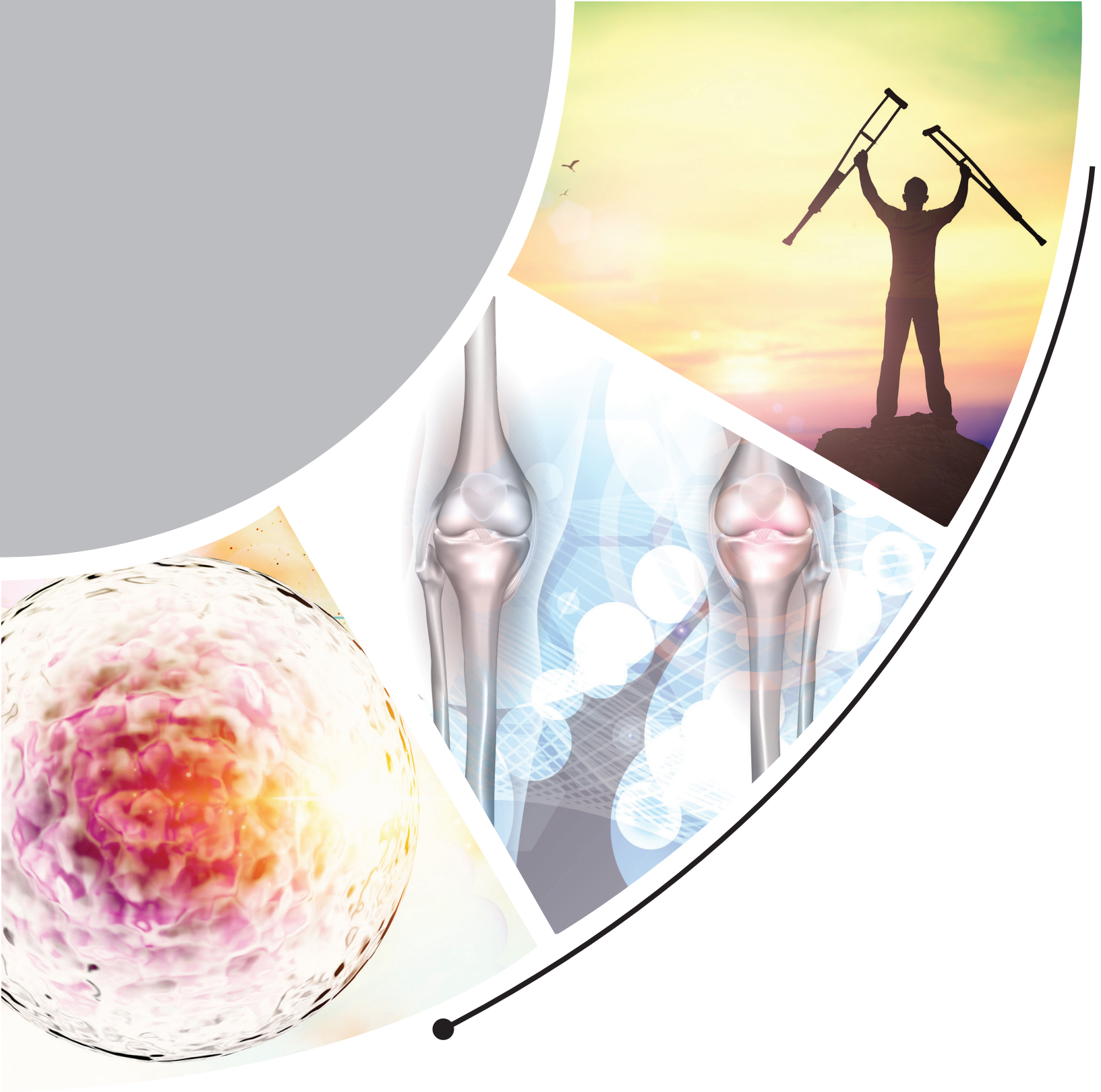




บทที่ 1

ชีววิทยาของกระดูกและการสมานของกระดูก (Bone biology and healing)

สรศักดิ์ ศุภผล
วิวัฒน์ วจนะวิศิษฐ
ตุลยพฤกษ์ ถาวรสวัสดิ์รักษ์

กระดูกเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดพิเศษที่รวมกับกระดูกอ่อนประกอบขึ้นเป็นระบบโครงสร้างกระดูก (skeletal system) โดยมีหน้าที่หลักสามประการ

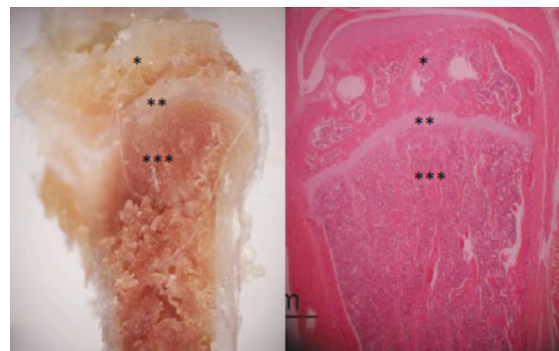
1. เป็นโครงร่างสำหรับค้ำจุน และเป็นที่เกาะของกล้ามเนื้อเพื่อทำหน้าที่ขยับเคลื่อนไหว
2. ป้องกันอวัยวะภายในที่สำคัญและไขกระดูก
3. เป็นที่สะสมของเกลือแร่ โดยเฉพาะแคลเซียมและฟอสฟอรัส

ทั้งนี้ เนื้อเยื่อกระดูกมีองค์ประกอบเช่นเดียวกับเนื้อเยื่อเกี่ยวพันอื่นๆ โดยส่วนประกอบพื้นฐานของกระดูกคือ เซลล์ และ เนื้อกระดูกหรือเมทริกซ์ (matrix) เนื้อกระดูกจะมีมากที่สุดในการประกอบด้วยเส้นใยคอลลาเจนและโปรตีนอื่นๆ โดยสิ่งที่มีลักษณะพิเศษแตกต่างจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพันอื่นๆ คือ มีการตกตะกอนของเกลือแคลเซียมลงในเนื้อกระดูก (mineralization) โดยความรู้เรื่ององค์ประกอบลักษณะทางมหกายวิภาคศาสตร์ จุลกายวิภาคศาสตร์ การพัฒนาและการเจริญเติบโตของกระดูก รวมถึงสรีรวิทยาการปรับแต่งของกระดูก เป็นความรู้พื้นฐานเพื่อที่จะเข้าใจในการดูแลรักษาผู้ป่วยทางออร์โธปิดิกส์ อีกทั้งความรู้เกี่ยวกับการสมานของเนื้อเยื่อกระดูกหลังจากมีการบาดเจ็บและชีวกลศาสตร์พื้นฐานของกระดูก เป็นสิ่งสำคัญเพื่อพัฒนาวิธีการรักษาทางออร์โธปิดิกส์ต่อไป

(1) ลักษณะทางมหกายวิภาคศาสตร์ของกระดูก

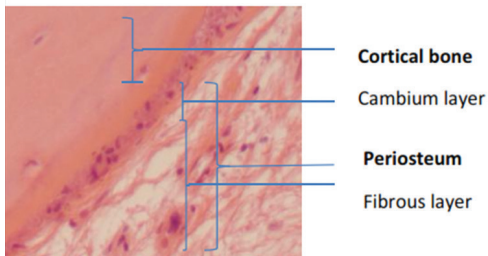
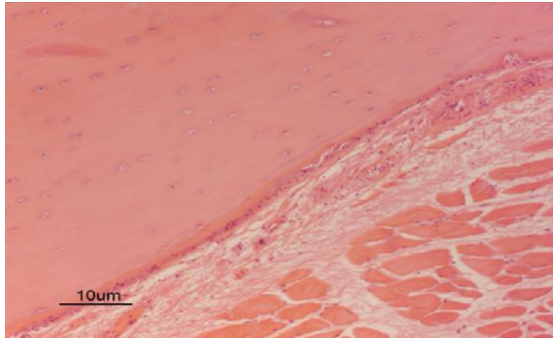
หากเรามองว่ากระดูกแบบมหกายวิภาค กระดูกเป็นอวัยวะชนิดหนึ่ง (bone as an organ) จะเห็นได้ว่ากระดูกโครงสร้างของร่างกายแบ่งเป็น 2 ชนิด ตามกายวิภาค คือ กระดูกแผ่นแบน (flat bone) และกระดูกท่อนยาว (long bone) การแบ่งชนิดนี้ แบ่งตามการพัฒนาที่แตกต่างกัน คือ การตกตะกอนเกลือแคลเซียมในแผ่นเยื่อหุ้ม (intramembranous ossification) และการตกตะกอนในกระดูกอ่อน (endochondral ossification) แต่ในความเป็นจริงกระดูกแท่งยาวก็มีการพัฒนาทั้งสองแบบร่วมกันในกระดูกที่กำลังเจริญเติบโตตามตำแหน่งของกระดูก โดยจะมีลักษณะเฉพาะเรียกว่า epiphysis และ metaphysis ซึ่งเกิดขึ้นจากการที่มี ossification center 2 ตำแหน่ง ส่วนที่อยู่ตรงกลางที่เป็นชั้นกระดูกอ่อน เรียกว่า epiphyseal plate หรือ growth plate ซึ่งจะมีการแบ่งตัวและขยายกว้างออกทำให้เกิดการยืดยาวของกระดูก ส่วนชั้นนอกสุดของกระดูกจะเป็นชั้นเนื้อเยื่อแคลเซียมหนาและอัดแน่น เรียกว่า cortex หรือ compact bone ซึ่งตรงบริเวณ diaphysis จะห่อหุ้ม

โพรงกระดูก (intramedullary cavity) ไว้ เป็นตำแหน่งของไขกระดูกที่สร้างเม็ดเลือด เมื่อลงไปสู่บริเวณ metaphysis และ epiphysis ส่วน cortex จะบางลงเรื่อยๆ ส่วนที่อยู่ด้านในจะเป็นร่างแหบางๆ ของ calcified trabeculae และช่องว่างระหว่างร่างแหเหล่านี้จะเป็นไขกระดูกเช่นกัน และยังเชื่อมต่อไปถึง medullary cavity ด้วย ส่วนปลายกระดูกบริเวณ epiphysis จะกลายเป็นส่วนหนึ่งของข้อต่อ ซึ่งจะมีชั้นกระดูกอ่อน (articular cartilage) หุ้มอยู่เป็นผิวชั้นนอก (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ภาพตัดขวางของ metaphysis tibia ของ *Rattus norvegicus* : *Epiphysis, **growth plate and ***Metaphysis

