

## APPENDIX A

## Preparation and reagents

## 1. Coating buffer

20 mM Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	1.0599	g
---------------------------------------	--------	---

in 250 ml of distilled water adjusted pH 9.6 and made up volume to 500 ml. Stored at 4°C.

## 2. Phosphate buffer saline (PBS) 1X, 1L

NaCl	8	g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.23	g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.15	g
KCl	0.20	g

All reagents were dissolved in distilled water and made up to 1L. Stored at room temperature.

## 3. Tris-Incubating Buffer (Tris-IB) 1X, 1L

Tris-HCl	1.21	g
NaCl	8.77	g

All reagents were dissolved in 500 ml of distilled water adjusted pH 7.4 and made up volume to 1L. Then added

BSA	1	g
Tween 20	1	ml

Mix all well. Stored at 4°C.

## 4. 1% Bovine Serum Albumin (BSA)

0.34 g BSA + 34 ml Tris-IB (for 2 plates)

## 5. Conjugate Anti-IgM conjugated peroxidase

Anti-IgM 12  $\mu$ l + Tris-IB (0.1% BSA) 24 ml (for 2 plates)

## 6. Citric Phosphate Buffer (pH 5.0), 500 ml

Citric acid monohydrate ( $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ) 5.15 g $Na_2HPO_4 \cdot 3H_2O$  9.08 g

All reagents were dissolved in 250 ml of distilled water adjusted pH 5.0 and made up volume to 500 ml. Stored at 4°C.

## 7. Substrate

o-phenylene-diamine (OPD) 0.009 g

Citric phosphate buffer 12 ml

30%  $H_2O_2$  7  $\mu$ l

Prepare reagent fresh for 1 plate. Keep in dark before use.

8. 4M  $H_2SO_4$ Conc.  $H_2SO_4$  23 ml

Distilled water 77 ml

## APPENDIX B

Table Individual information of arthritic and OC horses

OPD No.	Age (y)	Occupation	Period of illness	Radiographic finding	WF6 epitope concentration	Commentary
AR 01	4	Racing	NC	SW	429.24	
AR 02	4.5	Racing	NC	SW	444.97	
AR 03	3.5	Racing	NC	SW	415.98	
AR 04	4	Racing	NC	SW	350.26	
AR 05	4	Racing	NC	SW	722.44	
AR 06	8	Racing	> 1 y	SW	328.74	Intermittent
OC 01	8	Racing	2 w	C, BP	250.03	
OC 02	6	Racing	4 d	C, O	426.15	
OC 03	3.7	Racing	3 m	C	103.83	
OC 04	3	Racing	NC	C	238.06	
OC 05	3.5	Racing	NC	C	131.13	
OC 06	3	Racing	NC	C	2,603.20	WF6>normal
OC 07	3.5	Racing	3 w	C, O, BP	1,746.00	WF6>normal
OC 08	4	Racing	2 w	C	632.37	
OC 09	9	Racing	1 m	C, O	763.19	
OC 10	3	Racing	1 w	C	1,381.80	WF6>normal
OC 11	4	Racing	NC	C, O	2,039.30	WF6>normal
OC 12	4	Racing	NC	C	369.02	

AR = arthritic horse, OC = horse with osteochondral fracture

NC = not known clearly, d = day, w = week, m = month, y = year

SW = soft tissue swelling, C = chip fragment, O = osteophyte, BP = bone proliferation

Table Individual information of OA horses

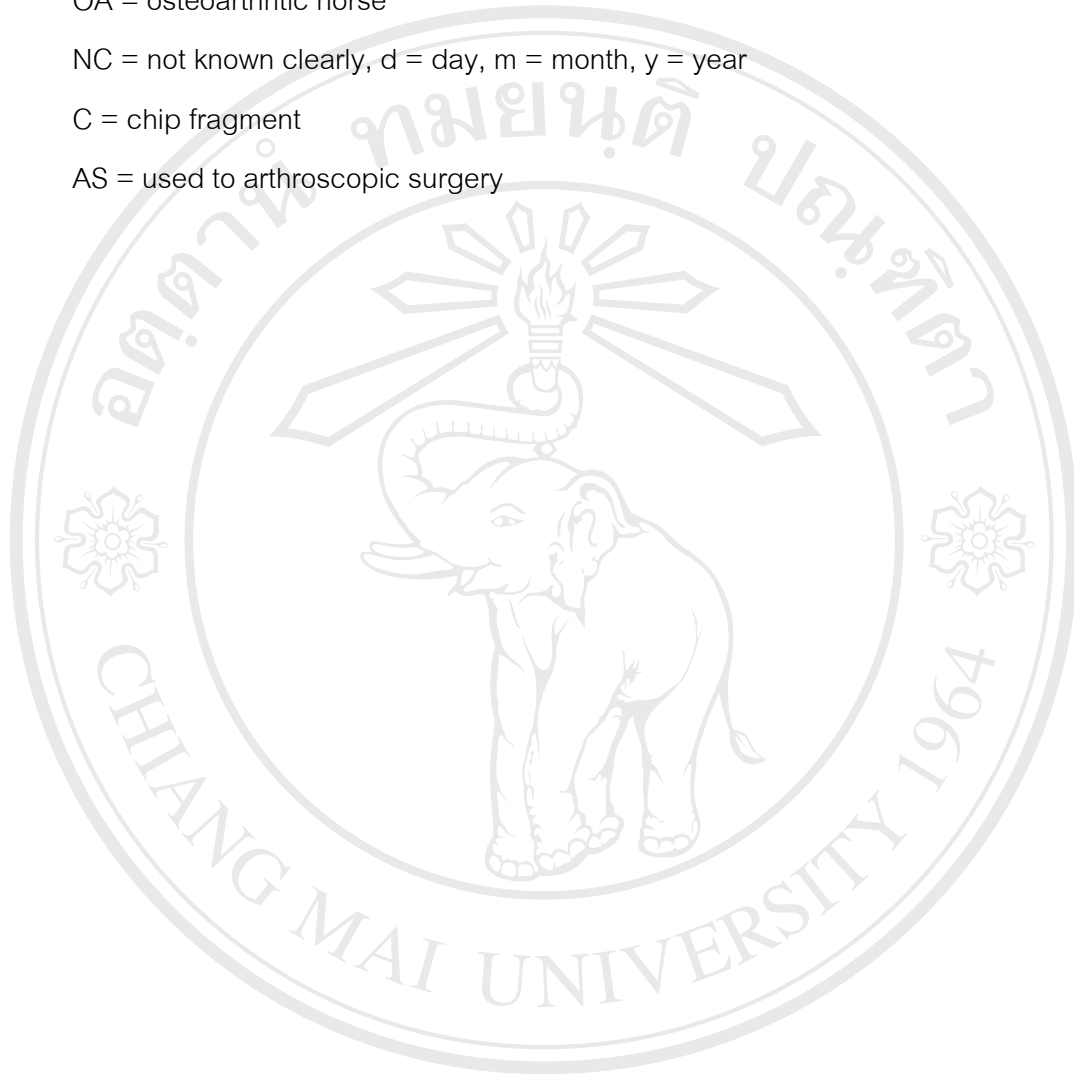
OPD No.	Age (y)	Occupation	Period of illness	Stage of disease	WF6 epitope concentration	Commentary
OA 01	4	Racing	6 m	Early	145.49	
OA 02	8	Riding	6 m	Early	225.59	
OA 03	5	Racing	NC	Early	265.91	
OA 04	3	Racing	NC	Early	1,094.10	
OA 05	4	Racing	> 1 y	Early	391.23	
OA 06	9	Riding	4 m	Early	1,602.80	WF6>normal
OA 07	7	Racing	1 y	Advance	847.42	AS
OA 08	5	Racing	> 1 y	Advance	1,169.75	WF6>normal
OA 09	4	Racing	1.2 y	Advance	1,100.90	
OA 10	5	Racing	> 1 y	Advance	6,730.25	WF6>normal
OA 11	4	Racing	> 1 y	Advance	1,651.65	WF6>normal
OA 12	3.10	Racing	5 d	Advance	87.82	+ non displace C
OA 13	6	Racing	NC	Advance	164.78	
OA 14	6	Racing	3 y	Advance	1,196.05	WF6>normal
OA 15	5	Racing	> 2 y	Advance	1,301.90	WF6>normal
OA 16	6	Racing	NC	Advance	1,589.20	WF6>normal
OA 17	4	Racing	NC	Early	438.95	
OA 18	5	Racing	NC	Advance	309.65	AS
OA 19	4	Racing	NC	Advance	291.78	AS
OA 20	6	Racing	NC	Advance	130.94	
OA 21	7	Racing	NC	Advance	421.68	
OA 22	6	Racing	NC	Advance	934.79	
OA 23	7	Racing	NC	Advance	583.06	
OA 24	5	Racing	NC	Early	1,475.10	WF6>normal

