

เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2549;4(2):83-99.

นิพนธ์ต้นฉบับ

## การเปรียบเทียบระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทป ในซีรัมของม้าปกติกับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ ภาวะกระดูก และกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นหรือภาวะข้อเสื่อม

ศิริวรรณ ตั้งยืนยง,<sup>1</sup> ภาวิน ผดุงทศ,<sup>2</sup> รัชนีวรรณ ศรีหิรัญรัตน์,<sup>3</sup> ศิริวรรณ องคไชย<sup>3</sup>

<sup>1</sup>บัณฑิตวิทยาลัย,<sup>2</sup>สาขาวิชาสัตวแพทยศาสตร์ สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์,  
<sup>3</sup>หน่วยวิจัยที่มีความเป็นเลิศทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อแห่งประเทศไทย ภาควิชาชีวเคมี  
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**บทคัดย่อ** การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปชนิด WF6 (WF6 epitope) ในซีรัมของม้าปกติกับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น หรือภาวะข้อเสื่อม และเปรียบเทียบระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปชนิด WF6 ในซีรัมของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นระหว่างก่อนและหลังทำการรักษาด้วยการผ่าตัดส่องกล้อง ทำการเก็บตัวอย่างซีรัมจากม้า อายุ 2-9 ปี ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ นครราชสีมา สระบุรีและขอนแก่น เป็นกลุ่มมาปกติ 50 ตัว ม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ 6 ตัว ม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น 12 ตัวและกลุ่มม้าที่มีภาวะข้อเสื่อม 24 ตัว นำตัวอย่างมาตรวจค่าไลทีวิตวิทยา ค่าเคมีคลินิกและวัดปริมาณของ WF6 epitope ด้วย competitive inhibition ELISA ผลการศึกษาพบว่า ม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น และม้าที่มีภาวะข้อเสื่อม มีความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ในซีรัมต่ำกว่าในมาปกติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อควบคุมอายุและสายพันธุ์ของม้าในการเปรียบเทียบ และพบว่าการเจ็บป่วยรวมทั้งการใช้งานในมามีความสัมพันธ์กับความเข้มข้น WF6 epitope ในซีรัมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) การเปรียบเทียบระดับ WF6 epitope ในซีรัมของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นระหว่างก่อนและหลังทำการรักษาด้วยการผ่าตัดส่องกล้องพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ณ สัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 หลังการรักษา ตามลำดับ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคข้อ ดังนั้น WF6 epitope อาจเป็น biological marker ที่ใช้สำหรับบ่งชี้ถึงขบวนการทำลายกระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อและอาจใช้เพื่อวินิจฉัยหรือติดตามการรักษาโรคข้อในมาได้ **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2549;4(2):83-99.**

**คำสำคัญ:** ม้า คอนดรอยตินซัลเฟต ภาวะข้ออักเสบ ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น ภาวะข้อเสื่อม

ติดต่อขอสำเนาบทความได้ที่: อ.สพญ. ศิริวรรณ ตั้งยืนยง, สาขาวิชาคลินิกม้า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100; E-mail:makhaboocha@hotmail.com

ได้รับบทความวันที่ 9 พฤษภาคม 2549

## บทนำ

โรคข้อต่อ (joint disease) เป็นสาเหตุที่พบบ่อยในมา ทำให้มีอาการขาอะและ เป็นสาเหตุหลักประการหนึ่งที่ทำให้มาไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ<sup>(1-2)</sup> รวมทั้งก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจต่อเจ้าของมาเป็นอย่างมาก การบาดเจ็บของข้อต่อ (traumatic joint injury) มักเกิดกับข้อต่อที่มีการเคลื่อนไหวโดยมีกลุ่มอาการ เช่น ภาวะข้ออักเสบ (arthritis), เยื่อหุ้มข้ออักเสบ (synovitis), ถุงหุ้มข้ออักเสบ (capsulitis), กระดูกแตก (bone fracture) และข้อเสื่อม (osteoarthritis; OA)<sup>(3)</sup> ซึ่งเกิดจากการที่ข้อต่อและเนื้อเยื่อบริเวณใกล้เคียงได้รับบาดเจ็บจากแรงกระทบกระแทกในการใช้งาน

จากการศึกษาพบว่ามาแข่งพันธุ์โทโรเบรดมักได้รับบาดเจ็บที่ขาหน้าถึงร้อยละ 80<sup>(4)</sup> และพบว่าร้อยละ 90 ของการบาดเจ็บเกิดจากการแตกของกระดูกขาหน้า โดยพบการแตกของกระดูกลูกกรอก (proximal sesamoid bones) และกระดูกหน้าแข้ง (3<sup>rd</sup> metacarpus) บ่อยที่สุด<sup>(5)</sup> ส่วนการศึกษาในมาก็ีพบว่าร้อยละ 44.8 ของมาที่เสียชีวิตหรือถูกคัตทิ้งมีสาเหตุมาจากปัญหาโรคข้อเสื่อมและร้อยละ 16.5 เกิดจากการแตกของกระดูก<sup>(6)</sup> เมื่อข้อต่อได้รับบาดเจ็บจนมีการแตกของกระดูกและกระดูกอ่อน (osteochondral fracture; OC) ทำให้มีชิ้นส่วนของกระดูกและกระดูกอ่อนที่แตกอยู่ภายในข้อต่อ (chip fragment) ซึ่งไปเสียดสีกับเยื่อหุ้มข้อโดยตรง ส่งผลให้มีขบวนการอักเสบเกิดขึ้น โดยเซลล์เยื่อหุ้มข้อ (synovocyte) จะหลั่งสารสื่ออักเสบ (destructive inflammatory mediators)

และเอนไซม์ (catabolic enzymes) เข้าสู่ น้ำไขข้อ (synovial fluid) เป็นผลให้กระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อ (articular cartilage) ถูกทำลาย จนในที่สุดเกิดภาวะข้อเสื่อมตามมา<sup>(7)</sup>

ปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยโรคข้อเสื่อมในมาสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การตรวจวินิจฉัยขั้นพื้นฐาน ได้แก่ การตรวจร่างกายทางกายภาพ (physical examination) การถ่ายภาพทางรังสี (radiography) หรือการใช้วิธีการตรวจวินิจฉัยในขั้นที่สูงขึ้น ได้แก่ nuclear scintigraphy magnetic resonance imaging (MRI) ซึ่งแม้ว่าจะให้ข้อมูลช่วยในการวินิจฉัยได้มากกว่า แต่มีค่าใช้จ่ายสูง และยังไม่เป็นที่แพร่หลายในการตรวจวินิจฉัยโรคข้อของมาในประเทศไทย โดยทั่วไปจะอาศัยการตรวจร่างกายทางกายภาพ ร่วมกับการถ่ายภาพทางรังสี ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก ค่าใช้จ่ายไม่สูงแต่มีความไวต่ำ โดยเฉพาะการตรวจวินิจฉัยภาวะข้อเสื่อมในระยะเริ่มแรก มีการศึกษาพบว่า การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของโรคข้อเสื่อมไม่มีความสัมพันธ์กับอาการทางคลินิก<sup>(8)</sup> และการตรวจวินิจฉัยด้วยการถ่ายภาพทางรังสีจะสามารถบ่งชี้ถึงความผิดปกติภายในข้อต่อได้ ก็ต่อเมื่อขบวนการของโรคและพยาธิสภาพได้มีการดำเนินไปมากจนยากที่จะทำการรักษาให้กลับมามีสภาพเดิมได้<sup>(9)</sup> ดังนั้นนักวิจัยจึงพยายามที่จะหาสารบ่งชี้ทางชีวภาพ (biological markers) ซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุลที่สามารถบ่งบอกถึงพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นภายในข้อต่อของมาได้โดยนำมาใช้ร่วมกับการตรวจวินิจฉัยทางกายภาพและการถ่ายภาพทางรังสี เพื่อสามารถวินิจฉัยโรคข้อในมาได้รวดเร็วและ

