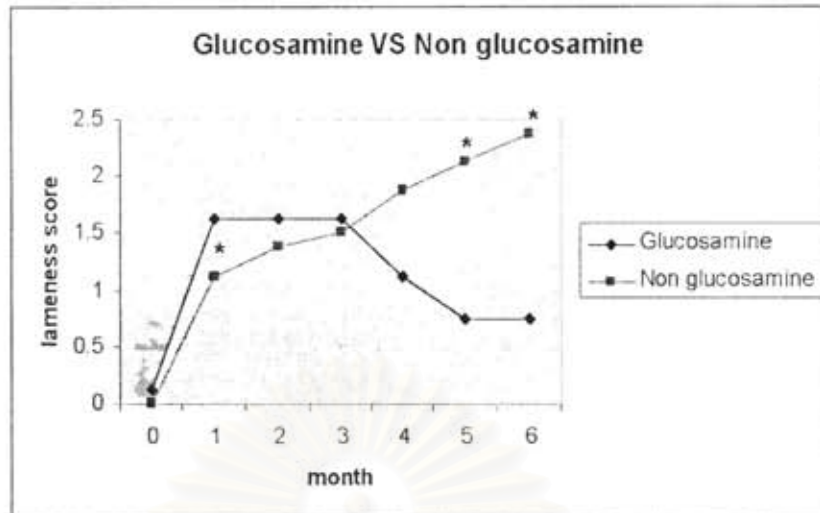
ผลการทดลองพบว่า สุนัขในกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อม เป็นสุนัขที่ปกติไม่แสดงอาการเจ็บขา มีคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทาง คลินิกเป็นศูนย์ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

สุนัขทดลองที่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมและไม่ได้รับ glucosamine มีคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกอยู่ในช่วง 0 – 2.38 ซึ่งเมื่อ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่า มีคะแนนเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ตั้งแต่ 1 เดือนหลังการผ่าตัดเหนี่ยวนำ และมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ จนถึงสุดการทดลองในเดือนที่ 30 และเมื่อเปรียบเทียบคะแนนที่เพิ่มขึ้นแต่ละเดือนกับคะแนนก่อนผ่าตัดเหนี่ยวนำของสุนัขในกลุ่มเดียวกันนี้ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

สุนัขกลุ่มที่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมและได้รับ glucosamine พบว่า คะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกมีค่าสูงขึ้นในเดือนที่ 1 ( $1.625 \pm 0.125$ ) และคงอยู่ในระดับนี้จนถึงเดือนที่ 3 โดยค่านี้จะลดลงในเดือนที่ 4 ( $1.125 \pm 0.239$ ) ซึ่งยังคงแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำและไม่ได้รับ glucosamine เมื่อถึงเดือนที่ 5 ค่าจะลดลงเหลือ  $0.75 \pm 0.323$  และทรงอยู่จนถึงเดือนที่ 30 ซึ่งคะแนน ใน 24 เดือนสุดท้ายไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและเมื่อเปรียบเทียบกับคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกก่อนได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำของสุนัขกลุ่มที่ ได้รับ glucosamine พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของคะแนนจากการประเมินอาการ เจ็บขาใน 24 เดือนสุดท้าย จึงแสดงผลเพียงช่วง 6 เดือนแรก

เมื่อเปรียบเทียบสุนัขที่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมและได้รับ glucosamine กับสุนัขกลุ่มที่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำแต่ไม่ได้รับ glucosamine พบว่า คะแนนจาก การประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิก มีความแตกต่างกัน โดยสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine มีคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิก ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป จาก  $1.625 \pm 0.125$  ในเดือนที่ 1 เหลือ  $0.75 \pm 0.323$  ในเดือนที่ 6 และคงที่อยู่ในระดับเดียวกันจนถึงสิ้นสุดการศึกษา ในขณะที่กลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine มีคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปจาก  $1.125 \pm 0.125$  ใน เดือนที่ 1 จนถึง  $2.38 \pm 0.375$  ในเดือนที่ 6 และมีแนวโน้มคงที่ ภายหลังจากเดือนที่ 6 จนถึงสิ้นสุดการศึกษา ซึ่งการเพิ่มขึ้นนี้มีความแตกต่างจากสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ณ เดือนที่ 5 และ 6 แม้ว่า ณ จุดเริ่มต้นที่เดือนที่ 1 คะแนนของสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine สูงกว่าสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม ดังแสดงในรูปที่ 4.1 และตารางที่ 1

สุนัขในกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อม มีระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อขาซ้ายและขวาไม่แตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลาตั้งแต่เวลาที่ 0 จนถึง 30 เดือน โดยขาซ้ายมีระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่ออยู่ในช่วง  $75.95 - 58.42 \mu\text{g/ml}$  ขาขวาอยู่ในช่วง  $78.17 - 54.29 \mu\text{g/ml}$  และเมื่อสิ้นสุดการทดลองระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของทั้งขาซ้ายและขวามี แนวโน้มลดลงแต่ไม่แตกต่างจากเริ่มต้นการทดลองเมื่อเทียบกับขาข้างเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 10 : คะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกของสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine กับกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine

หมายเหตุ : \* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine กับสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine

**ระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อขาซ้ายและขาขวาของสุนัขที่ได้รับการผ่าตัดเนื้องอกทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมและไม่ได้รับ glucosamine**

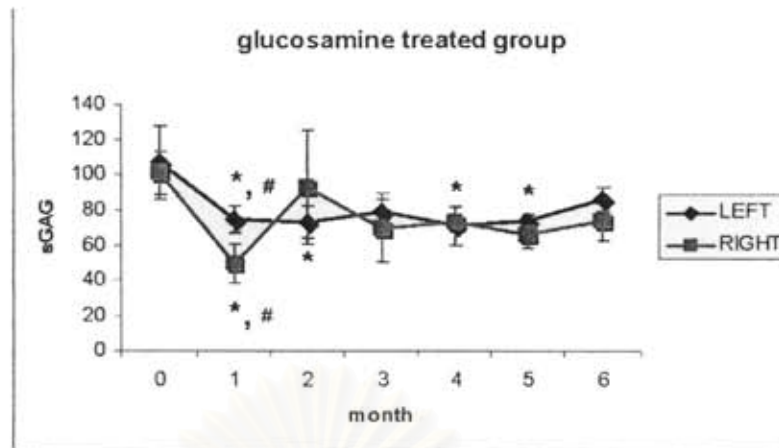
สุนัขทดลองที่ได้รับการผ่าตัดเนื้องอกทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมและไม่ได้รับ glucosamine มีระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายและขาขวาลดลงเมื่อเทียบกับก่อนผ่าตัดอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ตั้งแต่เดือนที่ 2 หลังผ่าตัดโดยของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายมีค่า sGAG ณ เดือนที่ 2 เท่ากับ  $107.43 \pm 11.18 \mu\text{g/ml}$  และขาขวาเท่ากับ  $100.56 \pm 6.92 \mu\text{g/ml}$  โดยลดลงจากก่อนผ่าตัดและมี แนวโน้มลดลงเรื่อยๆ จนถึงสิ้นสุดการทดลองโดยมีระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อเข่าซ้ายเมื่อเดือนที่ 6 เท่ากับ  $87.71 \pm 5.96 \mu\text{g/ml}$  และข้อเข่าขวาเมื่อเดือนที่ 6 เท่ากับ  $37.37 \pm 6.98 \mu\text{g/ml}$  อย่างไรก็ตามขาที่ ซึ่งได้รับการผ่าตัดเนื้องอกทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมมีระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อลดลงมากกว่า และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในเดือนที่ 6 หลังการผ่าตัดเมื่อเทียบกับระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายที่ปกติโดยมีระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาขวากับ  $37.37 \pm 6.98 \mu\text{g/ml}$  ขณะที่ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายเท่ากับ  $87.71 \pm 5.96 \mu\text{g/ml}$

**ระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อขาซ้ายและขาขวาของสุนัขที่ได้รับการผ่าตัดเนื้องอกทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมและได้รับ glucosamine**

สุนัขทดลองที่ได้รับการผ่าตัดเนื้องอกทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมและได้รับ glucosamine มีระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายและขาขวาลดลงในเดือนแรกหลังผ่าตัดอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับก่อนผ่าตัด โดยของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายมีค่า sGAG เท่ากับ  $74.76 \pm 7.72 \mu\text{g/ml}$  และของขาขวาเท่ากับ  $49.63 \pm 11.26 \mu\text{g/ml}$  โดยลดลงจากก่อนผ่าตัดซึ่งมีระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายเท่ากับ  $106.94 \pm 21.17 \mu\text{g/ml}$  และของขาขวาเท่ากับ  $100.88 \pm 12.06 \mu\text{g/ml}$  หลังจากนั้นพบว่า ระดับของ sGAG ของขาขวามีระดับเพิ่มสูงขึ้นจนไม่พบความแตกต่างอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เมื่อเทียบกับก่อนผ่าตัดและคงระดับไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง สำหรับ ระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายแม้จะมีระดับเพิ่มสูงขึ้นในบางเดือนแต่พบมีความผันแปรบ้าง โดยพบว่าลดต่ำลงในเดือนที่ 2, 4 และเดือนที่ 5 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับก่อน ผ่าตัดเนื้องอก อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายและขาขวาเดือน ต่อเดือนพบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติเฉพาะในเดือนที่ 1 หลังจากได้รับการผ่าตัด เหนียวน้ำ ดังแสดงในรูปที่ 4.2 และตารางที่ 2 ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกของสุนัข 3 กลุ่มได้แก่ กลุ่มควบคุม (normal group), กลุ่มที่ได้รับ glucosamine (glucosamine treated group) และกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine (non-glucosamine group)

เวลาก่อนและหลังให้ยา (เดือน)	ค่าเฉลี่ย ( mean $\pm$ SE) ของ LAMENESS SCORE ( n = 4)		
	control group	glucosamine group	Non glucosamine group
0	0	0.125 $\pm$ 0.125	0
1	0	1.625 $\pm$ 0.125	1.125 $\pm$ 0.125
2	0	1.625 $\pm$ 0.239	1.375 $\pm$ 0.239
3	0	1.625 $\pm$ 0.315	1.500 $\pm$ 0.204
4	0	1.125 $\pm$ 0.239	1.875 $\pm$ 0.239
5	0	0.750 $\pm$ 0.3232	2.125 $\pm$ 0.315
6	0	0.75 $\pm$ 0.3232	2.38 $\pm$ 0.375
7	0	0.72 $\pm$ 0.235	2.29 $\pm$ 0.889
8	0	0.77 $\pm$ 0.112	2.44 $\pm$ 0.33
9	0	0.67 $\pm$ 0.188	2.39 $\pm$ 0.84
10	0	0.70 $\pm$ 0.884	2.42 $\pm$ 0.36
11	0	0.72 $\pm$ 0.816	2.12 $\pm$ 0.42
12	0	0.69 $\pm$ 0.924	2.28 $\pm$ 0.73
13	0	0.71 $\pm$ 0.445	2.38 $\pm$ 0.84
14	0	0.74 $\pm$ 0.386	2.64 $\pm$ 0.24
15	0	0.77 $\pm$ 0.554	2.02 $\pm$ 0.12
16	0	0.76 $\pm$ 0.698	2.18 $\pm$ 0.68
17	0	0.72 $\pm$ 0.465	2.44 $\pm$ 0.74
18	0	0.78 $\pm$ 0.879	2.45 $\pm$ 0.88
19	0	0.76 $\pm$ 0.153	2.13 $\pm$ 0.18
20	0	0.66 $\pm$ 0.253	2.39 $\pm$ 0.78
21	0	0.68 $\pm$ 0.312	2.26 $\pm$ 0.16
22	0	0.75 $\pm$ 0.385	2.24 $\pm$ 0.54
23	0	0.69 $\pm$ 0.184	2.23 $\pm$ 0.41
24	0	0.74 $\pm$ 0.28	2.22 $\pm$ 0.13
25	0	0.81 $\pm$ 0.94	2.13 $\pm$ 0.34
26	0	0.81 $\pm$ 0.54	2.19 $\pm$ 0.61
27	0	0.77 $\pm$ 0.59	2.87 $\pm$ 0.39
28	0	0.76 $\pm$ 0.81	2.12 $\pm$ 0.61
29	0	0.69 $\pm$ 0.21	2.42 $\pm$ 0.58
30	0	0.87 $\pm$ 0.78	2.53 $\pm$ 0.91



