

นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลการเสริมหอยแมลงภู่นิวซีแลนด์ที่มีต่อระดับของสารบ่งชี้ทางชีวภาพ  
ในสุนัขที่กระดูกอ่อนผิวข้อบาดเจ็บ

กรกฎ งานวงศ์พานิชย์<sup>1</sup>, ปฐมมา เข้าเชิด<sup>1</sup>, กณวีร์ วาฤทธิ<sup>2</sup>,  
พิรพรรณ ไปธาเจริญ<sup>3</sup>, ศิริวรรณ องค์ไชย<sup>4</sup>, ปรัชญา คงทวีเลิศ<sup>4</sup>

<sup>1</sup> สาขาวิชาพรีคลินิกทางสัตวแพทย์ <sup>2</sup> สาขาวิชาคลินิกสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์

<sup>3</sup> ศูนย์วิจัยที่มีความเป็นเลิศด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

<sup>4</sup> ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

**บทคัดย่อ** การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของการเสริมหอยแมลงภู่นิวซีแลนด์ (green-lipped mussel; GLM) ในอาหารที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพของโรคข้อเสื่อมในสุนัขที่ได้รับบาดเจ็บที่กระดูกอ่อนผิวข้อ สุนัขไม่จำกัดเพศ อายุ 3-5 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 10-15 กิโลกรัม ถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ตัว กลุ่มแรกได้รับอาหารปกติ กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารผสม GLM ในขนาด 0.30% โดยสุนัขทั้ง 2 กลุ่มจะได้รับอาหารปกติก่อนทำการผ่าตัดสร้างบาดแผลที่กระดูกอ่อนผิวข้อของข้อเข่าเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และ 4 สัปดาห์หลังจากผ่าตัด จากนั้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 เป็นต้นไป สุนัขกลุ่มที่ 2 จึงเริ่มได้รับ GLM เสริมในขนาด 0.30% ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ทำการเก็บเลือดเพื่อตรวจระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพของโรคข้อเสื่อมได้แก่ คอนดรอยตินซัลเฟต อิพิโทป WF6 และไฮยาลูโรแนน ผลจากการศึกษาพบว่าในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 หลังจากเสริม GLM สุนัขมีระดับของคอนดรอยตินซัลเฟต อิพิโทป WF6 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ในขณะที่ระดับไฮยาลูโรแนน มีแนวโน้มสูงขึ้นแม้จะไม่แตกต่างทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงก่อนการเสริม GLM ในอาหาร ซึ่งผลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นแนวโน้มที่ดีในการเสริม GLM ในอาหารเพื่อใช้ในการป้องกันและรักษาโรคข้อเสื่อม เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2551;6(2):165-175.

**คำสำคัญ** : หอยแมลงภู่นิวซีแลนด์ กระดูกอ่อนผิวข้อบาดเจ็บ โรคข้อเสื่อม สุนัข

**บทนำ**

โรคข้อเสื่อม (Osteoarthritis; OA) เป็นโรคเกี่ยวกับข้อที่สำคัญมากในสุนัข โดยโรคข้อเสื่อมเป็นโรคที่ไม่มีการอักเสบของข้อแต่เป็นการเสื่อมอย่างช้าๆ ของกระดูกอ่อนผิวข้อและเนื้อเยื่อใกล้เคียง ซึ่งสาเหตุการเกิดโรคข้อเสื่อมในสุนัขที่สำคัญมักมาจากการได้รับอุบัติเหตุของข้อ ความผิดปกติที่มีแต่กำเนิด และ ความอ้วน<sup>(1)</sup> ในปัจจุบันพบว่า

การรักษาโรคข้อเสื่อม สามารถทำได้ 3 วิธีหลักคือ การรักษาทางอายุรกรรม โดยการใช้ยา (ได้แก่ ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ และยาปกป้องกระดูกอ่อนผิวข้อ) การรักษาโดยการออกกำลังกายหรือการทำกายภาพบำบัด และการรักษาทางศัลยกรรม ซึ่งนิยมใช้เป็นทางเลือกสุดท้ายเมื่อการรักษาด้วย 2 วิธีแรกไม่ประสบความสำเร็จ<sup>(2)</sup>

ติดต่อขอสอบถามความได้ที่ : กรกฎ งานวงศ์พานิชย์, สาขาวิชาพรีคลินิกทางสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50100; E – mail : korakot@chiangmai.ac.th  
ได้รับบทความวันที่ 7 มกราคม 2551