แม่นยำมากขึ้น รวมทั้งนำไปติดตามการรักษาหรืองานทดลองที่เกี่ยวข้องกับยาหรือวิธีการรักษาโรคข้อเพื่อวางแผนป้องกันการเกิดโรคข้อเสื่อมในอนาคต

กระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อ เป็นกระดูกอ่อนชนิดไฮยาลิน (hyaline cartilage) มีองค์ประกอบคือเซลล์ (chondrocyte) และเนื้อกระดูกอ่อน (extracellular matrix) ซึ่งประกอบไปด้วยโปรตีโกลัยแคน (proteoglycan) เส้นใยคอลลาเจน (collagen fiber) และกลัยโคโปรตีน (glycoprotein) ต่างๆ คอนดรอยตินซัลเฟต (chondroitin sulfate; CS) เป็นกลัยโคซามิโนกลัยแคน (glycosaminoglycan; GAG) ที่สำคัญและมีอยู่มากที่สุดในเนื้อกระดูกอ่อน โดยสายคอนดรอยตินซัลเฟตจะสร้างพันธะโควาเลนต์เกาะกับแกนโปรตีน (core protein) ของโปรตีโกลัยแคนซึ่งจับอยู่กับไฮยาลูโรแนน<sup>(10)</sup> เมื่อม้ามามีภาวะข้ออักเสบหรือข้อเสื่อมเกิดขึ้น คอนดรอยตินซัลเฟตจะถูกทำลายและหลุดออกจากเนื้อกระดูกอ่อนเข้าสู่น้ำไขข้อ หลังจากนั้นจะดูดซึมเข้าสู่ระบบหมุนเวียนเลือดและถูกกำจัดลงที่ตับในที่สุด ดังนั้นจึงสามารถตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของคอนดรอยตินซัลเฟตทั้งในเนื้อกระดูกอ่อน น้ำไขข้อ และในซีรัม เพื่อศึกษาเมตะบอลิซึม (cartilage metabolism) และพยาธิสภาพของกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อได้<sup>(11)</sup>

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาปริมาณคอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัมของม้าปกติเปรียบเทียบกับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ กระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น หรือข้อเสื่อม และเปรียบเทียบปริมาณคอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัม

ของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นในข้อระหว่างก่อนและหลังทำการรักษาโดยการผ่าตัดข้อต่อด้วยวิธีส่องกล้อง (arthroscopic surgery) โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี monoclonal antibody, mAb) ที่มีความจำเพาะต่อสายคอนดรอยตินซัลเฟต ชนิด WF6 ที่ผลิตและพัฒนาขึ้นจากห้องปฏิบัติการวิจัยโรคกระดูกและข้อ (Bone and Joint Research Laboratories) คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

## วิธีการศึกษา

### ลักษณะประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างซีรัมจากม้า อายุ 2-9 ปี พันธุ์ไทยแท้ พันธุ์ผสม และพันธุ์ต่างประเทศในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ นครราชสีมา สระบุรีและขอนแก่น โดยแบ่งกลุ่มม้าออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. กลุ่มม้าปกติ (normal group) จำนวน 62 ตัว

ม้าทั้งหมดได้ผ่านการซักประวัติ การตรวจร่างกายทางกายภาพและการตรวจวินิจฉัยอาการขาเกะแผลก (lameness examination) แล้วพบว่าไม่มีอาการผิดปกติทางคลินิกและไม่มีอาการของโรคข้อ

2. กลุ่มม้าผิดปกติ (abnormal group) จำนวน 50 ตัว โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

1) ม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ จำนวน 6 ตัว

2) ม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น จำนวน 12 ตัว ซึ่งในจำนวนนี้มี 1 ตัวที่ทำการรักษาด้วยวิธีผ่าตัดส่องกล้อง

3) ม้าที่มีภาวะข้อเสื่อม จำนวน 32 ตัว

มาทั้งหมดได้ผ่านการตรวจวินิจฉัยโดยการซักประวัติ, การตรวจร่างกายทางกายภาพ, การตรวจวินิจฉัยอาการทางกระดูกและการถ่ายภาพทางรังสี<sup>(12-15)</sup>

### ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

1. ทำการเจาะเก็บเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณคอ (jugular vein) ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดและอีก 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดสำหรับเก็บซีรัม เพื่อนำไปตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกตามลำดับ และทำการเก็บรักษาตัวอย่างซีรัมที่ -20 °ซ จนกระทั่งนำมาตรวจวิเคราะห์ สำหรับมาตัวที่ทำการรักษาด้วยวิธีผ่าตัดส่องกล้องได้ทำการเจาะเก็บเลือดก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0) และหลังการรักษา ณ สัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 ตามลำดับ

2. ทำการเก็บน้ำไขข้อจากข้อเข่า (carpal joint) ของมามีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น จำนวน 2 ตัวและมามีภาวะข้อเสื่อม จำนวน 1 ตัว โดยเจาะเก็บจากข้อที่ผิดปกติและข้อปกติข้างตรงข้ามของมาตัวเดียวกัน ข้อละ 2 มิลลิลิตร โดยประมาณ ใส่ลงในหลอดสำหรับเก็บน้ำไขข้อ หลังจากนั้นนำน้ำไขข้อมาปั่นเหวี่ยงเพื่อทำการเก็บ supernate ลงใน microcentrifuge tube และเก็บรักษาตัวอย่างที่ -20 °ซ จนกระทั่งนำมาตรวจวิเคราะห์

### การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิก ได้แก่ complete blood count (CBC),

aspartate aminotransferase (AST, SGOT), creatinine หากตัวอย่างซีรัมมีค่า AST และหรือ creatinine สูงกว่าค่ามาตรฐาน<sup>(16)</sup> จะถูกคัดออกจากการทดลอง

2. ตรวจหาปริมาณคอนดอนรอยตินซัลเฟตอิพิโทป WF6 (WF6 epitope) ในซีรัมด้วยวิธี ELISA โดยใช้หลักการ competitive inhibition ELISA ตรวจหา WF6 epitope จากตัวอย่างซีรัมตามวิธีของเพียร์สุมณี<sup>(17)</sup> ในการวิเคราะห์จะใช้โปรตีนโกลบูลินที่สกัดได้จากกระดูกอ่อนของปลาฉลาม (shark PG) เป็น coating antigen และ competitor, ใช้ mAb WF6 เป็น primary antibody และใช้ conjugate anti - IgM conjugated peroxidase เป็น secondary antibody

### การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows version 11.0 และเลือกระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ( $p < 0.05$ ) เปรียบเทียบความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ระหว่างมากลุ่มปกติและผิดปกติด้วย student T-test และวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของระดับ WF6 epitope กับปัจจัยต่างๆ โดยใช้ analysis of variance (ANOVA) ทำการวิเคราะห์แต่ละปัจจัย (univariate analysis) และทำการวิเคราะห์แบบหลายปัจจัย (multivariable analysis) ด้วยการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงพหุ (multiple regression) โดยเลือกปัจจัยที่ค่า  $p < 0.15$  จาก univariate analysis

