เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2556; 11(1): 41-55

บทความปริทัศน์

โรคข้อเสื่อมในสัตว์: ชีวเคมีการเกิดโรคและการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องในปัจจุบัน

ศิริวรรณ ตั้งยืนยง*

ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ โรคข้อเสื่อม เป็นโรคข้อที่พบได้บ่อยมากที่สุดและเป็นสาเหตุสำคัญของความทุพพลภาพทั้งในมนุษย์และสัตว์ โดยมีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านรูปร่าง โครงสร้าง ชีวเคมี และชีวพลศาสตร์ ก่อให้เกิดการเสื่อมของกระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อ มีกระดูกงอกบริเวณขอบข้อ กระดูกใต้กระดูกอ่อนเกิดพยาธิสภาพ และเยื่อหุ้มข้ออักเสบ ส่งผลให้มนุษย์และสัตว์ต้องทนทุกข์ทรมานกับอาการปวดเรื้อรัง เคลื่อนไหวข้อต่อได้ลำบาก ประสิทธิภาพในการทำงานและคุณภาพชีวิตต่ำลง หลายสิบปีที่ผ่านมา มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางเกี่ยวกับเมแทบอลิซึมและการเสื่อมของข้อในหลายชนิดสัตว์ โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเซลล์กระดูกอ่อนข้อต่อ รวมถึงการทดลองที่ทำในตัวสัตว์ อันได้มาซึ่งข้อมูลเชิงลึกที่สำคัญและก่อให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับพยาธิสรีระวิทยาของโรคข้อเสื่อมเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามยังต้องมีการศึกษาวิจัยต่อไปเพื่อไขปัญหาและนำองค์ความรู้ใหม่ที่ได้ไปพัฒนาเพื่อหาวิธีการรักษา รวมทั้งการหาแนวทางในการป้องกันโรคข้อเสื่อมอย่างมีประสิทธิภาพ บทความฟื้นวิชานี้ ได้อธิบายเกี่ยวกับความรู้พื้นฐานของกระดูกอ่อนข้อต่อในสัตว์ และมุ่งเน้นถึงปัญหา ความสำคัญ และกลไกการเกิดโรคทางชีวเคมีของโรคข้อเสื่อมในแง่ของงานวิจัยอันเกี่ยวเนื่องกับเมแทบอลิซึมของกระดูกอ่อนข้อต่อในสัตว์หลายชนิด **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2556; 11(1): 41-55**

คำสำคัญ: ข้อเสื่อม เมแทบอลิซึมของกระดูกอ่อนข้อต่อ การเสื่อมของกระดูกอ่อนข้อต่อ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเซลล์ สัตว์

ติดต่อขอสำเนาบทความได้ที่: ศิริวรรณ ตั้งยืนยง ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100 E-mail address: makhaboocha11@hotmail.com
ได้รับบทความวันที่ 31 ตุลาคม 2555

บทนำ

โรคข้อเสื่อม (Osteoarthritis, OA) เป็นโรคข้อที่มีความสำคัญและพบบ่อยมากที่สุดโรคหนึ่ง ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสุขภาพในมนุษย์หลายล้านคนทั่วโลก (Goldring, 2006) รวมทั้งในสัตว์หลายชนิด เช่น สุนัข แมว ม้า และช้าง เป็นต้น อุบัติการณ์ของการเกิดโรคข้อเสื่อมทั่วโลกอยู่ในระดับสูงมากประมาณร้อยละ 12.1 ในคนที่มีอายุระหว่าง 25-70 ปี (Lawrence et al., 1998) ซึ่งพบว่าเพศหญิงมีอุบัติการณ์สูงกว่าเพศชายถึง 2 เท่า และจะสูงขึ้นตามอายุที่เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งหลังอายุ 60 ปี (Felson, 2004) สำหรับอุบัติการณ์ในสัตว์ เช่น ม้าในประเทศอเมริกาพบประมาณร้อยละ 60 (Oke, 2009) ส่วนสุนัขที่โตเต็มวัยพบเป็นร้อยละ 20 (Paradis et al., 2003) โดยเฉพาะในสุนัขพันธุ์ใหญ่จะพบอุบัติการณ์ได้สูงถึงร้อยละ 75-90 (Esneault, 2012) โรคข้อเสื่อมนี้ นอกจากการเป็นสาเหตุให้คนและสัตว์ต้องทนทุกข์ทรมานกับอาการเจ็บปวดเรื้อรังตามบริเวณข้อต่อ เคลื่อนไหวร่างกายได้ยากลำบาก ประสิทธิภาพในการทำงานและคุณภาพชีวิตต่ำลง โรคนี้ยังส่งผลกระทบต่อสภาพเศรษฐกิจในระดับครอบครัวและประเทศชาติ ทำให้ต้องสูญเสียงบประมาณจำนวนมหาศาลสำหรับการตรวจวินิจฉัย รวมทั้งการรักษาทางยา กายภาพบำบัด และการผ่าตัด

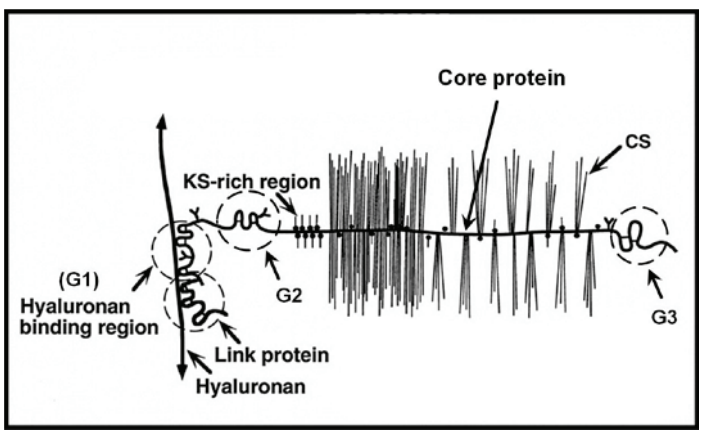
โรคข้อเสื่อม เป็นกลุ่มอาการที่เกิดกับข้อต่อที่มีการเคลื่อนไหว โดยมีการเสื่อมของกระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อ (articular cartilage) อย่างช้า ๆ อันเนื่องมาจากการเสียสมดุลระหว่างการสร้างและการสลายเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน เป็นผลให้กระดูกอ่อนข้อต่อถูกทำลายจนเกิดพยาธิสภาพและสลายหมดไปในที่สุด นอกจากนี้ ยังมีผลต่อโครงสร้างส่วนอื่นของข้อต่อ เช่น กระดูกที่อยู่ใต้กระดูกอ่อนข้อต่อ (subchondral bone) เยื่อบุข้อ (synovial membrane) และถุงหุ้มข้อ (joint capsule) (Sutton et al., 2009) โรคข้อเสื่อมถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มของโรคข้อที่ไม่มีการอักเสบ (non-inflammatory disease) โดยแยกจากกลุ่มที่มีการอักเสบ ได้แก่ โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis) และกลุ่มโรคข้อที่มีข้อและกระดูกสันหลังอักเสบโดยตรวจไม่พบสารรูมาตอยด์ (seronegative spondyloarthropathy) (Horky & Tichy, 2004) ถึงแม้มีรายงานการศึกษาที่ชี้ให้เห็นว่า การอักเสบของเยื่อบุข้อ (synovitis) มีบทบาทสำคัญและเกี่ยวข้องกับพยาธิกำเนิดของโรคข้อเสื่อม (Fiorito et al., 2005; Pearle et al., 2007) ปัจจุบันสาเหตุของการเกิดโรคข้อเสื่อมที่แท้จริงยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่มีปัจจัยหลายประการที่ส่งเสริมให้เกิดข้อเสื่อมขึ้นโดยเฉพาะกรณีที่เกี่ยวข้องกับการบาดเจ็บของข้อต่อจากการใช้งานบ่อยครั้งหรือหนักเกินไปจะพบมากที่สุด (Martel-Pelletier, Alaaeddine & Pelletier, 1999) นอกจากนั้น การที่มีน้ำหนักตัวมาก พันธุกรรมหรือสายพันธุ์ อาหาร การเจ็บป่วยด้วยโรคกระดูกและข้อมาก่อน เช่น กระดูกและกระดูกอ่อนแตกภายในข้อต่อ (intraarticular fracture) โรคเกี่ยวกับการพัฒนาของกระดูกอ่อน (osteochondrosis) หรือข้ออักเสบแบบติดเชื้อ (septic arthritis) รวมถึงปัจจัยจากอายุที่เพิ่มขึ้น สามารถนำไปสู่การเสื่อมของกระดูกอ่อนข้อต่อในโรคข้อเสื่อมได้

