



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์)
ปริญญา

.....
คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์

.....
สัตวแพทยศาสตร์

สาขา

คณะ

เรื่อง ประสิทธิภาพของเซลล์ต้นกำเนิดจากฟันน้ำนมในการรักษาภาวะข้อกระดูกอักเสบเรื้อรังในสุนัข

Effect of Puppy Deciduous Teeth Stem Cells in Dogs with Chronic Osteoarthritis

นามผู้วิจัย นางสาวติกร บุตรธา

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(..... อาจารย์สุนทรี เพ็ชรดี, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(..... อาจารย์เจศิษฐ์ เต็มวิจิตร, Ph.D.)

ประธานสาขาวิชา

(..... ผู้ช่วยศาสตราจารย์นรินทร์ อุประกรินทร์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....
(..... รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ประสิทธิภาพของเซลล์ต้นกำเนิดจากฟันน้ำนมในการรักษาภาวะข้อกระดูกอักเสบเรื้อรังในสุนัข

Effect of Puppy Deciduous Teeth Stem Cells in Dogs with Chronic Osteoarthritis

โดย

นางสาวรติกร บุตรชา

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์)

พ.ศ. 2558

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รติกร บุตรชา 2558: ประสิทธิภาพของเซลล์ต้นกำเนิดจากพืชน้ำนมในการรักษา
ภาวะข้อกระดูกอักเสบเรื้อรังในสุนัข ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (คลินิกศึกษา
ทางสัตวแพทย์) สาขาคลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ อาจารย์ที่
ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์สุนทรี เพ็ชรดี, Ph.D. 94 หน้า

การบำบัดรักษาโรคด้วยเซลล์ต้นกำเนิดได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในเวชศาสตร์การ
ฟื้นฟู เซลล์ต้นกำเนิดหลายชนิดได้นำมาศึกษา เนื่องจากการมีคุณสมบัติในการฟื้นฟูโครงสร้าง
และหน้าที่ของอวัยวะหรือเนื้อเยื่อที่ได้รับความเสียหาย จากการศึกษาที่ผ่านมามีการใช้เซลล์ต้น
กำเนิดที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อโพรงประสาทฟันในงานด้านทันตกรรม และวิศวกรรมเนื้อเยื่อ และ
การศึกษาก่อนหน้านี้ผู้วิจัยได้แสดงการใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากพืชน้ำนมลูกสุนัข (pDSCs) ในการ
ฟื้นฟูกล้ามเนื้อหัวใจตาย และการรักษาแผลที่กระจกตา จุดประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ คือ
การประเมินผลการรักษาโรคข้ออักเสบเรื้อรังของข้อสะโพกในสุนัขด้วยวิธีใหม่ ซึ่งในการศึกษา
ครั้งนี้ได้ทำประเมินการแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อโพรงประสาทฟันสุนัข และ
การใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากโพรงประสาทฟันน้ำนมของลูกสุนัขในการรักษาปัญหาการเกิดข้อ
อักเสบเรื้อรัง การรักษาทำโดยการฉีดเซลล์ต้นกำเนิด pDSCs เข้าภายในข้อต่อของสุนัข 8 ตัวที่มี
ความบกพร่องในการเดิน ซึ่งมีสาเหตุมาจากการเกิดภาวะข้ออักเสบเรื้อรัง (OA) ซึ่งพบว่า
ได้ผลดีในสุนัขที่ได้รับการฉีดด้วย pDSCs เข้าข้อ สามารถเห็นผลการรักษาได้ทันทีภายหลังการ
ฉีดได้ 14 วันโดยไม่เกิดภาวะแทรกซ้อน ผลการวิจัยพบว่า pDSCs สามารถลดอาการปวด และ
ช่วยให้สุนัขที่เกิดภาวะข้ออักเสบเรื้อรังมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น และป้องกันการลุกลามของโรคได้
ดังนั้น pDSCs น่าจะเป็นกลยุทธ์ใหม่ ในการบำบัดรักษาโรคข้อเสื่อมในสุนัขได้

Ratikorn Bootcha 2015: Effect of Puppy Deciduous Teeth Stem Cells in Dogs with Chronic Osteoarthritis. Master of Science (Veterinary Clinical Studies), Major Field: Veterinary Clinical Studies, Faculty of Veterinary Medicine. Thesis Advisor: Miss Soontaree Petchdee, Ph.D. 94 pages.

Stem cells therapies are rapidly gaining attention as a promising tool for tissue regeneration. A variety of stem cells types have been studied as the potential candidates to restore the structure and function of damaged organs or tissues. Recent studies have demonstrated the use of stem cells isolated from the dental pulp in dentistry and tissue engineering. Previous studies we have shown the applications of puppy deciduous teeth stem cells (pDSCs) to restore the infarcted myocardium and ulceration of the cornea. Our aim is to provide a novel therapeutic application of allogeneic pDSCs in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints. In this study, a method to isolate mesenchymal stem cells derived from dental pulp of the dogs and the use of allogeneic puppy deciduous teeth stem cells in osteoarthritis problems have been evaluated. Clinical effects of multiple intra-articular injections of pDSCs were investigated on 8 dogs with lameness associated with osteoarthritis (OA). Clinical assessments were collected in interviews and by questionnaire. Immediate improvements in clinical scoring in all dogs were seen in 14 days after pDSCs injection with no complications. The findings indicated that pDSCs treatment helped considerably reduce pain and lameness, improve the quality of life activities and prevent osteoarthritis progression. Multiple intra-articular injections of pDSCs might be a novel strategy for the treatment of OA in dogs.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ อาจารย์สุนทรี เพ็ชรดี ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้การ
อบรมสั่งสอน ให้โอกาสในการเรียนรู้ ศึกษาค้นคว้าวิจัย และสนับสนุนศิษย์ตลอดมา

ขอขอบคุณ อาจารย์เจตีย์ เต็มวิจิตร กรรมการที่ปรึกษาสาขาวิชารอง
ผศ.นรินทร์ อุประกรินทร์ กรรมการที่ปรึกษาประธานสาขา และ ดร.เพชรรินทร์ ศรีวัฒนกุล
หัวหน้าห้องปฏิบัติการ Bioeden Asia Tooth Cell Bank ในการเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดจากฟัน
น้ำนมสุนัขในเบื้องต้นเพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบคุณโรงพยาบาลสัตว์กำแพงแสน บุคลากรโรงพยาบาลสัตว์กำแพงแสน คณะสัตว
แพทยศาสตร์ และครอบครัวบุตรชา ที่ให้ความช่วยเหลือและสนับสนุนตลอดการศึกษา

รติกร บุตรชา
ธันวาคม 2557

(1)

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	7
การตรวจเอกสาร	8
อุปกรณ์และวิธีการ	65
ผลและวิจารณ์	76
สรุปและข้อเสนอแนะ	83
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	84
ภาคผนวก	89
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	94

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 เกณฑ์การให้คะแนน (Veterinary orthopedic examination assessment score)	69
2 ข้อมูลเบื้องต้นก่อนการฉีด Intra-articular injection ด้วย pDSCs	70
3 คะแนน Orthopedic examination scores	71
4 ข้อมูลสุนัขในกลุ่มควบคุม	78

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ภาพถ่ายเอ็กซเรย์แสดงลักษณะ Degenerative joint disease; subchondral sclerosis, osteophytes formation	66
2 ภาพถ่าย Photomicrograph ของเซลล์ต้นกำเนิดจากฟันน้ำนม (puppy deciduous teeth stem cells (pDSCs)) ที่แยกมาจากเนื้อเยื่อฟันของสุนัข	68
3 ภาพถ่ายยืนยันตำแหน่งในการฉีด Intra-articular injection ที่ Coxofemoral joint ผ่านทาง Contrast fluoroscopy	70
4 ข้อมูลวิเคราะห์เป็นร้อยละ (MEAN±SEM) ของ lameness at walk, lameness at trot, pain on manipulation, ROM, function disability และทุกตัวชี้วัด ก่อนและหลังการฉีด Intra-articular injection ด้วย pDSCs	77
5 ภาพถ่ายเอ็กซเรย์ก่อนการฉีด intra-articular injection และหลังการฉีด 6 เดือน	78

ประสิทธิภาพของเซลล์ต้นกำเนิดจากฟันน้ำนมในการรักษาภาวะข้อกระดูก อักเสบเรื้อรังในสุนัข

Effect of Puppy Deciduous Teeth Stem Cells in Dogs with Chronic Osteoarthritis

คำนำ

โรคข้อเสื่อม (Osteoarthritis, OA) เป็นสาเหตุของอาการปวดทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูก ที่ส่งผลกระทบต่อผู้คนที่ในสังคมตะวันตกและตะวันออกเพิ่มมากขึ้นอย่างกว้างขวาง มีการประเมินไว้ในปี 2005 ว่าในอเมริกามีประชากรกว่า 26 ล้านคน ที่ได้รับความทุกข์ทรมานจากภาวะ OA (Salaffi *et al.* 2014) แม้จะมีรักษาทั้งแบบประคับประคองและแบบแทรกแซงที่หลากหลาย แต่โดยรวมแล้วการจัดการโรคข้อเสื่อยังคงเป็นปัญหาอยู่ อาการปวดซึ่งเป็นปัญหาหลักทางคลินิกของโรคยังคงควบคุมได้ในระดับหนึ่ง OA เป็นสาเหตุของอาการปวดเรื้อรังในสุนัขกว่าร้อยละ 20 หรือ ประมาณ 10–12 ล้านตัวในอเมริกา (Allan, 2007; Innes, 2012) OA เป็นโรคทางกล้ามเนื้อกระดูกที่พบได้มากที่สุดสามารถพบในสุนัขทุกเพศ ทุกสายพันธุ์ ทุกช่วงอายุ เป็นโรคสำคัญที่ใช้ค่าใช้จ่ายสูงทั้งในสุนัข ม้าและคน (Veneble, 2008; Gavican, 2010) OA ที่พบได้บ่อยในสุนัขคือในสุนัขที่เกิดข้อสะโพกเสื่อม (Canine hip dysplasia) และข้อศอกเสื่อม (Elbow dysplasia) เนื่องจากทั้งสองชนิดนี้เป็นสภาวะที่คงอยู่ไปตลอดชีวิตของสุนัขและมีแต่เสื่อมลงมากกว่าจะดีขึ้น การรักษาสุนัขที่เกิดภาวะเหล่านี้จึงมีความสำคัญอย่างมาก (Innes, 2005)

โรคข้อเสื่อมส่งผลกระทบต่อผู้สูงอายุอย่างน้อยร้อยละ 50 แต่ก็สามารถเกิดกับวัยกลางคนได้เช่นกัน โดยมักจะเกิดขึ้นหลังจากการได้รับบาดเจ็บหรือมีการออกกำลังกายอย่างหนัก มีอาการทางคลินิกของการปวดข้อ ร่วมกับความสามารถในการใช้ขาลดลงที่ระดับความรุนแรงต่างกัน ส่งผลให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตลดลง OA เป็นสาเหตุหลักของอาการปวด การไร้ความสามารถตลอดจนความพิการอย่างกว้างขวาง อายุของประชากรและอุบัติการณ์ที่เพิ่มขึ้นของปัจจัยเสี่ยงอย่างเช่น ภาวะอ้วน ทั้งในประเทศตะวันตกและประเทศกำลังพัฒนาที่มี

แนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในช่วง 10 ปีนับจากนี้ OA ส่งผลต่อเศรษฐกิจและสังคมโดยเฉพาะในแง่มุมมองของการเพิ่มภาระทางเศรษฐกิจในระบบสุขภาพแห่งชาติ (Salaffi *et al.* 2014)

โรคข้อเสื่อมเป็นการเปลี่ยนแปลงทางกระบวนการเผาผลาญที่เกี่ยวข้องกับเนื้อเยื่อของข้อ เกิดการสูญเสียกระดูกอ่อนข้อต่อและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกระดูกที่อยู่ใต้กระดูกอ่อน กรณีที่โรคแสดงอาการ กระบวนการต่างๆไม่สามารถจะทดแทนได้ เนื่องจากศักยภาพในการซ่อมแซมหรือการบาดเจ็บที่เกิดขึ้นนั้นส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อกระดูกอ่อนอย่างต่อเนื่อง เกิดการสูญเสียของโครงสร้างเนื้อเยื่อและเกิดการสร้างกระดูกที่ผิดปกติ (Schulz, 2007; Gavican, 2010) OA สามารถส่งผลต่อข้อได้หมดทุกข้อ แต่มักจะเกิดในข้อที่มีการรับน้ำหนักข้อกระดูกสันหลัง และมือ ลักษณะโรค OA ในคนมีอาการทางคลินิกที่หลากหลายในแต่ละบุคคล และเกิดได้กับหลากหลายข้อในแต่ละบุคคล อาการปวดที่เกิดขึ้นมีทั้งปวดทั่วทั้งข้อ ปวดเป็นๆหายๆ เรื้อรัง มีอาการปวดแต่ไม่ชัดเจนว่าปวดข้อไหนหรือตรงไหนของข้อ ซึ่งเป็นอาการที่พบมากที่สุด มักเกิดร่วมกับอาการแข็งตึงของข้อ ข้อมีรูปร่างผิดปกติ และสูญเสียการเคลื่อนไหวของข้อ นำไปสู่การเคลื่อนไหวที่จำกัดและเกิดกล้ามเนื้ออ่อนแรงรอบๆข้อ อาการปวดจึงเป็นอาการหลักของผู้ป่วยและสุนัขที่เป็นข้ออักเสบเรื้อรัง

แม้จะมีความเข้าใจมากขึ้นถึงกลไกทาง molecular และ cellular ในทางพยาธิวิทยาของ OA แต่อาการปวดยังคงเป็นปัญหาต่อการรักษาทางคลินิกอยู่ หลักฐานมากมายที่ชี้ว่า OA เป็นสภาวะที่ไม่ได้เกี่ยวข้องกับเฉพาะกับกระดูกอ่อนเท่านั้น แต่ยังมี การตอบสนองของกระดูกและเยื่อหุ้มข้อที่มีต่อสิ่งแวดล้อม พันธุกรรม และชีวกลศาสตร์ที่แตกต่างกันออกไปในแต่ละราย จากความล้มเหลวในการรักษา OA ด้วยยาชนิดต่างๆ การกายภาพบำบัดและการผ่าตัด ที่ทำเพื่อบรรเทาอาการปวดและทำให้คนไข้ที่ทุกข์ทรมานจากภาวะเหล่านี้มีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น ยังไม่มีการรักษาทั้งทางยา การรักษาทางชีววิทยา (biologic therapy) หรือการผ่าตัดที่ได้รับการตรวจสอบแล้วว่าสามารถป้องกันการลุกลามของข้อที่เกิด OA ได้

แม้จะเป็นโรคข้อที่เกิดมากที่สุด เป็นกันมากที่สุด แต่จนกระทั่งปัจจุบันยังไม่มี การรักษาทางยาที่มีประสิทธิภาพ เมื่อปี 1743 William Bunler ได้กล่าวไว้ในบทความเกี่ยวกับกระดูกอ่อนไว้ว่า “ when destroyed, it is never recovered ” เพราะหนึ่งในปัญหาหลักของการเกิดความเสียหายขึ้นกับกระดูกอ่อน คือ ไม่สามารถซ่อมแซมตัวเองได้ ความสามารถในการซ่อมแซมที่จำกัดนี้บ่งบอกว่าข้อที่มีความเสียหายเกิดขึ้นกับกระดูกอ่อนแล้วไม่ว่าจะมีสาเหตุ

จากฟกช้ำ อักเสบหรือจาก OA ส่วนใหญ่แทบจะไม่มีอาการได้ด้วยตัวเอง ถึงแม้กระบวนการที่เป็นสาเหตุจะถูกกำจัดไปแล้วก็ตาม มีรายงานถึงการหายได้เองของกระดูกอ่อน แต่ยังคงมีความสงสัยถึงการใช้งานและการคงอยู่ของกระดูกอ่อนดังกล่าว (van der Kraan, 2013) ข้อที่มีกระดูกอ่อนทุกข้อสามารถเกิด OA ได้ แต่ข้อที่เกิดได้บ่อยที่สุดคือที่เข่า สะโพก มือ ไขสันหลัง และเท้า อาการหลักของ OA คือ อาการปวดและการใช้งานของข้อที่ลดลงหรือสูญเสียไป ปัจจัยเสี่ยงหลักของ OA ที่ทราบกันคือ อายุ ความอ้วน เพศ กิจกรรมทางร่างกาย อุบัติเหตุที่เคยเกิดขึ้น และพันธุกรรม อุบัติการณ์การเกิด OA กำลังเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากอายุขัยที่ยืนยาวขึ้น และขยายวงกว้างมากขึ้นเนื่องจากภาวะของความอ้วนที่เกิดขึ้นด้วยเช่นกัน ลักษณะหลักทางพยาธิวิทยาของ OA คือ การสูญเสียกระดูกอ่อน แต่ก็ส่งผลกระทบต่อเนื้อเยื่อส่วนอื่นทั้งหมดของข้อด้วยเช่นกัน ดังนั้น OA จึงไม่ใช่แค่เพียงความผิดปกติของกระดูกอ่อนเท่านั้น แต่เป็นโรคที่เกิดขึ้นกับทุกส่วนของข้อ ในข้อที่เกิด OA มีการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการเผาผลาญและรูปร่างของกระดูกอ่อน เกิดการเปลี่ยนแปลงทางการเผาผลาญและโครงสร้างของ subchondral bone มีการสร้าง osteophytes พบ bone marrow lesion และเกิด synovial activation โดยการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของ bone marrow lesion และการเกิด synovial inflammation และ synovial fibrosis มีผลต่อความรุนแรงของอาการปวด (van der Kraan, 2013) เนื่องจากกระดูกอ่อนเป็นเนื้อเยื่อที่ไม่มีเส้นเลือดและเส้นประสาทมาเลี้ยง ดังนั้นแม้กระดูกอ่อนจะเป็นจุดเด่นทางพยาธิวิทยาของ OA แต่กระดูกอ่อนที่เสียหาย ไม่ได้สร้างความเจ็บปวดโดยตรง (Salaffi *et al.* 2014) subchondral bone, periosteum, periarticular ligament, periarticular muscles, synovium และ joint capsule ทั้งหมดนี้ล้วนมีเส้นประสาทมาเลี้ยงมากมาย และดังนั้นจึงเป็น nociceptive resource ของอาการปวด (Dimitroulas *et al.* 2014) Magnetic resonance imaging (MRI) สามารถตรวจพบโครงสร้างของ subchondral bone lesion ขนาดใหญ่ synovitis และ effusion ซึ่งเป็นสิ่งที่ใช้คาดการณ์ถึงความเจ็บปวดในภาวะ OA (Salaffi *et al.* 2014) อาการปวดเนื่องจากภาวะข้อเสื่อมเป็น nociceptive pain ที่เกิดขึ้นจาก sensitization ของ peripheral nerve terminal ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับ receptors ที่อยู่ในข้อ เช่นเดียวกันกับการกระตุ้นกระบวนการที่เกิดขึ้นในไขสันหลัง ก้านสมอง และ thalamocortical system

ถึงแม้ว่า OA จะจัดว่าเป็น non-inflammatory arthritis แต่ก็มีหลักฐานที่เพิ่มขึ้นมากมายว่ามีการอักเสบเกิดขึ้น อย่างเช่น cytokine, chemokine, metalloproteinase, prostanoids, proteolytic enzymes, growth factor ของหลอดเลือดและเส้นประสาท ทั้งหมดนี้มีอยู่เป็นจำนวนมากในข้อที่เป็น OA (Salaffi *et al.*, 2014; Dimitroulas *et al.*, 2014) มีการพบความสัมพันธ์ระหว่างอาการปวดกับการตอบสนองทางการอักเสบในภาวะ OA และจากข้อเท็จจริงที่ว่าผู้ป่วย OA จะมีความไวต่อ pressure stimuli ที่หลายตำแหน่งของร่างกาย เป็นสิ่งที่บ่งบอกถึงความผิดปกติที่เกิดขึ้นที่กระบวนการของ central pain ที่เกิดขึ้นร่วมกัน อาการปวดและการอักเสบมีบทบาทสำคัญ โดยการอักเสบทำให้ความไวต่อความเจ็บปวดเพิ่มมากขึ้น และส่งผลให้เกิดการตอบสนองทางการอักเสบ inflammatory mediators ที่ปล่อยออกมาโดย chondrocytes เนื่องจากเกิดความเสียหายขึ้นกับกระดูกอ่อนนั้นเหนี่ยวนำให้เกิด hyperalgesia และทำให้เกิด self-propagating cycle ซึ่ง inflammatory mediator จะถูกปล่อยออกมามากขึ้น macrophage-mediated inflammation ทำให้เกิด angiogenesis โดยการกระตุ้น endothelial cells และ fibroblasts เนื้อเยื่อที่มีการอักเสบขาดออกซิเจนสามารถกระตุ้น angiogenesis ได้ และเป็นสาเหตุให้เกิดการอักเสบที่มากขึ้นไปอีก ดังนั้นอาการปวดจาก OA เป็นการเกิดร่วมกันของ nociceptive pain กระบวนการอักเสบเฉพะที่และ neuropathic pain ที่ซับซ้อนและยากต่อการจัดการ (Dimitroulas *et al.*, 2014; Salaffi *et al.*, 2014)

การรักษา OA ที่ให้ผลควรเป็นการรักษาที่สามารถจัดการอาการเจ็บปวดได้เพียงพอ และคืนความสามารถให้ข้อกลับมาใช้งานได้ ซึ่งยังคงไม่มีในปัจจุบันการรักษา OA จึงเป็นการจัดการแบบ multimodal ที่ใช้หลายวิธีร่วมกันโดยพิจารณาเลือกให้เหมาะสมกับคนไข้รวมถึงเจ้าของสุนัขแต่ละราย ซึ่งประกอบด้วย การจัดการทางยา การลดน้ำหนัก การออกกำลังกาย การจัดการอาหาร การรักษาทางเลือก การรักษาด้วย Mesenchymal stem cells (MSCs) และการผ่าตัด (Innes *et al.*, 2012)

Mesenchymal stem cells เป็นที่รู้จักอย่างรวดเร็วและแพร่หลาย ในฐานะของการรักษาที่มีประสิทธิภาพ MSCs ทำให้เกิดการคงสภาพของเนื้อเยื่อปกติที่แข็งแรงได้โดยการเป็นเซลล์ที่เข้าไปซ่อมแซมหรือโดยการทำงานทาง immunomodulatory ในการลดการอักเสบ (Fortier and Tuan, 2012; Barry and Murphy, 2013) มีการศึกษาทางคลินิกมากมายที่ศึกษาการฉีด MSCs ในข้อเข่าที่จัดทำขึ้นทั้งก่อนหน้าและในปี 2013 ที่ศึกษาเกี่ยวกับกลไกของ

paracrine signaling ซึ่งมีความสำคัญต่อประสิทธิภาพทางการรักษาของ MSCs แม้จะยังไม่มีการจัดทำขนาดยาและสื่อที่ใช้ในการฉีด (Barry and Murphy, 2013) MSCs เป็น multipotent progenitor cells ที่พบในเนื้อเยื่อหลาย ๆ ส่วนของร่างกาย มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นกระดูก กระดูกอ่อน เส้นเอ็น ไขมันและกล้ามเนื้อ MSCs เป็น immunomodulatory cells ที่สำคัญเนื่องจากสามารถควบคุมการอักเสบของเนื้อเยื่อที่เสียหายได้โดยการ expressing chemokine และ cytokines ชนิดต่างๆ (Fortier and Tuan, 2012; Barry and Murphy, 2013)

Dental stem cells (DSCs) เป็น MSCs ที่แยกมาจากเนื้อเยื่อฟัน เมื่อเปรียบเทียบกับ bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs) ซึ่งเป็น MSCs ที่เข้มข้นมีประสิทธิภาพที่สุดที่ศึกษามา DSCs ที่ได้จากช่องปากและ maxillofacial area มีคุณสมบัติ potent self-renewal, colony forming และ multipotent differentiated capacity เช่นกัน (Miura *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2014) Stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) มีการค้นพบและแยกได้ครั้งแรกจากโพรงประสาทรากฟันของฟันน้ำนมฟันหน้าที่หลุดออกมา (Miura *et al.*, 2003) SHED มีคุณสมบัติของการ differentiate ได้ทั้ง osteogenic, adipogenic, neurogenic, muogenic, chondrogenic, endothelial และ odontoblastic differentiated (Miura *et al.*, 2003) ศักยภาพของ SHED ใน cell-based therapy คือการที่ SHED สามารถกระจายไปในเนื้อเยื่อได้มากมาย เป็น multipotent cell ที่สามารถเข้าถึงและเก็บได้ง่าย สามารถนำมา isolate และ differentiate ได้โดยไม่ต้องใช้วิธีการเก็บที่ลุกล้ำร่างกายอย่างเช่นการเก็บจากแหล่งอื่น เช่น จากไขกระดูกหรือไขมัน เป็นต้น (Lee *et al.*, 2014) การศึกษามากมายทั้ง *in vivo* และ *in vitro* ที่ให้ความหวังในการนำ DSCs มาใช้ใน regenerative density และ systemic degenerative disease โดยเฉพาะอย่างยิ่ง DSCs มีคุณสมบัติ immunomodulatory ที่จะเข้าไปมีผลต่อทั้ง innate immunity และ adaptive immunity ที่ใช้รักษาโรคทางภูมิคุ้มกันและการอักเสบได้ผลที่น่าเชื่อถือ (Barry and Murphy, 2013)

จากการที่ MSCs เป็นแหล่งของการสร้างกระดูกอ่อนใหม่ได้ และ MSCs ไปขัดขวางกระบวนการอักเสบด้วยความสามารถทาง immunomodulatory ฉะนั้นจากพื้นฐานทางทฤษฎี MSCs จึงเป็นการรักษาในอุดมคติของภาวะ OA ซึ่งส่งผลให้การรักษาด้วย MSCs เป็นการ

รักษาหลักสำหรับผู้ป่วย OA ที่มีการอ้างอิงถึงอย่างกว้างขวาง (Barry and Murphy; 2013) แม้ประสิทธิภาพของการรักษาและผลจากความเสี่ยยังไม่เป็นที่ทราบชัดเจน การพัฒนา MSCs ในการรักษาสำหรับ OA ให้เป็นที่ยอมรับในประสิทธิภาพทางคลินิกและความปลอดภัย จำเป็นต้องมีการศึกษาอย่างจริงจังทั้งในการทดลองและในทางคลินิก (van der Kraan; 2013)

การจะสามารถประเมินผลการรักษาทางคลินิกของการรักษา OA การวัดประเมิน อาการปวดหรือจากอาการอื่นๆ ของ OA ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่ง อาการปวดนั้นเป็น ความรู้สึกรับรู้ และดังนั้นจึงควรได้รับการประเมินโดยตัวของคนไข้เอง ซึ่งในกรณีของสุนัข อย่างไรก็ตามสิ่งที่เราต้องยึดถือเป็นหลักคือสัตวแพทย์และเจ้าของที่มีต่อลักษณะท่าทางการเดิน การเคลื่อนไหวที่ผิดปกติและพฤติกรรมที่เปลี่ยนไปของสุนัข

วิทยานิพนธ์นี้ประเมินถึงผลทางคลินิกของการรักษาภาวะข้อเสื่อมของข้อสะโพกทั้งสองข้างในสุนัขโดยการฉีด intra-articular injection ด้วย allogeneic puppy deciduous teeth stem cells

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเซลล์ต้นกำเนิดจากพินันน้ำนมสุนัขในการรักษาภาวะข้ออักเสบเรื้อรังในสุนัข
2. เพื่อเป็นแนวทางในการใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากพินันน้ำนมในการรักษาโรคทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกในทางการแพทย์และสัตวแพทย์



การตรวจเอกซเรย์

กายวิภาค (Anatomy of the synovial joint)

ข้อกระดูกสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท ตามลักษณะการเคลื่อนไหวของข้อ ได้แก่ Synovial joint, Cartilaginous joint และ Fibrous joint (Piermattei *et al.*, 2006; Liebich *et al.*, 2007; Sjastaad *et al.*, 2007) โรคข้อที่สำคัญทางคลินิกเช่นโรคข้อเสื่อมนั้น ส่วนใหญ่เกิดขึ้นกับ synovial joint ซึ่งมี range of motion มากที่สุด ตัวอย่างของ synovial joint ได้แก่ ข้อสะโพก (Coxofemoral joint) ข้อศอก (Elbow joint) Fibrous joint ได้แก่ รอยต่อระหว่างกะโหลกของลูกสัตว์ ส่วน Cartilaginous joint ได้แก่ ข้อต่อระหว่างกระดูกสันหลัง (Sjastaad *et al.*, 2007)

ถุงหุ้มข้อ (Joint capsule)

Joint capsule ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 ชั้น คือ ชั้นนอก ได้แก่ fibrous layer และชั้นใน ได้แก่ synovial membrane (Liebich *et al.*, 2007) ระหว่างเนื้อเยื่อทั้งสองชั้นนี้จะมี เส้นประสาท เส้นเลือด และท่อน้ำเหลือง (lymphatic vessels) อยู่ผิวหน้าด้านในของ joint capsule นั้นมี synovium วางเรียงตัวอยู่ โดย synovium ประกอบด้วย synovocyte ซึ่งมีอยู่ด้วยกัน 2 ชนิด ได้แก่ ชนิด A และชนิด B Synovocyte ชนิด A นั้นคล้ายกับ macrophage ที่กำจัดเศษขยะเซลล์ที่ตายแล้วโดยกระบวนการ phagocytosis ส่วน Synovocyte type B คล้ายกับ fibroblast ผลิตกรดไฮยาลูโรนิก โปรตีน และ degenerative enzyme (Liebich *et al.*, 2007; Edward, 2011)

น้ำไขข้อ (Synovial fluid)

ช่องว่างในข้อนั้นมีน้ำไขข้ออยู่ ซึ่งน้ำไขข้อนี้สร้างมาจากพลาสมาของเส้นเลือดที่อยู่ที่ synovial membrane โดยกระบวนการ Dialysis (Schulz, 2007) น้ำไขข้อประกอบด้วย กรดไฮยาลูโรนิก น้ำตาล electrolyte และ enzyme ที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการหล่อเลี้ยง กระดูกอ่อน (Liebich *et al.*, 2007) กรดไฮยาลูโรนิกใน synovial fluid ทำหน้าที่หล่อลื่นข้อ โดยการทำงานเหมือนกับ Shock absorber และลดแรงเสียดทานที่เกิดขึ้นจากการเคลื่อนไหว ของข้อ (Venable, 2008)

กระดูกอ่อนในข้อ (Articular cartilage)

Articular cartilage ของสุนัขมีความหนา 1 ถึง 5 มิลลิเมตร เป็นกระดูกอ่อนชนิดไฮยาลิน (Hyalin cartilage) ช่วยในการเคลื่อนไหวแบบเลื่อนไหล (gliding movement) ของข้อ ช่วยกระจายน้ำหนักจากการกลไกการเคลื่อนไหว (mechanical loads) และป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้นกับ subchondral bone ที่อยู่ด้านล่าง (Schulz, 2007; Sjastaad *et al.*, 2007; Mobasheri, 2010) สิ่งที่ทำให้ articular cartilage มีคุณสมบัติของ hyaline cartilage ที่เป็น extracellular matrix ที่มีความแข็งแรงทนทานต่อการเคลื่อนไหวทางกลไก (mechanical movement) Hyalin cartilage ประกอบด้วย cartilage-specific typeII collagen และ aggregating proteoglycans (Mobasheri, 2010; Gavican, 2010) Proteoglycans ประกอบด้วยแกนโปรตีน (protein core) จับกันอยู่กับ glycosaminoglycan ที่เป็น covalent กัน ตัวอย่างของ glycosaminoglycan ได้แก่ keratin sulfate และ chondroitin sulfate (Bliss *et al.*, 2012) กระดูกอ่อนเชื่อมต่อกับ cancellous bone ด้วย subchondral bone ซึ่งเป็นชั้นบาง ๆ ถัดมาจาก epiphysis (Liebich *et al.*, 2007) Subchondral bone ทำหน้าที่เป็น shock absorber ที่รอยต่อระหว่างกระดูกอ่อน โดย subchondral bone ช่วยเปลี่ยนแรงจากแรงฉีก (shear force) ไปเป็นแรงดึง (tensile force) และแรงกด (compressive force) Subchondral bone ประกอบด้วย ปลายเส้นเลือดแดงและดำที่นำสารอาหารมาให้กับกระดูกอ่อนและนำพาของเสีย ออกจากกระดูกอ่อน (Gangstang *et al.*, 2006) แม้จะมีคุณสมบัติมีความยืดหยุ่นสูง แต่ คุณสมบัติในการดูแลรักษาตัวเองนั้นมีอย่างจำกัด และความสามารถในการตอบสนองต่อความ

