

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการฉีด hydrocortisone เข้าข้อเป็นประจำสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมทำลายของกระดูกอ่อนผิวข้อในกระต่าย โดยยานี้อาจไปรบกวนสมดุลเมตาบอลิซึมของคอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีโอไกลัยแคนในกระดูกอ่อนผิวข้อ ทำให้การสังเคราะห์โมเลกุลใหม่ลดลง และในขณะเดียวกันยังกระตุ้นการสลายสารดังกล่าวออกจากกระดูกอ่อนผิวข้อจนทำให้สามารถตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงได้ในซีรัมได้อย่างรวดเร็วภายหลังการฉีด โดยใช้แอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อสายคอนดรอยตินซัลเฟตทั้งชนิดที่เชลล์กระดูกอ่อนสังเคราะห์ขึ้นใหม่ (3B3 อีพิโทพ) และชนิดที่สลายจากเนื้อกระดูกอ่อน (WF6 อีพิโทพ) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้การตรวจวัดสารดังกล่าวในซีรัมเพื่อเป็น marker ของโรคข้อต่อเสื่อมต่อไปในอนาคต โดย 3B3 อีพิโทพ อาจเป็น serum anabolic marker ส่วน WF6 อีพิโทพ อาจเป็น serum catabolic marker ของโรคต่างๆที่มีการเสื่อมทำลายของกระดูกอ่อนข้อต่อ เช่น Osteoarthritis และ Rheumatoid arthritis เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

1. Blumenkrantz and Asboe-Hansen *Anal Biochem* 1973; 54:484-9
2. Peraphan Pothacharoen. *Thesis for master degree of science (Biochemistry)*, Chiangmai University. Thailand. 2000
3. Caterson B. J. *Rheum.* (1991); 18:19-23.
4. Nathachai Tiengburanatam. *Thesis for master degree of science (Biochemistry)*, Chiangmai University. Thailand. 1996

ตอนที่สอง

**ผลการฉีดไคโตแซนโพลีซัลเฟตเข้ากล้ามเนื้อต่อการเปลี่ยนแปลงระดับ
คอนครอยตินซัลเฟตอีพิโทปในซีรัมสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเสื่อม**

Effect of Intra-Muscular Administration of Chitosan Polysulfate on Changes of
Serum Chondroitin Sulfate Epitope in Induced Canine Osteoarthritis

จากผลการทดลองตอนที่หนึ่งของโครงการวิจัยนี้พบว่า ด้วยวิธี competitive inhibition ELISA ที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของระดับคอนทรอยตินซัลเฟตอิพิโทพในซีรัมกระต่าย สัมพันธ์กับการเกิดโรคข้อเข่าเสื่อมเมื่อกระต่ายได้รับการฉีด hydrocortisone เข้าข้อเข่าอย่างต่อเนื่อง โดยพบว่าคอนทรอยตินซัลเฟตอิพิโทพที่จดจำได้โดยแอนติบอดี WF6 (WF6 epitope) น่าจะเป็น catabolic marker ที่ดีของโรคข้อเสื่อม ในขณะที่คอนทรอยตินซัลเฟตอิพิโทพที่จดจำได้โดยแอนติบอดี 3B3 (3B3 epitope) เป็น anabolic marker ของโรคนี้ จากผลการทดลองนี้จึงมีความเป็นไปได้สูง ที่จะสามารถประยุกต์ใช้วิธีการตรวจวัดสารคอนทรอยตินซัลเฟตในเลือดเพื่อใช้เป็นสารบ่งชี้ประกอบการ วินิจฉัยโรคข้อเสื่อมต่อไป

เพื่อเป็นการยืนยันเพิ่มเติมถึงการเปลี่ยนแปลงของระดับคอนทรอยตินซัลเฟตอิพิโทพในซีรัมว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคข้อเข่าเสื่อมอย่างแท้จริง จึงได้ทำการศึกษาในสัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเข่าเสื่อมด้วยวิธีการตัดเอ็นข้อเข่า (transection of anterior cruciate ligament) ซึ่งวิธีนี้จะเป็นการเลียนแบบการเกิดข้อเข่าเสื่อมที่เกิดขึ้นจริงในคนทั่วไปหรือนักกีฬาที่มีประวัติเส้นเอ็นเข่าฉีกขาด แล้วทำการตรวจวัดระดับสารคอนทรอยตินซัลเฟตอิพิโทพในเลือดสัตว์ทดลองก่อนและหลังผ่าตัด ซึ่งจะทำให้ได้ข้อมูลความสัมพันธ์ของระดับกับการเกิดโรคข้อเข่าเสื่อมเป็นหลักฐานเพิ่มเติมกว้างขวางมากขึ้น จากตอนที่หนึ่งของโครงการ

นอกจากนั้น ในการทดลองนี้ยังจะได้มีการตรวจวัดระดับสารคอนทรอยตินซัลเฟตอิพิโทพในเลือดสุนัขกลุ่มที่ได้รับการผ่าตัดเข่าอย่างเดียวยุติเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ผ่าตัดเส้นเอ็นเข่าร่วมกับการฉีดสาร โคโดแซนโพลีซัลเฟตเข้ากล้ามเนื้อ เพื่อดูแนวโน้มว่าสารดังกล่าวจะมีผลทำให้เกิดความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงระดับสารคอนทรอยตินซัลเฟตอิพิโทพในเลือด ทั้ง catabolic marker (WF6 epitope) และ anabolic marker (3B3 epitope) ได้หรือไม่ ซึ่งสารโคโดแซนโพลีซัลเฟต (โครงสร้างคือ polysulfated polyglucosamine) นี้ โดยโครงสร้างจะจัดอยู่ในกลุ่มสารโพลีซัลเฟตโกลัยโคคาไรต์ซึ่งมีรายงานว่า มีฤทธิ์ป้องกันการสลายของกระดูกอ่อน¹⁻³ บางตัวได้มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการรักษาโรคข้อเสื่อม⁷ อย่างไรก็ตาม ยังไม่เคยมีรายงานฤทธิ์ด้านการเสื่อมสลายกระดูกอ่อนของสารโคโดแซนโพลีซัลเฟตเลย สารนี้ผลิตขึ้นจากเปลือกกุ้ง จากงานวิจัยระดับปริญญาเอกของภาควิชาชีวเคมี คณะแพทย ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ได้ลงตีพิมพ์ในวารสารต่างประเทศแล้ว⁴) ทีมงานผู้วิจัยเองได้เคยทำการ ทดลองเบื้องต้น พบว่าสารโคโดแซนโพลีซัลเฟตที่ผลิตได้นี้มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ elastase ซึ่งถือเป็นเอ็น ไซม์สำคัญตัวหนึ่งในขบวนการสลายของกระดูกอ่อนในโรคข้อเสื่อม จึงมีแนวโน้มเป็นไปได้ว่าสารนี้จะ สามารถต้านการสลายของเนื้อกระดูกอ่อนได้ ซึ่งน่าจะมีผลทำให้ markers ในเลือดสัตว์ทดลองกลุ่มที่ผ่า ตัดเส้นเอ็นเข่าและได้รับการฉีดสารโคโดแซนโพลีซัลเฟตเข้ากล้ามเนื้อมีระดับที่แตกต่างสัตว์ทดลองกลุ่ม ที่ผ่าตัดเข่าอย่างเดียว

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับคอนตรอยตินซัลเฟตอิพิโทพในซีรัมสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเข่าเสื่อมโดยการตัดเส้นเอ็นข้อเข่า
2. เพื่อศึกษาผลของไคโตซานโพลีซัลเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงระดับคอนตรอยตินซัลเฟตอิพิโทพในซีรัมสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเข่าเสื่อมโดยการตัดเส้นเอ็นข้อเข่าร่วมกับการฉีดสารไคโตซานโพลีซัลเฟต

วิธีการทดลอง

สัตว์ทดลอง

ใช้สุนัขพันธุ์ไทยอายุไม่เกิน 2 ปี จำนวน 9 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 3 ตัว โดยให้สุนัขทุกกลุ่มมีค่าเฉลี่ยของอายุ และน้ำหนักเริ่มต้นไม่แตกต่างกัน ทำการทดลองดังนี้