องค์ประกอบและหน้าที่ของกระดูกอ่อนข้อต่อ

กระดูกอ่อนข้อต่อ เป็นกระดูกอ่อนชนิดไฮยาลิน (hyaline cartilage) ที่ไม่มีหลอดเลือดและเส้นประสาทมาเลี้ยง มีลักษณะโปร่งแสงคล้ายแก้ว (grass-like appearance) เพราะมีน้ำเป็นองค์ประกอบหลักประมาณร้อยละ 70-80 ของน้ำหนักเปียก (Todhunter, 1996) และพบเซลล์กระดูกอ่อน (chondrocyte) ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ทำหน้าที่สังเคราะห์สารต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนเรียกว่า “เมทริกซ์” (extracellular matrix) ซึ่งมีสัดส่วนประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ของกระดูกอ่อนทั้งหมด โครงสร้างเมทริกซ์นี้ประกอบด้วยร่างแหคอลลาเจนซึ่งส่วนใหญ่เป็นคอลลาเจนชนิดที่ 2 (Todhunter, 1996; Buckwalter, Mankin & Grodzinsky, 2005) โปรตีโอไกลแคน ไกลโคโปรตีน แร่ธาตุ และไขมัน ซึ่งปริมาณองค์ประกอบเหล่านี้จะแตกต่างกันทั้งในคนและสัตว์แต่ละชนิด จากน้ำหนักแห้งของกระดูกอ่อนข้อต่อในคนพบปริมาณ

คอลลาเจนร้อยละ 60 โปรตีโอไกลแคนร้อยละ 25-30 ไกลโคโปรตีนร้อยละ 15-20 และเซลล์กระดูกอ่อนร้อยละ 1 (Buckwalteret al., 2005) สำหรับคอลลาเจนในกระดูกอ่อนข้อต่อของสุนัขมีประมาณร้อยละ 65-80 โปรตีโอไกลแคนร้อยละ 22-28 ไกลโคโปรตีนร้อยละ 10 แร่ธาตุ ไขมันและเซลล์กระดูกอ่อนร้อยละ 1-3 (Nganvongpanit, 2008) ส่วนในม้าจะมีคอลลาเจนประมาณร้อยละ 50 โปรตีโอไกลแคนร้อยละ 35 ไกลโคโปรตีนร้อยละ 10 แร่ธาตุร้อยละ 3 ไขมันร้อยละ 1 และเซลล์กระดูกอ่อนร้อยละ 1-12 (Todhunter, 1996) นอกจากนี้ ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็ก เช่น หนู ไมค์ หนูแรท และกระต่าย พบว่ากระดูกอ่อนข้อต่อมีความบางแต่มีความหนาแน่นของเซลล์กระดูกอ่อนมากกว่าในมนุษย์หลายเท่า (Stockwell, 1967; Stockwell, 1978)

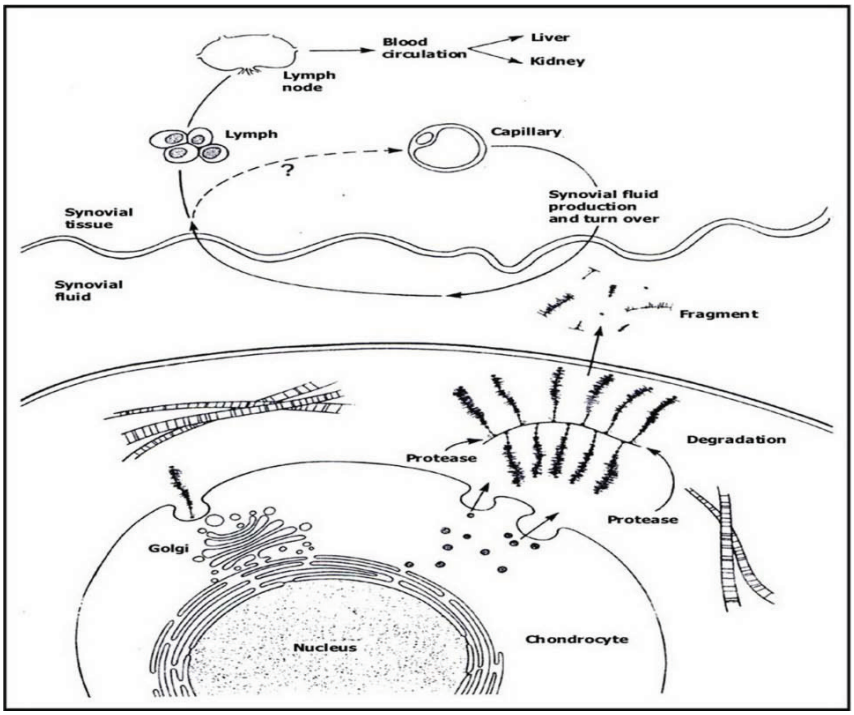
ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของกระดูกอ่อนข้อต่อสามารถแบ่งออกเป็น 3 ชั้น เหมือนกันทั้งในคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Horky & Tichy, 2004; Horky, 1991a,b,c; Horky, 1993; Horky, 1994a,b; Hedlung, 1993) ได้แก่ ชั้นผิว ชั้นกลาง และชั้นลึก ในส่วนของเมทริกซ์จะมีลักษณะเป็นร่างแหคอลลาเจนที่บรรจุด้วยโปรตีโอไกลแคน ซึ่งจับกับไฮยาลูโรแนน (hyaluronan; HA) โดยแอกกรีแคน (aggrecan) เป็นโปรตีโอไกลแคนที่พบปริมาณมากที่สุดในกระดูกอ่อนข้อต่อ (Hardingham & Fosang, 1992) โครงสร้างคล้ายแปรงล้างขวด มีสายของไกลโคซามิโนไกลแคน (glycosaminoglycans; GAGs) จำพวกคอนดรอยติน ซัลเฟต และเคอราแตน ซัลเฟต เกาะกับโปรตีนแกนกลาง (รูปที่ 1) ซึ่งไกลโคซามิโนไกลแคนเป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาลที่มีประจุเป็นลบ ทำให้มีความสามารถในการดึงน้ำเข้าสู่เมทริกซ์ด้วยวิธีการออสโมซิส ประกอบกับความแข็งแรงแต่มีความยืดหยุ่นของโครงข่ายอันหนาแน่นของเส้นใยคอลลาเจน ทำให้กระดูกอ่อนมีคุณสมบัติในการดูดซับและต้านทานต่อแรงกดที่มากระทำ รวมทั้งกระจายแรงไปยังกระดูกที่อยู่ใต้กระดูกอ่อนได้โดยไม่เกิดความเสียหายหรือการผิดรูปในขณะรับน้ำหนัก ไฮยาลูโรแนน หรือ ไฮยาลูโรนิคแอซิด เป็นไกลโคซามิโนไกลแคนอีกชนิดหนึ่งที่พบในกระดูกอ่อนข้อต่อ และทำให้กระดูกอ่อนข้อต่อมีคุณสมบัติเป็นมันเงา ลื่น สามารถลดแรงเสียดทานขณะข้อต่อเคลื่อนไหวได้ ไฮยาลูโรแนนถูกสร้างโดยเซลล์เยื่อบุข้อ (synoviocyte) และยังเป็นองค์ประกอบสำคัญของน้ำไขข้อ (synovial fluid) ซึ่งทำให้น้ำไขข้อมีความหนืดและยืดหยุ่น สามารถช่วยหล่อลื่นเยื่อบุข้อและกระดูกอ่อนข้อต่อได้ รวมทั้งยังทำหน้าที่ป้องกันสารที่เป็นองค์ประกอบของน้ำเลือด (active plasma component) และเม็ดเลือดขาวจากช่องข้อต่อ (joint cavity) เข้าสู่เยื่อบุข้ออีกด้วย (McIlwraith, 1997)