เสียหายที่เกิดขึ้นกับกระดูกอ่อนนั้นมีจำกัดมาก เนื่องจากกระดูกอ่อนมีการเผาผลาญค่อนข้างน้อย และขาดเลือดมาเลี้ยง (Sjastaad *et al.*, 2007; Schindler *et al.*, 2011; Mobasheri, 2010; Schindler, 2011) ความเสียหายที่เกิดขึ้นกับกระดูกอ่อนระดับที่ยังไม่ลึกถึง subchondral bone จึงไม่มีการซ่อมแซมได้เองทันที และการซ่อมแซมความเสียหายทั้งหมดให้กลับมาเหมือนเดิม ขึ้นอยู่กับขนาดของรอยโรค และตำแหน่งของความเสียหายที่เกิดขึ้น (Koga *et al.*, 2009) ความเสียหายเล็กๆ สามารถซ่อมได้ด้วย hyalin cartilage แต่ในขณะที่ความเสียหายขนาดใหญ่จะซ่อมด้วย fibrous cartilage ซึ่งขาดคุณสมบัติทาง biochemical ของ hyaline cartilage (Koga *et al.*, 2009) กระดูกอ่อนมีเซลล์อยู่เพียงชนิดเดียวคือ chondrocyte ซึ่งตอบสนองต่อกระบวนการสังเคราะห์ (synthesis) และการหมุนเวียนของ cartilage extracellular matrix (Mobasheri *et al.*, 2010) Chondrocyte ปล่อย collagen glycosaminoglycan และ hyaluronic acid และยังทำหน้าที่กระตุ้นการหมุนเวียนของ extracellular matrix จากการทำงานเหล่านี้เป็นการคงสภาพของ homeostatic synthesis และ degradation ของ extracellular matrix ให้สมดุล

โครงสร้างอื่น

ข้อกระดูกประกอบด้วยโครงสร้างอื่น ๆ ที่ช่วยในการทำงานของข้อ เช่น intracapsular ligament หรือ extracapsular ligament ที่ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับข้อ (Liebich *et al.*, 2007) นอกจากนี้ข้อกระดูกบางข้อมีโครงสร้างที่เป็น fibrocartilage อย่างเช่น menisci ที่ข้อเข่า ที่ช่วยคงความแข็งแรงให้กับข้อ (Liebich *et al.*, 2007) หรือ fat pad ที่ช่วยให้ข้อทำงานได้สบายขึ้น (Schulz, 2007)

โรคข้อ (Arthropathies)

การจัดประเภท

โรคที่เกิดขึ้นกับข้อรู้จักกันในนามของ “Arthropathies” ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ประเภทหลัก ๆ ตามการเกิดของโรค คือ inflammatory arthropathies และ non-inflammatory arthropathies (Schulz, 2007) Inflammatory arthropathies นั้นสามารถแบ่งออกได้อีก 3 กลุ่ม คือ immune-mediated infective และ crystal-induced disease process (Innes, 2012) ประเภทที่พบบ่อยที่สุดในสุนัข คือ inflammatory arthropathies ชนิด immune-mediated nonerosive polyarthritis (IMPA) ซึ่งมีลักษณะของ immune-complex deposition เกิดขึ้นที่ synovium แล้วส่งผลให้เกิด synovitis และการอักเสบของข้อมากขึ้น (Taylor, 2009)

ในกลุ่มของ non-inflammatory arthropathies นั้นเกิดได้จากทั้ง developmental, degenerative, neoplastic และ traumatic (Taylor, 2005) Non-inflammatory arthropathies ที่พบได้แก่ osteoarthritis, coagulopathic arthritis และ traumatic arthritis (Innes, 2012) และดังที่กล่าวมาข้างต้น Osteoarthritis เป็นโรคข้อที่พบบ่อยที่สุดในสุนัข (Taylor, 2009; Innes, 2012)

วิธีการวินิจฉัยโรคข้อ

สัตว์ที่มีปัญหาโรคข้อมักจะมีประวัติทางการแพทย์ที่ประกอบด้วยอาการขาเกเปลก (lameness) หรือการเดินที่ผิดปกติ Inflammatory arthropathies มักจะมีอาการป่วยทางร่างกาย (systemic) อื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น มีไข้ ซึม (Taylor, 2009) ยกตัวอย่างเช่น Polyarthritis หมายถึง การเกิดการอักเสบของข้อร่วมกันหลายข้อ ซึ่งอาจจะไม่ได้มีอาการ lameness เด่นชัด แต่อาจมีอาการอื่น เช่น กินอาหารน้อย มีไข้ อ่อนเพลีย อ่อนล้า เหนื่อยง่าย (Schulz, 2007)

ถึงแม้จะมีประวัติชัดเจนเรื่องปัญหากระดูกและข้อ แต่จำเป็นจะต้องตรวจร่างกายสัตว์อย่างละเอียดถึงสุขภาพโดยรวมที่เกี่ยวข้องถึงปัญหากระดูกและข้อ หรือส่งผลต่อการวางยาหรือการเลือกวิธีการรักษาหากสัตว์ป่วยมีประวัติอาการ lameness เหนื่อยง่าย ล้ม การเดินผิดปกติ หรือขี้เกียจ จะต้องได้รับการตรวจทางกล้ามเนื้อกระดูกและข้อทุกครั้ง (Arthur, 2011)

ความผิดปกติที่เกิดจาก arthropathy นอกจากอาการ lameness การเดินผิดปกติ แล้ว ยังมี อาการปวด และ range of motion ที่เปลี่ยนไปจากปกติการคลำตรวจข้อที่ผิดปกติจะพบว่าข้อหลวม ไม่แข็งแรง (instability) และเกิดเสียงผิดปกติ (crepitus)(Schulz, 2007) และอาจจะมีการตรวจพบว่าข้อข้างที่ไม่ได้มีปัญหา มีขนาดใหญ่ขึ้น ร้อน กล้ามเนื้อมีขนาดใหญ่ ไม่เท่ากันสองข้าง เนื่องจากการถ่ายน้ำหนักไปลงยังอีกข้าง

เมื่อสามารถระบุตำแหน่งของข้อที่ผิดปกติได้แล้วหลังการตรวจทั่วไป (CBC, serum biochemistry และ UA) และการตรวจทางกล้ามเนื้อกระดูกและข้อ การวินิจฉัยอย่างอื่นเพิ่มเติมได้แก่ การถ่ายภาพ ที่สามารถทำได้อย่างเช่น computed tomography และ magnetic resonance imaging ตลอดจนการตรวจวิเคราะห์และเพาะเชื้อ synovial fluid (Taylor, 2009)

โรคข้อเสื่อม (Osteoarthritis)

เราสามารถอธิบายถึง Osteoarthritis (OA) ได้ว่าเป็นกระบวนการของการซ่อมแซม และสูญเสีย articular cartilage ที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและผิดปกติ (Schulz, 2007) OA ส่งผลกระทบต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทุกชนิด มีความสำคัญ และเป็นโรคที่ใช้ค่าใช้จ่ายสูงทั้งในสุนัข ม้า และคน (Venable, 2008; Garvican, 2010) เป็นสาเหตุของความปวดเรื้อรังและเป็นโรคข้อที่พบมากที่สุด ในสุนัข กว่าร้อยละ 20 ของสุนัขโตต้องได้รับความทุกข์ทรมานจากความเจ็บปวดเนื่องจาก OA (Alan, 2007; Innes, 2012) OA เป็นโรคเรื้อรังของระบบกล้ามเนื้อและกระดูกที่มีความสำคัญมากในม้า และเป็นสาเหตุสำคัญของความสูญเสียทางเศรษฐกิจในอุตสาหกรรมม้า (Van Weren, 2010) เป็นโรคที่พบได้มากที่สุดที่เกิดกับประชากรหลาย

ล้านในประเทศแถบตะวันตก (Chevalier, 2010) คุณลักษณะทางพยาธิสรีรวิทยา (pathophysiological) และทางคลินิกของ OA ตลอดจนการตอบสนองต่อการรักษาและลักษณะทางกายวิภาคของข้อเข่าคนและสุนัขมีความคล้ายคลึงกันมาก ดังนั้นสุนัขจึงเป็นตัวอย่างของสัตว์ในการศึกษาถึงภาวะ OA มากที่สุด (Cook, 2010)

สาเหตุ

แม้จะสามารถระบุถึงสาเหตุของการเกิดโรคได้หรือไม่ก็ตาม สาเหตุของโรคข้อเสื่อมสามารถจำแนกออกได้เป็น 2 รูปแบบ คือ สาเหตุปฐมภูมิและสาเหตุทุติยภูมิ กรณีสาเหตุทุติยภูมิหรือแบบไม่ทราบสาเหตุ (Idiopathic) นั้นเป็นรูปแบบที่พบในคนมากกว่าในสุนัข ไม่ทราบสาเหตุการเกิดของโรคว่าเกิดมาจากไหน อย่างไร ปัจจัยบางอย่างที่สามารถนำไปสู่การเกิดโรคข้อเสื่อมแบบทุติยภูมิได้แก่ การเปลี่ยนแปลงทางชีวกลศาสตร์ (Biomechanic) ของข้อ อย่างเช่น ความไม่แข็งแรงหรือไม่มั่นคงของข้อ, การรับน้ำหนักที่ผิดปกติของ articular cartilage หรือโรคและความผิดปกติที่นำไปสู่การสร้างกระดูกอ่อนที่ผิดปกติ (Schulz, 2007; Innes, 2012) สาเหตุที่พบได้ทั่วไปของการเกิดโรคข้อเสื่อมแบบทุติยภูมิในสุนัขคือข้อสะโพกเสื่อมและ Cranial cruciate ligament rupture (CrCLR)(Schulz, 2007)

ปัจจัยเสี่ยงของ OA มีอยู่ 2 ประเภท คือ ปัจจัยเสี่ยงทางร่างกาย (Systemic risk factor) และ ปัจจัยเสี่ยงเฉพาะที่ (Local risk factor)(Ganstang, 2006) ปัจจัยเสี่ยงเฉพาะที่ยกตัวอย่างเช่น เคยได้รับบาดเจ็บมาก่อนหน้านี้ การรับน้ำหนักที่มากเกินไป ความไม่มั่นคงของข้อ กล้ามเนื้ออ่อนแอ และความผิดปกติที่พัฒนาเกิดขึ้นมาภายหลัง ปัจจัยเหล่านี้ส่งผลไปเปลี่ยนแปลง biomechanical loading ของข้อให้ผิดปกติไป

ผลของปัจจัยเสี่ยงทางร่างกายที่มีต่อการเกิด OA นั้นยังไม่ชัดเจน และยังมีการศึกษา น้อยในสุนัขเมื่อเทียบกับในคนตัวอย่างของปัจจัยเสี่ยงทางร่างกายได้แก่ ปัจจัยทางพันธุกรรม สูงอายุ สารอาหาร เพศ และฮอร์โมน (Gannstang, 2006) แต่ในสุนัขยังไม่มีการตรวจพบยีน ที่นำไปสู่สาเหตุการเกิด OA (Innes, 2012)

ความอ้วนเป็นปัจจัยเสี่ยงที่ดูเหมือนจะมีผลต่อทั้งทางร่างกายและเฉพาะที่ (Ganstag, 2006; Innes, 2012) การที่ข้อต้องรับภาระน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นพร้อมกับเกิดการเปลี่ยนแปลงของ joint alignment เป็นระยะเวลานานนั้นถูกคิดว่าเป็นกลไกที่ทำให้เกิด OA เนื่องจากความอ้วน (Innes, 2012; Sanderson, 2012) แต่จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้กล่าวถึงผลของ Adipokine ที่หลั่งมาจากเนื้อเยื่อไขมัน Adipokine ดังกล่าวได้แก่ tumor necrosis factor (TNF), interleukin-6 (IL-6) และ leptin ซึ่งเหมือนจะมีบทบาทในกระบวนการการเกิดโรคของ OA โดยการทำให้ร่างกายเกิด low level proinflammatory conditions ที่ส่งผลกับกระบวนการเผาผลาญของข้อ และนอกจากนี้ยังพบว่าการควบคุมน้ำหนักช่วยความรุนแรงหรือการลุกลามของโรคในสุนัขได้ (Innes, 2012; Sanderson, 2012)

กลไกการเกิดโรค (Pathogenesis)

ในอดีตเคยมีการคิดว่า OA เกิดมาจากสภาวะการฉีกขาดและความเสื่อม จนกระทั่งช่วง 30 ปีที่ผ่านมาที่มีการค้นพบบทบาทของ cellular mechanism ที่มีบทบาทต่อกลไกการเกิดโรคของ OA (Evan *et al.*, 2005) แต่ถึงแม้จะมีการค้นพบและมีการวิจัยอย่างจริงจังมากมาย แต่กลไกการเกิดโรค ของ OA ยังคงไม่เป็นที่เข้าใจชัดเจน

กลไกการเกิดโรคของ OA เป็นการเกิดขึ้นร่วมกันของกระบวนการทาง mechanical, biological, biomechanical, molecular และ enzyme (Chevalier and Kemta-Lepka, 2010) แม้จุดหลักของกลไกการเกิดโรค คือ การซ่อมแซมและการเสื่อมของ articular cartilage ที่ผิดปกติ แต่ OA ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในทุกโครงสร้างและองค์ประกอบของข้อ ซึ่งประกอบด้วย synovial membrane, synovial fluid และ subchondral bone (Meteescu *et al.*, 2008; Gavican *et al.*, 2010; Innes, 2012) การเกิด osteophyte ก็เป็นลักษณะเฉพาะที่พบในภาวะ OA

Osteophyte เป็นความพยายามที่จะจำกัดการเคลื่อนไหวและความเจ็บปวด โดย osteophyte นั้นเกิดจากการตอบสนองต่อการอักเสบเรื้อรัง และความเสียหายของเนื้อเยื่อเฉพาะที่ (Mele *et al.*, 2007; Schulz, 2007; Innes 2012) นอกเหนือจากโครงสร้างต่าง ๆ

ของข้อแล้ว OA ยังส่งผลต่อเนื้อเยื่อส่วนอื่น ๆ เนื่องจากมีการใช้ซ้ำข้างที่เป็น OA น้อยลงทำให้กล้ามเนื้อและเส้นเอ็นโดยรอบอ่อนแอ (Ganstang *et al.*, 2006; Innes, 2012)

ในกรณีของ OA นั้นมีสิ่งที่มาเกี่ยวข้องอีกก็คือ การผลิตที่มากเกินไปของ catabolic mediator และ proinflammatory mediator การผลิตที่มากเกินไปนำไปสู่การเกิดภาวะ catabolic ขึ้นใน articular cartilage และเกิดความเสียหายทำลายลูกกลมในท้ายที่สุด (Mortellaro, 2003; Black *et al.*, 2008) การปล่อย degradation products ออกมาจาก extracellular matrix ของ articular cartilage อันเนื่องมาจาก mechanical destruction หรือ enzymatic destruction เป็นสาเหตุให้เกิดการหลั่ง catabolic mediators และ proinflammatory mediator อย่าง cytokines, IL-1, IL-6 และ TNF- α , nitric oxide และการผลิตของ destructive enzyme ที่หลั่งโดย chondrocyte และ synovial cells (Chevalier and Kemta-Lepka, 2010; Mobasher and Henrotin, 2010) สิ่งกระตุ้นเหล่านี้ไปกระตุ้นให้มีการตอบสนองโดยการอักเสบ ซึ่งจะส่งผลเปลี่ยนแปลงภาวะความสมดุลของ cartilage matrix degradation and repair มีการสังเคราะห์ด้วยปัจจัยของ pro-inflammatory mediators ที่กล่าวถึงก่อนหน้านี้ลดลง ซึ่งเมื่อ inhibitor เหล่านี้ลดลงเป็นสาเหตุให้เกิดการทำลาย articular cartilage ที่มากขึ้น (Schulz, 2007; Innes *et al.*, 2010, 2012)

กระดูกอ่อนที่เกิดโรคนี้ไวต่อ mechanical stress ทำให้กระดูกอ่อนเกิดความเสียหายจากการอักเสบและเกิดการทำลายที่มากขึ้นไปอีกความเสียหายที่พบได้คือ การเกิด fibrillation ที่ผิวชั้นนอกของกระดูกอ่อน ซึ่งสามารถแตกกลิ้งลงไปจนถึงชั้น subchondral bone (Schulz, 2007; Innes, 2012)

ความสำคัญของ cellular mechanism และ pro-inflammatory mediators ที่มีต่อการเกิดโรคของ OA นั้นได้มีการศึกษาโดย Xu *et al.* (2009) ซึ่งพวกเขาได้ตรวจสอบถึงผลของ biological factors ที่อยู่ใน synovial fluid ของข้อที่เป็น OA ว่ามีผลอย่างไรกับ articular cartilage ปกติ โดยทำให้เกิด OA ในสุนัขจำนวน 8 ตัว โดยการผ่าตัดและยืนยันการเกิด OA ในระยะเวลา 24 สัปดาห์ต่อมา จากนั้นเก็บ synovial fluid จากข้อเข่าที่เป็น OA ฉีดกลับเข้าไปในข้อศอกของสุนัขตัวเดียวกัน และฉีดข้อศอกอีกข้างด้วยน้ำเกลือในปริมาณที่เท่ากัน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทาง morphological ที่ articular cartilage ของ elbow joint หลังฉีดไป 48 สัปดาห์ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้แก่การเสื่อมของ chondrocyte และ

cartilage matrix ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงของผิวชั้นนอกของ articular cartilage โดยประเมินจาก electromicroscope พบไม่พบความแตกต่างใน articular cartilage ข้างที่ฉีดน้ำเกลือและในกลุ่มควบคุม

แม้จะถูกจัดอยู่ในกลุ่ม non-inflammatory arthritis แต่ OA มีการเกิด synovial inflammation ที่แตกต่างกันตามตำแหน่งของ synovial site และระยะเวลาที่เกิด Synovitis มักจะทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ capillary permeability และเกิดการรั่วซึมของ serum proteins ตามมา จากนั้นก็นำไปสู่การเกิด synovial edema และปริมาณ synovial fluid ที่เพิ่มขึ้น (Edward, 2011)

การวินิจฉัย

ไม่ว่าจะเกิดขึ้นกับข้อไหนอาการทางคลินิกของ OAnั้นคล้ายกันอาการที่พบได้บ่อยที่สุดคือกะเผลก (lameness) ส่วนอาการอื่นได้แก่ ตึงปวด ไม่มีแรง ล้าหลังจากนาน ๆ ไม่อยากออกกำลังกาย หรือไม่อยากกระโดด (Schulz, 2007; Innes, 2012)

พฤติกรรมที่เปลี่ยนไปเกิดจากอาการปวด ที่อาจจะแสดงอาการรุนแรงหรือน้อยมาก ซึ่งง่ายต่อ การมองข้าม อาการทางคลินิกแย่งตลอดเวลา หรืออาจจะเป็น ๆ หาย ๆ ในช่วงที่โรคกำเริบหรือได้รับผลกระทบจากปัจจัยภายนอก อย่างเช่น การออกกำลังกายหรือสภาพอากาศที่เปลี่ยนไป

OA เกิดได้กับข้อไหนก็ได้ เกิดได้กับสุนัขทุกขนาด ทุกสายพันธุ์ ทุกอายุ (RycheI, 2010) สุนัขอาจมีประวัติที่มีความเสี่ยง อาจมีประวัติความผิดปกติที่ง่ายหรือเสี่ยงต่อการเกิด OA อย่างเช่น arthritis ชนิดอื่น ๆ มีการบาดเจ็บของข้อก่อนหน้านี้ ข้อหลุดหรือเคลื่อน ลูกสะบ้าเคลื่อน hip dysplasia elbow dysplasia หรือ cranial cruciate ligament rupture (Schulz, 2007)

ข้อมูลเบื้องต้น

อย่างที่กล่าวมาแล้วว่าไม่พบความผิดปกติในการตรวจ CBC, serum blood chemistry หรือ urinalysis ที่เกิดมาจาก OA (Taylor, 2009) แต่การตรวจร่างกายทั่วไปเบื้องต้นมีความสำคัญและมีประโยชน์ในการจะตรวจหาโรคที่อาจเกิดร่วมกัน ซึ่งมีผลต่อการจำกัดทางเลือกที่จะใช้ในการรักษา OA

การตรวจทางคลินิก (Clinical examination)

อาการที่ตรวจพบได้คือ อาการ lameness ที่แม้แต่ในสุนัขที่ทุกข์ทรมานจาก bilateral condition ซึ่งในกรณีที่อาการไม่ชัด อย่างเช่น มีการยกหรือถ่าน้ำหนักตลอดเวลาในขณะยืน หรือการก้าวสั้น ๆ ก็มีให้เห็นได้ (Schulz, 2007) อาการอื่นอย่างเช่น กล้ามเนื้อลีบ ทำทางการเดินที่เปลี่ยนไป ความผิดปกติที่ตรวจได้จากการคลำตรวจอย่างเช่น ข้อบวม joint effusion, capsular fibrosis, extra capsular fibrosis, การลดลงของ range of motion (ROM), crepitus และอาการปวด (Innes, 2012)

อาจตรวจพบภาวะที่เสี่ยงหรือง่ายต่อการเกิด OA อย่าง cranial cruciate ligament rupture หรือ joint incongruity ที่เกิดจากการบาดเจ็บหรือ angular limb deformity อาการทาง systemic อย่างเช่น มีไข้ ซึม ที่พบได้ทั่วไปในกรณีของ inflammatory joint disease นั้นไม่เกิดในกรณีของ OA (Taylor, 2009)

การถ่ายภาพรังสี (Radiography)

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางรังสีที่เกิดขึ้นใน OA นั้นแตกต่างกันไปตามระยะของโรค ในช่วงแรกของ OA นั้นมักจะไม่มีพบความผิดปกติทางภาพถ่ายรังสี แต่เมื่อโรคดำเนินไป กระบวนการของโรคลุกลามมากขึ้น จะพบการเปลี่ยนแปลงจากภาพเอ็กซเรย์ได้ (Allan, 2007)

ลักษณะของการเปลี่ยนแปลงที่พบได้บ่อยจากภาพถ่ายทางรังสีคือ การเกิด osteophyte แม้ข้อเท็จจริงแล้ว osteophyte ไม่ใช่ pathognomonic ของ OA (Allan, 2007; Innes, 2012) Osteophyte เกิดขึ้นที่ articular margin และ attachment site ของ joint capsule tendons และ ligaments (Mario and Loughlin, 2010) Osteophyte ที่เกิดขึ้นในตำแหน่งของ tendon หรือ ligament ที่เชื่อมต่อกับกระดูกเรียกว่า enthesophyte ใน stifle joint นั้นพบ osteophyte ง่ายที่สุดที่ตำแหน่งของ trochlear ridges, patellar, fabellar, ตำแหน่งที่ยึด ligament กับ caudal tibial plateau (Mario and Loughlin, 2010) ใน coxofemoral joint จะพบ osteophyte ง่ายที่ cranial หรือ caudal margins ของ acetabulum และยังพบได้อีกที่ส่วนหัวและคอของกระดูก femur (Kaptakin *et al.*, 2002)

ลักษณะทางภาพถ่ายรังสีอื่นๆ ของ OA ที่พบได้อีกคือ synovial fluid effusion และความเข้มที่เพิ่มขึ้นหรือที่รู้จักกันในลักษณะของ sclerosis ที่เกิดกับ subchondral bone (Allan, 2007) ในข้อเข่าที่มี synovial effusion จะทำให้ infrapatellar fat pad เคลื่อนไปทางด้านบน และ joint capsule เคลื่อนไปทางด้านหลัง (Mario and Loughlin, 2010)

เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงในทางความกว้างของ joint capsule เป็นไปได้ว่าในตอนแรก joint space ดูเหมือนจะกว้างขึ้น แต่ต่อมากจะบางลงกว่าภาวะปกติ เนื่องมาจากเกิดการสูญเสียของ cartilage (Allan, 2007) แต่การจะประเมินความกว้างของ joint space นั้น การถ่ายภาพรังสีควรจะทำในขณะที่ยึดข้อเข่าลงน้ำหนักที่ขาข้างนั้นซึ่งทำได้ยากในสุนัข (Mario and Loughlin, 2010; Innes, 2012) ที่สามารถพบได้อีกจากภาพถ่ายทางรังสีคือ soft tissue mineralization ของโครงสร้างอื่นๆของข้อ

การถ่ายภาพรังสีมีข้อจำกัด คือ ไม่สามารถมองเห็น articular cartilage ได้ ภาพถ่ายเอ็กซเรย์ให้ข้อมูลส่วนใหญ่ที่เกิดขึ้นกับกระดูก ซึ่งเมื่อเริ่มมีอาการทางคลินิกแล้วแต่อาจจะยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงหรือหลักฐานใด ๆ จากภาพถ่ายเอ็กซเรย์ (Allan, 2007; Innes, 2012)

สิ่งที่ควรคิดไว้คือ แม้การถ่ายภาพเอ็กซเรย์จะมีประโยชน์ในการวินิจฉัย OA แต่ลักษณะทางรังสีที่พบอาจจะไม่เกี่ยวข้องหรือสอดคล้องเท่าไรนักกับการทำงานของขา แต่ก็ยังมีการตั้งคำถามกันอยู่ถึงการถ่ายภาพเอ็กซเรย์ในการประเมินความรุนแรงและการดำเนินไปของโรค (Gordon *et al.*, 2003) ถึงแม้จะพบลักษณะการเปลี่ยนแปลงของ OA จากภาพถ่ายเอ็กซเรย์

แต่สัตว์หลายตัวอาจจะไม่แสดงอาการใด ๆ หรืออาจยังไม่แสดงอาการกระดูกในขณะนั้น (Schulz, 2007)

การวิเคราะห์น้ำไขข้อ (Synovial fluid analysis)

การตรวจวิเคราะห์น้ำไขข้อควรจะทำในทุกกรณีที่สงสัยโรคข้อ เพราะจะช่วยแยก OA จาก inflammatory arthropathies อื่น ๆ (Innes, 2012) ในกรณีของ OA การอักเสบที่เกิดขึ้นเมื่อตรวจเซลล์น้ำไขข้อจะพบลักษณะการอักเสบเล็กน้อย แต่อาจพบการเปลี่ยนแปลงอย่างความหนืดชั้นลดลง ปริมาณน้ำไขข้อเพิ่มขึ้น (Taylor 2009, Innes 2012)

การวินิจฉัยอื่น ๆ

วิธีการอื่นได้แก่ MRI และ CT แต่ MRI และ CT มีราคาแพง มีใช้กันในทางปฏิบัติ แต่ในการวินิจฉัย OA ในทางการแพทย์คน โดย MRI มีประโยชน์ในการเห็นโครงสร้างส่วนประกอบเนื้อเยื่ออ่อนของข้อ (Innes, 2012) การส่องกล้อง (Arthroscopy) เป็นวิธีการที่ทำให้เราสามารถประเมินความรุนแรงของความเสียหายที่เกิดขึ้นกับกระดูกอ่อน และ synovial proliferation ได้ ทำให้เราประเมินการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างภายในข้อที่เกิดขึ้นในระยะเริ่มต้นได้มากกว่าการถ่ายภาพเอ็กซเรย์ OA ในระยะเริ่มแรกนั้นยากต่อการวินิจฉัย เนื่องจากเกิดเปลี่ยนแปลงขึ้นภายในข้อและการทำงานของข้อก่อนที่จะมีอาการทางคลินิกให้เห็น ทำให้ขัดขวางการวินิจฉัย OA ในระยะเริ่มต้น ซึ่งการรักษาก่อนในระยะเริ่มต้นสามารถลดกระบวนการเกิดโรคได้ (Venable *et al.*, 2005)

อีกอย่างหนึ่งคือไม่มีวิธีการใด ๆ ที่ได้ผลในการเฝ้าระวังการลุกลามของโรค (Mobasheri and Henrotin, 2010) ดังนั้นจึงยังมีการพัฒนาเครื่องมือในการวินิจฉัยอื่น ๆ ที่จะช่วยเติมหรือแก้ไขข้อบกพร่องของวิธีการที่มีอยู่ ยกตัวอย่างเช่น การใช้ cartilage break down products เป็น biomarker ของ OA (Ganstag *et al.*, 2010, 2012) Biomarker ให้ข้อมูลของ cartilage homeostasis โดยวัดจากตัวอย่างเลือดหรือปัสสาวะก่อนที่จะมีอาการทางคลินิก จะได้ให้การรักษาเพื่อป้องกันการเกิดและความรุนแรงของ OA (Venable *et al.*, 2005) แต่ก็พบว่า

กระดูกอ่อนส่วนใหญ่ในร่างกายนี้นั้นพบ คือกระดูกสันหลังและระบบทางเดินหายใจ การที่ break down products จะปล่อยออกมาจากข้อที่เกิดโรคข้อเดียวนั้นอาจเป็นไปได้น้อย (Gavican *et al.*, 2010, 2012)

การจัดการภาวะข้อกระดูกอักเสบในสุนัข (Management of canine osteoarthritis)

ที่ผ่านมายังไม่มีการรักษา OA ให้หายได้ เนื่องจากไม่มีการรักษาที่สามารถป้องกันกระดูกอ่อนจากความเสียหายหรือการทำลายที่มากขึ้นจาก OA ได้ และยังไม่มีการรักษาที่ไปมีผลต่อกลไกการลุกลามของโรค (Mobasher and Henrotin, 2010; Kwon and Park, 2012) และจากข้อเท็จจริงที่ว่า การวินิจฉัย OA มักจะมีการวินิจฉัยได้ในระยะท้ายและไม่สามารถย้อนกลับได้แล้ว ซึ่งหมายความว่า การรักษามุ่งเน้นที่การบรรเทาอาการและความรุนแรง เนื่องจากยาสามารถทำได้เพียงบรรเทาอาการปวดและการอักเสบ (Johnston *et al.*, 2008; Venable *et al.*, 2008; Mobasher and Henrotin, 2010)

แม้แต่ทางการแพทย์คนปัจจุบัน ก็ยังทำได้น้อยมากกับผู้ป่วยที่เป็น OA ระดับเล็กน้อยถึงปานกลาง (Evan, 2005) ยังคงมีการค้นหาการรักษาที่ดีกว่าอย่างต่อเนื่องและมีการศึกษาที่ให้ความสนใจในการหาวิธีการรักษาอย่างเช่น cytokine inhibitors gene therapy และ growth factors ซึ่งอาจจะมีประสิทธิภาพในการคงสภาพ homeostasis ของข้อปกติได้ หรือแม้แต่เปลี่ยนความเสียหายที่เกิดขึ้นกับส่วนต่างๆของข้อที่เสื่อมให้กลับคืนมา (Johnston *et al.*, 2008; Filado *et al.*, 2012, Spakova *et al.*, 2012) ยกตัวอย่างยาที่ใช้ในการรักษา rheumatoid arthritis ในคน ซึ่งเป็นยาที่สามารถลดการดำเนินไปของโรคได้ (Chevalier and Kemta-Lepka, 2010)