OA = osteoarthritic horse

NC = not known clearly, d = day, m = month, y = year

C = chip fragment

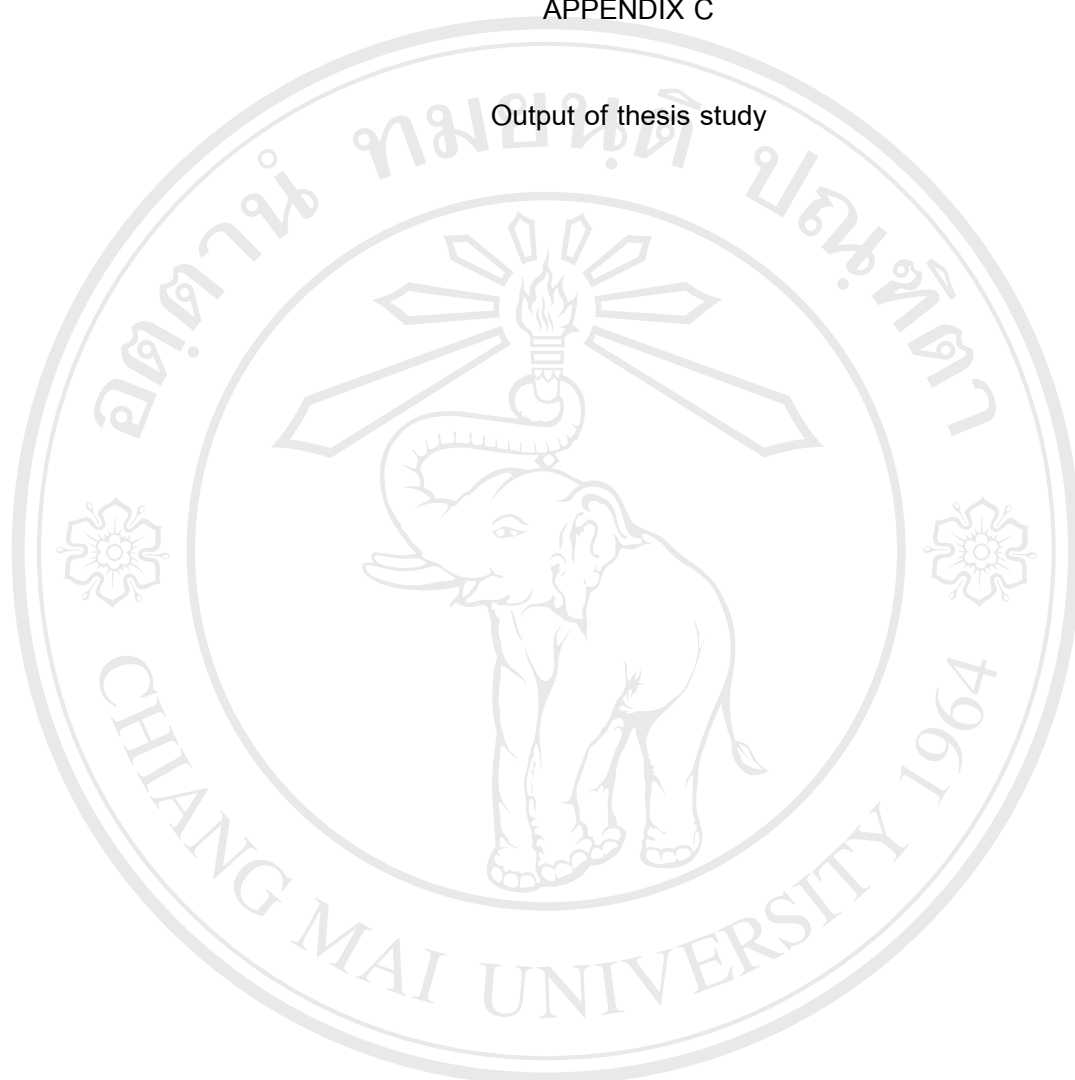
AS = used to arthroscopic surgery



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

APPENDIX C

Output of thesis study



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

**บันทึกข้อความ**

ส่วนราชการ งานห้องสมุดและศูนย์สารสนเทศทางสัตวแพทย์ โทร. 8025

ที่ ศร 0515(026).14/ 079

วันที่ 9 พฤษภาคม 2549

เรื่อง **ตอบรับบทความ**

---

เรียน **อาจารย์ สัตวแพทย์หญิง ศิววรรณ ตั้งยืนยง**

กองบรรณาธิการ "เชียงใหม่สัตวแพทยสาร" ได้รับบทความเรื่อง "การเปรียบเทียบระดับคอนครอยตินซัลเฟตอิทธิโทปในซีรัมของม้าปกติกับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น หรือภาวะข้อเสื่อม" ที่ท่านส่งมาเพื่อพิจารณานำลงพิมพ์ใน "เชียงใหม่สัตวแพทยสาร" แล้ว ด้วยความขอบคุณยิ่ง

ทางกองบรรณาธิการคาดว่าจะพิจารณานำบทความของท่านลงตีพิมพ์ใน "เชียงใหม่สัตวแพทยสาร" ปีที่ 4 ฉบับที่ 2 ตุลาคม 2549 ขณะนี้กำลังอยู่ระหว่างดำเนินการให้ผู้ทรงคุณวุฒิตรวจ (Peer Review) บทความของท่านอยู่ ซึ่งกองบรรณาธิการจะแจ้งผลการตรวจให้ท่านทราบต่อไป

จึงเรียนมาเพื่อทราบ

(นางนวลลออ จุฑูปาสาน์)

บรรณาธิการ "เชียงใหม่สัตวแพทยสาร"

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

กองบรรณาธิการ "เชียงใหม่สัตวแพทยสาร"

งานห้องสมุดและศูนย์สารสนเทศทางสัตวแพทย์

โทรศัพท์ 0 5394 8025, 0 5394 8030 โทรสาร 0 5394 8025

ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ : [nounlaor@lib.cmu.ac.th](mailto:nounlaor@lib.cmu.ac.th)

การเปรียบเทียบระดับคอนตรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมของม้าปกติกับม้าที่มีภาวะ  
ข้ออักเสบ ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น หรือภาวะข้อเสื่อม

ศิริวรรณ ตั้งยืนยง,<sup>1</sup> ภาวิน ผดุงทศ,<sup>2</sup> รัชนิวรรณ ศรีหิรัญรัตน์,<sup>3</sup> ศิริวรรณ องค์ไชย<sup>3</sup>

<sup>1</sup>บัณฑิตวิทยาลัย, <sup>2</sup>สาขาวิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์,

<sup>3</sup> หน่วยวิจัยที่มีความเป็นเลิศทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อแห่งประเทศไทย

ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**บทคัดย่อ** การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบระดับคอนตรอยตินซัลเฟตอิพิโทปชนิด WF6 (WF6 epitope) ในซีรัมของม้าปกติกับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น หรือภาวะข้อเสื่อม และเปรียบเทียบระดับคอนตรอยตินซัลเฟตอิพิโทปชนิด WF6 ในซีรัมของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นระหว่างก่อนและหลังทำการรักษาด้วยการผ่าตัดส่องกล้อง ทำการเก็บตัวอย่างซีรัมจากม้า อายุ 2-9 ปี ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ นครราชสีมา สระบุรีและขอนแก่น เป็นกลุ่มม้าปกติ 50 ตัว ม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ 6 ตัว ม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น 12 ตัวและกลุ่มม้าที่มีภาวะข้อเสื่อม 24 ตัว นำตัวอย่างมาตรวจค่าโลหิตวิทยา ค่าเคมีคลินิกและวัดปริมาณของ WF6 epitope ด้วย competitive inhibition ELISA ผลการศึกษาพบว่า ม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น และม้าที่มีภาวะข้อเสื่อม มีความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ในซีรัมต่ำกว่าในม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อควบคุมอายุและสายพันธุ์ของม้าในการเปรียบเทียบ และพบว่าการเจ็บป่วยรวมทั้งการใช้งานในม้ามีความสัมพันธ์กับความเข้มข้น WF6 epitope ในซีรัมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) การเปรียบเทียบระดับ WF6 epitope ในซีรัมของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นระหว่างก่อนและหลังทำการรักษาด้วยการผ่าตัดส่องกล้องพบว่าความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ณ สัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 หลังการรักษา ตามลำดับ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับคอนตรอยตินซัลเฟตในซีรัมมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคข้อ ดังนั้น WF6 epitope อาจเป็น biological marker ที่ใช้สำหรับบ่งชี้ถึงขบวนการทำลายกระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อและอาจใช้เพื่อวินิจฉัยหรือติดตามการรักษาโรคข้อในม้าได้

**คำสำคัญ:** ม้า, คอนตรอยตินซัลเฟต, ภาวะข้ออักเสบ, ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น, ภาวะข้อเสื่อม



A COMPARISON OF SERUM CHONDROITIN SULFATE EPIOTOPE LEVEL BETWEEN  
NORMAL HORSES AND HORSES WITH ARTHRITIS, OSTEOCHONDRAL (CHIP)  
FRACTURE OR OSTEOARTHRITIS

Siriwan Tungyuenyong,<sup>1</sup> Pawin Padungtod,<sup>2</sup> Ratchaneewan Srihirunrat,<sup>3</sup>  
Siriwan Ong-Chai<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduate School, <sup>2</sup>Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary  
Medicine, <sup>3</sup>Thailand Excellent Center for Tissue Engineering, Department of  
Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University

---

**Abstract** The purposes of this study was to compare the level of chondroitin sulfate epitope (WF6 epitope) in serum between normal horses and horses with arthritis, osteochondral (chip) fracture (OC) or osteoarthritis (OA) and to compare the level of chondroitin sulfate epitope (WF6 epitope) in serum of horses with osteochondral (chip) fracture prior to and after treatment by arthroscopic surgery. Serum samples were collected from horses age 2 to 9 years old in Chiang Mai, Nakornratchasima, Saraburi and Khonkhaen. Fifty clinically normal horses, 6 horses with arthritis, 12 horses with OC and 24 horses with OA were used. Laboratory tests included complete blood count, blood chemistry. Concentrations of WF6 epitope were measured by competitive inhibition ELISA. The results showed that horses with arthritis, OC or OA had significantly lower median serum WF6 epitope concentration than clinically normal horses ( $p < 0.05$ ) controlling for age and breed. There was significant relationship between WF6 epitope concentration and diseased or working status ( $p < 0.05$ ). The comparison of serum WF6 epitope concentration in horse with OC prior to and after treatment by arthroscopic surgery showed gradual increased after treatment from week 4, 8 to 12. The results from this study demonstrated that the level of serum chondroitin sulfate was associated with joint disease. Therefore, WF6 epitope may be used as biological marker to indicate articular cartilage degradation and used for diagnosis or monitoring of treatment in equine joint disease.