รูปที่ 11 ระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายที่ปกติและขาขวาที่ได้รับการผ่าตัดเหนียวทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมของสุนัขในกลุ่มที่ได้รับ glucosamine

หมายเหตุ : \* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนผ่าตัดเหนียวในขาข้างเดียวกัน # หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างขาซ้ายที่ปกติกับขาขวาที่ได้รับการผ่าตัดเหนียวทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อม

ระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อขาขวาที่ได้รับการผ่าตัดเหนียวทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมเปรียบเทียบกับระหว่างกลุ่มที่ได้รับ glucosamine กับกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine

ทำการเปรียบเทียบระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อขาขวาซึ่งเป็นขาข้างที่ได้รับการผ่าตัดเหนียวทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมของสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine กับสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine ในแต่ละเดือน พบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในเดือนที่ 1 และเดือนที่ 6 โดยในเดือนที่ 1 หลังจากได้รับการผ่าตัดเหนียวทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อม ระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อขาขวาของสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine มีค่าเท่ากับ  $49.63 \pm 11.26$  µg/ml ต่ำกว่าระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อขาขวาของสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $107.28 \pm 6.86$  µg/ml แต่หลังจากได้รับ glucosamine ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 30 เดือน พบว่า สุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine มีระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อขาขวาที่ได้รับการผ่าตัดเหนียวสูงขึ้นเป็น  $73.67 \pm 11.48$  µg/ml และสูงกว่าสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine ซึ่งมีค่า  $37.37 \pm 6.98$  µg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อขาปกติซ้ายของสุนัขที่ขาขวาได้รับการผ่าตัดเหนียวทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมเปรียบเทียบกับระหว่างกลุ่มที่ได้รับ glucosamine กับกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine

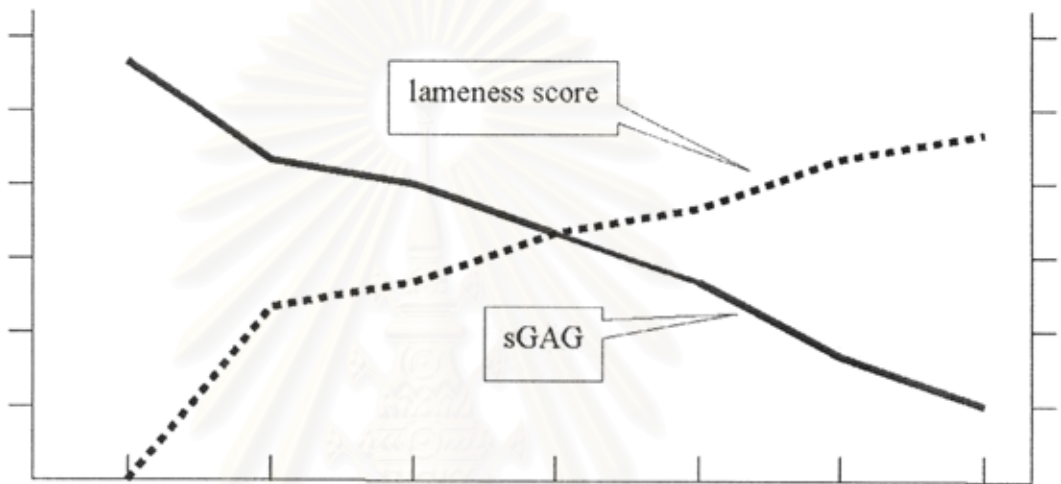
ทำการเปรียบเทียบระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายซึ่งเป็นขาข้างปกติและขาขวาของกลุ่มที่ได้รับ glucosamine กับกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine ในแต่ละเดือน พบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในช่วง 3 เดือนแรกหลังจากการผ่าตัดเหนียวทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อม โดยระดับของ sGAG ขาข้างปกติของสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine มีค่าต่ำกว่าระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาข้างปกติของสุนัขกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ glucosamine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยระดับของ sGAG จะคงที่ภายหลังจากการศึกษา 6 เดือน จนถึงสิ้นสุดการศึกษา ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 : แสดงค่าเฉลี่ยของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อ ( $\mu\text{g/ml}$ ) ของสุนัข 3 กลุ่มได้แก่ กลุ่มควบคุม (normal group), กลุ่มที่ได้รับ glucosamine (glucosamine treated group) และกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine (non-glucosamine group)

เวลาก่อน และหลังให้ ยา (เดือน)	ค่าเฉลี่ย ( mean $\pm$ SE) ของ sulfated glycosaminoglycans ในของเหลวในข้อต่อ ( $\mu\text{g/ml}$ ) n = 4					
	control group		glucosamine group		Non glucosamine group	
	Left	right	left	Right	left	Right
1	75.9 $\pm$ 15.8	68.9 $\pm$ 12.3	73.44 $\pm$ 9.2	69.9 $\pm$ 19.2	95.4 $\pm$ 9.5	53.6 $\pm$ 8.6
2	78.1 $\pm$ 15.8	74.6 $\pm$ 7.7	78.83 $\pm$ 32.0	103.5 $\pm$ 11.4	76.3 $\pm$ 8.2	58.4 $\pm$ 12.0
3	73.9 $\pm$ 11.1	79.6 $\pm$ 11.2	107.43 $\pm$ 11.1	107.5 $\pm$ 7.9	59.1 $\pm$ 12.1	54.2 $\pm$ 8.1
4	76.8 $\pm$ 12.0	76.6 $\pm$ 7.7	100.56 $\pm$ 6.9	159.7 $\pm$ 11.9	54.8 $\pm$ 8.1	85.9 $\pm$ 7.1
5	72.5 $\pm$ 12.6	87.2 $\pm$ 6.8	105.29 $\pm$ 13.6	155.7 $\pm$ 8.1	74.9 $\pm$ 3.2	73.6 $\pm$ 11.4
6	75.6 $\pm$ 20.0	68.5 $\pm$ 15.3	95.59 $\pm$ 8.5	100.9 $\pm$ 10.5	66.2 $\pm$ 7.7	87.7 $\pm$ 5.1
7	78.3 $\pm$ 14.5	62.6 $\pm$ 10.5	78.73 $\pm$ 7.1	73.4 $\pm$ 2.1	68.6 $\pm$ 14.7	67.3 $\pm$ 6.98
8	74.4 $\pm$ 13.1	55.0 $\pm$ 8.1	75.9 $\pm$ 15.8	84.4 $\pm$ 21.1	66.15 $\pm$ 15.1	61.15 $\pm$ 48.1
9	78.1 $\pm$ 24.1	70.9 $\pm$ 10.5	78.1 $\pm$ 15.8	98.12 $\pm$ 22.5	65.18 $\pm$ 32.1	62.98 $\pm$ 28.8
10	79.1 $\pm$ 11.1	73.0 $\pm$ 2.1	73.9 $\pm$ 11.1	95.59 $\pm$ 8.5	59.15 $\pm$ 35.8	69.05 $\pm$ 82.1
11	80.1 $\pm$ 51.1	78.1 $\pm$ 11.1	76.8 $\pm$ 12.0	78.73 $\pm$ 7.1	61.15 $\pm$ 15.3	68.15 $\pm$ 46.1
12	77.1 $\pm$ 32.1	55.7 $\pm$ 8.1	72.5 $\pm$ 12.6	75.9 $\pm$ 15.8	60.01 $\pm$ 62.1	69.42 $\pm$ 23.5
13	79.0 $\pm$ 20.1	70.9 $\pm$ 10.5	75.6 $\pm$ 20.0	80.1 $\pm$ 51.1	60.12 $\pm$ 32.1	66.15 $\pm$ 15.1
14	80.1 $\pm$ 14.5	73.4 $\pm$ 2.1	78.3 $\pm$ 14.5	77.1 $\pm$ 32.1	59.46 $\pm$ 51.9	65.18 $\pm$ 32.1
15	79.2 $\pm$ 24.4	79.2 $\pm$ 15.3	68.5 $\pm$ 15.3	79.0 $\pm$ 20.1	61.15 $\pm$ 48.1	59.15 $\pm$ 35.8
16	80.1 $\pm$ 45.2	78.1 $\pm$ 18.9	62.6 $\pm$ 10.5	78.73 $\pm$ 7.1	62.98 $\pm$ 28.8	61.15 $\pm$ 15.3
17	74.0 $\pm$ 11.2	73.18 $\pm$ 12.1	55.0 $\pm$ 8.1	75.9 $\pm$ 15.8	69.05 $\pm$ 82.1	60.01 $\pm$ 62.1
18	75.4 $\pm$ 64.3	79.2 $\pm$ 24.4	70.9 $\pm$ 10.5	78.1 $\pm$ 15.8	68.15 $\pm$ 46.1	69.42 $\pm$ 23.5
19	77.2 $\pm$ 41.2	80.1 $\pm$ 45.2	73.0 $\pm$ 2.1	73.18 $\pm$ 12.1	69.42 $\pm$ 23.5	70.15 $\pm$ 14.1
20	76.2 $\pm$ 21.2	74.0 $\pm$ 11.2	78.1 $\pm$ 11.1	79.2 $\pm$ 24.4	70.15 $\pm$ 14.1	68.14 $\pm$ 15.3
21	77.1 $\pm$ 34.5	75.4 $\pm$ 64.3	79.2 $\pm$ 24.4	76.2 $\pm$ 21.2	68.14 $\pm$ 15.3	71.81 $\pm$ 32.1
22	78.1 $\pm$ 21.1	77.2 $\pm$ 41.2	80.1 $\pm$ 45.2	81.51 $\pm$ 42.1	71.81 $\pm$ 36.4	61.15 $\pm$ 48.1
23	79.1 $\pm$ 18.1	79.0 $\pm$ 20.1	70.9 $\pm$ 10.5	87.1 $\pm$ 34.5	66.15 $\pm$ 15.1	62.98 $\pm$ 28.8
24	80.1 $\pm$ 11.4	80.1 $\pm$ 14.5	73.0 $\pm$ 2.1	78.1 $\pm$ 21.1	65.18 $\pm$ 32.1	69.05 $\pm$ 82.1
25	81.1 $\pm$ 34.1	79.2 $\pm$ 24.4	78.1 $\pm$ 13.1	79.12 $\pm$ 35.4	68.62 $\pm$ 14.7	64.15 $\pm$ 42.3
26	72.1 $\pm$ 28.1	80.1 $\pm$ 45.2	88.5 $\pm$ 12.8	80.12 $\pm$ 26.7	66.15 $\pm$ 15.1	63.28 $\pm$ 28.9
27	75.1 $\pm$ 15.1	74.0 $\pm$ 11.2	74.8 $\pm$ 32.1	81.54 $\pm$ 65.1	65.18 $\pm$ 32.1	62.14 $\pm$ 31.1
28	77.5 $\pm$ 31.5	75.4 $\pm$ 64.3	81.1 $\pm$ 62.1	77.15 $\pm$ 51.15	62.98 $\pm$ 28.8	65.21 $\pm$ 35.9
29	78.1 $\pm$ 51.2	80.2 $\pm$ 14.1	79.6 $\pm$ 13.5	79.46 $\pm$ 46.2	69.05 $\pm$ 82.1	62.34 $\pm$ 28.5
30	79.1 $\pm$ 22.1	77.3 $\pm$ 24.3	80.2 $\pm$ 31.2	79.95 $\pm$ 46.2	70.01 $\pm$ 38.9	66.81 $\pm$ 42.9

ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ sGAG ภายในของเหลวในข้อต่อกับคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกของสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine

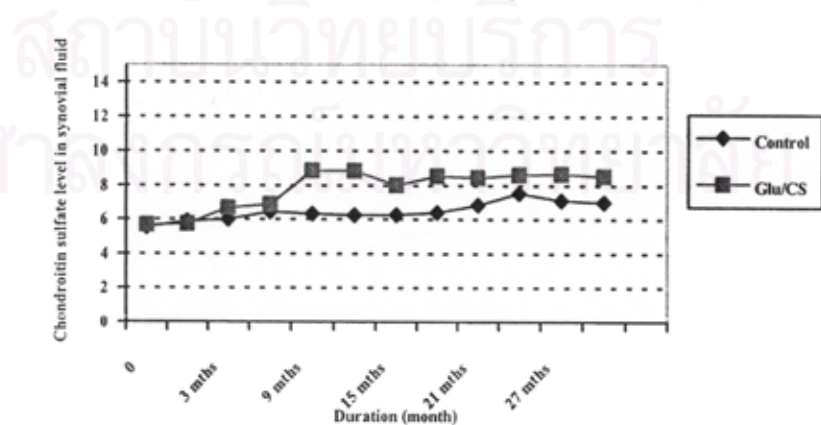
สุนัขทดลองที่ได้รับการผ่าตัดเนื้องอกทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine มีความสัมพันธ์ระหว่างระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อกับคะแนนจากการประเมินอาการ เจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกเป็นแบบผกผัน กล่าวคือ สุนัขทดลองในกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine มีระดับ sGAG ภายในของเหลวในข้อต่อลดลงตั้งแต่ในเดือนที่ 1 ไปจนถึงเดือนที่ 30 แต่คะแนนจากการ ประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกกลับเพิ่มมากขึ้นตั้งแต่ในเดือนที่ 1 ไปจนถึงเดือนที่ 30 ดังแสดงในรูปที่ 12



รูปที่ 12 คะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกกับระดับ sGAG ภายในของเหลวในข้อต่อเข่าของสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine

**ระดับคอนดรอยตินซัลเฟตภายในของเหลวในข้อเข่า**

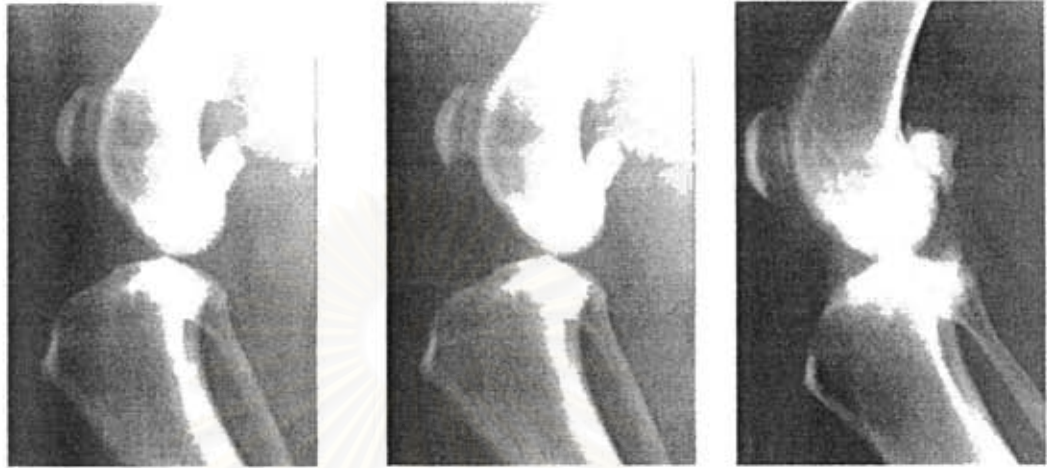
พบว่าระดับคอนดรอยตินซัลเฟตที่ตรวจได้จากของเหลวในข้อเข่ามีลักษณะที่สูงขึ้น ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง โดยพบว่าในช่วง 4 เดือนแรกของการผ่าตัด ระดับคอนดรอยติน ซัลเฟตที่ตรวจพบในข้อเข่าสุนัขในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม มีค่าใกล้เคียงกัน ในช่วง 5-30เดือน พบว่าระดับคอนดรอยติน ซัลเฟตที่ตรวจได้จากของเหลวภายในข้อเข่า ของสุนัขที่ได้รับ กลูโคซามีน และคอนดรอยติน มีค่ามากกว่าสุนัขกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (รูป 3)



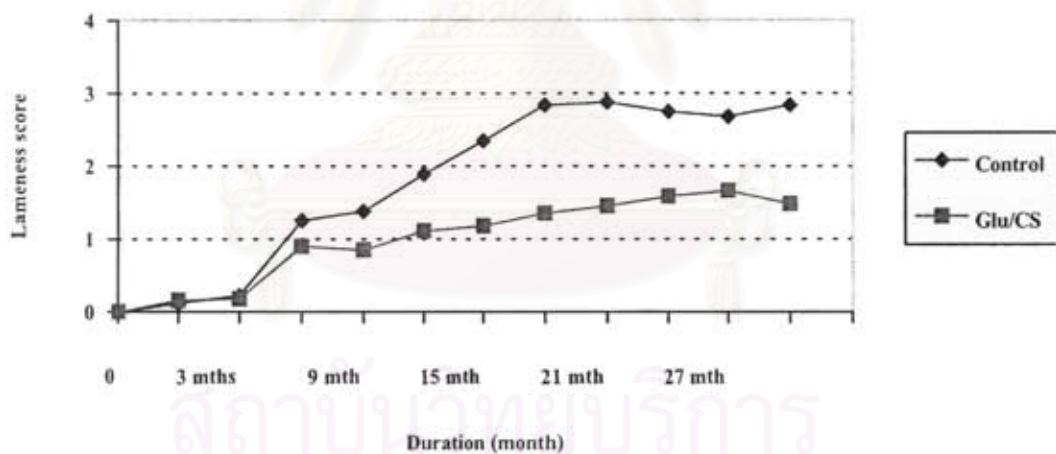
รูปที่ 13 แสดงระดับคอนดรอยตินซัลเฟตที่ตรวจได้จากของเหลวในข้อเข่าในสุนัขกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับกลูโคซามีน ระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมที่ตรวจพบจากภาพถ่ายทางรังสี

ระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมที่ตรวจพบจากภาพถ่ายทางรังสี ในสุนัขทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในช่วง 3 เดือนแรกภายหลังการทำศัลยกรรม แต่ภายหลังการทำศัลยกรรมในช่วง 3-12 เดือน มีความ

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าสุนัขในกลุ่มที่ได้รับกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์ และคอนดรอยตินซัลเฟต แสดงมีการพัฒนาของโรคข้อเสื่อมช้าลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (รูปที่ 4.4 และ 4.5) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมที่ตรวจพบจากภาพถ่ายทางรังสี มีลักษณะแปรผกผันกับอาการขาเจ็บทางคลินิก



รูปที่ 14 ภาพถ่ายทางรังสีบริเวณข้อเข่าของสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine (ภาพกลาง) และกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine (ขวา) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ซ้าย)



รูปที่ 15 แสดงระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมที่ตรวจพบจากภาพถ่ายทางรังสี ในสุนัขกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับกลูโคซามีนและคอนดรอยติน

## บทที่ 4

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### (Conclusion and Discussion)

ผลของ glucosamine hydrochloride ต่ออาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกของสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมเปรียบเทียบกับสุนัขปกติ

ภายหลังจากได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อม สุนัขทั้งกลุ่มที่ได้รับ glucosamine และกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine มีคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาเพิ่มขึ้นใน เดือนที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับระดับจากการประเมินอาการเจ็บขาของสุนัขในกลุ่มควบคุม สุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine มีคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาเพิ่มสูงขึ้น ตลอดการทดลองแสดงว่า หลังการผ่าตัดเหนี่ยวนำ สุนัขจะมีอาการเจ็บขาเพิ่มมากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป หากไม่ได้รับการรักษา ส่วนสุนัขในกลุ่มที่ได้รับ glucosamine ในขนาด 1,500 มก. วันละครั้ง จะมี อาการเจ็บขาเพิ่มขึ้นหลังจากได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมไปจนถึงเดือนที่ 3 จากนั้นอาการเจ็บขาจะค่อยๆ ลดลงในเดือนที่ 4 จนไม่สามารถสังเกตเห็นอาการเจ็บขาได้อย่าง ชัดเจนในเดือนที่ 5 และ 6 จนสิ้นสุดการศึกษา อย่างไรก็ตามการประเมินภาวะขาเจ็บทางคลินิกอาจถูกรบกวนจากผลการให้ยาลดปวดและลดอักเสบในกลุ่ม NSAIDs ได้ ผลจากการได้รับ glucosamine ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาประสิทธิภาพของ glucosamine/chondroitin sulfate ในการรักษาสุนัขที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อม พบว่า สุนัขที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อมที่ได้รับ glucosamine และ chondroitin sulfate ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 70 วัน สามารถลดความเจ็บปวดจากการใช้ข้อ, การลงน้ำหนัก (weight-bearing) และความรุนแรงของ อาการทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับก่อนการให้ glucosamine/chondroitin และ เมื่อทำการเปรียบเทียบกับยา carprofen ซึ่งเป็นยาต้านการอักเสบชนิดไม่ใช่สเตียรอยด์ พบว่า glucosamine/chondroitin สามารถลดอาการปวดและลดความรุนแรงของอาการทางคลินิกได้ ไม่แตกต่างจากยา carprofen แต่มีระยะเวลาเริ่มออกฤทธิ์ (onset) ช้ากว่ายา carprofen (McCarthy et al., 2006) เช่นเดียวกับการศึกษาผลการใช้กลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ร่วมกับคอนดรอยตินซัลเฟตต่อการพัฒนาโรคข้อเข่าเสื่อมในสุนัข พบว่า หลังจากสุนัขที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อมได้รับกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ขนาด 1,500มก.ร่วมกับคอนดรอยตินซัลเฟตขนาด 250 มก. วันละครั้ง ติดต่อกันเป็นเวลามากกว่า 3 เดือน สุนัขแสดงเจ็บขาลดลงเมื่อปล่อยให้ออกกำลังกายตามปกติ ในขณะที่สุนัขที่ไม่ได้รับกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์ร่วมกับคอนดรอยตินซัลเฟต แสดงอาการเจ็บขาอย่างชัดเจน โดยที่อาการเจ็บขาของสุนัขทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าการ ได้รับกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ร่วมกับคอนดรอยตินซัลเฟต โดยการกินติดต่อกันเป็นเวลา จากการทดลองครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาของสุนัขใน กลุ่มที่ได้รับ glucosamine กับสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine พบว่า ในเดือนที่ 1 แม้ว่าคะแนนของสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine จะสูงกว่าสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine แต่เมื่อเวลาผ่านไป คะแนนของสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine จะค่อยๆ ลดลงแสดงถึงอาการที่ดีขึ้นโดยสุนัขมีอาการ เจ็บขาลดลง ในทางตรงข้ามคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาของสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine กลับเพิ่มมากขึ้นจนพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตั้งแต่ในเดือนที่ 4 เมื่อ เปรียบเทียบกับสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine แสดงว่า glucosamine มีผลทำให้อาการเจ็บขาทุเลาลงโดยเริ่มเห็นผลในเดือนที่ 4 และเห็นผลชัดเจนในเดือนที่ 5 หลังได้รับ glucosamine โดยการกิน

สุนัขในกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมมีระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อทั้งขาซ้ายและขาขวาไม่แตกต่างกันตลอดการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของทั้งขาซ้ายและขาขวามีแนวโน้มลดลงแต่ไม่แตกต่างจากเมื่อเริ่มต้น การทดลอง โดยการลดลงของระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของสุนัขกลุ่มควบคุมอาจเนื่องมาจากปัจจัย ในการเลี้ยงดู กล่าวคือ สุนัขทดลองจะถูกเลี้ยงดูอยู่ในพื้นที่จำกัด ไม่ได้รับการออกกำลังกายที่ พอเพียง อาจทำให้เกิดการเคลื่อนไหวหรือการทำงานของข้อต่อน้อยกว่าสุนัขที่เลี้ยงดูตามปกติ ทำให้ส่งผล



ต่อกระบวนการการรักษาสมดุของสารต่างๆ ภายในข้อต่อจึงมีผลทำให้ระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยจากเมื่อเริ่มต้นการทดลอง

สุนัขกลุ่มที่ได้รับการผ่าตัดเหนียวทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมและไม่ได้รับ glucosamine มี ระดับของ sGAG ภายในของเหลวในข้อต่อของขาทั้งสองข้างลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่เดือนที่ 2 ภายหลังจากการผ่าตัดเมื่อเปรียบเทียบกับระดับของ sGAG ก่อนได้รับการผ่าตัดและเป็นเช่นนี้ไป จนถึงสิ้นสุดการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายและ ขาขวาของสุนัขในกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine พบว่า ณ เวลาสิ้นสุดการทดลองระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาทั้งสองข้างไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ในกรณีข้ออักเสบเรื้อรังจากการทดลองของ Liu และคณะ (2003) ที่ทดลอง ตัด ACL และทำการวัดระดับของ sGAG ในกระดูกอ่อนผิวข้อหลังการผ่าตัด 2 ปี พบว่า ขาข้างที่ ACL ถูกตัดมีระดับของ sGAG ในกระดูกอ่อนผิวข้อสูงกว่าขาปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) ซึ่งอาจเป็นผลที่เกิดตามมาจากการซ่อมแซมกระดูกอ่อนทำให้มีการขยายขนาดของเซลล์กระดูกอ่อน เช่นเดียวกับการติดตามดูการเปลี่ยนแปลงของกระดูกอ่อนผิวข้อหลังจากเกิดการฉีกขาดของ ACL พบว่า ระดับของ sGAG เพิ่มขึ้นภายในระยะเวลา 1 ปีแต่ไม่พบความแตกต่างอย่าง มีนัยสำคัญและไม่พบความเปลี่ยนแปลงของปริมาณ type II collagen (Nelson et al., 2006)

สุนัขในกลุ่มที่ได้รับการผ่าตัดเหนียวทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมและได้รับ glucosamine พบว่า ในเดือนแรกหลังผ่าตัด ระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อทั้งขาซ้ายที่ปกติและขาขวาที่เกิดภาวะข้อ เข่าเสื่อมมีระดับของ sGAG ลดลงเมื่อเทียบกับก่อนผ่าตัด ซึ่งอาจเนื่องมาจากการเหนียวทำให้เกิด ภาวะข้อเข่าเสื่อมมีผลทำให้เกิดความไม่สมดุลของกระบวนการสร้างและการสลายของกระดูกอ่อน โดยที่กระบวนการสลายเกิดขึ้นมากกว่าทำให้ sGAG ที่เป็นโครงสร้างสำคัญของกระดูกอ่อนถูกทำลาย ส่วนระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายแม้จะมีระดับเพิ่มสูงขึ้นแต่พบมีความผันแปรโดย ในบางเดือน แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับก่อนผ่าตัดเหนียวนี้ ทั้งนี้ความผันแปรของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายอาจเนื่องมาจากสุนัขในกลุ่ม 1 ตัวมีอาการเจ็บ ขาซ้ายหลังจากได้รับ glucosamine เป็นเวลา 2 เดือนทั้งนี้อาจเนื่องจากการเจาะเก็บตัวอย่างของเหลวในข้อต่อของผู้วิจัย ซึ่งอาจเจาะไปถูกบางส่วนของกระดูกอ่อนผิวข้อ อย่างไรก็ตาม ไม่พบอาการดังกล่าวในสุนัขตัวอื่น เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายและขาขวาของสุนัขกลุ่ม ที่ได้รับ glucosamine ไม่มีความแตกต่างเมื่อเทียบกับก่อนผ่าตัดและเมื่อเทียบระหว่างขาซ้ายและขา ขวา ณ เวลาสิ้นสุดการทดลอง แสดงว่าระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อขาที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อมและขาปกติ มีค่าเพิ่มสูงขึ้นหลังจากได้รับ glucosamine ทำให้ไม่พบความแตกต่างที่ชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับ ก่อนผ่าตัดเหนียวทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อม และไม่พบความแตกต่างของระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อ ระหว่างขาทั้งสองข้างเมื่อสิ้นสุดการทดลอง แสดงให้เห็นว่าการได้รับ glucosamine ขนาด 500 มก. โดยการกินวันละครั้ง สามารถช่วยเพิ่มและรักษาระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาทั้งที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อมและขาข้างปกติ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองให้ glucosamine hydrochloride ขนาด 100 มก./กก./วัน โดยการป้อนให้กระต่ายที่ได้รับการเหนียวทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมโดยการตัด ACL ติดต่อกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ เพื่อดูผลต่อกระดูกอ่อนผิวข้อ พบว่า glucosamine สามารถช่วยเพิ่ม ระดับของ sGAG ภายในกระดูกอ่อนผิวข้อเมื่อเทียบกับกระต่ายในกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine แต่ ไม่พบความแตกต่างของระดับ type II collagen ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ glucosamine กับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine (Tiraloché et al., 2005) เช่นเดียวกับการศึกษาผลของ glucosamine hydrochloride ต่อกระดูกอ่อนและ meniscus ของกระต่ายปกติและกระต่ายที่ถูก เหนียวทำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมด้วยการฉีดเอนไซม์ chymopapain เข้าข้อเข่า พบว่า การป้อน glucosamine ในกระต่ายปกติไม่มีผลต่อระดับของ sGAG , hydroxyproline และ collagen ภายในข้อ แต่พบว่า glucosamine ในขนาด 20 และ 100 มก./กก./วัน ให้กินติดต่อกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีผล ในการเพิ่มระดับของ sGAG ในกระดูกอ่อนผิวข้ออย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติในขาทั้งสองข้าง

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเปรียบเทียบระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาข้างเดียวกันของ สุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine กับสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine พบว่า ระดับ sGAG ในน้ำไข ข้อของขาขวา ระหว่างสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine กับสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine มีความ แตกต่างอย่างชัดเจนในเดือนที่ 1 หลังการผ่าตัด โดยระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine มีระดับต่ำกว่าสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine อาจเพราะระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อ ของสุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine มีระดับต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine อยู่เดิมหรือเกิดมี กระบวนการทำลายของกระดูกอ่อนมากกว่าสุนัขในกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine หรือเกิด กระบวนการอักเสบภายในข้อต่อมากกว่า แต่หลังจากได้รับ glucosamine โดยการกินในขนาด 500 มก. วันละครั้ง ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 6 เดือนพบว่า สุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine มีระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาขวาที่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำเพิ่มสูงขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แสดงว่าการได้รับ glucosamine สามารถช่วยเพิ่มระดับของ sGAG ภายในของเหลวในข้อต่อของขาข้างที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อมซึ่งสอดคล้องกับหลายรายงานที่แสดงให้เห็น ว่าการได้รับ glucosamine สามารถช่วยเพิ่มระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อมได้ Tiraloché et al. (2005) ทำการศึกษาผลของการป้อน glucosamine hydrochloride ต่อการ ทำลายกระดูกอ่อนของกระดูกที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมโดยการตัด ACL มีการประเมิน กระดูกอ่อนที่ถูกทำลายในระดับมหภาค (macroscopic assessment) และจุลภาค (histologic assessment of cartilage) ปริมาณของ type II collagen และการเปลี่ยนแปลงของ glycosaminoglycans ผลการศึกษาพบว่า glucosamine hydrochloride สามารถช่วยเพิ่มระดับของ glycosaminoglycans ในกระดูกที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมแต่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณของ type II collagen ได้และมีการทดลองนำกระดูกอ่อนผิวข้อของม้ามาทำการเพาะเลี้ยง จากนั้นทำการ เหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการสลายตัวของกระดูกอ่อนผิวข้อโดยใช้ 1-4 lipopolysaccharide (LPS) ขนาด 10  $\mu\text{g/ml}$  หรือ recombinant human interleukin-1 (rhIL-1) ขนาด 50 ng/ml หลังจากนั้นทำการเติม glucosamine ความเข้มข้นต่างๆ (0.25, 2.5 และ 25 mg/ml) ลงไป ทำการวัดการสร้าง nitric oxide, ปริมาณของ proteoglycans ที่หลุดออกมาและปริมาณของเอนไซม์ matrix metalloproteinase (MMP) ผลการทดลองพบว่า ในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการเติม glucosamine มีการเพิ่มขึ้นอย่าง มากของ nitric oxide รวมทั้งปริมาณของ proteoglycans ที่หลุดออกมาและปริมาณของเอนไซม์

การเปรียบเทียบระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายที่ไม่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำระหว่าง สุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine กับสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine พบว่า มีความแตกต่างอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เฉพาะในเดือนที่ 1 หลังได้รับการผ่าตัด ซึ่งระดับ sGAG ของขาซ้ายที่ไม่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำของสุนัขในกลุ่มที่ได้รับ glucosamine มีระดับต่ำกว่าสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine น่าจะเป็นผลมาจากระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อที่มีระดับต่ำอยู่เดิมก่อนได้รับการ ผ่าตัดเหนี่ยวนำ หรืออาจเป็นผลมาจากการเกิดกระบวนการทำลายกระดูกอ่อนหรือมีการอักเสบใน ข้อต่อมากขึ้นของขาขวาที่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อม จึงทำให้สุนัขไม่ลง น้ำหนักในขาขวา และพยายามถ่ายน้ำหนักตัวมาที่ขาซ้าย ทำให้ระดับ sGAG ในขาซ้ายลดลง อย่างไรก็ตามหลังจากได้รับ glucosamine โดยการกินในขนาด 500 มก. วันละครั้ง ติดต่อกันเป็น ระยะเวลา 6 เดือน สามารถช่วยรักษาระดับของ sGAG ไม่ให้ลดลงไปมาก ทำให้ไม่เกิดความ แตกต่างของระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อของขาซ้ายระหว่างสองกลุ่ม แสดงให้เห็นว่า glucosamine น่าจะช่วยในการรักษาระดับของ sGAG ของขาที่ไม่มีการเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อม ผลที่ปรากฏดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาผลของ glucosamine ในการกระตุ้นให้เกิดการ แบ่งตัวของเซลล์กระดูกอ่อนผิวข้อ, การสร้าง matrix ของกระดูกอ่อนผิวข้อและการเกิด gene expression โดยใช้ glucosamine ในขนาดความเข้มข้นต่างๆ พบว่า glucosamine สามารถเพิ่มการ สร้าง cartilage specific matrix component, aggrecan และ collagen type II โดยจะมีฤทธิ์มากขึ้น ตามขนาดของ

glucosamine ที่ได้รับโดยอยู่ในช่วงระหว่าง 2-15 mM และยังพบว่า glucosamine สามารถทำให้เกิด up-regulation ของ transforming growth factor- $\beta$ 1 (Varghese et al., 2006) จาก ข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจะเห็นว่า glucosamine สามารถเพิ่มระดับของ sGAG ภายในของเหลวในข้อต่อของขา