เป้าหมายในการรักษา OA ที่มีความสำคัญมากคือการบรรเทาอาการปวด (Mobasher and Henrotin, 2010) การจัดการอาการปวดทำให้ผู้ป่วยมีความแข็งแรง สามารถใช้ขา เคลื่อนไหวร่างกายได้ เป้าหมายอื่น ๆ ประกอบด้วย การคงความสามารถในการเคลื่อนไหวข้อ

ได้ง่าย. ทำให้คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยดีขึ้น และสามารถลดกระบวนการเกิดโรคให้ช้าลง (Kuroki *et al.*, 2002; Ganstang and Callegari, 2011)

การรักษา OA ส่วนมากเป็น multimodal (Johnston *et al.*, 2008) หมายถึงการใช้การรักษาหลายแบบร่วมกัน อย่างการให้ยาแก้ปวดชนิดไม่ใช้สเตียรอยด์ (Non-steroid analgesic drugs, NSAIDs) ก็บยาแก้ปวดอื่นๆ, nutraceuticals และ functional foods, physical therapy และการรักษาทางเลือกอื่นๆ อย่างการฝังเข็ม (Sanderson *et al.*, 2009)

การตัดสินใจเลือกวิธีการรักษามักจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่แตกต่างกันไปอย่างเช่น ประสบการณ์ส่วนตัวของหมอ, ความสะดวกและเป้าหมายของเจ้าของสัตว์ป่วย ยา อุปกรณ์ หรือวิธีการที่มี (Rychel, 2010) ส่วนใหญ่ได้รับการจัดการ OA ด้วยการรักษาแบบประคองอาการอย่างเช่น NSAIDs, nutritional supplementation, physiotherapy และการคุม น้ำหนัก (Innes, 2012)

สิ่งที่ควรต้องนึกถึงเสมอคือ อาการไม่ได้สัมพันธ์กับภาพเอ็กซเรย์เสมอไป ดังนั้นจึงมีความสำคัญอย่างมากที่จะจัดการการรักษา OA ให้เหมาะกับสุนัขแต่ละตัว โดยยึดอยู่บนพื้นฐานของอาการแทนภาพเอ็กซเรย์ (Schulz, 2007)

การจัดการทางยา (Pharmacological management)

ยาแก้ปวด (Analgesic)

NSAIDs เป็นยาที่ใช้มากที่สุดในการจัดการ OA เกี่ยวเนื่องกับการที่ได้รับการตรวจรับรองทางวิทยาศาสตร์ถึงประสิทธิภาพในการบรรเทาอาการปวดทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง หลังการได้รับยาเพียงไม่นานและออกฤทธิ์ได้ยาวนาน ด้วยการให้ยาที่ค่อนข้างง่ายยิ่งทำให้ NSAIDs เป็นที่รู้จักเป็นอย่างดี (Lamont and Mathew, 2007; Johnston *et al.*, 2008; Innes *et al.*, 2010) หมอบางคนเลือกใช้ NSAIDs เท่าที่จำเป็น แต่บางคนแนะนำให้ใช้อย่างต่อเนื่อง (Innes *et al.*, 2010b) การใช้ NSAIDs อย่างต่อเนื่องควบคุมอาการปวดได้ดีกว่า

ความสามารถในการใช้ข้อได้กว่า ซึ่งนำไปสู่การเคลื่อนไหวได้ดีขึ้น จากการใช้ NSAIDs ทำให้เกิดการยับยั้ง nitric oxide อย่างต่อเนื่องใน articular cartilage ซึ่งในทางทฤษฎีแล้วจะไปลดการตายของ chondrocyte และช่วยยืดระยะเวลาการลุกลามของ OA ผลการศึกษามากมายที่ศึกษาถึงผลข้างเคียงของการใช้ NSAIDs เป็นระยะเวลานานนั้นน่าตกใจ แต่ Systemic review โดย Innes *et al.* (2010b) รายงานว่าจากข้อมูลที่มีอยู่ในปัจจุบันผลข้างเคียงรุนแรงของการใช้ NSAIDs เป็นระยะเวลายาวนานยังนั้นยังต่ำอยู่

ถึงแม้จะไม่ได้ใช้ NSAIDs เป็นประจำทุกวัน แต่ NSAIDs มีประโยชน์ในช่วงที่เกิดการอักเสบเฉียบพลัน (Acute flare) ขึ้น ซึ่งพบบ่อยใน OA ในกรณีที่เลือกให้ NSAIDs ระยะสั้น ๆ จำเป็นจะต้องมีการพักร่วมด้วย เมื่อระยะการอักเสบเฉียบพลันผ่านพ้นไประดับของการกลับมาใช้จะค่อย ๆ คืบกลับมา (Schulz *et al.*, 2007) Carprofen และ meloxicam เป็นตัวอย่างของ NSAIDs ที่ใช้กันทั่วไปในการรักษา OA ในสุนัข (Innes, 2010) Carprofen ใช้ขนาด 4.4 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม วันละ 1 ครั้งหรือ 2.2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม วันละ 2 ครั้ง การใช้ระยะยาวแนะนำให้ใช้ 2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม วันละ 1 ครั้ง Meloxicam ใช้ 0.2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัมในวันแรกของการรักษา และ 0.1 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม วันละ 1 ครั้ง ในวันต่อมา (Plumb, 2011)

กลไกการออกฤทธิ์ (Mechanism of action)

การทำงานของ NSAIDs กระตุ้นผ่านการยับยั้งเอนไซม์ Cyclooxygenase (COX) ซึ่งไป oxidize arachidonic acid ไปเป็น Eicosanoids อย่าง Prostaglandin (PGs) COX มีอยู่ 2 รูปแบบ คือ COX-1 และ COX-2 Prostaglandins ที่ผลิตมาจากเอนไซม์เหล่านี้มีความสำคัญต่อการทำงานทั่วทั้งร่างกายทั้งในขณะปกติและเจ็บป่วย Prostaglandins บางตัวอย่างเช่น Prostaglandin E₂ (PGE₂) ที่ผลิตมาโดย COX-1 มีความสำคัญอย่างมากต่อ mucosal defense ของระบบทางเดินอาหาร (Lamont and Mathew, 2007) PGE₂ เพิ่มการผลิต mucus และการหมุนเวียนของ mucosal cells ในทางเดินอาหาร ลดการหลั่งกรดในกระเพาะ และเพิ่มการหลั่ง bicarbonate ในลำไส้ส่วน duodenum (KuKanich *et al.*, 2012)

Eicosanoid อื่นที่ผลิตโดย COX-1 เช่น Thromboxane A₂(TBA₂) มีความจำเป็นต่อการทำงานของเกล็ดเลือดและเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการ blood clot formation และ coagulation (Lamont and Mathew, 2007) ดังนั้นการยับยั้ง COX-1 จึงมีผลต่อ anticoagulant effect เช่นเดียวกันกับ prostaglandin ที่ผลิตโดย COX-2 ซึ่งมีความสำคัญต่อการทำงานของร่างกาย ยกตัวอย่างเช่นมีส่วนในการป้องกันการหายของ mucosal injury ชัดขวางการการยึดเกาะของ leukocytes และมีความสำคัญต่อ physiological function ในไต (Lamont and Mathew, 2007) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง PGE₂ และ Prostacyclin (PGI₂) มีความสำคัญต่อการทำงานของไต โดย PGE₂ และ PGI₂ เพิ่มการขับและชัดเจนการดูดซึมกลับของโซเดียม และกระตุ้นการหลั่งของ renin (KuKanich *et al.*, 2012)

COX-2 ก็มีบทบาทสำคัญต่อ physiologic function อื่น ๆ ของร่างกายเช่นกัน ทั้งระบบประสาท ระบบสืบพันธุ์และ bone metabolism PGE₂ และ PGI₂ เป็นตัวกระตุ้นความเจ็บปวดและการอักเสบ ดังนั้นการยับยั้ง prostaglandin จึงเป็นสิ่งที่ต้องการใน OA (Lamont and Mathew, 2007) NSAIDs มี central antinociceptive effects ที่ไขสันหลัง (Lamont and Mathew, 2007; Innes, 2012) พบว่า NSAIDs มีผลกระทบโดยตรงต่อ cellular mechanism ของ OA ที่ข้อ โดยการยับยั้งการตายของเซลล์ที่อยู่ใน articular cartilage ที่ถูกกระตุ้นโดย nitric oxide (Innes *et al.*, 2010)

NSAIDs แตกต่างกันไปตามชนิดของ COX ที่เข้าไปยับยั้ง บางชนิดยับยั้งเฉพาะ COX-2 อย่างเช่น meloxicam และ carprofen ในขณะที่ ketoprofen และ aspirin เป็นตัวอย่างของ NSAIDs ที่ยับยั้งทั้ง COX-1 และ COX-2 (Lamont and Mathew, 2007)

ผลข้างเคียงและข้อห้ามในการใช้

ฤทธิ์ไม่พึงประสงค์หลักของ NSAIDs เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหารม ไต และการลดการทำงานของเกล็ดเลือด (Innes *et al.*, 2012) เนื่องจากสุนัขมีความไวต่อผลข้างเคียงของ NSAIDs มากกว่าคน และยาส่วนใหญ่ในกลุ่มนี้มี Safe margin ที่แคบ ดังนั้น accurating dose จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง (Lamont and Mathew, 2007) ความแตกต่างเฉพาะแต่ละตัวส่งผลถึงการตอบสนองต่อ NSAIDs แต่ละชนิดแตกต่างกัน จึงควรประเมินและแนะนำว่ายาอัน

โหนดออกฤทธิ์หรือให้ผลดีที่สุดต่อผู้ป่วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการควบคุมความเจ็บปวดซึ่งต้องการ NSAIDs ในขนาดสูง (Lamont and Mathew, 2007; Taylor, 2009) หากมีการเปลี่ยนไปเริ่มใช้ยาตัวใหม่ควรมีการเว้นระยะเพื่อลดความเสี่ยงต่อผลข้างเคียง ในกรณีนี้ระยะการชั้ยอย่างน้อย 3 วัน (Taylor, 2009) ระวังการใช้ NSAIDs ร่วมกับ glucocorticoids เนื่องจากไปเพิ่มความเสี่ยงต่อผลข้างเคียงโดยเฉพาะอย่างยิ่ง gastrointestinal ulceration ผลข้างเคียงส่วนใหญ่จาก NSAIDs เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร NSAIDs เป็นกรดอ่อน ๆ ที่หลังได้รับยาเข้าไปในทางเดินอาหารแล้วสามารถทำให้ระคายเคืองกับ mucosa ได้โดยตรง หรือระคายเคืองจาก secretion ในน้ำดีหลังจากถูกขับออกมาจากตับ ผลข้างเคียงที่เกิดจากการกระตุ้นทางอ้อมผ่านการยับยั้ง PGE₂ และ PGI₂ เนื่องจาก eicosanoids เหล่านี้ช่วยในการปกป้อง mucosa ของระบบทางเดินอาหารจากความเสียหายดังที่กล่าวไว้เบื้องต้น (Innes, 2010a, Kukanich *et al.*, 2012) กลไกอื่นๆของ NSAIDs ที่จะทำให้ผลข้างเคียงต่อระบบทางเดินอาหารรุนแรงคือ ไปเพิ่มการผลิต leukotriene และการยับยั้งของ aspirin ที่ไปกระตุ้น lipoxin ดังนั้นจึงควรระวังการใช้ NSAIDs หรือใช้ให้น้อยด้วยความระมัดระวังในผู้ป่วยที่มีความเสียหายของระบบทางเดินอาหารจาก ulceration หรือ การผ่าตัดลำไส้ (Kukanich *et al.*, 2012) ข้อห้ามอื่นของ NSAIDs คือ acute renal failure, dehydration และ coagulopathies (Lamont and Mathew, 2007)

สืบเนื่องจากการยับยั้งการทำงานของ prostaglandin NSAIDs อาจจะเป็นอันตรายต่อการทำงานของระบบสืบพันธุ์ และไม่ควรใช้ระหว่างตั้งครรภ์ (Lamont and Mathew, 2007) NSAIDs ส่วนใหญ่ถูกกำจัดโดยตับ ฉะนั้นโรคตับจึงเป็นข้อควรระวังสำหรับการใช้ NSAIDs เพราะโรคตับจะทำให้เพิ่ม drug exposure และเพิ่มความเสี่ยงของผลข้างเคียง (Kukanich *et al.* 2012) การใช้ NSAIDs ในสัตว์กับโรคที่เป็นสาเหตุทำให้ visceral perfusion ลดลง อย่างเช่น โรคหัวใจล้มเหลวนั้น สามารถเพิ่มความเสี่ยงของ ulceration ให้ทางเดินอาหารได้ (Taylor, 2009) การตรวจร่างกายอย่างละเอียด ได้แก่ CBC, serum biochemistry และ UA จึงควรทำก่อนที่จะมีการให้ NSAIDs เพื่อช่วยตัดข้อห้ามที่อาจจะเกิดขึ้นได้ (Rychel, 2010)

อาการที่ควรระวังระหว่างการให้ NSAIDs คือ hematochezia หรือ melena, vomiting, กินน้ำมากขึ้น (Lamont and Mathew, 2007) ในการใช้ระยะยาวแนะนำให้มีการตรวจ creatinine และ ALT เพื่อเฝ้าระวัง อาการทางคลินิกที่อาจจะมีสาเหตุมาจาก gastric ulceration

ได้แก่ ซีม กินน้อยลง อาเจียน ท้องเสีย พบเลือดออกในกอนอาเจียนหรืออุจจาระ สุนัขบางตัว แม้จะเกิด gastric ulceration แต่ไม่แสดงอาการใด ๆ ออกมาเลย (Kukanich *et al.*, 2012)

ถ้ามีอาการใด ๆ เกิดขึ้นระหว่างการรักษา ควรหยุดให้ยา NSAIDs จนกว่าอาการจะหาย เป็นปกติ หลังจากแก้ไขอาการทางคลินิกแล้วสามารถให้การรักษาอื่น ๆ ได้ การให้ NSAIDs สามารถให้ต่อเนื่องร่วมกับการให้ gastroprotectant เช่น omeprazole, famotidine หรือ misoprostal ทางเลือกอื่นในการลดขนาดยา คือ การใช้ร่วมกับยาแก้ปวดกลุ่มอื่น ๆ หรือสลับไปใช้ยาแก้ปวดชนิดอื่น หรือ NSAIDs ชนิดอื่น (Lamont and Mathew, 2007; Kukanich *et al.*, 2012)

ยาแก้ปวดชนิดอื่น ๆ

การใช้ยาแก้ปวดชนิดอื่นร่วมกับการให้ NSAIDs นั้นมีประโยชน์ต่อการรักษาอาการปวดเรื้อรังไม่เพียงสามารถควบคุมอาการปวดเรื้อรังที่ติดต่อกับ NSAIDs แต่ analgesic drugs ชนิดอื่น ๆ ยังสามารถลดขนาดของ NSAIDs และส่งผลช่วยลดความเสี่ยงที่จะเกิดจากผลข้างเคียง (Lamont and Mathew, 2007) ยาเหล่านี้จึงมีประโยชน์ต่อสัตว์ที่มีปัญหาโรคตับ โรคไต และโรคทางเดินอาหาร หรือผู้ป่วยที่ไม่ทนต่อการได้รับ NSAIDs (Rychel, 2010) ตัวอย่างของ analgesic adjuvants ที่สามารถนำมาใช้ในการจัดการ OA ประกอบด้วย tramadol, amantadine, gabapentin และ amitriptyline (Lamont and Mathew, 2007; Plumb 2011; Kukanich *et al.*, 2012) แม้จะมีการกล่าวถึงการใช้ analgesic drugs ในทางคลินิกมาก่อนหน้านี้ แต่หลักฐานทางวิทยาศาสตร์ของประสิทธิภาพในการรักษาอาการปวดจาก OA ยังมีไม่มาก มีเพียงฤทธิ์ของ amantadine ที่มีการตรวจสอบใน controlled clinical trail ในสุนัขที่เป็น OA (Johnston *et al.*, 2008) Tramadol เป็น opiate-like agonist ที่มีคุณสมบัติ μ -receptor activity (Plumb, 2011) โดย tramadol ไปยับยั้งการ reuptake ของ serotonin และ norepinephrine (Rychel, 2010; Plumb 2011) มีการใช้แพร่หลายในทางสัตวแพทย์ โดยใช้ร่วมกับ NSAIDs (Johnston *et al.*, 2008) สำหรับอาการปวดเรื้อรังแบบไม่รุนแรงในสุนัขให้ยาในขนาด 2-5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม (mg/kg) วันละ 2-3 เวลา โดยให้ร่วมกับยาแก้ปวดชนิดอื่น อย่างเช่น NSAIDs (Plumb, 2011) สุนัขนั้นค่อนข้างทนต่อ

tramadol ได้ดี อาการข้างเคียงที่อาจพบได้ คือ ง่วงซึม ตื่นกลัว อาเจียน ท้องเสีย และ ท้องผูก (Plumb, 2011)

Amatadine ไปยับยั้ง N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor ซึ่งพบที่ dorsal spinal horn และทำงานเกี่ยวข้องกับอาการปวดเรื้อรัง (Johnston *et al.*, 2008; Rychel 2010) ในการศึกษาของ Lascells *et al.* (2008) ที่ศึกษาถึงผลของ amantadine ในการใช้ ร่วมกับ meloxicam พบว่ามีประโยชน์ในการบรรเทาปวดในสุนัขที่เป็น OA ไม่พบอาการข้างเคียงใดๆ Amantadine สามารถใช้ในการจัดการความเจ็บปวดที่มีสาเหตุมาจาก OA โดยการกินที่ขนาด 3-5mg/kg วันละครั้ง (Plumb, 2011) แต่อย่างไรก็ตาม amantadine นั้นถูกขับออกทางไต จึงควรปรับขนาดของยาเมื่อใช้ในสุนัขที่มีปัญหาโรคไต (Plumb, 2011)

Gabapentin มีประโยชน์ในการรักษาอาการปวดที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาท แม้กลไกที่ทำให้ออกฤทธิ์แก้ปวดจะยังไม่เข้าใจชัดเจน แต่คาดว่า gabapentin ไปลด excitatory neurotransmitters โดยการไปจับกับ voltage-gate calcium channel เนื่องจาก gabapentin ถูกขับออกทางไต จึงควรปรับขนาดยาในกรณีสุนัขที่มีปัญหาโรคไตรุนแรงผลข้างเคียงของ gabapentin ที่พบได้คือ ง่วงซึม ดังนั้นจึงแนะนำให้เริ่มที่ขนาดต่ำกว่าก่อน และเนื่องจากเกี่ยวข้องกับ potential withdrawal-precipitated seizure จึงไม่ควรหยุดยากะทันหัน (Plumb, 2011)

Amitriptyline นั้นแรกเริ่มใช้ในการรักษาปัญหาพฤติกรรมอย่างเช่น อาการหวาดกลัว หวาดระแวง แต่ยังสามารถจัดการ neuropathic pain ได้อีกด้วย (Johnston *et al.*, 2008) Amitriptyline เป็น tricyclic antidepressant drug ที่ทำให้เกิดการขัดขวาง amine pump ที่ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของระดับ neurotransmitters เกิดอาการง่วงซึม และ anticholinergic activity Amitriptyline ยังไปจับกับ H_1 receptors, sodium channels และ glutamate receptors ขนาดที่ใช้ใน OA คือ 1-2 mg/kg วันละ 1-2 เวลา และเนื่องจาก amitriptyline ถูกเผาผลาญที่ตับ ดังนั้นจึงควรระวังในผู้ป่วยโรคตับ อาการข้างเคียงที่พบได้คือ ง่วงซึม อาการของ

anticholinergic effects อย่างเช่น ท้องผูก ปัสสาวะคั่งค้าง (urinary retention) (Plumb, 2011)

การรักษาทางยาอื่น ๆ

Polysulfate glycosaminoglycan และ pentosanpolysulfate (Innes, 2010) ใช้ในการฉีด intra-articular ในม้า แต่ยังไม่มียารายงานการใช้ในสุนัข (McIlwraith, 2011) Polysulfate glycosaminoglycan และ pentosanpolysulfate มีผล structure modifying effects ในการรักษา OA แม้จะยังไม่ได้รับการรับรองก็ตาม (Innes, 2010)

Pentosanpolysulfate เป็น glycosaminoglycan กึ่งสังเคราะห์สามารถใช้ในการจัดการ OA ในสุนัขได้ด้วยคุณสมบัติ chondroprotective functions ในประเทศฟินแลนด์มี pentosanpolysulfate ใช้ในรูปแบบฉีด (Carthrophen® 100 mg/ml) โดยฉีดใต้ผิวหนังที่ขนาด 3 mg/kg ฉีด 4 ครั้ง ห่างกัน 4-5 วัน (Plumb, 2010) Hannon *et al.* (2009) รายงานผลข้างเคียงของผลิตภัณฑ์ pentosanpolysulfate ซึ่งก็คือ Cathrophen Vet® ในประเทศอังกฤษ รายงานกล่าวถึงผลข้างเคียงในสุนัข เช่น กินอาหาร ผอม อาเจียน ที่ต้องนึกถึงเสมอคือ pentosan sulfate มีฤทธิ์ anticoagulant effect จึงไม่แนะนำให้ใช้ร่วมกับ NSAIDs (Plumb, 2011)

กลไกจริงๆของ polysulfate glycosaminoglycan (PSGAG) นั้นยังไม่ทราบ แม้จะมีการใช้เพื่อรักษาภาวะ OA ในสุนัขอย่างถูกกฎหมายในบางประเทศ (Innes, 2012) การตรวจสอบประสิทธิภาพของ PSGAG มี systemic review อยู่ 2 รายงานซึ่งประเมินผลว่ามีประสิทธิภาพน้อยถึงปานกลาง (Aragon *et al.*, 2007; Sanderson *et al.*, 2009) Polysulfate glycosaminoglycan ให้ได้ที่ขนาด 4.4mg/kg โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ ต่อเนื่อง 4 สัปดาห์ PSGAG เป็น heparin-analogue ดังนั้นจึงควรระมัดระวังในการใช้ในผู้ป่วยที่เป็น bleeding disorder และการใช้ร่วมกับ NSAIDs (Johnston *et al.*, 2008)

การจัดการด้วยวิธีการอื่น (Non-pharmacological management)

การควบคุมน้ำหนัก

อย่างที่วิเคราะห์กันก่อนหน้านี้ว่าความอ้วนเป็นปัจจัยที่นำไปสู่การทำให้เกิด OA โดยความอ้วนไปเพิ่มความเสี่ยงของ mechanical injury ที่จะเกิดต่อ articular structure และความอ้วนยังทำให้เกิดภาวะ chronic systemic inflammation (Rychel, 2010; Innes, 2012) ความอ้วนก็อาจเป็นผลมาจากอาการปวดเรื้อรังด้วยเช่นกัน เนื่องจากความปวดที่ทำให้ไม่อยากออกกำลังกาย (Schulz, 2007) สัตว์เลี้ยงที่มีน้ำหนักเกินที่เป็น OA มักจะไม่ตื่นตัว ไม่กระตือรือร้น ไม่คล่องตัว ด้วยน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นไปเพิ่มภาระให้กับข้อที่มีปัญหาอยู่แล้ว และการได้รับน้ำหนักที่มากขึ้นเป็นการเริ่มต้นของการเกิดวงจรที่ผิดปกติ (Rychel, 2010) นอกเหนือจากการเกิด OA แล้ว การเกิดโรคอื่นก็สูงกว่าอย่างเช่น เบาหวาน Hepatic lipidosis ปัญหาหัวใจและทางเดินหายใจ ผิวหนังอักเสบเนื่องจากความอ้วน ดังนั้นจึงแนะนำให้ลดน้ำหนัก (Nelson *et al.*, 2007) แม้จะพบความเสี่ยงทางพันธุกรรมในสายพันธุ์ต่างๆ อย่าง Labrador Retriever และ Cocker Spaniel แต่เหตุผลส่วนใหญ่ของภาวะอ้วน คือ การได้รับพลังงานมากเกินไป และการทำกิจกรรมน้อยในแต่ละวัน ความอ้วนไม่ค่อยมีสาเหตุมาจากโรคต่อมไร้ท่ออย่าง Hypothyroidism Hyperadrenocorticism หรือ Hyperinsulinism หรือจากยาอย่างเช่น progesterone หรือ corticosteroids (Taylor, 2009) มีการศึกษาที่ระบุว่า การลดน้ำหนักเพียงอย่างเดียวสามารถบรรเทาอาการทางคลินิก และเพิ่มความสามารถในการเคลื่อนไหวของสุนัขอ้วนที่เป็น OA ได้ (Johnston *et al.*, 2008) ในการศึกษาที่ทำโดย Marshal *et al.* (2010) โดยศึกษาถึงผลของการลดน้ำหนักที่มีต่อภาวะ lameness ในสุนัขอ้วนที่เป็น OA จำนวน 14 ตัว มีสุนัขจำนวน 8 ตัวที่น้ำหนักลดลงร้อยละ 6 ในระหว่าง 16 สัปดาห์ของการศึกษาให้ผลการประเมิน lameness ที่ดีขึ้นทั้งการประเมินโดยวิธี visual analysis และ kinetic analysis อัตราการลดน้ำหนักสูงสุดควรอยู่ที่ร้อยละ 1 ถึง 2 ต่อสัปดาห์ เนื่องจากอัตราการลดที่เร็วมากจะทำให้สัตว์ป่วย เจ้าของไม่ยอมให้ความร่วมมือ และทำให้ปลดมวลกล้ามเนื้อแทนที่จะเป็นการลดไขมัน (Taylor, 2009) การลดน้ำหนักทำได้โดยการลดแคลอรีลงเหลือร้อยละ 80 และปรับอาหารให้เท่ากับน้ำหนักจริง (regular weight) (Taylor, 2009)

และการพบสัตวแพทย์เพื่อตรวจร่างกายสม่ำเสมอก็เป็นส่วนสำคัญของการลดน้ำหนัก (Schulz, 2007; Taylor, 2009)

การฟื้นฟูและกายภาพบำบัด (Physical therapy and Rehabilitation)

การฟื้นฟูและกายภาพบำบัดสำหรับการจัดการภาวะ OA นั้นประกอบด้วย การออกกำลังกาย การนวด การใช้ความร้อน ความเย็น น้ำ เสียง และไฟฟ้า เพื่อเพิ่มการทำงานของข้อและขาให้ดีขึ้น ทั้งยังช่วยลดความเจ็บปวด (Dunning and Lascelle, 2007; Johnston *et al.*, 2008; Rychel, 2010) ประโยชน์ของการฟื้นฟูและกายภาพบำบัด ได้แก่ การเพิ่มการหมุนเวียนเลือดและระบบน้ำเหลืองในขาข้างที่มีปัญหา เป็นการป้องกันกล้ามเนื้อลีบและเป็นการลดการอักเสบ (Johnston *et al.*, 2008) Local hypothermia หรือที่รู้จักกันในนามของ cryotherapy หมายถึง การใช้อุปกรณ์ therapeutic cold บนเนื้อเยื่อของกล้ามเนื้อและกระดูก มีประโยชน์ในการลดการอักเสบแบบเฉียบพลัน อย่างเช่น 72 ชั่วโมงหลังการบาดเจ็บหรือระหว่างที่ภาวะ OA รุนแรงขึ้น (Dunning and Lascelle, 2007; Rychel, 2009) Local hypothermia สามารถลดอาการบวมน้ำได้โดยการทำให้เกิด vasoconstriction ลดการทำงานของเอนไซม์และการเผาผลาญในเนื้อเยื่อ ลดอาการปวดโดยไปมีผลต่อ nerve conduction ของ sensory nerve และทำให้เกิดการผ่อนคลายของกล้ามเนื้อกระดูก (Dunning and Lascelle, 2007) Cryotherapy ใช้เวลา 5 ถึง 15 นาทีต่อครั้ง ความถี่ 1 ถึง 4 ครั้งต่อวัน (Rychel, 2009) Local hyperthermia หรือ heat therapy แนะนำให้ใช้เมื่อการอักเสบระยะเฉียบพลันผ่านพ้นไปแล้ว ซึ่งหมายถึง 24 ถึง 72 ชั่วโมงหลังการบาดเจ็บหรือหลังการผ่าตัด ประโยชน์ของ heat therapy เหมือนกับ cryotherapy คือ บรรเทาอาการปวด ผ่อนคลายกล้ามเนื้อ และเพิ่ม extensibility ของ articular cartilage และ ligamentous collagen แนะนำให้ใช้เวลา 15 ถึง 20 นาทีต่อครั้ง ที่ความถี่วันละ 2 ถึง 4 ครั้ง (Dunning and Lascelle, 2007; Rychel, 2009) Passive range of motion exercise ช่วยคงสภาพ ROM ของข้อให้อยู่ในช่วงปกติ Therapeutic exercise อย่างเช่น การเดินทางลาดชัน ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กล้ามเนื้อที่ช่วยพยุงข้อที่เป็นโรค และช่วยเสริมสร้างการใช้ขาให้มีความสัมพันธ์กัน ดังนั้นจึงมีประโยชน์ในการจัดการภาวะ OA (Dunning and Lascelle, 2007; Schulz, 2007) แม้การศึกษาถึงผลของการออกกำลังกายที่มีต่อภาวะ OA จะยังมีน้อย แต่ยังคงแนะนำให้สุนัขออกกำลังกายอย่าง

เหมาะสมและจริงจัง เนื่องจากช่วยรักษาสภาพ ROM ของข้อ และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ การว่ายน้ำเป็นการออกกำลังกายที่ให้ผลดีต่อสุนัขที่เป็น OA แต่ในช่วงที่มีการอักเสบเฉียบพลันของ OA แนะนำให้พักขา 2 ถึง 3 วัน แล้วค่อยๆเพิ่มการออกกำลังกายที่ละน้อย (Schulz, 2007; Innes, 2009)

การเสริมด้วยสารอาหาร(Nutritional supplementation)

อาหารเสริมที่ให้ในสัตว์คือ nutraceuticals และ functional foods (Innes, 2012) Nutraceuticals คืออาหาร หรือส่วนประกอบของอาหารที่มีประโยชน์ในการรักษาโรค มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ซึ่งประกอบด้วยการป้องกันและการรักษาโรค (Innes, 2012; Van Weren *et al.*, 2012) Functional foods คืออาหารที่เติมอาหารเสริมเหล่านี้ลงไป (Innes, 2012) Glucosamine และ chondroitin sulfate เป็น nutraceuticals ที่ใช้กันแพร่หลายทั่วไป แม้ผลที่ได้จะแตกต่างกันและไม่แน่นอน (Rychel, 2009; Innes, 2012) การศึกษาถึงการกระจายตัวของ chondroitin sulfate ที่ให้โดยการกินระบุว่า nutraceutical ชนิดนี้อาจจะเข้าไปไม่ถึง articular cartilage เลย ไม่แม้แต่ใน articular cartilage ปกติ (Innes, 2012) ดังนั้นจากหลักฐานที่มีอยู่ขณะนี้บอกได้ว่าไม่สามารถแนะนำให้ใช้ chondroitin sulfate ในการจัดการ OA ในสุนัขได้ (Innes, 2012) มีหลักฐานที่น่าเชื่อถือขึ้นเล็กน้อยที่แสดงถึงการใช้ glucosamine ในการจัดการ OA ว่าไปเพิ่มการสังเคราะห์ proteoglycan (*in vitro*) และมีคุณสมบัติลดการอักเสบอย่างอ่อนในสัตว์ทดลอง (Innes, 2012) ยังคงต้องการการศึกษาถึงการให้ glucosamine เพียงอย่างเดียวในสัตว์ก่อนที่จะมีการแนะนำให้ใช้