รูปที่ 1 โครงสร้างโปรตีโอไกลแคน (proteoglycans) ชนิด Aggrecan ที่จับอยู่กับ Hyaluronan backbone (ดัดแปลงจาก SpringerImages, 2012) (G1 = Core protein globular 1 domain, G2 = Core protein globular 2 domain, G3 = Core protein globular 3 domain, KS = Keratan sulfate, CS = Chondroitin sulfate)

ชีวเคมีการเสื่อมของกระดูกอ่อนข้อต่อ

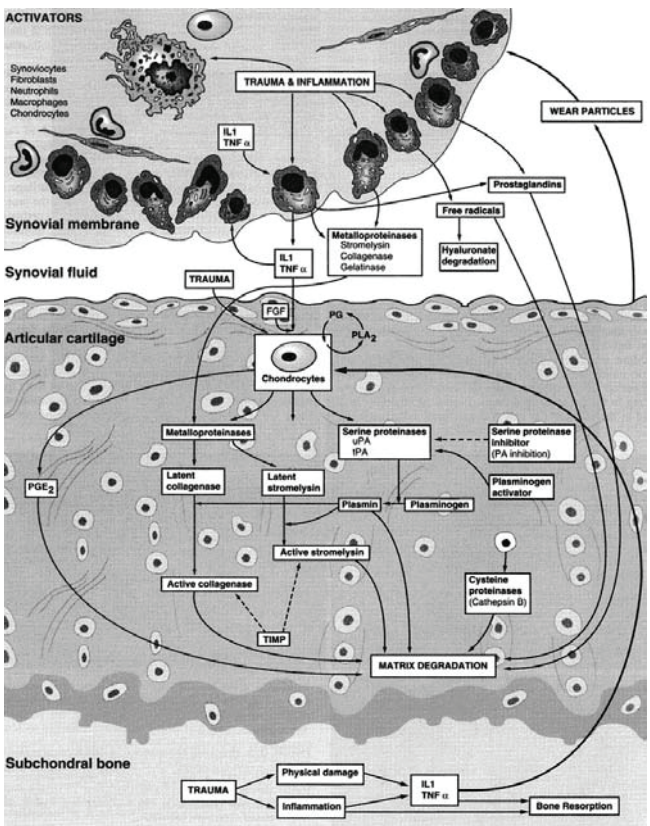
ในภาวะปกติของข้อต่อ จะมีกระบวนการเมแทบอลิซึมของกระดูกอ่อนอยู่แล้วในระดับหนึ่ง เพื่อรักษาความสมดุลระหว่างกระบวนการสร้างและกระบวนการสลาย เซลล์กระดูกอ่อนจะทำหน้าที่ในการสร้างสารชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบของเนื้อกระดูกอ่อน เช่น ไกลโคซามิโนไกลแคน ไฮยาลูโรแนน และคอลลาเจน รวมทั้งยังสังเคราะห์เอนไซม์ที่ย่อยสลายโครงสร้างเมทริกซ์ เช่น เอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเนส ชิ้นส่วนสารชีวโมเลกุลของเนื้อกระดูกอ่อนที่ย่อยแล้วจะถูกปล่อยออกสู่น้ำไขข้อ จากนั้นจะดูดซึมผ่านทางท่อน้ำเหลืองที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มข้อเข้าสู่กระแสเลือดและถูกนำไปทำลายที่ตับและไต (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 กระบวนการเมแทบอลิซึมภายในข้อต่อ (ที่มา Extracellular Matrix Volume 1: Tissue Function by Compare, 1996)

การเกิดโรคข้อเสื่อม เป็นผลมาจากเมแทบอลิซึมของกระดูกอ่อนเสียภาวะสมดุลไป โดยเกิดกระบวนการสลายมากกว่าและการสร้าง กระบวนการสลายเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนจะอาศัยการทำงานของเซลล์ สารก่อการอักเสบ (destructive inflammatory mediators) ไซโตคายน์ และเอนไซม์ต่าง ๆ โดยมีเซลล์หลายชนิดมาเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดของโรคข้อเสื่อม อาทิ เซลล์กระดูกอ่อน (Sutton et al., 2009; Sellam & erenbaum, 2010) เซลล์เยื่อบุข้อ (Sutton et al., 2009) และเซลล์เม็ดเลือดขาว (Sutton et al., 2009) กลไกการเกิดโรคข้อเสื่อมนั้น เริ่มต้นจาก “การอักเสบของเยื่อบุข้อ” ซึ่งเป็นกุญแจสำคัญในพยาธิกำเนิดของโรคข้อเสื่อมทั้งในคน (Sellam&Berenbaum, 2010) และม้า (McIlwraith, 2005) เมื่อข้อต่อและเนื้อเยื่อบริเวณใกล้เคียงได้รับบาดเจ็บจากแรงกดกระแทกในการใช้งานบ่อยครั้งหรืองานที่หนักเกินไป ทำให้เยื่อบุข้อเกิดการอักเสบ ซึ่งจะมีเซลล์เม็ดเลือดขาวหลายชนิด เช่น นิวโทรฟิลด์ ทีลิมโฟไซต์ โมโนไซต์ หรือ แมคโครฟาจ และแมสเซลล์ (Horky & Tichy, 2004; Souich, 2008; De Clerck et al., 1995; Schulte, Fisseler-Eckhoff & Muller, 1994) จากหลอดเลือดที่เยื่อบุข้อแทรกตัวเข้าสู่ภายในข้อต่อ เซลล์เม็ดขาวและเซลล์เยื่อบุข้อที่อักเสบจะหลั่งสารก่อการอักเสบและไซโตคายน์ เช่น อินเตอลิวคิน-1 เบต้า (IL-1β) และ ทูเมอร์เนค-