ปัจจุบันอาหารเสริมนับว่ามีบทบาทสำคัญเป็นอย่างยิ่งสำหรับใช้ช่วยรักษาและป้องกันโรคต่างๆ รวมถึงโรคข้อเสื่อม<sup>(3)</sup> เนื่องจากสารอาหารเหล่านี้มีข้อดีได้แก่ราคาไม่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับยาในกลุ่มที่เป็นยาปกป้องกระดูกอ่อนผิวข้อ และสามารถให้ติดต่อกันเป็นเวลานานโดยไม่ก่อให้เกิดผลข้างเคียง ซึ่งข้อดีจุดนี้เองเหมาะสมอย่างยิ่ง สำหรับโรคที่มีกระบวนการดำเนินของโรคที่นานอย่างเช่นโรคข้อเสื่อม ซึ่งตัวอย่างที่เป็นที่รู้จักกันดีของอาหารเสริมเหล่านี้ได้แก่ กลูโคซามีนซัลเฟต (glucosamine sulfate; GS) และคอนดรอยตินซัลเฟต (chondroitin sulfate; CS) ซึ่งสารเหล่านี้จะไปช่วยในการสร้างสารที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในข้อได้แก่คอนดรอยติน ไฮยาลูโรแนน และโปรตีโอไกลัยแคนอื่นๆ<sup>(4-6)</sup> ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าสารทั้งสองชนิดนี้มีคุณสมบัติที่ดีในการช่วยปกป้องกระดูกอ่อนผิวข้อไม่ให้โดนทำลาย<sup>(7-13)</sup>

หอยแมลงภู่นิวซีแลนด์ (green-lipped mussel; GLM) เป็นอาหารเสริมสำหรับใช้ในการรักษาและป้องกันโรคข้อเสื่อม เนื่องจากพบว่า GLM เป็นแหล่งของคอนดรอยตินซัลเฟต และกรดไขมันโอเมก้า 3<sup>(14-16)</sup> อย่างไรก็ตามการศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาผลที่มีต่ออาการทางคลินิก ซึ่งทำให้ข้อมูลที่ได้มีน้ำหนักไม่มากพอ ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงต้องการศึกษาผลของการเสริม GLM ในอาหารสุนัขที่ได้รับการบาดเจ็บที่กระดูกอ่อนผิวข้อโดยดูการเปลี่ยนแปลงของสารบ่งชี้ทางชีวภาพในโรคข้อเสื่อมที่สำคัญคือ คอนดรอยตินซัลเฟต อิพีโทป WF6 และไฮยาลูโรแนน ซึ่งการศึกษาก่อนหน้านี้ได้แสดงให้เห็นแล้วว่า การเปลี่ยนแปลงของสารทั้ง 2 นี้สามารถบ่งชี้สมดุลของกระดูกอ่อนผิวข้อได้เป็นอย่างดี<sup>(17-21)</sup>

## วัสดุและวิธีการ

### 1. สุนัขทดลอง

สุนัขพันธุ์ไทยผสมจำนวน 8 ตัว อายุ 3-5 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 10-15 กิโลกรัม ถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ตัว กลุ่มที่ 1 ได้รับอาหารปกติ กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารผสม GLM ในขนาด 0.30% โดยสุนัขทั้ง 2 กลุ่มจะได้รับอาหารปกติก่อนทำการผ่าตัดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และ 4 สัปดาห์หลังจากผ่าตัดสร้างบาดแผลที่กระดูกอ่อนผิวข้อ จากนั้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 เป็นต้นไป สุนัขกลุ่มที่ 2 จึงเริ่มได้รับ GLM เสริมในขนาด 0.30% ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

### 2. การผ่าตัดสร้างบาดแผลที่กระดูกอ่อนผิวข้อ

ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จะทำการผ่าตัดเพื่อสร้างบาดแผลขนาดเล็กที่กระดูกอ่อนผิวข้อโดยสุนัขถูกวางยาสลบด้วย tiletamine/zolazepam (Zoletil<sup>®</sup>) จากนั้นทำการเปิดเข้าสู่ช่องข้อเข้าข้างขวา ทางด้านข้างแล้วจึงสร้างบาดแผลที่กระดูกอ่อนผิวข้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.4 มิลลิเมตรตรงตำแหน่ง lateral trochea โดยบาดแผลที่เกิดขึ้นจะไม่ทะลุชั้นกระดูกใต้กระดูกอ่อน (subchondrol bone) จากนั้นเย็บปิดบาดแผลผ่าตัดทุกชั้น สุนัขจะได้รับยาปฏิชีวนะ (cephalexin) ขนาด 30 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม และยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (vedaprofen) ขนาด 5 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม นานติดต่อกัน 7 วัน

### 3. การประเมินอาการทางคลินิก

การประเมินอาการทางคลินิกของสุนัขอาศัยเกณฑ์ของ McCarthy et al., 2007<sup>(22)</sup> โดยให้สัตวแพทย์จำนวน 2 คน ทำการประเมินและ เพื่อลดความลำเอียงจากการศึกษา จึงทำการทดลองแบบ blind โดยสัตวแพทย์ที่ทำการประเมินจะไม่ทราบข้อมูลใด ๆ ของสุนัขเลย สำหรับการให้คะแนนลักษณะท่าเดินของสุนัขจะอาศัย

จากตารางที่ 1 โดยจะแบ่งเป็นการประเมิน อาการขาเจ็บ (lameness) อาการเจ็บเมื่อกำหนดตรวจ (pain on palpation) การใช้ขารับน้ำหนักร่างกาย (weight bearing) และ การให้คะแนนโดยรวมของอาการทางคลินิก (overall score of clinical condition)