**Keywords:** Horses, Chondroitin sulfate, Arthritis, Osteochondral fracture, Osteoarthritis

---

## บทนำ

โรคข้อต่อ (joint disease) เป็นสาเหตุที่พบบ่อยในม้า ทำให้ม้ามีอาการขาอะแปลกและเป็นสาเหตุหลักประการหนึ่งที่ทำให้ม้าไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ<sup>(1-2)</sup> รวมทั้งยังก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจต่อเจ้าของม้าเป็นอย่างมาก การบาดเจ็บของข้อต่อ (traumatic joint injury) มักเกิดกับข้อต่อที่มีการเคลื่อนไหว โดยมีกลุ่มอาการ เช่น ภาวะข้ออักเสบ (arthritis), เยื่อหุ้มข้ออักเสบ (synovitis), ถุงหุ้มข้ออักเสบ (capsulitis), กระดูกแตก (bone fracture) และข้อเสื่อม (osteoarthritis, OA)<sup>(3)</sup> ซึ่งเกิดจากการที่ข้อต่อและเนื้อเยื่อบริเวณใกล้เคียงได้รับบาดเจ็บจากแรงกระทบกระแทกในกรการใช้งาน จากการศึกษาพบว่าม้าแข่งพันธุ์โทโรเบรดมักได้รับบาดเจ็บที่ขาหน้าถึง 80%<sup>(4)</sup> และพบว่า 90% ของการได้รับบาดเจ็บเกิดจากมีการแตกของกระดูกในขาหน้า โดยพบการแตกของกระดูกลูกกรอก (proximal sesamoid bones) และกระดูกหน้าแข้ง (3<sup>rd</sup> metacarpus) บ่อยที่สุด<sup>(5)</sup> ส่วนการศึกษาในม้ากีฬาพบว่าร้อยละ 44.8 ที่ม้าเสียชีวิตหรือถูกคัตทิ้งมีสาเหตุมาจากปัญหาโรคข้อเสื่อมและร้อยละ 16.5 เกิดจากการแตกของกระดูก<sup>(6)</sup> เมื่อข้อต่อได้รับบาดเจ็บจนมีการแตกของกระดูกและกระดูกอ่อน (osteochondral fracture, OC) ทำให้มีชิ้นส่วนของกระดูกและกระดูกอ่อนที่แตกอยู่ภายในข้อต่อ (chip fragment) ซึ่งจะไปเสียดสีกับเยื่อหุ้มข้อโดยตรง ส่งผลให้มีขบวนการอักเสบเกิดขึ้น โดยเซลล์เยื่อหุ้มข้อ (synoviocyte) จะหลั่งสารสื่ออักเสบ (destructive inflammatory mediators) และเอนไซม์ (catabolic enzymes) เข้าสู่ไขข้อ (synovial fluid) เป็นผลให้กระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อ (articular cartilage) ถูกทำลาย จนในที่สุดเกิดภาวะข้อเสื่อมตามมา<sup>(7)</sup> ปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยโรคข้อเสื่อมในม้าสามารถทำได้หลายวิธี เช่นการตรวจวินิจฉัยขั้นพื้นฐาน ได้แก่ การตรวจร่างกายทางกายภาพ (physical examination), การถ่ายภาพทางรังสี (radiography) หรือการใช้วิธีการตรวจวินิจฉัยในขั้นที่สูงขึ้น ได้แก่ nuclear scintigraphy, magnetic resonance imaging (MRI) ซึ่งแม้ว่าจะให้ข้อมูลช่วยในการวินิจฉัยได้มากกว่า แต่มีค่าใช้จ่ายสูง และยังไม่เป็นที่แพร่หลายในการตรวจวินิจฉัยโรคข้อของม้าในประเทศไทย โดยทั่วไปจะอาศัยการตรวจร่างกายทางกายภาพรวมกับการถ่ายภาพทางรังสี ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก ค่าใช้จ่ายไม่สูงแต่มีความไวต่ำโดยเฉพาะการตรวจวินิจฉัยภาวะข้อเสื่อมในระยะเริ่มแรก มีการศึกษาพบว่า การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของโรคข้อเสื่อมไม่มีความสัมพันธ์กับอาการทางคลินิก<sup>(8)</sup> และการตรวจวินิจฉัยด้วยการถ่ายภาพทางรังสีเอกซ์ จะสามารถบ่งชี้ถึงความผิดปกติภายในข้อต่อได้ก็ต่อเมื่อขบวนการของโรคและพยาธิสภาพได้มีการดำเนินไปมากจนยากที่จะทำการรักษาให้กลับมามีสภาพเดิมได้<sup>(9)</sup> ดังนั้นนักวิจัยจึงพยายามที่จะหาสารบ่งชี้ทางชีวภาพ (biological markers) ซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุลที่สามารถบ่งบอกถึงพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นภายในข้อต่อของม้าได้ โดยนำมาใช้ร่วมกับการตรวจวินิจฉัยทางกายภาพและการถ่ายภาพทางรังสี เพื่อ

สามารถวินิจฉัยโรคข้อในม้าได้รวดเร็วและแม่นยำมากขึ้น รวมทั้งนำไปใช้ติดตามการรักษา หรือ งานทดลองที่เกี่ยวกับยาหรือวิธีการรักษาโรคข้อ เพื่อวางแผนป้องกันการเกิดโรคข้อเสื่อมในอนาคต

กระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อ เป็นกระดูกอ่อนชนิดไฮยาลิน (Hyaline cartilage) มีองค์ประกอบคือ เซลล์ (chondrocyte) และเนื้อกระดูกอ่อน (extracellular matrix) ซึ่งประกอบไปด้วยโปรตีโอไกลัยแคน (proteoglycan), เส้นใยคอลลาเจน (collagen fiber) และกลัยโคโปรตีน (glycoprotein) ต่างๆ คอนดรอยตินซัลเฟต (chondroitin sulfate, CS) เป็นกลัยโคซามิโนกลัยแคน (glycosaminoglycan, GAG) ที่สำคัญและมีอยู่มากที่สุดในเนื้อกระดูกอ่อน โดยสายคอนดรอยตินซัลเฟตจะสร้างพันธะโควาเลนต์เกาะกับแกนโปรตีน (core protein) ของโปรตีโอไกลัยแคนซึ่งจับอยู่กับไฮยาลูโรแนน<sup>(10)</sup> เมื่อม้ามามีภาวะข้ออักเสบหรือข้อเสื่อมเกิดขึ้น คอนดรอยตินซัลเฟตจะถูกทำลาย และหลุดออกจากเนื้อกระดูกอ่อนเข้าสู่น้ำไขข้อ หลังจากนั้นจะดูดซึมเข้าสู่ระบบหมุนเวียนเลือด และถูกกำจัดลงที่ตับในที่สุด ดังนั้นจึงสามารถตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของคอนดรอยตินซัลเฟตทั้งในเนื้อกระดูกอ่อน น้ำไขข้อและในซีรัม เพื่อศึกษาเมตาบอลิซึม (cartilage metabolism) และพยาธิสภาพของกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อได้<sup>(11)</sup>

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาปริมาณคอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัมของม้าปกติ เปรียบเทียบกับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ กระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น หรือข้อเสื่อม และเปรียบเทียบปริมาณคอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัมของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นในข้อระหว่างก่อนและหลังทำการรักษาโดยการผ่าตัดข้อต่อด้วยวิธีส่องกล้อง (arthroscopic surgery) โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี (monoclonal antibody, mAb) ที่มีความจำเพาะต่อสายคอนดรอยตินซัลเฟต ชนิด WF6 ที่ผลิตและพัฒนาขึ้นจากห้องปฏิบัติการวิจัยโรคกระดูกและข้อ (Bone and Joint Research Laboratories) คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

## วิธีการศึกษา

### ลักษณะประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างซีรัมจากม้า อายุ 2 – 9 ปี ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ นครราชสีมา สระบุรีและขอนแก่น โดยแบ่งกลุ่มม้าออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. กลุ่มม้าปกติ (Normal group) จำนวน 62 ตัว โดยม้าทั้งหมดได้ผ่านการซักประวัติ, การตรวจร่างกายทางกายภาพและการตรวจวินิจฉัยอาการขาเกะเผลก (lameness examination) แล้วพบว่าไม่มีอาการผิดปกติทางคลินิกและไม่มีอาการของโรคข้อ
2. กลุ่มม้าผิดปกติ (Abnormal group) จำนวน 50 ตัว โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้
  - 1) ม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ (Arthritis) จำนวน 6 ตัว

2) ม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น (osteochondral fracture, OC)

จำนวน 12 ตัว ซึ่งในจำนวนนี้มี 1 ตัวที่ทำการรักษาด้วยวิธีผ่าตัดส่องกล้อง

3) ม้าที่มีภาวะข้อเสื่อม (osteoarthritis, OA) จำนวน 32 ตัว

ม้าทั้งหมดได้ผ่านการตรวจวินิจฉัยโดยการซักประวัติ, การตรวจร่างกายทางกายภาพ, การตรวจวินิจฉัยอาการซากะแผลกและการถ่ายภาพทางรังสี<sup>(12-15)</sup>

### ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

1. ทำการเจาะเก็บเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณคอ (jugular vein) ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดและอีก 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดสำหรับเก็บซีรัม เพื่อนำไปตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกตามลำดับ และทำการเก็บรักษาตัวอย่างซีรัมที่  $-20^{\circ}\text{C}$  จนกระทั่งนำมาตรวจวิเคราะห์ สำหรับม้าตัวที่ทำการรักษาด้วยวิธีผ่าตัดส่องกล้อง ได้ทำการเจาะเก็บเลือดก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0) และหลังการรักษา ณ สัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 ตามลำดับ
2. ทำการเก็บน้ำไขข้อจากข้อเข่า (carpal joint) ของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น จำนวน 2 ตัวและม้าที่มีภาวะข้อเสื่อม จำนวน 1 ตัว โดยเจาะเก็บจากข้อที่ผิดปกติและข้อปกติข้างตรงข้ามของม้าตัวเดียวกัน ข้อละ 2 มิลลิลิตร โดยประมาณ ใส่ลงในหลอดสำหรับเก็บน้ำไขข้อ หลังจากนั้นนำน้ำไขข้อมาปั่นเหวี่ยงเพื่อทำการเก็บ supernate ลงใน microcentrifuge tube และเก็บรักษาตัวอย่างที่  $-20^{\circ}\text{C}$  จนกระทั่งนำมาตรวจวิเคราะห์

### การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิก

ได้แก่ Complete blood count (CBC), Aspartate aminotransferase (AST, SGOT), Creatinine หากตัวอย่างซีรัมมีค่า AST และหรือ Creatinine สูงกว่าค่ามาตรฐาน<sup>(16)</sup> จะถูกคัดออกจากการทดลอง

2. ตรวจหาปริมาณคอนดรอยตินซัลเฟตอีพิโทป ชนิด WF6 (WF6 epitope) ในซีรัมด้วยวิธี

ELISA โดยใช้หลักการ Competitive inhibition ELISA ตรวจหา WF6 epitope จากตัวอย่างซีรัมตามวิธีของเพียร์สุขมณี<sup>(17)</sup> ในการวิเคราะห์จะใช้โปรตีนโกลบูลินแคนทีสกัดได้จากกระดูกอ่อนของปลาฉลาม (Shark PG) เป็น coating antigen และ competitor, ใช้ mAb WF6 เป็น primary antibody และใช้ Conjugate Anti - IgM conjugated peroxidase เป็น secondary antibody

## การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows version 11.0 และเลือกระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ( $p < 0.05$ ) เปรียบเทียบความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ระหว่างม้ากลุ่มปกติและผิดปกติด้วย Student T – test และวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของระดับ WF6 epitope กับปัจจัยต่างๆ โดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) ทำการวิเคราะห์แต่ละปัจจัย (Univariate analysis) และทำการวิเคราะห์แบบหลายปัจจัย (Multivariable analysis) ด้วยการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงพหุ (Multiple regression) โดยเลือกปัจจัยที่ค่า  $p < 0.15$  จาก Univariate analysis