โครซิสแฟกเตอร์-แอลฟ่า (tumour necrosis factor alpha; TNF-α) ออกสู่น้ำไขข้อ และไปกระตุ้นเซลล์เยื่อบุข้อและเซลล์กระดูกอ่อนให้มีการสังเคราะห์และหลั่งเอนไซม์โปรตีเนส ซึ่งทำหน้าที่ในการเปลี่ยนเอนไซม์กลุ่มเมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเนสที่สร้างจากเซลล์กระดูกอ่อนและเซลล์เยื่อบุข้อในรูป latent เป็นรูปที่ออกฤทธิ์ (active form) ไปทำลายเนื้อกระดูกอ่อน เป็นผลให้มีการสลายและปล่อยสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของเนื้อกระดูกอ่อน ได้แก่ โปรตีโอไกลแคน ไฮยาลูโรแนน และคอลลาเจน ออกสู่น้ำไขข้อ (รูปที่ 3) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง IL-1β ที่สร้างจากเซลล์กระดูกอ่อนและเซลล์เยื่อบุข้อ เป็นไซโตคายน์ที่ก่อให้เกิดการอักเสบ ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการสังเคราะห์และการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มเมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเนส (Mengshol et al., 2000; Richardson & Dodge, 2000) มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างคอลลาเจน (Cooket al., 2000) และโปรตีโอไกลแคน (Takafuji, McIlwraith & Howard, 2002; Gregg et al., 2006) รวมทั้งลดการเพิ่มจำนวนของเซลล์กระดูกอ่อนด้วย (Frazer, Bunning & Russe, 1994) นอกจากนี้ ยังเพิ่มการหลั่งสารก่อการอักเสบชนิดอื่นจากเซลล์กระดูกอ่อนและเซลล์เยื่อบุข้อ เช่น พรอสตาแกลนดิน อีทู (PGE_2) ที่เพิ่มการสลายและลดการสร้างโปรตีโอไกลแคน รวมทั้งเพิ่มการสังเคราะห์สารอนุมูลอิสระต่าง ๆ จากเซลล์เยื่อบุข้อซึ่งจะไปสลายไฮยาลูโรแนน โปรตีโอไกลแคน และคอลลาเจนของเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน (Sutton et al., 2009; McIlwraith, 1997; Souich, 2008:; von Rechenberg, 2000)



รูปที่ 3 ปัจจัยและกลไกที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ในการเสื่อมของกระดูกอ่อนข้อต่อ (ที่มา Joint Disease in the Horse by McIlwraith & Trotter, 1996). (IL 1 = interleukin 1, TNF α = tumor necrosis factor α, FGF = fibroblast growth factor, PG = prostaglandin, PLA_2 = phospholipase A_2, uPA = urokinase plasminogen activator, tPA = tissue plasminogen activator, PA = plasminogen activator, PGE_2= prostaglandin E_2, TIMP = tissue inhibitor of metalloproteinase)

เอนไซม์ในกลุ่มเมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเนส (matrix metalloproteinases; MMPs) ประกอบไปด้วยเอนไซม์โปรตีเนสมากกว่า 20 ชนิด สามารถแบ่งตามสารตั้งต้นที่ถูกย่อยสลายได้ออกเป็น 5 กลุ่ม คือ collagenase (MMP-1 และ MMP-13) stromelysin (MMP-3) และ gelatinase (MMP-2 และ MMP-9) ซึ่งเป็น 3 กลุ่มหลัก รวมทั้งกลุ่มเอนไซม์ที่ย่อยสลาย membrane และอื่น ๆ (Ishiguro, Kojima & Robin Poole, 2002) นอกจากนี้ ยังมีเอนไซม์ที่จัดอยู่ในกลุ่มของ a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin repeats (ADAM-TSs) หรือ แอกกรีแคนเนส (aggrecanases) ซึ่งสร้างจากเซลล์กระดูกอ่อนและเซลล์เยื่อบุข้อ ทำหน้าที่ในการสลายโปรตีนแกนกลางของแอกกรีแคน (Ishiguro et al., 2002; Koike, 2006; Kamm,Nixon&Witte, 2010) สำหรับเอนไซม์โปรตีเนสที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีนมีอยู่หลายชนิด ได้แก่ กลุ่มเซอรีน ซีสทีน และแอสปาติค เป็นต้น Serine proteinases หรือ plasminogen activator ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นเอนไซม์ในกลุ่มเมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเนสให้อยู่ในรูปที่พร้อมทำงาน โดยเปลี่ยน plaminogen ให้เป็น active plasmin ซึ่งจะไปเปลี่ยน inactive stromelysin ให้เป็น active stromelysin ทำหน้าที่ในการสลายโปรตีโอไกลแคน คอลลาเจน และสารอื่น รวมทั้งยังเปลี่ยน procollagenase ให้เป็น active collagenase สำหรับการย่อยคอลลาเจน ในส่วนของ cystein และ aspartic proteinases จะมีหน้าที่ในการสลายโปรตีโอไกลแคนและคอลลาเจนของเนื้อกระดูกอ่อน (McIlwraith, 1997) อย่างไรก็ตาม ไซโตคายน์และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างของกระดูกอ่อน เช่น IL-4 IL-10 IL-13 tissue inhibitor ของ MMPs (TIMP) และ plasminogen activator inhibitor ซึ่งมีหน้าที่ยับยั้งการสังเคราะห์และการทำงานของไซโตคายน์และเอนไซม์ในกระบวนการสลายกระดูกอ่อน ยังคงทำงานอยู่เพียงแต่เกิดขึ้นน้อยกว่าในกระบวนการสลาย เนื่องจากการเสียสมดุลของเมแทบอลิซึม

การศึกษาวิจัยเมแทบอลิซึมและการเสื่อมของกระดูกอ่อนข้อต่อในปัจจุบัน

หลายสิบปีที่ผ่านมา มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางถึงเมแทบอลิซึมของกระดูกอ่อนข้อต่อที่เกี่ยวข้องกับกลไกการเกิดของโรคข้อเสื่อมในสัตว์หลายชนิด ทั้งในแง่ของสารก่อการอักเสบ ไซโตคายน์ และเอนไซม์ต่าง ๆ ในกระบวนการสร้างและการสลายเนื้อกระดูกอ่อนทั้งในระดับเซลล์ (cell culture) เนื้อเยื่อ (explant culture) และในสัตว์ทดลอง (animal model) มีงานวิจัยที่ทำการศึกษาถึงกระบวนการสลายของโรคข้อ โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากกระดูกอ่อนข้อต่อของสุกรและโค ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนด้วยกรดวิตามินเอ (retinoic acid) IL-1β หรือ TNF-α พบว่า ตัวกระตุ้นทั้ง 3 ชนิด ทำให้เกิดการสลายไกลโคซามิโนไกลแคนออกสู่น้ำเลี้ยงเนื้อเยื่อสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Little et al., 1999; Stabellini et al., 2003) ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของ aggrecan metabolites ในน้ำเลี้ยงและที่เหลืออยู่ในเนื้อเยื่อที่ถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์แอกกรีแคนเนส รวมทั้งพบการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัส (mRNA) ของเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเนส ชนิดที่ 3 (MMP-3) และ 13 (MMP-13) เพิ่มสูงขึ้น (Little et al., 1999) และอีกหลายการศึกษาในกระดูกอ่อนข้อต่อจากสุกร ยังพบว่า อนุพันธ์ของกรดวิตามินเอ (Chaiwongsa et al., 2012) และ IL-1β มีฤทธิ์เพิ่มการทำงานของเอนไซม์ MMP-2 ทำให้ซัลเฟตไกลโคซามิโนไกลแคนและไฮยาลูโรแนนถูกสลายออกจากเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนมากขึ้น และมีปริมาณคอลลาเจนรวมทั้งกรดยูโรนิคเหลืออยู่ในเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนลดลง (Chaiwongsa et al., 2012; Pothacharoen, 2006; Phitak, 2010; Phitak et al., 2012) นอกจากนี้ การศึกษาในระดับเซลล์กระดูกอ่อนจากข้อต่อของสุกรและโค พบผลตรงกับในเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนว่า IL-1 สามารถกระตุ้นเอนไซม์แอกกรีแคนเนสและเมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเนสในการสลายแอกกรีแคน (Hughes et al., 1998) รวมทั้งเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับ

การทำงานของเอนไซม์ MMP-3 และ MMP-13 (Hughes et al., 1998; Flannery et al., 1999; Flannery et al., 2000) สำหรับการศึกษาในสุนัขทั้งในเนื้อเยื่อและเซลล์กระดูกอ่อน ให้ผลเช่นเดียวกับในสุกรและโค ที่พบว่า IL-1β เหนี่ยวนำให้เกิดการสลายโปรตีโอไกลแคน คอลลาเจนออกจากเนื้อกระดูกอ่อน และกระตุ้นให้มีการปล่อยสาร PGE_2 ออกมาในน้ำเลี้ยงเพิ่มขึ้น (Macrory et al., 2009) รวมทั้งมีการแสดงออกของยีนคอลลาเจนชนิดที่ 1 (Clements et al., 2009; Clements et al., 2006; Lorenz et al., 2005) ชนิดที่ 2 (Lorenz et al., 2005) ชนิดที่ 3 และเอนไซม์ MMP-2 -9 และ -13 เพิ่มขึ้นในข้อต่อที่มีภาวะข้อเสื่อม (Clements et al., 2009) นอกจากนี้ ยังสอดคล้องกับหลายผลการศึกษาในม้า ที่พบการเพิ่มสูงขึ้นของระดับ IL-1β และ TNF-α (Kamm et al., 2010; Morris et al., 1990; Alwan et al., 1991) รวมทั้งการทำงานของเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเนส (Brama et al., 1998) ได้แก่ MMP-2 (Clegg et al., 1997) MMP-3 (Brama et al., 2000) MMP-9 (Clegg et al., 1997) MMP-13 (Kamm et al., 2010) และแอกกรีแคนเนส (Kamm et al., 2010) ในน้ำไขข้อและกระดูกอ่อนข้อต่อของม้าที่มีภาวะข้ออักเสบหรือข้อเสื่อมตามธรรมชาติ และงานวิจัยในตัวสัตว์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยการฉีด lipopolysaccharide (LPS) หรือ IL-1β เข้าข้อเข่าม้า ทำให้ปริมาณของ PGE_2 (Ross et al., 2012; De Grauw, van de Lest & van Weeren, 2009; Pearson, Orth & Lindinger, 2009) และการทำงานของ MMP-2 ในน้ำหล่อข้อ (De Grauw et al., 2009) รวมถึงการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวกับเอนไซม์ MMP-1 และแอกกรีแคนเนสในกระดูกอ่อนข้อต่อเพิ่มขึ้น (Ross et al., 2012; Busschers, Holt & Richardson, 2010) ซึ่งเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับ ผลการศึกษาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนข้อต่อของม้าในสภาวะที่มีสาร IL-1β หรือ TNF-α กระตุ้นให้เกิดการสลายเนื้อกระดูกอ่อน ที่พบว่า มีการสลายซัลเฟตไกลโคซามิโนไกลแคน คอลลาเจนไฮยาลูโรแนน และแอกกรีแคนเมตาบอไลต์ ออกสู่น้ำเลี้ยงเนื้อเยื่อมากขึ้น (Ong-chai et al., 2008; Little et al., 2005) ปริมาณคอลลาเจนและกรดยูโรนิคคงเหลืออยู่ในเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนลดลง (Ong-chai et al., 2008) และทำให้การทำงานของเอนไซม์ MMP-2 (Ong-chai et al., 2008) -3 และ -13 เพิ่มสูงขึ้น (Little et al., 2005; Tung et al., 2002) และยังสอดคล้องกับงานวิจัยในเซลล์กระดูกอ่อนข้อต่อของม้าที่พบว่า IL-1β ส่งผลให้การทำงานและแสดงออกของยีนของ MMP-1 (Tung et al., 2002) MMP-2 (ข้อมูลยังไม่ได้ตีพิมพ์) MMP-3 และ MMP-13 (Tung et al., 2002) รวมทั้ง cyclooxygenase-2 (Amin et al., 1997) และ inducible nitric oxide synthase เพิ่มมากขึ้น (Frean et al., 1997; Tung, Venta & Caron, 2002)

นอกเหนือจากในสุกร โค สุนัข และม้าแล้ว เมื่อไม่นานมานี้ มีการศึกษาถึงการเกิดของโรคข้อเสื่อมในช้าง ซึ่งเป็นสัตว์บกที่มีขนาดลำตัวใหญ่ที่สุดในโลก มีน้ำหนักตัวมาก และมักมีอาการเจ็บขาเรื้อรัง โดยโรคข้อเสื่อมเป็นโรคระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อที่พบได้บ่อยมากที่สุดโรคหนึ่งในช้าง (Houck, 1993; Forstenpointner et al., 2001;Hittmair & Vielgrader, 2000; Weissengruber et al., 2006) และยังเป็นสาเหตุสำคัญของอาการขากะเผลก (lameness) อีกด้วย (Hittmair & Vielgrader, 2000) ผลงานวิจัยหนึ่งที่ทำการศึกษาถึงแคแทบอลิซึมของกระดูกอ่อนในช้างเอเชียด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนข้อต่อพบว่า ในการเลี้ยงระยะสั้นภายใต้การกระตุ้นด้วย IL-1β มีการสลายของ HA ออกมาสู่น้ำเลี้ยงเนื้อเยื่อเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Tangyuenyong et al., 2012) ซึ่งตรงกับหลายงานวิจัยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนของสุกรและม้า แต่การเลี้ยงแบบระยะยาวไม่พบความแตกต่างของค่าสะสมการสลาย HA จากกลุ่มควบคุม และไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มที่ให้ IL-1β กับกลุ่มควบคุมในการสลาย s-GAG และปริมาณกรดยูโรนิคที่คงเหลืออยู่ในชิ้นเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน รวมทั้งพบการทำงานของเอนไซม์ MMP-2