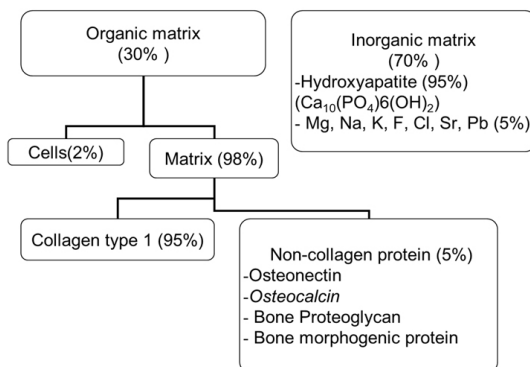
ผิวกระดูกจะมีอยู่สองด้านที่ติดกับเนื้อเยื่ออ่อนชั้นนอกเรียกว่า ผิวเยื่อหุ้มกระดูก (periosteum) และชั้นในเรียกว่า ผิวชั้นในกระดูก (endosteum) บนผิวกระดูกทั้งสองนั้นจะมีเซลล์กระดูกเรียงตัวกันเป็นแถวอย่างมีระเบียบ เรียกว่า เยื่อหุ้มกระดูก (periosteum) (รูปที่ 2) และเยื่อชั้นในกระดูก (endosteum) ทั้งกระดูก cortical และ trabecular จะประกอบด้วยเซลล์และสารเมทริกซ์ที่เหมือนกัน แต่แตกต่างกันที่ลักษณะโครงสร้าง และหน้าที่การทำงาน ลักษณะโครงสร้างที่ต่างกัน คือ ปริมาณของเนื้อเยื่อแคลเซียมซึ่งมีถึงร้อยละ 80 ใน cortical bone และมีเพียงร้อยละ 20 ใน trabecular bone (ส่วนที่เหลือเป็นไขกระดูก หลอดเลือด และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันอื่นๆ) ซึ่งลักษณะดังกล่าวทำให้เกิดความแตกต่างในหน้าที่ คือ cortical bone จะทำหน้าที่หลักการป้องกันอวัยวะและเป็นกลไกสำหรับการเคลื่อนไหว ส่วน trabecular bone ทำหน้าที่เกี่ยวกับเมตาบอลิซึมของร่างกาย^(1, 2)



รูปที่ 2 เยื่อหุ้มกระดูกของ *Rattus Norvegicus* ;
รูป UUU Periosteum (x100) และรูป UUU Periosteal layers (x200)

(2) ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อกระดูก

หากเรามองว่ากระดูกแบบจุลกายวิภาคศาสตร์ กระดูกเป็นเนื้อเยื่อชนิดหนึ่ง (bone as a tissue) จะทำให้ทราบถึงองค์ประกอบต่างๆ ในเนื้อเยื่อกระดูก จะมีส่วนประกอบพื้นฐานของกระดูก คือ เนื้อกระดูกหรือเมทริกซ์ (matrix) และเซลล์ต่างๆ อันได้แก่ เซลล์กระดูก (osteocyte) เซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) และ เซลล์ทำลายกระดูก (osteoclast) (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 แผนภูมิแสดงองค์ประกอบของเนื้อเยื่อกระดูก

2.1 เนื้อกระดูกและเกลือแร่ (matrix and mineral)

กระดูกสร้างขึ้นจากเส้นใยคอลลาเจน (ร้อยละ 90 เป็นชนิดที่ 1) และโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจน มีผลึก hydroxyapatite $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ เป็นรูปเข็มหรือเป็นแผ่น ฝังตัวอยู่บนเส้นใยคอลลาเจนและเรียงตัวไปในทิศทางเดียวกัน ส่วนเนื้อกระดูกหรือเมทริกซ์จะประกอบด้วยโปรตีน เช่น glycoprotein หรือ proteoglycan เป็น

สารประกอบที่มีประจุบวกซึ่งมีคุณสมบัติจับกับประจุของเกลือแร่ได้ดีมาก สันนิษฐานว่าจะเป็นส่วนสำคัญในขบวนการตกตะกอนเกลือแร่และการฝังตัวของผลึก hydroxyapatite ในเส้นใยคอลลาเจน⁽³⁾

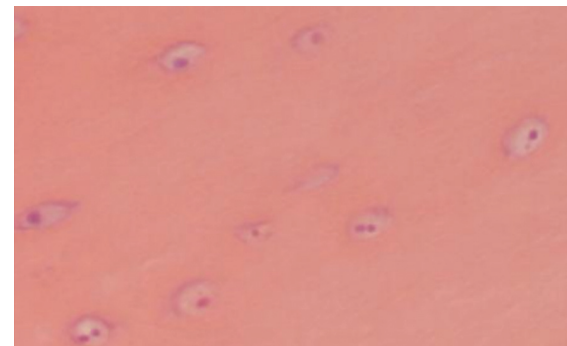
ส่วนโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจนในเนื้อกระดูกนั้น ในปัจจุบันสามารถแยกแยะออกมาได้หลายชนิดและรู้หน้าที่ของมัน โปรตีนเหล่านี้ส่วนใหญ่สร้างจากเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) เกือบทั้งหมด

การเรียงตัวของเส้นใยคอลลาเจนจะต่างกันในแต่ละชั้น มีลักษณะคล้ายไม้อัด เรียกตามลักษณะการเรียงตัวเฉพาะของมันว่า lamellar bone ซึ่งสามารถมองเห็นเป็นชั้นๆ ได้ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน การจัดเรียงแบบนี้ทำให้มีความหนาแน่นของคอลลาเจนต่อปริมาตรสูงสุด lamellae อาจเรียงเป็นชั้นๆ ก็ได้ เช่น ในกระดูก trabecular หรือในเยื่อหุ้มกระดูก หรือจะเรียงเป็นทรงกระบอกล้อมรอบหลอดเลือด เรียกว่า Haversian system เช่น ในกระดูก cortical ส่วนการสร้างกระดูกที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เช่น ในเนื้องอกกระดูก หรือการสร้าง callus หลังจากกระดูกหัก การเรียงตัวของเส้นใยคอลลาเจนจะเป็นไปอย่างไม่มีรูปแบบที่ชัดเจน และอยู่หลวมๆ ไม่อัดแน่น เรียกว่า woven bone

2.2 เซลล์ต่างๆ ในเมทริกซ์

เซลล์กระดูก (osteocyte)

เซลล์ osteocyte จะฝังตัวอยู่ในกระดูกในแอ่งเล็กๆ (lacuna) เซลล์นี้มีกำเนิดมาจากเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) ซึ่งสร้างเนื้อกระดูกหรือ เมทริกซ์ออกมารอบๆ ตัว ต่อมาเกิดการตกตะกอนเกลือแคลเซียม เซลล์จึงถูกขังอยู่ในแอ่ง กลายเป็นเซลล์ osteocyte มี cell process ยื่นยาวออกมา ภายในมี microfilament อยู่มากมาย ทำหน้าที่ติดต่อประสานกันกับ cell process ของเซลล์อื่นๆ เรียกว่า gap junction และยังติดต่อกับ cell lining ที่อยู่บนผิวกระดูกด้วย (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 เซลล์ Osteocytes ของ *Rattus Norvegicus*
ที่อยู่บริเวณ Bone Cortex (x400)

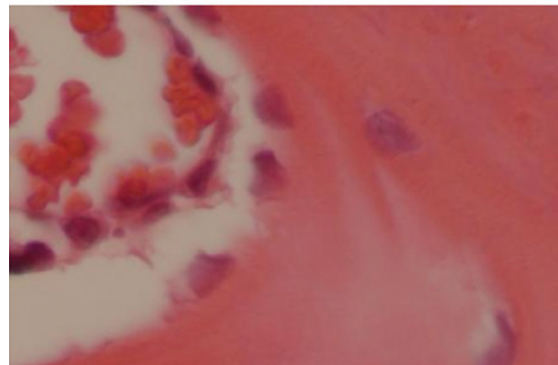
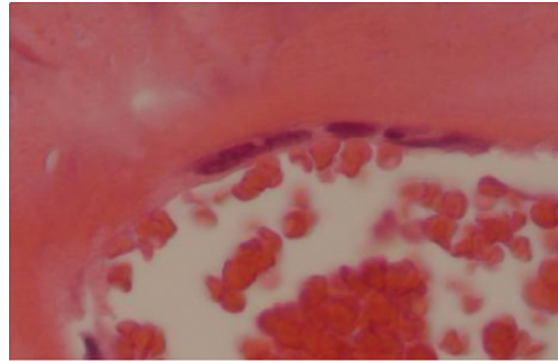
ระหว่างเยื่อหุ้มเซลล์ และเมทริกซ์ เป็นช่องว่าง เรียกว่า periosteocytic space ช่องว่างเหล่านี้จะมีทั้งใน lacuna และ canaliculi และมีน้ำหล่อเลี้ยงอยู่ คือ extra-cellular fluid เซลล์ osteocyte นี้สามารถที่จะสร้างเมทริกซ์ขึ้นมาใหม่ได้ ที่บริเวณผิวของ lacuna และต่อมาจะมีการตกตะกอนเกลือแคลเซียม ระหว่างที่มีการทำลายกระดูกโดย osteoclast เซลล์ osteocyte นี้จะถูกละลายไป พร้อมกันเนื้อกระดูก เชื่อว่ามีส่วนสำคัญที่กระตุ้นให้เกิดการปรับแต่งกระดูกใหม่ (remodeling)⁽²⁻⁴⁾

เซลล์ osteocyte และปฏิกิริยาตอบสนองต่อแรงกล

เซลล์ osteocyte ทั้งหมดจะเชื่อมต่อกันหมดผ่านร่างแหที่เรียกว่า canaliculi เกิดเป็นเครือข่ายระดับเซลล์ มีลักษณะคล้ายคลึงกับเครือข่ายของเซลล์ประสาท และเชื่อว่าระบบนี้เป็นระบบที่ตอบสนองต่อแรงกลที่มากระทำต่อกระดูก แรงกลนั้นมีผลอย่างมากต่อรูปร่างของกระดูก และขบวนการ remodeling ปฏิกิริยาตอบสนองทางชีวเคมีในระยะแรก จะกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์ prostacyclin และกระตุ้นการผลิต NO(nitric oxide) และต่อมาจะมี IGF(insulin-like growth factor) เพิ่มขึ้น มีการเปลี่ยนแปลงใน amino acid transporter และในที่สุดจะมีการสร้างกระดูกใหม่มากขึ้น^(5, 6)