## ผลการศึกษา

### ประชากรม้าที่ศึกษา

จากผลการตรวจค่า AST และ Creatinine ในซีรัมของม้าทั้งหมด พบว่าม้าปกติจำนวน 12 ตัว และม้าที่มีภาวะข้อเสื่อมจำนวน 8 ตัว ถูกคัดออกจากการศึกษา เนื่องจากมีค่า AST และหรือ Creatinine สูงกว่าค่ามาตรฐาน ดังนั้น การตรวจหาปริมาณคอนทรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัม จึงวิเคราะห์จากม้าในจำนวนทั้งสิ้น 92 ตัว เป็น ม้าปกติ 50 ตัว ม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ 6 ตัว ม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น 12 ตัว และม้าที่มีภาวะข้อเสื่อม 24 ตัว

### การเปรียบเทียบระดับคอนทรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมของม้าปกติกับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบ ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น หรือภาวะข้อเสื่อม

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

เมื่อดูการเปลี่ยนแปลงของระดับคอนทรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมของม้าปกติที่ช่วงอายุต่างๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างของระดับความเข้มข้นเฉลี่ย WF6 epitope ในม้าที่มีอายุน้อยกว่า 2 ปี จนถึงอายุ 9 ปี อย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.122$ ) ดังแสดงในรูปที่ 3 และพบว่า ม้าสายพันธุ์ไทยแท้, พันธุ์ผสมและพันธุ์ต่างประเทศมีความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p = 0.158$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4 แต่พบว่า มีความแตกต่างของระดับความเข้มข้นเฉลี่ย WF6 epitope ในม้าปกติที่ไม่ได้ใช้งาน (No training) กับม้าปกติที่ใช้งาน (Working) โดยม้าปกติที่ใช้งาน

งานมีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope สูงกว่าในน้ำปกติที่ไม่ได้ใช้งานอย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.008$ ) ดังแสดงในรูปที่ 5

### ปัจจัยที่สัมพันธ์ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับคอนครอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัม

เมื่อทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของระดับความเข้มข้นเฉลี่ย WF6 epitope กับปัจจัยต่างๆ เช่น การเจ็บป่วยของข้อต่อ (diseased status), อายุ, สายพันธุ์และการใช้งาน โดยทำการวิเคราะห์แบบหลายปัจจัย (Multivariable analysis) ด้วยการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงพหุ (Multiple regression) พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับคอนครอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมอย่างมีนัยสำคัญ คือ การเจ็บป่วยของข้อต่อและการใช้งาน ( $R^2=0.245$ ) โดยเมื่อข้อต่อได้รับบาดเจ็บ พบว่าระดับความเข้มข้นของ WF6 epitope ลดต่ำลง แสดงถึงความสัมพันธ์แบบทิศทางตรงข้าม ( $p<0.0001$ ,  $\beta= -0.545$ ) ส่วนการใช้งานมีความสัมพันธ์แบบทิศทางเดียวกัน ( $p=0.022$ ,  $\beta=0.236$ ) โดยหากม้าถูกนำไปใช้งาน พบว่าระดับความเข้มข้นของ WF6 epitope เพิ่มขึ้น

**การเปรียบเทียบระดับคอนครอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัมของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นระหว่างก่อนและหลังการรักษาโดยการผ่าตัดข้อต่อด้วยวิธีส่องกล้อง (n=1)**

เมื่อเปรียบเทียบค่าเม็ดเลือดขาวและค่าความเข้มข้น WF6 epitope ในซีรัมของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นในข้อต่อระหว่างก่อนและหลังการรักษาด้วยวิธีผ่าตัดส่องกล้อง พบว่าก่อนการรักษามีค่าเม็ดเลือดขาว (WBC) มากกว่าระดับปกติ และหลังจากทำการรักษาโดยผ่าตัดเอาเศษกระดูกที่แตกออกพบว่า ณ สัปดาห์ที่ 4 และ 8 หลังการผ่าตัด ค่าเม็ดเลือดขาวลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0) และค่าเม็ดเลือดขาวกลับเพิ่มสูงขึ้น ณ สัปดาห์ที่ 12 หลังการผ่าตัด ส่วนค่าความเข้มข้นของคอนครอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัม พบว่า ระดับความเข้มข้นของ WF6 epitope มีการเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ณ สัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 หลังการรักษาตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 6

**การเปรียบเทียบระดับคอนครอยตินซัลเฟตอิพิโทปในน้ำไขข้อระหว่างข้อปกติและข้อผิดปกติที่ข้อต่อระดับเดียวกัน ของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นและม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อม**

จากการตรวจหาระดับความเข้มข้นของ WF6 epitope ต่อปริมาณโปรตีนรวม (ng WF6 epitope / mg total protein) ในน้ำไขข้อของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นใน carpal joint จำนวน 2 ตัว พบว่า ในม้าตัวแรก (OC1) ข้อต่อข้างที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อน

แตกเป็นชิ้นมีค่าความเข้มข้นของ WF6 epitope ต่อปริมาณโปรตีนรวมต่ำกว่าข้อปกติข้างตรงข้าม ซึ่งแตกต่างกับในม้าตัวที่ 2 (OC2) ที่พบว่าข้อต่อข้างที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นมีค่าความเข้มข้นของ WF6 epitope ต่อปริมาณโปรตีนรวมสูงกว่าข้อปกติ สำหรับม้าที่มีภาวะข้อเสื่อมที่ carpal joint จำนวน 1 ตัว พบว่า ข้อต่อข้างที่มีภาวะข้อเสื่อมค่าความเข้มข้นของ WF6 epitope สูงกว่าข้อปกติข้างตรงข้ามที่ข้อต่อระดับเดียวกัน ดังแสดงในรูปที่ 7

## บทวิจารณ์

คอนดรอยตินซัลเฟตเป็นไกลัยโคซามิโนไกลัยแคนทีพบมากที่สุดในร่างกาย เช่น ในกระดูกอ่อน กระดูก หนังแท้ กระจกตาและผนังเส้นเลือด จากการศึกษาพบว่าเซลล์กระดูกอ่อน (chondrocyte) ทำหน้าที่ในการสร้างคอนดรอยตินซัลเฟตซึ่งมีอยู่มากที่สุดในเนื้อกระดูกอ่อน (cartilage matrix) ในภาวะปกติกระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อจะมีกระบวนการสร้าง (anabolic process) และกระบวนการสลาย (catabolic process) อยู่ในภาวะที่สมดุล เมื่อกระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อเกิดความผิดปกติหรือมีพยาธิสภาพที่เปลี่ยนแปลงไป ทำให้เกิดการเสียสมดุลของขบวนการเมตาบอลิซึม (cartilage metabolism) ดังกล่าว คือ เกิดการทำลายมากกว่าการสร้าง อันเป็นผลให้กระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อถูกทำลาย คอนดรอยตินซัลเฟตจะถูกสลายออกมาอยู่ในน้ำไขข้อและดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด หลังจากนั้นจะถูกส่งไปทำลายที่ตับและไต ทำให้การตรวจวัดระดับของคอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัมและน้ำไขข้อ จึงอาจบ่งบอกถึงเมตาบอลิซึมและพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นกับกระดูกอ่อน รวมทั้งสามารถที่จะช่วยวินิจฉัยโรคข้อเสื่อมได้เร็วขึ้น หลายปีที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบัน มีการใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี (monoclonal antibody, mAb) ที่มีความจำเพาะต่อสายคอนดรอยตินซัลเฟต ทั้งโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อตำแหน่งบนสายคอนดรอยตินซัลเฟตที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ เช่น 3B3<sup>(17-19)</sup> และที่ไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ เช่น WF6<sup>(17-18)</sup>

โมโนโคลนอลแอนติบอดี ชนิด WF6 เป็นโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตและพัฒนาขึ้นจากห้องปฏิบัติการวิจัยโรคกระดูกและข้อ (Bone and Joint Research Laboratories) คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งมีความจำเพาะต่อสาย chondroitin-6-sulfate และ chondroitin 2,6 disulfate ที่พบได้ทั่วไปในกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อ จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าม้าที่มีภาวะข้อเสื่อมมีความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ในซีรัมต่ำกว่าในม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.002$ ) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยหนึ่งที่ใช้เคอราแตนซัลเฟต (keratan sulfate, KS) เป็น catabolic marker เพื่อศึกษาระดับเคอราแตนซัลเฟตในพลาสมาและน้ำไขข้อของม้าที่เป็นโรคข้อชนิดต่างๆ โดยพบว่าความเข้มข้นของ keratan sulfate ในพลาสมาของม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมต่ำกว่าในม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ<sup>(9)</sup> แต่ขัดแย้งกับผลการศึกษากการเปลี่ยนแปลงของระดับคอนดรอยตินซัลเฟตชนิด WF6 ในคน ที่พบว่าปริมาณความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมของ

ผู้ป่วยที่เป็นโรคข้อเสื่อมสูงกว่าในคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ<sup>(20-21)</sup> และไม่สอดคล้องกับการศึกษาในม้า โดยม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมมีระดับของอิพิโทปชนิดนี้ในซีรัมสูงกว่าม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ<sup>(17)</sup> จากการที่ระดับความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมของม้าที่มีภาวะข้อเสื่อมต่ำกว่าในม้าปกติ อาจเนื่องมาจากมีส่วนใหญ่ของกลุ่ม (70.83%) มีภาวะข้อเสื่อมระยะท้าย (advanced OA) โดยผ่านกระบวนการสลายกระดูกอ่อนอย่างรวดเร็ว จนเหลือมวลของกระดูกอ่อนอยู่น้อย จึงตรวจพบความเข้มข้นของ WF6 epitope ได้ในระดับต่ำ ดังนั้นควรมีการศึกษาในขั้นต่อไปถึงระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมในระยะต่างๆ (stage of OA) กับการเปลี่ยนแปลงของ WF6 epitope ในซีรัม

ส่วนการเปรียบเทียบความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมของม้าปกติกับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบหรือภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นนั้น ยังไม่เคยมีผู้ทำการศึกษาเรื่องนี้มาก่อนในประเทศไทย จากการทดลองครั้งนี้พบว่า ม้าที่มีภาวะข้ออักเสบและม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นมีความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ในซีรัมต่ำกว่าในม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.001$ ,  $p=0.021$  ตามลำดับ) ซึ่งไม่สอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่า ความเข้มข้นของ keratan sulfate ในพลาสมาของม้าที่มีภาวะข้ออักเสบและม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นสูงกว่าในม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ<sup>(9)</sup> การที่ตรวจพบ WF6 epitope ของม้าทั้งสองกลุ่มในระดับต่ำกว่าม้าปกติ อาจมีความเป็นไปได้ที่ม้าปกติบางตัวในกลุ่มไม่ใช่ม้าปกติที่แท้จริง ซึ่งแม้ว่าผลการตรวจร่างกายทางกายภาพและการตรวจอาการขาจะผลก จะพบว่าม้ามมีลักษณะทางกายภาพปกติ ไม่มีอาการขาจะผลกและอาการที่ผิดปกติทางคลินิกแสดงให้เห็น แต่เป็นไปได้ที่ม้าอาจมีความผิดปกติแฝงอยู่ เช่น มีการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนแบบเกิดขึ้นเองและไม่มีอาการทางคลินิก (nonprogressive idiopathic cartilage erosion) แต่เมื่อทำการผ่าซากหรือตรวจดูด้วยกล้องส่องตรวจข้อต่อ จะพบว่ากระดูกอ่อนที่หุ้มผิวข้อต่อสึกกร่อนไป<sup>(22)</sup> ซึ่งแสดงถึงความไม่สัมพันธ์กันของอาการทางคลินิกกับรอยโรคที่เกิดขึ้น และการตรวจวินิจฉัยด้วยการถ่ายภาพทางรังสียังมีข้อจำกัดอยู่ ทำให้ไม่สามารถพบรอยโรคหรือพยาธิสภาพที่เปลี่ยนแปลงไปของกระดูกอ่อน ถ้าเป็นการเสียหายในระยะเริ่มแรก จะสามารถตรวจพบได้ก็ต่อเมื่อรอยโรคหรือพยาธิสภาพมีการพัฒนาไปในระดับที่ค่อนข้างรุนแรงแล้ว สำหรับม้าที่มีภาวะข้ออักเสบในการศึกษาครั้งนี้ อาจเป็นม้าที่ได้รับบาดเจ็บบริเวณข้อต่อหลายครั้ง ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปในม้าที่ใช้งาน กระบวนการอักเสบจะเกิดขึ้นแบบซ้ำแล้วซ้ำอีก จึงมีผลทำให้ค่า WF6 epitope ต่ำกว่าม้าปกติ ซึ่งคล้ายคลึงกับม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น เมื่อข้อต่อมีการเคลื่อนไหว เศษกระดูกและกระดูกอ่อนที่แตกภายในข้อต่อจะไปเสียดสีกับเยื่อหุ้มข้อ (synovial membrane) โดยตรงและก่อให้เกิดกระบวนการอักเสบอย่างรุนแรง เป็นผลให้เกิดการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อไปมากจนเหลืออยู่ในปริมาณที่น้อย หรือในทางกลับกัน หากม้ามมีภาวะข้ออักเสบในระยะเริ่มแรกแบบไม่



รุนแรง กระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อจะยังถูกทำลายไปไม่มาก อาจส่งผลให้พบค่า WF6 epitope ได้ในระดับต่ำ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ภาพถ่ายทางรังสีของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นบางตัวในกลุ่ม (25%) มีพยาธิสภาพที่บ่งบอกถึงการเป็นโรคในระยะเรื้อรัง และพบว่าระยะเวลาตั้งแต่เกิดการแตกของกระดูกในข้อต่อจนถึงการตรวจพบทางรังสี มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 1 เดือน ซึ่งกระดูกอ่อนได้ผ่านขบวนการเสื่อมสลายไปมากพอสมควร จึงเป็นไปได้ที่จะตรวจพบ WF6 epitope ในระดับต่ำกว่าม้าปกติ ดังนั้นระยะเวลาของการเป็นโรคและการแบ่งระดับความรุนแรงของภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นในข้อต่อจึงจำเป็นต้องการศึกษาในครั้งต่อไป

ผลการศึกษายังพบว่า ม้าปกติที่ใช้งาน (ม้าแข่งและม้าขี่) มีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของ WF6 epitope ในซีรัมสูงกว่าในม้าปกติที่ไม่ได้ใช้งาน (ม้าที่ยังไม่ได้รับการฝึก) อย่างมีนัยสำคัญ แสดงถึงการใช้ม้าทำงานประเภทต่างๆ เช่น วิ่งแข่งความเร็ว ขี่กระโดดและขี่ทั่วไป มีผลทำให้ขบวนการ degradation และ matrix turnover ของกระดูกอ่อนเพิ่มขึ้น และจากผลการเปรียบเทียบระดับ WF6 epitope ในซีรัมของม้าปกติที่ช่วงอายุต่างๆ พบว่า ไม่มีความแตกต่างของระดับความเข้มข้นเฉลี่ย WF6 epitope ในม้าที่มีอายุน้อยกว่า 2 ปี จนถึงอายุ 9 ปี อย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.122$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของระดับความเข้มข้นของ WF6 epitope ในม้าตั้งแต่แรกเกิดจนถึงอายุมากกว่า 15 ปี<sup>(17)</sup>

การใช้ mAb WF6 ติดตามการรักษาในครั้งนี้เป็นการวิจัยเบื้องต้น (preliminary study) ซึ่งจากผลการติดตามม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นในข้อต่อระหว่างก่อนและหลังการรักษาด้วยวิธีผ่าตัดส่องกล้อง จำนวน 1 ตัว (สูญเสียม้าในระหว่างการศึกษานาน 2 ตัว) พบว่า ก่อนการรักษาค่าเม็ดเลือดขาวสูงกว่าค่าปกติ แสดงถึงข้อต่อมีการอักเสบ ณ สัปดาห์ที่ 4 หลังการรักษา ค่าเม็ดเลือดขาวลดลงแต่ยังคงอยู่ในระดับที่มีการอักเสบอยู่ และค่าเม็ดเลือดขาวได้ลดลงจนอยู่ในช่วงของค่าปกติ ณ สัปดาห์ที่ 8 หลังการรักษา แสดงว่าขบวนการอักเสบได้ลดลงจนข้อต่อกลับเข้าสู่ภาวะปกติ แต่ ณ สัปดาห์ที่ 12 หลังการรักษากลับพบว่าค่าเม็ดเลือดขาวได้เพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งซึ่งสูงกว่าค่าปกติและสูงกว่าก่อนการรักษา แสดงถึงข้อต่อกลับมาที่มีการอักเสบอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่ได้จากการซักประวัติและการตรวจทางกายภาพเพิ่มเติมพบว่า มีการนำม้าไปฝึกซ้อม (trot) เป็นเวลา 4 วันก่อนหน้าที่จะครบกำหนดการพักที่ 12 สัปดาห์ ประกอบกับข้อต่อมีอาการบวมและร้อนขึ้น จากผลข้างต้นพบว่าค่าเม็ดเลือดขาวมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสะท้อนให้เห็นว่าการอักเสบของข้อต่อที่เกิดขึ้นตั้งแต่ก่อนรักษาถึงหลังรักษาได้ลดลงจนขบวนการอักเสบหมดไป หากไม่มีปัจจัยภายนอก เช่น การใช้งานม้า เข้ามารบกวน และผลจากการเปรียบเทียบความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมก่อนและหลังการรักษาพบว่า มีการเพิ่มสูงขึ้นของค่าความเข้มข้น WF6 epitope ในซีรัมอย่างต่อเนื่อง ณ สัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 หลังการรักษา

ตามลำดับ แม้ว่าจะมีการผ่าตัดเอาเศษกระดูกที่แตกออกไปแล้ว แต่ขบวนการอักเสบและการสลายทำลายกระดูกอ่อนยังเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ถึงค่าเม็ดเลือดขาวจะลดต่ำลงจนอยู่ในช่วงของค่าปกติ ณ สัปดาห์ที่ 8 หลังการรักษา ซึ่งเป็นการบ่งบอกว่าขบวนการอักเสบได้หยุดลง อย่างไรก็ตาม ขบวนการสลายเนื้อกระดูกอ่อนที่ถูกกระตุ้นโดยการอักเสบยังคงดำเนินอยู่ ทำให้ยังคงตรวจพบค่า WF6 epitope ในซีรัมสูงขึ้น และยังเพิ่มสูงมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของค่าเม็ดเลือดขาว ณ สัปดาห์ที่ 12 เมื่อผ่าถูกนำไปฝึกซ้อมจนเกิดการอักเสบของข้อขึ้นอีกครั้ง ผลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า หากมีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นในข้อต่อไม่ได้รับการดูแลรักษาอย่างต่อเนื่องและหรือมีการนำม้ามกลับมาใช้งานก่อนเวลาที่เหมาะสมจะทำให้ขบวนการสลายกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อดำเนินต่อไปและพัฒนาเข้าสู่ภาวะข้อเสื่อมในที่สุด