ในกลุ่มที่ให้ IL-1β มีระดับต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (Tangyuenyong et al., 2012) ซึ่งสวนทางกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้ในเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนของสุกรและม้าที่พบว่า IL-1β เพิ่มการสลายของ s-GAG ลดปริมาณกรดยูโรนิคที่คงเหลืออยู่ในชิ้นเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน และกระตุ้นให้เกิดการทำงานของ MMP-2 เพิ่มสูงขึ้น และยังพบอีกว่า เมื่อเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนช้าง จำนวนเซลล์กระดูกอ่อนและลักษณะของเมทริกซ์ไม่มีความแตกต่างกัน แต่พบว่าเซลล์ในกลุ่มได้รับ IL-1β มีขนาดค่อนข้างใหญ่กว่ากลุ่มควบคุมเล็กน้อย แสดงถึงเซลล์ถูกกระตุ้นโดย IL-1β ให้ทำงานมากขึ้นในชั่วระยะเวลาหนึ่ง แม้ผลการศึกษาในบางประเด็นของงานกระดูกอ่อนข้อต่อช้างจะไม่ตรงกันกับผลการศึกษาในสัตว์ชนิดอื่นข้างต้น แต่การศึกษานี้ได้สรุปและวิจารณ์ไว้อย่างน่าสนใจว่า ระดับความเข้มข้นของ IL-1β ที่ใช้ในการศึกษาอาจไม่ใช่ความเข้มข้นที่มากพอและเหมาะสมสำหรับการเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลายของเนื้อกระดูกอ่อนในช้าง ซึ่งน่าจะมีเหตุผลมาจากกระดูกอ่อนข้อต่อของช้างนั้นมีความหนาค่อนข้างมาก โดยโครงสร้างภายในประกอบไปด้วยเมทริกซ์เป็นปริมาณมาก เส้นใยคอลลาเจนหนา แต่มีโปรตีโอกลัยแคนปริมาณน้อย เพื่อให้กระดูกอ่อนข้อต่อมีคุณสมบัติยืดหยุ่น แข็งแรง เหมาะสมต่อการรับและทนต่อแรงกด (compressive load) อันมหาศาลจากน้ำหนักตัวและการเคลื่อนไหวได้โดยไม่ก่อให้เกิดการผิดรูป ซึ่งอาจทำให้การเข้าถึงของ IL-1β ที่จะไปกระตุ้นให้เกิดกระบวนการสลายเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนเกิดขึ้นได้น้อย ความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองนี้จึงเพียงทำให้เนื้อเยื่อเริ่มมีการสลาย แต่ไม่สูงมากพอที่จะทำให้เกิดการสลายมากกว่าการสร้าง เพียงทำให้เซลล์พยายามรักษาสมดุลโดยเพิ่มการทำงานขึ้น และเป็นผลให้พบปริมาณสารที่เป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนในน้ำเลี้ยงที่มี IL-1β มีค่าไม่ต่างจากภาวะไม่มีสารกระตุ้น โดยผู้วิจัยกล่าวว่าหากเพิ่มความเข้มข้นของ IL-1β ให้มากขึ้น ผลที่ได้น่าจะสอดคล้องกับผลการศึกษาที่ใช้เนื้อเยื่อกระดูกอ่อนของสัตว์ชนิดอื่น (Tangyuenyong et al., 2012)

บทสรุป

จากการศึกษาเมตาบอลิซึมของกระดูกอ่อนข้อต่อในมนุษย์และสัตว์หลายชนิด โดยใช้วิธีการติดตามตรวจวัดสารชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบของเนื้อกระดูกอ่อนในน้ำไขข้อ หรือด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเซลล์กระดูกอ่อน รวมถึงการทดลองที่ทำในสัตว์ทดลองข้างต้น ทำให้ได้มาซึ่งข้อมูลและองค์ความรู้สำคัญที่ช่วยให้เกิดความรู้ความเข้าใจในกระบวนการเกิดของโรคข้อเสื่อมในสัตว์ ซึ่งมีทั้งความเหมือนและความแตกต่างกันออกไปตามแต่ละชนิด ทั้งยังก่อให้เกิดการค้นคว้าวิจัยต่อเนื่องถึงวิธีการตรวจวินิจฉัย การรักษา และการจัดการโรคข้อเสื่อมให้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสมกับสัตว์แต่ละชนิดรวมถึงมนุษย์ อันเป็นประโยชน์ต่อวงการแพทย์ สัตวแพทย์ และเภสัชกรรม รวมทั้งช่วยให้มนุษย์และสัตว์มีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น อย่างไรก็ดี ยังต้องมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับโรคข้อเสื่อมต่อไป เพื่อหาวิธีชะลอหรือป้องกันไม่ให้เกิดโรคข้อเสื่อมก่อนเวลาอันควร และหาวิธีการรักษาแบบใหม่ เช่น การรักษาด้วยสมุนไพร เพื่อลดผลข้างเคียงจากการใช้ยาแผนปัจจุบัน

เอกสารอ้างอิง

Alwan, W.H., Carter, S.D., Dixon, J.B., Bennett, D., May, S.A., Edwards, G.B. (1991). Interleukin-1-like activity in synovial fluids and sera of horses with arthritis. *Research in Veterinary Science*, 51, 72–77.

Amin, A.R., Attur, M., Patel, R.N., Thakker, G.D., Marshall, P.J., Rediske, J. et al. (1997). Superinduction of cyclooxygenase-2 activity in human osteoarthritis-affected cartilage. Influence of nitric oxide. *Journal of Clinical Investigation*, 99(6), 1231–1237.

Brama, P.A., Tekoppele, J.M., Beekman, B., van El, B., Barneveld, A., van Weeren, P.R. (2000). Influence of development and joint

pathology on stromelysin enzyme activity in equine synovial fluid. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 59, 155–157.

Brama, P.A., Tekoppele, J.M., Beekman, B., van Weeren, P.R., Barneveld, A. (1998). Matrix metalloproteinase activity in equine synovial fluid: influence of age, osteoarthritis, and osteochondrosis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 57, 697–699.

Buckwalter, J.A., Mankin, H.J., Grodzinsky, A.J. (2005). Articular cartilage and osteoarthritis. *Instructional Course Lectures*, 54, 465-480.

Busschers, E., Holt, J.P., Richardson, D.W. (2010). Effects of glucocorticoids and interleukin-1b on expression and activity of aggrecanases in equine chondrocytes. *American Journal of Veterinary Research*, 71, 176-185.

Chaiwongsa, R., Ong-chai, S., Tangyuenyong, S., Kongtawelert, P., Panthong, A., Reutrakul,V. (2012). Chondroprotective potential of bioactive compounds of Zingiber cassumunar Roxb.against cytokine-induced cartilage degradation in explant culture. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(39), 5204-5213.

Clegg, P.D., Coughlan, A.R., Riggs, C.M., Carter, S.D. (1997). Matrix metalloproteinases 2 and 9 in equine synovial fluids. *Equine Veterinary Journal*, 29, 343–348.

Clements, D.N., Carter, S.D., Innes, J.F., Ollier, W.E., Day, P.J. (2006). Analysis of normal and osteoarthritic canine cartilage mRNA expression by quantitative-PCR. *Arthritis Research and Therapy*, 8, R158.

Clements, D.N., Fitzpatrick, N., Carter, S.D., Day, P.J. (2009). Cartilage gene expression correlates with radiographic severity of canine elbow osteoarthritis. *The Veterinary Journal*, 179, 211–218.

Compare, W.D. (1996). *Extracellular Matrix Volume 1: Tissue Function*, Amsterdam: Harwood Academic Publishers.

Cook, J.L., Anderson, C.C., Kreeger, J.M., Tomlinson, J.L. (2000). Effects of human recombinant interleukin-1 beta on canine articular chondrocytes in three-dimensional culture. *American Journal of Veterinary Research*, 61(7), 766-770.

De Clerck, L.S., De Gendt, C.M., Bridts, C.H., van Osselaer, N., Stevens, W.J. (1995). Expression of neutrophil activation markers and neutrophil adhesion to chondrocytes in rheumatoid arthritis patients: relationship with disease activity. *Research in Immunology*, 146, 81–87.