Nutraceuticals เหล่านี้ปลอดภัยทั้งผลข้างเคียงและข้อห้ามในการใช้ (Plumb, 2011) Nutraceuticals อื่นๆได้แก่ omega-3 fatty acid, avocado soy bean unsaponifiable products, green-lipped mussel preparations, rein extract ของต้น *Boswellia Serrata* และวิตามินซี ปัญหาของการใช้ nutraceuticals คือ ขาดการศึกษาถึงผลการรักษาใน OA (Vandeweerd *et al.*, 2012) มี systemic search of controlled clinical study ที่ศึกษาถึงผลของการใช้ nutraceutical ในม้า สุนัขและแมว โดย Vandeweerd *et al.* (2012) แสดงไว้ว่ามี การศึกษาจำนวน 25 การศึกษาที่สามารถเข้าเกณฑ์นำมาหาข้อสรุปได้ มี 5 การศึกษาที่ศึกษา

ในม้า 16 การศึกษาในสุนัขและ 1 การศึกษาในแมว จาก systematic review นี้ระบุว่า omega-3 fatty acid ให้ผลสูงสุดในการบรรเทาอาการของ OA ส่วน nutraceuticals อื่น ๆ อย่าง hydroxycitric acid, P54FD, gelatin hydrolyse β -1, 3/1,6 glucans และ special milk protein concentrate นั้นความน่าเชื่อถือของหลักฐานที่ประเมินได้ยังต่ำอยู่

การรักษาวิธีการอื่น ๆ โดยไม่ใช้ยา

ในทางสัตวแพทย์การฝังเข็มมีการใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อจัดการความเจ็บปวด กลไกแท้จริงของการฝังเข็มยังไม่ทราบเป็นที่แน่นอน แต่คาดว่าเกี่ยวข้องกับการปล่อย endogenous endorphin, local release of muscle spasm และ ลดการส่งสัญญาณความเจ็บปวดไปยังไขสันหลัง (Rychel, 2010) จากข้อมูลในปัจจุบันการฝังเข็มดูเหมือนจะมีประสิทธิภาพในการช่วยรักษา การรักษาทางเลือกอื่น อย่างเช่น homeopathy, chiropractic therapy, การใช้พืชสมุนไพร การเลือกวิธีการรักษานั้นควรเลือกด้วยความระมัดระวัง เนื่องจากหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ถึงผลการรักษานั้นยังน้อยอยู่ (Henrotin *et al.*, 2005)

การจัดการด้วยการผ่าตัด (Surgical management)

อาการปวดที่ไม่สามารถควบคุมได้ด้วยวิธีการใดก็แล้วแต่และสูญเสียการทำงานของขา เป็นสิ่งที่บ่งชี้ถึงการเลือกการจัดการภาวะ OA นี้ด้วยการผ่าตัด

การผ่าตัดเป็นวิธีการกอบกู้หรือช่วยชีวิต ที่เลือกใช้ในกรณีที่วิธีการอื่นล้มเหลว (Aragon *et al.*, 2007; Schulz, 2007) Arthroplasty คือ การตัดเอากระดูก femur ส่วนหัว และคอดออกไป Prosthesis คือการแทนที่ข้อเดิมด้วยอวัยวะเทียม กรณีนี้คือ joint replacement ส่วน Arthrodesis คือวิธีการผ่าตัดเชื่อมข้อ หรือแม้แต่การตัดขาที่อาจจะพิจารณาเลือกใช้ใน คนไข้ที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาอื่น ๆ เลย (Schulz, 2007)

การฉีดยาเข้าข้อ (Intra-articular injection)

การรักษาภาวะ OA ในสุนัขด้วยการฉีด Intra-articular injection ยังมีน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ในม้าและคน จำนวนสิ่งตีพิมพ์ทางวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวกับผลของการฉีด Intra-articular injection ในสุนัขก็มีน้อยเช่นกัน

การใช้ทางคลินิกในทางสัตวแพทย์

Intra-articular injection มีความเหมาะสมในการใช้เพื่อรักษา ภาวะ OA ซึ่งเป็นภาวะที่มีอาการเฉพาะที่ข้อ และไม่พบอาการทางร่างกายอื่น (Evan, 2005; Larsen *et al.*, 2008; Singh, 2012) การฉีด Intra-articular injection เป็นส่วนหนึ่งในการจัดการภาวะ OA ในทางสัตวแพทย์ เป็นวิธีการหลักในการรักษาม้าที่เป็น OA ซึ่งมีความสำคัญในการรักษาอาการ lameness อันเนื่องมาจากปัญหาข้อ (Edward, 2011) เหตุผลส่วนหนึ่งมาจากอุบัติการณ์การเกิดโรคข้อในม้ามี่สูง และมีความต้องการที่จะพัฒนาการรักษาทางเลือกสำหรับการใช้ NSAIDs ซึ่งแม้จะราคาไม่แพง เป็นวิธีการรักษาที่ให้ผลการรักษาในการลดอาการ lameness ในม้าที่เป็น OA ได้ แต่ก็ถูกควบคุมอย่างเคร่งครัด หรือถูกห้ามใช้ในม้าแข่ง และความกังวลเกี่ยวกับผลข้างเคียง (Caron, 2005; Lamon and Mathew, 2007) วิธีการให้ยาชนิดอื่นทางร่างกายที่ให้ผลบรรเทาอาการปวด อย่างเช่น nutraceuticals ไม่สามารถเทียบได้กับการใช้ NSAIDs (Caron, 2005) เหตุผลอื่นที่มีการใช้ Intra-articular injection ในม้าบ่อยกว่าสัตว์ชนิดอื่น เนื่องจากข้อส่วนปลายขาค่อนข้างง่ายต่อการฉีด (Edward, 2011) Corticosteroids เป็นตัวหลักที่ใช้ฉีดเข้าข้อในม้า (McIlwrath, 2011) และอีก 2 ชนิดที่เป็น intra-articular agent ที่ใช้กันแพร่หลายทั่วไป คือ hyaluronic acid และ polysulfate glycosaminoglycan (Edward, 2011) แม้จะมีการใช้ทางคลินิกกันอย่างกว้างขวางในม้า แต่ข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ของการรักษาด้วย intra-articular injection ยังไม่มีการทำให้สมบูรณ์ การศึกษาในปัจจุบันยังมีปัญหาอยู่คือ ต้องการจำนวนที่เพิ่มขึ้น การทดลองใน OA ส่วนใหญ่ที่ผ่านมาเป็นการทดลอง in vitro หรือในสัตว์ทดลอง (McIlwrath, 2011) ผลที่ได้จากการศึกษาเหล่านี้ อาจจะนำมาเทียบไม่ได้กับการรักษา OA ที่เกิดขึ้นเองโดยกลไกธรรมชาติ (Clegg, 2010)

ถึงแม้ว่าฤทธิ์ที่แท้จริงของ intra-articular agent อย่าง corticosteroids และ hyaluronic acid จะทำการศึกษาแล้วในข้อสุนัข แต่การขาดการศึกษาทางคลินิกที่มีคุณภาพสูงถึงประสิทธิภาพของการรักษา intra-articular injection ในการจัดการ OA นั้นยังคงเป็นปัญหาเช่นกันในสุนัข (Palletier and Martel-Palletier, 1989; Palletier *et al.*, 1994; Smith, 2005)

เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ในม้าแล้ว การฉีด intra-articular ในสุนัขยังมีการใช้น้อย อาจจะเป็นเพราะเหตุผลเรื่องผลการรักษาที่ยังไม่มีการทดสอบและทำอย่างจริงจัง เหตุผลอีกอย่างคือการทำ arthrocentesis ในสุนัขจำเป็นต้องวางยา

การใช้ทางคลินิกในทางการแพทย์

ในคนใช้ intra-articular injection เป็นการรักษาหลักในการรักษาอาการของ OA ของข้อเข่า และใช้เป็นการรักษาเพิ่มเติมในกรณีที่มีวิธีการรักษาแบบประคองอาการ ไม่เพียงพอต่อการบรรเทาอาการ (Waddell, 2007; Hameed and Ihm, 2012; Keith, 2012) เช่นเดียวกับกับในม้า intra-articular agent ที่ใช้กันแพร่หลายในคนคือ corticosteroids และกรดไฮยาลูโรนิก ปัจจุบันนี้ยังไม่มีการแนะนำอย่างแท้จริงว่าควรใช้ตัวยาทั้งสองชนิดนี้เป็นการฉีดตั้งแต่เริ่มแรก (Keith, 2012) มักจะใช้ corticosteroids เป็นตัวหลักในการฉีดรักษา และรองลงมาคือกรดไฮยาลูโรนิก (Zhang *et al.*, 2008) นักวิจัยหลายท่านชี้ว่า corticosteroids อาจจะมีประโยชน์มากกว่ากรดไฮยาลูโรนิก ในกรณีของผู้ป่วยที่เป็น OA แล้วข้อเกิดการอักเสบแบบเฉียบพลัน แต่ในกรณีของ OA ที่อยู่ในระดับน้อยถึงปานกลาง (Bannuro *et al.*, 2009; Ara and Alam, 2011; Hameed and Ihm, 2012)

ข้อดีและข้อเสียของการใช้ intra-articular injection

ข้อดีของการรักษาด้วยการฉีดยาเข้าข้อคือ articular cartilage นั้นไม่มีเส้นเลือด ไม่มีท่อน้ำเหลืองมาเลี้ยง ดังนั้นจึงยากที่การให้ยาทางร่างกายจะเข้าถึง (Chevalier and Kemta-Lepta, 2010; Kwon and Park, 2012) ยาจากในกระแสเลือดจะเข้าถึง articular cartilage ได้เพียงผ่านทาง การแพร่ผ่าน (diffusion) จาก synovial fluid (Gege *et al.*, 2012) การศึกษา

ในคนเชื่อว่าความเข้มข้นสูงสุดของยาหลังการกินยามักจะต่ำลง และในเวลาต่อมาจะเพิ่มสูงขึ้นใน synovial fluid มากกว่าในพลาสมา (Lasen *et al.*, 2008) แต่ในอีกทางหนึ่ง มีการศึกษาที่แสดงไว้ว่า หลังจากที่ได้ steady stage condition แล้ว ระดับความเข้มข้นของ free NSAIDs ทั้งใน synovial fluid และในพลาสมามีระดับเท่ากัน (Lasen *et al.*, 2008)

การจะให้ได้ความเข้มข้นของยาคงทนอยู่ในข้อนั้นจะต้องให้ยาทางร่างกายในปริมาณสูง (Gege *et al.*, 2012) ซึ่งย่อมไม่เป็นที่ต้องการ วิธีการรักษาทางระบบที่มีใช้อยู่ในปัจจุบันมักจะมีผลข้างเคียงถึงระบบทางเดินอาหาร ตับ ไต และหัวใจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์และคนที่อายุมาก (Lamont and Mathew, 2007; Sigh, 2012) หนึ่งในประโยชน์ของการให้ยาทาง intra-articular ในโรคข้อ คือ โอกาสที่จะนำยาเข้าถึงกระดูกอ่อนโดยตรงโดยกระทบกับร่างกายส่วนอื่นน้อย (Lasen *et al.*, 2008; Edward, 2011,; Kwon and Park, 2012) ดังนั้นจึงใช้ปริมาณยาที่น้อยกว่าในการจะให้ได้ pharmacological effect ที่ต้องการ (Lasen *et al.*, 2008) การให้ยาเฉพาะที่จึงน่าจะเป็นวิธีการให้ยาที่เป็นไปได้วิธีเดียวเมื่อเทียบกับการได้รับยาโดยการกินซึ่งมีผลข้างเคียงต่อร่างกายรุนแรง มี bioavailability ต่ำหรือแม้แต่ extensive degradation *in vivo* (Lasen *et al.*, 2008; Chevalier and Kemta-Lepta, 2010) ยังไม่แน่นอนว่าการรักษาโดยการให้ยาเฉพาะที่จะสามารถแทนที่การรักษาทางระบบได้ เนื่องจาก OA ในบางกรณีเป็นโรคทางระบบ (Systemic disease) ที่เกิดขึ้นกับข้อหลายข้อ ดังนั้นยังคงมีความต้องการการรักษาทางระบบที่ตีขึ้นกว่าที่มีอยู่ (Singh, 2012)

สิ่งที่ยากสำหรับ intra-articular injection คือ ช่องหรือพื้นที่ภายในข้อไม่ได้แยกออกอย่างชัดเจน แต่มีความสมดุลโดยตรงกับระบบหมุนเวียนร่างกาย synovium มีพื้นที่ระหว่างเซลล์กว้างและมี superficial capillaries ที่ปล่อยให้ น้ำและสารละลายไหลเข้าออกอย่างอิสระ ดังนั้นปริมาณของเหลวที่อยู่ในข้อนี้จึงถูกแทนที่ด้วยความถี่หลายครั้งในหนึ่งวัน ฉะนั้นเหตุผลหลักที่จะทำให้การฉีดเข้าข้อล้มเหลวคือ การนำยาออกออกไปอย่างรวดเร็วจาก joint space

โมเลกุลขนาดเล็กอย่างเช่น cytokine และยาส่วนใหญ่อย่างเช่น corticosteroids NSAIDs และยาชาเฉพาะที่สามารถแพร่ผ่าน synovial layer ได้ง่าย (Edward, 2010) ดังนั้น ยาหลาย ๆ ตัวหลังจากฉีดทาง intra-articular จึงมีการดูดซึมและกระจายตัวกลับเข้าไปในระบบหมุนเวียนร่างกายได้เมื่อเทียบกับยาที่ให้ทางอื่นที่ไม่ใช่ทางเส้นเลือดดำ (Edward, 2011)

เนื่องจากการนำยาออกจาก synovial cavity ถูกเร่งให้เร็วขึ้นด้วยภาวะ synovitis (Kwon and Park, 2012) ดังนั้นสิ่งที่ทำลายและต้องใช้ความพยายามต่อไปในการฉีด intra-articular injection คือ การคงระดับความเข้มข้นของยาในข้อให้คงที่และป้องกันไม่ให้นยาออกมาจากข้อและกระจายตัวไปทั่วร่างกาย (Edward, 2011; Kwon and Park, 2012)

ระดับความเข้มข้นของยาที่ต้องการถูกคงระดับไว้ตลอดเวลาด้วยการฉีดซ้ำ แต่การฉีดต้องดีและปลอดภัยจากความเสี่ยงต่อการนำพาเชื้อเข้าสู่ข้อ (Evan, 2005, Lasen *et al.*, 2008) นอกจากนี้เนื่องจากสุนัขควรได้รับการวางยาซึมหรือยาสลบในการฉีด intra-articular injection การฉีดยาซ้ำหมายถึงการวางยาซ้ำด้วย

การจะคงระดับความเข้มข้นของยาในข้อให้ได้อย่างที่ต้องการนั้นกระทำได้โดยการจำกัด active agent ให้อยู่ใน injectable depot formulation ที่จะถูกปล่อยออกมาตามที่ต้องการ (Lasen *et al.*, 2008) ด้วยเหตุผลนี้ การศึกษาในปัจจุบันจึงเป็นการคิดค้นเกี่ยวกับสูตรยาที่ค่อยๆ ปล่อย active agent ออกมา (sustained-release drug formulation) เพื่อให้คงอยู่และออกฤทธิ์ได้ยาวนาน (Edward, 2011; Kwon and Park, 2012)

การใส่เข็มที่แม่นยำมีผลชัดเจนต่อประสิทธิภาพและความปลอดภัยของการรักษาด้วย intra-articular injection และอาจมีปัญหาโดยเฉพาะกับผู้ป่วยที่มีสติอยู่ครบถ้วน (Edward, 2011; Smart, 2012) ปัญหานี้ไม่ได้มีเฉพาะกับทางสัตวแพทย์เท่านั้น แต่ในทางการแพทย์ คนอย่างกรณิ rheumatologist จะต้องแม่นยำจริงๆ เคยมีการประเมินว่าการฉีด intra-articular injection ที่ข้อเข่าเกือบ 1 ใน 3 ที่อาจจะไม่ได้เข้าไปในข้อจริงๆ (Edward, 2010) เป็นสิ่งที่เกิดขึ้นแม้ข้อเท็จจริงแล้วข้อเข่าของคนนั้นมีขนาดใหญ่และเข้าถึงง่ายเมื่อเทียบกับ ข้อเข่า (stifle joint) ของสุนัข การฉีดในคนแนะนำให้ยืนยันความแม่นยำในการแทงเข็มโดยการดูด synovial fluid (Smart, 2012) ควรมีการตรวจลักษณะโดยรวมของ synovial fluid ก่อนการฉีดยา อย่างเช่น ถ้าดูดออกมาแล้วพบว่าเป็น purulent effusion ก็ชัดเจนว่าเป็นข้อห้ามสำหรับการรักษาด้วย intra-articular medication (Phillipose *et al.*, 2011)

ปริมาณของ synovial fluid ในข้อที่เป็นเรื้อรังอาจจะน้อยและไม่สามารถเจาะดูดได้เลย ซึ่งยากที่จะมั่นใจได้ว่าเข็มอยู่ในตำแหน่งของ synovial cavity หรือไม่ (Smart, 2012) กรณิเหล่านี้การจะทำให้แม่นยำขึ้นทำได้ด้วยการใช้อุปกรณ์อื่นเป็นช่วยอย่างเช่น อัลตราซาวด์ ซึ่งใช้

บ่อยในการฉีด intra-articular ในข้อมือคน (Edward, 2011; Lannitti *et al.*, 2011) ในสุนัข การส่องกล้องเข้าไปในข้อ (arthrography) ก็ใช้ยืนยันตำแหน่งเข็มที่ถูกต้องได้ การวินิจฉัย ยืนยันถึงโรค intra-articular disease มีความสำคัญเช่นกัน เนื่องจากการรักษาโดยการฉีดยา เข้าไปในข้อจะไม่ได้ผลในการรักษา ในกรณีที่อาการปวดนั้นแท้จริงแล้วมาจากเนื้อเยื่อรอบ ๆ ข้อ

วิธีการฉีด (Injection technique)

ตำแหน่งที่ฉีดต้องปลอดเชื้อ เตรียมโดยการโกนขน, surgical scrubbing และฆ่าเชื้อ ผิวหนัง (Fossum, 2007; Taylor, 2009) ใช้ถุงมือปลอดเชื้อ ไชริงค์และเข็มแบบใช้ครั้งเดียว เพื่อลดความเสี่ยงของการนำแบคทีเรียเข้าสู่ข้อ (Caron, 2008)

แนะนำให้ใช้เข็ม 25 g สำหรับการทำให้ arthrocentesis ในสุนัขขนาดเล็ก เข็มขนาด 22 g สำหรับสุนัขขนาดใหญ่ (Taylor, 2009) แต่อาจจะเป็นการยากที่จะดูด synovial fluid ผ่าน เข็มขนาดเล็กเนื่องจากความเหนียวข้น ดังนั้นมักจะใช้เข็มขนาด 21 g ในการทำให้ arthrocentesis ในสุนัขขนาดใหญ่ และ 23 g ในสุนัขขนาดเล็กและแมว

เนื่องจากกล้ามเนื้อที่หนาทำให้การเข้าถึงข้อสะโพกของสุนัขขนาดใหญ่อาจต้องใช้ spinal needle ยาว 3 นิ้ว (Taylor, 2009) ควรติดเข็มที่ไชริงค์ก่อนจะเสียบเข้าไปในข้อ และ อย่างที่กล่าวมาว่าการวางเข็มให้ถูกตำแหน่งนั้นควรตรวจสอบให้แน่ใจก่อนฉีดยา (Clements, 2006) ในคนจะมีการดูด effusion ที่มากเกินไปก่อนฉีดยา ซึ่งเป็นการช่วยลดปริมาณความ เข้มข้นของ inflammatory mediators ในข้อ และยังสามารถช่วยยืนยันว่ายาที่ฉีดไปจะไม่เจือจาง จนเกินไป (Strauss *et al.*, 2005) การดูดเอา synovial fluid ส่วนเกินออกจะช่วยบรรเทาปวด ซึ่งมีสาเหตุมาจากการยึดติดของ joint capsule (Liebich *et al.* 2007) หลังจากฉีดแล้ว negative pressure ใด ๆ ที่เกิดบนไชริงค์จะถูกปล่อยก่อนการถอนเข็ม (Taylor, 2009)

ความเสี่ยงจาก intra-articular injection

การใช้ intra-articular medication ไม่ได้ถึงกับปลอดภัยข้างเคียงอย่างสิ้นเชิง ในคนนั้นมีบ้างที่รายงานถึงภาวะแทรกซ้อนจากการฉีด intra-articular อย่าง การติดเชื้อ (infection), อักเสบฟกซ้ำหลังการฉีด (post-injection flare), crystal-induced synovitis, cutaneous atrophy และ steroid arthropathy (Ianitti *et al.*, 2011, Kwon and Park, 2012) แม้ผลข้างเคียงจะน้อยมาก แต่สิ่งที่ต้องให้ความสำคัญคือ การนำเอาแบคทีเรียเข้าสู่ข้อ และ septic arthritis ที่เกิดตามมานั้นเป็นความเสียหายอย่างรุนแรง (Edward, 2011; Ianitti *et al.*, 2011; Kwon and Park, 2012) ความเสี่ยงในการเกิด septic arthritis สูงเป็นพิเศษเมื่อใช้ intra-articular steroids ซึ่งมีฤทธิ์ไปกดการอักเสบที่ตอบสนองต่อเชื้อโรค (Singer, 2008; Edward, 2011) ยังไม่มีบันทึกหรือตรวจสอบอุบัติการณ์การเกิด septic arthritis หลังการฉีด intra-articular injection ในสุนัข แต่การเกิด septic arthritis โดยรวมเกิดขึ้นจากการผ่านเข้าไปใน joint capsule โดยการผ่าตัด หรือแผลบาดเจ็บ การแพร่ทางเลือด หรือแพร่จากเนื้อเยื่อโดยรอบ ซึ่งในสุนัขมีน้อย (Ridge, 2011) มีการรายงานโดย Ridge (2011) ถึงการเกิด septic arthritis ร้อยละ 0.85 ในสุนัข 294 ตัวและแมว 11 ตัวหลังการผ่าตัดด้วยกล้อง (Elective arthroscopic surgery) การเกิด septic arthritis ในคนมีน้อยเช่นกัน เนื่องจากการเกิดการติดเชื้อที่ข้อเกี่ยวเนื่องกับการฉีด intra-articular corticosteroids ซึ่งมีรายงานในคนอยู่ ร้อยละ 0.04 (Mathew, 2010) ความเสี่ยงในการเกิดลดลงได้ด้วยการใช้ aseptic technique อย่างเคร่งครัด และโดยการงดใช้ intra-articular medication ในกรณีที่มีอาการติดเชื้อทางระบบ (systemic infection) หรือการติดเชื้อเฉพาะที่ (local infection) (Caron, 2005)

ในบางกรณีด้วยตัวเองที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการอักเสบ เนื่องจาก synovium มีปฏิกิริยาตอบสนองสูง ยกตัวอย่างเช่น ม้าบางตัวการฉีด saline hyaluronic acid ทำให้เกิดการตอบสนองชัดเจนและเป็นสาเหตุให้เกิดอาการ lameness ตามมา (Edward, 2011) สิ่งที่ต้องใช้ความพยายามคือ การแยก reactive arthritis จาก septic arthritis เพราะเหมือนกันทั้งอาการทางคลินิก หรือแม้แต่สิ่งที่ตรวจพบทาง Cytology ของ synovial fluid (Singer, 2008) และเนื่องจาก septic arthritis ที่เกิดตามมานั้นสามารถลุกลามรุนแรงได้ ดังนั้นเมื่อไหร่ก็ตามที่ acute lameness เกิดตามมาหลังการฉีด intra-articular จึงจะเป็นการปลอดภัยกว่าหากเริ่มการรักษาด้วยสาเหตุของการติดเชื้อ (Singer, 2008)

ยาสำหรับการรักษาด้วย Intra-articular injection ของโรคข้อเสื่อม

รายชื่อยาที่ใช้หรือที่ใช้ศึกษาใน intra-articular treatment ของ OA นั้นยังไม่ครบถ้วน มุ่งเน้นไปที่การใช้ corticosteroids และกรดไฮยาลูโรนิก เพราะเป็นยาที่ใช้ฉีดกันอย่างแพร่หลายทั้งในทางการแพทย์และสัตวแพทย์

Corticosteroids

แม้จะเป็นที่รู้จักกว้างขวางแต่กลไกการออกฤทธิ์ที่แท้จริงของ corticosteroids ที่มีผลต่อข้อที่เป็น OA นั้นยังเข้าใจไม่สมบูรณ์ แต่คาดว่าส่วนใหญ่ออกฤทธิ์โดยการขัดขวางการทำงานของ phospholipase A ซึ่งนำไปสู่การผลิต cyclooxygenase และ lipoxigenase ลดลง (Schulz, 2007; Gege *et al.*, 2012) Corticosteroids ที่ฉีดไปลดจำนวนของ inflammatory cells อย่างเช่น lymphocyte, macrophage และ mast cells ซึ่งไปลด phagocytosis, lysosomal enzyme release และลดการปล่อย inflammatory mediators (Lavelle *et al.*, 2007) Corticosteroids ยังไปขัดขวาง cytokines และ enzymes ที่เกี่ยวข้องกับการเกิด articular cartilage degeneration ในข้อที่เป็น OA (Caron, 2005; Lavelle *et al.*, 2007) Corticosteroids ไปลดการปล่อย leukotriens และ prostaglandin ลดการแสดงออกของ mediators ที่สำคัญมากที่สุด 2 ตัวคือ interleukin-1 (IL-1) และ tumor necrotic factor- α (TNF- α) (Caron, 2005; Lavelle *et al.*, 2007) Corticosteroids ยังป้องกันกระดูกอ่อน โดยการไปลดการทำงานของ metalloproteinase (Schulz, 2007)

การใช้ทางคลินิกในทางสัตวแพทย์

การใช้ corticosteroids ในทางสัตวแพทย์มีมายาวนานตั้งแต่มีการรายงานว่าใช้ hydrocortisone ในการรักษาโรคทางกล้ามเนื้อและกระดูกชนิดต่างๆ ในม้าและวัวที่ตีพิมพ์โดย Wheat *et al* เมื่อปี 1955 (McIlwraith, 2010) การศึกษาถึงผลการรักษา OA ในสุนัขและม้าด้วย corticosteroids เกือบทั้งหมดเป็นการทำใน *in vitro* หรือไม่กี่ในสัตว์ทดลอง ผลการศึกษาเหล่านี้แสดงถึงสิ่งที่ขัดแย้งกันอยู่ค่อนข้างมาก คือ มีการแสดงผลการทดลองในสุนัขว่า intra-

articular corticosteroids สามารถปกป้อง articular cartilage แต่ในทางตรงกันข้ามก็มี การศึกษาใน *in vitro* ที่แสดงว่า corticosteroids ทำให้เกิด apoptosis ของ chondrocytes มาก ขึ้น และไปกีดการเพิ่มจำนวนของ chondrocytes (Palletier *et al.*, 1994; Hossain *et al.*, 2008)

การศึกษาถึงผลการฉีด intra-articular corticosteroid ในสุนัขที่เป็น OA นั้นมีแค่ช่วง ปลายปี 1980 ถึงต้นปี 1990 เท่านั้น แต่การศึกษาเหล่านี้ตรวจสอบถึงผลของ corticosteroids ที่มีต่อความรุนแรงของ OA ในทาง macroscopic และ histological มากกว่าในเชิงของอาการ ทางคลินิก

Palletier *et al.* (1989) ได้ศึกษาถึงผลการฉีด intra-articular triamcinolone hexacetonide โดยในการศึกษาได้เหนี่ยวนำให้เกิด OA ในสุนัขจำนวน 24 ตัวโดยการตัด cranial cruciate ligament กลุ่มทดลองมีสุนัขจำนวน 12 ตัว สุนัขจำนวน 6 ตัวให้กิน prednisolone อีก 6 ตัวฉีด intra-articular triamcinolone hexacetonide 5 mg ในวันที่ เหนี่ยวนำ OA และ 4 สัปดาห์หลังจากนั้น กลุ่มควบคุมมีสุนัขจำนวน 12 ตัวที่ไม่ได้รับการ รักษา macroscopic changes ที่พบเช่น การเกิด osteophyte และเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยรวม (gross appearance) ของกระดูกอ่อนเช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ (histological changes) ที่เกิดขึ้นกับ OA ที่แสดงถึงระดับความรุนแรงน้อยในกลุ่มทดลองเมื่อ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และนอกจากนี้ไม่พบการเพิ่มขึ้นของ cell degeneration หรือ cell death ที่เกิดจาก corticosteroid

ในการศึกษาอื่นของ Palletier *et al.* (1994) มีการทำให้เกิด OA ในสุนัขจำนวน 15 ตัวโดยการตัด cranial cruciate ligament ในกลุ่มทดลองมีสุนัขจำนวน 8 ตัว ที่ได้รับการฉีด intra-articular methylprednisolone acetate 20 mg ในวันที่ผ่าตัดเหนี่ยวนำ OA และหลังจาก นั้นอีก 4 สัปดาห์ สุนัขกลุ่มควบคุมจำนวน 7 ตัว ที่ไม่ได้รับการรักษาแสดงผลการทดลองถึง การเกิด osteophyte และ histological sign ของ OA ในกระดูกอ่อน อย่างเช่น fibrillation, fissure formation ที่ผิวหน้าของกระดูกอ่อนในสุนัขกลุ่มทดลองรุนแรงน้อยกว่าอย่างมี นัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

Kinzel *et al.* (2003) ได้ใช้การฉีด intra-articular triamcinolone acetonide ในขนาด 10 mg ต่อข้อ กับ lidocaine ในการรักษาความเจ็บปวดจาก OA ที่กระดูกคอในสุนัขพันธุ์ Scottish Deerhounds ที่มีเจ้าของ สุนัขจำนวน 8 ใน 9 ตัวตอบสนองต่อการรักษา อีก 7 ตัวมีอาการปวดลดลงหรือหายปวดเป็นระยะเวลามากกว่า 4 เดือน ถึงแม้ว่าการทดลองนี้จะให้ผลที่น่าสนใจ แต่ควรจะประเมินด้วยความระมัดระวัง เนื่องจากเป็น retrospective study ที่ไม่มีกลุ่มควบคุม และอาจจะมีลำเอียงเกิดขึ้น

Intra-articular corticosteroids ที่ใช้กันทั่วไปในการรักษา OA ในม้า แม้หลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่อ้างถึงประสิทธิภาพของ corticosteroids จะยังไม่มาก (McIlwraith, 2011) การศึกษาส่วนใหญ่ในม้าขณะนี้มีทั้ง *in vitro* และในสัตว์ทดลองที่เป็น OA (McIlwraith, 2011) ตัวอย่างการศึกษาในม้าที่เป็น OA ที่เกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติ เป็นการศึกษา retrospective study ที่ทำโดย Lasen *et al.* 2007 ม้าจำนวน 48 ตัวเป็น OA ที่ distal tarsal joint ได้รับการตรวจรักษาด้วย methylprednisolone acetate หรือ triamcinolone hexacetonide ในม้าที่เป็น OA ที่ talocalcaneal joint การฉีด corticosteroids ในสุนัขค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับในม้า ซึ่งในกรณีของสุนัขมักจะฉีดในกรณีที่เป็น severe end stage osteoarthritis ที่ไม่ตอบสนองต่อวิธีการรักษาอื่นและสัตว์ได้รับความทุกข์ทรมาน (Henrotin *et al.*, 2005) การจัดการ OA ในคนจะไม่ใช้ systemic corticosteroids และยังไม่แนะนำให้ใช้ในสุนัขที่เป็น OA ด้วยเช่นกัน