## ผลการศึกษา

### ประชากรม้าที่ศึกษา

จากผลการตรวจค่า AST และ creatinine ในซีรัมของม้าทั้งหมด พบว่าม้าปกติจำนวน 12 ตัวและม้าที่มีภาวะข้อเสื่อมจำนวน 8 ตัว ถูกคัดออกจากการศึกษา เนื่องจากมีค่า AST และหรือ creatinine สูงกว่าค่ามาตรฐาน ดังนั้นการตรวจหาปริมาณคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมจึงวิเคราะห์จากม้าในจำนวนทั้งสิ้น 92 ตัว เป็นม้าปกติ 50 ตัว ม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ 6 ตัว ม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น 12 ตัว และม้าที่มีภาวะข้อเสื่อม 24 ตัว

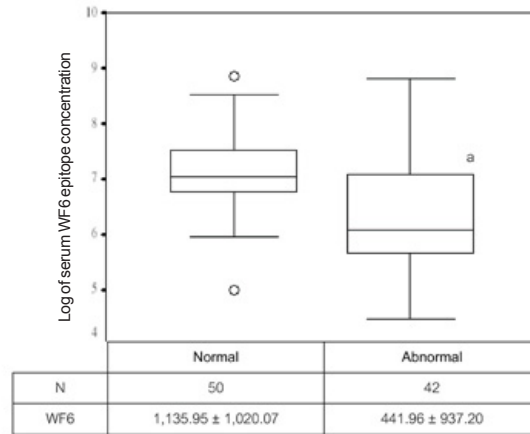
### การเปรียบเทียบระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมของม้าปกติกับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น หรือภาวะข้อเสื่อม

การวัดความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมของม้ากลุ่มผิดปกติเปรียบเทียบกับม้ากลุ่มปกติพบว่า ความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ในซีรัมของม้ากลุ่มผิดปกติต่ำกว่าม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p < 0.0001$ ) ดังแสดงในรูปที่ 1 และเมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมของม้าปกติกับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น และกับม้าที่มีภาวะข้อเสื่อมพบว่า ม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นและม้าที่มีภาวะข้อเสื่อมมีความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ในซีรัมต่ำกว่าในม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.001$ ,  $p = 0.021$ ,  $p = 0.002$  ตามลำดับ) ดังแสดงในรูปที่ 2

เมื่อดูการเปลี่ยนแปลงของระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมของม้าปกติที่ช่วงอายุต่างๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างของระดับความเข้มข้นเฉลี่ย WF6 epitope ในม้าที่มีอายุน้อยกว่า 2 ปี จนถึงอายุ 9 ปี อย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.122$ ) ดังแสดงในรูปที่ 3 และพบว่าม้าสายพันธุ์ไทยแท้, พันธุ์ผสมและพันธุ์ต่างประเทศมีความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p = 0.158$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4 แต่พบว่ามีความแตกต่างของระดับความเข้มข้นเฉลี่ย WF6 epitope ในม้าปกติที่ไม่ได้ใช้งาน (no training) กับม้าปกติที่ใช้งาน (working) โดยม้าปกติที่ใช้งานมีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope สูงกว่าในม้าปกติที่ไม่ได้ใช้งานอย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.008$ ) ดังแสดงในรูปที่ 5

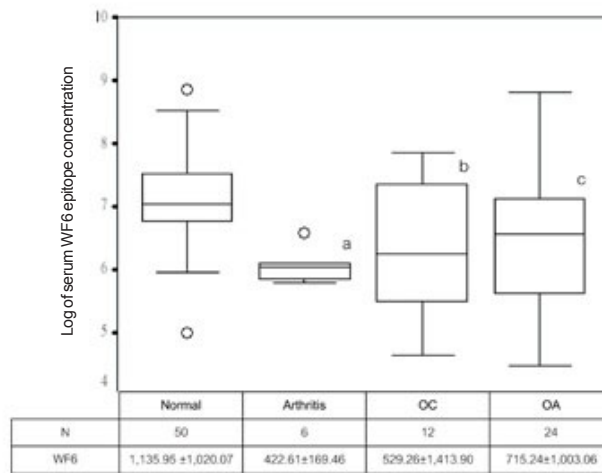
### ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัม

เมื่อทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของระดับความเข้มข้นเฉลี่ย WF6 epitope กับปัจจัยต่างๆ เช่น การเจ็บป่วยของข้อต่อ (diseased status), อายุ สายพันธุ์และการใช้งาน โดยทำการวิเคราะห์แบบหลายปัจจัย ด้วยการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงพหุ พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมอย่างมีนัยสำคัญ คือ การเจ็บป่วยของข้อต่อและการใช้งาน ( $R^2 = 0.245$ ) โดยเมื่อข้อต่อได้รับบาดเจ็บ พบว่าระดับความเข้มข้นของ WF6 epitope ลดต่ำลง แสดงถึงความสัมพันธ์แบบทิศทางตรงข้าม ( $p < 0.0001$ ,  $\beta = -0.545$ )



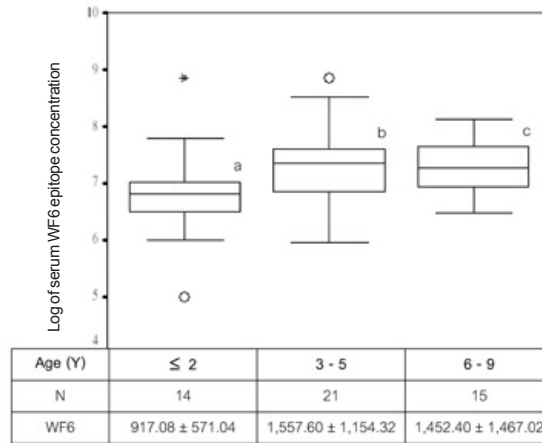
a = มีความแตกต่างทางสถิติ  $p < 0.0001$  เมื่อเปรียบเทียบกับ Normal

**รูปที่ 1.** แผนภาพเปรียบเทียบความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมของมักกลุ่มปกติ (normal group) กับมักกลุ่มผิดปกติ (abnormal group) เส้นกลางกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่ามัธยฐาน เส้นขอบกลางและขอบบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 และ 75 ตามลำดับ เส้นขีดแนวนอนด้านกลางและด้านบนนอกกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ยังไม่ผิดปกติตามลำดับ วงกลมแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติ ดอกจันแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติมาก N=จำนวนตัวอย่าง และ WF6 = ความเข้มข้นของ WF6 (ng/mL) แสดงค่ามัธยฐาน ทพิสัยควอไทล์ (Median ท IQR)



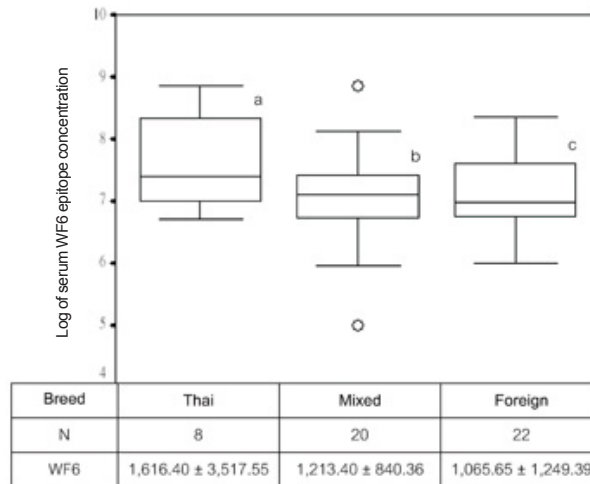
a, b, c = มีความแตกต่างทางสถิติ  $p = 0.001, p = 0.021, p = 0.002$  ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ Normal