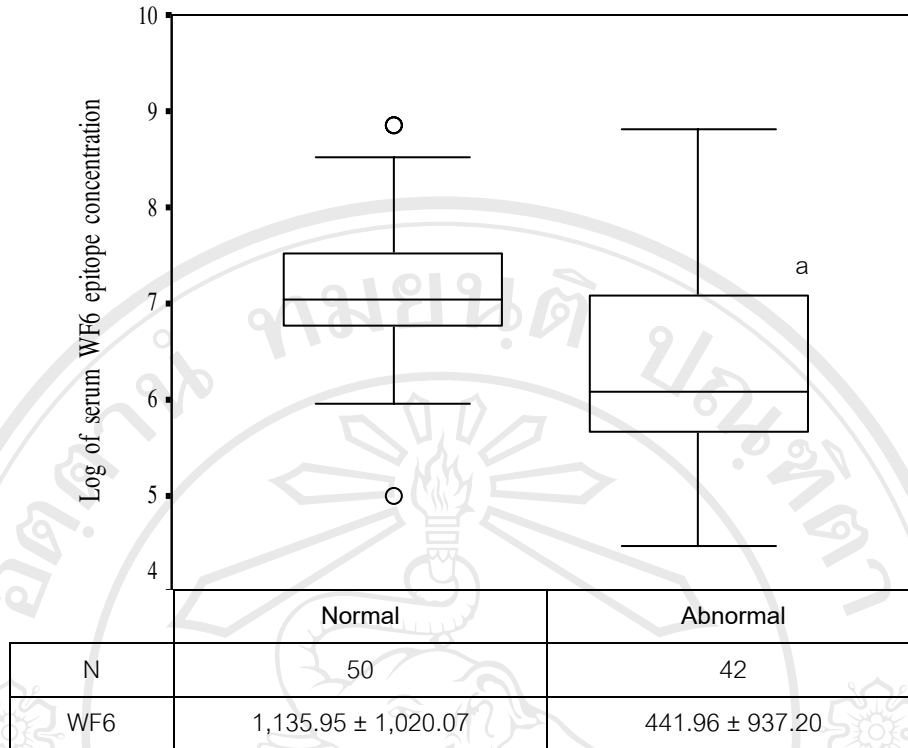
นอกจากนี้ การเปรียบเทียบระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอพิโทปในน้ำไขข้อระหว่างข้อปกติและข้อผิดปกติที่ carpal joint ในม้ามที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นพบว่า ม้ามตัวแรก (OC1) ข้อต่อข้างที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นมีความเข้มข้นของ WF6 epitope ต่อปริมาณโปรตีนรวมต่ำกว่าข้อปกติข้างตรงข้าม แต่ในม้ามตัวที่สอง (OC2) พบว่าความเข้มข้นของ WF6 epitope ต่อปริมาณโปรตีนรวมของข้อต่อข้างที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้นสูงกว่าข้อปกติข้างตรงข้าม สำหรับม้ามที่มีภาวะข้อเสื่อมที่ carpal joint พบว่า ข้อต่อข้างที่มีภาวะข้อเสื่อมมีความเข้มข้นของ WF6 epitope สูงกว่าข้อปกติข้างตรงข้ามที่ข้อต่อระดับเดียวกัน จากการถ่ายภาพทางรังสีพบว่า ข้อที่ผิดปกติมีภาวะข้อเสื่อมในระยะเริ่มแรก (early stage) ซึ่งในระยะนี้กระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อถูกทำลายไปไม่มากนัก และยังคงเหลือมวลของเนื้อกระดูกอ่อนพอสมควร จึงอาจตรวจพบ WF6 epitope ได้ในระดับสูง แม้ว่าการศึกษาในครั้งนี้มีข้อมูลบางส่วนที่ไม่ทราบประวัติของม้ามแน่ชัด ประกอบกับตัวอย่างมีจำนวนจำกัด จึงยังไม่สามารถหาข้อสรุปได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม ผลจากการศึกษาสามารถแสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของระดับ WF6 epitope ในน้ำไขข้อเมื่อมีภาวะผิดปกติ เช่น ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกในข้อต่อและภาวะข้อเสื่อม ซึ่งข้อมูลนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษารุ่นต่อไปในจำนวนตัวอย่างที่มากเพียงพอและมีการแบ่งระยะเวลาตั้งแต่เกิดการแตกของกระดูกในข้อต่อจนตรวจพบ รวมทั้งมีการแยกระดับความรุนแรงของโรคข้อเสื่อมร่วมด้วย

แม้ว่าการเก็บตัวอย่างซีรัมจากม้ามจะสามารถทำได้สะดวกและปลอดภัยต่อตัวม้ามมากกว่าการเก็บตัวอย่างจากการเจาะน้ำไขข้อ แต่ปริมาณ WF6 epitope ในซีรัมเป็นปริมาณคอนดรอยตินซัลเฟตรวมที่มาจากทั้งร่างกาย ในทางกลับกัน ปริมาณ WF6 epitope ในน้ำไขข้อ จะเป็นปริมาณคอนดรอยตินซัลเฟตที่วัดได้จากกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อโดยตรง ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงและน่าเชื่อถือมากกว่าการวัดปริมาณ WF6 epitope ในซีรัม มีการศึกษาความสัมพันธ์ของระดับสาร

บ่งชี้ทางชีวภาพ (biological marker) ในซีรัมและในน้ำไขข้อของม้ามที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น พบว่าระดับคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทป 846 และคาร์บอกซีโปรเปปไทด์ของคอลลาเจนชนิดที่ 2 (CP II) ในซีรัมและในน้ำไขข้อไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ<sup>(23)</sup> ในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาใดที่รายงานยืนยันชัดเจนว่า WF6 epitope เป็น catabolic marker ของกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อ แต่จากผลการศึกษาในหลายงานวิจัยก่อนหน้าและจากการศึกษาครั้งนี้ อาจสันนิษฐานได้ว่า WF6 epitope เป็นตัวบ่งชี้ถึงการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนหุ้มผิวข้อต่อ ดังนั้น WF6 epitope น่าจะสามารถใช้เป็น marker สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคข้อในม้ามได้ ในการศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดหลายประการ จึงทำให้มีจำนวนตัวอย่างไม่มากนัก ซึ่งควรมีการศึกษาต่อไปถึงการเปลี่ยนแปลงของระดับ biological marker หลายชนิดในซีรัมควบคู่ไปกับน้ำไขข้อ ในจำนวนม้ามที่มากขึ้น และศึกษาระดับความรุนแรงของโรค ปัจจัยการใช้งานของม้ามที่แตกต่างกัน รวมถึงการติดตามการรักษาโรคข้อในระยะยาวต่อไป เพื่อเพิ่มพูนความรู้ ความเข้าใจในการดำเนินไปของโรคหรือการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพและเพื่อช่วยวินิจฉัย รวมทั้งวางแผนในการรักษาโรคข้อในม้ามได้อย่างเหมาะสม

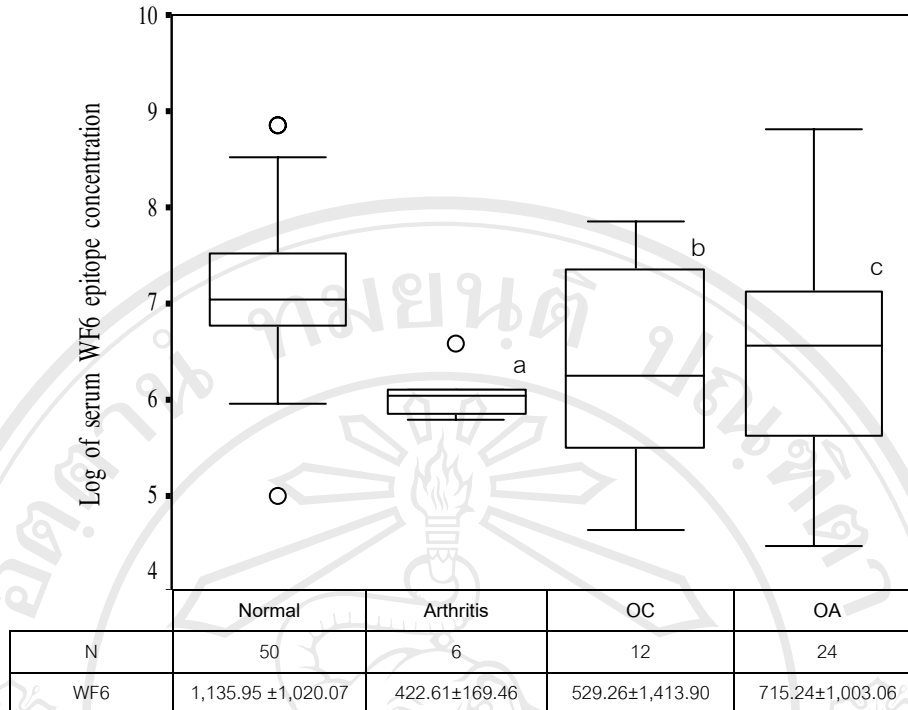
#### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการยา เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์การแพทย์ สภาวิจัยแห่งชาติ และทุนพัฒนาอาจารย์สาขาวิชาขาดแคลน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ขอขอบพระคุณ ผศ. นสพ.ดร. ประวิทย์ บุตรอุดม, นสพ.ดร. อนุชิต สิทธิไชยากุล และ สพญ. สุมาลินี สอนธิไทย ผู้กรุณาให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง ผศ.สพญ.ดร. ศิริพร ชุมทรัพย์ ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำตลอดการวิจัย ขอขอบพระคุณ ผศ.นสพ.ดร. วิทยา สุริยาสถาพร ที่ให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ข้อมูล คุณสรารวุฒิ ไสยญาติ นักเทคนิคการแพทย์ประจำห้องถ่ายภาพทางรังสี คุณจากรุณี ลอยฉง นักวิทยาศาสตร์ประจำหน่วยปฏิบัติการโลหิตวิทยา และสถานบริการสุขภาพสัตว์ โรงพยาบาลสัตว์ใหญ่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้สถานที่และอุปกรณ์ในการถ่ายภาพทางรังสี รวมทั้งเจ้าของม้ามทุกท่านและม้ามทุกตัวที่ทำให้การศึกษานี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี



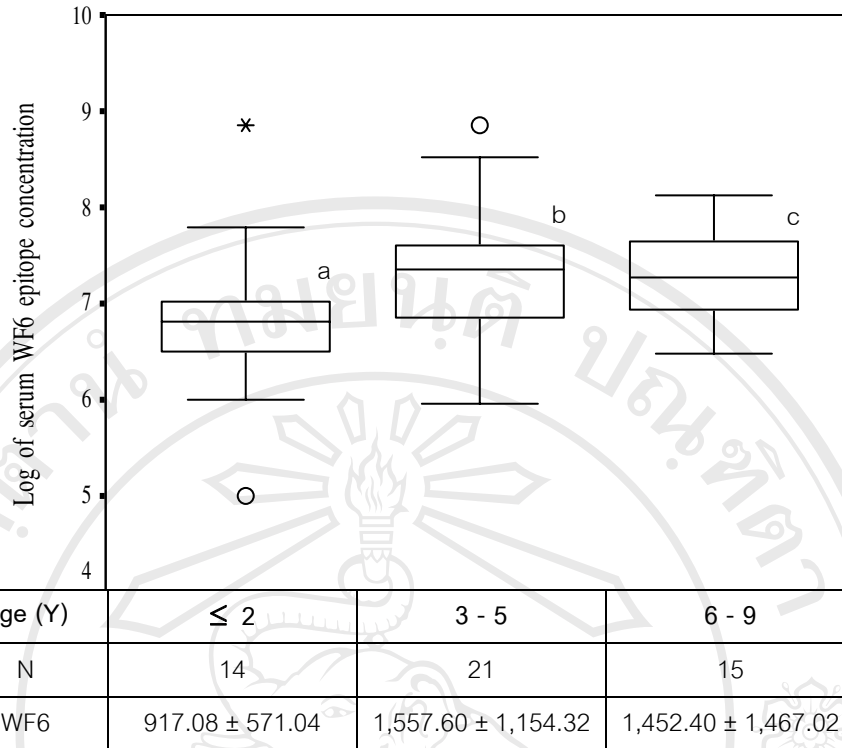
a = มีความแตกต่างทางสถิติ  $p < 0.0001$  เมื่อเปรียบเทียบกับ Normal