กลุ่มที่ 1 (TACL/NSS) ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเสื่อมโดยการตัดเส้นเอ็น anterior cruciate ligament ที่ข้อต่อเข่าข้างซ้าย (left stifle joint)^{5,6} จากนั้น หลังผ่าตัด 1 สัปดาห์ทำการฉีดน้ำเกลือ 0.9% (normal saline) ครั้งละ 0.5 ml/ตัว เข้ากล้ามเนื้อสัปดาห์ละครั้ง ติดต่อกันทั้งสิ้น 6 ครั้ง

กลุ่มที่ 2 (TACL/CP) ตัด anterior cruciate ligament เหมือนกลุ่มที่หนึ่ง แต่ฉีดไคโตซานโพลีซัลเฟต ปริมาณ 3 mg/kg (ละลายใน normal saline 0.5 ml/ตัว) เข้ากล้ามเนื้อ โดยเริ่มฉีดหลังผ่าตัดแล้ว 1 สัปดาห์และฉีดติดต่อกันอีกสัปดาห์ละครั้ง จำนวนทั้งสิ้น 6 ครั้ง

กลุ่มที่ 3 (Normal) ไม่ตัด anterior cruciate ligament แต่ฉีดไคโตซานโพลีซัลเฟตเหมือนกลุ่มที่สองคือ ปริมาณ 3 mg/kg (ละลายใน normal saline 0.5 ml/ตัว) เข้ากล้ามเนื้อ โดยเริ่มพร้อมกับกลุ่มที่ 1 และ 2 แล้วฉีดติดต่อกันอีกสัปดาห์ละครั้ง จำนวนทั้งสิ้น 6 ครั้ง

กลุ่มที่	จำนวนสุนัข	anterior cruciate ligament of left hind limb	Intra-muscular injection
1 (TACL/NSS)	3	ตัด	Normal saline
2 (TACL/CP)	3	ตัด	Chitosan polysulfate
3 (Cont/CP)	3	ไม่ตัด	Chitosan polysulfate

หมายเหตุ :

1. สุนัขทุกตัวจะถูกแยกเลี้ยงในกรงเดี่ยว แต่อยู่ในห้องเดียวกัน ได้รับอาหาร และน้ำอย่างเดียวกัน
2. สุนัขทุกตัวจะได้รับการชั่งน้ำหนัก และตรวจสุขภาพโดยทั่วไปทุกสัปดาห์ จนเสร็จสิ้นการทดลอง
3. ทำการวัดขนาดเส้นรอบวงของหัวเข่าขาหลังทั้งซ้าย และขวา ตั้งแต่ก่อนทำการทดลองในสัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์ที่ 10 เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงขนาดของข้อเข่าที่ผ่าตัด (capsular fibrosis)

การเก็บเลือด และการวิเคราะห์ระดับของคอนครอยตินซัลเฟตในซีรัมโดยวิธี ELISA

เก็บเลือดสุนัข (ปริมาณ 5 ml ต่อตัวต่อครั้ง) ทุกสัปดาห์ โดยจะเริ่มทำการเก็บ 2 สัปดาห์ ก่อนทำการผ่าตัด และเก็บติดต่อกันอีก 8 สัปดาห์หลังจากผ่าตัดแล้ว รวมทั้งสิ้นเป็นเวลา 10 สัปดาห์ เพื่อใช้ในการตรวจหาระดับของคอนครอยตินซัลเฟตในซีรัมโดยวิธี Competitive inhibition ELISA โดยใช้ primary antibodies คือ monoclonal antibody 3B3 ซึ่งมีความจำเพาะกับสารคอนครอยตินซัลเฟตที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นใหม่ (anabolic marker)^{7,8} เปรียบเทียบกับ mAb WF6 (ผลิตที่ห้องปฏิบัติการวิจัยโรคกระดูกและข้อ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่) ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อคอนครอยตินซัลเฟตธรรมชาติที่พบอยู่ในกระดูกอ่อนข้อต่อทั่วไป ผลจากการทดลองที่ได้ จะนำมาวิเคราะห์หาการเปลี่ยนแปลงระดับคอนครอยตินซัลเฟตในซีรัม ทั้ง 3B3 epitope และ WF6 epitope ของสุนัขทุกกลุ่ม ทั้งก่อน และหลังจากที่เส้นเอ็นข้อเข่าถูกตัดทำลาย จนเสร็จสิ้นการทดลอง (10 สัปดาห์) เพื่อหาความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงระดับคอนครอยตินซัลเฟตในซีรัมกับการเกิดโรคข้อเข่าเสื่อม (% relative change) โดยคำนวณดังนี้

$$\% \text{ relative change} = 100 \times (B - A_0) / A_0$$

$$A_0 = \text{3B3 หรือ WF6 epitopes ในซีรัมสุนัขแต่ละตัวก่อนการทดลอง}$$

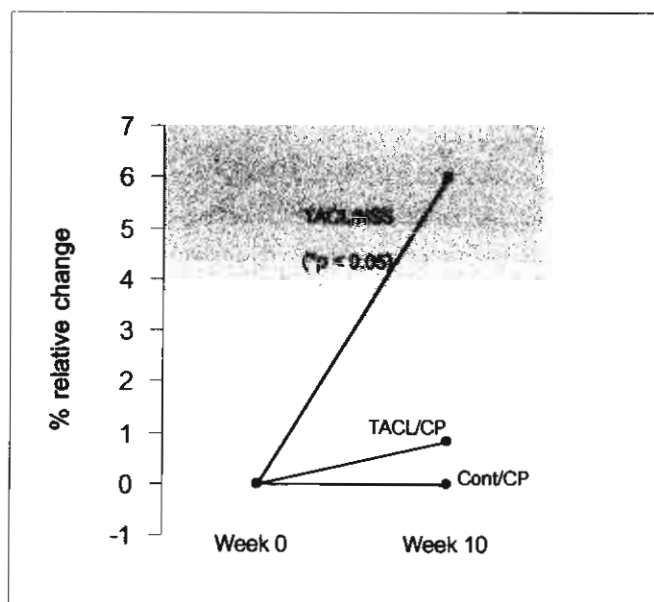
$$B = \text{3B3 หรือ WF6 epitopes ในซีรัมสุนัขแต่ละตัวที่สัปดาห์ต่าง ๆ}$$

นอกจากนั้น ยังได้นำซีรัมสุนัขทุกตัวส่งตรวจเพื่อการทำงานของตับ และไต เพื่อหาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับความเป็นพิษของโคโคซาน โพลีซัลเฟตที่ฉีดให้สัตว์ทดลอง

ผลการทดลอง และวิจารณ์

จากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเสื่อมในสุนัขแบบเฉียบพลันโดยวิธีตัดเอ็นข้อเข่าหลังซ้ายจำนวน 6 ตัว (กลุ่มที่หนึ่ง; TACL/NSS และกลุ่มที่สอง; TACL/CP) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้ตัดเอ็นข้อเข่า (กลุ่มที่สาม; Cont/CP) พบว่า น้ำหนักโดยเฉลี่ยของสุนัขทุกกลุ่ม เปรียบเทียบระหว่างก่อนการทดลองจนสิ้นสุดการทดลองไม่แตกต่างกัน ($p < 0.05$) เมื่อตรวจดูผลการหายของบาดแผลพบว่าสุนัขกลุ่มที่หนึ่งทั้งสามตัวซึ่งตัดเอ็นข้อเข่าแต่ไม่ได้ฉีดโคโคซานโพลีซัลเฟต บาดแผลมีลักษณะ บวม แดง แสดงว่ามีการอักเสบ อีกทั้งยังมีการหายของแผลช้ากว่าสุนัขตัวอื่นๆ เพราะต้องใช้เวลาจนถึงเกือบสามสัปดาห์จึงจะสามารถตัดไหมที่เย็บแผลได้ ในขณะที่สุนัขกลุ่มที่ตัดเอ็นข้อเข่าแต่ได้รับการฉีดโคโคซานโพลีซัลเฟต จะมีบาดแผลแห้ง และหายเร็ว ใช้เวลาเพียง 10 วันก็สามารถตัดไหมเย็บแผลได้ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารโคโคซานโพลีซัลเฟตที่ใช้ในการทดลองนี้มีแนวโน้มที่สามารถลดการอักเสบของบาดแผล และช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น