**รูปที่ 2.** แผนภาพความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมของมักปกติ (normal) เปรียบเทียบกับมักที่มีภาวะมาที่มีภาวะข้ออักเสบ (arthritis), ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น (OC) และมักที่มีภาวะข้อเสื่อม (OA) เส้นกลางกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่ามัธยฐาน เส้นขอบกลางและขอบบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 และ 75 ตามลำดับ เส้นขีดแนวนอนด้านกลางและด้านบนนอกกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ยังไม่ผิดปกติตามลำดับ วงกลมแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติ ดอกจันแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติมาก N=จำนวนตัวอย่าง และ WF6 = ความเข้มข้นของ WF6 (ng/mL) แสดงค่ามัธยฐาน ทพิสัยควอไทล์ (median ท IQR)



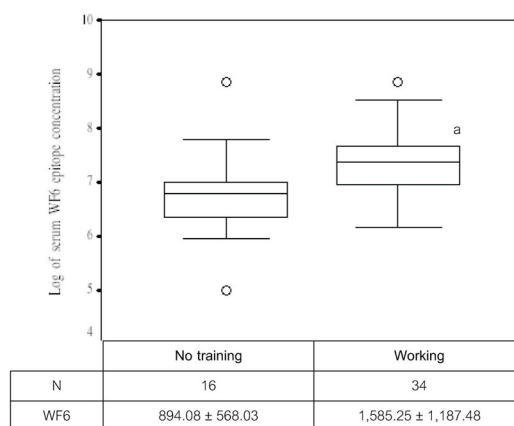
a, b, c = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ  $p=0.122$

**รูปที่ 3.** แผนภาพความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมของม้าปกติเปรียบเทียบกันในแต่ละช่วงอายุ (ปี) เส้นกลางกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่ามัธยฐาน เส้นขอบล่างและขอบบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 และ 75 ตามลำดับ เส้นขีดแนวนอนด้านกลางและด้านบนนอกกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ยังไม่ผิดปกติตามลำดับ วงกลมแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติ ดอกจันแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติมาก N=จำนวนตัวอย่าง และ WF6=ความเข้มข้นของ WF6 (ng/mL) แสดงค่ามัธยฐาน พิสัยควอไทล์ (median พว IQR)



a, b, c = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ  $p=0.158$

**รูปที่ 4.** แผนภาพความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมของม้าปกติเปรียบเทียบกันในแต่ละสายพันธุ์ (Thai = พันธุ์ไทยแท้, Mixed = พันธุ์ผสม, Foreign = พันธุ์ต่างประเทศ) เส้นกลางกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่ามัธยฐาน เส้นขอบล่างและขอบบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 และ 75 ตามลำดับ เส้นขีดแนวนอนด้านกลางและด้านบนนอกกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ยังไม่ผิดปกติตามลำดับ วงกลมแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติ ดอกจันแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติมาก N=จำนวนตัวอย่าง และ WF6 = ความเข้มข้นของ WF6 (ng/mL) แสดงค่ามัธยฐาน พิสัยควอไทล์ (median พว IQR)



a = มีความแตกต่างทางสถิติ  $p=0.008$  เมื่อเปรียบเทียบกับ No training

**รูปที่ 5.** แผนภาพเปรียบเทียบความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมของม้าปกติที่ไม่ได้ใช้งาน (No training) กับม้าปกติที่ใช้งาน (Working) เส้นกลางกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่ามัธยฐาน เส้นขอบกลางและขอบบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 และ 75 ตามลำดับ เส้นขีดแนวนอนด้านกลางและด้านบนนอกกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ยังไม่ผิดปกติตามลำดับ วงกลมแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติ ดอกจันแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติมาก N=จำนวนตัวอย่าง และ WF6 = ความเข้มข้นของ WF6 (ng/mL) แสดงค่ามัธยฐาน ± พิสัยควอไทล์ (Median ± IQR)

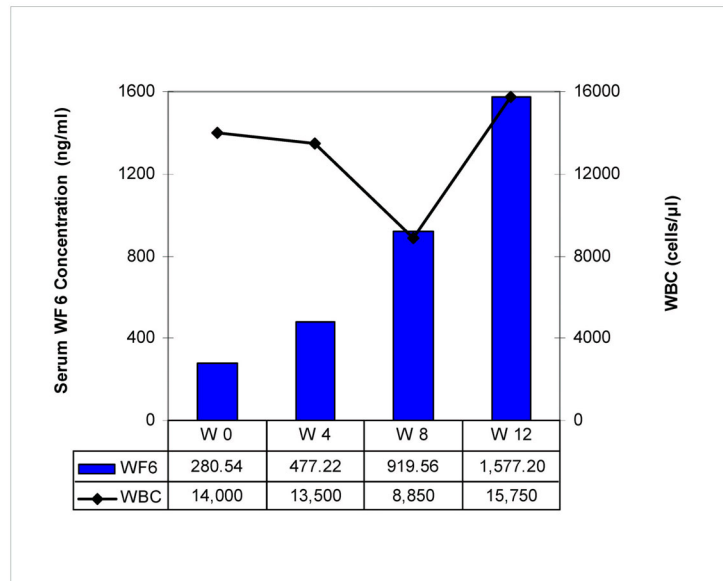
ส่วนการใช้งานมีความสัมพันธ์แบบทิศทางเดียวกัน ( $p=0.022, \beta=0.236$ ) โดยหากม้าถูกนำไปใช้งาน พบว่าระดับความเข้มข้นของ WF6 epitope เพิ่มขึ้น

**การเปรียบเทียบระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นระหว่างก่อนและหลังการรักษาโดยการผ่าตัดข้อต่อด้วยวิธีส่องกล้อง (n=1)**

เมื่อเปรียบเทียบค่าเม็ดเลือดขาวและค่าความเข้มข้น WF6 epitope ในซีรัมของม้า จำนวน 1 ตัว ที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นในข้อต่อ ระหว่างก่อนและหลังการรักษาด้วย

วิธีผ่าตัดส่องกล้องพบว่า ก่อนการรักษามีค่าเม็ดเลือดขาว (WBC) มากกว่าระดับปกติ และหลังจากทำการรักษาโดยผ่าตัดเอาเศษกระดูกที่แตกออกพบว่า ณ สัปดาห์ที่ 4 และ 8 หลังการผ่าตัด ค่าเม็ดเลือดขาวลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0) และค่าเม็ดเลือดขาวกลับเพิ่มสูงขึ้น ณ สัปดาห์ที่ 12 หลังการผ่าตัด ส่วนค่าความเข้มข้นของคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมพบว่า ระดับความเข้มข้นของ WF6 epitope มีการเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ณ สัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 หลังการรักษาตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 6





รูปที่ 6. แผนภาพแสดงความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมและค่าเม็ดเลือดขาว (WBC) ของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นระหว่างก่อนและหลังการรักษาด้วยวิธีผ่าตัดส่องกล้อง ณ สัปดาห์ที่ 0, 4, 8 และ 12 ตามลำดับ (N=1)