เซลล์สร้างกระดูก (osteoblast)

เซลล์ osteoblast เป็นเซลล์ที่บุอยู่บนผิวกระดูก (bone-lining cell) (รูปที่ 5) ทำหน้าที่ในการผลิตสารเมทริกซ์ต่างๆ (collagen และ ground substance) มีแหล่งกำเนิดจาก stromal cell precursor ซึ่งอาจจะเป็น bone marrow stem cell หรือ connective tissue mesenchymal stem cell มักจะพบเซลล์ osteoblast เรียงตัวเป็นแถวอยู่เหนือเมทริกซ์ที่มันสร้างขึ้น ก่อนที่จะตกตะกอนเกลือแคลเซียม เราเรียกเมทริกซ์ในตอนนี้อา osteoid ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ osteoblast จะมี alkaline phosphatase อยู่ในระดับสูง และมี receptor สำหรับพาราไธรอยด์ฮอร์โมน (PTH) นอกจากนั้นที่นิวเคลียสของเซลล์ก็มี steroid receptor สำหรับ estrogen และ vitamin D3 ด้วยและยังมี integrin และ receptor สำหรับ cytokine อีกหลายชนิดเมื่อหมดช่วงระยะเวลาสร้างกระดูก เซลล์ osteoblast จะกลับไปเป็น flat lining cell หรือกลายเป็น osteocyte



รูปที่ 5 เซลล์ Osteoblasts ของ Rattus norvegicus: รูปบนเป็น inactive osteoblasts (x400) และรูปล่างเป็น active osteoblasts (x400)

เซลล์ osteoblast และการสร้างกระดูก (bone formation)

สิ่งสำคัญที่ทำให้เกิดการเหนี่ยวนำ (induction) ให้เกิดการสร้างกระดูกขึ้นใหม่ คือ การกระตุ้นยีนที่ควบคุมการพัฒนากระดูก คือ cbfa1⁽⁷⁾ ขั้นตอนของการสร้างกระดูกต้องอาศัย growth factor ปัจจุบันสามารถค้นพบ growth factor ที่เกี่ยวข้องหลายชนิด⁸ เช่น insulin-like growth factor (IGF), fibroblast growth factor (FGF) และสมาชิกในตระกูล transforming growth factor beta (TGF- β) เช่น bone morphogenetic protein (BMP)⁽⁸⁾ สมาชิกอื่นๆ ในตระกูลนี้สามารถทำให้เกิดการสร้างกระดูกอ่อน (cartilage formation) เช่น cartilage morphogenetic protein (CMP)

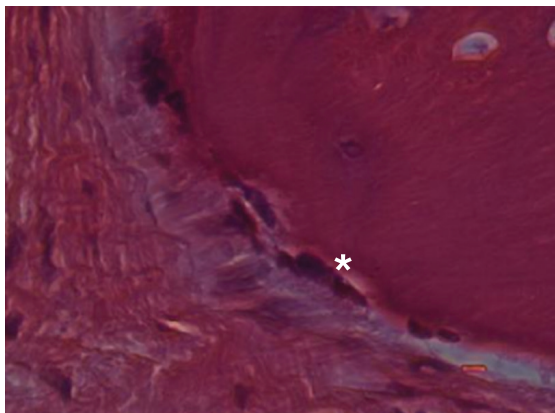
เซลล์ osteoblast จะสร้างโปรตีนหลายๆ ชนิดแล้วปล่อยออกนอกเซลล์ ต่อมาก็จะปล่อย matrix vesicle ซึ่งมีเกลือแคลเซียมอยู่ภายในถุง ทำให้เกิดการตกตะกอนของเกลือแคลเซียมในเมทริกซ์เรียกว่าขบวนการตกตะกอนเกลือแร่ (mineralization)

เซลล์ osteoblast เองยังสามารถผลิตสารเคมีต่างๆ จำนวนมาก ซึ่งมีผลหรือทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของเซลล์กระดูก สารเหล่านี้ออกฤทธิ์ทั้งต่อตนเอง (autocrine) หรือต่อเซลล์ข้างเคียงด้วย (paracrine) มี cytokine หลาย

ชนิดที่ผลิตจากเซลล์ osteoblast เช่น RANK-ligand, colony stimulating factor (CSF), interleukin-6 (IL-6) และ interleukin-11 มีผลต่อการรวมตัวของ osteoclast (recruitment) และในบางกรณีฮอร์โมนที่มาตามกระแสโลหิตก็มีผลต่อการสร้างสารเคมีเหล่านี้ เช่น PTH มีผลต่อการสร้าง IL-6, prostaglandin และ IGF เป็นต้น โปรตีนและสารเคมีต่างๆ ที่เซลล์ osteoblast ผลิตออกมาแล้วปล่อยออกมาจากเซลล์นั้น ถ้าเราสามารถตรวจวัดได้ เราสามารถจะทราบและติดตามขบวนการสร้างกระดูกได้

เซลล์ทำลายกระดูก (osteoclast)

เซลล์ osteoclast เป็นเซลล์ที่บวมขึ้นผิวกระดูก ทำหน้าที่ทำลายกระดูก มีลักษณะเฉพาะเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ มีนิวเคลียสหลายอัน (giant multinucleated cell) (รูปที่ 6) จะพบเซลล์เหล่านี้บนผิวกระดูก และใน Howship's lacuna อาจจะได้มากถึง 4 หรือ 5 ตัว ในตำแหน่งเดียวกัน ส่วนของเซลล์ที่เกาะติดกับผิวกระดูก จะมีลักษณะพิเศษเป็น ruffled border และที่ขอบนอกแต่ละข้างจะกลายเป็นแผ่นหนา เรียกว่า sealing zone ซึ่งการที่เซลล์จับกับเมทริกซ์ได้นั้น เนื่องจากมี integrin receptor ที่สามารถจับกับโปรตีนเมทริกซ์ได้



รูปที่ 6 เซลล์ Osteoclasts (*) ของ *Rattus norvegicus* ที่พบบริเวณ Howship's lacuna

เซลล์ osteoclast จะสร้างเอนไซม์สำหรับย่อยสลายโปรตีน เช่น tartrate - resistant acid phosphatase หรือ Cathepsin K เอนไซม์เหล่านี้จะถูกหลั่งออกมาผ่าน ruffled border เข้าสู่บริเวณที่จะทำลายกระดูก (extracellular bone-resorbing compartment) และบริเวณนี้มีความเข้มข้นของเอนไซม์สูง เนื่องจากที่ขอบนอกถูกปิดแน่น (sealing zone) นอกจากนั้นเซลล์ osteoclast ยังหลั่ง metalloproteinase อีกหลายชนิด เช่น collagenase และ gelatinase เป็นต้น

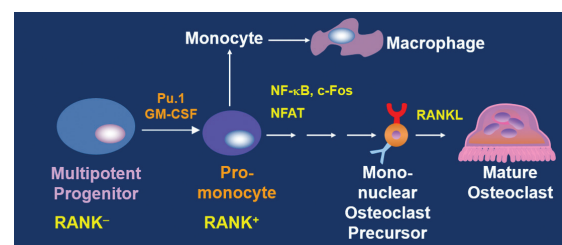
ส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ด้าน ruffled border มีลักษณะคล้ายเยื่อของ lysosome มี proton pump ทำหน้าที่หลั่ง proton ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปใน extracellular compartment ทำให้เกิดภาวะเป็นกรดขึ้น ทำหน้าที่คล้ายคลึงกับ tubule ของไต หรือเซลล์ parietal ของกระเพาะอาหารในการหลั่งกรดเข้าไปใน lumen บริเวณ extracellular compartment จะทำหน้าที่เหมือนกับ secondary lysosome คือ มี pH ต่ำ, มีเอนไซม์สำหรับย่อยและมีสารอาหาร ชั้นแรกจากภาวะที่เป็นกรดจะทำให้ผลึก hydroxyapatite ถูกละลายออกมาจากเส้นใยคอลลาเจน และส่วนของเส้นใยคอลลาเจนจะถูกย่อยสลายต่อไปด้วยเอนไซม์ collagenase หรือ Cathepsin K ภายใต้ภาวะที่เป็นกรด^(3, 4)

เป็นที่รู้กันแน่นอนแล้วว่า เซลล์ osteoclast มาจากระบบเม็ดเลือด hematopoietic stem cell โดยพัฒนามาจากเซลล์ที่เป็นสายพันธุ์ของ mononuclear / phagocytic ทั้งเซลล์ monocyte หรือ macrophage สามารถกลายเป็นเซลล์ osteoclast ได้ในภาวะที่เหมาะสม

เซลล์ osteoclast จะมี marker ที่เยื่อหุ้มเซลล์แตกต่างจากเซลล์อื่นๆ ที่สำคัญ คือ colony-stimulating factor 1 (CSF-1) receptor ซึ่งทำให้เราใช้แยกเซลล์นี้จาก macrophage ได้ ตัวอื่นๆ ที่สำคัญคือ calcitonin receptor, vitronectin receptor

เซลล์ osteoclast และการทำลายกระดูก (bone resorption)

เซลล์ osteoclast พัฒนามาจาก hematopoietic stem cell ภายใต้การควบคุมของ cytokine หลายชนิด เช่น M-CSF, IL-1, IL-11 และอื่นๆ



รูปที่ 7 การพัฒนาของ เซลล์ osteoclast

จากการค้นพบเมื่อเร็วๆ นี้ ของระบบ RANK/RANK-ligand เราพบว่าเป็นหนึ่งในระบบหลักที่ควบคุมการรวมตัวของเซลล์ osteoclast และการทำงานของมัน RANK เป็นสมาชิกในตระกูล tumor necrosis factor (TNF) ส่วน RANKL เป็นสมาชิกในตระกูล TNF-receptor⁽⁹⁾

Cytokine หลายชนิดมีผลต่อการพัฒนาและการทำงานของเซลล์ osteoclast และกระตุ้นการทำลายกระดูกในภาวะผิดปกติ เช่น การทำลายกระดูกในโรครูมาตอยด์ เราพบว่า pro-inflammatory cytokine เช่น IL-1, IL-6 และ TNF เป็นต้นเหตุที่สำคัญรวมทั้งระบบ RANK-RANKL ด้วย (รูปที่ 7) ⁽¹⁰⁻¹²⁾