ลักษณะสำคัญอย่างหนึ่งที่พบในโรคข้อเข่าเสื่อม นอกจากจะมีการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนแล้ว ยังสามารถพบการเกิด capsular fibrosis ร่วมด้วย โดยเฉพาะเมื่อมีการอักเสบของข้อ⁹ ส่งผลให้ข้อเข่ามีขนาดโตขึ้น ในการทดลองครั้งนี้ ได้ดูการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นรอบวงเข่าสุนัขทุกกลุ่มในสัปดาห์แรก (ก่อนการทดลอง) เปรียบเทียบกับสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง (รูปที่ 1) พบว่าสุนัขที่ตัดเอ็นข้อเข่าแต่ไม่ได้ฉีดโคโดซานโพลีซัลเฟต (TACL/NSS) มีขนาดเส้นรอบวงของหัวเข่าข้างซ้ายเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน (5.99%) ส่วนสุนัขในกลุ่มที่ 2 ซึ่งได้ทำการตัดเอ็นหัวเข่าร่วมกับการฉีดโคโดซานโพลีซัลเฟต (TACL/CP) พบว่าขนาดเส้นรอบวงหัวเข่าข้างซ้ายเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (0.83 %) แต่ไม่สำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในขณะที่กลุ่มที่ 3 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม ไม่มีการตัดเอ็นหัวเข่าแต่ฉีดโคโดซานโพลีซัลเฟต พบว่าขนาดเส้นรอบวงหัวเข่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง (เช่นเดียวกับเข่าข้างขวาของสุนัขทุกตัวซึ่งไม่ได้ถูกตัดเอ็นเอ็น) ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า การฉีดโคโดซานโพลีซัลเฟตนอกจากจะช่วยให้แผลหายเร็วแล้ว ยังมีผลให้ข้อเข่าที่มีการอักเสบของเส้นเอ็นมีขนาดเล็กกว่ากลุ่มที่ฉีดด้วยน้ำเกลือ ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากสารนี้สามารถช่วยลดการอักเสบ ทำให้แผลหายเร็วขึ้น ส่งผลให้ capsular fibrosis ที่ข้อเข่าของสุนัขกลุ่มนี้เกิดได้น้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ฉีดโคโดซานโพลีซัลเฟต

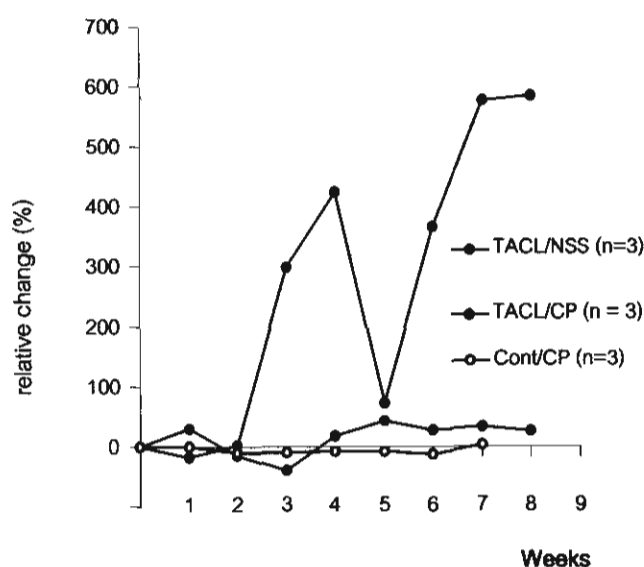


รูปที่ 1 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นรอบวงเข่าข้างซ้ายของสุนัขทั้งสามกลุ่มในสัปดาห์แรกเปรียบเทียบกับสัปดาห์สุดท้าย

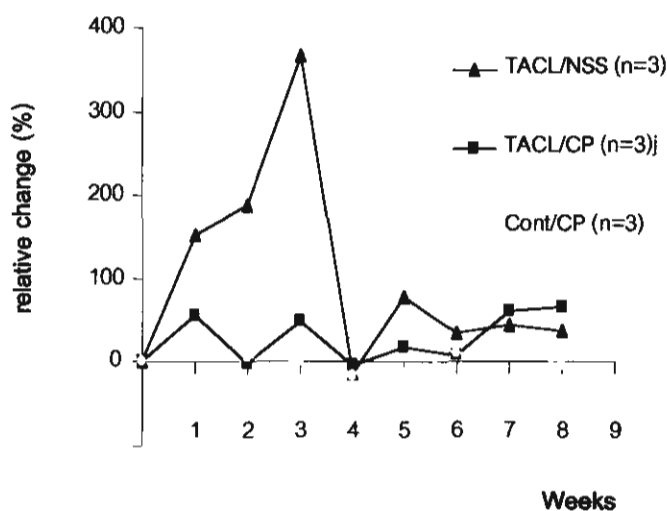
TACL/NSS = สุนัขที่ตัดเอ็นข้อเข่าแต่ไม่ได้ฉีดโคโดซานโพลีซัลเฟต

TACL/CP = สุนัขที่ตัดเอ็นข้อเข่าร่วมกับการฉีดโคโดซานโพลีซัลเฟต

Cont/CP = สุนัขที่ไม่มีการตัดเอ็นหัวเข่าแต่ฉีดโคโดซานโพลีซัลเฟต



รูปที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับ WF6 epitope ในซีรัมสุนัขที่สัปดาห์ต่างๆ หลังการผ่าตัดเส้นเอ็น และฉีดข้อเข่าด้วยน้ำเกลือ (TACL/NSS) หรือโคโคแชนโปรตีนไฮดรอกไซด์ (TACL/CP) ส่วนกลุ่ม Cont/CP เป็นกลุ่มควบคุม (ไม่ตัดเส้นเอ็น แต่ฉีดด้วยโคโคแชนโปรตีนไฮดรอกไซด์)



รูปที่ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับ 3B3 epitope ในซีรัมสุนัขที่สัปดาห์ต่างๆ หลังการผ่าตัดเส้นเอ็น และฉีดข้อเข่าด้วยน้ำเกลือ (TACL/NSS) หรือโคโคแชนโปรตีนไฮดรอกไซด์ (TACL/CP) ส่วนกลุ่ม Cont/CP เป็นกลุ่มควบคุม (ไม่ตัดเส้นเอ็น แต่ฉีดด้วยโคโคแชนโปรตีนไฮดรอกไซด์)

จากการศึกษาระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมสุนัขทั้งสามกลุ่ม โดยได้ทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปทั้งชนิด WF6 epitope (catabolic marker) และ 3B3 epitope (anabolic marker) ในซีรัมสุนัขในสัปดาห์ที่ศูนย์ก่อนที่จะเริ่มการผ่าตัดเปรียบเทียบกับระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมสุนัขตัวเดียวกันที่สัปดาห์ต่าง ๆ ถัดมาติดต่อกันจนถึงสัปดาห์