#### 4. การเก็บและตรวจตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดสุนัขปริมาณ 3 มิลลิลิตร ต่อตัว แบ่งเป็นออกสองส่วน ส่วนที่หนึ่ง เลือดปริมาณ 1 มิลลิลิตร เก็บในหลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันเลือดแข็งตัว (anticoagulant) โดยในการศึกษานี้ใช้ heparin ขนาด 100 ยูนิต ต่อมิลลิลิตรของเลือด และ เลือดปริมาณ 2 มิลลิลิตร เก็บในหลอดที่ไม่มีสารป้องกันเลือดแข็งตัว

เลือดที่เก็บในหลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันเลือดแข็งตัว ถูกใช้สำหรับการวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา (complete blood count) ตามวิธีการมาตรฐาน ณ ห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประกอบด้วย ฮีมาโตคริต (hematocrit) การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดขาว และการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาว

เลือดที่เก็บโดยไม่มีสารป้องกันเลือดแข็งตัว นำไปปั่นแยกเอาซีรัมสำหรับตรวจค่าเคมีเลือด ประกอบไปด้วย aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine ณ ห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และนำไปตรวจหาระดับไฮยาลูโรแนนโดยวิธี competitive inhibition ELISA assay ณ ห้องปฏิบัติการโรคกระดูกและข้อ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่<sup>(17-20)</sup>

#### 5. การวิเคราะห์ข้อมูล

คะแนนของอาการทางคลินิกในแต่ละเงื่อนไขที่แสดงในตาราง ที่ 1 ของแต่ละวัน ถูกนำมาหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากนั้นจึงนำมาทดสอบทางสถิติว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติในสัปดาห์ใด

ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีในเลือดของสุนัข ทั้งสองกลุ่มจะถูกนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ Student's pair t-test และพิจารณาว่ามีค่าใดแตกต่างไปจากค่ามาตรฐานหรือไม่

ปริมาณของคอนทรอยทินซัลเฟต ชนิด WF6 และไฮยาลูโรแนนในซีรัมของสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม ในซีรัมวัดได้ในหน่วยนาโนกรัมต่อเดซิลิตร (ng/dl) ถูกนำมาแปลงเป็นค่าความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลง (% relative change) โดยคิดค่าเฉลี่ยของสัปดาห์ที่ 1 ถึง 4 หลังทำการผ่าตัด เป็น 0 แล้วคิดเปรียบเทียบกับค่าที่วัดได้ตั้งแต่ สัปดาห์ที่ 5 ถึง 10 หลังการผ่าตัดที่เริ่มทดสอบผลของ GLM โดยพิจารณาการเปลี่ยนแปลงไปโดยมีหน่วยเป็นเท่า แล้วจึงนำค่า % relative change มาเขียนเป็นตารางเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น ทำการเปรียบเทียบทางสถิติของค่าเฉลี่ยข้อมูลแต่ละกลุ่มโดยใช้ student's pair t-test

#### ผลการศึกษา

##### 1. การประเมินอาการทางคลินิก

การประเมินอาการทางคลินิกและการวิเคราะห์ ทำเดินสุนัขพบว่าใน 3 วันแรกหลังจากการผ่าตัดสุนัขมีความผิดปกติทางคลินิกอย่างชัดเจน ( $P < 0.05$ ) หลังจากนั้นไม่พบอาการทางคลินิก ดังนั้นในช่วงที่ศึกษาผลของการเสริม GLM จึงไม่ได้ทำการประเมินอาการทางคลินิกของสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม

ตารางที่ 1 การให้คะแนนอาการทางคลินิกและท่าเดินของสุนัข<sup>(22)</sup>

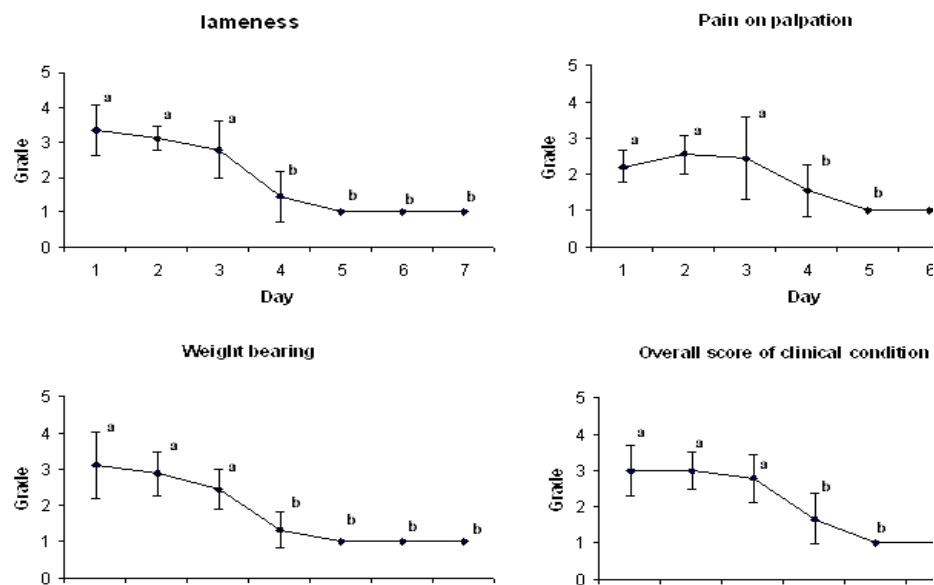
Criterion	Grade	Clinical evaluation
Lameness	1	Walk normally
	2	Slightly lame when walking
	3	Moderately lame when walking
	4	Severely lame when walking
	5	Reluctant to rise and will not walk more than five paces
Pain on palpation	1	None
	2	Mild signs; dog turns head in recognition
	3	Moderate signs; dog pulls limb away
	4	Severe signs; dog vocalizes or becomes aggressive
	5	Dog will not allow palpation
Weight bearing	1	Equal on all limbs standing and walking
	2	Normal standing; favours affected limb when walking
	3	Partial weight-bearing standing and walking
	4	Partial weight-bearing standing; non-weight-bearing walking
	5	Non-weight-bearing standing and walking
Overall score of clinical condition	1	Not affected
	2	Mildly affected
	3	Moderately affected
	4	Severely affected
	5	Very severely affected

## 2. ผลการตรวจทางโลหิตวิทยาและค่าเคมี

ผลการตรวจทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีในเลือด เปรียบเทียบระหว่างสุนัขทั้งสองกลุ่ม โดยอ้างอิงจากค่ามาตรฐานที่ใช้ภายในโรงพยาบาลสัตว์เล็ก

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ดังแสดง

ในตารางที่ 2 พบว่า ค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีในเลือดชนิดอื่นๆ ไม่แตกต่างกัน (P>0.05) ระหว่างสุนัขทั้งสองกลุ่มรวมทั้งค่ายังอยู่ในช่วงค่ามาตรฐาน



รูปที่ 1 กราฟแสดงอาการทางคลินิกในสัปดาห์แรกหลังการผ่าตัด (ตัวอักษรที่ต่างกันในกราฟเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติที่  $P < 0.05$ )

ตารางที่ 2 แสดงค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีเลือดของสุนัขกลุ่มควบคุมและสุนัขกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริม

	Standard value <sup>(23)</sup> Normal range	Normal group	Treated group	<i>P</i> -value <sup>1</sup>
Hematocrit (%)	35-57	38.25±5.80	42.50±4.04	0.28
Hemoglobin (g/dl)	11.9-18.1	12.80±2.01	13.83±1.52	0.45
WBC count (cell/ $\mu$ l)	5,000-14,100	15,900±2,754.39	17,450±6,641.54	0.69
Neutrophil (cell/ $\mu$ l)	2,900-12,000	10,976±2,695.64	13,003.50±6,779.20	0.61
Lymphocyte (cell/ $\mu$ l)	400-2,900	2,791±261.63	2,818.75±2305.56	0.98
Monocyte (cell/ $\mu$ l)	100-1,400	643±328.15	770.25±68.37	0.50
Eosinophil (cell/ $\mu$ l)	0-1,300	1392±913.31	1,107.50±822.99	0.66
Basophil (cell/ $\mu$ l)	0-140	0	0	Ns
AST (IU/L)	5-35	27.75±6.80	32.00±14.85	0.63
ALT (IU/L)	5-35	19.25±4.86	21.25±5.56	0.61
BUN (mg/dl)	8-28	12.38±2.29	15.29±3.23	0.20
Creatinine (mg/dl)	0.5-1.7	1.10±0.11	1.04±0.09	0.43

<sup>1</sup>The *P*-value between normal and treated group.

**ตารางที่ 3** ค่าความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงระดับคอนทรอยตินซัลเฟตและระดับไฮยาลูโรแนนในซีรัมสุนัขที่สัปดาห์ต่างๆ เปรียบเทียบกับสัปดาห์ควบคุม

สัปดาห์ที่	ระดับคอนทรอยตินซัลเฟต		ระดับไฮยาลูโรแนน	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่ม GLM	กลุ่มควบคุม	กลุ่ม GLM
สัปดาห์ควบคุม	1	1	1	1
1	1.07±0.45	0.99±0.46	0.73±0.31	1.36±0.70
2	2.18±1.62	0.94±0.50	0.94±0.41	1.68±1.25
3	5.43±5.96	0.88±0.52	0.93±0.61	2.02±1.73
4	6.59±5.65	0.57±0.41	0.93±0.59	2.63±2.44
5	9.80±10.98	0.44±0.10*	0.77±0.15	2.22±1.30
6	9.72±8.97	0.55±0.12*	0.60±0.28	2.90±3.20

แสดงค่าเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบน โดยเครื่องหมาย \* หมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ระหว่างสัปดาห์ที่ศึกษา (1 ถึง 6) กับสัปดาห์ควบคุม