Nitric oxide (NO) เป็นสารอีกชนิดหนึ่งที่มีผลต่อการทำงานของเซลล์ osteoclast เราเชื่อว่าระดับที่ต่างกันของ NO จะมีผลต่อฤทธิ์ของ cytokine เช่น IL-1 และ interferon-gamma (IFN- γ) ซึ่งเกี่ยวข้องกับขบวนการทำลายกระดูก เอ็นไซม์ที่ผลิต NO (nitric oxide synthase) มีหลายรูปแบบ (isoform) หนึ่งในนั้น (iNOS) สามารถกระตุ้นได้ด้วย cytokine และยับยั้งได้ด้วย สตีรอยด์

(3) การพัฒนาและการเจริญเติบโตของกระดูก

ระหว่างการเจริญเติบโต กระดูกจะขยายใหญ่ขึ้นในกระดูกแขนและขาจะเจริญโดยการเจริญเติบโตที่ epiphyseal plate ทำให้ความยาวเพิ่มขึ้น ขณะที่การเพิ่มของเส้นผ่าศูนย์กลางเกิดจากการงอกของกระดูกใหม่ในชั้นเยื่อหุ้มกระดูก ร่วมกับการกร่อนของชั้น endosteal

ระหว่างการพัฒนาและการเจริญเติบโตนั้น กระดูกจะถูกสร้างขึ้นโดยขบวนการใหญ่ๆ 2 วิธี^(1,2) คือ intramembranous ossification เช่นที่กะโหลกศีรษะ และ enchondral ossification เช่น ที่กระดูกแขนขา ความแตกต่างที่สำคัญระหว่างวิธีทั้งสอง คือ enchondral ossification จะมีช่วงสร้างกระดูกอ่อนด้วย (cartilaginous phase)

Intramembranous ossification นั้น เกิดจากกลุ่มเซลล์ mesenchymal พัฒนาและแบ่งตัวกลายเป็นเซลล์ osteoblast เซลล์ osteoblast จะสร้างเมทริกซ์ซึ่งมีลักษณะเฉพาะ คือ เส้นใยคอลลาเจนจะเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ เซลล์กระดูกมีขนาดใหญ่และจำนวนมาก การตกตะกอนแคลเซียมเกิดขึ้นช้าและไม่เป็นระเบียบ เราเรียกว่ากระดูก woven ที่ขอบรอบนอกเซลล์ mesenchymal จะแบ่งตัวไปเรื่อยๆ ขยายเป็นวงกว้างและเกิดขึ้นตอนเช่นเดิม หลอดเลือดที่อยู่ระหว่างกลางจะกลายเป็นไขกระดูก ซึ่งต่อมากระดูก woven นี้จะได้รับการปรับแต่งใหม่ตามขั้นตอน และกลายเป็นกระดูก lamellar ในที่สุด

Enchondral ossification แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน⁽¹⁾ ขั้นที่หนึ่ง การสร้างกระดูกอ่อนเป็นต้นแบบขึ้นก่อน เริ่มจากกลุ่มเซลล์ mesenchymal พัฒนาและแบ่งตัวกลายเป็นเซลล์ chondroblast เซลล์ chondroblast จะสร้าง

เมทริกซ์ที่บริเวณขอบนอกของกระดูกอ่อน (perichondrium) เซลล์ mesenchymal จะพัฒนาและแบ่งตัวต่อไปเรื่อยๆ เรียกว่า appositional growth นอกจากนี้ยังมีการเจริญเติบโตระหว่างเซลล์ chondrocyte คือ มีการสร้างเมทริกซ์ใหม่ๆ ขึ้น เรียกว่า interstitial growth ต่อมาเซลล์ chondrocyte จะขยายใหญ่ขึ้นๆ และตายในที่สุด (apoptosis) ขั้นที่สองเกิดการงอกของหลอดเลือดและการเติบโตตามแนวยาว (longitudinal growth) เนื่องจากกระดูกอ่อนของทารกนั้นไม่มีหลอดเลือดมาเลี้ยง การเจริญเติบโตในระยะแรกของกระดูกยาวจะเป็นแบบ intramembranous ossification เกิด woven bone ขึ้นที่ตรงกลางของกระดูกยาว และหลังจากตกตะกอนเกลือแคลเซียม แล้วจึงมีหลอดเลือดงอกทะลุกระดูกอ่อนเข้าไปเลี้ยง และเกิดเป็นไขกระดูกต่อไป บริเวณ epiphyseal plate หรือ growth plate จะมีการเรียงตัวของเซลล์เป็นชั้นๆ แบ่งเป็น proliferative zone มีการแบ่งตัวของเซลล์ chondroblast อย่างมาก และผลิตเมทริกซ์ออกมามาก เซลล์ chondroblast จะขยายตัวใหญ่ขึ้นๆ เข้าสู่ hypertrophic zone และต่อมาเซลล์ก็จะตาย (apoptosis) ที่ระดับนี้ส่วนของเมทริกซ์ที่เป็นผนังกันระหว่างกระดูกอ่อนจะมีการตกตะกอนเกลือแคลเซียม จึงเรียกว่า zone of provisional calcification และเมื่อมีการตกตะกอนเกลือแคลเซียม เมทริกซ์จะถูกสลายไปโดยเซลล์ osteoclast และจะมีหลอดเลือดงอกเข้ามาเรียกว่า zone of invasion ต่อมาจะเกิดเซลล์ osteoblast และมีการแบ่งตัว สร้างกระดูก woven bone ทับบนชั้นกระดูกอ่อนที่สลายไปอีกทีหนึ่ง เมื่อเสร็จสมบูรณ์ตามลำดับขั้นตอนแล้ว กระดูกอ่อนทั้งหมดจะได้รับการปรับแต่งใหม่ (remodeling) และทดแทนด้วย woven bone เรียกกระดูก trabecular ตอนนี้อยู่ที่ primary spongiosa ส่วน woven bone ที่อยู่ต่ำกว่า growth plate จะยังคงมี remodeling ต่อไปอีก และถูกทดแทนด้วย lamellar bone ทำให้ได้กระดูก trabecular ที่สมบูรณ์เรียกว่า secondary spongiosa ขั้นตอนที่สาม การเติบโตทางด้านกว้างและการปรับแต่งรูปร่างกระดูก (modeling) การขยายตัวตามแนวรัศมีของกระดูกยาวนั้นเกิดจากการสร้างกระดูกใหม่ได้เยื่อหุ้มกระดูกซึ่งเกิดขึ้นตลอดชั่วอายุขัย ในกรณีนี้ไม่มีการสลายกระดูกนำมาก่อนการสร้าง เนื่องจากกระดูกส่วน diaphysis มีความกว้างน้อยกว่า metaphysis ดังนั้น ในขณะที่กระดูกยาวเจริญเติบโตจะต้องมีการทำลายกระดูก metaphysis ส่วนล่าง เพื่อให้เรียวยาวลงกลายเป็น diaphysis ซึ่งเกิดจาก

เซลล์ osteoclast ที่อยู่ใต้เยื่อหุ้มกระดูก คอยทำหน้าที่สลายกระดูกอย่างสม่ำเสมอ

ความผิดปกติในขบวนการเจริญเติบโตของกระดูกนี้สามารถเกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรมในด้านการสร้างเมทริกซ์ หรือกลไกการสื่อสารสัญญาณระดับเซลล์ (cellular signaling pathways) ผิดปกติก็ได้

สาร parathyroid-related peptide (PTHrP) และ fibroblast growth factor (FGF) เกี่ยวข้องกับการพัฒนากระดูกอ่อน (cartilage differentiation) ถ้าเกิดความผิดปกติในการสร้างสารทั้งสองหรือมีความผิดปกติที่ receptor จะทำให้เกิดโรค chondrodysplasia^(3, 4)

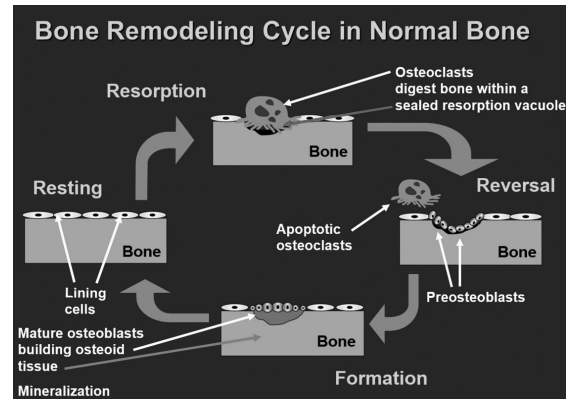
หลังจากที่กระดูกเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว ขบวนการปรับแต่งกระดูกใหม่ (remodeling) จะยังคงดำเนินต่อไปเกิดขึ้นทั้งในกระดูก cortex และ trabecular โดยในกระดูก cortex จะมีการปรับแต่งกระดูกใหม่ในอัตราต่ำ (ร้อยละ 2 ต่อปี) ส่วนกระดูก trabecular จะเกิดมากกว่าหลายเท่า (ร้อยละ 10 ต่อปี) การที่มีขบวนการ remodeling เพื่อให้กระดูกสามารถปรับแต่งตามการเปลี่ยนแปลงของแรงกลต่างๆ เพื่อซ่อมแซมกระดูกที่ได้รับอันตรายเล็กๆ น้อยๆ การเปลี่ยนแปลงของปริมาณมวลกระดูก (bone mass) หรือคุณภาพของกระดูก (bone quality) เกิดจากความผิดปกติของขบวนการปรับแต่งกระดูก (modeling) ในระหว่างการเจริญเติบโต หรือความผิดปกติของขบวนการปรับแต่งกระดูกใหม่ (remodeling) ในวัยผู้ใหญ่ก็ได้⁽³⁾

(4) การปรับแต่งกระดูกใหม่ (bone remodeling)