De Grauw, J.C., van de Lest, C.H.A., van Weeren, P.R. (2009). Inflammatory mediators and cartilage biomarkers in synovial fluid after a single inflammatory insult: a longitudinal experimental study. *Arthritis Research & Therapy*, 11(2), R35. doi: 10.1186/ar2640

Esneault, S.M. (1996). "Osteoarthritis or Degenerative Arthritis in Dogs, Cats, Horses, Birds, and Other Pets". Retrieved from http://www.critterology.com/osteoarthritis_or_degenerative_arthritis_in_dogs_cats_horses-184.html

Felson, D.T. (2004). Epidemiology of the rheumatic diseases.In W.J. Koopman & L.W. Moreland (Eds.), *Arthritis and Allied*

Conditions: A Textbook of Rheumatology (pp. 1-36). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Fiorito, S., Magrini, L., Adrey, J., Mailhe, D., Brouty-Boye, D. (2005). Inflammatory status and cartilage regenerative potential of synovialfibroblasts from patients with osteoarthritis and chondropathy. *Rheumatology*, 44, 164–171.

Flannery, C.R., Little, C.B., Caterson, B., Hughes, C.E. (1999). Effects of culture conditions and exposure to catabolic stimulators (IL-1 and retinoic acid) on the expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and disintegrin metalloproteinases (ADAMs) by articular cartilage chondrocytes. *Matrix Biology*, 18(3), 225-237.

Flannery, C.R., Little, C.B., Hughes, C.E, Caterson, B. (2000). Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and disintegrin metalloproteinases (ADAMs) in experimental systems of cartilage matrix degradation. *International Journal* of Experimental Pathology, 81(1), A12–A13. doi: 10.1046/j.1365-2613.2000.0145o.x

Forstenpointner, G., Weissengruber, G., Kubber-Heiss, A., Hittmair, K., Konar, M. (2001). Morphological features of the stifle joint of the African elephant (Loxodonta africana, Blumenbach 1797). *Journal of Morphology*, 248, 230.

Frazer, A., Bunning, R.A., Russe, R.G. (1994). Effects of transforming growth factor beta and interleukin-1 beta on [3H] thymidine incorporation by human articular chondrocytes in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1226(2), 193-200.

Frean, S.P., Bryant, C.E., Froling, I.L., Elliott, J., Lees, P. (1997). Nitric oxide production by equine articular cells in vitro. *Equine Veterinary Journal*, 29(2), 98–102.

Goldring, M.B. (2006). Update on the biology of the chondrocyte and new approaches to treating cartilage diseases. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 20, 1003–1025.

Gregg, A.J., Fortier, L.A., Mohammed, H.O., Mayr, K.G., Miller, B.J., Haupt, J.L. (2006). Assessment of the catabolic effects of interleukin-1β on proteoglycan metabolism in equine cartilage cocultured with synoviocytes. *American Journal of Veterinary Research*, 67(6), 957-962.

Hardingham, T. E. & Fosang, A. J. (1992). Proteoglycan: many forms and many functions. The Journal of the Federation of *American Societies for Experimental Biology*, 6, 861-870.

Hedlung, H., Mengarelli-Widholm, S., Reinholt, F.P., Svensson, O. (1993). Stereologic studies on collagen in bovine articular cartilage. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 101(2), 133–140.

Hittmair, K.M. & Vielgrader, H.D. (2000). Radiographic diagnosis of lameness in African elephants *(Loxodonta africana). Veterinary Radiology & Ultrasound*, 41(6), 511–515.

Horky, D. & Tichy, F. (2004).Submicroscopic structure of canine articular cartilage. *Veterinarni Medicina*, 49(6), 207–216.

Horky, D. (1991a). Submicroscopic structure of articular cartilage in human embryos six to eleven weeks old. *Acta* Veteriniaria *Brno*, 60, 15–30.

Horky, D. (1991b). Submicroscopic structure of human articular cartilage in the period between 19 to 38 weeks after fertilization. *Acta* Veteriniaria *Brno*, 60, 111–126. Horky, D. (1991c). The submicroscopic structure of articular cartilage in swine in the early postnatal period. *Acta* Veteriniaria *Brno*, 60, 323–334.

Horky, D. (1993). The ultrastructure of articular cartilage in the prenatal domestic cat. *Acta* Veteriniaria *Brno*, 62, 115–120.

Horky, D. (1994a). Feline articular cartilage in the prenatal and early postnatal periods. A scanning electron microscopic study. *Acta* Veteriniaria *Brno*, 63, 33–39.

Horky, D. (1994b). The submicroscopic structure of caprine articular cartilage in ontogeny. *Acta* Veteriniaria *Brno*, 63, 41–48.

Houck, R. (1993). Veterinary care of performing elephants. In M.E. Fowler (Ed.), *Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy 3* (pp. 453–455). Philadelphia: W.B. Saunders.

Hughes, C.E., Little, C.B., Buttner, F.H., Bartnik, E., Caterson, B. (1998). Differential Expression of Aggrecanase and Matrix Metalloproteinase Activity in Chondrocytes Isolated from Bovine and Porcine Articular Cartilage. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(46), 30576–30582.

Ishiguro, N., Kojima, T., Robin Poole, A. (2002). Mechanism of Cartilage Destruction in Osteoarthritis. *Nagoya Journal of Medical* Science, 65, 73-84.

Kamm, J.L., Nixon, A.J., Witte, T.H. (2010). Cytokine and catabolic enzyme expression in synovium, synovial fluid and articular cartilage of naturally osteoarthritic equine carpi. *Equine Veterinary Journal*, 42(8), 693-9.doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00140.x.

Koike, T. (2006). Destruction of articular cartilage. *Clinical Calcium*, 16(9), 1543-1547.

Lawrence, R.C., Helmick, C.G., Arnett, F.C., Deyo, R.A., Felson, D.T., Giannini, E.H. etal. (1998). Estimates of the prevalence of arthritis and selected musculoskeletal disorders in the United States. *Arthritis & Rheumatism*, 41, 778-799.

Little, C. B., Flannery, C. R, Hughes, C. E., Goodship, A., Caterson, B. (2005). Cytokine induced metalloproteinase expression and activity does not correlate with focal susceptibility of articular cartilage to degeneration. *Osteoarthritis and Cartilage*, 13, 162-170.

Little, C.B., Flannery, C.R., Hughes, C.E., Mort, J.S., Roughley, P.J., Dent, C. et al. (1999). Aggrecanase versus matrix metalloproteinases in the catabolism of the interglobular domain of aggrecan in vitro. *Biochemical Journal*, 344, 61-68.

Lorenz, H., Wenz, W., Ivancic, M., Steck, E., Richter, W. (2005). Early and stable upregulation of collagen type II, collagen type I and YKL40 expression levels in cartilage during early experimental osteoarthritis occurs independent of joint location and histological grading. *Arthritis Research and Therapy*, 7, R156–R165.

Macrory, L., Vaughan-Thomas, A., Clegg, P.D., Innes, J.F.(2009).An exploration of the ability of tepoxalin to ameliorate the degradation of articular cartilage in a caninein vitro model. *BMC Veterinary Research*, 5(25).doi: 10.1186/1746-6148-5-25.

Martel-Pelletier, J., Alaaeddine, N., Pelletier, J.P. (1999). Cytokines and their role in the pathophysiology of osteoarthritis. *Frontiers in Bioscience*, 4, D694–D703.