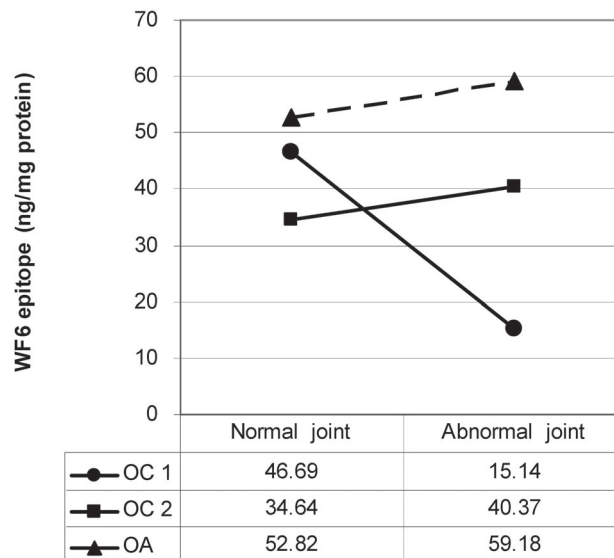
**การเปรียบเทียบระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในน้ำไขข้อระหว่างข้อปกติและข้อผิดปกติที่ข้อต่อระดับเดียวกันของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นและม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อม**

จากการตรวจหาระดับความเข้มข้นของ WF6 epitope ต่อปริมาณโปรตีนรวม (ng WF6 epitope/mg total protein) ในน้ำไขข้อของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นใน carpal joint จำนวน 2 ตัว พบว่าในม้าตัวแรก (OC1) ข้อต่อข้างที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นมีค่าความเข้มข้นของ WF6 epitope ต่อปริมาณโปรตีนรวมต่ำกว่าข้อปกติข้างตรงข้าม ซึ่งแตกต่างกับในม้าตัวที่ 2 (OC2) ที่พบว่าข้อต่อข้างที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นมีค่าความเข้มข้นของ WF6 epitope

ต่อปริมาณโปรตีนรวมสูงกว่าข้อปกติ สำหรับม้าที่มีภาวะข้อเสื่อมที่ carpal joint จำนวน 1 ตัว พบว่าข้อต่อข้างที่มีภาวะข้อเสื่อมค่าความเข้มข้นของ WF6 epitope สูงกว่าข้อปกติข้างตรงข้ามที่ข้อต่อระดับเดียวกัน ดังแสดงในรูปที่ 7

**บทวิจารณ์**

คอนดรอยตินซัลเฟตเป็นกลัยโคซามิโนไกลัยแคนที่พบมากที่สุดในร่างกาย เช่น ในกระดูกอ่อน กระดูก หนึ่งแท่ง กระดูกตาและผนังเส้นเลือด จากการศึกษาพบว่าเซลล์กระดูกอ่อน (chondrocyte) ทำหน้าที่ในการสร้างคอนดรอยตินซัลเฟตซึ่งมีอยู่มากที่สุดในเนื้อกระดูกอ่อน (cartilage matrix) ในภาวะปกติกระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อจะมีกระบวนการสร้าง (anabolic process) และกระบวนการสลาย (catabolic process) อยู่ใน



รูปที่ 7. แผนภาพแสดงความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในน้ำไขข้อ ต่อปริมาณโปรตีนรวม เปรียบเทียบระหว่างข้อปกติ (normal joint) และข้อผิดปกติ (abnormal joint) ที่ข้อต่อระดับเดียวกันของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น (OC) และม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อม (OA) (N=2)

ภาวะที่สมดุล เมื่อกระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อเกิดความผิดปกติหรือมีพยาธิสภาพที่เปลี่ยนแปลงไปทำให้เกิดการเสียดสีของขบวนการเมตะบอลิซึ่มดังกล่าว คือ เกิดการทำลายมากกว่าการสร้างอันเป็นผลให้กระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อถูกทำลาย คอนดรอยตินซัลเฟตจะถูกสลายออกมาอยู่ในน้ำไขข้อและดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด หลังจากนั้นจะถูกส่งไปทำลายที่ตับและไต ทำให้การตรวจวัดระดับของคอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัมและน้ำไขข้อ จึงอาจบ่งบอกถึงเมตะบอลิซึ่มและพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นกับกระดูกอ่อน รวมทั้งสามารถช่วยวินิจฉัยโรคข้อเสื่อมได้เร็วขึ้น หลายปีที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบันมีการใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อสายคอนดรอยตินซัลเฟต ทั้งโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อตำแหน่งบนสายคอนดรอยตินซัลเฟตที่ผ่าน

การย่อยด้วยเอนไซม์ เช่น 3B3<sup>(17-19)</sup> และที่ไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ เช่น WF6<sup>(17-18)</sup>

โมโนโคลนอลแอนติบอดี ชนิด WF6 เป็นโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตและพัฒนาขึ้นจากห้องปฏิบัติการวิจัยโรคกระดูกและข้อ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งมีความจำเพาะต่อสาย chondroitin-6-sulfate และ chondroitin 2,6 disulfate ที่พบได้ทั่วไปในกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อ จากการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าม้าที่มีภาวะข้อเสื่อมมีความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ในซีรัมต่ำกว่าในม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.002$ ) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Todhunter ที่ใช้เคอราแตนซัลเฟต (keratan sulfate, KS) เป็น catabolic marker เพื่อศึกษาระดับเคอราแตนซัลเฟตในพลาสมาและน้ำไขข้อของม้าที่เป็นโรคข้อชนิดต่างๆ

โดยพบว่าความเข้มข้นของ keratan sulfate ในพลาสมาของม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมต่ำกว่าในม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ<sup>(9)</sup> แต่ขัดแย้งกับผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับคอนครอยตินซัลเฟตชนิด WF6 ในคนที่พบว่าปริมาณความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมของผู้ป่วยที่เป็นโรคข้อเสื่อมสูงกว่าในคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ<sup>(20-21)</sup> และไม่สอดคล้องกับผลการศึกษาในสัตว์ชนิดอื่น เช่น ในสุนัขที่ถูกเหนี่ยวทำให้เกิดโรคข้อเสื่อมโดยการตัดเอ็นข้อเข่า (anterior cruciate ligament) พบว่าสุนัขที่เป็นโรคข้อเสื่อมมีระดับของ WF6 epitope ในซีรัมสูงกว่าสุนัขปกติ<sup>(22)</sup> และงานวิจัยในม้าพบว่าม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมมีระดับของอิพิโทปชนิดนี้ในซีรัมสูงกว่าม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ<sup>(17)</sup> จากการที่ระดับความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมของม้าที่มีภาวะข้อเสื่อมต่ำกว่าในม้าปกติ อาจเนื่องมาจากมีส่วนใหญ่ของกลุ่ม (ร้อยละ 70.83) มีภาวะข้อเสื่อมระยะท้าย (advanced OA) โดยผ่านกระบวนการสลายกระดูกอ่อนอย่างรวดเร็ว จนเหลือมวลของกระดูกอ่อนอยู่น้อย จึงตรวจพบความเข้มข้นของ WF6 epitope ได้ในระดับต่ำ ดังนั้นควรมีการศึกษาในขั้นต่อไปถึงระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมในระยะต่างๆ (stage of OA) กับการเปลี่ยนแปลงของ WF6 epitope ในซีรัม

ส่วนการเปรียบเทียบความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมของม้าปกติกับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบหรือภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นนั้น ยังไม่เคยมีผู้ทำการศึกษาเรื่องนี้มาก่อนในประเทศไทย จากการทดลองครั้งนี้พบว่า