ถึงแม้จะเป็นการใช้ตาม ๆ กันมามากกว่าจะเนื่องด้วยหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ แต่ก็ยังค่อนข้างเป็นที่รู้จักกันในวงการม้า การฉีด intra-articular corticosteroid ในม้ามักใช้ร่วมกับกรดไฮยาลูโรนิกซึ่งจะช่วยป้องกันผลข้างเคียงของ corticosteroid และช่วยลดขนาดของ corticosteroid ทั้งแบบเดี่ยว ๆ และใช้ร่วมกันกับกรดไฮยาลูโรนิกจะช่วยป้องกันผลข้างเคียงและขนาดของ corticosteroids (van Weren and de Grau, 2010; Mallwraith, 2011)

การใช้ทางคลินิกในทางการแพทย์

ในทางการแพทย์มักจะฉีด intra-articular corticosteroid เป็นประจำในการใช้รักษาอาการปวดข้อมาตั้งแต่ปี 1950 (Lavelle *et al.*, 2007) ในการรักษา OA ในคนการฉีด

intra-articular corticosteroid นั้นใช้กันทั่วไปเพื่อเป็นการรักษาร่วมกันกับการรักษาที่แนะนำไปก่อนหน้านี้ pharmacological และ non-pharmacological therapies ส่วนใหญ่จะลองรักษาด้วย NSAIDs แล้วพบว่าไม่เห็นผล ในคนนั้น มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ในความแข็งแรงของผลการรักษาด้วย intra-articular corticosteroid ในการรักษา OA (Cheng *et al.*, 2012) แต่อย่างไร corticosteroid ก็ให้ผลมากที่สุดในช่วงที่มีปัญหา การอักเสบเป็นส่วนสำคัญที่สุดของโรคอย่าง rheumatoid arthritis และ juvenile idiopathic arthritis (Itabib *et al.*, 2010) ในผู้ป่วยส่วนใหญ่ของ osteoarthritis นั้น articular degeneration เป็นส่วนที่สำคัญของโรคซึ่งมีความสำคัญมากกว่าการอักเสบ (vanWereen and Geauw, 2010) ดังนั้น corticosteroid ไม่แนะนำให้ใช้เป็นวิธีการรักษาหลักในผู้ป่วยที่เป็น chronic และ stable osteoarthritis (Ara and Alam, 2011; Douglas, 2012) ประโยชน์ระยะยาวของ corticosteroid ยังไม่มีการยืนยัน (Colen *et al.*, 2010; Kon *et al.*, 2012) แต่มีประโยชน์ในบางกรณีที่เกิดการอักเสบรุนแรงเฉียบพลันขึ้น ซึ่งพบการอักเสบเฉพาะที่พร้อมกับมี joint effusion ซึ่ง corticosteroids ไปกดการอักเสบอย่างรวดเร็วและอย่างมีประสิทธิภาพ (Ara and Alam, 2011; Douglas, 2012) ผลลัพธ์ที่ได้อยู่แค่ชั่วคราว จาก meta-analysis trial เปรียบเทียบ hyaluronic acid กับ corticosteroids ในการรักษา OA ในคนที่ทำขึ้นโดย Banrunet *et al.* (2009) นั้นพบว่า corticosteroids มีประสิทธิภาพมากกว่าในการลดปวดได้ถึง 4 สัปดาห์หลังการฉีด แต่หลังจาก 8 สัปดาห์ กรดไฮยาลูโรนิกให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่า

ขนาดที่ใช้

โดยทั่วไปที่มักใช้ในการฉีดเข้าข้อ (intra-articular) จะเป็นยาชนิด corticosteroids ที่ออกฤทธิ์ยาวนานอย่างเช่น methylprednisolone acetate, triamcinolone hexacetonide (Innes, 2012) และในบรรดา corticosteroids เหล่านี้ในประเทศฟินแลนด์ methylprednisolone acetate (DepoMedrol®) ได้รับอนุญาตให้ฉีด intra-articular ในสุนัขได้ (Läkettietokeskus, 2013) นอกเหนือจาก methylprednisolone acetate แล้วยังมี triamcinolone hexacetonide ที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (FDA) ให้ใช้ฉีด intra-articular ในสุนัขได้ (Plumb, 2011; FDA, 2013) การศึกษาก่อนหน้านี้โดย Palletier *et al.* (1994) ที่ได้ศึกษาในสุนัขทดลองที่เหนียวทำให้เกิดภาวะข้ออักเสบ

(experimental model of canine OA) โดยการฉีด methylprednisolone acetate 20 mg 1 เข็ม ให้ผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของ OA ที่น่าสนใจ เป็นขนาดยาที่ FDA รับรอง ผู้ผลิต Depo-MedrolVet® แนะนำให้ใช้ในข้อขนาดใหญ่ (FDA, 2013; Lääkettietokeskus, 2013) แม้จะมีการใช้ methylprednisolone acetate โดยการฉีด intra-articular เพื่อรักษา OA ในคน แต่ในม้านั้นไม่แนะนำให้ใช้ในข้อที่มีการเคลื่อนไหวสูงอย่าง stifle joint และ carpal joint เนื่องจากอาจส่งผลกระทบต่อ articular cartilage ตามการศึกษาในม้าที่มีระบุไว้ (McIlwraith 2010; McIlwraith, 2011; Chery *et al.*, 2012) FDA รับรองขนาดยาที่ใช้ฉีดทาง intra-articular ไว้ โดย triamcinolone acetonide ในสุนัขใช้ในขนาด 1.0-3.0 mg ต่อการฉีดหนึ่งครั้ง ถ้าอาการทางคลินิกแย่หรือการตอบสนองทางคลินิกค่อนข้างแย่ สามารถฉีดซ้ำได้ หลังจากนั้น 3 ถึง 4 วัน (FDA, 2013) Triamcinolone acetonide มักใช้ในม้าและแนะนำให้ใช้ในข้อที่มีการเคลื่อนไหวสูง (McIlwraith, 2011; Plumb, 2011) จากการศึกษาโดย Palletier *et al.* (1989) ขนาดของยา triamcinolone hexacetonide คือ 5 mg และฉีดซ้ำหลังเข็มแรก 4 สัปดาห์ triamcinolone hexacetonide ยังไม่ได้รับการรับรองโดย FDA ในการอนุญาตให้ใช้ในสุนัขที่เป็น OA แต่อย่างไรก็ตาม การรักษาข้อเข่าเสื่อมในคนโดยการฉีด intra-articular ด้วย triamcinolone hexacetonide พบว่าให้ผลดีกว่า triamcinolone acetonide (Chery *et al.*, 2012) แม้ว่าจะมีการตีพิมพ์ถึง intra-articular corticosteroids ในข้อเข่าเสื่อมของการแพทย์คนจำนวนมาก แต่ข้อมูลที่มีในปัจจุบันทั้งปริมาณและคุณภาพ ยังไม่เพียงพอในการจะเขียนข้อสรุปใดๆเกี่ยวกับยาที่ดีที่สุดในการใช้ฉีดทาง intra-articular หรือขนาดและความถี่ที่ใช้ (Douglas, 2012) มีการศึกษาด้วย randomized controlled study หลายการศึกษาที่เปรียบเทียบถึงผลการรักษาของ intra-articular corticosteroids ระหว่าง steroids ด้วยกัน (McIlwraith, 2010) ยังไม่มีข้อแนะนำอย่างเป็นทางการสำหรับขนาดยา corticosteroids ที่ใช้ในการฉีด intra-articular กรณี OA ในสุนัขด้วยเช่นกัน

มีบางคำแนะนำให้ใช้ความถี่ในการฉีด intra-articular corticosteroids ที่มีใช้ในคน และข้อแนะนำอย่างเดียวกันกับของคนโดยนำมาปรับมาใช้กับสัตว์เล็ก (Innes, 2012) อย่างที่มีการกังวลเกี่ยวกับอันตรายที่อาจเกิดขึ้นกับ articular cartilage ได้จากการฉีด intra-articular steroids ระยะเวลาที่พอเพียงนั้นก็คือ 6 ถึง 12 สัปดาห์ ที่แนะนำให้เว้นช่วงในการฉีดข้อเดิม และแต่ละข้อนั้นไม่ควรฉีดเกิน 2 ถึง 4 ครั้งต่อปี (Fox-Stephens 2010; Innes 2012) แต่

อย่างไรก็ตามผู้เชี่ยวชาญบางท่านไม่แนะนำให้ฉีดซ้ำหากกรณีเข็มแรกฉีดแล้วไม่ได้ผล (Douglas 2012)

ความเสี่ยงที่เกิดขึ้นได้ (Potential risk)

Intra-articular corticosteroids มีผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นได้ (Douglas, 2012; Innes, 2012) ในบรรดาผลข้างเคียงที่พบมากที่สุดคือ ส่งผลทำลายกระดูกอ่อนได้ เนื่องจาก intra-articular corticosteroids ชี้ให้เห็นว่าไปกด chondrocyte metabolism และทำให้การสร้าง proteoglycan และ collagen ลดน้อยลง (Schulz, 2007; Douglas, 2012; Innes, 2012; Kon *et al.*, 2012) อย่างที่มีการกล่าวถึงก่อนหน้านี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งความปลอดภัยของ methylprednisolone acetate ยังเป็นข้อสงสัยตามที่มีการศึกษาในม้า (McIlwraith, 2010, 2011) นอกจากนี้คือหลักฐานบางอย่างพบว่า corticosteroids ขนาดต่ำอาจมีคุณสมบัติเป็น chondroprotective จะช่วยยืดระยะเวลาการลุกลามของรอยโรคที่กระดูกอ่อน (Kon *et al.*, 2012) กรณีของการฉีด intra-articular มีความเสี่ยงในการเกิดเส้นเอ็นอ่อนแอมากขึ้น ซึ่งเกี่ยวข้องกับการฉีด intra-articular corticosteroids ซ้ำอีกดังนั้นจึงไม่แนะนำให้ฉีด corticosteroids เข้าไปในข้อที่มีภาวะ instability ความเสี่ยงในการติดเชื้อเพิ่มมากขึ้น (Coleman *et al.*, 2010) โดยเฉพาะเมื่อมีการฉีด intra-articular corticosteroids ด้วยความถี่ที่มากขึ้น ในการลดความเสี่ยงในการนำเชื้อโรคเข้าสู่ข้อ การฉีดทุกครั้งควรทำตามแบบ aseptic technique อย่างเคร่งครัด (Innes, 2012) นอกเหนือจากนี้สัตวแพทย์หลายคนใช้ยาปฏิชีวนะ ฉีดร่วมกันกับการฉีด corticosteroids เป็นปกติ (vanWeren and de Grau, 2010) กรณีสงสัย septic arthritis หรือการติดเชื้อของเนื้อเยื่ออ่อนรอบ ๆ กรณีเหล่านี้เป็นข้อห้ามในการฉีด intra-articular corticosteroids (Phillipose *et al.*, 2011) Intra-articular corticosteroids สามารถเป็นสาเหตุให้เกิด synovitis ได้แม้ไม่มีการติดเชื้อ เป็นการอักเสบที่ตอบสนองหลังการฉีด corticosteroid ที่รู้จักกันในนามของ steroid flare มีบันทึกในม้าและคนว่ามีอุบัติการณ์การเกิดประมาณร้อยละ 2-6 ในคน (Lavelle *et al.*, 2007) มีรายงานในผู้ป่วยว่ามีการดูดซึม corticosteroids ที่ฉีดเข้าไปทาง intra-articular เข้าไปในกระแสเลือดและส่งผลข้างเคียงต่อร่างกาย (Habib, 2009) เนื่องจาก intra-articular corticosteroids บ่งชี้ว่าเป็นสาเหตุไปเพิ่มระดับน้ำตาลในกระแสเลือด ช่วง 2-3 วันหลังการฉีด จึงมีข้อควรระวังในการใช้กับผู้ป่วย

เบาหวาน (Lavelle *et al.*, 2007; Habib, 2009) Intra-articular corticosteroids มีผลต่อ hypothalamic pituitary-adrenal axis ในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ ส่งผลให้เกิดการลดลงของระดับ cortisol ซึ่งโดยทั่วไปจะกลับมาปกติในเวลา 2 ถึง 3 วัน (Lavelle *et al.*, 2007) สิ่งที่ต้องนึกถึงอีกอย่างคือ ห้ามใช้ steroids ในสัตว์ท้อง (FDA, 2013) แม้จะมีความเสี่ยง แต่การศึกษาถึงการใช้ corticosteroids ในคนบ่งชี้ว่ามีประโยชน์มากกว่าความเสี่ยง (Innes, 2012) แต่ยังคงมีความต้องการการศึกษาทางคลินิกถึงการลุกลามของสภาวะ OA หลังการฉีด intra-articular corticosteroids ไปแล้ว (Kon *et al.*, 2012)

กรดไฮยาลูโรนิก

Hyaluronic acid (HA, hyaluronan) เป็น polysaccharide ที่ประกอบด้วย disaccharide สายยาว (β -D-gluconyl β -D-N-acetylglucosamine) (Henrotin *et al.*, 2005) ที่กรดไฮยาลูโรนิกที่ร่างกายสัตว์สร้างขึ้นเองนั้น ผลิตโดย type B synovocytes และ fibroblast มีหน้าที่สำคัญในการตอบสนองต่อ shock-absorbering มีคุณสมบัติหล่อลื่นของ synovial fluid

Intra-articular hyaluronic acid injection ใช้กันอย่างกว้างขวางในทางการแพทย์ ในโรคข้อเสื่อมนั้น ความเข้มข้นและ molecular weight ของกรดไฮยาลูโรนิกจะลดลงอย่างชัดเจน เนื่องจากการแตกหักและการผลิตที่ไม่เพียงพอ (Henrotin *et al.*, 2005; Venable *et al.*, 2005, Gomis *et al.*, 2009, Kwan and Park, 2012) การที่กรดไฮยาลูโรนิกมีความเข้มข้นลดลงและ molecular weight ที่ลดลงนั้นไปขัดขวาง physiological function ของน้ำไขข้อโดยทำให้การหล่อลื่นลดลง ไปเพิ่มความตึงและแรงกดให้กับกระดูกอ่อนที่ผิดปกติอยู่แล้วเกิดความเสียหายที่มากขึ้น (Kwan and Park, 2012)

การให้ viscosupplementation ด้วย exogenous HA มีเป้าหมายเพื่อคงคุณสมบัติ viscoelasticity ของน้ำไขข้อและลดอาการปวดอันเนื่องมาจากการเคลื่อนไหวของข้อ (Henrotin *et al.*, 2005; Lasen *et al.*, 2008; Kwan and Park, 2012) นอกเหนือจากคง viscoelasticity ของน้ำไขข้อแล้ว ยังมีการศึกษาที่ระบุว่ากรดไฮยาลูโรนิกอาจจะมีกลไกการทำงานอื่นและคุณสมบัติทางชีววิทยาอื่น เช่น การต่อต้านการอักเสบ ต่อต้านความปวดและ

ปกป้องกระดูกอ่อน แม้ส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาใน *in vitro* (Cole *et al.*, 2010; Edward, 2011) นอกเหนือจากช่วยคง elastoviscosity ของน้ำไขข้อแล้วการทำงานเพื่อปกป้องกระดูกอ่อนของกรดไฮยาลูโรนิกประกอบด้วย การส่งเสริมให้มีการผลิต endogenous hyaluronic acid การกระตุ้นการสังเคราะห์ส่วนประกอบของ chondrocyte matrix และขัดขวางการสังเคราะห์ chondrocyte matrix metalloproteinase (McNeil, 2011) ฤทธิ์ในการต้านการอักเสบของ กรดไฮยาลูโรนิกอาจเกิดจากการลดการย้ายที่ของ inflammatory cells และการลดระดับของ inflammatory mediators อย่างเช่น prostaglandin E₂ จากการศึกษาใน *in vitro* ยังบอกอีกว่า กรดไฮยาลูโรนิกอาจเพิ่มการสังเคราะห์ cartilage matrix ตอบสนองโดยตรงต่อ IL-1 ป้องกัน ความเสียหายที่มีสาเหตุมาจาก oxygen-derived free radicals ขัดขวาง phagocytosis และ ป้องกัน chondrocyte จากการเกิด apoptosis (Evan, 2005; Schulz, 2009) Exogenous HA ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงยังไปขัดขวางการเสื่อมของ endogenous HA ได้ (Caron, 2005, Abate *et al.*, 2012; Kwan and Park, 2012) ฤทธิ์ในการแก้ปวดของ intra articular HA นั้นเกิด จากการไปมีส่วนเข้าไปขัดขวาง pain receptors, ไปลดความไวของ synovial nerve ending และไปกระตุ้น synovial lining cells (Caron, 2005; Evan, 2005; Abate *et al.*, 2012) ยัง ไม่มีการอธิบายถึงว่าทำไมผลทางคลินิกของกรดไฮยาลูโรนิกถึงอยู่ได้หลายสัปดาห์หลังการฉีด และเหมือนจะคงอยู่ได้ยาวนาน แม้ข้อเท็จจริงคือ intra articular HA ถูกนำออกจากข้อไปแล้ว ภายในไม่กี่วัน (Evan, 2005; Colen *et al.*, 2010) หนึ่งในทฤษฎีที่อธิบายถึงเหตุการณ์นี้ คือ กรดไฮยาลูโรนิกเหนี่ยวนำให้เกิดการสังเคราะห์ endogenous HA ขึ้น แม้ครึ่งชีวิตของกรดไฮยาลูโรนิกนั้นสั้นกว่าผลทางคลินิกอย่างชัดเจน แต่กรดไฮยาลูโรนิกยังคงจัดว่าเป็น viscosupplement ไม่ใช่การรักษาทางชีววิทยา (Schulz, 2007; Edward, 2011)

กรดไฮยาลูโรนิก มีหลายรูปแบบแตกต่างกันตามน้ำหนักโมเลกุล ความเข้มข้น และ แหล่งจำหน่าย (Evan, 2005) แหล่งที่มาของ exogenous HA โดยทั่วไปได้มาจากหงอนไก่ และการหมักของแบคทีเรีย (Kon *et al.*, 2012) น้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกที่มี จำหน่ายโดยทั่วไปมักจะมีขนาดเล็กกว่า endogenous HA (Edward, 2011) ดังนั้นจึงมีการ พัฒนา cross-linked HA ขึ้นมาให้มีคุณสมบัติทาง viscosity ที่สูงขึ้น และมีครึ่งชีวิตที่ยาวนาน ขึ้น รู้จักกันในชื่อ “Hylan”

หลักฐานทางวิทยาศาสตร์และการใช้ทางคลินิก

การทดลองทางคลินิกครั้งแรกของการฉีด intra articular HA ทดลองในม้าแข่ง โดย Butler *et al.* ในปีค.ศ.1970 ผลการทดลองที่ได้คือ ม้ามมีอาการดีขึ้นหลังจากฉีด (Evan, 2005) มีการฉีด intra articular HA อย่างแพร่หลายในการจัดการ OA ในม้า แม้จะยังขาดการศึกษาถึงผลทางคลินิกของกรดไฮยาลูโรนิกที่มีต่อ OA ในม้า (Edward, 2011; McIlwraith, 2011) หลักฐานทางวิทยาศาสตร์ของผลการรักษาด้วย intra articular HA ที่ใช้ในการรักษา OA ในสุนัขยังคงค่อนข้างน้อยมีการศึกษาที่ทดลองในสุนัขทดลอง ซึ่งล้มเหลวในการแสดงถึงประโยชน์ของกรดไฮยาลูโรนิกที่มีต่อ OA (Johnston *et al.*, 2008; Sanderson *et al.*, 2009) แต่อีกทางหนึ่งมี systematic review 2 รายงานที่ประเมินว่าคุณภาพของการศึกษาเหล่านี้ยังค่อนข้างต่ำ (Sanderson *et al.*, 2009) Hellström *et al.* (2003) ได้เปรียบเทียบผลการฉีด intra articular ด้วย high molecular weight sodium hyaluronate กับการกิน carprofen ในสุนัขที่เป็น OA จำนวน 36 ตัว สุนัขที่ได้รับการฉีด sodium hyaluronate 2 ครั้ง ห่างกัน 3 สัปดาห์ หลังจากนั้น 6 สัปดาห์ สุนัขที่มีอาการ lameness ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ carprofen การประเมินการตอบสนองต่อการรักษาประเมินจาก visual examination of lameness ไม่ได้มีการประเมินผลที่เป็น objective ใดๆ

มีผลการทดลองของ Smith *et al.* (2001) ที่ตัด cranial cruciate ligament เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิด OA ในสุนัข 14 ตัว สุนัขกลุ่มทดลอง 7 ตัว ฉีด intra articular HA จำนวน 5 เข็มแต่ละเข็มห่างกัน 1 สัปดาห์ โดยเข็มแรกฉีด ณ วันที่ผ่าตัดตัดเส้นเอ็น ส่วนกลุ่มควบคุมฉีดด้วยน้ำเกลือ ผลการตรวจวิเคราะห์น้ำไขข้อไม่พบการเปลี่ยนแปลงทั้งปริมาณและน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก อีกทั้งการให้กรดไฮยาลูโรนิกไม่ได้ช่วยกักเก็บความเข้มข้นของกรดไฮยาลูโรนิกที่อยู่ในน้ำไขข้อให้อยู่ในระดับปกติเลย

มีผลการทดลองของ Echigo *et al.* (2006) ที่ศึกษาถึงการฉีด intra-articular HA ที่มีผลต่อ apoptotic chondrocyte ในกระดูกอ่อนหลังการเหนี่ยวนำ OA ด้วยการตัด cranial cruciate ligament ในสุนัข 8 ตัว พบว่าจำนวนของ apoptotic chondrocyte ในกระดูกอ่อนของกลุ่มที่ฉีดด้วยกรดไฮยาลูโรนิกต่ำกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอีก 8 ตัว

การรักษาทางกลไกทางชีววิทยาของโรคข้อเสื่อม

เนื่องจากการค้นพบบทบาทของกลไกทางชีววิทยาในการเกิดโรคของ OA เมื่อ 30 ปีที่ผ่านมา และช่วง 10 ปีที่ผ่านมา มีความพยายามในการพัฒนาทางเลือกหรือวิธีการในการรักษาที่ไม่มีผลหรือออกฤทธิ์ต่อ cellular mechanism ของกระบวนการการเกิดโรค (Evan, 2005) เป้าหมายของ biologically based therapy คือ พัฒนาการรักษาแบบองค์รวมร่วมกับการฟื้นฟูที่ให้ผลการทำงานทั้ง 2 อย่างคือ anabolic และ anti-catabolic (Textor, 2011) การพัฒนามุ่งเน้นเพื่อจะไปมีผลกับ receptor และ signaling pathway ของ cytokines และ growth factors ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการการเกิดโรคหรือมุ่งไปควบคุมโดยตรงยังการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อกระบวนการเกิดโรค (Evan, 2005) การใช้ cytokine inhibitor และ growth factor ในการรักษา OA มีขึ้นครั้งแรกเนื่องจากความเห็นว่าเกิดความไม่สมดุลระหว่างการผลิต pro-inflammatory cytokine และ anti-inflammatory cytokine (Sampson *et al.*, 2010) ดังนั้นการรักษานี้จึงไปลดการผลิตหรือลดผลที่เกิดขึ้นจาก pro-inflammatory cytokine โดยเฉพาะ IL-1 และ TNF- α อีกทางหนึ่งคือการรักษานี้เป็นแหล่งของ anabolic factor อย่างเช่น growth factors ที่สามารถไปมีผลต่อสาเหตุของโรค (Fox and Stephens, 2010) การรักษาด้วย anti-cytokine มีเป้าหมายที่ IL-1 โดยการให้ IL-1Ra สามารถให้ได้ทั้งทาง autologous blood products อย่างเช่น autologous condition serum หรือในรูปแบบสังเคราะห์อย่าง anakinra ที่ใช้ในการรักษา rheumatoid arthritis ในคน (Evan, 2005; Calich *et al.*, 2010; Textor, 2011) Diacerine ยังไม่มีการให้ทาง intra-articular และยังไม่มีการศึกษาการให้ anakinra ในสุนัข ส่วน Adalimumab เป็นตัวยับยั้งของ TNF- α ซึ่งก็ยังไม่มีการศึกษาในทางสัตวแพทย์เช่นกันวิธีหลัก ๆ ของการให้ growth factor คือ การให้ autologous blood injection (ABI) และ platelet rich plasma มีการใช้ autologous blood products ที่เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากสามารถให้ cellular mediators และ humoral mediators ที่จะไปเพิ่มการหายของเนื้อเยื่อที่มีกระบวนการหายต่ำ (Filardo *et al.*, 2012) มีหลายวิธีในการทำความเข้าใจกับ blood derived growth factor และ cytokine ที่มีประโยชน์อื่น ๆ อย่างเช่น platelet rich plasma (PRP), autologous condition serum (ACS) และ autologous blood injection (Fox and Stephens, 2010, Leong *et al.*, 2012) PRP และ ACS ต่างก็มาจากเลือดแต่มี

กลไกการทำงานต่างกัน (Textor ,2011) สิ่งที่ต้องคำนึงถึงคือการใช้ autologous biologic therapy นั้นไม่ได้มีการควบคุมและมีการทดสอบทางยา เนื่องจากการใช้โดยทั่วไปมีความปลอดภัยสูง และมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ถึงผลดีของการรักษา (Stief *et al.*, 2011)

เซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคม์ (Mesenchymal stem cells)

กลไกการออกฤทธิ์

Stem cells หรือ เซลล์ต้นกำเนิดคือ เซลล์ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนไปเป็น differentiated cell และไป regenerate tissue ได้ (Mafi *et al.*, 2011, Fortier and Tuam, 2012) Stem cells แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ embryonic stem cells, fetal stem cells และ adult stem cells (Fontier and Tuam, 2012) ยกตัวอย่างของ adult stem cells เช่น mesenchymal stem cells, neural stem cells และ hematopoietic stem cells ความสนใจส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่ mesenchymal stem cells (MSCs) ซึ่งมีความสามารถในการเปลี่ยนไปเป็นเซลล์ของ mesenchymal origin อย่างเช่น chondrocyte, osteoblasts, adipocyte และ fibroblast (Mafi *et al.*, 2011) MSCs มาจากหลายเนื้อเยื่อแต่ที่พบมากที่สุดคือ ไขกระดูก (Bone marrow) และเนื้อเยื่อไขมัน (Adipose tissue) (Black *et al.* 2007, Guttierrez-Nibeyro 2011) จาก systemic review ของการศึกษาในผู้ป่วยที่จัดทำโดย Mafi *et al.* (2011) ระบุว่า Bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSC) มี differentiation potential สูงกว่า MSCs จากแหล่งอื่น แต่ Adipose-derived mesenchymal stem cells (AD-MSC) ก็มีประโยชน์มากกว่า BM-MSCs เนื่องจากการเก็บจาก subcutaneous tissue ที่ง่ายกว่า สามารถเก็บซ้ำได้และขั้นตอนการ isolation ที่ไม่ยุ่งยาก (Black *et al.*, 2007; Punwa and Khan, 2011) การเก็บไขกระดูกนั้นปวดและมีความเสี่ยง การเก็บไขกระดูกในสุนัขมักจะเก็บจาก proximal humerus, proximal femur หรือ tuber coxae (Fortier & Travis, 2011) การเก็บ adipose tissue ในสุนัขนั้นเก็บจากบริเวณท้อง ออก และขาหนีบ หรือจาก falciform ligament (Black *et al.*, 2007) กลไกการทำงานของ MSCs คือ MSCs สามารถเปลี่ยนไปเป็น tissue specific cell และ MSCs มีฤทธิ์ในการรักษาโรคโดยการกระตุ้นผ่านการหลั่งของ

immunomodulatory factor และ trophic factor อย่างเช่น cytokine และ growth factors ซึ่งส่งผลต่อเซลล์ที่อยู่โดยรอบและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของการตอบสนองทางการอักเสบ (Black *et al.*, 2007; Fortier and Tuam, 2012) ขั้นตอน isolation ของ AD-MSCs ประกอบด้วย mincing, washing, collagenase digestion และ centrifugation (Black *et al.*, 2007) Pellet ที่ได้หลังจากการปั่นเหวี่ยงนั้นเรียกว่า stromal vascular fraction (SVF) นอกจาก AD-MSCs แล้วยังประกอบด้วยเซลล์อื่น ๆ เช่น fibroblast, pericyte, circulating blood cell และ endothelial cell SVF ที่ได้จะถูกนำไปเติมในสารละลายและนำไปฉีดกลับให้กับผู้ป่วยเจ้าของเนื้อเยื่อ (Davachi *et al.*, 2011)

การรักษาทางคลินิกในทางสัตวแพทย์

ในทางสัตวแพทย์การนำเซลล์ต้นกำเนิดไปใช้ในทางคลินิกมากที่สุดคือ การรักษาปัญหา กล้ามเนื้อและกระดูกในม้าและสุนัข (Fortier and Travis, 2011) Autologous MSCs therapy นั้นหมายถึงการใช้ MSCs ที่ได้จากผู้ป่วยเองซึ่งมีการใช้แล้วในทางสัตวแพทย์ในหลายประเทศ (Black *et al.*, 2007, 2008) แต่การใช้เซลล์ต้นกำเนิดในทางสัตวแพทย์นั้นไม่ได้มีการควบคุมดูแลใกล้ชิดโดยองค์กรใดๆ นักวิจัยหลายคนเชื่อว่าอาจจะมีการใช้ทางคลินิกเป็นการรักษาจริงๆ โดยไม่มีการแสดงข้อมูลผลการศึกษาใน preclinical animal หรือ *in vitro* (Fortier and Travis, 2011) ก่อนหน้านี้มีการระบุว่าผลของการรักษาด้วย AD-MSCs จะมีประโยชน์ในการเป็นการรักษาร่วมในการจัดการโรคข้อเสื่อมในสุนัข แต่มีเพียง randomized, blinded, placebo controlled clinical trial ที่ตรวจสอบถึงผลของการรักษาด้วยเซลล์ต้นกำเนิดในสุนัขที่เป็น OA ที่ข้อสะโพก การศึกษานี้ศึกษาในสุนัขจำนวน 18 ตัวที่เป็น OA ที่ข้อสะโพกทั้งสองข้าง สุนัขได้รับการฉีด intra-articular stem cell โดยเซลล์ต้นกำเนิดนั้นเตรียมจากเนื้อเยื่อไขมันของสุนัขเอง ผลที่ได้คืออาการ lameness ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาการปวดและ range of motion ของกลุ่มทดลองดีขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและอาการก่อนรับการรักษา แต่ยังไม่มีการประเมินผลแบบ objective ในการศึกษา

Black *et al.* (2008) ยังได้ทำ pilot study ที่ประเมินผลของการฉีด AD-MSCs ทาง intra-articular injection ในสุนัขจำนวน 14 ตัวที่เป็น OA ที่ข้อศอก การศึกษานี้ได้ผลของ

orthopedic examination score และคะแนนการประเมินจากเจ้าของดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การศึกษานี้ไม่มี placebo-controlled

การรักษาด้วย MSCs มีการศึกษาในม้าด้วยเช่นกัน Frisbie *et al.* (2009) ได้ศึกษาทางคลินิกถึงผลทาง biomechanical และ histologic effect ของ intra-articular injection ด้วย AD-MSCs หรือ BM-MSCs ในการจำลอง OA ในม้าจำนวน 24 ตัวที่แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มควบคุมได้รับ placebo อีก 2 กลุ่มได้รับ AD-MSC หรือ BM-MSCs ฉีดไปที่ middle carpal joint ผลที่ได้คือ ถึงแม้ระดับของ prostaglandin E₂ ใน synovial fluid จะลดลงแต่ไม่มีการดีขึ้นทางคลินิกหรือ histologic examination อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในทางการแพทย์คน MSCs แสดงถึงการมีศักยภาพในการรักษาโรคกล้ามเนื้อกระดูกอย่างเช่น osteonecrosis ของ femoral head, osteogenesis imperfecta, degenerative disc disease และ Duchenne muscular dystrophy (Mafi *et al.*, 2011) มีการศึกษาการรักษา OA ในคนด้วย MSCs Davachi *et al.* (2011) โดยตรวจสอบถึงผลของการใช้ BM-MSCs ในผู้ป่วยจำนวน 4 คนที่เป็นโรคข้อเสื่อมที่เข้าให้ผลที่ดีที่สุดทั้งใน pain score การตรวจร่างกายทั่วไป และ range of motion ของข้อที่ได้รับการรักษา