สุดท้ายของการทดลอง พบว่าค่าเฉลี่ย %relative change ต่อ WF6 epitope ของสุนัขกลุ่ม TACL/NSS ซึ่งถูกตัดเส้นเอ็นข้อเข่าและฉีดน้ำเกลือแทนการฉีดโคโคซานโพลีซัลเฟต (รูปที่ 2) เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่สาม หลังจากการผ่าตัด แม้จะพบว่ามีค่าลดลงในสัปดาห์ที่ห้า แต่ก็กลับเพิ่มขึ้นอย่างมากอีกครั้งจนตลอดการทดลอง แสดงถึงการเสื่อมสลายของเนื้อกระดูกอ่อนอันเป็นผลจากการตัดเส้นเอ็น ส่วนค่าเฉลี่ยของ %relative change ต่อ 3B3 epitope ซึ่งเป็นในซีรัมของสุนัขกลุ่มนี้ (รูปที่ 3) พบว่าจะมีระดับที่สูงในช่วง 3 อาทิตย์แรกจากนั้นจึงค่อยๆลดลง แสดงถึงความพยายามของสุนัขกลุ่มนี้ในการสร้างคอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีโอไกลัยแคนเพื่อต้านการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนซึ่งเป็นผลจากการที่เส้นเอ็นข้อเข่าถูกตัดขาด แต่เนื่องจากอัตราการสลายเกิดสูงมากอย่างต่อเนื่องจนเสียสมดุล อาจทำให้เนื้อกระดูกอ่อนรวมทั้งเซลล์ถูกสลายจากกระดูกอ่อนอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้การสังเคราะห์สารชีวโมเลกุลต่างๆ รวมทั้งคอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีโอไกลัยแคนโดยเซลล์กระดูกอ่อนลดลงอย่างต่อเนื่องจนตลอดการทดลอง

ดังนั้น ผลการทดลองที่ได้จากการศึกษาระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทพในซีรัมสุนัขกลุ่มที่ถูกตัดเส้นเอ็นเข่าร่วมกับการฉีดน้ำเกลือ จึงช่วยยืนยันได้อีกครั้งหนึ่งว่า คอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัมที่มีความจำเพาะกับโมโนโคลนอลแอนติบอดี WF6 เป็นสารบ่งชี้ที่ดีในภาวะที่กระดูกอ่อนมีการเสื่อมสลาย (catabolic marker) ในขณะที่ 3B3 epitope ซึ่งได้มีรายงานที่ผ่านมาพิสูจน์แล้วว่าเป็น anabolic marker ผลจากการทดลองครั้งนี้ยังสนับสนุนว่า เมื่อมีการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนในระยะเริ่มแรก เซลล์กระดูกอ่อนจะพยายามสร้างสารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของเนื้อกระดูกอ่อน เช่นคอลลาเจน และคอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีโอไกลัยแคนเพื่อซ่อมแซมส่วนที่เสียหาย ทำให้พบระดับ 3B3 epitope สูงขึ้นในซีรัม จนกว่ากระดูกอ่อนจะกลับคืนสู่ภาวะปกติ แต่หากการเสื่อมสลายเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเช่นในภาวะที่เส้นเอ็นข้อเข่าถูกทำลาย การสังเคราะห์สารดังกล่าวจะลดต่ำลง ทำให้เสียสมดุลของกระดูกอ่อน และกลายเป็นโรคข้อเข่าเสื่อมในที่สุด คล้ายคลึงกับการเกิดโรคข้อเสื่อมที่พบในนักกีฬา หรือผู้มีประวัติได้รับอุบัติเหตุเส้นเอ็นข้อเข่าฉีกขาด

อย่างไรก็ตาม ในสุนัขกลุ่มที่ถูกตัดเส้นเอ็นเข่าร่วมกับการฉีดโคโคซานโพลีซัลเฟต (TACL/CP) กลับพบว่าทั้งระดับ WF6 epitope (รูปที่ 2) และระดับ 3B3 epitope (รูปที่ 3) ในซีรัมมีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นสุนัขปกติที่ได้รับการฉีดโคโคซานโพลีซัลเฟตตลอดจนสิ้นสุดการทดลอง ผลการทดลองเบื้องต้นครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าแม้ว่าสารโคโคซานโพลีซัลเฟตจะไม่มีฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์คอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีโอไกลัยแคนเพื่อซ่อมแซมกระดูกอ่อน แต่กลับมีศักยภาพช่วยลดการอักเสบ ทำให้บาดแผลผ่าตัดหายเร็ว และยังทำให้ระดับคอนดรอยตินซัลเฟตที่ถูกสลายจากกระดูกอ่อนซึ่งจดจำได้โดย mAb WF6 มีระดับลดลงใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม ซึ่งอาจเกิดจากฤทธิ์ของสารโคโคซานโพลีซัลเฟตที่ช่วยลดการอักเสบในข้อที่ถูกตัดเส้นเอ็น ส่งผลให้ช่วยชะลออัตราการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนในสุนัขกลุ่มนี้ ระดับ WF6 epitope ในซีรัมจึงน้อยกว่ากลุ่มที่ฉีดด้วยน้ำเกลืออย่างเห็นได้ชัดเจน

อย่างไรก็ตาม เมื่อสิ้นสุดการทดลองผู้วิจัยไม่สามารถนำกระดูกข้อเข่าของสุนัขที่ทดลองครั้งนี้ มาวิเคราะห์ content ของเนื้อกระดูกอ่อนหรือตรวจดูรอยโรคของโรคข้อเสื่อมได้เนื่องจากติดขัดด้านจริยธรรมวิจัยในสัตว์ทดลอง ทำให้ขาดข้อมูลส่วนนี้ไปอย่างน่าเสียดาย

สรุปผลการทดลอง

ผลการทดลองครั้งนี้สามารถช่วยยืนยันอีกครั้งหนึ่งว่า WF6 epitope น่าจะเป็น catabolic marker ของโรคข้อเสื่อมได้ดี เนื่องจากพบการเพิ่มขึ้นของระดับ WF6 epitope สูงขึ้นอย่างชัดเจนในซีรัมสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดข้อเสื่อมโดยการตัดเส้นเอ็นข้อเข่า และสารสารโคโตแซนโพลีซัลเฟตน่าจะมีแนวโน้มเป็นสารที่มีฤทธิ์สามารถต้านหรือชะลอการเสื่อมทำลายของกระดูกอ่อนได้ (chondroprotective substance) เนื่องจากสามารถช่วยลดการอักเสบของข้อเข่าสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดข้อเสื่อมโดยการตัดเส้นเอ็นข้อเข่าได้ ส่งผลให้การเสื่อมทำลายของเนื้อกระดูกอ่อนลดลง จึงตรวจพบระดับขึ้นส่วนคอนดรอยตินซัลเฟตที่ถูกสลายจากเนื้อกระดูก (WF6 epitope) ในซีรัมลดลงจนมีระดับโดยเฉลี่ยใกล้เคียงกับสุนัขปกติ หรืออาจเป็นไปได้ว่าสารโคโตแซนโพลีซัลเฟตเองมีฤทธิ์โดยตรงในการต้าน หรือชะลอการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนโดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่สลายกระดูกอ่อน หรือสารนี้อาจมีทั้งฤทธิ์ต้านอักเสบและยับยั้งการสลายกระดูกอ่อนพร้อมกัน ซึ่งยังต้องทำการศึกษาและพิสูจน์กันต่อไป และหากสมมุติฐานนี้เป็นจริง จึงมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถพัฒนาใช้เป็นยารักษาโรคข้อเสื่อมได้ต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Chevallard M; Galanti A; Paresce E; Wolf A; Carrabba M Efficacy and tolerability of galactosamino-glycuronoglycan- sulfate in osteoarthritis of the knee: an 11-month experience. Osteoarthritis and Extra-articular Rheumatism Unit, G. Pini Orthopaedic Institute, Milan, Italy. Int J Clin Pharmacol Res 1993;13 Suppl:49-53 Unique Identifier: MEDLINE 95088053
2. Paroli E Glycosaminoglycan chondroprotection: pharmacological vistas. Institute of Pharmacology, University of Rome La Sapienza, Italy. REVIEW ARTICLE: 50 REFS. Int J Clin Pharmacol Res 1993;13 Suppl:1-9 Unique Identifier: MEDLINE 95088047
3. Todhunter RJ; Lust G Polysulfated glycosaminoglycan in the treatment of osteoarthritis. Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, NY 14853. REVIEW ARTICLE: 55 REFS. J Am Vet Med Assoc 1994 Apr 15;204(8):1245-51 Unique Identifier: MEDLINE 94284158

4. Vongchan P, Sajomsang W, Subyen D, Kongtawelert P. Anticoagulant activity of a sulfated chitosan. *Carbohydr. Res* 2002; 337: 1239-1242.
5. Brandt KD, Thonar EJ-MA :Lack of association between serum keratan sulfate concentrations and cartilage changes of osteoarthritis after transection of the anterior cruciate ligament in the dog. *Arthritis Rheum* 1989;32:647-651.
6. Pond MJ, Nuki G: Experimentally induced osteoarthritis in the dog. *Ann Rheum Dis*.1973;32:387-388.
7. Caterson, B. (1991) Immunological aspects of markers of joint disease. *J. Rheum.* 18: 19-23.
8. ศิริวรรณ องค์ไชย, ปรัชญา คงทวีเลิศ. การฉีด Hydrocortisone succinate เข้าข้อเข่าสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมทำลายกระดูกอ่อนผิวข้อของกระดูก (บทคัดย่อ). *เชียงใหม่เวชสาร* 2544; 40 (เสริม): 35
9. Sarah Saw and Magdalena Mironowicz. THE ABNORMAL JOINT (PART 2). Aviable at <http://www.worldortho.com/database/etext/joints2.html> Access; June 14, 2003.