ม้าที่มีภาวะข้ออักเสบและม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นมีความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ในซีรัมต่ำกว่าในม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.001$ ,  $p=0.021$  ตามลำดับ) ซึ่งไม่สอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่าความเข้มข้นของ keratan sulfate ในพลาสมาของม้าที่มีภาวะข้ออักเสบและม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นสูงกว่าในม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ<sup>(9)</sup> การที่ตรวจพบ WF6 epitope ของม้าทั้งสองกลุ่มในระดับต่ำกว่าม้าปกติ อาจมีความเป็นไปได้ที่ม้าปกติบางตัวในกลุ่มไม่ใช่ม้าปกติที่แท้จริง ซึ่งแม้ว่าผลจากการตรวจร่างกายทางกายภาพ การตรวจอาการขาเกะเขลิกและการตรวจค่าทางโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกจะพบว่าม้ามียลักษณะทางกายภาพปกติ ไม่มีอาการขาเกะเขลิกและอาการที่ผิดปกติทางคลินิกแสดงให้เห็น รวมทั้งมีค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกอยู่ในระดับปกติ แต่เป็นไปได้ที่ม้าอาจมีความผิดปกติแฝงอยู่ เช่น มีการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนแบบเกิดขึ้นเองและไม่มีอาการทางคลินิก (nonprogressive idiopathic cartilage erosion) แต่เมื่อทำการผ่าซากหรือตรวจดูด้วยกล้องส่องตรวจข้อต่อ จะพบว่ากระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อสึกกร่อนไป<sup>(23)</sup> ซึ่งแสดงถึงความไม่สัมพันธ์กันของอาการทางคลินิกกับรอยโรคที่เกิดขึ้น และการตรวจวินิจฉัยด้วยการถ่ายภาพทางรังสียังมีข้อจำกัดอยู่ ทำให้ไม่สามารถพบรอยโรคหรือพยาธิสภาพที่เปลี่ยนแปลงไปของกระดูกอ่อนถ้าเป็นการเสียหายในระยะเริ่มแรก จะสามารถตรวจพบได้ก็ต่อเมื่อรอยโรคหรือพยาธิสภาพมีการพัฒนาไปในระดับที่ค่อนข้าง

รุนแรงแล้ว สำหรับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ ในการศึกษาครั้งนี้ อาจเป็นม้าที่ได้รับบาดเจ็บบริเวณข้อต่อหลายครั้ง ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปในม้าที่ใช้งาน กระบวนการอักเสบจะเกิดขึ้นแบบซ้ำแล้วซ้ำอีก อาจส่งเสริมให้เกิดการสลายของกระดูกอ่อนในข้อต่อโดยการหลั่งเอ็นไซม์ สารสื่ออักเสบและไซโตไคน์ (cytokine) ต่างๆ จึงมีผลทำให้ค่า WF6 epitope ต่ำกว่าม้าปกติ ซึ่งคล้ายกับม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น เมื่อข้อต่อมีการเคลื่อนไหว เศษกระดูก และกระดูกอ่อนที่แตกภายในข้อต่อจะไปเสียดสีกับเยื่อหุ้มข้อ (synovial membrane) โดยตรงและก่อให้เกิดขบวนการอักเสบอย่างรุนแรง เป็นผลให้เกิดการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อไปมากจนเหลืออยู่ในปริมาณที่น้อย หรือในทางกลับกัน หากม้ามามีภาวะข้ออักเสบในระยะเริ่มแรกแบบไม่รุนแรง กระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อจะยังถูกทำลายไปไม่มาก อาจส่งผลให้พบค่า WF6 epitope ได้ในระดับต่ำ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าภาพถ่ายทางรังสีของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นบางตัวในกลุ่ม (ร้อยละ 25) มีพยาธิสภาพที่บ่งบอกถึงการเป็นโรคในระยะเรื้อรัง และพบว่าระยะเวลาตั้งแต่เกิดการแตกของกระดูกในข้อต่อจนถึงการตรวจพบทางรังสี มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 1 เดือน ซึ่งกระดูกอ่อนได้ผ่านขบวนการเสื่อมสลายไปมากพอสมควร จึงเป็นไปได้ที่จะตรวจพบ WF6 epitope ในระดับต่ำกว่าม้าปกติ ดังนั้นระยะเวลาของการเป็นโรคและการแบ่งระดับความรุนแรงของภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นในข้อต่อจึงจำเป็นต้องการศึกษาในครั้งต่อไป จากผล

การเปรียบเทียบความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมของม้าปกติกับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น หรือภาวะข้อเสื่อม แสดงให้เห็นว่าหากข้อต่อได้รับบาดเจ็บหรือมีความผิดปกติเกิดขึ้น ระดับของ WF6 epitope ในซีรัมจะมีการเปลี่ยนแปลงไป ผลการศึกษาพบว่า ม้าปกติที่ใช้งาน (ม้าแข่งและม้าขี่) มีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ในซีรัมสูงกว่าในม้าปกติที่ไม่ได้ใช้งาน (ม้าที่ยังไม่ได้รับการฝึก) อย่างมีนัยสำคัญ แสดงถึงการใช้มาทำงานประเภทต่างๆ เช่น วิ่งแข่งความเร็ว ชีกระโดดและขี่ทั่วไป มีผลทำให้ขบวนการ degradation และ matrix turnover ของกระดูกอ่อนเพิ่มขึ้น จากผลการเปรียบเทียบระดับ WF6 epitope ในซีรัมของม้าปกติที่ช่วงอายุต่างๆ พบว่า ไม่มีความแตกต่างของระดับความเข้มข้นเฉลี่ย WF6 epitope ในม้าที่มีอายุน้อยกว่า 2 ปี จนถึงอายุ 9 ปี อย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.122$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของระดับความเข้มข้นของ epitope ชนิดนี้ในม้าตั้งแต่แรกเกิดจนถึงอายุมากกว่า 15 ปี<sup>(17)</sup> และจากผลการเปรียบเทียบระดับ WF6 epitope ในซีรัมของม้าปกติสายพันธุ์ต่างๆ พบว่า ไม่มีความแตกต่างของระดับความเข้มข้นเฉลี่ย WF6 epitope ในม้าที่ต่างสายพันธุ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.158$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Todhunter ที่พบว่าสายพันธุ์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อระดับความเข้มข้นของ keratan sulfate ในพลาสมาของม้าปกติ<sup>(9)</sup> จากผลการศึกษาดังกล่าว ชี้ให้เห็นว่าอายุและสายพันธุ์ของม้าไม่มีผลต่อระดับ

ความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัม

การใช้ mAb WF6 ติดตามการรักษาในครั้งนี้เป็นการวิจัยเบื้องต้น (preliminary study) ซึ่งจากผลการติดตามม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นในข้อต่อระหว่างก่อนและหลังการรักษาด้วยวิธีผ่าตัดส่องกล้อง จำนวน 1 ตัว (สูญเสียม้าในระหว่างการศึกษานี้จำนวน 2 ตัว) พบว่า ก่อนการรักษาค่าเม็ดเลือดขาวสูงกว่าค่าปกติ แสดงถึงข้อต่อมีการอักเสบ ณ สัปดาห์ที่ 4 หลังการรักษาเม็ดเลือดขาวลดลงแต่ยังคงอยู่ในระดับที่มีการอักเสบอยู่ และค่าเม็ดเลือดขาวได้ลดลงจนอยู่ในช่วงของค่าปกติ ณ สัปดาห์ที่ 8 หลังการรักษา แสดงว่าขบวนการอักเสบได้ลดลงจนข้อต่อกลับเข้าสู่ภาวะปกติ แต่ ณ สัปดาห์ที่ 12 หลังการรักษากลับพบว่าค่าเม็ดเลือดขาวได้เพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งซึ่งสูงกว่าค่าปกติและสูงกว่าก่อนการรักษา แสดงถึงข้อต่อกลับมามีการอักเสบอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่ได้จากการซักประวัติและการตรวจทางกายภาพเพิ่มเติมพบว่า มีการนำม้าไปฝึกซ้อม (trot) เป็นเวลา 4 วัน ก่อนหน้าที่จะครบกำหนดการพักที่ 12 สัปดาห์ ประกอบกับข้อต่อมีอาการบวม น้ำและร้อนขึ้น จากผลข้างต้นพบว่าค่าเม็ดเลือดขาวมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสะท้อนให้เห็นว่าการอักเสบของข้อต่อที่เกิดขึ้นตั้งแต่ก่อนรักษา ถึงหลังรักษาได้ลดลงจนขบวนการอักเสบหมดไป หากไม่มีปัจจัยภายนอก เช่น การใช้งานม้า เข้ามารบกวน และผลจากการเปรียบเทียบความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมก่อนและหลังการรักษาพบว่า มีการเพิ่มสูงขึ้นของค่าความเข้มข้น WF6 epitope ในซีรัมอย่างต่อเนื่อง ณ สัปดาห์ที่ 4, 8