การศึกษาที่ทำโดย Emadedin *et al.* (2012) ได้มีการประเมินถึงผลการฉีด intra-articular injection ด้วย BM-MSCs ในผู้ป่วยจำนวน 6 คนที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนข้อ (joint replacement) เนื่องจากข้อเสื่อมที่เข้า วัตถุประสงค์หลักของการศึกษานี้คือเพื่อประเมินถึงความปลอดภัยของการรักษา ค่าตัวชี้วัดอื่นๆ อย่างเช่น pain, functional status ของเข่า, ระยะการเดิน (walking distance) ได้รับการตรวจสอบด้วยเช่นกัน และแสดงผลว่าดีขึ้นจนถึง 6 เดือนหลังการฉีด ในผู้ป่วย 3 คนที่พบว่าความหนาของ articular cartilage เพิ่มขึ้น การซ่อมแซมเนื้อเยื่อบน subchondral bone และ edematous subchondral patch มีขนาดลดลง และไม่มีรายงานการพบผลข้างเคียงใดๆ การแพทย์คนนั้นการรักษาด้วย MSCs ยังไม่ได้เป็นส่วนหนึ่งของ routine treatment regimen ของผู้ป่วยที่เป็น OA ก่อนที่จะมีการแนะนำให้มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในทางคลินิก ยังต้องการการศึกษาที่มากกว่านี้เนื่องจากความรู้ในส่วน of cellular characteristics และ endogenous function ของ MSCs ยังน้อยอยู่ (Mafi *et al.*, 2011)

Platelet rich plasma (PRP)

กลไกการทำงาน

Platelet เป็นเซลล์ชนิดแรกที่ยังดำรงตำแหน่งที่มีการบาดเจ็บ เป็นส่วนสำคัญในกระบวนการอักเสบในระยะแรกและในการดำเนินไปของการบวนการหายของแผล (Cole *et al.*, 2010; Kon *et al.*, 2011) Platelet ทำงานในกระบวนการแข็งตัวของเลือด และยังบรรจุไว้ด้วย growth factors และ cytokines ที่สำคัญอย่างมากต่อการหายของเนื้อเยื่อและ bone mineralization (Sampson *et al.*, 2010) Bioactive protein มากมายที่ถูกปล่อยออกมาโดย platelet และแสดงตัวออกมาเพื่อดึงดูด macrophages, mesenchymal stem cell และ osteoblasts ซึ่งมีบทบาทในกระบวนการ tissue regeneration and healing (Sampson *et al.*, 2010)

การใช้ autologous growth factors โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ในการรักษาอาการบาดเจ็บของกล้ามเนื้อและกระดูกได้รับความสนใจอยู่ในขณะนี้ มีความสนใจเชิงวิทยาศาสตร์ต่อผลของ growth factors โดยเฉพาะที่มีกับ OA และการซ่อมแซมกระดูกอ่อน (Kon *et al.*, 2010; Kisiday *et al.*, 2012) เนื่องด้วยความสามารถของ growth factors ในการรวบรวม chondrogenic cells, กระตุ้น proliferation และเพิ่มการสร้าง cartilage matrix Growth factors ที่อยู่ใน platelet ได้แก่ platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor β_1 (TGF- β_1), vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblastic growth factor (bFGF) และ epidermal growth factor (EGF) ซึ่งมีส่วนในการควบคุมและสังเคราะห์กระดูกอ่อน Platelet ยังเป็นแหล่งของ cytokines, chemokine และโปรตีนอื่นๆที่มีส่วนในการกระตุ้น chemotaxis, cell proliferation and maturation, modulation of inflammatory molecules และการดึงดูดเรียกตัว leukocytes (Cole *et al.*, 2010; Kon *et al.*, 2011; Filardo *et al.*, 2012)

สารประกอบอื่นใน platelets อย่างเช่น metalloproteinases, antibacterial protein, fungicidal protein, coagulation factors, calcium ion, serotonin และ dopamine ต่างก็มีส่วนต่อการอักเสบและการหายของเนื้อเยื่อ มีความคิดว่าการให้ platelet ที่มีความเข้มข้นสูงจะ

เท่ากับทำให้ growth factors ดังกล่าวในความเข้มข้นสูงด้วย ดังนั้นจึงทำให้เพิ่มหรือกระตุ้นกระบวนการ healing process กระบวนการเดียวกันกับที่โดยปกติเกิดขึ้นหลังเกิดการบาดเจ็บ (Sampson *et al.*, 2011) การให้ platelet rich plasma ทาง intra-articular จะช่วยทำให้การลุกลามหรือความรุนแรงของ OA ช้าลง โดยไปกระตุ้น cartilage anabolism (Steif *et al.*, 2011)

Platelet rich plasma คือ autologous concentration of platelet ที่อยู่ใน plasma ปริมาณน้อย นอกจากนี้ยังมีวิธีการอื่นที่มีการใช้กัน อย่างเช่น platelet rich fibrin clot (PRFC), platelet rich clot releasate และ platelet concentrate (Textor, 2011) นอกจาก growth factors แล้ว PRP ยังมี plasma proteins อย่างเช่น fibrin, fibronectin และ vitronectin ที่ทำหน้าที่เหมือนกันกับ mesenchymal cell adhesion molecules (Spakova *et al.*, 2012)

เมื่อนี๊ด PRP เข้าไปในเนื้อเยื่อที่เสียหาย platelet จาก PRP จะเริ่มทำงานโดยการหลั่ง growth factors ภายใน 10 นาที และมากกว่าร้อยละ 95 ของจำนวนทั้งหมดจะหลั่งภายใน 1 ชั่วโมงแรก แม้การหลั่ง growth factors จะเกิดขึ้นใน 1 ชั่วโมงแรกของการนี๊ด แต่ platelet จะยังคงอยู่นาน 7 วันและปล่อย growth factor อย่างต่อเนื่อง ดังนั้นการนี๊ดเพียงเข็มเดียวในเนื้อเยื่อที่เสียหายก็อาจจะเพียงพอแล้ว (Kon *et al.*, 2011; Leong *et al.*, 2012)

PRP แยกมาจาก anticoagulated autologous blood โดยการปั่นเหวี่ยง ซึ่งจะเป็นการแยกเม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่ออกไป และเพิ่มความเข้มข้นให้ platelets โดยอาศัยความถ่วงจำเพาะของเซลล์แต่ละชนิด (Foster *et al.*, 2009) ความเข้มข้นของ platelet ที่ได้นั้นหลากหลาย แต่โดยทั่วไปนั้นจะได้อย่างน้อย 4-5 เท่า หรือถึง 10 เท่าของ platelet ที่มีอยู่ในเลือด (Kisiday *et al.*, 2012) Platelet เข้มข้นนี้ถูก activated โดยการให้ calcium chloride ซึ่งทำให้เกิดการสร้าง platelet gel ขึ้นมา Platelet gel สามารถกัก secretion ของ growth factors ไว้ในตำแหน่งที่เราเลือกหรืออยากให้ growth factors นั้นได้อยู่ได้ (Kon *et al.*, 2011) PRP สามารถเตรียมได้โดยใช้หลอดเก็บเลือดมาตรฐานและการปั่นเหวี่ยงของห้องปฏิบัติการทั่วไปได้ แต่มีระบบที่ใช้ในการผลิต PRP หลายระบบที่มีจำหน่าย ประโยชน์ของระบบเหล่านี้คือ ใช้งาน ให้การผลิต PRP ที่รวดเร็วและปลอดภัย สำหรับม้ามีระบบการผลิต PRP ที่สามารถนำเครื่องมือไปใช้ถึงที่ (E-PET, Pall animal health, Port Washington NY, USA)

(Textor, 2011) มีวิธีการผลิต PRP ทางการค้าอยู่ 3 วิธี คือ selective blood filtration, single-spinning methods และ double-spinning procedure สองวิธีสุดท้ายเป็นวิธีที่ใช้แพร่หลายในทางคลินิก แต่ระบบมีความแตกต่างกันในเรื่องของเลือดที่ดูดออกมาในตอนแรก ปริมาณ PRP ที่ได้ และความเข้มข้นของ platelet ที่ได้ในตอนสุดท้าย ความแตกต่างของความเร็วและจำนวนรอบในการปั่นเหวี่ยง ความแตกต่างของการใช้ anticoagulant การมีเซลล์อื่นอย่างเช่น leukocytes การใช้ activators และการเก็บรักษา (Filardo *et al.*, 2012; Leong *et al.*, 2012) ความแตกต่างทั้งหลายในขั้นตอนการเตรียมและการให้ PRP นี้ ทำให้ยากที่จะเปรียบเทียบผลของการศึกษาที่แตกต่างกันในการใช้ PRP ทั้งในการแพทย์และทางสัตวแพทย์ (Textor, 2011; Kon *et al.*, 2011)

การใช้ทางคลินิกในทางสัตวแพทย์

PRP เริ่มได้รับความสนใจมากขึ้นเรื่อยๆ ในการนำไปใช้รักษาอาการบาดเจ็บทางกีฬา ทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการบาดเจ็บของเส้นเอ็นทั้งในการแพทย์และสัตวแพทย์ แม้ PRP จะใช้ในการรักษาโรคข้อในม้าแต่ยังไม่มีการศึกษาทางคลินิกถึงผลของการรักษาด้วย PRP ในการจัดการ OA ทั้งในสุนัขและม้า (Textor *et al.*, 2012)

การใช้ทางคลินิกในทางการแพทย์

มีการใช้ PRP ครั้งแรกในปี 1987 โดย Ferrari *et al.* หลังจากการผ่าตัดหัวใจ การศึกษาทางคลินิกถึงผลของการใช้ PRP ในการสนับสนุนการทำ cancellous bone graft ในคนทำขึ้นเมื่อปี 1998 ให้ผลดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งตรวจได้จากความหนาแน่นของกระดูกทั้งทางรังสีวิทยาและทาง histologic (Textor *et al.*, 2012, Frizziero *et al.*, 2012) เมื่อเปรียบเทียบกันแล้วการรักษาด้วย PRP มีในการแพทย์คนมากกว่าในทางสัตวแพทย์ มีการใช้กันอย่างกว้างขวางในการแพทย์หลายแขนงทั้ง sport medicine, orthopedic, dentistry, dermatology, ophthalmology และ plastic and maxillofacial surgery (Cole *et al.*, 2010; Kon *et al.*, 2011) แต่การใช้ PRP กับการซ่อมแซมกระดูกอ่อนนั้นยังมีไม่มาก

แม้ข้อเท็จจริงของการใช้ PRP ในการรักษาการบาดเจ็บของ tendon ligament และกระดูกกำลังมีการศึกษากันอย่างจริงจัง แต่มีการศึกษาจำนวนน้อยที่ประเมินถึงผลของ PRP ที่มีต่อกระดูกอ่อน ยังไม่มีการประเมินถึงขนาดหรือความเข้มข้นของ platelet ที่ดีที่สุดในการกระตุ้นกระดูกอ่อน (Kisiday *et al.*, 2012)

การศึกษาทางคลินิกของคนที่มิในขณะนี้สนับสนุนบทบาทของ PRP ในการรักษา cartilage lesions (Filardo *et al.*, 2012) ในการศึกษาที่ทำโดย Kon *et al.*, (2010) ได้ตรวจสอบถึงผลการฉีด PRP ทาง intra-articular ในคนที่เป็นข้อเสื่อมที่เข่า ซึ่งแสดงถึงผลการใช้ขาและอาการปวดดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับอาการก่อนได้รับการรักษา แต่การทดลองนี้ไม่มีกลุ่มควบคุม

PRP อาจจะเป็นคู่แข่งของ hyaluronic acid อย่างที่ผลการศึกษาของ Spakova *et al.* (2012) แสดงไว้หลังจากที่พวกเขาได้ฉีด intra-articular PRP เปรียบเทียบกับ intra-articular hyaluronic acid ในผู้ป่วยจำนวน 120 คนที่เป็นข้อเสื่อมที่เข่า โดยฉีด 1 ครั้งต่อสัปดาห์เป็นเวลา 3 สัปดาห์ อาการทางคลินิกดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการประเมินที่ 3 และ 6 เดือนหลังการฉีดครั้งสุดท้าย ผู้ป่วยที่ได้รับ PRP เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับกรดไฮยาลูโรนิก ยังมีการศึกษาของ Kon *et al.*, (2011) ที่เปรียบเทียบ PRP กับกรดไฮยาลูโรนิก ซึ่งแสดงผลว่าอาการปวดและการใช้ขาคดีขึ้นมากกว่าและยาวนานกว่าในกลุ่มที่ใช้ PRP

ไม่พบผลข้างเคียงใดๆที่มีนัยสำคัญ ไม่พบอาการแพ้หรือการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและการติดเชื้อโรคจากการฉีด ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของข้อดีของการใช้ autologous PRP (Cole *et al.*, 2010; Kon *et al.*, 2011; Frizziero *et al.*, 2012) แต่การศึกษาที่มีอยู่ในปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลของผลข้างเคียงระยะยาวที่อาจเกิดขึ้นได้ หลายการศึกษาที่ยังขาดกลุ่มควบคุม มีกลุ่มตัวอย่างน้อย และยังไม่มีการระบุถึงมาตรฐานการเตรียม PRP ซึ่งทั้งหมดนี้ทำให้การประเมินผลและการเปรียบเทียบผลการศึกษา ยังคงต้องมีการสืบค้นกันต่อไป (Kon *et al.*, 2011)

ยังคงมีความต้องการการศึกษาที่มากกว่านี้ถึงปัจจัยอื่นๆ อย่างเช่น วิธีการเก็บ, ความเข้มข้นของ platelet ที่ดีที่สุด, จำนวนของ leukocytes, growth factors ที่ได้ และวิธีการในการฉีด (Cole *et al.*, 2010, Leong *et al.*, 2012) แม้การใช้ NSAIDs ในคนจะเป็นสิ่งที่ต้องระวัง

เนื่องจากมีผลไปขัดขวางการทำงานของ platelets แต่ผู้เขียนบางท่านพบว่านี่เป็นข้อควรระวังที่
 ไม่มีความจำเป็นเนื่องจาก platelets ถูกให้ในสภาวะที่ถูกกระตุ้นแล้ว (Textor, 2011)

การประเมินความเจ็บปวดเรื้อรังในสุนัข (Chronic pain assessment in dogs)

Chronic pain behavior สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 เป็นการแสดง
 อาการปวดโดยเกี่ยวข้องกับพันธุกรรม เป็นการตอบสนองโดยทั่วไปของทั้งสุนัขและสัตว์เลี้ยง
 ลูกด้วยนมส่วนใหญ่ อย่างเช่น การระวังตัวเมื่อมีสิ่งมากระตุ้นให้เกิดอาการปวด การตอบสนอง
 ทางสรีระ เช่น ม่านตา อัตราการเต้นของหัวใจ อัตราการหายใจ การกรี๊ดร้องเมื่อเกิดความ
 เจ็บปวดเฉียบพลัน (ACVA, 1998) แต่พฤติกรรมการแสดงออกของความเจ็บปวดมีความ
 แตกต่างกันชัดเจนในสัตว์แต่ละชนิดและยังมีความแตกต่างภายในสัตว์ชนิดเดียวกัน (Sanford
et al., 1986, Dobromylskyj *et al.*, 2000) ในสุนัขด้วยกันเองสายพันธุ์ที่แตกต่างทำให้มี
 พฤติกรรม อุปนิสัย บุคลิกและการแสดงออกที่แตกต่างกัน อย่างเช่นความแตกต่างที่เราจะพบ
 ได้จาก Guard dog competing runner shepherd healers hunting dogs และสุนัขที่เป็นสัตว์
 เลี้ยงของคน เมื่อเปรียบเทียบสุนัขกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นแล้ว ความแตกต่างทางสาย
 พันธุ์ของสุนัขมีผลต่อพฤติกรรมทั่วไปที่ตอบสนองต่อความเจ็บปวดมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบ
 ความแตกต่างภายในสัตว์ชนิดเดียวกันของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่น สุนัขสายพันธุ์แท้จะนิ่ง
 เฉยมากกว่า ในขณะที่สายพันธุ์ไม่แท้จะร้อง คราง หรือบ่น และนอกจากนี้ยังมีความแตกต่าง
 กันไปเฉพาะตัว (Dobromylskyj *et al.*, 2000)

กลุ่มที่ 2 เป็นพฤติกรรมการแสดงออกต่อความเจ็บปวดที่เกิดขึ้นเองจากอิทธิพล หรือ
 จากการเรียนรู้ทางสังคม มนุษย์เรียนรู้พฤติกรรมความเจ็บปวดจากพ่อแม่ตั้งแต่อายุน้อย ๆ
 สุนัขก็จะเรียนรู้พฤติกรรมความเจ็บปวดจากเจ้าของเช่นกัน เหมือนกับที่สุนัขจะเรียนรู้จากสุนัข
 ด้วยกันเมื่อใช้ชีวิตอยู่รวมฝูง (Dobromylskyj *et al.*, 2000) เจ้าของบางคนมีอิทธิพลส่งเสริม
 การแสดงออกทางพฤติกรรมความเจ็บปวดของสุนัขตัวเอง ในขณะที่เจ้าของบางคนไม่มี

กลุ่มที่ 3 เป็นพฤติกรรมความเจ็บปวดที่รวบรวมรูปแบบทั้ง 2 กลุ่มแรกไว้ด้วยกัน
 สุนัขสามารถจัดพฤติกรรมของตัวเองเป็นรูปแบบจริงจัง ซึ่งรูปแบบพฤติกรรมเหล่านี้สามารถ
 ขยับเคลื่อนทั้งการแสดงออกโดยอัตโนมัติทางพันธุกรรมและการตอบสนองของกล้ามเนื้อที่ถูก
 กระตุ้นจากความเจ็บปวด (Wall, 1992) รูปแบบเหล่านี้สามารถนำมาใช้เพื่อแสดงออกถึง
 อาการปวดได้ว่าปวดมากหรือน้อย สุนัขทุกตัวสามารถแสดงอาการระแผลกมากได้ถ้าสุนัข
 เหล่านั้นเรียนรู้ว่าจะได้รับความสนใจ ความหวังใยหรือความกังวลใจจากสมาชิกในครอบครัว
 แต่ในทางตรงกันข้าม สุนัขที่แสดงอาการปวดมากเมื่อถูกพาออกนอกบ้านหรือพาไปหาหมอ
 อาจจะไม่แสดงอาการปวด Wall (1992) ซึ่งให้เห็นถึงความจำเป็นในการทำความเข้าใจ
 ความสัมพันธ์แบบเฉพาะระหว่างสัตว์กับสิ่งแวดล้อมที่เกิดขึ้นเฉพาะเวลา ยกตัวอย่างเวลาที่
 เจ้าของไม่อยู่ด้วย การไต่กลิ่นแปลกๆ และการได้ยินเสียงสัตว์อื่น จะมีอิทธิพลต่อการแสดง
 อาการปวดของสุนัขว่าจะแสดงออกหรือไม่ และอย่างไร (Dobromylskyj *et al.*, 2000)
 เจ้าของมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสุนัขมากกว่านักวิจัยที่ทำงานทดลอง ดังนั้นเจ้าของจึงมี
 ความสามารถในการเห็นความเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยหรือไม่เด่นชัดที่เกิดขึ้นกับอารมณ์และ
 พฤติกรรมของสุนัขในสิ่งแวดล้อมปกติที่สุนัขอยู่ เมื่อเจ้าของประเมินอาการปวดของสุนัขตัวเอง
 จึงเหมือนกับที่พวกเขาสังเกตอาการปวดของใครสักคนและให้คะแนนโดยใช้
 observational scales และอย่างที่นักวิจัยมากมายบอกว่าผลที่ได้จากการประเมินของสัตวแพทย์
 ยังเป็นการวัดผลที่ใช้ไม่ได้และขาดความน่าเชื่อถือ เมื่อมีการให้ความสำคัญกับเรื่องนี้จึงทำให้
 การหาวิธีการประเมินผลที่เชื่อถือได้จริงเป็นรูปเป็นร่างขึ้น เมื่อต้องประเมินผลการรักษาโรคที่
 มีวิธีการรักษาหลายวิธี อย่างเช่น โรคทางกล้ามเนื้อกระดูกที่สร้างความเจ็บปวดอย่าง OA
 ดังนั้นจึงมีความสำคัญอย่างมากที่จะต้องทำให้ถูกต้องสมบูรณ์และตรวจสอบความน่าเชื่อถือ
 ของวิธีการทั้งเก่าและใหม่ที่ใช้ตรวจวัดอาการปวดเรื้อรังเหล่านี้

Pain scales

วิธีการวัดอาการปวดในสุนัขคล้ายกันกับที่ใช้ในคน ได้แก่ 1. Visual analog scale
 (VAS) อาการปวดจะถูกระบุบนเส้นตรงที่มีความยาว 10 เซนติเมตร ที่เริ่มตั้งแต่ 0 ถึง 10

2. Numerical rating scale (NRS) มีตัวเลข 1 ถึง 10 เขียนจากซ้ายไปขวา ให้วงกลมเลขที่บ่งบอกถึงการประเมินอาการปวดได้ดีที่สุด (Conzemius *et al.*, 1997, Holton *et al.*, 1998)

3. Simple descriptive scale (SDS) ให้เลือกจากคำตอบที่มีให้ ส่วนใหญ่จะมี 3-5 คำตอบ ซึ่งมักจะเป็นการบอกถึงระดับความรุนแรง (Holton *et al.*, 1998) ในบางการศึกษาเช่น ของ Conzemius *et al.* (1997) และ Quinn *et al.* (2007) ใช้ NRS มาใช้ตั้งเป็นคำถามทั่วไป และเรียกว่า SDS question ซึ่งทำให้เกิดความสับสนได้

4. Variable rating scale (VRS) (Hardie, 2000) multifactorial pain scale (MFPS) (Firth and Haldane, 1997; Dobromylskyj *et al.*, 2000) และ multifocus หรือ multifactorial descriptive scale (MDS) มีชื่อที่ใกล้เคียงกัน ทุกอันบรรจุ SDS question ไว้จำนวนหนึ่ง เป็นคำถามที่มีความเกี่ยวข้องกัน และในแง่มุมมองต่างกันของอาการปวด (Hardie, 2000) มีความพยายามที่จะเปรียบเทียบวิธีต่างๆในการวัด ให้คะแนน หรือประเมินอาการปวดในสุนัข โดยเฉพาะอาการปวดเฉียบพลันที่เกิดขึ้นหลังการผ่าตัด (Conzemius *et al.*, 1997; Holton *et al.*, 2001) การวัดที่ถูกต้องมีเหตุผลทางวิทยาศาสตร์เรียกว่า psychometric statistics (Streiner, 1993) ก่อนที่นักวิจัยจะนำไปใช้ทดสอบพวกเขาต้องการรู้ว่ามันถูกต้องและเชื่อถือได้ (Conzemius *et al.*, 1997) แต่จนถึงขณะนี้วิธีการประเมินอาการปวดเรื้อรังได้รับการทดสอบน้อยมาก ไม่มีวิธีการใดคววิธีเดียวที่จะสามารถตรวจสอบได้ชัดเจนแท้จริงถึงความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของวิธีการวัดนั้น

Observational VAS scale เป็นเส้นยาว 10 เซนติเมตรที่ปลายด้านซ้ายระบุว่า “ไม่ปวด” ขณะที่ปลายด้านขวาระบุไว้ว่า “ปวดที่สุด” ผู้สังเกตอาการจะทำเครื่องหมายลงบนเส้นในตำแหน่งที่สัมพันธ์กับสิ่งที่พวกเขาเห็นว่าคนไข้มีอาการปวดรุนแรงขนาดไหน VAS pain score คือระยะทางที่ใกล้ที่สุดระหว่างเครื่องหมายกับปลายทางด้านซ้าย มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร (Varni *et al.*, 1987) การศึกษาในคนถึงการใช้ VAS สำหรับความเจ็บปวดเรื้อรัง ความเจ็บปวดที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง พบว่าให้ผลดี ให้ความเกี่ยวเนื่องที่ดีในการทำซ้ำในช่วงระหว่างที่ความเจ็บปวดเกิดขึ้นระยะยาว มีความน่าเชื่อถือของการวัด และการรายงานผลด้วยตัวเอง เป็นวิธีที่ใช้ง่าย เชื่อถือได้ดี ถูกต้องมีเหตุผล ราคาถูก เป็นการวัดแบบเมตริกที่สามารถใช้ตรวจประเมินตัวชี้วัด ซึ่งก็คือความเจ็บปวดได้ VAS ถูกนำมาใช้ในการประเมินอาการปวดเรื้อรังในการแพทย์คน มีการใช้ observational pain VAS ในการประเมินอาการปวดในเด็กโดยมี

ผู้เชี่ยวชาญและผู้ปกครองเป็นผู้ประเมินซึ่งคล้ายกับเจ้าของประเมินอาการปวดของสุนัขตัวเอง มีการตรวจสอบถึงความถูกต้อง ความน่าเชื่อถือ และ correlation coefficients ของการให้คะแนน VAS ด้วยตัวเองของเด็ก ๆ เปรียบเทียบกับ VAS ของผู้เชี่ยวชาญพบว่าอยู่ในช่วง 0.23-0.85 (median 0.53) และเมื่อเปรียบเทียบกับ VAS ของผู้ปกครองพบว่าอยู่ในช่วง 0.46-0.83 (median 0.70) ตรวจสอบในกลุ่มทดลองที่ค่อนข้างน้อย (n=13-46) correlation coefficients ระหว่าง observational VAS กับวิธีการวัดอาการปวดอื่น ๆ อยู่ในช่วง 0.42-0.86 (median 0.68) ทั้งผู้ปกครองและหมอมุ่งมีความตั้งใจที่จะรายงานผล สัตวแพทย์และผู้ช่วยวิจัยที่มีความใกล้ชิดกับอาการเจ็บปวดในสุนัขได้ใช้ observational pain VAS ในการประเมินความเจ็บปวดแบบเฉียบพลันและความเจ็บปวดหลังการผ่าตัดในสุนัข และอาการ lameness เรื้อรังในแกะ (Conzemius *et al.*, 1997; Holton *et al.*, 1998)

Multifactorial descriptive scale (MDS scale)

MDS ประกอบด้วยคำถามของSDSที่เกี่ยวข้องกับอาการปวดในแงุ่มที่ต่างกัน (Hardie, 2000) Wiseman *et al.* (2001) เป็นคนแรกที่รายงานถึงการสัมภาษณ์เจ้าของสุนัขจำนวน 13 คนที่สุนัขมีอาการปวดเรื้อรัง เจ้าของทุกคนรายงานการเปลี่ยนแปลงบางอย่างของสุนัข และสิ่งที่รายงานส่วนใหญ่เป็นการเปลี่ยนแปลงของสุนัขในเรื่องของพฤติกรรม สัตวแพทย์จำนวน 6 คนถูกถามเช่นเดียวกันว่าพวกเขามีการประเมินอาการปวดเรื้อรังอย่างไร ซึ่งพวกเขาตอบเหมือนกันว่าประเมินจากจากการเปลี่ยนแปลงทางพฤติกรรมของสุนัข มีนักวิจัยให้เจ้าของสุนัขใช้ MDS scale ในแบบสอบถาม MDS คำถามที่นำมาใช้เป็นคำถามที่เปรียบเทียบความผันแปรกับบางอย่างซึ่งมักจะเป็น baseline หรือช่วงก่อนการรักษา แบบสอบถามเหล่านี้โดยทั่วไปมักจะมีคำตอบจำนวน 3 ถึง 5 คำตอบ เป็นคะแนนของการเปลี่ยนแปลงที่ดีขึ้นเหมือนเดิม หรือแย่ลงกว่าเดิม (Pollard *et al.*, 2006) เมื่อสิ้นสุดการทดลองคำถามเหล่านี้จะเป็นคำถามที่ดีพอที่เจ้าของและสัตวแพทย์จะยอมรับและนำไปใช้ได้ (Jaeger *et al.*, 2007)

ความต้องการยาแก้ปวด (Need for rescue analgesia)

เนื่องจากความจำเป็นทางจรรยาบรรณในการบรรเทาอาการปวดรุนแรง ความต้องการยาแก้ปวด (rescue analgesia) สามารถนำมาใช้เป็นตัววัดความสำเร็จของการรักษาได้เช่นกัน (Innes *et al.*, 2003) อัตรากาการเลิกกลางคัน หรือหายแล้วเลิกรักษา ก็สามารถนำมาใช้เพื่อเป็นตัววัดประสิทธิภาพของการรักษาในคนได้

การประเมินทางสัตวแพทย์ (Veterinary evaluation)

การประเมินอาการปวดเรื้อรังเนื่องจาก OA ในสุนัข มีการใช้วิธีการประเมินที่แตกต่างหลายวิธี ที่ใช้กันทั่วไปคือการประเมินอาการกะเผลก (lameness) และการรับน้ำหนัก (weight bearing) สิ่งที่สามารถนำมาให้คะแนนได้ เช่น การเคลื่อนไหวที่ผิดปกติ เส้นรอบวงขาเป็นการวัดการลืบของกล้ามเนื้อ range of motion ที่ลดลงของทั้งการยืดและงอของข้อ การบวม เสียงก๊อบก๊อบที่ผิดปกติ (crepitus) อาการปวดจากการคลำตรวจ และความยินดีที่จะใช้ขาอีกข้างหนึ่งแทน

ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับความปวดเรื้อรัง (Hormones related to chronic pain)

ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนถูกนำมาใช้ในการตรวจประเมินความเครียดและอาการปวดในสัตว์ ระดับความเข้มข้นของ adrenaline, noradrenaline, β -endorphin, cortisol และ vasopressin ในพลาสมา จะเพิ่มขึ้นเมื่อเกิดภาวะเครียดอย่างเช่นการบาดเจ็บฟกช้ำและการผ่าตัด (Desborough, 2000) แต่ไม่มีข้อมูลที่พูดถึงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของฮอร์โมนเหล่านี้ในการตอบสนองต่ออาการปวดเรื้อรังในสุนัข ในม้าที่คาดว่าเกิดอาการปวดเฉียบพลัน

อย่างรุนแรงหลังการผ่าตัดจะมีระดับความเข้มข้นของ β -endorphin เพิ่มขึ้นการศึกษาของ McCarthy *et al.* (1983) พบว่าม้าในกลุ่มควบคุมหนึ่งตัวได้รับความทุกข์ทรมานจากความปวดเรื้อรังจาก OA นั้นตรวจพบระดับความเข้มข้นของ β -endorphin ลดลง ส่วนการศึกษาของ Ley *et al.* (1992) พบว่าแกะที่มีอาการ lameness จากเท้าเปื่อยเรื้อรัง มีระดับ adrenaline และ nor-adrenaline เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับแกะกลุ่มควบคุม การศึกษาอื่นๆพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ vasopressin ในแกะที่มีอาการ lameness เรื้อรัง มีระดับของ cortisol ลดลงเมื่อเทียบกับแกะกลุ่มควบคุม การศึกษาต่อมาเมื่อมีจำนวนแกะเพิ่มมากขึ้นพบว่า ในแกะที่มีอาการ lameness มีระดับของ cortisol เพิ่มขึ้น แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cortisol กับระดับความรุนแรงของโรค