ดังที่กล่าวไว้แล้ว เซลล์กระดูกทั้งหลายจะทำงานอยู่บนผิวกระดูก ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ด้าน endosteal (หรือด้านที่ติดกับไขกระดูก) การทำงานของเซลล์จะทำให้เกิดการปรับแต่งกระดูก ซึ่งเป็นขบวนการที่ทำให้เกิดกระดูกเจริญเติบโต และมีการหมุนเวียน (turnover) การสร้างและทำลายกระดูกบนผิวกระดูกนี้ไม่ได้เกิดแบบเลือกสุ่มตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่ง แต่เป็นส่วนหนึ่งในขบวนการพัฒนาและเจริญเติบโตของกระดูก และเป็นกลไกที่สำคัญที่สุดในขบวนการหมุนเวียนกระดูก เพื่อทดแทนกระดูกเก่าด้วยกระดูกใหม่ ตำแหน่งที่มีการปรับแต่งกระดูกใหม่เรียกว่า basic multicellular unit (BMU) ขบวนการนี้จะมีการที่แน่นอนเรียกว่า remodeling cycle แต่ละวงจรจะกินเวลา 180-200 วัน (รูปที่ 8) และแบ่งได้เป็น 4 ระยะ คือ⁽³⁾

1. ระยะพัก (resting stage)
2. ระยะทำลายกระดูก (resorption)

3. ระยะเปลี่ยนกลับเป็นตรงข้าม (reversal)
4. ระยะสร้างกระดูก (formation)



รูปที่ 8 วงจรของการปรับแต่งกระดูกใหม่ (remodeling cycle) ซึ่งแบ่งเป็น 4 ระยะ:

ระยะพักหรือระยะเริ่มต้น เซลล์ที่เรียงตัวอยู่บนผิว (lining cells) จะถูกกระตุ้นให้เปลี่ยนแปลงโดยแรงกล หรือการแตกร้าวของกระดูก (microcrack) หรือโดยฮอร์โมน หรือ local factor ซึ่งเป็นการกระตุ้นให้เริ่มวงจรปรับแต่งกระดูกใหม่ (รายละเอียดจะกล่าวในภายหลัง)

ระยะทำลายกระดูก เซลล์ทำลายกระดูกจะเข้ามาแล้วย่อยสลายกระดูกทั้งส่วนที่เป็นสารอินทรีย์ และอนินทรีย์ใช้เวลาประมาณ 2-3 สัปดาห์ ทำให้เกิดหลุมหรือแอ่งกระดูกบนผิวกระดูก เรียกว่า Howship's lacuna

ระยะเปลี่ยนกลับ จะมีเซลล์ mononuclear ลักษณะคล้าย macrophage เข้ามาอยู่ในแอ่งกระดูก เซลล์จะสร้างเส้นซีเมนต์ (cement line) เพื่อเป็นเครื่องหมายจำกัดการทำลายกระดูกไม่ให้เกินเลยไป และยังเป็นซีเมนต์เชื่อมประสานกระดูกเก่ากับกระดูกใหม่ ระยะนี้ใช้เวลา 7-10 วัน ขบวนการนี้อาจจะถูกควบคุมด้วย growth factor ที่ปล่อยมาจากเมทริกซ์ก็ได้

ระยะสร้างกระดูก เซลล์สร้างกระดูกจะเข้ามาและสร้างเมทริกซ์ ที่เรียกว่า osteoid ขึ้นใหม่ เติบโตในหลุมจนเต็ม ซึ่งต่อมาจะมีขบวนการตกตะกอนเกลือแคลเซียมลงใน osteoid ใหม่ เพื่อให้เป็นกระดูกที่สมบูรณ์ต่อไป ระยะนี้จะใช้เวลานานหลายเดือน โดยเฉลี่ยประมาณ 150 วัน

ในระหว่างวัยผู้ใหญ่ ขบวนการ remodeling จะเกิดขึ้นต่อเนื่องตลอดเวลา วงจร remodeling cycle ทั้งที่กระดูก cortex และ trabecular จะเป็นขั้นตอนเรียงลำดับเหมือนกันในระดับเซลล์ ระยะแรกเริ่มต้นจากการทำลายกระดูกโดยเซลล์ osteoclast แล้วตามด้วยระยะการสร้างกระดูกโดยเซลล์ osteoblast ซึ่งใช้ระยะเวลามากกว่าระยะแรกมาก ปริมาณของกระดูกที่สร้างขึ้นใหม่จะใกล้เคียง

กับปริมาณกระดูกที่ถูกทำลายไป ดังนั้นในแต่ละวงจร ปริมาณรวมของกระดูกทั้งหมดจะคงที่เท่าเดิมเสมอ เราเรียกว่ากลไกคู่ควบ (coupling mechanism) ธรรมชาติของกลไกคู่ควบนี้ เรายังไม่ทราบในรายละเอียดมากนัก แต่มีความสำคัญมาก เพราะว่าแม้จะมีการรบกวนเพียงเล็กน้อยก็ทำให้เกิดภาวะผิดปกติขึ้นได้ ทั้งภาวะกระดูกบาง (osteopenia) และกระดูกหนา (osteosclerosis) และยิ่งจะช่วยให้เรารักษาภาวะกระดูกพรุน (osteoporosis) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งในปัจจุบันการเพิ่มมวลกระดูกในภาวะนี้ยังทำได้ในขีดจำกัดมาก

ขบวนการ remodeling นั้น เราทราบกันดีแล้วว่า เริ่มต้นจากกระดูกต้นเซลล์ osteoclast ตามด้วยการเติมช่องว่าง (resorption cavity) ให้เต็มโดยเซลล์ osteoblast แต่การควบคุมขั้นตอนเหล่านี้เรายังเข้าใจได้เพียงบางส่วน มี cytokine และ growth factor หลายชนิดเข้าไปเกี่ยวข้อง

การควบคุมขบวนการสร้างและทำลายกระดูก อาจจะเป็นผลจาก growth factor ที่อยู่ในเมทริกซ์ วิธีการควบคุมเกิดขึ้นได้โดย growth factor ไปจับกับโปรตีนในเมทริกซ์ เช่น FGF ไปจับกับ heparin-like glycosaminoglycan ซึ่งอาจจะเป็นกลไกที่ควบคุมปฏิกิริยาตอบสนองที่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งในกระดูก

อีกวิธีหนึ่งคือการทำงานแบบปฏิสัมพันธ์กันระหว่างเซลล์กระดูกทั้งสอง โดยที่เซลล์ osteoblast สร้างเอ็นไซม์ย่อยโปรตีน เช่น plasminogen activator (PA) เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารทำลายกระดูก (bone-resorbing agent) ซึ่งขบวนการสลายโปรตีน (proteolysis) ของชั้นผิวเมทริกซ์ อาจจะเป็นขั้นตอนที่สำคัญ เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับเซลล์ osteoclast ที่จะเข้ามาทำลายกระดูก (เราพบสารหลายชนิดที่กระตุ้นการทำลายกระดูก เช่น retinoid, PTH, วิตามินดี, IL-1 สามารถจะกระตุ้นการผลิต PA โดยเซลล์ที่คล้าย osteoblast ได้ด้วย) อีกกลไกหนึ่งที่อาจจะเกี่ยวข้อง คือ เซลล์ osteoblast ที่เรียงเป็นชั้นอยู่ตรงผิวกระดูก เกิดการหดตัวของเซลล์เมื่อมีการหลั่ง PTH ทำให้เกิดช่องทางผ่านให้เซลล์ osteoclast เข้าไปได้

โปรตีนที่อยู่ในเมทริกซ์เอง โดยเฉพาะโปรตีนชนิด non-collagen สามารถควบคุมการทำงานของเซลล์ได้ เช่น osteocalcin, matrix Gla protein และ osteopontin อาจจะเป็นสารที่ดึงดูดให้เซลล์มารวมตัวกันที่ผิวกระดูก โปรตีนเมทริกซ์หลายชนิด เช่น collagen, osteonectin และ osteopontin ตรงตำแหน่งที่จับกับ receptor มีกรดอะมิโนเรียงตัวกันตามลำดับ Arg-Gly-Asp (RGD) ซึ่ง

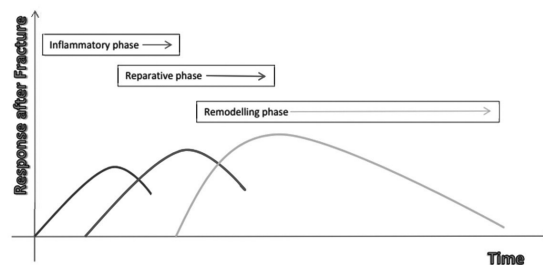
สามารถจับ integrin ซึ่งเป็น transmembrane receptor ที่อยู่บนผิวเซลล์กระดูกได้⁽⁴⁾

บทบาทของ apoptosis ในการควบคุม bone turnover

Apoptosis หรือ program cell death เป็นขบวนการที่สำคัญมากที่จะควบคุมอายุขัยของเซลล์กระดูกทั้งหลาย ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ bone turnover ทั้งในภาวะปกติและภาวะที่เป็นโรค การศึกษาค้นคว้าและทำความเข้าใจในเรื่องนี้จึงสำคัญมาก ยาที่มีผลข้างเคียงต่อกระดูก เช่น สเตียรอยด์ อาจเกิดจากยาไปกระตุ้น osteocyte apoptosis ในขณะที่ยาที่ยับยั้งการทำลายกระดูก เช่น เอสโตรเจน และบิสฟอสโฟเนต อาจจะทำให้อายุขัยของเซลล์ osteoclast สั้นลง⁽¹³⁾

(5) ขบวนการสมานกระดูก

ขบวนการสร้างกระดูกใหม่ หรือการสมานกระดูกหัก เป็นขบวนการที่ซับซ้อน และมีลำดับขั้นตอนที่ชัดเจน สามารถแบ่งออกได้ 3 ช่วง คือ ช่วงอักเสบ ช่วงซ่อมแซม และช่วงปรับแต่งกระดูก⁽¹⁴⁾



รูปที่ 9 ขบวนการสร้างกระดูกใหม่แบ่งเป็น inflammatory, reparative และ remodelling phases.