และ 12 หลังการรักษาตามลำดับ แม้ว่าจะมีการผ่าตัดเอาเศษกระดูกที่แตกออกไปแล้ว แต่ขบวนการอักเสบและการสลายทำลายกระดูกอ่อนยังเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ถึงค่าเม็ดเลือดขาวจะลดต่ำลงจนอยู่ในช่วงของค่าปกติ ณ สัปดาห์ที่ 8 หลังการรักษา ซึ่งเป็นการบ่งบอกว่าขบวนการอักเสบได้หยุดลง อย่างไรก็ตาม ขบวนการสลายเนื้อกระดูกอ่อนที่ถูกกระตุ้นโดยการอักเสบยังคงดำเนินอยู่ ทำให้ยังคงตรวจพบค่า WF6 epitope ในซีรัมสูงขึ้น และยังเพิ่มสูงมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของค่าเม็ดเลือดขาว ณ สัปดาห์ที่ 12 เมื่อม้าถูกนำไปฝึกซ้อมจนเกิดการอักเสบของข้อต่อขึ้นอีกครั้ง ผลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า หากม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นในข้อต่อไม่ได้รับการดูแลรักษาอย่างต่อเนื่องและหรือมีการนำม้ากลับมาใช้งานก่อนเวลาที่เหมาะสม จะทำให้กระบวนการสลายกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อดำเนินต่อไปและพัฒนาเข้าสู่ภาวะข้อเสื่อมในที่สุด

นอกจากนี้ การเปรียบเทียบระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในน้ำไขข้อระหว่างข้อปกติและข้อผิดปกติที่ carpal joint ในม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นพบว่า ม้าตัวแรก (OC1) ข้อต่อข้างที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นมีค่าความเข้มข้นของ WF6 epitope ต่อปริมาณโปรตีนรวมต่ำกว่าข้อปกติข้างตรงข้าม แต่ในม้าตัวที่สอง (OC2) พบว่าความเข้มข้นของ WF6 epitope ต่อปริมาณโปรตีนรวมของข้อต่อข้างที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นสูงกว่าข้อปกติข้างตรงข้าม

สำหรับม้าที่มีภาวะข้อเสื่อมที่ carpal joint พบว่า ข้อต่อข้างที่มีภาวะข้อเสื่อมมีความเข้มข้นของ WF6 epitope สูงกว่าข้อปกติข้างตรงข้ามที่ข้อต่อระดับเดียวกัน จากการถ่ายภาพทางรังสีพบว่า ข้อที่ผิดปกติมีภาวะข้อเสื่อมในระยะเริ่มแรก (early stage) ซึ่งในระยะนี้กระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อถูกทำลายไปไม่มากนัก และยังคงเหลือมวลของเนื้อกระดูกอ่อนพอสมควร จึงอาจตรวจพบ WF6 epitope ได้ในระดับสูง แม้ว่าการศึกษาในครั้งนี้มีข้อมูลบางส่วนที่ไม่ทราบประวัติของม้าแน่ชัด ประกอบกับตัวอย่างมีจำนวนจำกัด จึงยังไม่สามารถหาข้อสรุปได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม ผลจากการศึกษาสามารถแสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของระดับ WF6 epitope ในน้ำไขข้อเมื่อมีภาวะผิดปกติ เช่น ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกในข้อต่อและภาวะข้อเสื่อม ซึ่งข้อมูลนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาค้างต่อไปในจำนวนตัวอย่างที่มากเพียงพอ และมีการแบ่งระยะเวลาตั้งแต่เกิดการแตกของกระดูกในข้อต่อจนตรวจพบ รวมทั้งมีการแยกระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมรวมด้วย

แม้ว่าการเก็บตัวอย่างซีรัมจากม้าสามารถทำได้สะดวกและปลอดภัยต่อตัวม้ามากกว่าการเก็บตัวอย่างจากการเจาะน้ำไขข้อ แต่ปริมาณ WF6 epitope ในซีรัมเป็นปริมาณคอนครอยตินซัลเฟตรวมที่มาจากทั้งร่างกาย ในทางกลับกันปริมาณ WF6 epitope ในน้ำไขข้อจะเป็นปริมาณคอนครอยตินซัลเฟตที่วัดได้จากกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อโดยตรง ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงและน่าเชื่อถือมากกว่าการวัดปริมาณ WF6 epitope ในซีรัม มีการศึกษาความสัมพันธ์ของระดับสารบ่งชี้

ทางชีวภาพ (biological marker) ในซีรัมและในน้ำไขข้อของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นขึ้น พบว่าระดับคอนครอยตินซัลเฟตอิพิโทป 846 และคาร์บอกซีโปรเปปไทด์ของคอลลาเจนชนิดที่ 2 (CP II) ในซีรัมและในน้ำไขข้อไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ<sup>(24)</sup> จากงานวิจัยของศิริพร ที่พบว่าม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมมีระดับ WF6 epitope ในซีรัมสูงกว่าม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ<sup>(17)</sup> ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ แต่เป็นที่น่าสนใจว่า ระดับความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมของม้าปกติในงานวิจัยครั้งนี้มีค่าใกล้เคียงกับงานของศิริพรมาก แสดงให้เห็นถึง วิธีการที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้มีความน่าเชื่อถือ อย่างไรก็ตาม แม้การศึกษาในครั้งนี้จะไม่สามารถชี้ชัดได้ว่า WF6 epitope เป็น anabolic หรือ catabolic marker แต่จากผลการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่า หากมีปัจจัยต่างๆ มาเกี่ยวข้อง เช่น การทำงานของม้า การได้รับบาดเจ็บของข้อต่อ หรือการเป็นโรคข้อ จะทำให้ความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมมีการเปลี่ยนแปลงไป

ในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาใดที่รายงานยืนยันชัดเจนว่า WF6 epitope เป็น catabolic marker ของกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อ แต่จากผลการศึกษาในหลายงานวิจัยก่อนหน้านี้และจากการศึกษาค้างนี้ อาจสันนิษฐานได้ว่า WF6 epitope เป็นตัวบ่งชี้ถึงการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อ ดังนั้น WF6 epitope น่าจะสามารถใช้เป็น marker สำหรับการตรวจวินิจฉัยและการติดตามรักษาโรคข้อในม้าได้ในการศึกษาค้างนี้มีข้อจำกัดหลายประการ จึงทำให้มีจำนวนตัวอย่างไม่มากนัก ซึ่งควรมีการศึกษา