McIlwraith, C.W. (1997, 21-22 November). Traumatic joint injuries and disease.In T.S. Stashak, D.A. Hendrickson, C.W. McIlwraith, G.W. Trotter W, G.M. Baxter (Eds.),In – depth short course for the horseman: Referred from *proceeding of Lameness in the horse: An in – depth short course for the horseman* (pp. 22-44). Colorado: Equine Sciences of Colorado State University. McIlwraith, C.W. (2005). Frank Milne Lecture: from Arthroscopy to Gene Therapy-30 Years of Looking in Joints. *Proceedings of American Association of Equine Practitioners (AAEP)*, 51, 65–113.

Mengshol, J.A., Vincenti, M.P., Coon, C.I., Barchowsky, A., Brinckerhoff, C.E. (2000) Interleukin-1 induction of collagenase 3 (matrix metalloproteinase 13) gene expression in chondrocytes requires p38, c-jun N-terminal kinase, and nuclear factor κB: Differential regulation of collagenase 1 and collagenase 3. *Arthritis & Rheumatism*, 43(4), 801-811.

Morris, E.A., Mcdonald, B.S., Webb, A.C., Rosenwasser, L.J. (1990). Identification of interleukin-1 in equine osteoarthritic joint effusions. *American Journal of Veterinary Research*, 51, 59–64.

Nganvongpanit, K. (2008). Canine osteoarthritis. Bangkok: Chulalongkorn University Press.

Oke, S. (2009). "Equine Osteoarthritis: The Economic Impact". Retrieved from http://www.thehorse.com/ViewArticle.aspx?ID=14841.

Ong-chai, S., Chaiwongsa, R., Viriyakhasem, N., Pompimon, W., Tangyuenyong, S. (2008). Effect of Active Compounds from *Andrographis paniculata* (Nees) on Protection of Equine Articular Cartilage Degradation *In Vitro*. *KKU Veterinary Journal*, 18(2), 81-96.

Paradis, M., Sauve, F., Charest, J., Refsal, K.R., Moreau, M., Dupuis, J. (2003). Effects of moderate to severe osteoarthritis on canine thyroid function. *Canadian Veterinary Journal-Revue Veterinaire Canadienne*, 44(5), 407-412.

Pearle, A.D., Scanzello, C.R., George, S., Mandl, L.A., Dicarlo, E.F., Peterson, M. et al. (2007). Elevated high-sensitivity C-reactive protein levels are associated with local inflammatory findings in patients with osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 15, 516–523.

Pearson, W., Orth, M.W., Lindinger, M.I. (2009). Evaluation of inflammatory responses induced via intra-articular injection of interleukin-1 in horses receiving a dietary nutraceutical and assessment of the clinical effects of long-term nutraceutical administration. *American Journal of Veterinary Research*, 70, 848-861.

Phitak, T. (2010). *Molecular investigation of phytochemicals having effects on human chondrocyte metabolism*. Thesis Master of Biochemistry, The Graduate school, Chiang Mai University.

Phitak, T., Pothacharoen, P., Settakorn, J., Poompimol, W., Caterson, B., Kongtawelert, P. (2012). Chondroprotective and anti-inflammatory effects of sesamin. *Phytochemistry*, 80, 77-88.

Pothacharoen, P., Choocheep, K., Pitak, T., Pompimon, W., Premanode, B., Hardingham, T. et al. (2006). Effect of Alpinia galanga extract on cartilage degradation and on gene expression in human chondrocyte and synovial fibroblast metabolism. *Central European* Journal *of Biology*, 1(3), 430-450.

Richardson, D.W. & Dodge, G.R. (2000). Effects of interleukin-1ß and tumor necrosis factor-α on expression of matrix-related genes by cultured equine articular chondrocytes. *American Journal of Veterinary Research*, 61(6), 624-630.

Ross, T.N., Kisiday, J.D., Hess, T., McIlwraith, C.W. (2012). Evaluation of the inflammatory response in experimentally induced synovitis in the horse: a comparison of recombinant equine interleukin 1 beta and lipopolysaccharide. *Osteoarthritis and Cartilage*, 20(12), 1583-1590. doi: 10.1016/j.joca.2012.08.008

Schulte, E., Fisseler-Eckhoff, A., Muller, K.M. (1994).Differential diagnosis of synovitis. Correlation of arthroscopic-biopsy to clinical findings. *Pathologe*, 15(1), 22–27.

Sellam, J. &Berenbaum, F. (2010).The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 6(11), 625-35.

Souich, P.D. (2008). The Role of Synovitis in the Physiopathology of Osteoarthritis – Effects of Chondroitin Sulphate. From European Musculoskeletal Review, Retrieved from http://www.touchbriefings.com/pdf/3196/souich.pdf

Stabellini, G., De Mattei, M., Calastrini, C., Gagliano, N., Moscheni, C., Pasello, M. et al. (2003). Effects of interleukin-1b on chondroblast viability and extracellular matrix changes in bovine articular cartilage explants. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57, 314–319.

Stockwell, R. A. (1967). The cell density of human articular and costal cartilage. *Journal of Anatomy*, 101, 753–763.

Stockwell, R.A. (1978). Chondrocytes. *Journal of Clinical Pathology*, supplements 12, 7-13.

Sutton, S., Clutterbuck, A., Harris, P., Gent, T., Freeman, S., Foster, N. etal. (2009). The contribution of the synovium, synovial derived inflammatory cytokines and neuropeptides to the pathogenesis of osteoarthritis. *The Veterinary Journal*, 179(1), 10-24. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.08.013.

Takafuji, V.A., McIlwraith, C.W., Howard, R.D. (2002). Effects of equine recombinant interleukin-1alpha and interleukin-1beta on proteoglycan metabolism and prostaglandin E2 synthesis in equine articular cartilage explants. *American Journal of Veterinary Research*, 63(4), 551-

558.

Tangyuenyong, S., Viriyakhasem, N., Aungsuchawan, S., Peansukmanee, S., Thitaram, C., Kongtawelert, P. et al. (2012). Catabolism of Asian Elephant Cartilage Matrix Biomolecules in Explant Culture. *KKU Veterinary Journal*, 22(2), 107-123.

The structure of aggrecan aggregate. Adapted from *SpringerImages*, by Springer-Verlag Berlin Heidelberg. (2012). Retrieved from: http://www.springerimages.com/Images/MedicineAndPublicHealth/1-10.1007_978-3-642-02450-4_3-1

Todhunter, R.J. (1996). Anatomy and physiology of synovial joints. In C.W. McIlwraith & G.W. Trotter (Eds.), *Joint disease in the horse* (pp. 1-28). Philadelphia: W.B. Saunders.

Tung, J.T., Fenton, J.I., Arnold, C., Alexander, L., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Venta, P.J. et al. (2002). Recombinant equine interleukin-1_ induces putative mediators of articular cartilage degradation in equine chondrocytes. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 66, 19-25.

Tung, J.T., Venta, P.J., Caron, J.P. (2002). Inducible nitric oxide expression in equine articular chondrocytes: effects of antiinflammatory compounds. *Osteoarthritis and Cartilage*, 10, 5–12.

von Rechenberg, B., McIlwraith, C.W., Akens, M.K., Frisbie, D.D., Leutenegger, C., Auer, J.A. (2000). Spontaneous production of nitric oxide (NO), prostaglandin (PGE2) and neutral metalloproteinases (NMPs) in media of explant cultures of equine synovial membrane and articular cartilage from normal and osteoarthritic joints. *Equine Veterinary Journal*, 32, 140–150.

Weissengruber, G.E., Fuss, F.K., Egger, G.F., Stanek, G., Hittmair, K.M., Forstenpointner, G. (2006). The elephant knee joint: Morphological and biomechanical considerations. *Journal of* Anatomy, 208, 59–72.