### 3. ระดับคอนทรอยตินซัลเฟต อิพิโทป WF6 และไฮยาลูโรแนนในซีรัม

ผลการศึกษพบว่าระดับคอนทรอยตินซัลเฟตอิพิโทป WF6 ในสุนัขกลุ่มควบคุมสูงขึ้นหลังจากการผ่าตัด ในขณะที่ระดับคอนทรอยตินซัลเฟตของกลุ่มที่ได้รับ GLM ลดลง โดยพบว่าในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 ของการเสริม GLM จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงก่อนการเสริม GLM (ตารางที่ 3) ในขณะที่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของระดับไฮยาลูโรแนน ของทั้ง 2 กลุ่มเมื่อเปรียบเทียบช่วงก่อนการเสริมกับหลังการเสริม GLM แต่อย่างไรก็ดี พบว่าในกลุ่มที่เสริม GLM มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของระดับไฮยาลูโรแนน ในขณะที่กลุ่มที่ไม่ได้ทำการเสริม GLM มีแนวโน้มการลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน

#### วิจารณ์

ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นแนวโน้มที่ดีในการเสริม GLM ในอาหารเพื่อใช้รักษาและป้องกันโรคข้อเสื่อมอันเนื่องมาจากการบาดเจ็บของกระดูกอ่อนผิวข้อ ซึ่งใน

การศึกษาคั้งนี้พบว่าระดับของคอนทรอยตินซัลเฟตในสุนัขกลุ่มที่เสริม GLM ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 ซึ่งแสดงว่าในช่วงนี้มีกระบวนการทำลายของกระดูกอ่อนผิวข้อลดลง เนื่องจากการศึกษาก่อนหน้านี้ได้แสดงให้เห็นว่า การเปลี่ยนแปลงของระดับคอนทรอยตินซัลเฟต อิพิโทป WF6 ในซีรัมเหมาะสมสำหรับใช้เป็นสารบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) ในกระบวนการทำลายของกระดูกอ่อนผิวข้อในสุนัขได้เป็นอย่างดี<sup>(20, 21, 24-26)</sup> โดยพบว่าในสุนัขที่เป็นโรคข้อเสื่อมจะมีระดับของคอนทรอยตินซัลเฟต อิพิโทป WF6 สูงกว่าสุนัขปกติอย่างมีนัยสำคัญ<sup>(20, 21, 24)</sup> สำหรับการเปลี่ยนแปลงของระดับไฮยาลูโรแนนในซีรัมของสุนัขนั้น แม้ว่าจะไม่พบว่ามีค่าแตกต่างทางสถิติในช่วงของการทดสอบผลการเสริม GLM แต่ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของระดับไฮยาลูโรแนนในซีรัมของสุนัขกลุ่มที่ได้รับ GLM ในขณะที่กลุ่มที่ไม่มีการเสริม GLM มีแนวโน้มลดลง ซึ่งในการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าสุนัขที่เป็นโรคข้อเสื่อมจะมีระดับของไฮยาลูโรแนนในซีรัม

ที่ต่ำกว่าสุนัขปกติ<sup>(27)</sup> แต่ผลการวิเคราะห์ทางสถิติที่ไม่แตกต่างกันในการศึกษาครั้งนี้เชื่อว่าปัจจัยที่สำคัญอันหนึ่งคือ จำนวนสุนัขที่ใช้ทำการทดลองมีน้อยเกินไป ซึ่งการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลดีกว่านี้ควรที่จะใช้จำนวนสุนัขในการศึกษามากกว่านี้ ในส่วนของค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีในเลือดนั้นเป็นตัวบ่งชี้ว่าสุนัขทั้งหมดมีสุขภาพแข็งแรง ไม่มีโรคทางระบบหมุนเวียนโลหิต โรคของตับและไต ซึ่งการที่ระดับของสุนัขไม่มีความผิดปกติเกิดขึ้นก็เป็นเครื่องยืนยันว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับของสารบ่งชี้ทางชีวภาพทั้ง 2 เป็นผลโดยตรงมาจากการเปลี่ยนแปลงที่กระดูกอ่อนผิวข้อ<sup>(20, 27)</sup>

ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ในผู้ป่วย (มนุษย์) ที่เป็นโรคข้อเสื่อมหรือโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis) ที่แสดงให้เห็นว่า GLM สามารถช่วยรักษาโรคข้อเสื่อมและอักเสบได้ โดยพบว่าผู้ป่วยมีอาการเจ็บน้อยลง<sup>(28-30)</sup> รวมทั้งผลการศึกษาในสุนัขที่แสดงผลการใช้ GLM ในการช่วยลดอาการปวดในสุนัขที่ป่วยด้วยโรคข้ออักเสบ (arthritis) ส่งผลให้การเดินของสุนัขเหล่านี้ดีขึ้น โดยในการศึกษาทั้ง 2 รายงานนั้น<sup>(15, 31)</sup> ใช้ GLM ในปริมาณ 0.3% เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ อย่างไรก็ตามในการศึกษาเหล่านี้ก็ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าอาการทางคลินิกดีขึ้นเนื่องจาก อาการปวดน้อยลง หรือความรุนแรงของโรคลดลง แต่ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่า GLM สามารถไปลดความรุนแรงของโรคได้ดังจะเห็นได้จากการที่ระดับของคอนดรอยตินในซีรัมของสุนัขกลุ่มที่ได้รับ GLM ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 แสดงว่ากระบวนการทำลายของกระดูกอ่อนผิวข้อในช่วงนี้ลดลง