ต่อไปถึงการเปลี่ยนแปลงของระดับ WF6 epitope ในซีรัมและน้ำไขข้อ ร่วมกับ biological marker ชนิดอื่นๆ เช่น 3B3, 846 epitope หรือ keratin sulfate ในจำนวนม้าที่มากขึ้น และศึกษาในระดับความรุนแรงของโรค ปัจจัยการใช้งานของม้าที่แตกต่างกัน รวมถึงการติดตามการรักษาโรคข้อในระยะยาวต่อไป เพื่อเพิ่มพูนความรู้ความเข้าใจในการดำเนินไปของโรคหรือการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพและเพื่อช่วยวินิจฉัยรวมทั้งวางแผนในการรักษาโรคข้อในม้าได้อย่างเหมาะสม

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการยาเครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์การแพทย์ สภาวิจัยแห่งชาติ และทุนพัฒนาอาจารย์สาขาวิชาขาดแคลน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ขอขอบพระคุณ ผศ.นสพ.ดร. ประวิทย์ บุตรอุดม, นสพ.ดร. อนุชิต สิทธิไชยากุล, พ.ท. นสพ. จตุพงศ์ มุรธาวงศ์ และ สพญ. สุมาลินี สนิธิไทย ผู้กรุณาให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง ผศ.สพญ.ดร. ศิริพร ชุมทรัพย์ ที่ให้คำปรึกษา และคำแนะนำตลอดการวิจัย ขอขอบพระคุณ ผศ.นสพ.ดร. วิทยา สุริยาสถาพร ที่ให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ข้อมูล คุณสรารุณี ไสยญาติ นักเทคนิคการแพทย์ประจำห้องถ่ายภาพทางรังสี คุณจารุณี ลอยธง นักวิทยาศาสตร์ประจำหน่วยปฏิบัติการโลหิตวิทยา และสถานบริการสุขภาพสัตว์ โรงพยาบาลสัตว์ใหญ่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้สถานที่และอุปกรณ์ในการถ่ายภาพทางรังสี รวมทั้งเจ้าของม้าทุกท่านและม้าทุกตัวที่ทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

### เอกสารอ้างอิง

1. Todhunter RJ, Lust G. Pathophysiology of synovitis: clinical signs and examination in

- horses. *Compend Cortin Educ Pract Vet* 1990;12:980-93.
2. Rosedale PD, Hopes R, Wing-Digby NJ, Offord K. Epidemiological study of wastage among racehorses: 1982 and 1983. *Vet Rec* 1985;116:66-70.
3. McIlwraith CW. Traumatic joint injuries and disease. In: Stashak TS, Hendrickson DA, McIlwraith CW, Trotter GW, Baxter G, editors. *Lameness in the horse: An in – depth short course for the horseman*. Fort Collins: Equine Sciences of Colorado State University, 1997: 22-5.
4. Williams RB, Harkins LS, Hammond CJ, Wood JL. Racehorse injuries, clinical problems and fatalities recorded on British racecourses from flat racing and National Hunt racing during 1996, 1997 and 1998. *Equine Vet J* 2001; 33(5): 478-86.
5. Johnson BJ, Stover SM, Daft BM, Kinde H, Read DH, Barr BC, et al. Causes of death in racehorses over a 2 year period. *Equine Vet J* 1994;4:327-30.
6. Wallin L, Strandberg E, Philipsson J, Dalin G. Estimates of longevity and causes of culling and death in Swedish warmblood and coldblood horses. *Livestock Product Sci* 2000;63:275-89.
7. McIlwraith CW. Traumatic joint injuries and disease: Intraarticular fractures amenable to treatment and in which the horse can be returned to athletic activity. In: Stashak TS, Hendrickson DA, McIlwraith CW, Trotter GW, Baxter G, editors. *Lameness in the horse: An in-depth short course for the horseman*. Fort Collins: Equine Sciences of Colorado State University, 1997:39-42.
8. McIlwraith CW, Vachon AM. Review of pathogenesis and treatment of degenerative joint disease. *Equine Vet J* 1998;6:3-11.
9. Todhunter RJ, Fubini SL, Freeman KP, Lust G. Concentrations of keratan sulfate in plasma and synovial fluid from clinically normal horses and horses with joint disease. *J*

- Am Vet Med Assoc 1997;210:369-74.
10. Todhunter RJ. General principles of joint pathobiology. In: McIlwraith CW, Trotter GW, editors. Joint disease in the horse. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996:1-40.
  11. Ray CS, Poole AR, McIlwraith CW. Use of synovial fluid and serum markers in articular disease. In: McIlwraith CW, Trotter GW, editors. Joint disease in the horse. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996:203-16.
  12. Stashak TS. Examination of lameness. In: Stashak TS, editor. Adams' lameness in horses. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002:113-82.
  13. Stashak TS. Evaluation of the lame horse. In: Stashak TS, Hendrickson DA, McIlwraith CW, Trotter GW, Baxter G, editors. Lameness in the horse: An in – depth short course for the horseman. Fort Collins: Equine Sciences of Colorado State University, 1997:1-4.
  14. Widmer WR, Blevins WE. Radiologic evaluation of degenerative joint disease in horses: interpretative principles. The compendium 1994;16:907-18.
  15. Park RD, Wrigley RH, Sten PF. Equine diagnostic technique. In: Stashak TS, editor. Adams' lameness in horses. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002: 185-311.
  16. Eades SC, Bounous DI. Laboratory profiles of equine diseases. St. Louis: Mosby, 1997: 7-9.
  17. Peansukmanee S. Changes in serum chondroitin sulfate epitopes and hyaluronan in normal horses and horses with osteoarthritis [dissertation]. Chiang Mai: Graduate School, Chiang Mai University, 2002:35-6.
  18. กรกฎ งานวงศ์พาณิชย์, ศิริวรรณ องค์ไชย. การวินิจฉัยโรคข้อเสื่อมในสุนัขโดยอาศัยสารบ่งชี้ทางชีวภาพ. เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2547; 2:39-49.
  19. McIlwraith CW. Use of synovial fluid and serum biomarkers in equine bone and joint disease: a review. Equine Vet J 2005;37:473-82.
  20. Pothacharoen P. The Quantitative analysis of chondroitin sulfate epitopes and hyaluronan as diagnostic markers for degenerative joint disease by ELISA technique [dissertation]. Chiang Mai: Graduate School, Chiang Mai University, 2002:86.
  21. Pothacharoen P, Teekachunhatean S, Louthrenoo W. Raised chondroitin sulfate epitopes and hyaluronan in serum from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. Osteoarthritis Cartilage 2006;4:299-301.
  22. กรกฎ งานวงศ์พาณิชย์, ศิริวรรณ องค์ไชย. การเปลี่ยนแปลงระดับคอนดรอยทีนซัลเฟตในซีรัมสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อต่อเสื่อมโดยการตัดเอ็นข้อเข่า. สัตวแพทยศาสตร์ มช. 2547;14:94-103.
  23. Pool RR. Pathologic manifestations of joint disease in the athletic horse. In: McIlwraith CW, Trotter GW, editors. Joint disease in the horse. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 87-117
  24. Frisbie DD, Ray CS, Ionescu M, Poole AR, Chapman PL, McIlwraith CW. Measurement of synovial fluid and serum concentrations of the 846 epitope of chondroitin sulfate and of carboxy propeptides of type II procollagen for diagnosis of osteochondral fragmentation in horses. Am J Vet Res 1999;60:306-09.