รูปที่ 1 แผนภาพเปรียบเทียบความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมของมักกลุ่มปกติ (Normal group) กับมักกลุ่มผิดปกติ (Abnormal group) เส้นกลางกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่ามัธยฐาน เส้นขอบล่างและขอบบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 และ 75 ตามลำดับ เส้นขีดแนวนอนด้านล่างและด้านบนนอกกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ยังไม่ผิดปกติตามลำดับ วงกลมแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติ ดอกจันแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติมาก N=จำนวนตัวอย่าง และ WF6 = ความเข้มข้นของ WF6 (ng/ml) แสดงค่ามัธยฐาน ± พิสัยควอไทล์ (Median ± IQR)



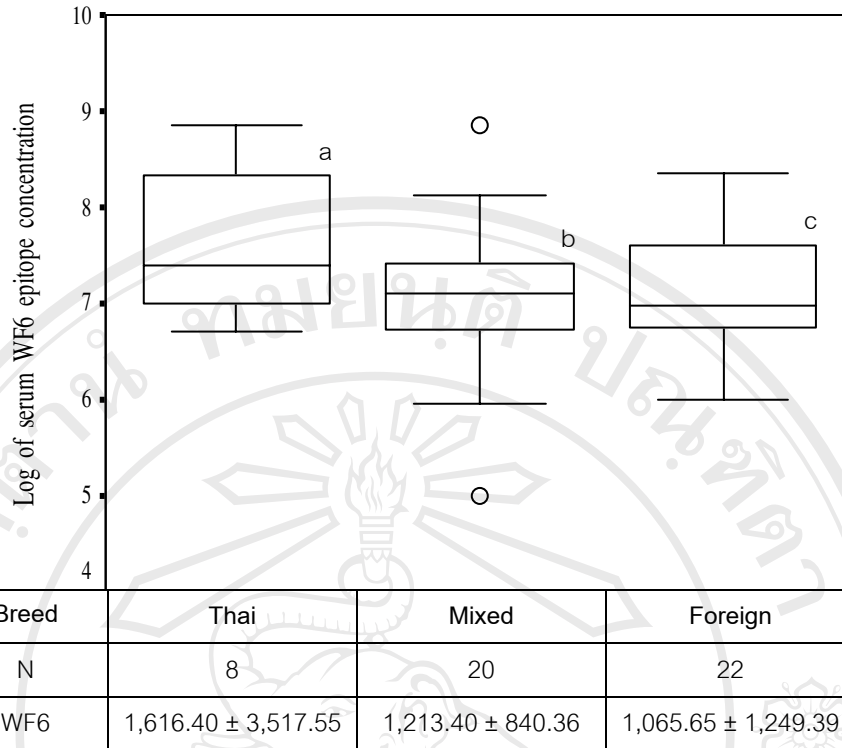
a, b, c = มีความแตกต่างทางสถิติ  $p=0.001$ ,  $p=0.021$ ,  $p=0.002$  ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ Normal

รูปที่ 2 แผนภาพความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมของม้ามปกติ (Normal) เปรียบเทียบกับม้ามที่มีภาวะม้ามที่มีภาวะข้ออักเสบ (Arthritis), ภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น (OC) และม้ามที่มีภาวะข้อเสื่อม (OA) เส้นกลางกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่ามัธยฐาน เส้นขอบล่างและขอบบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 และ 75 ตามลำดับ เส้นขีดแนวนอนด้านล่างและด้านบนนอกกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ยังไม่ผิดปกติตามลำดับ วงกลมแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติ ดอกจันแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติมาก N=จำนวนตัวอย่าง และ WF6 = ความเข้มข้นของ WF6 (ng/ml) แสดงค่ามัธยฐาน ± พิสัยควอไทล์ (Median ± IQR)



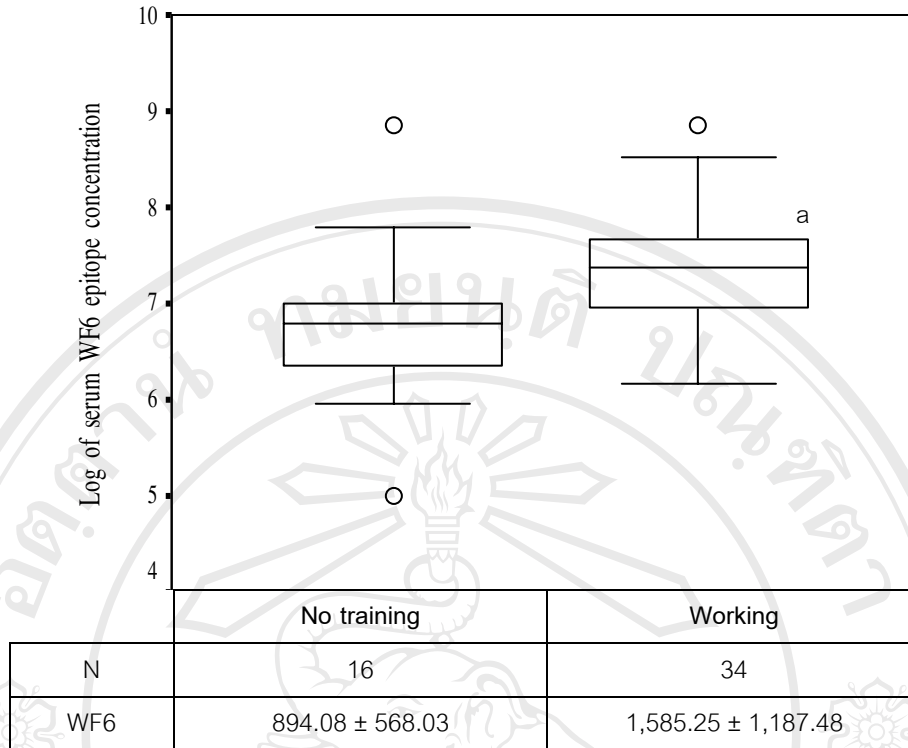
a, b, c = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ  $p=0.122$

รูปที่ 3 แผนภาพความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมของม้าปกติเปรียบเทียบกันในแต่ละช่วงอายุ (ปี) เส้นกลางกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่ามัธยฐาน เส้นขอบล่างและขอบบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 และ 75 ตามลำดับ เส้นขีดแนวนอนด้านข้างและด้านบนนอกกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ยังไม่ผิดปกติตามลำดับ วงกลมแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติ ดอกจันแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติมาก N=จำนวนตัวอย่าง และ WF6 = ความเข้มข้นของ WF6 (ng/ml) แสดงค่ามัธยฐาน ± พิสัยควอไทล์ (Median ± IQR)



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

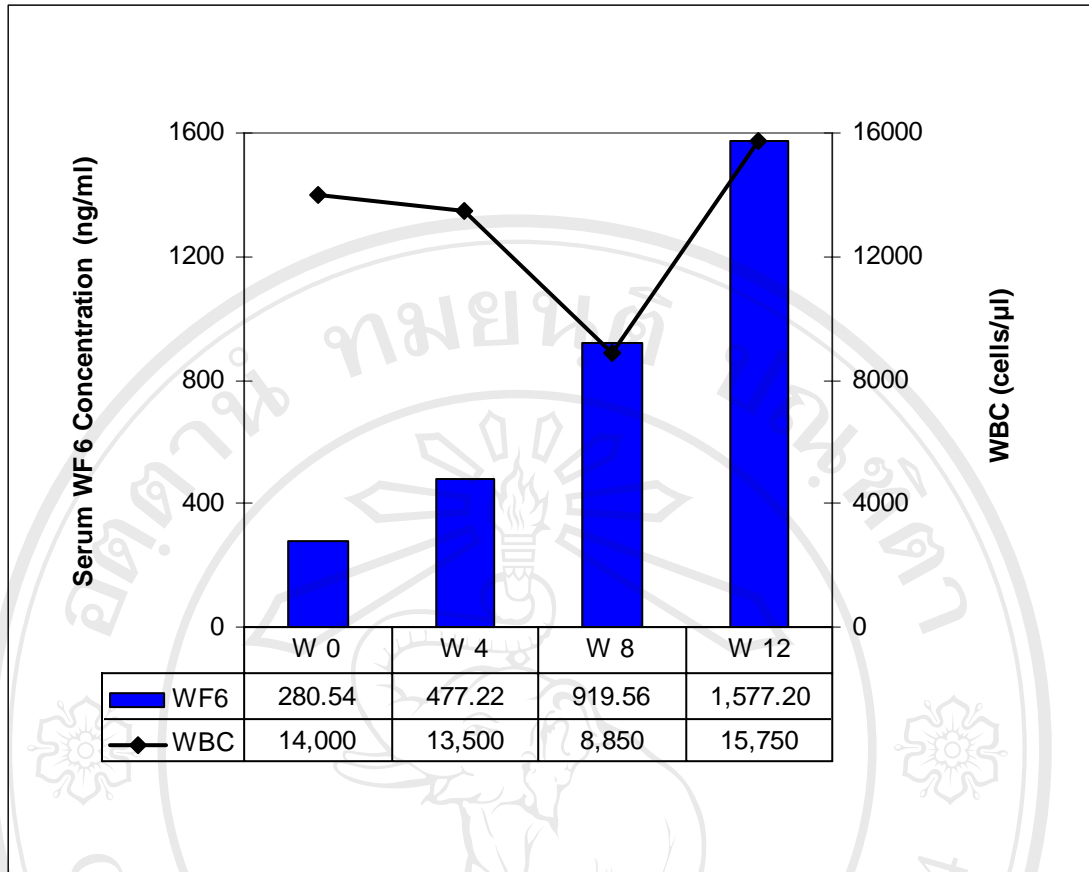
รูปที่ 4 แผนภาพความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมของม้าปกติเปรียบเทียบกันในแต่ละสายพันธุ์ (Thai = พันธุ์ไทยแท้, Mixed = พันธุ์ผสม, Foreign = พันธุ์ต่างประเทศ) เส้นกลางกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่ามัธยฐาน เส้นขอบล่างและขอบบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 และ 75 ตามลำดับ เส้นขีดแนวนอนด้านข้างและด้านบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ยังไม่ผิดปกติตามลำดับ วงกลมแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติ ดอกจันแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติมาก N=จำนวนตัวอย่าง และ WF6 = ความเข้มข้นของ WF6 (ng/ml) แสดงค่ามัธยฐาน ± พิสัยควอไทล์ (Median ± IQR)