สุนัขทดลองที่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine มีความสัมพันธ์ระหว่างค่า sGAG ภายในของเหลวในข้อต่อกับคะแนนจากการประเมินอาการ เจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกเป็นแบบผกผัน หมายความว่า ระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อลดลงจะมีผล ทำให้คะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาเพิ่มสูงขึ้น พบว่าสุนัขในกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine หลังจากได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมเป็นเวลา 1 เดือน ระดับ sGAG ในน้ำไข ข้อลดลงอย่างชัดเจน ในขณะที่คะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาเพิ่มสูงขึ้นซึ่งแสดงถึงอาการ เจ็บขาของสุนัขที่มีมากขึ้น ในเดือนที่ 2 ถึงเดือนที่ 6 มีแนวโน้มในการลดลงของ sGAG ในน้ำไข ข้ออย่างต่อเนื่องไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง ในขณะที่สุนัขแสดงอาการเจ็บขามากขึ้นเรื่อยๆ จนสิ้นสุด การทดลอง แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ผกผันของระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อกับอาการเจ็บขาที่ แสดงออกทางคลินิก โดยเมื่อระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อที่ทำหน้าที่เสมือนวัสดุรองรับแรงกระแทก ภายในกระดูกอ่อนผิวข้อลดลง จะมีผลทำให้สุนัขแสดงอาการเจ็บขามากขึ้น

สุนัขที่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมและได้รับ glucosamine มีความสัมพันธ์ระหว่างระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อกับคะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาที่ แสดงออกทางคลินิกเป็นแบบผกผันเช่นกัน แม้ไม่ชัดเจนเท่ากับสุนัขในกลุ่มที่ไม่ได้รับ glucosamine โดยพบว่า หลังจากที่สุนัขกลุ่มที่ได้รับ glucosamine ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำเป็น เวลา 1 เดือน ระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อลดลงแต่คะแนนจากการประเมินอาการเจ็บขาลดลงเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งแสดงถึงอาการเจ็บขาที่แสดงออกมากขึ้น และหลังจากได้รับ glucosamine ติดต่อกันเป็นเวลา 2 เดือนระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อเพิ่มสูงขึ้นและคงระดับอยู่เช่นนั้นไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง ในขณะที่ อาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกยังมีอาการคงที่ไปจนถึงเดือนที่ 3 และค่อยๆ ลดลงในเดือนที่ 4 และลดลงไปเรื่อยๆ จนสิ้นสุดการทดลอง แสดงให้เห็นว่าระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อมีผลต่ออาการ เจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิก โดยเมื่อระดับ sGAG ลดลงสุนัขจะมีอาการเจ็บขามากยิ่งขึ้น แต่ หลังจากสุนัขได้รับ glucosamine โดยการกินในขนาด 500 มก. วันละครั้งติดต่อกันอย่างน้อย 2 เดือนพบว่า สามารถเพิ่มระดับ sGAG ในของเหลวในข้อต่อให้ใกล้เคียงกับระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อก่อน

#### **สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ**

จากการทดสอบผลของการให้ glucosamine hydrochloride โดยการกินต่อระดับของ sGAG ภายในของเหลวในข้อต่อและอาการเจ็บขาที่แสดงออกทางคลินิกของสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่า เสื่อม สรุปได้ว่า การให้ glucosamine hydrochloride โดยการกินในขนาด 1,500 มก. วันละครั้ง สามารถช่วยเพิ่มระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อให้สูงขึ้นทั้งในขาข้างที่ได้รับการผ่าตัดเหนี่ยวนำให้ เกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมและขาข้างที่ไม่มีภาวะข้อเข่าเสื่อมได้ โดยสุนัขต้องได้รับ glucosamine hydrochloride ติดต่อกันอย่างน้อยเป็นระยะเวลา 2 เดือนจึงจะเห็นผลในการเพิ่มระดับของ sGAG ในของเหลวในข้อต่อ นอกจากนี้ยังพบว่า glucosamine hydrochloride สามารถช่วยลดอาการเจ็บขาที่ แสดงออกทางคลินิกของสุนัขที่มีอาการข้อเข่าเสื่อมลงได้อย่างชัดเจน โดยที่สุนัขต้องได้รับ glucosamine hydrochloride ติดต่อกันเป็นเวลาอย่างน้อย 5 เดือน

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ขนาดของ glucosamine hydrochloride ที่ให้โดยการกินในขนาด 500 มก. วันละครั้ง ยังไม่สามารถเพิ่มระดับของ sGAG ภายในของเหลวในข้อต่อให้เท่ากับก่อนที่ได้รับการ ผ่าตัดเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะข้อเข่า เสื่อม รวมทั้งยังไม่มีการศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ของ glucosamine hydrochloride, พิษวิทยาและผลข้างเคียงที่เกิดจาก glucosamine hydrochloride ผู้วิจัย เห็นว่าน่าจะมีการศึกษาในเรื่องดังกล่าวเพื่อนำมาเป็นข้อมูลของการใช้ glucosamine hydrochloride เพื่อการรักษาโรคข้อเสื่อมในสัตว์ให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด

## บรรณานุกรม

- Canapp, S.O., McLaughlin, R.M. Jr., Hoskinson, J.J. 1999. Scintigraphic evaluation of dogs with acute synovitis after treatment with glucosamine hydrochloride and chondroitin sulfate. *Am J Vet Res* 60:1550
- Das, A., Hammad, T. 2000. Efficacy of a combination FCHG49 glucosamine hydrochloride, TRH122 low molecular weight sodium chondroitin sulfate and manganese ascorbate in the treatment of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 8: 343–350.
- Johnson, K., Hulse, D., Hart, R., Kochevar, D., Chu, Q., 2001. Effects of an orally administered mixture of chondroitin sulfate, glucosamine hydrochloride and manganese ascorbate on synovial fluid chondroitin 3B3 and 7D4 epitopes in a canine cruciate ligament transection model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 9:14–21.
- Hanson, R., Smalley, L., Huff, G., White, S., Hammad, T. 1997. Oral treatment with a glucosamine-chondroitin sulfate compound for degenerative joint disease in horses: 25 cases. *Equine Practice*. 19: 16–22.
- Hungerford, D.S. and Jones, L.C. 2003. Glucosamine and Chondroitin Sulfate Are Effective in the Management of Osteoarthritis. *J Arthroplasty*. 18(3): Suppl. 1:5-9.
- Hulse, D.S., Hart, D., Slatter, M., Beale, B.S. 1998. The effect of cosequin in cranial cruciate deficient and reconstructed stifle joints in dogs. *Proceedings of the 25<sup>th</sup> Annual Conference of the Veterinary Orthopaedic Society*. p.64.
- Leffler, C., Philippi, A., Leffler, S., Mosure, J., Kim, P. 1999. Glucosamine, chondroitin and manganese ascorbate for degenerative joint disease of the knee or low back: a randomised, double-blind, placebo controlled pilot study. *Military Medicine*. 164:85–91.
- Lippiello, L., Idouraine, A., McNamara, P., Barr, S., McLaughlin, R. 1999. Cartilage stimulatory and antiproteolytic activity is present in sera of dogs treated with a chondroprotective agent. *Canine Practice*. 24: 18–19.
- Moreau, M., Bonneau, N., Desenoyers, M., 2003. Clinical evaluation of a nutraceutical, carprofen and meloxicam for the treatment of dogs with osteoarthritis. *Vet Rec* 152: 323–329.
- Moore, M.G. 1996. Promising responses to a new oral treatment for degenerative joint disorder. *Canine Pract* 21:7.
- Noack, W., Fischer, M., Forster, K.K. 1994. Glucosamine sulfate in osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis Cartilage* 2:51.

## ประวัตินักวิจัย

1. Name and Surname: Kumpanart Soontornvipart

2. Nationality: Thai Region: Buddhism

3. Date of Birth: January 11<sup>th</sup>, 1971.

Age: 37 years

Place of Birth: Bangkok, Thailand

4. Address:

Home: 210/110 Meangtong 2/2 Pattanakarn Rd.

Prawest Bangkok 10250 Thailand.

Tel. (662) 3212394

Office: Department of Surgery, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.

Henri Dunant Rd. Patumwan Bangkok 10330 Thailand.

Tel. (662) 2189639, 2527007

Email address : [kay7457@hotmail.com](mailto:kay7457@hotmail.com) . [skumpana@chula.ac.th](mailto:skumpana@chula.ac.th)

5. Current Academic Position :Assistant professor Grade 8

Department of Surgery, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.

6. Academic qualification

1983-1988: High School Graduate

Institute: the Chulalongkorn University Demonstration School

1989-1994: Bachelor's degree: Doctor of Veterinary Medicine (DVM)

Institute: Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University

1997: Certification of Attendance, Training in Clinical Companion Animal Specialties workshop

Institute: Ministry of Education, the Kasetsart University, Bangkok Thailand.

1998-1999: Master's degree in Veterinary Surgery: incomplete

Institute: Department of Surgery, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University

1999: Personal Training in Small Animal Ophthalmology, Faculty of Veterinary Medicine, Colorado State University.

1997-1999 Lecturer in Ophthalmology and Presentation of Research Activities in the Thai Vet. Congress (23<sup>rd</sup>, 24<sup>th</sup>, 25<sup>th</sup>)

2000-2003 : Postgraduate study, Ph.D. (residency programe)

Institute: Small animal Clinic, Department of Surgery, Orthopaedic, and Radiology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech republic

Material Status: Marials

7. Field of Study: Small animal orthopaedics

8. Association memberships: Thai Vet. Practioner Association; Thai Vet. Association

## 9. Publications

- WANICHANON C, BOONVITAYAYA J, TUNTIVANICH N, TUNTIVANICH P, BRAHMASA A, SOONTORNVIPART, K 1996: Conjunctival pedicle graft in dogs. *Thai J. Vet. Med.* 26: 33-49
- TUNTIVANICH P, SIWAWEJ T, SOONTORNVIPART K, TUNTIVANICH N 1996: Use of filter paper to evaluate tear production in dogs and cats. *Proceeding on 23<sup>rd</sup> Symposium of Thai Vet. Congress. November 27<sup>th</sup> –29<sup>th</sup>, 1996*
- TUNTIVANICH P, SIWAWEJ T, SOONTORNVIPART K, TUNTIVANICH N 1997: Effect of chloramphenicol and sulfadimethylpyrimidine-trimethoprim on tear production in dogs. *Thai J. Vet. Med.* 27: 161-166
- TUNTIVANICH P, TUNTIVANICH N, SOONTORNVIPART K, SIWAWEJ T 1997: Effect of sulfadimethylpyrimidine-trimethoprim on keratoconjunctivitis sicca in a Dogs: Case report. *Thai J. Vet. Med.* 27: 263-267
- BRIKSAWAN P, THONGKORNYAI T, JANTHAWORN T, SOONTORNVIPART K, TUNTIVANICH N, TUNTIVANICH P 1997: Eggshell membrane transplantation for the treatment of deep corneal ulcer in dogs. *Thai J. Vet. Med.* 27: 338-342
- TUNTIVANICH P, KANCHANAPANGKA S, SIWAWEJ T, SOONTORNVIPART K, TUNTIVANICH N 1998: The use of plastic tape in umbilical hernia correction in pigs: clinical studies. *Poster session on the IPVS congress 1998, Bermingham, England.*
- TUNTIVANICH P, SIWAWEJ T, SOONTORNVIPART K, TUNTIVANICH N 1998: Cryosurgical treatment of meibomian gland tumours in dogs: a case report. *Thai J. Vet. Med.* 28: 81-88
- TUNTIVANICH P, SIWAWEJ T, SOONTORNVIPART K, TUNTIVANICH N 1999: Treatment of canine pigmentary keratitis by using cyclosporin A. *Thai J. Vet. Med.* 29: 153-155
- BRIKSAWAN P, THONGKORNYAI T, JANTHAWORN T, SOONTORNVIPART K, TUNTIVANICH N, TUNTIVANICH P 2001: Eggshell membrane transplantation in dogs.: *Poster session. Proceeding on IX Czech Vet. Association, pp 137-142*
- TUNTIVANICH P, SOONTORNVIPART K, TUNTIVANICH N, WONGAUMNUAYKUL S, BRIKSAWAN P 2002: Conjunctival microflora in clinically normal Asian elephants in Thailand. *Vet. Res. Comm.* 26: 251-254
- TUNTIVANICH P, SOONTORNVIPART K, TUNTIVANICH N, WONGAUMNUAYKUL S, BRIKSAWAN P 2002: Shirmer tear test in clinically normal Asian elephants. *Vet. Res. Comm.* 26: 297-299
- SOONTORNVIPART K 2002: Clinical experience in the small animal clinic in the Czech Republics. *Thai Vet. Pract. J.*, 14: 57- 67
- SOONTORNVIPART K, BRIKSAWAN P. 2002: Incidence of the canine elbow dysplasia in Thailand. *Thai Vet. Pract. J.*, 14: 120-135
- TUNTIVANICH P, SOONTORNVIPART K, TUNTIVANICH N 2002: *Textbook of Veterinary Ophthalmology. 2<sup>nd</sup> edi. Chulalongkorn University Print, Bangkok, 352 pp.*
- SOONTORNVIPART K, TUNTIVANICH N, KECOVÁ H, RAUŠER P 2003: Conjunctival pedicle graft in small animal practice. *Acta Vet. Brno*, 72:
- SOONTORNVIPART K, RAUŠER P, KECOVÁ H, LEXMAULOVÁ L 2003: Effect of intravenous

editomidine-buprenorphine on canine tear flow. Online J.Vet.Res. 1:10- 6

SOONTORNVIPART K, ZATLOUKAL J, KOHOUT P, DVOŘÁK M 2003: Case study: Clinical and laboratory finding in dogs with septic joint arthritis. Online J. Vet. Res. 7: 43-51