ในช่วงเวลาที่กระดูกได้รับแรงปะทะ (impact) ซึ่งเกิดรวดเร็วมากในช่วงเสี้ยววินาที ตามกฎของพลังงาน พลังงานจลน์ที่เกิดขึ้นจะถูกดูดซับด้วยกระดูกและเนื้อเยื่อข้างเคียงทั้งหมด จะเกิดการทำลายเนื้อเยื่อต่างๆ ซึ่งจะชอกช้ำมากน้อยต่างกันไปตามขนาดและทิศทางของแรงกระทำ หลอดเลือดที่ไปเลี้ยงกระดูกจะฉีกขาดตรงตำแหน่งที่หักนั้นและเกิดก้อนลิ่มเลือด (hematoma) ขึ้นในเวลาต่อมา ในอดีตเชื่อว่าลิ่มเลือดที่เกิดขึ้นจะทำหน้าที่ช่วยยึดให้ตำแหน่งหักมั่นคงในช่วงแรก โดย fibrin ในลิ่มเลือดประสานเรียงตัวกันเป็นร่างแห หุ้มปลายทั้งสองของกระดูกไว้ แต่จากการศึกษาค้นคว้าทางด้านชีวโมเลกุล เราทราบว่าลิ่มเลือดเป็นตัวสำคัญในการผลิตสารต่างๆ ที่จะส่งสัญญาณให้เซลล์ต่างๆ ทำงานตามขั้นตอนของการสมานกระดูก⁽¹⁴⁾ คือ เซลล์

เม็ดเลือดขาวจะหลั่ง cytokine หลายชนิด⁽¹⁵⁾ เช่น IL-1, IL-6 ซึ่งทำหน้าที่สำคัญในระยะเริ่มแรกของขบวนการ และเกล็ดเลือดในลิ่มเลือดจะปล่อยสารส่งสัญญาณ พวก growth factor เช่น TGF- β , PDGF ซึ่งทำหน้าที่สำคัญในการควบคุมการแบ่งตัวและการพัฒนาของเซลล์ต้นแบบ (mesenchymal stem cell)⁽¹⁶⁾ นอกจากนั้นยังผลิตสารอื่นๆ ที่กระตุ้นให้เกิดขั้นตอนต่อไปของขบวนการ เช่น กระตุ้นให้เกิดการงอกของหลอดเลือด (angiogenesis) การดึงดูดเซลล์ต่างๆ เข้ามา (chemotaxis) เป็นต้น (ในบางตำราจะแบ่งขบวนการสมานกระดูกเป็น 4 ช่วง โดยนับเอาช่วงปะทะนี้เป็นช่วงที่ 1) ภายหลังจากแรงปะทะทำให้กระดูกหักและเกิดลิ่มเลือดแล้ว ก็เข้าสู่ขบวนการสมานกระดูกช่วงแรก คือ

1. ช่วงอักเสบ (inflammation) จะเกิดขึ้นทันทีหลังกระดูกหัก และคงอยู่ประมาณ 48-72 ชม. เป็นช่วงปฏิกิริยาตอบสนองของเซลล์และหลอดเลือด หลังจากเกิดลิ่มเลือดตรงปลายกระดูกหักแล้ว ต่อมาจะมีเนื้อเยื่อ granulation เข้าไปแทนที่ลิ่มเลือด จากนั้นจะมีการขยายตัวของหลอดเลือดบริเวณนั้น และมีการระดมเซลล์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการอักเสบ รวมทั้งตัวอ่อนของเซลล์กระดูกทั้งหลายเข้ามาตรงตำแหน่งดังกล่าวจำนวนมาก เซลล์ macrophage และเซลล์เม็ดเลือดขาวจะกำจัดเนื้อเยื่อตายทั้งหลาย รวมทั้ง granutoma ที่สร้างขึ้นใหม่ด้วย

2. ช่วงซ่อมแซม (reparative) จะเกิดตามหลังช่วงอักเสบ คือ ในวันที่ 3 และจะใช้เวลาประมาณ 6 ถึง 8 สัปดาห์ การซ่อมแซมกระดูกจะเกิดจากวิธี 2 แบบผสมกัน คือ intramembranous และ endochondral bone formation ในช่วงนี้ยังแบ่งย่อยออกได้เป็น 4 ขั้นตอน คือ การสร้างกระดูกอ่อน (cartilage formation) การตกตะกอนแคลเซียมในกระดูกอ่อน (cartilage calcification) การเคลื่อนย้ายกระดูกอ่อนออก (cartilage removal) และการสร้างกระดูกขึ้นทดแทนกระดูกอ่อน (bone formation) ในบางตำราจะแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการสร้างกระดูกอ่อนขึ้นมาก่อน เรียกว่า soft callus และขั้นตอนที่สร้างกระดูกเข้าไปแทนที่กระดูกอ่อน เรียกว่า hard callus ระยะเวลาระหว่างขั้นตอนทั้ง 2 อาจจะแยกกันยาก เนื่องจากอัตราการซ่อมแซมกระดูกที่ตำแหน่งต่างๆ กันของปลายกระดูกหักจะไม่เท่ากัน บางครั้งอาจจะเห็นทั้งสองชนิดในเวลาเดียวกัน เช่น callus ที่พอกอยู่รอบนอกของกระดูกหักซึ่งมักจะเป็นกระดูกอ่อน แต่ตำแหน่งที่ชิดกับปลายกระดูกหักเป็นกระดูกแล้ว เพื่อให้ง่ายเราจะนิยามระยะ soft

callus ว่าเริ่มต้นเมื่ออาการปวดบวมหายหมดแล้ว และสิ้นสุดเมื่อปลายกระดูกหักเชื่อมติดกันด้วยเยื่อพังผืดหรือกระดูกอ่อน และกระดูกไม่เคลื่อนไหวแล้ว ซึ่งเมื่อจบระยะนี้แล้วจะสามารถป้องกันการหลุดล้ม หรือกระดูกโก่งงอได้ ตัวอย่างที่เห็นชัดเจน คือกระดูกต้นขาหักในเด็กที่มี soft callus พอรอบๆ กระดูกขนาดใหญ่ จนสามารถคลำก้อนได้แต่ภาพถ่ายรังสีจะมองไม่เห็นชัดเจน

ประมาณกลางสัปดาห์ที่ 2 หลังกระดูกหักจะเห็นกระดูกอ่อนพอกอยู่เต็มปลายกระดูกหัก โดยต่อเนื่องจากช่วงอักเสบสาร cytokine และ growth factor ต่างๆ จะหลั่งออกจากเซลล์เม็ดเลือด และเกร็ดเลือดจะเหนียวนำไปให้เซลล์ต้นแบบ (mesenchymal stem cell) พัฒนากลายเป็นเซลล์ chondroblast และมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างมาก ต่อมาเซลล์ chondroblast จะสร้างโปรตีนที่เรียกว่าเนื้อเยื่อ chondroid ออกมารอบๆ ปลายกระดูกหัก และมีสภาวะด้านชีวเคมีที่พร้อมจะให้มีการตกตะกอนเกลือแคลเซียม (cartilage calcification หรือ calcification of fracture callus) ซึ่งการตกตะกอนเกลือแคลเซียมนี้จะเกิดขึ้นด้วยกลไกที่เหมือนกับการเจริญเติบโตของ growth plate ลักษณะ soft callus ที่เกิดขึ้นจะยึดปลายกระดูกหักให้ติดกันได้ระดับหนึ่ง การสร้าง soft callus จะมากหรือน้อยยังขึ้นกับสภาพแวดล้อมภายนอกหรือปัจจัยเชิงกลด้วย เช่นในภาวะที่มีการเคลื่อนไหวมากๆ หรือภาวะขาดออกซิเจนจะกระตุ้นให้สร้างกระดูกอ่อนมาก

เมื่อกระดูกอ่อนมีการตกตะกอนเกลือแคลเซียมแล้วจะมีการกระตุ้นให้เกิดขบวนการ angiogenesis มีหลอดเลือดงอกเข้าไปที่ก้อน callus หลอดเลือดที่งอกใหม่จะพาเซลล์ที่อยู่รอบๆ หลอดเลือด (perivascular cell) ตามเข้าไปด้วย ซึ่งเป็นเซลล์ต้นแบบของเซลล์สร้างกระดูกก่อนจะเกิดขบวนการสร้างกระดูกหรือสร้าง hard callus จะต้องเคลื่อนย้ายหรือสลายกระดูกอ่อนก่อนโดยเซลล์ osteoclast ซึ่งมีต้นกำเนิดจากเซลล์ต้นแบบที่อยู่ในหลอดเลือด (hematopoietic stem cell) เมื่อสลายกระดูกอ่อนเสร็จแล้วจึงกระตุ้นเซลล์ต้นแบบ (mesenchymal stem cell) ที่อยู่รอบๆ ให้พัฒนาเป็นเซลล์ osteoblast แล้วสร้างกระดูกขึ้นแทนที่มีลักษณะเป็น woven bone ซึ่งคล้ายคลึงกับ secondary spongiosa ของ growth plate เมื่อจบขั้นตอนนี้หมายถึงกระดูกหักถูกเชื่อมติดแล้ว

3. ระยะปรับแต่งกระดูก (remodeling phase) หลังจากที่เกิด callus แล้วจะเริ่มมีการทำลายกระดูกจากเซลล์ osteoclast และจะมีการสร้างกระดูกขึ้นใหม่จาก

เซลล์ osteoblast ซึ่งในกระดูกที่หักแล้วนานๆ จะสังเกตว่า ขนาดของ callus จะลดลง ทั้งนี้ก็เนื่องจากขบวนการของการปรับแต่งกระดูก นั้นเอง ซึ่งเป้าหมายของการปรับแต่งกระดูกก็เพื่อการจัดระเบียบหรือแต่งโครงสร้างของกระดูกชิ้นใหม่ เช่น จากเดิมที่ส่วนประกอบเรียงตัวกันไม่เป็นระเบียบ ก็จัดให้มีการเรียงตัวกันให้เป็นระเบียบ ซึ่งขนาดก็จะเล็กลงแต่จะแข็งแรงมากขึ้น การทำงานของเซลล์ osteoblast ต้องทำงานร่วมกับเซลล์ osteoclast และต้องทำงานร่วมกันอย่างสมดุลและเหมาะสม เซลล์ osteoclast จะทำหน้าที่ทำลายกระดูก จากนั้นเซลล์ osteoblast จะตามไปสร้างกระดูก วนเวียนไปมาเรื่อยๆ จนได้กระดูกชิ้นตามที่ต้องการ โดยระยะของการสมานกระดูกหักที่ยาวที่สุดคือระยะปรับแต่งกระดูกซึ่งอาจกินเวลาถึง 2 ปี ส่วนระยะอีกเสบจะเป็นระยะที่สั้นที่สุด