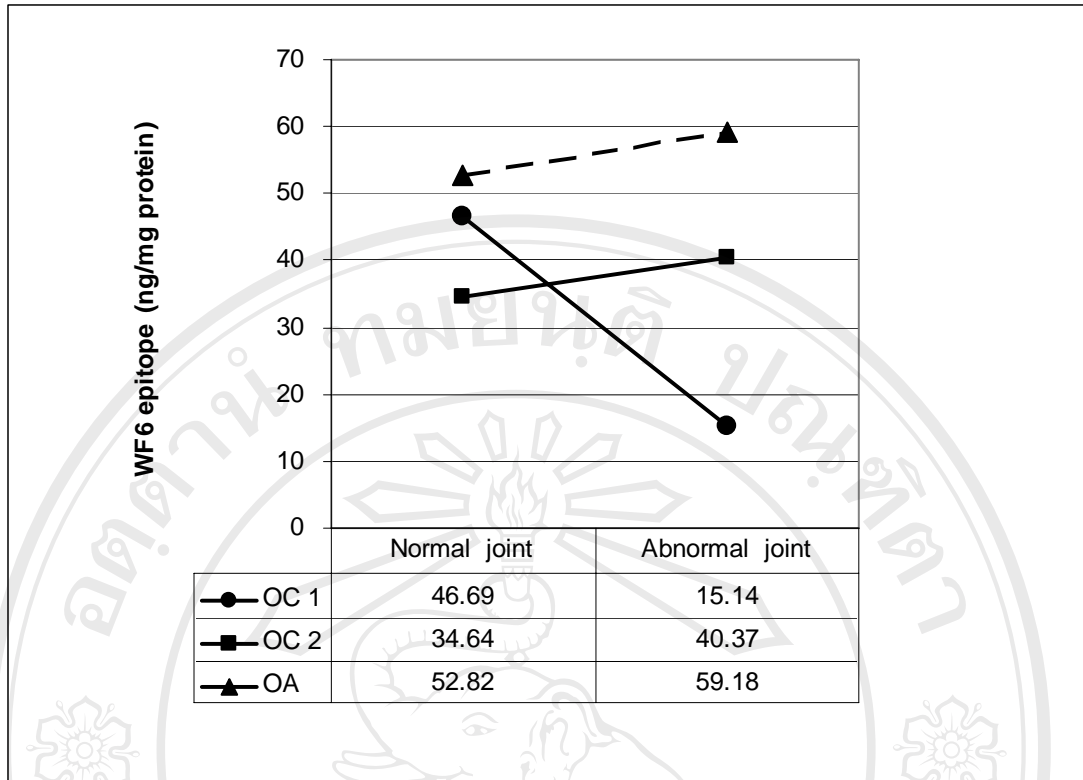
a = มีความแตกต่างทางสถิติ  $p=0.008$  เมื่อเปรียบเทียบกับ No training

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





รูปที่ 6 แผนภาพแสดงความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมและค่าเม็ดเลือดขาว (WBC) ของม้าของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแต่เป็นขึ้นระหว่างก่อนและหลังการรักษาด้วยวิธีผ่าตัดส่องกล้อง ณ สัปดาห์ที่ 0, 4, 8 และ 12 ตามลำดับ



รูปที่ 7 แผนภาพแสดงความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในน้ำไขข้อ ต่อปริมาณโปรตีนรวม เปรียบเทียบระหว่างข้อปกติ (Normal joint) และข้อผิดปกติ (Abnormal joint) ที่ข้อต่อระดับเดียวกัน ของม้าที่มีภาวะกระดูกและกระดูกอ่อนแตกเป็นชิ้น (OC) และม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อม (OA)

## เอกสารอ้างอิง

1. Todhunter RJ, Lust G. Pathophysiology of synovitis: clinical signs and examination in horses. *Compend Cortin Educ Pract Vet* 1990; 12: 980-993.
2. Rosedale PD, Hopes R, Wing – Digby NJ, Offord K. Epidemiological study of wastage among racehorses: 1982 and 1983. *Vet Rec* 1985; 116: 66-70.
3. McIlwraith CW. Traumatic Joint Injuries and Disease. In: Stashak TS, et al, editors. *Lameness in the Horse: An In – Depth Short Course for the Horseman*. Colorado: Equine Sciences of Colorado State University, 1997: 22-25.
4. Williams RB, Harkins LS, Hammond CJ, Wood JL. Racehorse injuries, clinical problems and fatalities recorded on British racecourses from flat racing and National Hunt racing during 1996, 1997 and 1998. *Equine Vet J* 2001; 33(5): 478-486.
5. Johnson BJ, Stover SM, Daft BM, Kinde H, Read DH, Barr BC, et al. Causes of death in racehorses over a 2 year period. *Equine Vet J* 1994; 4: 327-330.
6. Wallin L, Strandberg E, Philipsson J, Dalin G. Estimates of longevity and causes of culling and death in Swedish warmblood and coldblood horses. *Livestock Product Sci* 2000; 63: 275-289
7. McIlwraith CW. Traumatic Joint Injuries and Disease: Intraarticular Fractures Amenable to Treatment and in which the horse can be returned to athletic activity. In: Stashak TS, et al, editors. *Lameness in the Horse: An In – Depth Short Course for the Horseman*. Colorado: Equine Sciences of Colorado State University, 1997:39-42.
8. McIlwraith CW, Vachon AM. Review of pathogenesis and treatment of degenerative joint disease. *Equine Vet J* 1998; 6: 3-11.
9. Todhunter RJ, Fubini SL, Freeman KP, Lust G. Concentrations of keratan sulfate in plasma and synovial fluid from clinically normal horses and horses with joint disease. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 210(3): 369-374.
10. Todhunter RJ. General Principles of Joint Pathobiology. In: McIlwraith CW, Trotter GW, editors. *Joint disease in the horse*. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996: 1-40
11. Ray CS, Poole AR, McIlwraith CW. Use of synovial fluid and serum markers in articular disease. In: McIlwraith CW, Trotter GW, editors. *Joint disease in the horse*. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996: 203-216.

12. Stashak TS. Examination of lameness. In: Stashak TS, editors. Adams' lameness in horses. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002: 113-182.
13. Stashak TS. Evaluation of the lame horse. In: Stashak TS, et al, editors. Lameness in the Horse: An In – Depth Short Course for the Horseman. Colorado: Equine Sciences of Colorado State University, 1997: 1-4.
14. Widmer WR, Blevins WE. Radiologic evaluation of degenerative joint disease in horses: interpretative principles. The compendium 1994; 16(7): 907-918.
15. Park RD, Wrigley RH, Sten PF. Equine Diagnostic technique. In: Stashak TS, editors. Adams' lameness in horses. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002: 185-311.
16. Eades SC, Bounous DI. Laboratory Profiles of Equine Diseases. St. Louis : Mosby, 1997: 7-9.
17. Peansukmanee S. Changes in serum chondroitin sulfate epitopes and hyaluronan in normal horses and horses with osteoarthritis [dissertation]. Thailand: Graduate school, Chiang Mai University, 2002: 35-36.
18. กรกฎ งานวงศ์พาณิชย์, ศิริวรรณ องค์ไทย. การวินิจฉัยโรคข้อเสื่อมในสุนัขโดยอาศัยสารบ่งชี้ทางชีวภาพ. เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2547; 2: 39-49.
19. McIlwraith CW. Use of synovial fluid and serum biomarkers in equine bone and joint disease: a review. Equine Vet J 2005; 37(5): 473-482.
20. Pothacharoen P. The quantitative analysis of chondroitin sulfate epitopes and hyaluronan as diagnostic markers for degenerative joint disease by ELISA technique [dissertation]. Thailand: Graduate school, Chiang Mai University, 2002: 86.
21. Pothacharoen P, Teekachunhatean S, Louthrenoo W. Raised chondroitin sulfate epitopes and hyaluronan in serum from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. Osteoarthritis and Cartilage 2006; 4(13): 299-301
22. Pool RR. Pathologic manifestations of joint disease in the athletic horse. In: McIlwraith CW, Trotter GW, editors. Joint disease in the horse. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996: 87-117
23. Frisbie DD, Ray CS, Ionescu M, Poole AR, Chapman PL, McIlwraith CW. Measurement of synovial fluid and serum concentrations of the 846 epitope of

chondroitin sulfate and of carboxy propeptides of type II procollagen for diagnosis of osteochondral fragmentation in horses. Am J Vet Res 1999; 60(3): 306-309.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

## VITA

<b>Name</b>	Miss Siriwan Tungyuenyong
<b>Birth Date</b>	11 Feb 1979, Bangkok, Thailand
<b>Academic history</b>	1997, graduate Mathayom V from Benjamaracharai school, Bangkok, Thailand 1997, certificate of Mathayom VI from Office of the Non-Formal Education Commission, Bangkok, Thailand 2003, Doctor of Veterinary Medicine (second class honor) from Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand
<b>Scholarship</b>	Scholarship from Ministry of University Affair (2004-2005), Master Program in Health Sciences
<b>Work Experience</b>	2003-2006, University staff; Instructor of Equine Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University
<b>Training Experience</b>	2002, participation in “Alternative Veterinary Medicine (acupuncture)”, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University 2003, participation in “Elementary Farrier Workshop”, on Feb 4-7, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University 2004, participation in special lecture of “Horse digestive system anatomy and physiology in relation to nutrition, Pectoral and abdominal muscle (horse) in relation to function and disease,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

Dentition and Ageing the horse”, on Feb 2-4, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University

2005, participation in “First Annual Thailand Conference on Proteoglycans and Tissue Engineering”, on Jan 22-24, Chiang Mai University

2005, participation in “Imaging Diagnosis by using Ultrasonography in Horse”, on Jan 24-26, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University

2005, participation in “The 2<sup>nd</sup> Course on Acupuncture Complementary Medicine in Veterinary Medicine”, on Dec 17-20, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University

#### Academic prize

2003, “Comparative efficacy evaluation of Oxibendazole and Ivermectin against *Strongyle spp.* of horses” was awarded the first prize in competition of poster presentation, Special Problem Presentation, 2<sup>nd</sup> Annual Conference of the Sixth Year Students, on Feb 11, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University

#### Office

Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Muang, Chiang Mai, 50100, Thailand

Tel. 053 – 948066

Fax. 053 – 948710

Email: makhaboocha@hotmail.com