OUTPUT ที่ได้จากโครงการ

Output ที่ได้จากโครงการ “การศึกษาความสัมพันธ์ของระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทพในซีรัมกับการเกิดโรคข้อเสื่อม เพื่อใช้เป็นสารบ่งชี้ภาวะความรุนแรงของโรค” จนถึงขณะนี้มียังต่อไป

งานวิจัยตอนที่ 1 การศึกษาระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทพในเลือดสัตว์ทดลองทั้งก่อนและหลังจากถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเสื่อมแบบเฉียบพลัน

1.การเสนอในที่ประชุมวิชาการ ผลการทดลองที่ได้จากงานวิจัยส่วนนี้ได้ถูกนำเสนอในการประชุมวิชาการ 2 ครั้ง ดังนี้

1.1) งานประชุมวิชาการวันมหิดล ครั้งที่ 25 ประจำปี 2544 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่วันที่ 24 กันยายน 2544 โดยงานวิจัยนี้ได้ชนะรางวัลในงานประกวดผลงานทางวิชาการประเภทงานวิจัยพื้นฐาน (เอกสารแนบหมายเลข 1 หน้า 40) และได้ลงตีพิมพ์บทความลงในวารสารเชียงใหม่เวชสาร (เอกสารแนบหมายเลข 2 หน้า 41-42) ดังนี้

ศิริวรรณ องค์ไชย, ปรัชญา คงทวีเลิศ. การฉีด Hydrocortisone succinate เข้าข้อเข่าสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมทำลายกระดูกอ่อนผิวข้อของกระต่าย(บทคัดย่อ). เชียงใหม่เวชสาร 2544; 40 (เสริม): 35

1.2) งานประชุมวิชาการ “ 7th World Congress of the Osteoarthritis Research Society International” เมื่อวันที่ 25-28 กันยายน 2545 ณ เมืองซินีเย ประเทศออสเตรเลีย และได้ลงตีพิมพ์บทความลงในวารสาร Osteoarthritis and Cartilage (เอกสารแนบหมายเลข 3 หน้า 43-44) ดังนี้

Ong-chai S, Pothacharoen P, Yingsung W, Sugahara K, Hardingham TE and Kongtaweert P. Changes in serum chondroitin sulfate epitopes in rabbit model of osteoarthritis induced by intra-articular hydrocortisone injection. Osteoarthritis Cartilage 2002; 10 (suppl. A):p S51

2. การผลิตบัณฑิต จากความรู้ ความชำนาญในการวิเคราะห์ระดับคอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัมสัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเสื่อมที่ได้จากงานวิจัยตอนที่หนึ่งของโครงการนี้ ได้นำไปสู่การเป็นประธานกรรมการที่ปรึกษางานวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ของนักศึกษาระดับปริญญาโท สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพ หลักสูตรนานาชาติ ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (เอกสารแนบหมายเลข 4 หน้า 45) เรื่อง “Changes in serum chondroitin sulfate epitopes and hyaluronan in normal horses and horses with osteoarthritis” โดยนักศึกษาชื่อ นางสาว ศิริพร เพียรสุขมณี รหัส 4339605 ซึ่งผลงานส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์นี้ได้ถูกนำเสนอในงานประชุมวิชาการวันมหิดล ครั้งที่ 26 ประจำปี

2545 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่วันที่ 24 กันยายน 2545 โดยงานวิจัยนี้ได้ขึ้นระวางไว้ในงานประกวดผลงานทางวิชาการประเภทงานวิจัยพื้นฐาน (เอกสารแนบหมายเลข 5 หน้า 46) และได้ลงตีพิมพ์บทความลงในวารสารเชียงใหม่เวชสาร (เอกสารแนบหมายเลข 6 หน้า 47-48) ดังนี้

ศิริพร เพียรสุขมณี, ชำนาญ ตริณรังค์, ปรัชญา คงทวีเลิศ, ศิริวรรณ องค์ไชย. การเปลี่ยนแปลงระดับไฮยาไลโรแนนและคอนตรอยตินซัลเฟตอิพิโทพในซีรัมของม้าที่ช่วงอายุต่าง ๆ และม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อม (บทความย่อ). เชียงใหม่เวชสาร 2545; 41(เสริม): 6

งานวิจัยตอนที่ 2 ผลการฉีดโคโตแซนโพลีซัลเฟตเข้ากล้ามเนื้อต่อการเปลี่ยนแปลงระดับ - คอนตรอยตินซัลเฟตอิพิโทพในซีรัมสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเสื่อม

จากข้อเสนอเดิมของโครงการตอนที่สองซึ่งเป็นการศึกษาระดับคอนตรอยตินซัลเฟตอิพิโทพในซีรัมผู้ป่วยโรคข้อเสื่อม ซึ่งต้องอาศัยความร่วมมืออย่างต่อเนื่องจากแพทย์ที่เข้าร่วมโครงการ ผู้วิจัยไม่สามารถทำได้ จึงพบปัญหาความล่าช้า และขาดความต่อเนื่อง ผู้วิจัยจึงได้รับอนุมัติให้ต่อเวลา และในที่สุดได้ปรับเปลี่ยนโครงการตอนที่สองใหม่ โดยสามารถทำการทดลองวิจัยจนเสร็จสิ้นทั้งหมดได้ตามกำหนดเวลาที่เสนอไว้ และได้ผลการทดลองที่น่าสนใจตามที่เสนอไว้ในเอกสารรายละเอียดของโครงการตอนที่สอง (หน้า 25-33)

**หมายเหตุ: เนื่องจากยังอยู่ระหว่างการยื่น deposit cell (WF6 hybridoma cell) และการยื่นเอกสารเพื่อจด patent การใช้ mAb WF6 จึงคาดว่าผลงานทั้งตอนที่หนึ่งและตอนที่สองจะสามารถส่งตีพิมพ์ในเอกสารต่างประเทศภายในปีหน้า

ภาคผนวก

บทความสำหรับการเผยแพร่ (1)