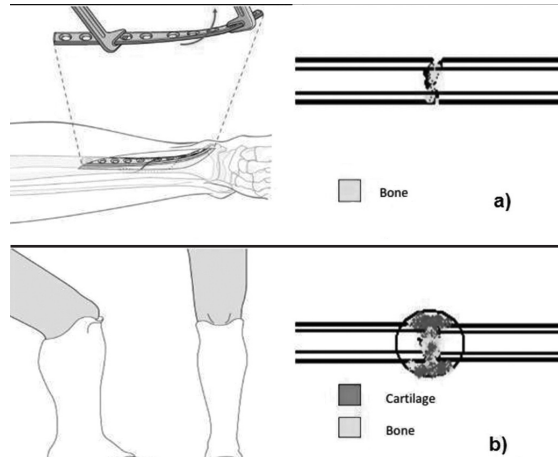
(6) ชนิดของการสมานกระดูก

การสมานกระดูกปฐมภูมิ (primary bone healing)

เป็นการสมานที่ไม่ได้เกิดขึ้นตามธรรมชาติ โดยเกิดจากการยึดตรึงกระดูกไว้อย่างแน่นหนา (rigid fixation) เช่น การใส่ plate and screws (รูปที่ 10a) โดยการจะเกิดการสมานชนิดนี้ได้ นอกจาก rigid fixation แล้ว ยังต้องมีการสัมผัส (contact) และแรงกด (compression) ตรงรอยต่อของกระดูกหักอีกด้วย ในการสมานแบบนี้จะไม่พบ callus ตำแหน่งกระดูกหักจะเชื่อมกันจากภายในโดยตรง โดยเซลล์ osteoclast จะขุดนำโพรง แล้ว osteoblast จะสร้างกระดูกไปตามทางเป็นไปในลักษณะของ cutting cone โดยที่ไม่ปรากฏการสมานกระดูกออกมานอกเปลือกกระดูก

การสมานกระดูกทุติยภูมิ (secondary bone healing)

เป็นการสมานที่เกิดตามธรรมชาติ โดยจะเห็น callus มาพอรอบๆ กระดูก (รูปที่ 10b) พบว่าถ้ามีการเคลื่อนไหวของปลายกระดูกที่เหมาะสม คือไม่มากเกินไป และไม่น้อยเกินไป จะยิ่งกระตุ้นให้เกิด callus มากๆ ได้ ส่วนมากการเคลื่อนไหวนี้จะไม่เห็นด้วยตาเปล่า โดยจะเป็นในระดับจุลภาค (micromotion) พบว่าในปริมาตรกระดูกเท่าๆ กัน primary bone healing จะแข็งแรงกว่า secondary bone healing แต่ถ้าคิดโดยรวมแล้ว secondary bone healing จะแข็งแรงกว่า (เนื่องจากมีปริมาตร มากกว่า)



รูปที่ 10 ชนิดของการสมานของกระดูกหลังจากการหัก แบ่งได้เป็น (a) primary bone healing เกิดขึ้นภายใต้ absolute stability เช่นการรักษาโดยการผ่าตัดดามด้วยแผ่นโลหะ และ (b) secondary bone healing เกิดขึ้นภายใต้ relative stability เช่น การรักษาโดยการใส่ฝืดอก

(7) ชีวกลศาสตร์ของกระดูก (Biomechanics of bone)

หน้าที่สำคัญอันดับแรกของโครงกระดูก คือ เป็นโครงสร้างสำหรับค้ำจุนร่างกาย โดยมีบทบาทคือรักษารูปร่างให้คงเดิม เป็นตัวต้านแรงหดตัวของกล้ามเนื้อ เพื่อให้ร่างกายเกิดการเคลื่อนไหว เป็นตัวรับแรงกลที่กระทำต่อร่างกาย และป้องกันอวัยวะภายในที่สำคัญ โครงกระดูกที่แข็งแรงนั้นอาจจะเสียคุณสมบัติไปได้ ในกรณีที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรม เช่น โรค osteogenesis imperfecta หรือ โรคทางเมตาบอลิก เช่น Paget's disease หรือแม้กระทั่ง aging process เช่นโรคกระดูกพรุน เป็นต้น การเข้าใจกรอบความคิดพื้นฐานเกี่ยวกับคุณสมบัติของกระดูกในเชิงชีวกล จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อให้เราเข้าใจปัจจัยเสี่ยงที่มีต่อความแข็งแรงของโครงกระดูก⁽¹⁷⁾

แรงต้าน (Strain)

เมื่อมีแรงกระทำต่อมวลสาร เช่นกระดูก จะทำให้เกิด विकูลรูป ขนาดความยาวหรือปริมาตรที่เปลี่ยนรูปไป เมื่อเทียบกับความยาวเดิม เรียกว่า Strain

Strain นั้นไม่มีหน่วย เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงความยาวเมื่อเทียบกับความยาวเดิม ($E = \Delta L/L$) เมื่อมวลสารถูกดึงหรือยืดออก จะมีความยาวมากขึ้น (tensile strain) เมื่อถูกกดหรืออัดเข้าหากัน ความยาวจะสั้นลง (compressive strain) ถ้าหากแนวแรงกระทำนั้นเกิดในลักษณะทำมุมกับมวลสาร เมื่อแตกแนวแรงจะพบว่ามวลสารมีการ विकูลรูปตามแรงขนานมากกว่าแรงกด ทำให้ชั้นผิวนอกของมวลสารไถลเลื่อนออกจากชั้นล่าง (shear

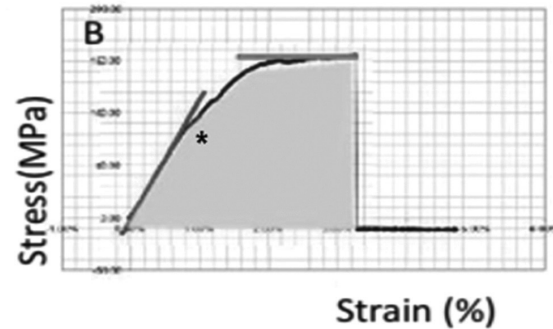
strain) ซึ่งอาจจะเกิดได้ในกรณีของแรงบิด (torsion) หรือแรงงอ (bending)(18) สำหรับกระดูกของคนเราสามารถทนต่อแรงเค้นได้สูงสุดดังนี้ สำหรับแรงกด สามารถรับได้สูงสุดถึง 3500 microstrain ($\mu\epsilon$) หรือ 0.35% strain คือความยาวจะหดสั้นลงร้อยละ 0.35 สำหรับแรงยืดเท่ากับ $1000 \mu\epsilon$ และสำหรับแรงเฉือน (shear) เท่ากับ $1500 \mu\epsilon$ ค่า peak strain สำหรับสัตว์มีกระดูกสันหลังทั้งหลายจะมีค่าใกล้เคียงกัน แม้ว่าสัตว์แต่ละชนิดจะมีการเคลื่อนไหวและอิริยาบถที่ต่างกัน

แรงเครียด (stress)

ในการพิจารณาคุณสมบัติของกระดูกโดยใช้แรงกล ไม่ว่าจะเป็นแรงดึงหรือแรงกด เพื่อช่วยให้เราสามารถเปรียบเทียบมวลสารอื่นๆ หรือใช้เทียบกับการทดลองอื่นๆ เรา นิยมที่จะรายงานขนาดของแรงในลักษณะ ต่อพื้นที่หน้าตัดของมวลสาร นั่นคือแรงต่อพื้นที่หน้าตัดเท่ากับแรงเครียด ($\delta = \text{force} / \text{area}$) ซึ่งมีหน่วยเป็นนิวตันต่อตารางเมตร (Nm^{-2}) หรือ ปาสคาล (Pa) เพื่อให้เห็นภาพชัดเจนมากขึ้น stress หนึ่งปาสคาล (1 Pa) จะประมาณน้ำหนักของส้มหนึ่งผลวางอยู่บนโต๊ะมีหน้าตัดเท่ากับหนึ่งตารางเมตร ในขณะที่มาแข่งกำลังควด้วยความเร็วสูง มี compressive stress เกิดขึ้นที่ metatarsus ที่ 3 เท่ากับ 63 MPa ⁽¹⁹⁾ ให้นึกถึงส้ม 63 ล้านผลวางบนโต๊ะตัวเดิม

โมดูลัส (Modulus)

ขนาดของมวลสารที่เปลี่ยนรูปไปไม่ได้ขึ้นอยู่กับแรงและโมเมนต์ (เป็นผลที่เกิดจากแรงหมุนหรือแรงบิด หรือ $M = \text{Nm}$) เท่านั้น แต่ยังขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของมวลสารด้วย(20) สำหรับกระดูก ความเหนียว (stiffness) ขึ้นอยู่กับสัดส่วนระหว่างผลึก hydroxyapatite กับเส้นใยคอลลาเจน ในการทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อหาคุณสมบัติของกระดูก ในช่วงแรกเมื่อเราเพิ่ม stress จะมีการเพิ่มขึ้นของ strain ในลักษณะเป็นกราฟเส้นตรง (รูปที่ 11) เราเรียกช่วงนี้ว่า elastic เมื่อเราเอาแรงกระทำออกไป สารนั้นจะกลับคืนสู่สภาพเดิมทั้งขนาดและรูปร่างในทันทีโดยไม่เกิดความเสียหายในมวลสารใดๆ ความสัมพันธ์ชนิดเส้นตรงระหว่าง strain และ stress เราเรียกว่า Hooke's law ($E = \delta / \epsilon$, โดยที่ E เท่ากับ elastic modulus)



รูปที่ 11 *nsaw stress-strain curve*; เส้นสีแดงคือความชัน หรือ modulus of elasticity, จุด * คือ Yield failure, เส้นทึบคือ Ultimate failure และพื้นที่ใต้กราฟสีเทา คือ Toughness

ความชัน (slope) ในช่วง elastic ของกราฟ stress-strain curve คือความเหนียว (stiffness) ของมวลสารนั้นๆ หรือเรียกว่า modulus of elasticity ถ้าความชันยิ่งมาก แสดงว่ามวลสารยิ่งมีความเหนียวมาก

กระดูกเป็นสารชนิด anisotropic คือคุณสมบัติทางด้านกลในแต่ละทิศทางของแรงกระทำแตกต่างกัน เช่น กระดูก cortical ที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว จะมี modulus เท่ากับ 18 GPa ในแนวแรงตามยาว เท่ากับ 12 GPa ในทิศทางตามขวาง และเพียง 33 GPa ในทิศทางแรงเฉือน (shear) สำหรับกระดูก cancellous นั้นซับซ้อนมากขึ้น ขึ้นอยู่กับการเรียงตัวของ trabeculae (orientation), การเชื่อมติดของ trabeculae (connectivity) และความหนาแน่น (density) เหล่านี้ล้วนมีผลต่อความเหนียวของกระดูกและทำให้ elastic modulus ลดต่ำลง