การที่ GLM มีผลในการปกป้องกระดูกอ่อนผิวข้อเนื่องจากประกอบด้วย คอนดรอยตินซัลเฟต กรดไขมันโอเมก้า-3 เกลือแร่ และวิตามินต่าง ๆ<sup>(14, 15)</sup> ซึ่งสารเหล่านี้

โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คอนดรอยตินซัลเฟต และ กรดไขมันโอเมก้า-3 มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการทำงานของเซลล์กระดูกอ่อนและลดกระบวนการทำลายเนื้อกระดูกอ่อนผิวข้อ โดยพบว่า คอนดรอยตินซัลเฟตจะไปกระตุ้นให้เซลล์กระดูกอ่อนมีการสร้างสารกลุ่มโปรตีโอไกลัยแคน (proteoglycan) ได้แก่ คอนดรอยตินซัลเฟต เคอราแทนซัลเฟต (keratan sulfate) และไฮยาลูโรแนนเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เมทัลโลโปรทีเนส (matrix metalloproteinase) ซึ่งเอนไซม์นี้จะไปทำหน้าที่ในกระบวนการย่อยสลายคอลลาเจน และโปรตีโอไกลัยแคนในเนื้อกระดูกอ่อนอันเป็นผลให้เนื้อกระดูกอ่อนสูญเสียคุณสมบัติทางชีวเคมี ไม่สามารถทำงานได้เป็นปกติ นอกจากนั้นพบว่ากลุ่มซัลเฟตในโครงสร้างของคอนดรอยตินซัลเฟตมีส่วนช่วยทำให้เนื้อกระดูกอ่อนผิวข้อมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น รวมทั้งพบว่าคอนดรอยตินมีคุณสมบัติต้านกระบวนการอักเสบได้อีกด้วย<sup>(5, 7, 12, 29, 32)</sup>

สำหรับกรดไขมันโอเมก้า-3 นั้นพบว่ามีบทบาทสำคัญในการช่วยลดกระบวนการอักเสบของข้อ เนื่องจากกรดไขมันชนิดโอเมก้า 3 มีโครงสร้างที่คล้ายกับกรดอะราชิโดนิก (arachidonic acid, AA; C20:n4-6) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสร้างพรอสตาแกลนดิน อี-2 (prostaglandin E2) ซึ่งพรอสตาแกลนดิน อี-2 นี้เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการอักเสบและความเจ็บปวดที่เกิดในข้อเสื่อม การที่กรดไขมันชนิดโอเมก้า 3 โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดไอโคซาเพนตะอีโนอิก (eicosapentaenoic acid, EPA; C20:5n-3) มีโครงสร้างคล้ายกับกรดอะราชิโดนิก (arachidonic acid, AA; C20:n4-6) ทำให้มีคุณสมบัติไปยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึม ของกรดอะราชิโดนิกที่เกิดจากไซโคลออกซีจีเนส (cyclooxygenase; COX) โดยตัวกรดไขมันเองจะผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมโดยเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนสแทน ซึ่งจะได้เป็นพรอสตาแกลนดิน

อี-3 ไอ-3 และทรอมบอกเซน เอ-3 (thromboxane A<sub>3</sub>) แต่โดยส่วนมากจะเกิดเป็นทรอมบอกเซน เอ-3 ซึ่งมีผลทางชีวภาพที่ต่ำ นอกจากนั้นกรดไขมันชนิดโอเมก้า 3 จะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส เช่นเดียวกับยาต้านการอักเสบชนิดที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ รวมทั้งยังพบว่า ไขมันชนิดโอเมก้า 3 ยังมีคุณสมบัติไปยับยั้งวิถี 5 ไลโปออกซีจีเนส (5-lipoxygenase pathway) ยับยั้งการสังเคราะห์ลิวโคทรินีน บี-4 (leukotrienes B<sub>4</sub>) รวมทั้งไปยับยั้งกระบวนการสร้างสารไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบภายในคือ ลิวโคทรินีน  $1\beta$  และ TNF  $\alpha$  โดยพบว่าผลการศึกษาในเซลล์กระดูกอ่อนที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการกลับพบว่า การเสริมกรดไขมันชนิดโอเมก้า 3 จะช่วยลดการเสื่อมสลายของเซลล์กระดูกอ่อนผิวข้อที่เกิดจากกระบวนการอักเสบ<sup>(33)</sup> พบว่า กรดไขมันโอเมก้า 3 ทำให้ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีนต่อต้านกระบวนการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนผิวข้อ ได้แก่ ADAMTS-4, MMP-3 และ MMP-13 มีการทำงานเพิ่มขึ้น ในขณะที่ไปลดการทำงานของยีนที่ทำหน้าที่ผลิตสารไซโตไคน์ที่สำคัญที่เป็นตัวกลางในกระบวนการอักเสบ อันได้แก่ เอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส 2 เอนไซม์ไลโปออกซีจีเนส อินเตอร์ลิวคิน 1 อินเตอร์ลิวคิน 2 และ TNF ในกระดูกอ่อนผิวข้อ<sup>(34)</sup>

จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นแนวโน้มที่ดีของการใช้ GLM ในการป้องกันและรักษาโรคข้อเสื่อม อย่างไรก็ตาม การศึกษาในระยะเวลานานกว่านี้ รวมทั้งการใช้จำนวนสัตว์ทดลองที่มากขึ้น ยังเป็นสิ่งที่สมควรทำการศึกษาต่อไป เพื่อยืนยันประสิทธิผลของการใช้ GLM ในการช่วยรักษาและป้องกันโรคข้อเสื่อมได้ รวมทั้งการศึกษาถึงผลข้างเคียงของการเสริม GLM แม้ว่าจะมีบางรายงานที่แสดงให้เห็นว่าไม่พบผลข้างเคียงของการใช้สารชนิดนี้<sup>(29)</sup>

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการวิจัยโรคกระดูกและข้อในสัตว์เลี้ยง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และศูนย์วิจัยที่มีความเป็นเลิศด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่สนับสนุนอุปกรณ์และงบประมาณในการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณผู้ให้การสนับสนุน และนักศึกษาทุกท่านที่มีส่วนช่วยให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ อนึ่งโครงการวิจัยนี้ ได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยบรรณการใช้สัตว์ทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ลงวันที่ 21 มีนาคม 2550

## เอกสารอ้างอิง

1. McLaughlin R, Roush J. Medical therapy for patients with osteoarthritis. *Veterinary Medicine*. 2002;97:135-44.
2. Towheed TE, Judd MJ, Hochberg MC, Wells G. Acetaminophen for osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;CD004257.
3. German B, Schiffrin EJ, Reniero R, Mollet B, Pfeifer A, Neeser JR. The development of functional foods: lessons from the gut. *Trends Biotechnol*. 1999;17:492-9.
4. Towheed TE, Anastassiades TP, Shea B, Houpt J, Welch V, Hochberg MC. Glucosamine therapy for treating osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001;CD002946.
5. McAlindon TE, LaValley MP, Gulin JP, Felson DT. Glucosamine and chondroitin for treatment of osteoarthritis: a systematic quality assessment and meta-analysis. *Jama*. 2000;283:1469-75.
6. Bassler C, Henrotin Y, Franchimont P. In vitro evaluation of drugs proposed as chondroprotective agents. *International Journal of Tissue Reactions*. 1992;14:231-41.
7. McAlindon TE, LaValley MP, Gulin JP, Felson DT. Glucosamine and chondroitin for treatment of osteoarthritis: a systematic quality assessment and meta-analysis. *JAMA*. 2000;283:1469-75.



8. Towheed TE, Anastassiades TP, Shea B, Houpt J, Welch V, Hochberg MC. Glucosamine therapy for treating osteoarthritis Cochrane Database Syst Rev. 2001;1:CD002946.
9. Richy F, Bruyere O, Ethgen O, Cucherat M, Henrotin Y, Reginster JY. Structural and symptomatic efficacy of glucosamine and chondroitin in knee osteoarthritis: a comprehensive meta-analysis. Arch Intern Med. 2003;163:1514-22.
10. Reginster JY, Deroisy R, Rovati LC, Lee RL, Lejeune E, Bruyere O, et al. Long-term effects of glucosamine sulphate on osteoarthritis progression: a randomised, placebo-controlled clinical trial. Lancet 2001;357:251-6.
11. Pavelka K, Gatterova J, Olejarova M, Machacek S, Giacovelli G, Rovati LC. Glucosamine sulfate use and delay of progression of knee osteoarthritis: a 3-year, randomized, placebo-controlled, double-blind study. Arch Intern Med. 2002;162:2113-23.
12. Abadie E, Ethgen D, Avouac B, Bouvenot G, Branco J, Bruyere O, et al. Recommendations for the use of new methods to assess the efficacy of disease-modifying drugs in the treatment of osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage. 2004;12:263-8.
13. Altman RD. Measurement of structure (disease) modification in osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage. 2004;12(Suppl A):S69-76.
14. Halpern GM. Anti-inflammatory effects of a stabilized lipid extract of Perna canaliculus (Lyprinol). Allerg Immunol(Paris). 2000;32:272-8.
15. Bui LM, Bierer TL. Influence of green lipped mussels (Perna canaliculus) in alleviating signs of arthritis in dogs. Vet Ther. 2003;4:397-407.
16. Audeval B, Bouchacourt P. Efficacy of Perna canaliculus green-lipped mussel extract in gonarthrosis: a double-blind placebo-controlled trial. Gazette Médicale. 1986;93:111-6.
17. Louthrenoo W, Kongtawelert P, Sivasomboon C, Sukitawut W. Correlation between serum hyaluronan and disease activity and severity in Thai patients with rheumatoid arthritis. J Med Assoc Thai. 2001;84:622-7.
18. Pothacharoen P, Teekachunhatean S, Louthrenoo W, Yingsung W, Ong-Chai S, Hardingham T, et al. Raised chondroitin sulfate epitopes and hyaluronan in serum from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. Osteoarthritis Cartilage. 2006;14:299-301.
19. Pothacharoen P, Siriaunkgul S, Ong-Chai S, Supabandhu J, Kumja P, Wanaphirak C, et al. Raised serum chondroitin sulfate epitope level in ovarian epithelial cancer. J Biochem (Tokyo). 2006;140:517-24.
20. Kaewsakorn T, Chotayaporn M, Suwankong N, Nganvongpanit K, Jitpean S, Cutesuwan P. Normal hematology and blood chemistry in small, medium and large adult healthy dogs. Chiangmai Vet J. 2003;1:35-49.
21. กรมกฏ งานวงศ์พาณิชย์, ศิริวรรณ องค์ไชย. การวินิจฉัยโรคข้อเสื่อมในสุนัขโดยอาศัยสารบ่งชี้ทางชีวภาพ เชียงใหม่สัตวแพทยสาร. 2547;1(1):39-49.
22. McCarthy G, O'donovan J, Jones B, McAllister H, Seed MCM. Randomised double-blind, positive-controlled trial to assess the efficacy of glucosamine/chondroitin sulfate for the treatment of dogs with osteoarthritis. Vet J. 2007;174:54-61.
23. Duncan JR, Prasse KW, Mahaffey EA. Veterinary laboratory medicine. 3 ed. Iowa: Iowa State University; 1994.
24. กรมกฏ งานวงศ์พาณิชย์, อัครนิศย์ อธิวิภา, ปรัชญา คงทวีเลิศ, ศิริวรรณ องค์ไชย. การศึกษาเปรียบเทียบระดับคอนครอยตินซัลเฟตชนิด WF6 และ 3B3 ในซีรัมสุนัขที่พบและไม่พบรอยโรคข้อสะโพกเจริญผิดปกติ สัตวแพทยสาร. 2548;56(3):1-12.

25. กรกฎ งานวงศ์พาณิชย์, ศิริวรรณ องค์ไชย. การเปลี่ยนแปลงระดับคอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัมสุนัขที่ เหนียวนำไปเกิดโรคข้อต่อเสื่อมโดยการตัดเอ็นข้อเข่า สารสัตวแพทยศาสตร์ มช. 2547;14:94-103.
26. กรกฎ งานวงศ์พาณิชย์, นียดา สุวรรณรงค์, สุปราณี จิตรเพ็ชร, ศิริวรรณ องค์ไชย. ผลของไคโตซานพอลิซัลเฟต ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับคอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัมสุนัขที่ถูกตัดเอ็นไขว้หน้า.วารสารสัตวแพทยผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย. 2548;17(3):27-39.
27. กรกฎ งานวงศ์พาณิชย์, อัครนิษฐ์ อธิอาภา, ปรัชญา คงทวีเลิศ, ศิริวรรณ องค์ไชย. การประเมินโรคข้อสะโพกเจริญผิดปกติในสุนัขด้วยระดับไฮยาลูโรแนนในซีรัม.วารสารสัตวแพทยผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย. 2548;17(4):65-76.
28. Gibson SLM, Gibson RG. The treatment of arthritis with a lipid extract of *Perna canaliculus*: a randomized trial. *Complement Ther Med*. 1998;6:122-6.
29. Ameye LG, Chee WSS. Osteoarthritis and nutrition. From nutraceuticals to functional foods: a systematic review of the scientific evidence. *Arthritis Res Ther*. 2006;8(4):R127.
30. Gibson RG, Gibson SL, Conway V, Chappell D. *Perna canaliculus* in the treatment of arthritis. *Practitioner*. 1980;224:955-60.
31. Bierer TL, Bui LM. Improvement of arthritic signs in dogs fed green-lipped mussel (*Perna canaliculus*). *J Nutr*. 2002;132:1634S-6S.
32. Largo R, Alvarez-Soria MA, Diez-Ortego I, Calvo E, Sánchez-Pernaute O, Egido J, et al. Glucosamine inhibits IL-1beta-induced NFkappaB activation in human osteoarthritic chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage*. 2003;11:290-8.
33. Curtis CL, Rees SG, Cramp J, Flannery CR, Hughes CE, Little CB, et al. Effects of n-3 fatty acids on cartilage metabolism. *Proc Nutr Soc*. 2002;61:381-9.
34. Curtis CL, Rees SG, Little CB, Flannery CR, Hughes CE, Wilson C, et al. Pathologic indicators of degradation and inflammation in human osteoarthritic cartilage are abrogated by exposure to n-3 f