การฉีดวัคซีนลดรอยโรคเข้าสู่เป็นประจำซ้ำเดิมโรคข้อเสื่อม

ผศ.ดร.ศิริวรรณ องค์ไชย และ รศ.ดร.ปรัชญา คงทวีเลิศ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โรคข้อเสื่อม และข้อเสื่อมอักเสบเป็นโรคที่คุกคามคนทั่วโลก ไม่เลือกฐานะ เชื้อชาติ หรือผิวพรรณ โดยเฉพาะคนที่มีอายุสี่สิบปีขึ้นไปจะมีโอกาสเสี่ยงในการเป็นโรคนี้สูงขึ้น รวมถึงนักกีฬาและผู้ที่เคยมีประวัติได้รับบาดเจ็บที่เอ็นยึดบริเวณข้อเข่า ในประเทศไทยมีรายงานคนที่ป่วยเป็นโรคนี้สูงถึงประมาณร้อยละสิบเอ็ดของประชากร สาเหตุของโรคยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีลักษณะที่สำคัญคือมีการเสื่อมทำลายของกระดูกอ่อนข้อต่อต่าง ๆ ของร่างกายโดยเฉพาะสะโพกและข้อเข่า โดยทั่วไปแล้วการเสื่อมจะดำเนินไปแบบค่อยเป็นค่อยไป ในที่สุดการเสื่อมทำลายจะลุกลามไปถึงตัวกระดูก ทำให้เกิดการโค้งงอเสียรูปไม่อาจรักษาให้หายได้อย่างเดิม เป็นผลให้เกิดความพิการได้ อาการสำคัญของโรค คือการปวดขัดตามข้อ มีเสียงเวลาเคลื่อนไหวข้อ และถ้าโรคดำเนินไปมากจนกลายเป็นเรื้อรัง อาการเจ็บปวดทุกข์ทรมานอาจจะรุนแรงและมากขึ้น สามารถพบอาการอักเสบเกิดร่วมกับการเสื่อมของกระดูกได้ในบางราย เป็นผลให้เกิดการบวมของเยื่อข้อ ถ้ามีการอักเสบติดต่อกันเป็นเวลายาวนานจะยิ่งส่งเสริมให้มีการเสื่อมทำลายของกระดูกอ่อนข้อต่อเป็นไปอย่างรวดเร็วมากขึ้น

การรักษาโรคนี้อาจมีทั้งยา กินร่วมกับยาฉีดเข้าข้อซึ่งมีตัวยาให้เลือกใช้หลายชนิด การฉีดยากลุ่มสเตอรอยด์เข้าข้อ แม้จะช่วยทำให้ความทุกข์ทรมานจากอาการปวดบวมอักเสบของข้อดีขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่พบว่าการฉีดยากลุ่มนี้บ่อย ๆ จะกระตุ้นให้เกิดการเสื่อมทำลายของกระดูกอ่อนข้อต่อรุนแรงมากขึ้น แม้เรื่องนี้จะไม่ใช่ความรู้ใหม่ แต่ผลจากการทดลองฉีดสเตอรอยด์เข้าข้อกระต่ายปกติสัปดาห์ละครั้งติดต่อกันนานสิบสามสัปดาห์ยังช่วยยืนยันได้อย่างชัดเจนว่าสามารถทำให้เกิดข้อเสื่อมได้ เมื่อตรวจวิเคราะห์เลือด พบสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน (คอนครอยตินซัลเฟตชนิด WF6 epitope) ถูกทำลายหลุดออกมาในกระแสเลือดสูงขึ้นตั้งแต่เข็มแรกของการฉีดสเตอรอยด์เข้าข้อ กระต่าย และยังคงพบสารคอนครอยตินซัลเฟตชนิดนี้มีปริมาณสูงในเลือดอย่างต่อเนื่องจนสิ้นสุดเข็มสุดท้ายของการทดลอง แสดงถึงการเสื่อมทำลายของเนื้อกระดูกอ่อนอย่างต่อเนื่องตราบที่ยังมีการฉีดสเตอรอยด์เข้าข้อ ผลการทดลองนี้ยังแสดงให้เห็นอีกว่าการตรวจสารคอนครอยตินซัลเฟตในซีรัมซึ่งพัฒนาขึ้นโดยภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อาจสามารถพัฒนาเพื่อใช้เป็นสารบ่งชี้ (marker) ของโรคข้อเสื่อมได้ต่อไปในอนาคต ใช้ช่วยประกอบการตรวจวินิจฉัยร่วมกับวิธีการที่ใช้ในปัจจุบัน ทำให้อาจสามารถพบและรักษาโรคนี้ได้ตั้งแต่ระยะแรกของการเกิดโรค เพราะจนถึงปัจจุบันยังไม่มีเป็นสารบ่งชี้ ของโรคข้อเสื่อมที่เหมาะสม ต้องใช้การตรวจร่างกาย ชักประวัติร่วมกับการฉายภาพรังสี ซึ่งกว่าจะพบความผิดปกติ มักจะเป็นระยะที่มีการเสื่อมทำลายของกระดูกอ่อนอยู่ในขั้นรุนแรงแล้ว

บทความสำหรับการเผยแพร่ (2)

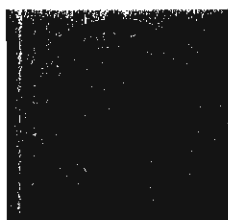
สารสกัดจากเปลือกกุ้งกับการรักษาโรคข้อเสื่อม

ผศ.ดร.ศิริวรรณ องค์ไชย และ รศ.ดร.ปรัชญา คงทวีเลิศ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โรคข้อเสื่อมเป็นโรคที่พบได้บ่อยที่สุดในจำนวนโรคข้อทั้งหลาย อาการสำคัญของโรค คือการปวดขัดตามข้อ มีเสียงเวลาเคลื่อนไหวข้อ โดยทั่วไปแล้วการเสื่อมจะดำเนินไปแบบค่อยเป็นค่อยไป ในที่สุดการเสื่อมทำลายจะลุกลามไปถึงตัวกระดูก ทำให้เกิดการโค้งงอเสียรูปไม่อาจรักษาให้หายได้อย่างเดิม เป็นผลให้เกิดความพิการได้ พบรายงานว่ามีประชากรไทยที่เป็นโรคนี้สูงถึงประมาณร้อยละ 11 ซึ่งหากคิดค่ารักษาเฉลี่ยเพียงคนละหนึ่งพันบาทต่อปี (ซึ่งต่ำกว่าความเป็นจริงมาก) จะเป็นเงินสูงถึงปีละเกือบเจ็ดพันล้านบาทที่ต้องสูญเสียไปกับการดูแลรักษาผู้ป่วยเหล่านี้ ทั้งนี้ยังไม่รวมถึงค่าเสียโอกาสในการประกอบอาชีพของผู้ป่วยเมื่อโรคกำเริบรุนแรงไปจนถึงขั้นพิการ หรือค่าใช้จ่ายและค่าเสียเวลาของญาติที่ต้องไปส่งเมื่อผู้ป่วยต้องไปพบแพทย์ ดังนั้น โดยรวมแล้วเชื่อว่าตัวเลขที่แท้จริงที่ต้องสูญเสียไปในการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคข้อเสื่อมในประเทศไทยน่าจะสูงกว่าหมื่นล้านบาทต่อปี ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นค่าตัวยาที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ

จากการทดลองที่ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบว่าสารโคโตแซนที่สกัดจากเปลือกกุ้ง เมื่อนำมาดัดแปลงโดยเติมหมู่ซัลเฟต กลายเป็นสารโคโตแซนโพลีซัลเฟต มีฤทธิ์ด้านการแข็งตัวของเลือด และยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ elastase นอกจากนั้น ยังพบว่าเมื่อฉีดสารนี้เข้ากล้ามเนื้อสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดข้อเสื่อมโดยการตัดเส้นเอ็นข้อเข่า จะส่งผลให้ช่วยลดการอักเสบของข้อเข่าของสุนัขกลุ่มนี้ และขนาดผลจากการผ่าตัดหายเร็วขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน ยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่า การฉีดสารโคโตแซนโพลีซัลเฟตเข้ากล้ามเนื้อสุนัขที่ถูกตัดเส้นเอ็นข้อเข่ายังสามารถช่วยลดระดับสารคอนครอยตินซัลเฟต (ชนิด WF6 epitope) ในซีรัมให้ต่ำลงใกล้เคียงสุนัขปกติ ซึ่งสารนี้เป็นสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน สามารถพบถูกทำลายหลุดออกมาในกระแสเลือดได้หากมีภาวะการเสื่อมสลายของเนื้อกระดูกอ่อน