Yield failure

เมื่อการเพิ่มขึ้นของ strain ไม่เป็นสัดส่วนกับ stress แล้ว นั่นคือสิ้นสุดของช่วง elastic แต่ก็ยังคงมีความสามารถที่จะกลับคืนสู่สภาพเดิมได้ เรียกช่วงนี้ว่า plastic เมื่อมี stress ต่อมวลสารจนถึงช่วง plastic นี้ มีการเสียหายอย่างถาวรเกิดขึ้นภายใน จุดต่อระหว่างช่วง elastic และ plastic เรียกว่า yield failure สำหรับกระดูก yield failure จะทำให้เกิดการแตกร้าวในโครงสร้างระดับจุลภาค (ultra-structure microcrack) ของผลึก hydroxyapatite และมีการฉีกขาดของเส้นใยคอลลาเจน ค่า yield strain ของกระดูก cortical มีค่า $6800 \mu\epsilon$ นั่นคือ มี safety factor เท่ากับ 2 หมายความว่าภายใต้ภารกิจและการเคลื่อนไหวต่างๆ ในชีวิตประจำวันทำให้เกิด strain สูงสุด (peak strain) ซึ่งมีค่าเท่ากับครึ่งหนึ่งที่จะทำให้กระดูกมีการเสียหายถาวร yield stress มีค่า 130 MPa หมายความว่าต้องมีส้ม 130 ล้านผลอยู่บนโต๊ะ จึงจะทำให้ผิวโต๊ะเริ่มแตกร้าว

Ultimate failure

ถ้ายังมีแรงกระทำอย่างต่อเนื่องในช่วง plastic ในที่สุดมวลสารก็จะถึงจุด ultimate failure คือ แตกเสียหายหมด จุดที่กระดูกแตกหรือหัก ค่า ultimate strain เท่ากับ $15,000 \mu\text{E}$ สำหรับ tension หรือ ultimate stress เท่ากับ 140 MPa สำหรับ tension, 200 MPa สำหรับ compression และ 65 MPa สำหรับ shear เนื่องจากคุณสมบัติที่ทนต่อแนวแรงกระทำต่างกัน จึงทำให้เราเข้าใจได้ง่ายขึ้นว่ากระดูกหักนั้นมักเกิดจาก tensile failure หรือ shear failure

ขนาดของ strain ที่อยู่ระหว่าง yield failure และ ultimate failure เรียกว่า ductility นั่นคือ ความสามารถของมวลสารที่จะต้านทานการเกิดแตกร้าวในมวลสาร สารชนิด ductile ก็คือสารที่สามารถเปลี่ยนรูปร่างได้โดยไม่แตกร้าว เช่น เส้นเอ็นจะ ductile มากกว่ากระดูก สารที่มี post-yield strain น้อย แต่ยังไม่ถึง ultimate failure เราเรียกว่า เปราะ (brittle) เช่น กระดูก หรือเซรามิก โรคกระดูกที่มีลักษณะเปราะ คือ osteogenesis imperfecta ซึ่งเป็นความผิดปกติในการสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 1 ทำให้ ductility ลดลง คือ ภายหลังจากกระดูกถึงจุด yield แล้ว ก็ใกล้จะถึงจุด ultimate failure แต่โรคกระดูกพรุน (osteoporosis) ไม่ใช่กระดูกเปราะ เนื่องจาก ductility ไม่ได้ลดลง แต่เกิดจากมีมวลกระดูกน้อยลง⁽²¹⁾ จนไม่สามารถต้านแรงที่เกิดจาก functional activity ได้ หรืออาจกล่าวได้ว่า stress ที่เกิดขึ้นจากภาระงานกิจวัตรนั้นใกล้เคียงกับ yield stress ของกระดูกพรุน⁽²²⁾

Toughness

จากกราฟ stress-strain curve สามารถจะบอกคุณสมบัติของมวลสารได้ อีกค่าหนึ่งที่มีความสำคัญ คือ พื้นที่ใต้เส้นกราฟ ซึ่งหมายถึงปริมาณงาน หรือพลังงานที่ใช้ต่อหนึ่งหน่วย ที่จุด ultimate failure พื้นที่ข้างใต้พลังงานที่ต้องใช้ในการทำให้สารนั้นแตกหักหรือเรียกว่า toughness สิ่งสำคัญหลักที่ทำให้กระดูกมี toughness สูง คือ ลักษณะตามธรรมชาติที่กระดูก haversian เรียงตัวเป็นชั้นและเป็นทรงกระบอก และหลายๆ แท่งทรงกระบอกจะมาประสานรวมกันกลายเป็นกระดูกแท่งยาว เรียกลักษณะโครงสร้างแบบนี้ว่า composite, anisotropic structure ซึ่งสามารถเปรียบได้กับหลอดกาแฟหลายๆ อันเอามารวมกันเป็นมัดใหญ่ ขณะที่ single, isotropic structure เปรียบได้กับตะเกียบพลาสติก ถ้าเราทดลองเปรียบเทียบระหว่างมัดหลอด

กาแฟและแท่งตะเกียบพลาสติกที่มีมวลรวมเท่ากัน แท่งตะเกียบจะหักเมื่อใช้แรงงอ (bending) เพียงเล็กน้อย เนื่องจากมี strain เกิดขึ้นสูงมากที่ผิวชั้นนอกของตะเกียบ ในขณะที่มัดหลอดกาแฟจะทนต่อแรงงอได้ดีโดยไม่หัก เพราะว่าหลอดแต่ละอันจะเลื่อนไหลไปมาระหว่างหลอดที่อยู่ข้างเคียง กระดูกเป็นอวัยวะชนิดหนึ่ง ต้องการทั้ง stiff และ tough แต่ค่าทั้งสองมักจะไม่ได้ไปด้วยกัน ดังนั้น จึงต้องหาความสมดุลระหว่างความต้านทานต่อการแตกร้าว ซึ่งเกิดจากเส้นในคอลลาเจน และความต้านทานต่อการเปลี่ยนรูป ซึ่งเกิดจากผลึกเกลือแร่

บทสรุป

การที่ได้ทราบความรู้เรื่ององค์ประกอบลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ จุลกายวิภาคศาสตร์ การพัฒนาและการเจริญเติบโตของกระดูก รวมถึงสรีรวิทยาการปรับแต่งของกระดูก อีกทั้งความรู้เกี่ยวกับการสมานของเนื้อเยื่อกระดูกหลังจากมีการบาดเจ็บ รวมถึงชีวกลศาสตร์พื้นฐานของกระดูก ความรู้พื้นฐาน ที่ใช้หาความรู้ที่เกี่ยวข้อง และสามารถปรับประยุกต์ใช้ในการดูแลรักษาผู้ป่วยทางออร์โธปิดิกส์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, Simoes MJ, Cerri PS. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res Int.* 2015;421746.
2. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology. II: Formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. *Instr Course Lect.* 1996;45:387-99.
3. Katsimbri P. The biology of normal bone remodelling. *Eur J Cancer Care (Engl).* 2017;26(6).
4. Shahi M, Peymani A, Sahmani M. Regulation of Bone Metabolism. *Rep Biochem Mol Biol.* 2017;5(2):73-82.
5. Damien E, Price JS, Lanyon LE. The estrogen receptor's involvement in osteoblasts' adaptive response to mechanical strain. *J Bone Miner Res.* 1998;13(8):1275-82.
6. Mason DJ, Suva LJ, Genever PG, Patton AJ, Steuckle S, Hillam RA, et al. Mechanically regulated expression of a neural glutamate transporter in

- bone: a role for excitatory amino acids as osteotropic agents? *Bone*. 1997;20(3):199-205.
7. Rodan GA, Harada S. The missing bone. *Cell*. 1997;89(5):677-80.
 8. Wozney JM, Rosen V. Bone morphogenetic protein and bone morphogenetic protein gene family in bone formation and repair. *Clin Orthop Relat Res*. 1998(346):26-37.
 9. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature*. 1999;397(6717):315-23.
 10. Gravallese EM, Harada Y, Wang JT, Gorn AH, Thornhill TS, Goldring SR. Identification of cell types responsible for bone resorption in rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. *Am J Pathol*. 1998;152(4):943-51.
 11. Gravallese EM, Manning C, Tsay A, Naito A, Pan C, Amento E, et al. Synovial tissue in rheumatoid arthritis is a source of osteoclast differentiation factor. *Arthritis Rheum*. 2000;43(2):250-8.
 12. Romas E, Bakharevski O, Hards DK, Kartsogiannis V, Quinn JM, Ryan PF, et al. Expression of osteoclast differentiation factor at sites of bone erosion in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum*. 2000;43(4):821-6.
 13. Plotkin LI, Weinstein RS, Parfitt AM, Roberson PK, Manolagas SC, Bellido T. Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin. *J Clin Invest*. 1999;104(10):1363-74.
 14. Marsh DR, Li G. The biology of fracture healing: optimising outcome. *Br Med Bull*. 1999;55(4):856-69.
 15. Phillips AM. Overview of the fracture healing cascade. *Injury*. 2005;36 Suppl 3:S5-7.
 16. Bielby R, Jones E, McGonagle D. The role of mesenchymal stem cells in maintenance and repair of bone. *Injury*. 2007;38 Suppl 1:S26-32.
 17. Forestier-Zhang L, Bishop N. Bone strength in children: understanding basic bone biomechanics. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2016;101(1):2-7.
 18. Cole JH, van der Meulen MC. Whole bone mechanics and bone quality. *Clin Orthop Relat Res*. 2011;469(8):2139-49.
 19. Gross TS, McLeod KJ, Rubin CT. Characterizing bone strain distributions in vivo using three triple rosette strain gages. *J Biomech*. 1992;25(9):1081-7.
 20. Oftadeh R, Perez-Viloria M, Villa-Camacho JC, Vaziri A, Nazarian A. Biomechanics and mechanobiology of trabecular bone: a review. *J Biomech Eng*. 2015;137(1).
 21. Turner CH, Burr DB. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone*. 1993;14(4):595-608.
 22. Oxlund H, Mosekilde L, Ortoft G. Reduced concentration of collagen reducible cross links in human trabecular bone with respect to age and osteoporosis. *Bone*. 1996;19(5):479-84.