Radiographic changes

เป็นที่ยอมรับทั่วกันว่า อาการทางคลินิกหรือระดับความเจ็บปวดของสัตว์ไม่สามารถคาดการณ์ได้จากการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่พบในภาพถ่ายเอ็กซเรย์ (Dobromylskyj *et al.*, 2000) Kealy *et al.* (2000) ได้แสดงถึงลักษณะที่พบมากที่สุดของสุนัขที่เป็น OA ที่ข้อสะโพก คือ periarticular osteophyte ในกระดูก femur ส่วนต้น ยังไม่พบว่ามีการศึกษาใดที่บอกว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับ coxofemoral joint หรือข้อศอกจากการถ่ายภาพเอ็กซเรย์มีความสัมพันธ์กับการประเมินความเจ็บปวด การถ่ายภาพเอ็กซเรย์สามารถยืนยันการวินิจฉัยได้ แต่กรณีที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงจากภาพเอ็กซเรย์ไม่สามารถบอกได้ว่าไม่ได้เกิดหรือเป็น OA เพราะ OA ในระยะแรกนั้นยากต่อการวินิจฉัยเพราะยังไม่มี การเปลี่ยนแปลงใดๆทางภาพถ่ายเอ็กซเรย์ให้เห็น (Bennett and May, 1995)

Force plate analysis

Force plate analysis เป็นวิธีการที่ไม่เกี่ยวกับความเห็นส่วนตัวของผู้ประเมิน อยู่บนพื้นฐานความเป็นจริงมากที่สุดที่ใช้ในการประเมินอาการปวดในสุนัขที่มีอาการปวดเรื้อรังที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน การวัด ground reaction force (GRF) โดยการใช้ force plate analysis เป็นตัวบอกว่าสุนัขจะลงน้ำหนักไปที่ขาหน้าหรือขาข้างนั้นปวด Force plate analysis ได้รับการยอมรับว่าเป็น gold standard สำหรับการประเมิน lameness (Quinn *et al.*, 2007) การใช้ force plate เป็นการวัด orthogonal force จำนวน 3 แรงด้วยกันคือ 1. Mediolateral (F_x) 2. Craniocaudal (F_y) และ 3. Vertical (F_z , Peak or mean vertical force (PVF) และ vertical impulse) โดยปกติสุนัขจะรับน้ำหนักร้อยละ 60 ของน้ำหนักตัวบนสองขาหน้า และร้อยละ 40 บนสองขาหลัง มีการใช้ force plate ประเมิน GRF ในสุนัขที่เป็น canine hip dysplasia (CHD) ซึ่งพบว่าสุนัขเหล่านี้มี vertical force ที่สองขาหลังลดลง และจังหวะของการก้าวขา (stride) เพิ่มขึ้น แต่อัตราความเร็ว (velocity) ความเร็วสูงสุด ระยะเวลาในการก้าวและความถี่ของการก้าวไม่แตกต่างระหว่างสุนัขที่เป็น CHD และสุนัขปกติ มีการใช้ force plate ในสุนัขที่เป็น OA ที่ข้อสะโพก (Budsberg *et al.*, 2001; Moreau *et al.*, 2003) และข้อศอก แรงที่จะใช้วัดในสภาวะนี้ได้ดีที่สุดคือ PVF และ vertical impulse โดย vertical impulse นั้นพบว่าเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีกว่าในการบอกลักษณะการที่ดีขึ้นได้ดีกว่า PVF และ vertical impulse จะถูกเลือกเป็น primary variable (Budsberg *et al.*, 2001) Trotting velocity ที่ใช้กันอยู่มีดังนี้ 1.6–1.9 m/s, 0.8–2.1 m/s, 1.45–2.1 m/s, 1.8–2.3 m/s, 1.5–2.25 m/s และ acceleration variation อยู่ที่ $\pm 0.5 \text{ m/s}^2$ ในการช้อน force plate จากสุนัขทำได้โดยการติดลงไปกับพื้นหรือทางเดินไม้ยาว 10–15 เมตร ปิดทับอีกทีด้วยยาง เซลล์รับแสงที่ใช้วัด velocity และ acceleration จะติดไว้ข้าง ทางเดิน (Budsberg *et al.*, 1999) เมื่อเปรียบเทียบ force plate analysis กับวิธีการประเมินแบบอื่นผลที่วัดได้ไม่ได้เท่ากันตลอด ในการศึกษาของ Vasseur *et al.* (1995) เจ้าของสุนัขประเมินว่าร้อยละ 38 ของ placebo ดีขึ้น สัตวแพทย์บอกว่าร้อยละ 26 ดีขึ้น และ force plate วัดได้ว่าร้อยละ 56 ดีขึ้น

เซลล์ต้นกำเนิดจากฟัน (Dental stem cells)

Stem cells คือ clonogenic cells ที่มีความสามารถของ self-renewal และ multilineage differentiation เซลล์เหล่านี้ตอบสนองต่อ normal tissue renewal ได้ดีเท่ากับ tissue healing และ tissue regeneration ภายหลังการเกิดความเสียหายขึ้นกับเนื้อเยื่อ stem cells แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มหลัก คือ embryonic stem cells (ESCs), adult stem cells (ASCs) และ induced pluripotent stem cells (iPSCs) ESCs พบใน inner cell mass ของ blastocyst ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งอยู่ในช่วงแรกของ embryo ESCs แบ่งตัวได้อย่างไม่มีขีดจำกัด มีคุณสมบัติ pluripotency แบ่งตัวและพัฒนาไปเป็น somatic cells ได้ทุกชนิด (Thomson *et al.*, 1998) แหล่งของ pluripotent stem cell แหล่งใหม่คือ iPSCs เป็นนวัตกรรมที่สร้างขึ้นมาจาก human somatic cells มีคุณสมบัติมากมายทั้ง tissue regeneration และ patient specific therapies ในขณะที่มีการเตือนให้ระวังถึงจริยธรรมในการใช้ human embryo และ tumorigenic potential (Takahashi and Yamanaka, 2000; Okita *et al.*, 2008) ASCs พบได้ในเนื้อเยื่อเกือบทุกชนิดของ postnatal tissue ด้วยเหตุผลที่เข้าถึงได้ง่ายและมีคุณสมบัติที่ดีในการสร้างเนื้อเยื่อที่เป็นคนละชนิดกับแหล่งที่เก็บมาของเซลล์ จึงมีการใช้ ASCs ที่มีศักยภาพในการรักษาโรคกลุ่ม degenerative ทั้งหมด (Arthur *et al.*, 2009) Mesenchymal stem cells เป็น multipotent progenitor cells ที่พบในเนื้อเยื่อหลาย ๆ ส่วนของร่างกาย มีความสามารถในการ differentiate ไปเป็นกระดูก กระดูกอ่อน เส้นเอ็น ไขมันและกล้ามเนื้อ MSCs เป็น immunomodulatory cell ที่สำคัญเนื่องจากสามารถควบคุมการอักเสบของเนื้อเยื่อที่เสียหายได้โดยการ expressing chemokine และ cytokines ชนิดต่าง ๆ

Dental stem cells (DSCs) เป็น MSCs ที่แยกมาจากเนื้อเยื่อฟัน ได้แก่ 1. Dental pulp stem cells (DPSCs) ได้จาก dental pulp ของฟันแท้ 2. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) ได้จากฟันน้ำนมที่หลุดตามธรรมชาติ 3. Stem cells from apical papilla (SCAP) ได้มาจากส่วน apical papilla 4. Periodontal ligament stem cells (PDLSC) แยกมาจาก periodontal ligament 5. Dental follicle progenitor cells (DFPC) ได้มาจาก dental follicle 6. Gingiva-derived mesenchymal stem cells, stromal cells (GMSCs) ได้มาจาก oral mucosa และ gingiva Dental stem cells (DSCs) เป็น MSCs ที่

แยกมาจากเนื้อเยื่อฟัน เมื่อเปรียบเทียบกับ bone marrow-derived stem cells (BM-MSCs) ซึ่งเป็น MSCs ที่เข้มข้นมีประสิทธิภาพที่สุดที่ศึกษามา DSCs ที่ได้จากช่องปากและ maxillofacial area มีคุณสมบัติ potent self-renewal/colony forming และ multipotent differentiated capacity เช่นกัน

Stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) มีการค้นพบและแยกได้ครั้งแรกจาก pulp ของฟันน้ำนมฟันหน้าที่หลุดออกมา (Miura *et al.*, 2003) การศึกษาต่อมาได้แยกและจัดประเภทของ SHED เป็น immature DPSCs เซลล์ของ SHED แสดง embryonic stem cells markers SHED มีคุณสมบัติของการเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ทั้ง osteogenic, adipogenic, neurogenic, muogenic, chondrogenic, endothelial และ odontoblastic differentiated (Miura *et al.*, 2003) เมื่อเปรียบเทียบ DPSCs กับ SHED แล้วพบว่า SHED มีอัตราการ proliferation ที่เร็วกว่าและมี population doubling สูง (Granthos *et al.*, 2000) แม้จะมีต้นกำเนิดจากโพรงประสาทรากฟันเหมือนกันแต่ SHED และ DPSCs มีสิ่งที่แตกต่างกันคือ odontogenic differentiation และ osteogenic induction โดย SHED สร้าง odontoblast-like cells ได้แต่ไม่สามารถสร้าง dentine pulp like complex ที่สมบูรณ์ได้ ในทางตรงกันข้าม DPSCs สามารถสร้าง dentine-like complex ได้แต่สร้าง lamellar bone ไม่ได้ นอกจากนี้ SHED อาจจะมี osteoinductive potential เนื่องจากสามารถเปลี่ยนไปเป็นเซลล์ที่สร้างกระดูกได้ (Miura *et al.*, 2003) DPSCs และ SHED มีการแสดงออกของยีนที่ต่างกันอย่างเช่นยีนที่เกี่ยวข้องกับ cell proliferation และ extracellular matrix formation อย่างเช่น TGF- β , FGF-2, Collagen I, Collagen III ซึ่งพบใน SHED มากกว่า DPSCs อย่างมีนัยสำคัญ ศักยภาพของ SHED ใน cell-based therapy คือการที่ SHED สามารถกระจายไปในเนื้อเยื่อได้มากมาย เป็น multipotent cell ที่สามารถเข้าถึงและเก็บได้ง่าย สามารถนำมา isolate และ differentiate ได้โดยไม่ต้องใช้วิธีการเก็บที่ลุกล้ำร่างกายอย่างเช่นการเก็บจากแหล่งอื่นเช่นจากไขกระดูกหรือไขมัน เป็นต้น หนึ่งในเป้าหมายสำคัญของการวิจัยทางเซลล์ต้นกำเนิดคือการแยก postnatal stem cells ที่มีคุณภาพสูงจากแหล่งที่สามารถเก็บได้ง่าย Miura *et al.* (2003) ได้ค้นพบว่าฟันน้ำนมที่หลุดของคนนั้นบรรจุไว้ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดที่เป็น multipotent stem cells (Stem cells from human exfoliated deciduous teeth, SHED) SHED มีคุณสมบัติทั่วไปของ mesenchymal stem cells เหนียวนำไปเกิดการสร้างกระดูกขึ้นมาใหม่โดย

การสร้าง osteoinductive template เพื่อรวบรวม host osteogenic cells (Miura *et al.*, 2003) ซึ่งเป็นการบอกว่าพืชน้ำนมไม่ได้บอกถึงการขึ้นของฟันแท้เท่านั้นแต่อาจมีส่วนในการเหนี่ยวนำการสร้างกระดูกระหว่างการขึ้นของฟันแท้ด้วย SHED เป็นตัวแทนของประชากร postnatal stem cells ที่มีความสามารถในการ proliferation อย่างกว้างขวาง การศึกษามากมายทั้ง *in vivo* และ *in vitro* ที่ให้ความหวังในการนำ DSCs มาใช้ใน regenerative density และ systemic degenerative disease โดยเฉพาะอย่างยิ่ง DSCs มีคุณสมบัติ immunomodulatory ที่จะเข้าไปมีผลต่อทั้ง innate immunity และ adaptive immunity ที่ใช้รักษาโรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกันและการอักเสบได้ผลที่น่าเชื่อถือ แต่ยังมีหลายประเด็นที่ยังต้องการการพัฒนา เช่น *ex vivo* expansion, differentiation efficacy และความปลอดภัยในการใช้ นอกจากนี้ยังมีวิธีการที่น่าเชื่อถือในการควบคุมสถานะการอักเสบที่ต้องทำก่อนการใช้ DSCs ในกรณีที่ต้องการ tissue regeneration และการอธิบายถึงกลไกของกระบวนการ regeneration ของเนื้อเยื่อที่สูญหายและคุณสมบัติทาง immunomodulatory ของ DSCs และเข้าสู่การทดลองทางคลินิกในคน (Lee *et al.*, 2014)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

สุนัข

ในการศึกษาถึงการประเมินผลทางคลินิกของการรักษาอาการ lameness และอาการปวดของข้อสะโพกทั้งสองข้างเนื่องจากภาวะข้อเสื่อมเรื้อรังในสุนัขโดยการฉีด intra-articular injection ด้วย pDSCs นั้นสุนัขที่เข้าร่วมการศึกษาคั้งนี้เป็นสุนัขมีเจ้าของ ซึ่งเป็นคนไข้ของโรงพยาบาลสัตว์กำแพงแสน มีประวัติอาการของ OA ของข้อสะโพกทั้งสองข้างเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 6 เดือน สุนัขจำนวน 9 ตัว มีอายุอยู่ระหว่าง 1-11 ปี น้ำหนัก 7-47 กิโลกรัม ประกอบด้วยสายพันธุ์ต่าง ๆ ดังนี้ พันธุ์ไทยบางแก้ว, พันธุ์โกลเด้นรีทรีฟเวอร์ (Golden Retriever), พันธุ์ร็อตไวเลอร์ (Rottweiler), พันธุ์ไซบีเรียนฮัสกี้ (Siberian husky), พันธุ์เซาเซา (Chaochao), พันธุ์พูเดิ้ล (Poodle), พันธุ์ชิทสุ (Shih Tzu) และพันธุ์ผสม สุนัขเหล่านี้แสดงอาการที่เป็นลักษณะการเปลี่ยนแปลงของ OA ซึ่งประกอบด้วย อาการ lameness ในขณะที่เดินหรือวิ่งเหยาะ อาการปวดเมื่อกำลังตรวจบริเวณข้อที่เป็น OA range of motion ที่จำกัดหรือน้อยลง โดยมีอาการปวดในขณะที่ range of motion น้อย ๆ สุนัขมีความสามารถในการใช้ขาลดลง ซึ่งประกอบด้วยอาการปวดตึง โดยสามารถวัดได้จากความยินยอมของสุนัขหรือความอยากเดินและอยากวิ่งของสุนัข

สุนัขมีลักษณะของ Gait changes characteristic of osteoarthritis ที่ประกอบด้วย

1. Persistent lameness at a walk and trot
2. Pain on passive manipulation of the effect joints
3. Limited range of motion with pain at less than full range of passive motion
4. Functional disabilities as measured by willingness to walk and run

สุนัขมีภาพเอ็กซเรย์ก่อนการรักษาที่มีแสดงถึงการเกิด degenerative joint disease ที่มีการประเมินว่าเกิด Osteoarthritis ระดับ 2 หรือมากกว่านั้น ตาม Radiographic scoring scale (Takahashi *et al.*, 2004) ดังนี้

เกรด 0 = ปกติ

เกรด 1 = ภาพถ่ายเอ็กซเรย์มีลักษณะของข้อหลวม (instability) แต่ยังไม่พบลักษณะของการเปลี่ยนแปลงของ degenerative joint disease และยังไม่พบ osteophytes

เกรด 2 = พบลักษณะของ degenerative joint disease ในระดับเล็กน้อย สามารถพบ osteophytes ได้บ้าง

เกรด 3 = มีการเปลี่ยนแปลงของ degenerative joint disease ในระดับปานกลาง พบ osteophytes และ subchondral sclerosis

เกรด 4 = มีการเปลี่ยนแปลงของ degenerative joint disease ในระดับรุนแรง พบ osteophytes, subchondral sclerosis และ bone remodeling



ภาพที่ 1 ภาพถ่ายเอ็กซเรย์แสดงลักษณะ degenerative joint disease; subchondral sclerosis และ osteophytes formation

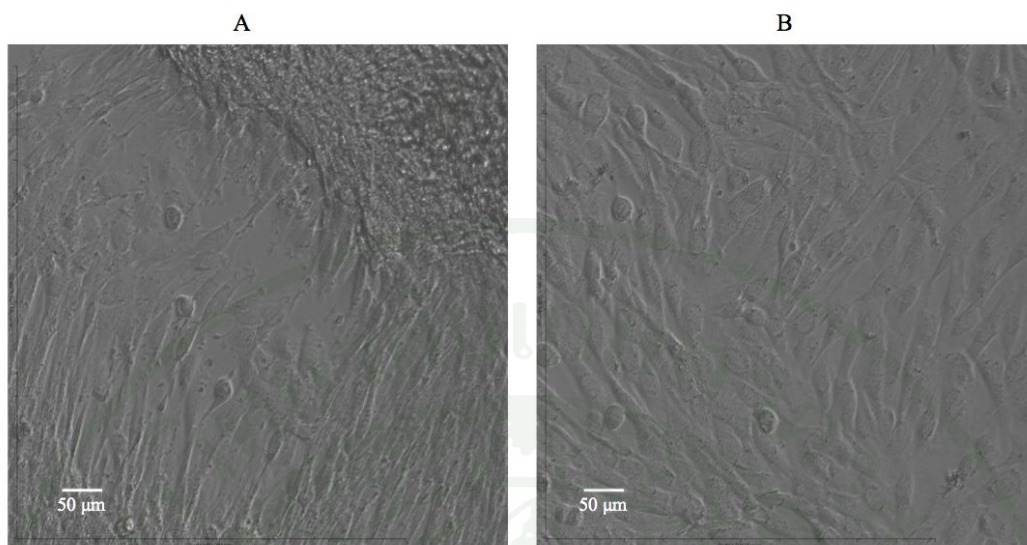
โดยสุนัขที่มีปัญหา OA เหล่านี้จะถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม A ฉีดด้วย pDTSCs จำนวน 8 ตัว และกลุ่ม B ฉีด ด้วย PBS จำนวน 1 ตัว ก่อนจะเข้าร่วมการศึกษาสุนัข จะได้รับการตรวจ Routine clinical hematology evaluation และ Routine clinical chemistry evaluation เพื่อให้แน่ใจว่าสุนัขมีสุขภาพโดยรวมปกติดี

สุนัขจะถูกคัดออกหากมีการเกิดโรคอื่นร่วมอย่างเช่น การติดเชื้อแบคทีเรีย การติดเชื้อรา เนื้ออก โรคทางระบบอื่น ๆ ที่มีส่วนต่อการประเมินผลการรักษา สุนัขที่มีการรักษา ด้วยยาแก้ปวดลดอักเสบชนิดไม่ใช้สเตียรอยด์จะให้อย่างน้อย 14 วันก่อนการรักษา เพื่อคงระดับยาตลอดช่วงการศึกษา หากมีการใช้ neutraceuticals, corticosteroids หรือการรักษา ทางเลือกอื่น เช่น การนวด การฝังเข็มให้หยุดอย่างน้อย 10 วัน ก่อนการเข้าร่วมการศึกษาและ งดไปตลอดระหว่างการศึกษา สุนัขจะต้องได้รับการดูแลโดยเจ้าของที่ยินดีและเห็นด้วยกับการ รักษา โดยลงชื่อยินยอมเข้าร่วมการศึกษานี้เพื่อจะได้มาติดตามอาการตามตารางนัดของสัตว แพทย์ตลอดระยะเวลาการศึกษา

การเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดจากฟันน้ำนม (Puppy deciduous teeth stem cells (pDSCs) preparation)

การเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดจากฟันน้ำนมสุนัข (Puppy deciduous teeth stem cells, pDSCs) ทำได้โดยเก็บฟันน้ำนมจากลูกสุนัข นำไปทำความสะอาดผิวฟันด้านนอกและตัดรากฟันให้เห็นถึง pulp chamber ใช้เข็มขนาด 18 g แยกเก็บ dental pulp tissue นำไปย่อยด้วย collagenase จากนั้นย้ายเซลล์ไปใส่ใน Dulbecco's PBS (Gibco, Invitrogen) ปริมาตร 5 ml นำไปปั่นเหวี่ยงและย้ายเซลล์ไปยัง T25 culture flask และ incubate ต่อใน carbon dioxide incubator ที่ 5% CO₂ และอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 4 วัน จนกระทั่งเกิด cell adhesion (ภาพที่ 2) จากนั้นเติม fresh DMEM media จนกระทั่งได้ 80% confluency

Bioeden Asia Tooth Cell Bank เป็นผู้เตรียมเซลล์ต้นกำเนิดจากฟันน้ำนมสุนัขที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ โดยห้องปฏิบัติการจะจัดเตรียมเซลล์และบรรจุมาในหลอดปลอดเชื้อ (sterile tube) มีฝาปิดสนิท ในแต่ละหลอดบรรจุเซลล์จำนวน 5×10^6 cells ในสารละลาย phosphate buffered saline (PBS) 1.0 ml และบรรจุในหลอดปลอดเชื้อปิดฝาลูกชั้น จากนั้นจึงบรรจุในกล่องบรรจุน้ำแข็งเพื่อควบคุมอุณหภูมิระหว่างขนส่ง การเตรียมเซลล์จะเตรียมในวันที่ใช้ฉีดในแต่ละครั้งและจะต้องฉีดภายใน 6 ชั่วโมงหลังจากเตรียมจากห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 2 ภาพถ่าย Photomicrograph ของเซลล์ต้นกำเนิดจากฟันน้ำนม (puppy deciduous teeth stem cells, pDSCs) ที่แยกมาจากเนื้อเยื่อฟันของสุนัข รูป A แสดงเซลล์ที่อยู่ติดกับเนื้อเยื่อฟันจากการเลี้ยงเซลล์ครั้งแรก รูป B แสดงเซลล์ใน semi-confluent in 25 cm² flasks ในวันที่ 4-6

วิธีการ

การฉีด intra-articular injection ด้วยเซลล์ต้นกำเนิด

สุนัขแต่ละตัวจะได้รับการฉีดเซลล์จำนวน 5×10^6 cells ในแต่ละข้อ การปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดโดยการฉีด intra-articular injection นั้นทำตามขั้นตอนการเจาะดูดข้อ (arthrocentesis) (Taylor , 2007) ดังต่อไปนี้การทำ arthrocentesis ในสุนัขทำภายใต้การวางยาซึมหรือยาสลบ แต่ละขั้นตอนกระทำอย่างปลอดภัย เตรียมตัวโดยการโภชน ชัดทำความสะอาดตามขั้นตอนก่อนการผ่าตัด และฆ่าเชื้อผิวหนังด้วยแอลกอฮอล์ การฉีด intra-articular injection ในตำแหน่งของสะโพก เราจะจัดให้สุนัขอยู่ในท่านอนตะแคง ให้กระดูกเชิงกรานขนานไปกับโต๊ะ แยกสะโพกให้ห่างออกจากกันเล็กน้อยโดยการแยกขาข้างที่จะฉีดขึ้นและบิดกระดูก femur เข้าด้านในเล็กน้อย จุดสังเกตในการฉีดคือ greater trochanter การฉีดทำโดยแทงเข็มไปที่ตำแหน่ง greater trochanter เยื้องมาทางด้านหน้าเล็กน้อย ในทิศทาง medioventral ขนานไปกับ neck of femur มุ่งไปยัง femoral head จับกระดูก femur แล้วดึงลงด้าน ventral เล็กน้อยแล้วแทงเข็มเข้าไปต่อในทิศทางเดิมเนื่องจากข้อของสุนัขที่เป็น OA ปริมาณ synovial fluid จะน้อยจึงยากที่จะสามารถดูดออกมาเพื่อตรวจหรือเพื่อช่วยยืนยันตำแหน่งที่ถูกต้องในการฉีดได้ ดังนั้นการยืนยันตำแหน่งจึงทำภายใต้ fluoroscopy ดังแสดงตามภาพที่ 3

การฉีดใช้เข็มขนาด 23 g ในสุนัขตัวเล็กและเข็มขนาด 22 g ในสุนัขตัวใหญ่ หลังจากฉีด รอฟื้นจากยาสลบ สังเกตอาการ 6 ชั่วโมง และให้เจ้าของสังเกตอาการต่อที่บ้านว่ามีอาการผิดปกติเกิดขึ้นหลังการฉีดหรือไม่ อย่างเช่น ร้องปวด กะเผลก แพ้บวมแดง อักเสบ บริเวณที่ฉีด เข็มที่สองจะฉีดห่างจากเข็มแรก 2 สัปดาห์ จากนั้นเจ้าของจะเป็นผู้ดูแลสุนัข โดยจูงสุนัขเดินวันละ 2 เวลา คือ เช้าและเย็น ปฏิบัติตามการดูแลที่สัตวแพทย์แนะนำ และพบสัตวแพทย์ตามนัดเพื่อติดตามอาการตลอดระยะเวลา การศึกษา



ภาพที่ 3 ภาพถ่ายยืนยันตำแหน่งในการฉีด intra-articular injection ที่ coxofemoral joint ผ่านทาง contrast fluoroscopy

การประเมินผล

การประเมินทางสัตวแพทย์ประกอบด้วยประวัติ การสอบถามอาการ การตรวจร่างกายและ lameness examination ซึ่งประกอบด้วย การตรวจการเคลื่อนไหวของข้อ (joint mobility) การแสดงอาการปวด (notation of pain-non manipulation) และความสามารถในการใช้ขา (functional disability) การวัดผลทางคลินิกยึดตาม veterinary orthopedic examination evaluation (ตารางที่ 1) โดยมีผู้ตรวจ 2 คน ในการให้คะแนนดังนี้

Lameness at walk and trot

- 1 = normal
- 2 = intermittent
- 3 = persistent
- 4 = non-weight bearing
- 5 = ambulatory only with assistance
- 6 = non-ambulatory

Pain on manipulation

- 1 = no pain
- 2 = mild pain
- 3 = severe

Range of motion

- 1 = normal
- 2 = pain only at full range of motion
- 3 = pain at less than full range of motion
- 4 = pain on any joint manipulation

Functional disability

- 1 = normal activity
- 2 = slightly stiff gait, only noticeable on running
- 3 = stiff, dog has noticeable difficulty walking or running
- 4 = very stiff, dog does not want to walk or run unless coaxed
- 5 = dog does not want to walk, must be helped up, and will not run

ผลการประเมินเบื้องต้น (Baseline) ที่ประเมินโดยเจ้าของและสัตวแพทย์จะถูกบันทึกไว้ 2-14 วัน ก่อนสุนัขจะได้รับการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดครั้งที่ 1 (วันที่ 0) มีการตรวจและบันทึกก่อนการปลูกถ่ายเซลล์ครั้งที่ 2 (วันที่ 14) การติดตามอาการกับสัตวแพทย์ที่โรงพยาบาลสัตว์ในแต่ละครั้งซึ่งก็คือ วันที่ 30 60 90 และ 120 เจ้าของจะตอบคำถามในแบบสอบถามมาตรฐานที่แปรมาจาก Helsinki Chronic Pain Index (HCPI) แบบสอบถามเป็นลักษณะ numerical rating scale ที่ประกอบด้วยตัวชี้วัดที่ปรับมาจาก Cincinnati Orthopedic Disability Index ที่ประกอบด้วย 13 ตัวชี้วัด ดังนี้

1. Walk
2. Run
3. Jump

4. Turning suddenly
5. Getting up from lying down
6. Lying down from standing
7. Climbing stair
8. Descending stair
9. Squatting to urinate or defecate
10. Stiffness in the morning
11. Stiffness in the evening
12. Difficulty walking on slippery floors
13. Willingness to play voluntarily

เจ้าของจะได้รับแบบสอบถามกลับไปหนึ่งชุดเพื่อตอบคำถาม และนำมาส่งในการพบกันครั้งต่อไป โดยการกรอกแบบสอบถามจะทำในช่วง 1 สัปดาห์ก่อนวันนัดติดตามอาการ

การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical Evaluation)

ผลการทดลองแสดง mean \pm standard error of the mean (SEM) การวิเคราะห์ทางสถิติใช้ InStat3 (GraphPad Software Inc., USA) ความแตกต่างของข้อมูล 2 กลุ่มวิเคราะห์โดย paired *t*-test ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ value of $p < 0.01$

ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงทางคลินิกของแต่ละตัวชี้วัดตลอดการทดลองจะนำมาทดสอบโดย one-way repeated measure analysis of variance (ANOVA) การเปรียบเทียบการตอบสนองระหว่างกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 จะใช้ two-way repeated measure ANOVA

ตารางที่ 1 เกณฑ์การให้คะแนน (Veterinary orthopedic examination assessment score)

	No detectable	Intermittent	Persistent	Persistent non-weight-bearing	Ambulatory only with assistance	Non-ambulatory
Lameness-walk	1	2	3	4	5	6
Lameness-trot	1	2	3	4	5	6
	No pain	Mild pain (attempt to withdraw limb)		Severe pain (immediate limb withdrawal)		
Pain on manipulation	1	2	3			
	No limitation	Pain only at full range of motion	Pain at less than full range of motion	Pain at any attempt to manipulate joint		
Range of motion	1	2	3	4		

ตารางที่ 1 (ต่อ)

	Normal activity	Slightly stiff gait, only noticeable on running	Stiff, dog has noticeable difficulty walking or running	Very stiff, dog does not want to walk or run unless coaxed	Dog does not want to walk, must be helped up, and will not run
Functional disability	1	2	3	4	5

ผลและวิจารณ์

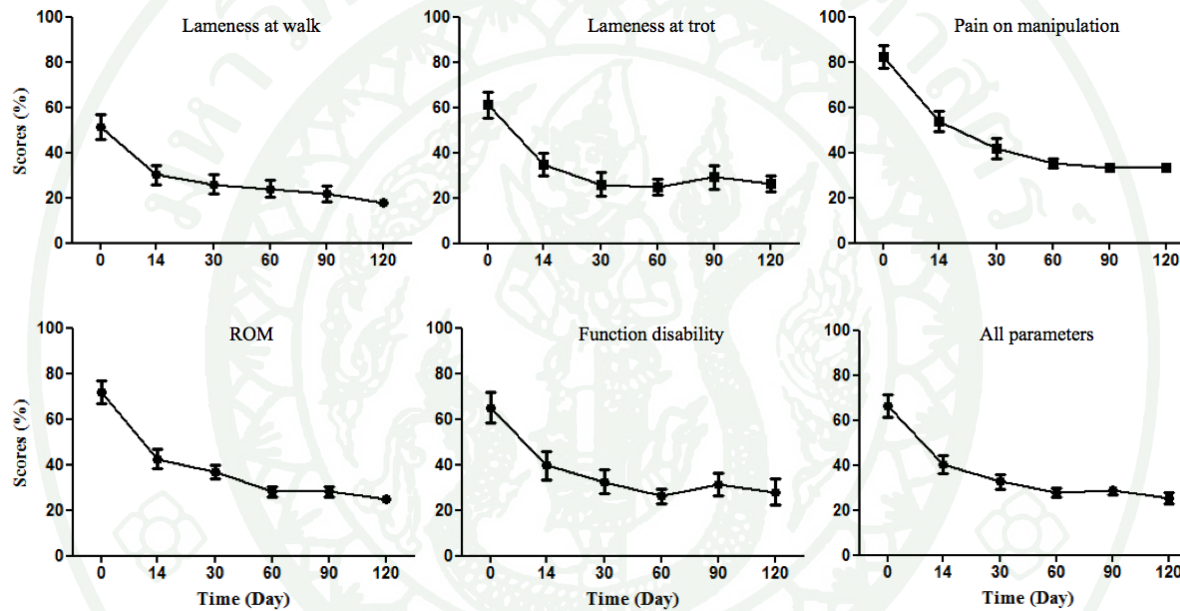
ผลและวิจารณ์

ตารางที่ 2 ข้อมูลเบื้องต้นก่อนการฉีด intra-articular injection ด้วย pDSCs

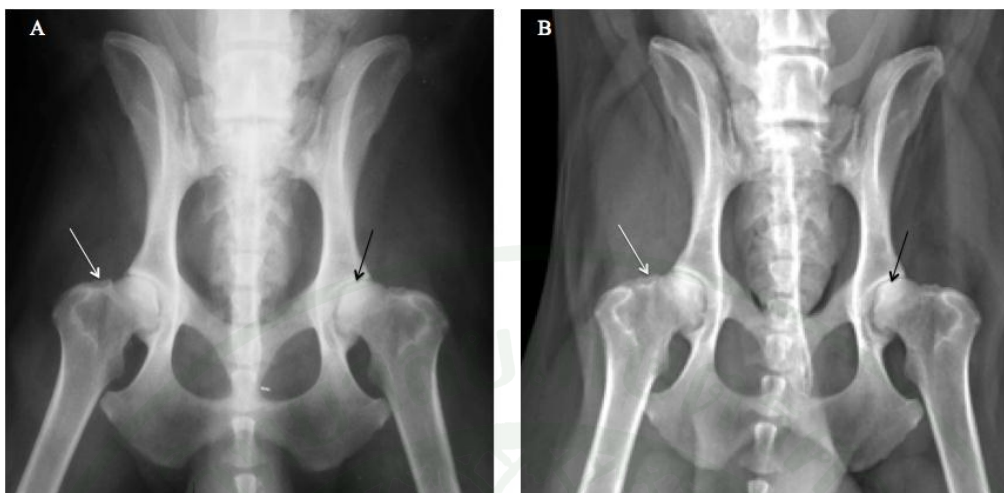
Parameters	No.1	No. 2	No.3	No.4
Gender	Male	Female	Female	Female
Age	9	11	6	11
Breed	Thai Bangkaew	Cross Breed	Chaochao	Golden Retriever
Weight	18.	20	38	32
Lameness at walk	2.5	3	3	3.6
Lameness at trot	3.5	4	3	3.6
Pain on manipulation	2.25	2.25	2.75	3
Range of motion	2.5	2.5	3.25	3
Functional disability	2.75	3.25	3.75	4
Crepitus	+	-	+	+
Radiographic finding score	3	2	4	4
Parameters	No.5	No.6	No.7	No.8
Gender	Female	Male	Female	Female
Age	6	4	6	1
Breed	Poodle	Rottweiler	Shih Tzu	Siberian Husky
Weight	8	47	7	20
Lameness at walk	2	3	5	2.5
Lameness at trot	3	3.25	6	3
Pain on manipulation	2	2.5	3	2
Range of motion	2.5	2.25	4	3
Function disability	2	2.5	5	3
Crepitus	+	+	+	+
Radiographic finding score	3	3	4	3

ตารางที่ 3 คะแนน Orthopedic examination scores ของสุนัขที่เป็น bilateral coxofemoral joints osteoarthritis. Values are mean±SEM, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared with baseline

Parameters	Baseline Mean ± SEM (days)	14	30	60	90	120
Lameness at walk	3.08 ± 0.32	1.81 ± 0.25***	1.56 ± 0.26**	1.44 ± 0.22***	1.31 ± 0.20***	1.08 ± 0.07***
Lameness at trot	3.67 ± 0.36	2.08 ± 0.29***	1.56 ± 0.32**	1.5 ± 0.21***	1.75 ± 0.31***	1.58 ± 0.17**
Pain on manipulation	2.47 ± 0.15	1.61 ± 0.14**	1.25 ± 0.13***	1.06 ± 0.06***	1***	1***
Range of motion (ROM)	2.88 ± 0.20	1.7 ± 0.17**	1.47 ± 0.12**	1.12 ± 0.08***	1.12 ± 0.08***	1**
Functional disability	3.25 ± 0.34	1.98 ± 0.31***	1.63 ± 0.26**	1.31 ± 0.16***	1.56 ± 0.25**	1.4 ± 0.23**



ภาพที่ 4 ข้อมูลวิเคราะห์เป็นร้อยละ (mean±SEM) ของ lameness at walk, lameness at trot, pain on manipulation, ROM, function disability และทุกตัวชี้วัด ก่อนและหลังการฉีด intra-articular injection ด้วย pDSCs คะแนนมีแนวโน้มดีขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนรับการรักษา



ภาพที่ 5 ภาพถ่ายเอ็กซเรย์ก่อนการฉีด puppy deciduous teeth stem cells (A) หลังการฉีด 6 เดือน (B) แสดงลักษณะของ subchondral sclerosis (ลูกศรสีดำ) osteophytes formation ที่ femoral neck (ลูกศรสีขาว)

สุนัขที่มีอาการปวดและเคลื่อนไหวผิดปกติจากการเกิดภาวะข้อเสื่อมที่ข้อสะโพกทั้งสองข้างหลังจากได้รับการรักษาโดยการฉีด intra-articular injection ด้วย allogeneic pDSCs แล้วการประเมิน veterinary orthopedic assessment examination score พบว่ามีแนวโน้มลดลงใน lameness at walk, lameness at trot และ pain on manipulation อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สุนัขมีอาการทางคลินิกที่ดีขึ้นตั้งแต่ 14 วันหลังการฉีดครั้งแรก และแสดงอาการทางคลินิกของทุกตัวชีวิตที่ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระหว่างระยะเวลาการศึกษา (ตารางที่ 3) ภาพถ่ายเอ็กซเรย์หลังการฉีด pDSCs ไม่พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่รุนแรงขึ้นหลังการรักษา จากผลการศึกษาการฉีด intra-articular injection ด้วย pDSCs ห่างกัน 2 สัปดาห์ สามารถลดอาการปวดเนื่องจากภาวะข้อเสื่อมได้

สุนัขจำนวน 5 ที่เข้าร่วมการศึกษาภายใต้เงื่อนไขจนครบ 120 วัน มีสุนัข 1 ตัวที่ได้รับ NSAIDs เนื่องจากการรักษาอาการอื่น และสุนัขอีก 2 ตัวไม่สามารถมาติดตามอาการกับสัตว์แพทย์ได้ตามนัดจนครบระยะเวลาการศึกษาเนื่องจากปัญหาความไม่สะดวกของเจ้าของ มีสุนัข 2

ตัวที่พบอาการกะเผลกที่ขาและเลียตำแหน่งที่ฉีด 1 ข้างหลังการฉีดครั้งที่ 2 และอาการหายเองใน 24-48 ชั่วโมง นอกจากนี้ไม่พบการรายงานอาการไม่พึงประสงค์หรือผลข้างเคียงใดๆ การนัดติดตามอาการหลังการฉีดครั้งแรก 2 สัปดาห์ พบว่า veterinary orthopedic assessment examination score ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับก่อนการรักษาทั้ง lameness at walk, lameness at trot, pain on manipulation, range of motion และ function disability และการประเมินหลังการฉีดครั้งที่ 2 คะแนนของทุกตัวชี้วัดลดลงเรื่อยๆ มีสุนัขหนึ่งตัวที่มีอาการกะเผลกขึ้น 1 ข้างระหว่างการศึกษา แต่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นอาการปวดที่ stifle joint หรือ coxofemoral joint

สุนัขหนึ่งตัวก่อนรับการรักษา จากข้อมูลของเจ้าของเป็นสุนัขที่มีอุปนิสัยนิ่งเฉยค่อนข้างไว้ตัว ไม่ชอบให้ใครจับยกเว้นเจ้าของคนเดียว ไม่ชอบเล่นไม่ว่าจะกับสุนัขที่เลี้ยงด้วยกันหรือกับเจ้าของ หลังการรักษาพบว่าอุปนิสัยเปลี่ยนไปเป็นซุกซน ชอบเล่นมากขึ้น ชอบเข้าหาเจ้าของ หยอกล้อกับสุนัขด้วยกัน ทำกิจกรรมมากขึ้น เช่น วิ่ง กระโดดขึ้นโต๊ะ ออกไปเล่นนอกบ้าน จากที่เคยอยู่เฉยๆ ตลอดวัน เป็นมิตรกับคนแปลกหน้าอย่างเช่น สัตวแพทย์มากขึ้น อีกตัวที่เจ้าของได้ให้ข้อมูลว่าเป็นสุนัขขี้หงุดหงิด ไม่ชอบให้ใครโดนตัวซึ่งเป็นสาเหตุของอาการดุและกัดเมื่อมีคนเข้าใกล้ แต่หลังจากการฉีดปัญหาการพบเจอคนแปลกหน้าน้อยลง

สุนัขบางตัวหลังได้รับการรักษาแล้วความสามารถในการใช้ขาดีขึ้น เจ้าของไม่สามารถควบคุมหรือจำกัดการวิ่ง การออกกำลังกายหรือการทำกิจกรรมได้ การวิ่งหรือการออกกำลังกายอย่างหนัก บวกกับความอยากเล่นและการได้ออกนอกบ้านหลังไม่ได้ออกมานาน ปัจจัยเหล่านี้อาจจะมีผลต่อการใช้ขา น้ำหนักที่ลงบนข้อที่ instability และมีปัญหาอยู่แล้วให้เกิดการอักเสบ อาการปวด และอาการ lameness ขึ้นได้ สุนัขบางตัวที่สองขาหลังไม่ได้ใช้งานมาเป็นเวลามากกว่า 3 เดือน หลังการฉีดครั้งแรกคะแนน pain on manipulation ลดลงแต่สองขาหลังยังไม่สามารถเดินได้ หากช่วยพยุงจะยืนได้สักพัก ในการติดตามอาการหลังการฉีดครั้งที่สองขา 1 ข้างสามารถยืนได้เอง และเริ่มเดิน 3 ขาได้ระยะสั้นๆ

ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ใช้ force plate analysis ในการประเมินผล subjective scoring system นั้นมีความสัมพันธ์กันได้ดีและสามารถใช้เป็นเครื่องมือที่ดีในการประเมิน chronic lameness ของ stifle joint ที่เป็น OA และในสุนัขที่ได้รับการผ่าตัด total hip replacement กรณี

ของ OA ได้ (Quinn *et al.*, 2007) สามารถใช้ในทางคลินิกได้ในขณะที่ force plate analysis ไม่สามารถใช้ได้

เป็นที่ยอมรับโดยทั่วกันว่า OA เป็นภาวะความเสื่อมของ articular cartilage และ มีการเกิด immunological response และ inflammatory reaction ของเนื้อเยื่ออื่นอย่างขึ้น เมื่อมีการเกิดพยาธิสภาพขึ้นที่ข้อ การฉีด intra-articular injection ด้วย MSCs ทำให้เกิดการซ่อมแซมเนื้อเยื่อไปยัง chondrocyte และการเติมเต็มให้กับ cartilage ที่เสียหาย และนอกจากซ่อมแซมเนื้อเยื่อแล้ว การรักษาด้วย MSCs จะไปกด synovial activation และบรรเทาความเสียหายของ cartilage ในทางอ้อม การรักษาด้วย MSCs ให้ผลการรักษาเนื่องจากคุณสมบัติ tissue-specific differentiation และ paracrine effect ของเซลล์ ในทางคลินิกผู้ป่วย OA เกิด synovitis ขึ้นในหลายระดับ lining layer ของ joint capsule มีการหนาตัวและมี macrophage อยู่หนาแน่น ซึ่งเป็นการบอกลักษณะที่ยังคงมีการถูกกระตุ้นของผู้ป่วย OA ในกลุ่ม substantial subpopulation macrophage ที่อยู่ใน lining layer ผลิต pro-inflammatory factors อย่างเช่น cytokine (IL-1), complement factor และ damage-associated molecular pattern molecule ให้เพิ่มสูงขึ้น ส่วน cartilage ที่เสียหายจะปล่อย cartilage matrix fragments ออกมาซึ่งไปกระตุ้น synovial macrophage ซึ่ง synovial macrophage สามารถทำให้เกิดการทำลาย cartilage ได้โดยการผลิต pro-inflammatory cytokine และสามารถทำให้เกิดการสร้าง osteophyte ได้โดยการหลั่ง growth factor ออกมา MSCs หลั่ง anti-inflammatory molecule อย่างเช่น IL-10, IL-1 receptor antagonist (IL-1ra), TGF- β และ prostaglandin E₂ และมีคุณสมบัติ immunosuppressive

มีการศึกษาที่บอกว่า MSCs มีคุณสมบัติ immunosuppressive ที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อใช้กับตำแหน่งที่มีการอักเสบ เป็นการบอกว่า factors ต่าง ๆ ที่ถูกปล่อยออกมาระหว่างการอักเสบนั้น ทำปฏิกิริยากับเซลล์ต้นกำเนิด และเหนี่ยวนำให้เกิดการทำงานของ immunosuppressive ปัจจุบันได้ตรวจพบชัดเจนถึงคุณสมบัติทาง immunomodulatory ของเซลล์ต้นกำเนิด เมื่อมีการนำไปรักษา acute graft versus host disease และ autoimmune disease อันดับแรกคือการทำงานของ T-cell และต่อมาพบว่า MSCs ยังไปยับยั้งการสร้าง functional antigen-presenting cells อย่างเช่น macrophages ด้วย ดังนั้น MSCs ไม่ได้ขัดขวางเพียงแค่ adaptive immune response แต่ยังไปขัดขวาง innate immunity ด้วย คุณสมบัติ immunomodulatory

function ของ MSCs เพิ่มขึ้นชัดเจนจาก cytokines อย่างเช่น interferon- δ , TNF- α ที่สร้างมาจาก macrophage ที่ถูกกระตุ้น cytokines เหล่านี้ไปเพิ่มการผลิตของ suppressive factors คุณสมบัติ immunosuppressive ของ MSCs จึงเป็นคุณสมบัติที่ขึ้นอยู่กับกระบวนการการกระตุ้น

การฉีด intra-articular injection ด้วย AD-MSCs ในข้อที่เป็น OA พบว่าเหนี่ยวนำให้เกิดการกด synovial activation ลดความเสียหายที่เกิดกับ ligament และ menisci ซึ่งเป็นการขัดขวางการทำลายกระดูกอ่อน และการสร้างกระดูกอ่อนและ osteophytes ขึ้นมาใหม่ คุณสมบัติ immunosuppressive ของ AD-MSCs ถูกทำให้เกิดขึ้นโดย pro-inflammatory factors ที่หลั่งมาจาก synovium แม้การรักษาด้วย MSC จะไม่มีการระบุขนาดในการรักษา มีการศึกษาที่ฉีด intra-articular injection ด้วย AD-MSCs ในข้อสะโพกและข้อเข่าสุนัขที่เกิด OA ในขนาด $15-50 \times 10^6$ cells ต่อข้อ (Vilar *et al.*, 2013) หลังการฉีด pDSCs ด้วยขนาด 5×10^6 cells ต่อข้อสามารถลดอาการปวด ทำให้สุนัขมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นและให้ผลยาวนาน 120 วัน

มีความเข้าใจกันมากขึ้นถึงกลไกการเกิดโรคของ OA ทั้งกลไกทาง biomechanical และ molecular การศึกษามากมายที่จัดทำขึ้นเพื่อหาวิธีการรักษาที่สาเหตุของกลไกการเกิดโรค แต่การศึกษาส่วนใหญ่เป็นการเหนี่ยวนำให้เกิด OA ในสัตว์ทดลองด้วยวิธีต่างๆ เช่น การเหนี่ยวนำด้วยการผ่าตัด cranial cruciate ligament, การเหนี่ยวนำด้วย collagenase หรือเหนี่ยวนำด้วยการฉีด Kaolin และ Sodium urate ที่ต้องนึกถึงไว้คือกลไกความเสียหายของโครงสร้างของข้อและความเจ็บปวดของ OA ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำกับ OA ที่เกิดขึ้นเองอาจแตกต่างกัน ยังคงจำเป็นต้องมีการศึกษาทางคลินิกต่อไป

การศึกษาค้างนี้สามารถกล่าวได้ว่าผลการรักษาทางคลินิกด้วย allogeneic pDSCs สามารถลดอาการปวดจากภาวะ chronic osteoarthritis ในสุนัขได้ ทำให้สุนัขที่ทุกข์ทรมานจากอาการปวดเรื้อรังและการไร้ความสามารถกลับมาใช้ชีวิตที่ดีได้

สรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาทางคลินิกครั้งแรกของการรักษาโรคข้อเสื่อมในสุนัขด้วย pDSCs เนื่องจากสุนัขที่เข้าร่วมการศึกษามีจำนวนน้อย จึงยังไม่สามารถสรุปได้ในขณะนี้ว่า pDSCs เป็นวิธีการใหม่ที่ให้ผลการรักษาที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคข้อเสื่อม สามารถนำมาใช้ในทางคลินิกได้โดยปลอดภัยข้างเคียง แต่จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถกล่าวได้ว่า สุนัขทุกตัวที่มีปัญหาข้อเสื่อม หลังได้รับการฉีด intra-articular injection ด้วย pDSCs อาการปวด อาการ lameness ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติใน 14 วันหลังการฉีดครั้งแรกโดยไม่พบผลข้างเคียง

ในการตรวจสอบถึงประสิทธิภาพทางการรักษาของ pDSCs ในภาวะข้อเสื่อมในทางคลินิก จำเป็นต้องมีสุนัขจำนวนมากขึ้น ประเมินจากตัวชี้วัดอื่นเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับความเห็นส่วนตัวของผู้ประเมินน้อยกว่านี้ อย่างเช่น การใช้ MRI ในการประเมิน articular cartilage, synovial structures, synovitis หรือ กล้ามเนื้อบริเวณข้อ ทั้งก่อนและหลังการรักษาของการศึกษาทางคลินิก แต่ความหนาของ articular cartilage ของสุนัขนั้นบางกว่าของคนมากเป็นสิ่งที่ควรนึกถึงไว้ หรือการประเมินตัวชี้วัดอื่นที่ทำได้เช่น การตรวจทาง histopathology การตรวจวิเคราะห์ synovial fluid ซึ่งการตรวจทาง histopathology ของ synovial joint เพื่อประเมิน articular cartilage joint capsule สามารถศึกษาในสัตว์ทดลองที่เหนียวนำไปเกิด OA โดยการผ่าตัดเพื่อตัด cranial cruciate ligament ซึ่งคาดว่าเป็นวิธีการที่มีกลไกการเกิดโรคใกล้เคียงกับ OA ในคนและสัตว์ เนื่องจาก OA เป็น degenerative arthritis มีการอักเสบในระดับต่ำ การตรวจวิเคราะห์อาจจะเป็นในทาง molecular การตรวจวิเคราะห์ ตลอดจนการตรวจถึงความปลอดภัยและประสิทธิภาพของ pDSCs ที่นำมาใช้รักษา เพื่อส่งเสริม cellular therapy ทั้งในทางคลินิกและงานวิจัย ซึ่งเป็นที่รู้จักอ้างอิงและจัดทำกันอย่างแพร่หลายอยู่ในขณะนี้

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- Allan, G.S. 2007. Radiographic signs of joint disease in dogs and cats, pp. 317–358. In Thrall, D.E., ed. **Textbook of veterinary diagnostic radiology**. 5th ed. Saunders Elsevier, St.Louis.
- Black, L.L., J. Gaynor, D. Gahring and C. Adam. 2007. Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter, controlled trial. **Vet therapeutics** 8 (4): 272–284.
- Black, L.L., J. Gaynor, C. Adam, S. Dhupa and A.E. Sam. 2008. Effect of intra-articular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on clinical signs of chronic osteoarthritis of the elbow joint in dogs. **Vet therapeutics** 9 (3): 192–200.
- Chevalier X. 1998. Physiopathogenesis of osteoarthritis. **The arthritis cartilage. Press Med** 27 (2): 81–87.
- Desando G., C. Cavallo, F. Sartoni, L. Martini, A. Parrilli, F. Veronesi, M. Fini, R. Giardino, A. Faccini and B. Grigolo. 2013. Intra-articular delivery of adipose derived stromal cells attenuates osteoarthritis progression in an experimental rabbit model. **Arthritis Res Ther** 15: R22.
- Han D.S., H.K. Chang, K.R. Kim and S.M. Woo. 2014. Consideration of bone regeneration effect of stem cells: comparison of bone regeneration between bone marrow stem cells and adipose derived stem cells. **J Craniofac Surg** 25 (1): 196–201.

- Garvin E.R., A.J. German, J.F. Innes. 2012. Biomarkers in clinical medicine, pp. 29–39. *In* Tobias K.M. and S.A. Johnson, eds. **Veterinary surgery: small animal**. Elsevier Saunders, St. Louis.
- Gerwin N, C. Hops and A. Lucke. 2006. Intra-articular drug delivery in osteoarthritis. **Adv Drug Deliv Rev** 58 (2), 226–242.
- Gonzalez A. 2013. Osteoarthritis year 2013 in review: genetics and genomics 2013, **Osteoarthritis and Cartilage** <http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2013.07.001>.
- Gronthos S., M. Mankani, J. Brahim, P.G. Robey and S. Shi. 2000. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. **Proc Natl Acad Sci USA** 97(25): 13625–13630.
- Lamont L.A., W.J. Tranquilli and K.A. Grimm. 2000. Veterinary Clinics of North America: **Small Animal Practice** 30 (4): 703–728.
- Luna S.P., A.C. Basilio and P.V.M. Steagall. 2007. Evaluation of adverse effects of long-term oral administration of carprofen, etodolac, flunixin, meglumine, ketoprofen, and meloxicam in dogs. **AJVR** 68 (3): 258–264.
- Marie M.M., M.C. Cristina, T.K. Karine, J.A. Peyrafitte, R. Ferreira, A. Facchini, E. Gabusi, P. Bourin, C. Jorgensen, G. Lisignoli and D. Noël. 2013. Adipose mesenchymal stem cells protect chondrocytes from degeneration associated with osteoarthritis. **Stem Cell Res** 11: 834–844.
- Mansa S., E. Palmer and C. Grondahl. 2007. Long-term treatment with carprofen of 805 dogs with osteoarthritis. **Vet Record** 160 (13): 427–430.
- McCarthy G., J. O'Donovan, B. Jones, H. McAllister, M. Seed and C. Mooney. 2007. Randomized double-blind, positive-controlled trial to assess the efficacy of

glucosamine/chondroitin sulfate for the treatment of dogs with osteoarthritis.
The Veterinary Journal 174: 54–61.

- Miura M., S. Gronthos, M. Zhao, B. Lu, L.W. Fisher, P. GehronRobey and S. Shi. 2003. SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **PNAS** 100 (10): 5807–5812.
- Moseley Jr.J.B., A.F. Anderson, J.E. Browne, B.R. Mandelbaum, L.J. Micheli and F. Fu. 2010. Long term durability of autologous chondrocyte implantation: a multicenter, observational study in US patients. **AJSM** 38: 238–246.
- Nagamura S, Y. Yamada, W. Katagiri, T. Sugito, K. Ito and M. Ueda. 2009. Stem cell proliferation pathway comparison between human exfoliated deciduous teeth (SHED) and dental pulp stem cells (DPSCs) by gene expression profile from promising dental pulp. **J Endod** 35:1536–1542.
- Noel F., R. Roan. 2009. The Management of Osteoarthritis. **VetPlus Newsletter** January.
- Pattanapol N., A.Tyananupat, P. Sriwattanakul and S. Petchdee. 2014. Reconstruction of damaged cornea epithelium using dental tissue derived stem cells. **Cytotherapy** 16(4): S86.
- Petchdee S., N. Pattanapon, R. Bootcha, P. Srivattanakul and T. Songserm. 2014. Dental Tissue–Derived Stem Cells exerts therapeutic effects on chronic myocardial infarction model of rabbit. **The Cardiology** 9(1): 1–6.
- Peeters C.M.M. 2013. Safety of intra–articular cell– therapy with culture–expanded stem cells in humans: a systematic literature review. **Osteoarthritis and Cartilage** <http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2013.06.025>.

- Prockop J.D. and J.Y. Oh. 2011. Mesenchymal stromal cells (MSCs); Roles as guardians of inflammation. **MolTher** 20 (1): 14-20.
- Saito M, K.A. Takahashi, Y. Arai, A. Inoue A, K. Sakao, H. Tonomura, K. Honjo, S. Nakagawa, H. Inoue, Y. Tabata and T. Kubo. 2009. Intra-articular administration of platelet-rich plasma with biodegradable gelatin hydrogel microspheres prevents osteoarthritis progression in the rabbit knee. **ClinExpRheumatol** 27 (2), 201-207.
- Schulz K. 2007. Diseases of the joints, pp 1143-1315. In Fossum T.W. ed. **Small animal surgery**. 3rd ed. Mosby Elsevier, St. Louis
- Spaggiari G.M. and L. Moretta. 2013. Cellular and molecular interactions of mesenchymal stem cells in innate immunity. **Immunol Cell Biol** 91: 27-31.
- Stanko P., K. Kaiserova, V. Altanerova and C. Altaner. 2014. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from dental pulp, bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord tissue by gene expression. **Avicenna J Med Biotech** 5(2): 104-117.
- Takahashi M., K. Naito, M. Abe, T. Sawada and A. Nagano. 2004. Relationship between radiographic grading of osteoarthritis and the biochemical markers for arthritis in knee osteoarthritis. **Arthritis Res Ther** 6 (3): 208-212.
- Taylor S.M. 2007. Joint disorders, pp 1119-1142. In Nelson R.W. and G.C. Couto. eds. **Small animal medicine**. 4th ed. Mosby Elsevier, St. Louis.
- terHuurne M., R. Schelbergen, R. Blattes, A. Blom, W. de Munter, L.C. Grevers, J. Jeanson, D. Noël, L. Casteilla, C. Jorgensen, W. van den Berg, P.L. van Lent. 2012. Antiinflammatory and chondroprotective effects of intraarticular injection of adipose-derived stem cells in experiment osteoarthritis. **Arthritis Rheum** 64: 3604-3613.

- Vilar J.M., M. Morales, A. Santana, G. Spinella, M. Rubio, B. Ceurvo, R. Cugat and J.M. Carrillo. 2013. Controlled, blinded force platform analysis of the effect of intra-articular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells associated to PRGF-Endoret in osteoarthritis dogs. **BMC Vet Res** 9(1):131.
- Van der Kraan P.M. and W.B. van den Berg. 2007. Osteophytes: relevance and biology. **Osteoarthritis Cartilage** 15: 237-244.
- Van Lent P.L., A.B. Blom, P. van der Kraan, A.E. Holthuisen, E. Vitters, N. van Rooijen, R.L. Smeets, K.C. Nabbe and W.B. van den Berg. 2004. Crucial role of synovial lining macrophages in the promotion of transforming growth factor beta-mediated osteophyte formation. **Arthritis Rheum** 50: 103-111.
- Wearing S.C., E.M. Henning, N.M. Byrne, J.R. Steele and A.P. Hills. 2006. Musculoskeletal disorders associated with obesity: a biomechanical perspective. **Obes Rev** 7(3), 239-250, 1467-7881.
- Yamada Y., S. Nakamura, K. Ito, T. Sugito, R. Yoshimi, T. Nagasaka and M. Ueda. 2010. A feasibility of useful cell-based therapy by bone regeneration with deciduous tooth stem cells, dental pulp stem cells, or bone-marrow derived mesenchymal stem cells for clinical study using tissue engineering technology. **Tissue Engineering Part A** 16(6): 1891-1900.
- Yamada Y, K. Ito, S. Nakamura, M. Ueda and T. Nagasaka. 2011. Promising cell-based therapy for bone regeneration using stem cells from deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow. **Cell Transplantation** 20; 1003-1013.



ภาคผนวก

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ข้อมูลสุนัขในกลุ่มควบคุม

Parameters	Control
Gender	Male
Age	2
Breed	Thai Bangkaew
Weight	18
Lameness at walk	2
Lameness at trot	3
Pain on manipulation	2
Range of motion	3
Functional disability	3
Crepitus	+
Radiographic finding score	3

แบบสอบถาม



แบบสอบถามสำหรับเจ้าของ

วันที่.....แบบสอบถามหมายเลข 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ...

สุนัขชื่อ.....อาการ/โรค.....

ชื่อเจ้าของ.....ลายมือชื่อเจ้าของ.....

ทำเครื่องหมาย **V** หน้าคำตอบที่ท่านคิดว่าอธิบายถึงสุนัขของท่านในช่วง **1** สัปดาห์ที่ผ่านมาได้ดีที่สุด

1. สุนัขของท่านมีอุปนิสัยหรืออารมณ์เป็นอย่างไร.

- ร่าเริงมาก
- ร่าเริง
- เฉยๆ ไม่ได้ร่าเริง แต่ก็ไม่ถึงกับไม่สนใจ
- เฉย ไม่สนใจ ไม่ใส่ใจ
- ไม่สนใจ ไม่ใส่ใจ เฉยมาก นิ่งมาก

2. การเล่นของสุนัขของท่าน.....

- อยากเล่นมาก ชอบเล่นมาก
- ชอบเล่น, อยากเล่น
- ไม่ค่อยอยากเล่น
- ไม่อยากเล่น
- ไม่เล่นเลย

3. บ่อยแค่ไหนที่สุนัขของท่านส่งเสียงแสดงอาการปวด

- ไม่ร้องเลย
- นานๆ ครั้ง

- บางครั้ง
- ป่อย
- ป่อยมาก

4. สุนัขของท่านสามารถเดินได้.....

- ง่ายมาก
- ง่าย
- ไม่ง่ายแต่ก็ไม่ลำบาก
- ลำบาก
- ลำบากมาก

5. สุนัขของท่านสามารถเดินเร็วหรือวิ่งเหาะๆได้.....

- ง่ายมาก
- ง่าย
- ไม่ง่ายแต่ก็ไม่ลำบาก
- ยาก, ลำบาก
- ไม่สามารถเดินเร็วหรือวิ่งเหาะๆได้เลย

6. สุนัขของท่านสามารถวิ่งได้.....

- ง่ายมาก, ดีมาก
- ง่าย
- ไม่ง่ายแต่ก็ไม่ลำบาก
- ยากมาก, ลำบากมาก
- ไม่วิ่งเลย

7. สุนัขของท่านสามารถกระโดดได้..... (กระโดดขึ้นโต๊ะ โซฟา รถ)

- กระโดดได้ง่ายมาก
- กระโดดได้ง่าย
- ค่อนข้างยาก ค่อนข้างลำบาก
- ยาก ลำบาก
- ไม่กระโดดเลย

8. เวลาจะนอน สุนัขของท่านสามารถนอนลงได้อย่าง.....

- ง่ายมาก
- ง่าย
- ไม่ง่าย แต่ก็ไม่ลำบาก
- ลำบาก
- ลำบากมาก

9. เวลานอนแล้วลุกขึ้น สุนัขของท่านสามารถลุกขึ้นได้.....

- ง่ายมาก
- ง่าย
- ไม่ง่าย แต่ก็ไม่ลำบาก
- ลำบาก
- ลำบากมาก

10. หลังจากพักผ่อนๆ หรือนอนนานๆ สุนัขสามารถเคลื่อนไหวขยับตัวเปลี่ยนท่าหรืออริยาบถได้.....

- ง่ายมาก
- ง่าย
- ไม่ง่าย แต่ก็ไม่ลำบาก
- ลำบาก
- ลำบากมาก

11. หลังจากออกกำลังกายหรือเล่นเยอะๆ สุนัขของท่านสามารถเคลื่อนไหวขยับตัวได้.....

- ง่ายมาก
- ง่าย
- ไม่ง่าย แต่ก็ไม่ลำบาก
- ลำบาก
- ลำบากมาก

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นางสาวรติกร บุตรชา
เกิดวันที่	17 ตุลาคม 2521
สถานที่เกิด	จังหวัดแพร่
ประวัติการศึกษา	สพ.บ. (สัตวแพทยศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งปัจจุบัน	สัตวแพทย์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	โรงพยาบาลสัตว์กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