ดังนั้น ผลการทดลองนี้จึงแสดงให้เห็นแนวโน้มว่าสารโคโตแซนโพลีซัลเฟตอาจมีศักยภาพในการช่วยชะลอการเสื่อมทำลายของกระดูกอ่อนข้อต่อ เนื่องจากสามารถช่วยลดการอักเสบของข้อเข่าสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดข้อเสื่อมโดยการตัดเส้นเอ็นข้อเข่าได้ ส่งผลให้การเสื่อมทำลายของเนื้อกระดูกอ่อนลดลง จึงตรวจพบระดับชิ้นส่วนคอนครอยตินซัลเฟตที่ถูกสลายจากเนื้อกระดูกมาในซีรัมลดลงจนมีระดับโดยเฉลี่ยใกล้เคียงกับสุนัขปกติ ทำให้มีความเป็นไปได้ที่จะสามารถพัฒนาใช้เป็นยารักษาโรคข้อเสื่อมราคาข่อมเยาได้ต่อไปในอนาคต เนื่องจากสามารถผลิตได้จากเปลือกกุ้งซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งในอุตสาหกรรมผลิตและส่งออกกุ้งของประเทศเรา



เชียงใหม่เวชสาร

CHIANG MAI MEDICAL BULLETIN

กำหนดการและบทคัดย่อ

การประชุมวิชาการวันมหิดล ครั้งที่ 25

24 กันยายน 2544

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract Supplement
25th Annual Scientific Meeting on Mahidol's Day

24 September 2001
Faculty of Medicine, Chiang Mai University

ISSN 0125-5983

ปีที่ 40 ฉบับเสริม

กันยายน 2544

การฉีด HYDROCORTISONE SUCCINATE เข้าข้อเข่าสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมทำลายกระดูกอ่อนผิวข้อของกระดูก

ศิริวรรณ องค์ไวย, ปรัชญา คงทวีเลิศ

ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทนำ Hydrocortisone succinate (HCS) เป็นยาในกลุ่มสเตอรอยด์ที่ใช้ในการรักษาโรคข้อและกระดูกบางชนิด เช่น โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ มีรายงานผลข้างเคียงของยาในกลุ่มนี้ในการยับยั้งการสังเคราะห์สารชีวโมเลกุลสำคัญของกระดูกอ่อนผิวข้อเช่นคอนครอยตินซัลเฟต โปรตีโอไกลัยแคน (CSPG) และฮัยอะลูโรแนน (HA) การใช้ยานี้เป็นประจำจึงอาจส่งผลให้เสียสมดุลชีวเคมีของกระดูกอ่อนผิวข้อจนเป็นสาเหตุของโรคข้อเข่าเสื่อมในที่สุด

วิธีการ ฉีด hydrocortisone succinate (Solu-Cortef®; 25 mg in NSS 0.2 mL /knee) เข้าข้อเข่าหลังทั้งสองข้าง (intra-articular injection) ของกระดูกกลุ่มแรก (7 ตัว) สัปดาห์ละครั้ง เป็นเวลา 13 สัปดาห์ ในกลุ่มที่สอง (กลุ่มควบคุม; 5 ตัว) ฉีดข้อเข่าหลังทั้งสองข้างทุกสัปดาห์ด้วยน้ำเกลือ เก็บเลือดกระดูกทั้งสองกลุ่มสัปดาห์ละครั้งติดต่อกันนาน 13 สัปดาห์ จากนั้นจึงผ่ากระดูกเพื่อนำกระดูกข้อเข่ามาตรวจการเปลี่ยนแปลงของกระดูกอ่อนผิวข้อ รวมทั้งหาปริมาณ hexuronic acid ส่วนซีรัมกระดูกนำไปวิเคราะห์หาคอนครอยตินซัลเฟตด้วยวิธี ELISA โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ CSPG คือ 3B3 และ WF6

ผลการศึกษา กระดูกอ่อนจากข้อเข่ากระดูกกลุ่มที่ฉีดด้วย HCS มีลักษณะขรุขระและเนื้อกระดูกอ่อนบางลง และปริมาณ hexuronic acid ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของโมเลกุล CSPG และ HA ในกระดูกอ่อน ($0.955 \pm 0.097 \mu\text{g}/\text{mg dry weight}$) ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($1.161 \pm 0.032 \mu\text{g}/\text{mg dry weight}$) การศึกษาระดับ CSPG ในซีรัม พบว่ากระดูกกลุ่มที่ฉีดด้วย HCS มีระดับ CSPG ชนิดที่เซลล์กระดูกอ่อนสังเคราะห์ขึ้นใหม่ เมื่อตรวจวัดโดย 3B3 ลดลงเฉลี่ยประมาณร้อยละ 50 แต่กลับพบการเพิ่มขึ้นของ CSPG ที่เสื่อมทำลายจากเนื้อกระดูกอ่อน จากการตรวจวัดโดย WF6 เฉลี่ยประมาณร้อยละ 50-100 ภายในหนึ่งสัปดาห์หลังจากการฉีดครั้งแรกจนสิ้นสุดการทดลอง

สรุป การฉีดยา HCS เข้าข้อเป็นประจำ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมทำลายของกระดูกอ่อนผิวข้อ โดยนอกจากจะสามารถกดการสังเคราะห์ CSPG แล้ว ยังสามารถกระตุ้นการทำลายสารดังกล่าวจากเนื้อกระดูกอ่อนผิวข้อจนทำให้เกิดการเสื่อมทำลายของกระดูกอ่อนผิวข้อในที่สุด

ทุนสนับสนุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)

Volume 101 Supplement 3

7th World Congress of the
OsteoArthritis Research Society
International

25-28 September 2002
Sydney, Australia



Osteoarthritis and Cartilage



International
Cartilage Repair
Society

OARSI OSTEOARTHRITIS
RESEARCH SOCIETY
INTERNATIONAL



Editor-in-Chief:
R D Altman
Miami, USA

Associate Editors:
M C Hochberg, USA
E Hunziker, Switzerland
S A Jimenez, USA
V C Mow, USA
J-P Pelletier, Canada
E P Vignori, France



PS95**CHANGES IN SERUM CHONDROITIN SULFATE EPITOPES IN A RABBIT MODEL OF OSTEOARTHRITIS INDUCED BY INTRA-ARTICULAR HYDROCORTISONE INJECTION**

Ong-chai S*, Pothacharoen P*, Yingsung W*, Sugahara K**,
Hardingham TE** and Kongtawelert P*

* *Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand. 50200.*

** *Department of Biochemistry, Kobe Pharmaceutical University, Higashinada-ku, Kobe, 658-8558, Japan.*

*** *School of Biological Sciences, University of Manchester, Manchester M13 9PT, UK.*

Objective: To study changes of serum chondroitin sulfate epitopes using novel monoclonal antibodies in a rabbit model of osteoarthritis induced by intra-articular hydrocortisone injection.

Methods: Mature female rabbits (n=7) were given intra-articular knee injection with hydrocortisone succinate (Solu-Cortef® 25 mg

in 0.2 ml NSS) once a week for 13 weeks under sterile condition. The control group rabbits (n=5) were injected similarly with 0.2 ml NSS into both knee joints. All rabbits were bled from the ear at weekly intervals. One week after the 13th injection, all animals were sacrificed and the treated joints were collected. Chondroitin sulfate in all serum samples was quantified by ELISA technique using monoclonal antibodies (mAbs), which recognize epitopes (niAb 3B3) on newly synthesised chondroitin sulfate chains and (mAb WF6) on mature chondroitin sulfate chains.

Results: The repeated injection of hydrocortisone succinate into rabbit knee joints for 13 weeks induced a mild cartilage degeneration. The ELISA assays for chondroitin sulfate epitopes in serum showed that in the hydrocortisone treated group there was a marked increase in the release of WF6 chondroitin sulfate epitope into circulating blood one week after the first injection and this persisted throughout the treatment. In contrast, 3B3 chondroitin sulfate epitope in this group dramatically decreased during the treatment period in comparison with the saline control group.

Conclusion: These results showed that the analysis of CS-epitopes in serum detected the cartilage degeneration caused by repeated intra-articular hydrocortisone injection. The results suggested that there was a potentially harmful inhibition of chondroitin sulfate proteoglycan synthesis, combined with an increased release of degradation products of chondroitin sulfate proteoglycan from articular cartilage.

Acknowledgement: This study is supported by European Commission and the Thailand Research Fund (TRF).



เอกสารแนบหมายเลข 4

คำสั่งบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ที่ 189 / 2545

เรื่อง เปลี่ยนแปลงคณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ นักศึกษาปริญญาโท
หลักสูตรนานาชาติ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ

ตามคำสั่งบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ 88 / 2544 เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ นักศึกษาปริญญาโท หลักสูตรนานาชาติ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ ลงวันที่ 30 มีนาคม 2544 ความดังแจ้งแล้วนั้น

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 24 แห่งพระราชบัญญัติมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พ.ศ. 2530 ความในข้อ 16 (16.2) ของข้อบังคับมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ว่าด้วยการศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษา พ.ศ. 2543 และประกาศบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ฉบับที่ 25/2543 ลงวันที่ 6 ตุลาคม พ.ศ. 2543 เรื่อง การทำวิทยานิพนธ์ของนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ หลักสูตรนานาชาติ พิจารณาแล้วเห็นสมควรเปลี่ยนแปลงและแต่งตั้งคณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ นักศึกษาปริญญาโท แผน ก แบบ ก(1) ดังนี้

ชื่อ - สกุล / รหัสประจำตัว / ชื่อเรื่อง	ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาและคณะกรรมการ
1. Mrs. Sisavath Manivong รหัสประจำตัว 4239601 ชื่อเรื่อง : The Prevalence and Risk Factor for HIV Infection among Lao Migrants Working Periodically in Thailand	ผศ. วินัย สุริยานนท์ ประธานกรรมการ อ. ดร. นันทิพย์ ศรีรักษ์ กรรมการ อ. ดร. สุรินทร์ดา กาวชัย กรรมการ Dr. Chirs Beyrer กรรมการ
2. นางสาวศิริพร เพียรสุขมณี รหัสประจำตัว 4339605 ชื่อเรื่อง : Changes in serum chondroitin sulfate epitopes and hyaluronan in normal horses and horses with osteoarthritis	อ. ดร. ศิริวรรณ องค์ไชย ประธานกรรมการ ผศ. ดร. ปรัชญา คงทวีเลิศ กรรมการ

ทั้งนี้ ตั้งแต่บัดนี้เป็นต้นไป

สั่ง ณ วันที่ 29 พฤษภาคม พ.ศ. 2545

(ศาสตราจารย์ธีระ ศิริสันธนะ)

ประธานกรรมการบริหารหลักสูตรบัณฑิตศึกษา

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ

เกียรติบัตรฉบับนี้ให้ไว้เพื่อแสดงว่า

นางสาวศิริพร เพียรอุษมณี

ได้รับรางวัลประเภท ดี

การประกวดผลงานทางวิชาการประเภทโปสเตอร์การวิจัยพื้นฐาน

การประชุมวิชาการวันมหิดล ครั้งที่ 26 ประจำปี พ.ศ. 2545

ณ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ให้ไว้ ณ วันที่ 24 กันยายน 2545

๕๕

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงศิวพร จันทร์กระจ่าง)
ประธานคณะกรรมการดำเนินงานวันมหิดล



(รองศาสตราจารย์ นวนแพนปิยะ เนตรวิเชียร)
คณบดีคณะแพทยศาสตร์



เชียงใหม่เวชสาร

CHIANG MAI MEDICAL BULLETIN

ปีที่ 41 ฉบับที่ 3 (เสริม) กันยายน 2545

VOL.41 NO.3 (Suppl) SEPTEMBER 2002

กำหนดการและบทคัดย่อ

การประชุมวิชาการวันมหิดล ครั้งที่ 26

24 กันยายน 2545

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract Supplement
26th Annual Scientific Meeting on Mahidol's Day

24 September 2002
Faculty of Medicine, Chiang Mai University

ISSN 0125-5983

การเปลี่ยนแปลงระดับไฮยาโลโรแนน และคอนครอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมของม้าที่ช่วงอายุต่างๆ และม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อม

ศิริพร เพียรสุขมณี,¹ ชำนาญ ตรีณรงค์,¹ ปรัชญา คงทวีเลิศ,² ศิริวรรณ องค์ไชย²

¹สาขาวิชาคลินิกม้า คณะสัตวแพทยศาสตร์, ²ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทนำ การวินิจฉัยโรคข้อเสื่อมในม้าในระยะเริ่มต้นทำได้ยากเนื่องจากพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นกับกระดูกอ่อนข้อต่อมีความสัมพันธ์กับอาการที่ม้าจะแสดงออกน้อยมาก ดังนั้นการวัดปริมาณสารชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบของกระดูกอ่อนข้อต่อที่สลายออกมาในซีรัมเมื่อเกิดโรคข้อเสื่อม เช่น ไฮยาโลโรแนน (HA) และคอนครอยตินซัลเฟต (CS) จึงอาจเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการช่วยวินิจฉัยโรคข้อเสื่อมได้

วิธีการศึกษา ได้ตรวจวัดปริมาณของ HA และ CS ในซีรัมของม้าด้วยวิธี ELISA ซึ่งการตรวจ CS ได้ใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี (mAb) สองชนิดคือ mAb 3B3 และ mAb WF6 โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารดังกล่าวในซีรัมของม้าที่ช่วงอายุต่างๆ ตั้งแต่แรกเกิดจนถึงอายุ 25 ปี จำนวน 149 ตัว รวมทั้งยังได้ศึกษาระดับสาร HA และ CS ในซีรัมม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมจำนวน 23 ตัว เปรียบเทียบกับม้าที่ไม่เป็นโรคข้อเสื่อมจำนวน 54 ตัว

ผลการศึกษา และวิจารณ์ พบว่าอิพิโทปบนสาย CS สร้างใหม่ซึ่งจดจำได้โดย mAb 3B3 มีปริมาณสูงในซีรัมของม้าที่อายุน้อย และลดต่ำลงเมื่ออายุมากกว่า 2 ปี แสดงให้เห็นว่า 3B3 อิพิโทปในซีรัมมีแนวโน้มสูงขึ้นในภาวะที่กระดูกอ่อนมีอัตราการสังเคราะห์สูงเช่นในสัตว์ที่กำลังเจริญเติบโต ส่วน WF6 อิพิโทปซึ่งอยู่บนสาย CS ในกระดูกอ่อนข้อต่อทั่วไปไม่พบว่ามีเปลี่ยนแปลงตามอายุ เมื่อทำการศึกษาในม้าเป็นโรคข้อเสื่อม พบว่า WF6 อิพิโทปในซีรัมมีปริมาณสูงขึ้น (2302.3 ± 1026.8 ng/mL) เมื่อเทียบกับม้าที่ไม่เป็นโรค (1288.6 ± 690.7 ng/mL) แสดงถึงภาวะการทำลายทำลายที่สูงขึ้นของ CS จากกระดูกอ่อนในขณะที่ 3B3 อิพิโทปกลับมีปริมาณลดลง (35.7 ± 36.6 ng/mL) ซึ่งแสดงถึงการลดลงของอัตราการสังเคราะห์สาย CS เมื่อเทียบกับม้าที่ไม่เป็นโรค (103.3 ± 90.0 ng/mL) แสดงว่ากระดูกอ่อนข้อต่อของม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมกลุ่มนี้มีอัตราการเสื่อมทำลายของเนื้อเยื่อมากกว่าการสังเคราะห์ซ่อมแซม ส่วนปริมาณ HA ไม่พบว่ามีเปลี่ยนแปลงในซีรัมม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมเมื่อเทียบกับม้าที่ไม่เป็นโรค ดังนั้น CS อิพิโทปทั้งสองชนิดจากการศึกษาครั้งนี้จึงอาจใช้เป็นสารบ่งชี้ (marker) ที่ดีสำหรับช่วยการตรวจวินิจฉัยโรคข้อเสื่อมได้ต่อไปในอนาคต

แหล่งทุนสนับสนุนงานวิจัย ทุนพัฒนาอาจารย์ ทบวงมหาวิทยาลัย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)