SOONTORNVIPART K, DVOŘÁK M, NEČAS A 2003: Effect of metallic implant on the risk of bacterial osteomyelitis in small animals. Acta Vet. Brno, 72: 235-247

SOONTORNVIPART K, RAUŠER P, KECOVÁ H, LEXMAULOVÁ L 2003: Effect of anesthetic premedication with meditomidine-buprenorphine on the aqueous tear production in dogs. Acta Vet. Brno, 72: 267-272

SOONTORNVIPART K, NEČAS A, DVOŘÁK M, ZATLOUKAL J, SMOLÁ J 2003: Posttraumatic bacterial infection in extremities before and after osteosynthesis in small animals. Acta Vet. Brno, 72: 249-260

SOONTORNVIPART K, KOHOUT P, PROKS P 2003: Septic arthritis in dogs. Acta Vet. Brno, 72:



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### การเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ

ชื่อเรื่อง ผลของการใช้กลูโคซามีน ไฮโดรคัลชไรต์ คอนดรอยตินซัลเฟตต่อการพัฒนาโรคข้อเข่าเสื่อมในสุนัข  
การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 32 ประจำปี 2549 สัตวแพทย์สมาคมแห่งประเทศไทยในพระบรม  
ราชูปถัมภ์ ณ โรงแรมแอมบาสเตอร์ กรุงเทพฯ วันที่ 1-3 พฤศจิกายน 2549



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## ผลของการใช้กลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์ คอนดรอยตินซัลเฟตต่อการพัฒนาโรคข้อเข่าเสื่อมในสุนัข

กัมปนาท สุนทรวิภาค

ชาลิกา หวังดี

สุวิชา จุฑาทิพย์

อติชาต พรหมมาสา

ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทคัดย่อ

การศึกษามูลของกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์และคอนดรอยตินซัลเฟต ต่อการพัฒนาโรคข้อเข่าเสื่อม ในสุนัขทดลองจำนวน 10 ตัวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเข่าเสื่อมโดยการตัดเอ็นไขว้หน้าในข้อเข่า และทำการรักษาด้วยวิธีศัลยกรรมเพื่อเพิ่มความแข็งแรงแบบนอกข้อต่อ สุนัขทั้งสองกลุ่มได้รับยาลดปวดและอักเสบ เป็นเวลา 1 เดือนภายหลังการทำศัลยกรรม สุนัขกลุ่มควบคุมได้รับยาหลอก ขณะที่สุนัขกลุ่มทดลอง(Glu/CS) ได้รับกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์และคอนดรอยตินซัลเฟต ขนาด 500 มก ต่อตัว เป็นเวลา 30 เดือน ประเมินผลการพัฒนาโรคข้อเข่าเสื่อม ทุก 1 เดือน จากอาการขาเจ็บทางคลินิก ภาพถ่ายทางรังสี และระดับคอนดรอยตินซัลเฟตภายในของเหลวในข้อเข่า จากการศึกษาพบว่าระยะเวลาและระดับอาการขาเจ็บทางคลินิกของสุนัขทั้งสองกลุ่ม ในช่วง 3 เดือนภายหลังการทำศัลยกรรม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในช่วง 3-12 เดือนภายหลังการทำศัลยกรรม พบว่าสุนัขในกลุ่มควบคุมมีระดับคอนดรอยตินซัลเฟตภายในของเหลวในข้อเข่าต่ำกว่า และมีอัตราการพัฒนาของโรคข้อเสื่อมที่พบได้จากภาพถ่ายทางรังสีได้เร็วกว่าและรุนแรงกว่าสุนัขที่ได้รับ กลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์และคอนดรอยตินซัลเฟตอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า กลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์และคอนดรอยตินซัลเฟตช่วยลดการพัฒนาโรคข้อเข่าเสื่อมในสุนัขได้

**คำสำคัญ** กลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ คอนดรอยตินซัลเฟต โรคข้อเสื่อม สุนัข

Effects of glucosamine hydrochloride and chondroitin sulfate orally administration on the stifle osteoarthritic progression in dogs

Kumpanart Soontornvipart Chalika Wangdee Suwicha Chutathep Atichat Brahmasa

Department of Surgery, Faculty of Veterinary Sciences, Chulalongkorn University

### Abstract

Ten experimental dogs were included in a randomised, double-blind, positive controlled, multi-centre trial to assess the efficacy of an orally administered glucosamine hydrochloride and chondroitin sulfate (Glu/CS) combination for the treatment of confirmed osteoarthritis of stifle joint. Stifle osteoarthritis was induced by unilateral cranial cruciate ligament transection and stabilization of stifle joint with extracapsular technique. Carprofen was used as a positive control and was administered for all dogs during the first month after operation. Dogs were examined on every month for 1 year. Response to treatment was evaluated by using the lameness score, degree of osteoarthritic changes in the radiograph, and the chondroitin sulfate changes in synovial fluid. The results showed that the rate and degree of clinical lameness in all dogs have no significant difference during the first 3 months period. Dogs treated with Glu/CS showed statistically significant improvements in scores for lameness, weight-bearing, severity of the osteoarthritic progression in radiography by 3<sup>rd</sup> month and the level of synovial chondroitin sulfate ( $P < 0.001$ ). The results show that Glu/CS has a positive clinical effect in dogs with osteoarthritis.

**Keyword:** Glucosamine hydrochloride, Chondroitin sulfate, Osteoarthritis, Dogs

## ผลของการใช้กลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์ คอนดรอยตินซัลเฟตต่อการพัฒนาโรคข้อเข่าเสื่อมในสุนัข

### บทนำ

โรคข้อเสื่อม (Osteoarthritis; OA) เป็นกลุ่มอาการที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของข้อต่อและกระดูกอ่อนบริเวณข้อต่อ (articular cartilage) โรคนี้เป็นโรคที่พบได้บ่อยในสุนัข บริเวณข้อศอก ข้อสะโพก และข้อเข่า เช่นในโรคข้อสะโพกเจริญผิดปกติ (canine hip dysplasia), โรคข้อศอกเจริญผิดปกติ (canine elbow dysplasia), เส้นไขว้ในข้อเข่าเกิดความเสียหาย (cranial cruciate ligament injuries) เป็นต้น การรักษาโรคดังกล่าวทั้งทางอายุรกรรมและทางศัลยกรรม มีจุดประสงค์เพียงเพื่อบรรเทาอาการเจ็บปวด อาการอักเสบบริเวณข้อต่อ เท่านั้น เนื่องจากไม่มีการรักษาใดทำให้กระดูกอ่อนบริเวณข้อต่อ สามารถกลับคืน สภาพเดิมได้อย่างสมบูรณ์

ยาที่นิยมใช้ในการรักษาโรคนี้ทางอายุรกรรม ได้แก่ ยาลดอักเสบในกลุ่มที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (Non steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) และยาที่ออกฤทธิ์อย่างช้า เพื่อบรรเทาอาการเสื่อมของข้อต่อและกระดูกอ่อนบริเวณข้อต่อ (slow acting drugs of osteoarthritis) ซึ่งสามารถแบ่งออกได้ เป็นยาเพื่อบรรเทาอาการ และลดความเจ็บปวด (symptomatic, slow acting drugs for treatment of OA) ได้แก่ diacerhein, hyaluronan และ ยาเพื่อลดการพัฒนาข้อเสื่อม (disease modifying, osteoarthritic drugs) ได้แก่ polysulfated glycosaminoglycans (Slatter, 2002)

จากการศึกษาทางห้องปฏิบัติการ (in vitro study) พบว่า กลูโคซามีน (glucosamine) และคอนดรอยติน (chondroitin) สามารถชะลอการเกิดความเสียหายที่กระดูกอ่อนบริเวณข้อต่อโดยการกระตุ้น เซลกระดูกอ่อน (chondrocyte) และไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) ให้เกิดการสังเคราะห์ไกลโคซามิโนไกลแคน (glycosaminoglycans; GAGs), โปรตีโอไกลแคน (proteoglycans) และคอลลาเจน (collagen) ทำให้เกิดการสร้างกระดูกอ่อนบริเวณข้อต่อ (articular cartilage) ส่วนคอนดรอยตินซัลเฟต (chondroitin sulfate) ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้กระดูกอ่อนสามารถทนและมีความยืดหยุ่นต่อแรงเค้น (tensile stress) เมื่อเกิดการรับน้ำหนัก นอกจากนี้ glucosamine ยังอาจมีคุณสมบัติลดอาการอักเสบ เป็นสาร cyclooxygenase-independent (Hulse et al., 1998) กระตุ้นการสร้าง hyaluronan (Slatter, 2002) กำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดจากออกซิเจน (free radical scavenging effect) และยังสามารถยับยั้งการอักเสบที่เกิดจากสารฮิสตามีน (histamine) และเอนไซม์ที่ย่อยสลายกระดูกอ่อน (cartilage degradative enzymes) (Hansen et al., 1996) จากการศึกษาพบว่า การให้กลูโคซามีน ร่วมกับคอนดรอยติน จะให้ผลเสริมกัน (synergistic effect) ในการป้องกันการเกิดถุงหุ้มข้ออักเสบในสุนัข (Canapp et al., 1999) กระตุ้นเมตาบอริซึมและยับยั้งการทำลายของกระดูกอ่อน (Lippiello et al., 1999; Johnson et al., 2001) นอกจากนี้ยังสามารถบรรเทาอาการของโรคข้อเสื่อมต่างๆ ได้ในคน (Leflier et al., 1999; Das and Hammad, 2000) ในม้า (Hanson et al., 1997) และในสุนัข (Johnson et al., 2001) อย่างไรก็ตามมีรายงานที่ให้ผลขัดแย้ง (Moreau et al., 2003) ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ มีจุดประสงค์เพื่อทำการศึกษาลักษณะของการให้กลูโคซามีนและคอนดรอยตินต่อการพัฒนาโรคข้อเสื่อมในสุนัข

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### สุนัข

สุนัขพันธุ์ผสม ไม่จำกัดเพศ อายุ 3-5 ปี น้ำหนัก 12-16 กิโลกรัม ที่ได้รับการทำวัคซีนป้องกันโรคติดต่อที่สำคัญแล้ว ผ่านการตรวจร่างกายและการตรวจทางออร์โธปิดิกส์ ไม่พบความผิดปกติของระบบโครงสร้างและกล้ามเนื้อ (musculoskeletal system) รวมทั้งได้รับการถ่ายภาพทางรังสีว่าไม่มีลักษณะผิดปกติในข้อเข่า

#### การเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเสื่อม

เหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเสื่อม (osteoarthritis) โดยการตัดเอ็นไขว้หน้าในข้อเข่าขวา (cranial cruciate ligament) และใช้วิธีการทำให้ข้อเข่าเกิดความมั่นคงโดยการยึดภายนอก (extracapsular technique) โดยวิธี lateral retinacular imbrication technique (Flo's technique) (Piermattei and Flo, 1995) สุนัขทุกตัวได้รับมอร์ฟีน ซัลเฟต (morphine sulfate) ขนาด 0.5 มก/กก และ เวดาโปรเฟน (vedaprofen) ขนาด มก/กก เพื่อควบคุมความเจ็บปวดก่อนและหลังการทำศัลยกรรม ตามลำดับ ภายหลังจากทำศัลยกรรม สุนัขทุกตัวถูกควบคุมการออกกำลังกายและได้รับยาบรรเทาอาการปวดและอักเสบ (vedaprofen) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ แบ่งสุนัขออกเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 5 ตัว ได้แก่

กลุ่มที่ 1 (control group) สุนัขได้รับยาบรรเทาอาการปวดและอักเสบ (vedaprofen) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากนั้นสุนัขได้รับยาหลอก (placebo) ทุกวันเป็นเวลา 1 ปี

กลุ่มที่ 2 (Glu/CS) สุนัขได้รับยาบรรเทาอาการปวดและอักเสบ (vedaprofen) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากนั้นสุนัขได้รับกลูโคซา

มีน ซัลเฟต ขนาด 500 มก และคอนดรอยติน ซัลเฟต ขนาด 250 มก ทุกวันเป็นเวลา 1 ปี

#### การเก็บข้อมูลและตัวอย่าง

##### การประเมินอาการขาเจ็บทางคลินิก (clinical lameness)

ระดับอาการขาเจ็บทำการประเมินโดยผู้ทำการประเมิน 1 คน ประเมินภายหลังจากการทำศัลยกรรม เดือนละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 เดือน แบ่งระดับความเจ็บปวดขณะเดินและวิ่งออกเป็น 4 ระดับ ได้แก่

ระดับที่ 0 สุนัขไม่แสดงอาการเจ็บปวดขณะเดินหรือวิ่ง

ระดับที่ 1 สุนัขไม่แสดงอาการเจ็บปวดขณะเดิน แต่แสดงอาการเจ็บขณะวิ่ง

ระดับที่ 2 สุนัขแสดงอาการเจ็บปวดทั้งขณะเดินและวิ่ง

ระดับที่ 3 สุนัขแสดงอาการเจ็บปวดขณะเดิน และไม่ใช้ขาข้างที่เจ็บรับน้ำหนักขณะวิ่ง

ระดับที่ 4 สุนัขไม่ใช้ขาข้างที่เจ็บรับน้ำหนักทั้งขณะเดินและวิ่ง

##### การประเมินผลระดับความรุนแรงของโรคจากการเปลี่ยนแปลงของข้อเข่าจากภาพถ่ายทางรังสี

ระดับความรุนแรงของโรคข้อเข่าเสื่อมที่ประเมินจากภาพถ่ายทางรังสี บริเวณข้อเข่า จำนวน 2 ท่า ได้แก่ ท่า anteroposterior และ lateral views โดยผู้ประเมิน 1 คน และใช้หลักการประเมินการแบ่งระดับข้อเสื่อม (osteoarthritis scoring system) (Vasseur และ Berry, 1992) โดยพิจารณาจาก ตำแหน่งที่เกิดลักษณะข้อเสื่อมที่ตรวจพบได้แก่ ข้อบวม (joint effusion) การเกิดกระดูกงอกตำแหน่งต่างๆ ในข้อเข่า (osteophyte) และแบ่งความรุนแรงออกเป็น 4 ระดับ จาก 0-4 ได้แก่ ไม่มีอาการข้อเสื่อม ข้อเสื่อมเล็กน้อย (mild) ข้อเสื่อมระดับปานกลาง (moderate) ข้อเสื่อมระดับรุนแรง (severe) และข้อเสื่อมระดับรุนแรงมาก (mark severe) ตามลำดับ

##### การเก็บตัวอย่างของเหลวภายในข้อต่อ

สุนัขทุกตัวได้รับยาไซลาซีน ไฮโดรคลอไรด์ (xylazine hydrochloride) ขนาด 1 มก/กก และยามอร์ฟีน ซัลเฟต ขนาด 0.5 มก/กก เพื่อให้เกิดอาการซึม (sedation) และบรรเทาอาการปวด เก็บตัวอย่างของเหลวภายในข้อเข่า โดยการเจาะข้อเข่า (arthrocentesis) ทุก 1 เดือน ตัวอย่างของเหลวในข้อเข่า ถูกนำไปปั่น (centrifuge) ที่ 1,200 g เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80°C วัดระดับคอนดรอยตินซัลเฟตทางห้องปฏิบัติการ (Johnson et al., 2001)

##### การวิเคราะห์ข้อมูลและประเมินผล

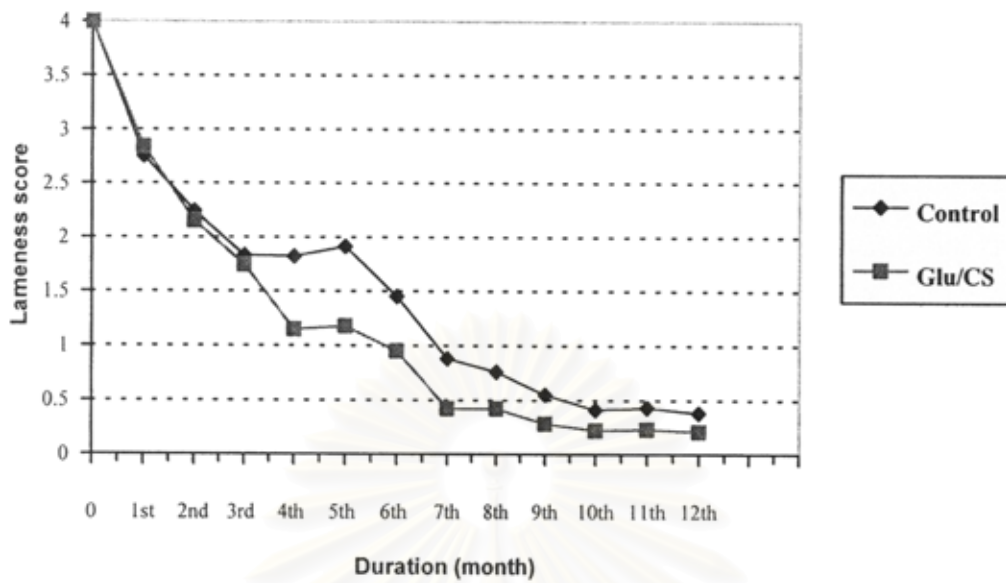
วิเคราะห์ข้อมูลระดับคอนดรอยตินซัลเฟตที่ตรวจได้จากของเหลวภายในข้อเข่า ในสุนัขแต่ละกลุ่ม โดยหาค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มในช่วงเวลาต่าง ๆ และทำการวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับคอนดรอยตินซัลเฟต โดยวิธี ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

วิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับอาการขาเจ็บทางคลินิกและระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมทางรังสีวิทยา หาความสัมพันธ์ของข้อมูลต่างๆ โดยวิธี regression test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

#### ผลการศึกษา

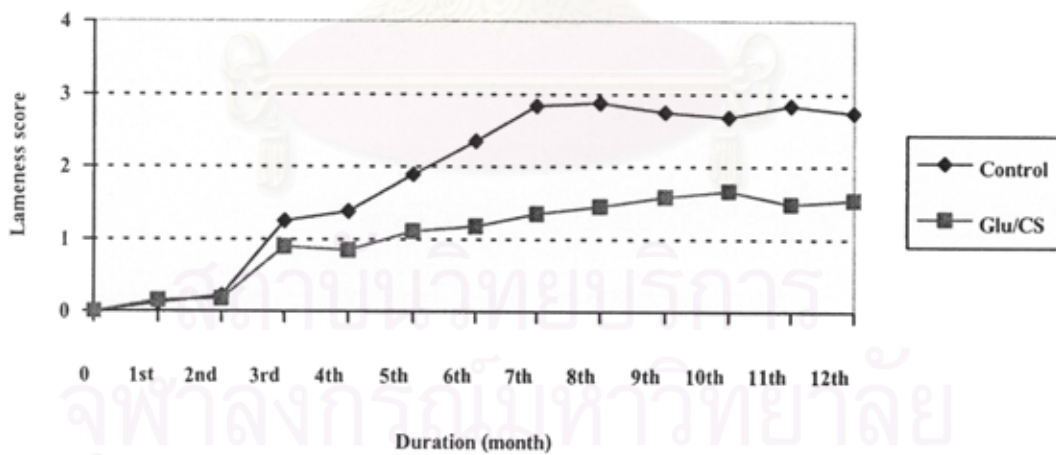
##### อาการขาเจ็บทางคลินิก

ผลการศึกษาพบว่าอาการขาเจ็บทางคลินิกของสุนัขทั้งสองกลุ่มในช่วง 3 เดือนแรก ภาย หลังการทำศัลยกรรม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ภายหลังจากการทำศัลยกรรมในช่วง 3-12 เดือน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยพบว่าสุนัขในกลุ่มที่ได้รับกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์ และคอนดรอยตินซัลเฟต แสดงอาการขาเจ็บเพียงเล็กน้อย เมื่อปล่อยออกกำลังกายตามปกติ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมักมีอาการขาเจ็บได้บ่อย มักแสดงอาการช่ยนาน และมักจำเป็นต้องให้การรักษาด้วยยา วิตามินโปรเฟน (vedaprofen) เพื่อบรรเทาอาการปวดและอักเสบ (รูปที่ 1)



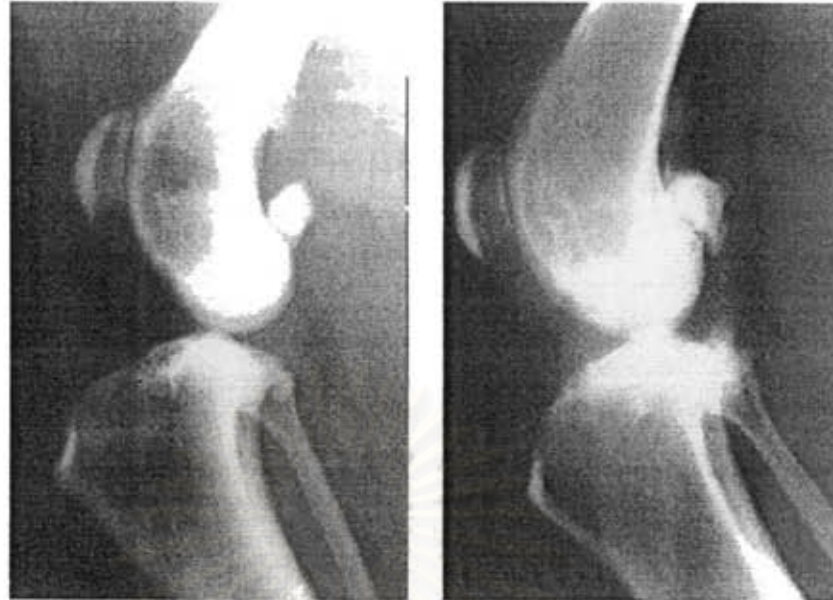
รูปที่ 1 แสดงอาการขาเจ็บทางคลินิกในสุนัขกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับกลูโคซามีนและคอนดรอยติน ระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมที่ตรวจพบจากภาพถ่ายทางรังสี

ระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมที่ตรวจพบจากภาพถ่ายทางรังสี ในสุนัขทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในช่วง 3 เดือนแรกภายหลังการทำศัลยกรรม แต่ภายหลังการทำศัลยกรรมในช่วง 3-12 เดือน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าสุนัขในกลุ่มที่ได้รับกลูโคซามีน ไฮโดรคัลเซโรล และคอนดรอยตินซัลเฟต แสดงมีการพัฒนาของโรคข้อเสื่อมช้าลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (รูปที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมที่ตรวจพบจากภาพถ่ายทางรังสี มีลักษณะแปรผกผันกับอาการขาเจ็บทางคลินิก



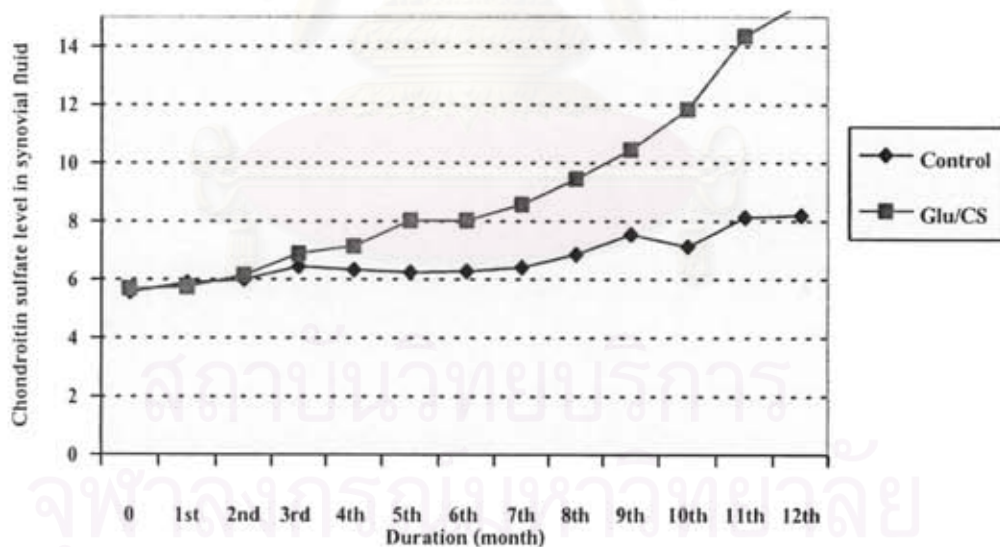
รูปที่ 2

แสดงระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมที่ตรวจพบจากภาพถ่ายทางรังสี ในสุนัขกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับกลูโคซามีนและคอนดรอยติน



รูปที่ 3 แสดงภาพถ่ายทางรังสีบริเวณข้อเข่าในสุนัขกลุ่ม Glu/CS (ก) และกลุ่มควบคุม (ข) ภายหลังจากทำศัลยกรรม 8 เดือน ระดับคอนครอยตินซัลเฟตภายในของเหลวในข้อเข่า

พบว่าระดับคอนครอยตินซัลเฟตที่ตรวจได้จากของเหลวในข้อเข่ามีลักษณะที่สูงขึ้น ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง โดยพบว่าในช่วง 4 เดือนแรกของการผ่าตัด ระดับคอนครอยตินซัลเฟตที่ตรวจพบในข้อเข่าสุนัขในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม มีค่าใกล้เคียงกัน ในช่วง 5-12 เดือน พบว่าระดับคอนครอยตินซัลเฟตที่ตรวจได้จากของเหลวภายในข้อเข่า ของสุนัขที่ได้รับ กลูโคซามีน และคอนครอยติน มีค่ามากกว่าสุนัขกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (รูป 3)



รูปที่ 3 แสดงระดับคอนครอยตินซัลเฟตที่ตรวจได้จากของเหลวในข้อเข่าในสุนัขกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับกลูโคซามีนและคอนครอยติน

### วิจารณ์

การรักษาและการชะลอการพัฒนาของโรคข้อเสื่อม (osteoarthritis) โดยการใช้น้ำสกัดจากพืช (nutraceuticals) ในทางสัตวแพทย์ มีความนิยมมากขึ้นเรื่อยๆ โดยพบว่าสุนัขมีอาการขาเจ็บทางคลินิกดีขึ้นภายหลังจากการรักษา (Hanson and Smalley et al. [5]) และหลายรายงานกล่าวถึงผลด้านบวกของยากลูโคซามีนและคอนครอยตินซัลเฟต ที่สามารถบรรเทาความเจ็บปวดและก่อให้เกิดการเคลื่อนไหวของข้อต่อที่ดีขึ้น แต่ก็ยังไม่มียารายงานที่เน้นการใช้ในเชิงการทดลอง (McNamara et al.,)

การศึกษานี้จึงมุ่งเน้น การติดตามผลของกลูโคซามีนและคอนครอยตินในการพัฒนาโรคข้อเสื่อม โดยใช้การเหนี่ยวนำให้เกิดลักษณะข้อเสื่อม โดยการตัดเอ็นไขว้หน้าในข้อเข่า ซึ่งมักเป็นสาเหตุของโรคข้อเสื่อมที่พบได้มากที่สุด เพราะแม้ว่าการรักษาทางศัลยกรรมและอายุกรรม จะได้รับความนิยมในการให้การรักษาโรคนี้ เพื่อทำให้ข้อต่อเกิดความมั่นคงมากขึ้นก็ตาม แต่ลักษณะข้อเสื่อมก็ยังคงพัฒนาอย่างต่อเนื่องต่อไป

ดังแสดงให้เห็นจากผลการศึกษาครั้งนี้ ในสุนัขกลุ่มควบคุม ที่พบลักษณะการพัฒนารูปร่างของโรคข้อเข่าเสื่อมที่เพิ่มขึ้นภายหลังการทำศัลยกรรม โดยพบว่าวิธีการทำศัลยกรรมส่วนใหญ่มุ่งเน้นให้เกิดความมั่นคงของข้อเข่า โดยการใส่วัสดุผูกเย็บ เอ็น หรือพืดเพื่อยึดระหว่างกระดูกขาหลังส่วนต้น (femur) กับกระดูกหน้าแข้ง (tibia) ในแนวเดียวกับเอ็นไขว้หน้า แม้จะสามารถทำให้เกิดความมั่นคงของข้อเข่าก็ตาม แต่ก็ส่งผลให้เกิดแรงกดทับ ระหว่างกระดูกทั้งสองมากกว่าปกติ และอาจทำให้เกิดความเสียหายของกระดูกอ่อนรูปตัวซีด้านในข้อเข่า (medial meniscus) ทำให้เกิดการพัฒนารูปร่างของโรคข้อเสื่อมมากขึ้น แม้สุนัขจะไม่แสดงอาการขาหลังเจ็บก็ตาม (Canapp et al., 1999)

ในช่วง 3 เดือนแรก ภายหลังจากทำศัลยกรรม จะพบว่าอาการขาเจ็บทางคลินิกและระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมที่ตรวจพบจากภาพถ่ายทางรังสีของสุนัขทั้งสองกลุ่ม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ภายหลังจากทำศัลยกรรมในช่วง 3-12 เดือน จะพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยพบว่าสุนัขในกลุ่มที่ได้รับกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์ และคอนดรอยตินซัลเฟต แสดงอาการขาเจ็บเพียงเล็กน้อย และมีการพัฒนารูปร่างของโรคข้อเข่าช้าและรุนแรงน้อยกว่ากลุ่มควบคุม เมื่อปลัสซียออกกำลังกายตามปกติ นอกจากนี้ยังพบว่าระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมที่ตรวจพบจากภาพถ่ายทางรังสี มีลักษณะแปรผกผันกับอาการขาเจ็บทางคลินิก สุนัขเกิดอาการเจ็บลดลงแม้มีการเกิดโรคข้อเสื่อมมากขึ้น เนื่องจากข้อเข่ามีความมั่นคงมากขึ้น แต่ความสามารถในการเคลื่อนไหวข้อเข่าลดลง ดังนั้นเมื่อออกกำลังกาย จึงทำให้ข้อเข่าเกิดการอักเสบได้ง่าย

การได้รับกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์หรือกลูโคซามีนซัลเฟต ร่วมกับคอนดรอยตินซัลเฟต ทางการกิน พบว่ากลูโคซามีนจะกระตุ้นเซลล์กระดูกอ่อน (chondrocyte) ให้เพิ่มการผลิตกลูโคซามินไกลแคน (glycosaminoglycans) และโปรตีโอไกลแคน (proteoglycans) และลดปฏิกิริยาการอักเสบแบบที่ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับกลไกของโพรสตาแกลนดิน (prostaglandin) ได้แก่ การกำจัดอนุมูลอิสระ (free radical scavenging) และพบว่าคอนดรอยตินซัลเฟตไปยังเอ็นไซม์ที่ย่อยสลายกระดูกอ่อน (degradative enzyme) และให้ผลเสริมฤทธิ์กันเมื่อให้ร่วมกัน (Hungerford and Lynne, 2003) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาครั้งนี้ โดยพบว่าระดับคอนดรอยตินซัลเฟตในของเหลวในข้อเข่า มีระดับสูงขึ้นในสุนัขกลุ่มที่ได้รับกลูโคซามีนและคอนดรอยติน จึงกล่าวโดยสรุปได้ว่า การให้กลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ร่วมกับคอนดรอยตินซัลเฟต สามารถบรรเทาการพัฒนาโรคข้อเข่าเสื่อมได้ในสุนัข

#### เอกสารอ้างอิง

- Canapp, S.O., McLaughlin, R.M. Jr., Hoskinson, J.J. 1999. Scintigraphic evaluation of dogs with acute synovitis after treatment with glucosamine hydrochloride and chondroitin sulfate. *Am J Vet Res* 60:1550
- Das, A., Hammad, T. 2000. Efficacy of a combination FCHG49 glucosamine hydrochloride, TRH122 low molecular weight sodium chondroitin sulfate and manganese ascorbate in the treatment of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 8: 343-350.
- Johnson, K., Hulse, D., Hart, R., Kochevar, D., Chu, Q., 2001. Effects of an orally administered mixture of chondroitin sulfate, glucosamine hydrochloride and manganese ascorbate on synovial fluid chondroitin 3B3 and 7D4 epitopes in a canine cruciate ligament transection model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 9:14-21.
- Hanson, R., Smalley, L., Huff, G., White, S., Hammad, T. 1997. Oral treatment with a glucosamine-chondroitin sulfate compound for degenerative joint disease in horses: 25 cases. *Equine Practice*. 19: 16-22.
- Hungerford, D.S. and Jones, L.C. 2003. Glucosamine and Chondroitin Sulfate Are Effective in the Management of Osteoarthritis. *J Arthroplasty*. 18(3): Suppl. 1:5-9.
- Hulse, D.S., Hart, D., Slatter, M., Beale, B.S. 1998. The effect of cosequin in cranial cruciate deficient and reconstructed stifle joints in dogs. *Proceedings of the 25<sup>th</sup> Annual Conference of the Veterinary Orthopaedic Society*. p.64.
- Leffler, C., Philippi, A., Leffler, S., Mosure, J., Kim, P. 1999. Glucosamine, chondroitin and manganese ascorbate for degenerative joint disease of the knee or low back: a randomised, double-blind, placebo controlled pilot study. *Military Medicine*. 164:85-91.
- Lippiello, L., Idouraine, A., McNamara, P., Barr, S., McLaughlin, R. 1999. Cartilage stimulatory and antiproteolytic activity is present in sera of dogs treated with a chondroprotective

- agent. *Canine Practice*. 24: 18–19.
- Moreau, M., Bonneau, N., Desenoyers, M., 2003. Clinical evaluation of a nutraceutical, carprofen and meloxicam for the treatment of dogs with osteoarthritis. *Vet Rec* 152: 323–329.
- Moore, M.G. 1996. Promising responses to a new oral treatment for degenerative joint disorder. *Canine Pract* 21:7.
- Noack, W., Fischer, M., Forster, K.K. 1994. Glucosamine sulfate in osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis Cartilage* 2:51



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย