การเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกจากพอลิคาโปรแลคโตน/ไฮดรอกซีอะพาไทต์/ไตรแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเคต

Preparation of Bone Scaffolds from Polycaprolactone/Hydroxyapatite/ Tricalcium Phosphate and Calcium Silicate

สนธยา หนูเกื้อ

Sontaya Nookuar

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Engineering in Chemical Engineering
Prince of Songkla University
2554

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกจากพอลิคาโปรแลคโตน/ไฮดรอกซีอะพาไทต์/ไตรแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเคต

ผู้เขียน นายสนธยา หนูเกื้อ

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

…….....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

…….....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจษฎ์ แก้วศรีจันทร์)

คณะกรรมการสอบ

…….……ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์)

…….……กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์)

…….……กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจษฎ์ แก้วศรีจันทร์)

…….……กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุกฤทธิรา รัตนวิไล)

……...…กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.นุรักษ์ กฤษดานุรักษ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

……...
(ศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	การเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกจากพอลิคาโปรแลคโตน/ไฮดรอกซีอะพาไทต์/ไตรแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเคต
ผู้เขียน	นายสนธยา หนูเกื้อ
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
ปีการศึกษา	2554

บทคัดย่อ

ความต้องการใช้วัสดุทดแทนกระดูกในทางการแพทย์เพิ่มมากขึ้นทุกปี จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าวัสดุในรูปของแคลเซียมฟอสเฟต (calcium phosphate) โดยเฉพาะอย่างยิ่งไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite, HA) ซึ่งมีองค์ประกอบคล้ายกับองค์ประกอบแร่ธาตุของกระดูกมนุษย์ และเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในร่างกายของสิ่งมีชีวิต จุดมุ่งหมายของการวิจัยนี้ คือ ผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน ที่มีไฮดรอกซีอะพาไทต์ เบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต (β-tricalcium phosphate, β-TCP) และแคลเซียมซิลิเคต (calcium silicate, CS) ละลายในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 6% (PVA) เพื่อเป็นสารเคลือบเซรามิกส์ นำใยบวบที่ตัดตามขนาดที่กำหนดจุ่มเคลือบ (dipping method) และซินเทอริ่งที่อุณหภูมิสูงเพื่อเอาใยบวบออกพร้อมกับเผาสารเคลือบเซรามิกส์ให้รวมตัวกัน นำโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในจุ่มเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่ผสมพอลิคาโปรแลคโตน (polycaprolactone, PCL) ศึกษาผลของแคลเซียมซิลิเคต อุณหภูมิซินเทอริ่งและเปอร์เซ็นต์ของพอลิคาโปรแลคโตนในสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มีต่อลักษณะโครงสร้าง สมบัติเชิงกลและสมบัติทางชีวภาพเบื้องต้นของโครงเลี้ยงเซลล์ พบว่าค่าความพรุนจะลดลงเมื่ออุณหภูมิซินเทอริ่งสูงขึ้น แต่จะเพิ่มขึ้นเมื่อเปอร์เซ็นต์ของแคลเซียมซิลิเคตเพิ่มขึ้น การรับแรงอัดมีค่าสูงขึ้นเมื่อเปอร์เซ็นต์ของพอลิคาโปรแลคโตนในสารเคลือบพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น หลังแช่ในสารละลาย phosphate buffered saline (PBS) ผลึก apatite เกิดได้มากขึ้นเมื่อเปอร์เซ็นต์ของแคลเซียมซิลิเคตเพิ่มขึ้น

Thesis Title	Preparation of Bone Scaffolds from Polycaprolactone/ Hydroxyapatite/ Tricalcium Phosphate and Calcium Silicate
Author	Mr.Sontaya Nookuar
Major Program	Chemical Engineering
Academic Year	2011

ABSTRACT

The rate of bone replacement material needs to increase more and more every year. From the past research, it was found that calcium phosphate; in particular, hydroxyapatite (HA) is suited to bring the materials to use in a living body, since it is the component similar to the mineral component of human bones. The aim of this work was to produce bone scaffolds using HA and tricalcium phosphate (TCP), supplemented with calcium silicate (CS) as scaffold cores. The ceramic cores were coated by ceramic-polycaprolactone mixture. Luffa was used as an inner template. The suspensions of HA, TCP and CS with varying weight ratios were prepared using 6% polyvinyl alcohol (PVA) as a suspending solution. To obtain ceramic cores, the luffa was dipped into the suspension and then heated at high temperatures to remove luffa fibers, while simultaneonoly sintering the coated ceramic. The mixed ceramic-PCL slurry was used to cover surfaces of ceramic cores. Morphology, mechanical properties, and bioactivity of the scaffolds were evaluated based on differing CS content, sintering temperature and %PCL in the coated suspension. The higher sintering temperature gave less porosity due to the formation of glassy composite. However, the higher amounts of CS increased the degree of porosity. The compressive strength of the coated scaffolds increased proportionally to %PCL. Bioactive property was observed from apatite layer that formed on scaffolds after soaked in PBS. The more CS amounts they contained, the more apatite layer formed on them.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจษฎ์ แก้วศรีจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา คอยชี้แนะแนวทางการแก้ปัญหา และให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา อีกทั้งยังช่วยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุกฤทธิรา รัตนวิไล กรรมการผู้แทนคณะวิศวกรรมศาสตร์ และ รองศาสตราจารย์ ดร.นุรักษ์ กฤษดานุรักษ์ กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คณะวิศวกรรมศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย ที่จัดสรรเงินทุนในการวิจัย ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ และภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ สารเคมี สถานที่และอุปกรณ์ในการปฏิบัติการงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาบรรจุภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร และภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่อนุเคราะห์เครื่องมือวิเคราะห์และทดสอบชิ้นงานวิจัยตลอดการทำวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ที่ให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคน ที่มีส่วนช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้การทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้เสร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สนธยา หนูเกื้อ

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
รายการตาราง	(8)
รายการภาพประกอบ	(10)
บทที่ 1 บทนำและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	
1.1 บทนำต้นเรื่อง	1
1.2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	3
1.2.1 กระดูก (bone)	3
1.2.2 โครงเลี้ยงเซลล์ (scaffold)	11
1.2.3 วัสดุทดแทนกระดูก	12
1.2.4 วัสดุชีวภาพ (biomaterials)	15
1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	23
1.4 ขอบเขตการวิจัย	23
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	23
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร	24
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	24
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	31
3.1 วัสดุและสารเคมี	31
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์	31
3.3 วิธีการดำเนินการทดลอง	33
3.4 การวิเคราะห์ตัวอย่าง	37
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	38
1. ผลการทดลอง	38
2. วิจารณ์ผลการทดลอง	54
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	57
เอกสารอ้างอิง	59

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
ภาคผนวก	63
ภาคผนวก ก ทฤษฎีเพิ่มเติม	64
ภาคผนวก ข ข้อมูลการทดลองและการคำนวณ	71
ประวัติผู้เขียน	92

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 ส่วนประกอบของกระดูกเปลือกนอกในผู้ใหญ่	7
1.2 เทคโนโลยีที่ใช้ผลิตโครงเลี้ยงเซลล์	12
1.3 องค์ประกอบทางเคมีของแคลเซียมซิลิเคตชนิด wollastonite	19
2.1 องค์ประกอบของ HA และ TCP หลังจากการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1000 – 1300 °C ที่ตรียมจาก HA และ TCP หลายๆอัตราส่วน	25
3.1 อัตราส่วนโดยน้ำหนักของสารที่ใช้เตรียมโครงเลี้ยงเซลล์	34
3.2 ส่วนประกอบของสารเคลือบผสมพอลิเมอร์ที่ HA: ß-TCP=2:1, (HA+ ß-TCP):CS=4:1	36
4.1 ค่าความพรุนเฉลี่ยของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1150 °C และ 1250 °C	41
4.2 ผล EDX แสดงธาตุองค์ประกอบบนพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1150 °C ภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์	46
4.3 ผล EDX แสดงธาตุองค์ประกอบบนพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1250 °C ภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์	47
4.4 อัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสของโครงเลี้ยงเซลล์ที่แช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์	47
ข.1 ขนาดรูพรุนในโครงเลี้ยงเซลล์ HTC1, HTC2, HTC3 และ HTC4 ซินเทอริ่งที่ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	81
ข.1 ขนาดรูพรุนในโครงเลี้ยงเซลล์ HTC1, HTC2, HTC3 และ HTC4 ซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	82
ข.3 ค่าแรงอัด (compression test) ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยพอลิคาโปรแลคโตน 30 % wt	84
ข.4 ค่าแรงอัด (compression test) ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยพอลิคาโปรแลคโตน 50 % wt	88
ข.5 ค่าแรงอัด (compression test) ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยพอลิคาโปรแลคโตน 70 % wt	92

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ข.6 ค่ามุมสัมผัสของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 30, 50 และ 70 %wt	95

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบที่	หน้า
1.1 โครงกระดูกของมนุษย์	5
1.2 โครงสร้างกระดูกเปลือกนอกและกระดูกร่างแห	7
1.3 กระบวนการการสร้างกระดูกใหม่	10
1.4 โครงสร้างของไฮดรอกซีอะพาไทต์	11
1.5 โครงสร้างผลึก wallastonite	20
1.6 สูตรโมเลกุลของพอลิคาโปรแลคโตน	22
2.1 ผล SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ 20%HA–80%TCP (A) ซินเทอริ่งที่ 1000°C 5 h, (B) ซิน เทอริ่งที่ 1300°C 5 h	26
2.2 ผล SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ 70%HA–30%TCP (A) เผาซินเตอร์ที่ 1000°C 5 h, (B) เผาซินเตอร์ที่ 1300°C 5 h	26
3.1 ใยบวบที่ตัดให้ได้ขนาดและรูปทรงตามที่กำหนด	33
3.2 การเตรียมสารแขวนลอยสำหรับเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน	34
3.3 การเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยวิธีการจุ่มเคลือบ (Dipping Method)	35
3.4 อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ซินเทอริ่ง T=1150 °C หรือ 1250 °C	36
3.5 โครงเลี้ยงเซลล์หลังการเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์	37
4.1 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบ และซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1150 °C (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM	39
4.2 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบ และซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1250 °C (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM	40
4.3 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบและซินเทอริ่ง ที่อุณหภูมิ 1150 °C (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ภายหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM	42

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่	หน้า
4.4 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบและซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1150 °C (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ภายหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM	43
4.5 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบและซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1250 °C (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ภายหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM	44
4.6 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบและซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1250 °C (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ภายหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM	45
4.7 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ HTC3 ที่เคลือบด้วยสารผสมพอลิคาโปรแลคโตน (A) PCL 30 wt.%, (B) PCL 50 wt.%, (C) PCL wt.70 % ภายหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM	48
4.8 ค่าความเค้นแรงอัด (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1150 °C และเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์	49
4.9 ค่าความเค้นแรงอัด (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1250 °C และเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์	50
4.10 ค่ามอดูลัสของยังของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1150 °C และเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์	50
4.11 ค่ามอดูลัสของยังของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1250 °C และเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์	51
4.12 ค่ามุมสัมผัสของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มีพอลิคาโปรแลคโตน 30 %wt	52
4.13 ค่ามุมสัมผัสของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มีพอลิคาโปรแลคโตน 50 %wt	52
4.14 ค่ามุมสัมผัสของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มีพอลิคาโปรแลคโตน 70 %wt	53

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่	หน้า
4.15 กระบวนการเกิดผลึก apatite	55
ก.1 ความสัมพันธ์ระหว่างแรงดึงกับความยาวของเส้นโลหะที่ยืดออก	64
ก.2 แรงที่ทำให้วัตถุผิดรูป (ก) แรงดึง (ข) แรงอัด (ค) แรงเฉือน	65
ก.3 ความเค้นดึง	66
ก.4 ความเค้นอัด	66
ก.5 ภาพจำลองการทดสอบแรงอัด	67
ก.6 ภาพจำลองการทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	68
ก.7 การเกิดรังสีเอกซ์	69
ข.1 ผลการวิเคราะห์ SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	71
ข.2 ผลการวิเคราะห์ SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	72
ข.3 ผลการวิเคราะห์ SEM หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	73
ข.4 ผลการวิเคราะห์ SEM หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	74
ข.5 ผลการวิเคราะห์ SEM หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	75
ข.6 ผลการวิเคราะห์ SEM หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	76
ข.7 ผล EDX ของธาตุองค์ประกอบบนพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์หลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1150 °C) (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ตามลำดับ	77
ข.8 ผล EDX ของธาตุองค์ประกอบบนพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์หลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1250 °C) (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ตามลำดับ	79
ข.9 ขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน HTC1, HTC2, HTC3 และ HTC4 ซินเทอริ่งที่ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	81

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่	หน้า
ข.10 ขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน HTC1, HTC2, HTC3 และ HTC4 ซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	82
ข.11 ขนาดของ Test Specimen	83
ข.12 ค่า Compressive Stress (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วย สารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 30 %wt	85
ข.13 ค่า Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วย สารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 30 %wt	85
ข.14 ค่า Compressive Stress (MPa) และ Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน ซินเทอริ่งที่ 1150 °C เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 30 %wt	86
ข.15 ค่า Compressive Stress (MPa) และ Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน ซินเทอริ่งที่ 1250 °C เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 30 %wt	86
ข.16 ค่า Young's Modulus (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในเคลือบด้วย สารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 30 %wt	87
ข.17 ค่า Compressive Stress (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วย สารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 50 %wt	89
ข.18 ค่า Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วย สารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 50 %wt	89
ข.19 ค่า Compressive Stress (MPa) และ Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน ซินเทอริ่งที่ 1150 °C เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 50 %wt	90
ข.20 ค่า Compressive Stress (MPa) และ Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน ซินเทอริ่งที่ 1250 °C เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 50 %wt	90
ข.21 ค่า Young's Modulus (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในเคลือบด้วย สารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 50 %wt	91
ข.22 ค่า Compressive Stress (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วย สารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 70 %wt	93

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่	หน้า
ข.23 ค่า Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 70 %wt	93
ข.24 ค่า Compressive Stress (MPa) และ Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1150 ^{o}C เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 70 %wt	94
ข.25 ค่า Compressive Stress (MPa) และ Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1250 ^{o}C เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 70 %wt	94
ข.26 ค่า Young's Modulus (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 70 %wt	95

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

เนื่องจากความปรารถนาของคนเรา คือ การดำรงชีวิตด้วยสุขภาพที่แข็งแรงแต่เนื่องด้วยอายุ วัย เพศ อาหารการกินและลักษณะการดำรงชีวิต ย่อมก่อให้เกิดข้อบกพร่องกับอวัยวะในร่างกาย อวัยวะที่กล่าวถึงคือ กระดูก เช่น กระดูกเสียหายจากอุบัติเหตุ ความพิการตั้งแต่กำเนิด โรคกระดูกและโรคกระดูกเสื่อม เป็นต้น ซึ่งในทางการแพทย์แล้วก็ย่อมหาวิธีที่เหมาะสมในการรักษา จุดประสงค์เพื่อให้กระดูกที่เสียหายกลับเข้าสู่สภาพที่ใกล้เคียงกับสภาพปกติมากที่สุด ให้ผู้ป่วยกลับมาดำเนินชีวิตเหมือนปกติโดยเร็วที่สุด และมีผลข้างเคียงน้อยที่สุด ซึ่งแพทย์จะพิจารณาที่ความรุนแรงของการสูญเสียกระดูกเป็นหลัก การรักษาอาจแบ่งได้ 2 วิธีหลักๆคือ การรักษาโดยไม่ต้องผ่าตัด และการรักษาโดยการผ่าตัด [1] ในปัจจุบันได้นำความรู้เกี่ยวกับวัสดุทางชีวภาพ (biomaterial) เข้ามาช่วยในการรักษาโดยการผ่าตัด โดยนำโครงเลี้ยงเซลล์กระดูก มาใช้ทดแทนหรือซ่อมแซมกระดูกที่สูญเสียหรือมีข้อบกพร่อง โครงเลี้ยงเซลล์กระดูก เป็นเทคโนโลยีใหม่ในการรักษาผู้ป่วยที่กระดูกได้รับความเสียหายเกินกว่าที่ร่างกายจะสร้างกระดูก หรือเนื้อเยื่อใหม่ขึ้นมาทดแทนได้ หรืออาจใช้เวลานานในการสร้างเนื้อเยื่อกระดูกใหม่ ดังนั้นการใช้วิธีการฝังโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกไปทดแทนในบริเวณที่กระดูกเสียหายนั้นจึงเป็นการช่วยให้ร่างกายสามารถสร้างกระดูกหรือเนื้อเยื่อใหม่ได้เร็วขึ้นและจะสลายได้เองภายใต้สภาวะปกติของร่างกาย โดยที่โครงเลี้ยงเซลล์กระดูกจะเป็นเสมือนบ้านของเซลล์ [2] ให้เซลล์ต่างๆมาเกาะ และเจริญเติบโตเกิดเป็นเนื้อเยื่อใหม่ได้ และในขณะที่โครงเลี้ยงเซลล์กระดูกอยู่ภายในร่างกายมนุษย์นั้นต้องพบกับสภาพความเป็นกรด ต้องรับแรงกระแทกจากการทำงานของร่างกาย การเคลื่อนไหว ดังนั้นคุณสมบัติของโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกที่สำคัญหลักๆคือ เข้ากันได้ดีทางชีวภาพกับร่างกาย (biocompatible) สามารถดูดซึมทางชีวภาพเพื่อสร้างรูปแบบกระดูกของแต่ละอวัยวะ (bioresorbable and remodeled) ย่อยสลายตัวเองได้ (biodegradable) มีความพรุนสูงและรูเชื่อมต่อกันอย่างต่อเนื่อง (highly interconnected porous) มีขนาดรูพรุนที่เหมาะสม (appropriate pore size) มีพื้นผิวที่เหมาะสมให้เซลล์มายึดเกาะ (surface conductive for cell attachment) มีสมบัติเชิงกลที่เหมาะสม (appropriate mechanical properties) กระตุ้นการทำงานของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูก (encourage the deposition

of ECM by promoting cellular functions) และสามารถดำเนินการและนำสัญญาณระหว่างเซลล์ เป็นต้น [3] สำหรับในทางการแพทย์การใช้โครงเลี้ยงเซลล์ในการรักษา มีประโยชน์ทั้งต่อตัวผู้ป่วย และแพทย์ กล่าวคือ ผู้ป่วยไม่ต้องมีค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น ไม่ต้องเสี่ยงกับการผ่าตัดเพิ่มเติมและไม่เสียเวลา ในขณะเดียวกันแพทย์ไม่ต้องเสียเวลาในการรักษาผู้ป่วยเพื่อทำการผ่าตัดนำเครื่องมือทางการแพทย์ออก แต่นอกจากประโยชน์ในด้านการลดจำนวนการผ่าตัดแล้ว ประโยชน์อีกอย่างที่น่าสนใจคือ เมื่อโครงเลี้ยงเซลล์สลายตัวไปเรื่อย ๆ จะทำให้แรงที่ปกติถูกแบกรับด้วยโครงเลี้ยงเซลล์จะค่อยๆเปลี่ยนและถ่ายแรงไปยังกระดูกหรือเนื้อเยื่อที่เกิดใหม่เพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ ทำให้กระดูกหรือเนื้อเยื่อในบริเวณดังกล่าว มีการฟื้นสภาพได้ดีกว่าการใช้อุปกรณ์จำพวกโลหะที่มีความแข็งสูง แต่แรงไม่สามารถถ่ายเทไปยังเนื้อเยื่อโดยรอบได้ ทำให้กระดูกหรือเนื้อเยื่อมีความอ่อนแอเมื่อผ่าตัดนำโลหะนั้นออก จึงเกิดการบาดเจ็บซ้ำที่บาดแผลเดิมได้ง่าย และไม่สามารถรับแรงเชิงกล (mechanical properties) ที่เกิดขึ้นตามปกติได้

วิวัฒนาการของวัสดุที่ใช้ในทางการแพทย์ ได้มีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างมากตลอดเวลาระยะเวลาหลาย ปีที่ผ่านมา ในยุคแรกๆของการใช้วัสดุนี้จะเป็นเรื่องของแบบพิมพ์ต่างๆ ด้านวิศวกรรม วัสดุที่ใช้คือ เหล็กไร้สนิม (stainless steel) แต่ในยุคปัจจุบันวัสดุที่ใช้ในการแพทย์มีถึงกว่า 40 ชนิดที่ใช้ประกอบเป็นวัสดุและเครื่องมือทางการแพทย์ วัสดุยุคแรกๆ มีลักษณะเป็นเพียงวัสดุที่ใช้แล้ว ไม่เกิดปฏิกิริยาทางเคมีในเนื้อเยื่อของร่างกายก็นำมาใช้ได้ แต่ปัจจุบันสิ่งที่สำคัญคือต้องดูถึงปฏิกิริยาระหว่างวัสดุและอวัยวะที่เกิดขึ้น (interfacial reaction) วัสดุที่ใช้ให้อยู่คงทนได้นานหลายๆปีก็เพียงพอ แต่ปัจจุบันควรมีความคงทนนานไม่ต่ำกว่า 20 ปี ทั้งนี้เพื่อประโยชน์สูงสุดของผู้ป่วย

ในยุคก่อนนี้การทดสอบวัสดุที่ใช้ในทางการแพทย์มีน้อย แต่ในปัจจุบันการจะได้มาซึ่งวัสดุใหม่ๆที่ใช้ได้ดีนั้นต้องผ่านการทดสอบทั้งในแง่กลศาสตร์ ในสัตว์ทดลองและทดสอบในแบบจำลองเหมือนอวัยวะของจริงในมนุษย์ เพื่อให้ได้มาซึ่งผลที่แน่นอนว่าวัสดุนั้นเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อข้างเคียงหรือไม่ การศึกษาในห้องทดลองและในร่างกายผู้ที่เสียชีวิตใหม่ๆ เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผิววัสดุที่ใช้หรือการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อระหว่างผิววัสดุและอวัยวะที่รองรับช่วยให้เกิดความเข้าใจมากขึ้นเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางเคมี และปฏิกิริยาของอวัยวะที่มีต่อวัสดุที่ใช้

จุดประสงค์ของการใช้วัสดุทางการแพทย์ก็คือ ใช้ทดแทนส่วนอวัยวะที่เสียไป ในขณะเดียวกันต้องเป็นวิธีการที่ปลอดภัย เชื่อถือได้ ประหยัด และไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย การที่จะ

บรรลุวัตถุประสงค์ดังกล่าวได้ขึ้นอยู่กับความมั่นคง ความคงทนถาวรของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างผิววัสดุที่ใช้กับอวัยวะที่รองรับ จึงต้องมีความเข้าใจว่าผิวสัมผัสของเนื้อเยื่อและวัสดุเปลี่ยนแปลงอยู่เสมอ ฉะนั้นจึงต้องมีการศึกษาถึงความเปลี่ยนแปลงทั้งในแง่เคมีและเซลล์ที่เกิดขึ้นเมื่อนำวัสดุไปฝังแทนอวัยวะส่วนนั้นๆ เช่น จำเป็นต้องเรียนรู้เคมีพื้นผิว (surface chemistry) การสึกกร่อนของโลหะ (metal corrosion) ปฏิกิริยาของพอลิเมอร์ (polymer reactions) และพฤติกรรมด้านพื้นผิวของเซรามิกส์และแก้ว (ceramic & glass surface behavior) ในแต่ละปีปรากฏว่ามีการใช้วัสดุทางการแพทย์ในอเมริกาและยุโรปรวมกันสูงถึง 4-5 ล้านชิ้นจากวัสดุที่แตกต่างกันกว่า 40 ชนิด [4]

ฉะนั้นการเรียนรู้ถึงคุณสมบัติของวัสดุและปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อ ทำให้มีแนวทางที่จะปรับปรุงคุณภาพของวัสดุทางการแพทย์ให้ดีขึ้น มีความคงทนมากขึ้น และใช้ประโยชน์ได้มากขึ้นกว่าที่เป็นอยู่ในปัจจุบัน

1.2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.2.1 กระดูก (Bone) [4]

กระดูกเป็นอวัยวะสำคัญคือเป็นโครงร่างของร่างกาย โดยทำหน้าที่เป็นโครงสร้างที่เกาะของกล้ามเนื้อและเอ็น ทำให้ร่างกายสามารถเคลื่อนไหวไปได้ นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ป้องกันอวัยวะส่วนอื่นที่มีความสำคัญ เช่น สมองและไขสันหลัง (spinal cord) ซึ่งถูกปกป้องโดยกะโหลกศีรษะ และกระดูกสันหลัง ตามลำดับ มีส่วนประกอบหลัก คือ คอลลาเจนประมาณ 20 wt.% แคลเซียมฟอสเฟตประมาณ 69 wt.% และน้ำประมาณ 9 wt.% ที่เหลือเป็นสารอินทรีย์อื่นๆ เช่น โปรตีน น้ำตาล และไขมัน เนื้อเยื่อทั้งกระดูกและกระดูกอ่อนล้วนมีการวิวัฒนาการจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ชนิดพิเศษประกอบด้วย เนื้อพื้น (matrix) ที่มีความยืดหยุ่นและเหนียว การเรียงตัวของใยคอลลาเจนมีรูปแบบเฉพาะ มีการยึดเกาะของเกลือแร่ (mineralization) ต่างๆในเนื้อพื้นและการจัดเรียงโครงสร้างในชิ้นกระดูกอย่างเหมาะสม ทำให้กระดูกมีลักษณะพิเศษคือมีน้ำหนักเบา แต่มีความแข็งแรงมากในการรับน้ำหนัก แม้จะดูเหมือนว่ากระดูกเป็นส่วนของร่างกายที่ไม่ค่อยจะมีการเปลี่ยนแปลง แต่จริงๆแล้วกระดูกแต่ละชิ้นมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอยู่ตลอดเวลา การปรับรูป (remodeling) ของกระดูกมีการดำเนินไปอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้เหมาะสมกับหน้าที่ในแต่ละส่วนของร่างกาย นอกจากนี้ กระดูกยังถือเป็นแหล่งสะสมแคลเซียมที่สำคัญของร่างกาย และมีบทบาทอย่างมากในการช่วยสนับสนุนการควบคุมระดับแคลเซียมในเลือดให้อยู่ในระดับปกติ

1.2.1.1 ระบบโครงกระดูก [5]

มีหน้าที่ค้ำจุนร่างกายให้คงรูปร่างอยู่ได้ กระดูกของมนุษย์ทั้งร่างกายมีอยู่ทั้งหมด 206 ชิ้น แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

ก. กระดูกแกน (Axial Skeleton)

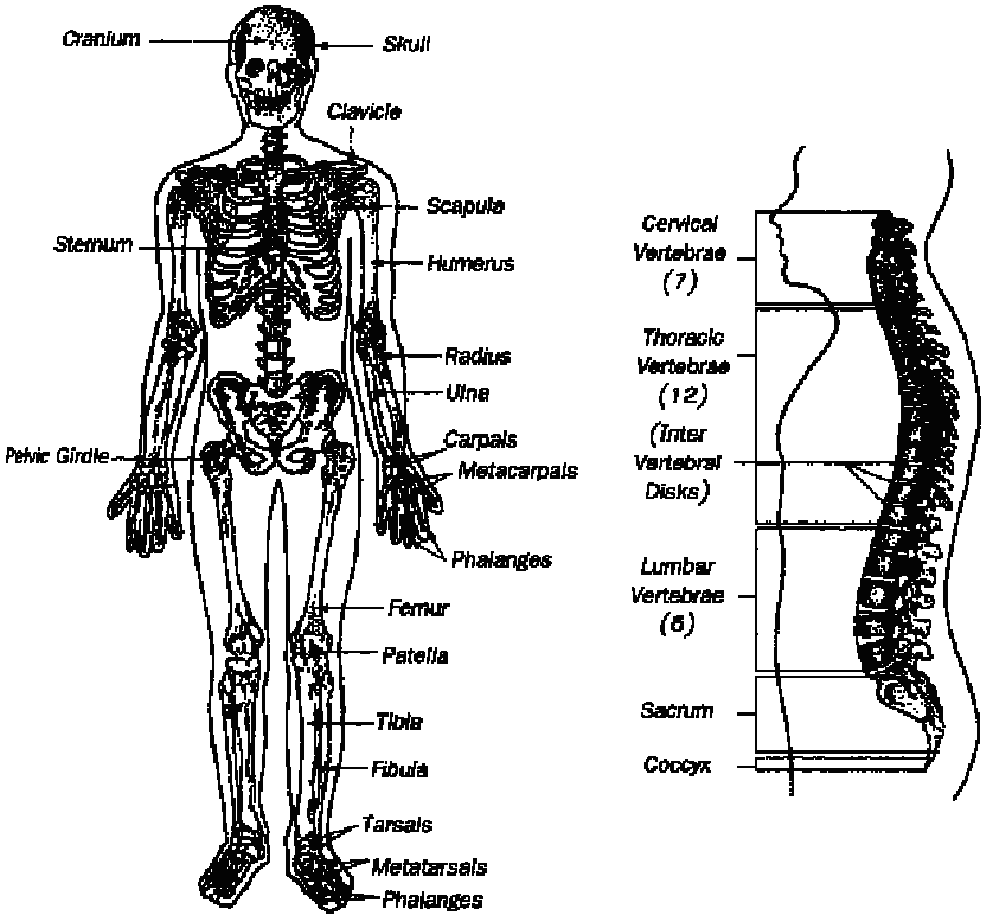
เป็นโครงกระดูกที่เป็นแกนกลางของร่างกาย ทำหน้าที่ค้ำจุนและป้องกันอันตรายให้แก่อวัยวะสำคัญภายในร่างกาย มีจำนวนทั้งหมด 80 ชิ้น ประกอบด้วย

- กะโหลกศีรษะ (Skull) จำนวน 29 ชิ้น
- กระดูกสันหลัง (Vertebrate) จำนวน 26 ชิ้น แบ่งออกเป็น กระดูกหลังตรงคอ (Cervical Vertebrate) จำนวน 7 ชิ้น กระดูกสันหลังตรงอก (Thoracic Vertebrate) จำนวน 12 ชิ้น กระดูกสันหลังตรงสะเอว (Lumbar Vertebrate) จำนวน 5 ชิ้น กระดูกกระเบนเหน็บ (Sacrum) จำนวน 1 ชิ้น และกระดูกก้นกบ (Coccyx) จำนวน 1 ชิ้น
- กระดูกซี่โครง (Ribs) จำนวน 24 ชิ้น
- กระดูกอก (Sternum) จำนวน 1 ชิ้น

ข. กระดูกระยาง (Appendicular Skeleton)

เป็นกระดูกที่เชื่อมต่อกับกระดูกแกน มีหน้าที่ค้ำจุนและเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนไหวของร่างกาย มีจำนวนทั้งหมด 126 ชิ้น ประกอบด้วย

- กระดูกแขน จำนวน 60 ชิ้น (ข้างละ 30 ชิ้น) แบ่งออกเป็น กระดูกต้นแขน (Humerus) กระดูกปลายแขนด้านนอก (Radius) กระดูกปลายแขนด้านใน (Ulna) กระดูกข้อมือ (Carpals) กระดูกฝ่ามือ (Metacarpals) และกระดูกนิ้วมือ (Phalanges)
- กระดูกขา จำนวน 60 ชิ้น (ข้างละ 30 ชิ้น) แบ่งออกเป็น กระดูกต้นขา (Femur) กระดูกสะบ้า (Patella) กระดูกหน้าแข้ง (Tibia) กระดูกน่อง (Fibula) กระดูกข้อเท้า (Tarsals) กระดูกฝ่าเท้า (Metatarsals) กระดูกนิ้วเท้า (Phalanges) กระดูกไหปลาร้า (Clavicle) กระดูกสะบัก (Scapula) และกระดูกเชิงกราน (Pelvic)



รูปที่ 1.1 โครงกระดูกของมนุษย์ [5]

เมื่อศึกษาถึงโครงสร้างของกระดูกแล้วพบว่า กระดูกของมนุษย์แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

ก. กระดูกอ่อน (Cartilage) เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งประกอบด้วยเซลล์กระดูกอ่อน (Chondrocyte) สารระหว่างเซลล์และเส้นใยชนิดต่าง ๆ โดยทั่วไปกระดูกอ่อนจะได้รับอาหารโดยแทรกซึมผ่านสารระหว่างเซลล์มา เนื่องจากไม่มีหลอดเลือดฝอยมาหล่อเลี้ยงกระดูกอ่อนเลย

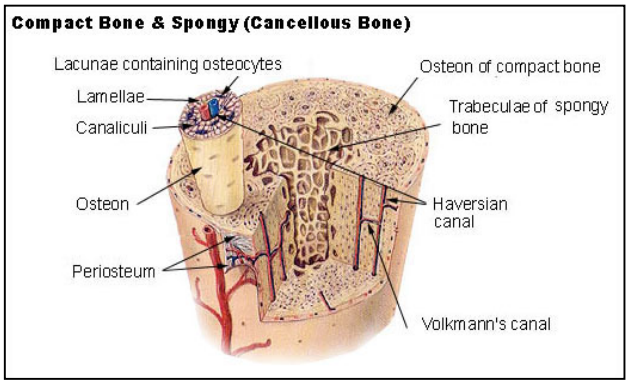
ข. กระดูก (Bone) เป็นโครงสร้างที่เจริญมาจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (Membrane Bone) หรือกระดูกอ่อน (Cartilagenous Bone) ประกอบด้วยเซลล์กระดูก (Osteocyte) เส้นใยชนิดต่าง ๆ และสารระหว่างเซลล์ ซึ่งมีผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ (Hydroxyapatite ; $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) มาเสริมทำให้กระดูกมีความแข็งแรงมากกว่ากระดูกอ่อน เมื่อผ่ากระดูกดูโครงสร้างภายในจะพบว่าเนื้อกระดูกส่วนนอกจะแน่นทึบ (Compact Bone) อาหารไม่สามารถซึมผ่านเข้าไปเลี้ยงเซลล์กระดูกได้ บริเวณนี้จึงมีหลอดเลือด

แทรกเข้าไปทางช่องที่เรียกว่า Haversian Canal โดยจะทอดไปตามความยาวของกระดูก ส่วนตรงกลางของกระดูกนั้นจะมีลักษณะโปร่งเป็นโพรงคล้ายฟองน้ำ (Spongy Bone) ซึ่งเป็นที่อยู่ของไขกระดูก (Bone Marrow) ที่ทำหน้าที่สร้างเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวให้แก่ร่างกาย

1.2.1.2 โครงสร้างของกระดูก (Bone structure) [4]

กระดูกประกอบขึ้นด้วยส่วนประกอบที่เป็นสารประกอบอินทรีย์ทางชีวภาพ (bio-organic) และชนิดสารอนินทรีย์ (inorganic) ส่วนประกอบที่เป็นสารอินทรีย์ ได้แก่ คอลลาเจน ไกลโคโปรตีนที่ไม่มีคอลลาเจน (noncollagenous glycoproteins) ฟอสโฟโปรตีน (phosphoproteins) โปรตีโอไลปิด (proteolipids) และมิวโคพอลิแซคคาไรด์ (mucopolysaccharides) เรียกสารเหล่านี้รวมกันว่า เนื้อเยื่อกระดูก (osteoid) ซึ่งจะกลายเป็นกระดูกที่มีลักษณะแข็งในเวลาต่อมา พบว่าเนื้อเยื่อกระดูกประกอบด้วย คอลลาเจนประมาณ 95% ที่เหลือเป็นส่วนของเซลล์กระดูก ส่วนประกอบที่เป็นสารอนินทรีย์หรือเกลือแร่นั้น ส่วนใหญ่เป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) ซึ่งมีผลึกขนาดใหญ่ไม่ละลายน้ำ โดยในระยะแรกจะฝังตัวอยู่ในส่วนพื้นสารอินทรีย์ ต่อมาภายหลังจะแปรสภาพเป็นผลึกของแคลเซียมฟอสเฟต นอกจากนี้ในกระดูกยังมีธาตุและไอออนอื่นๆด้วย เช่น คาร์บอน แมกนีเซียม โซเดียม แคลเซียมและฟลูออไรด์อยู่จำนวนหนึ่งด้วย และมีความสำคัญต่อเมแทบอลิซึมของร่างกาย

กระดูกแบ่งออกได้ 2 ชนิด คือกระดูกเปลือกนอก (cortex) หรือกระดูกแน่น (compact bone) และกระดูกร่างแห (cancellous) หรือกระดูกคานเนื้อยึดต่อ (trabecular bone) กระดูกเปลือกนอกมีปริมาณสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ห่อหุ้มกระดูกร่างแหซึ่งมีความแข็งแรงน้อย (รูปที่ 1.2)



รูปที่ 1.2 โครงสร้างกระดูกเปลือกนอกและกระดูกร่างแห [6]

1.2.1.3 ส่วนประกอบของส่วนพื้นกระดูก (Composition of Bone Matrix) [4]

คุณสมบัติพิเศษด้านเชิงกลของกระดูกขึ้นอยู่กับองค์ประกอบที่เป็นส่วนพื้นกระดูก โดยส่วนที่เป็นสารประกอบ (composite material) ประกอบด้วยสารอนินทรีย์ สารอินทรีย์ ส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์มีน้ำหนักเปียก (wet weight) ประมาณ 70% ของทั้งหมด และส่วนที่เป็นอนินทรีย์ประมาณ 22% ของน้ำหนักเปียก ที่เหลือเป็นน้ำ 8 – 9 % สารอินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นคอลลาเจน ทำหน้าที่ช่วยต้านแรงตึง (tension) สารอนินทรีย์หรือเกลือแร่นั้นช่วยต้านแรงอัดกด (compression) พบว่ากระดูกที่ถูกเอาเกลือแร่หรือสารอนินทรีย์ออกไป (demineralized) มีลักษณะเหมือน เอ็นยึด (tendon) หรือเอ็นขึง (ligament) ที่บิดงอได้แต่แตกหักยาก ถ้ากระดูกขาดส่วนพื้น อินทรีย์จะมีความเปราะและหักง่าย ลักษณะของกระดูกที่มีสารพื้นชนิดต่างๆนี้ทำให้กระดูกแต่ละส่วนมีความแตกต่างกันทั้งทางกายภาพและชีวภาพ (ตารางที่ 1.1)

ตาราง 1.1 ส่วนประกอบของกระดูกเปลือกนอกในผู้ใหญ่ [4]

	Weight (dry)	Weight (wet)
Collagen	18.5%	15.5%
Mineral	70.0%	59.9%
Ground Substance	3.3%	2.8%

กระดูกมีความแตกต่างจากวัสดุทางด้านวิศวกรรม ในแง่ที่ตัวกระดูกสามารถเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติและรูปร่าง เพื่อตอบสนองการเปลี่ยนแปลงจากแรงที่มากระทำได้ มีความแข็งแรงซึ่งเป็นผลจากการสะสมเกลือแร่ในส่วนคอลลาเจน ดังนั้น กระดูกจึงทำหน้าที่เป็นโครงสร้างรับน้ำหนักและป้องกันร่างกายในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เป็นที่เก็บเกลือแร่ต่างๆ (mineral reservoir) ที่มีความสำคัญในการดำรงชีวิต รักษาสมดุลของไอออนในร่างกาย เป็นต้น

1.2.1.4 เซลล์กระดูก (Bone Cells) [5]

ในสภาวะปกติ osteoctye เป็นเซลล์ชนิดเดียวที่พบในเนื้อเยื่อกระดูก แต่ในสภาวะที่มีการสร้างหรือซ่อมแซมกระดูก สามารถพบเซลล์กระดูก 4 ชนิด ได้แก่ osteogenic cells, osteoblasts, osteocytes และ osteoclasts

ก. **osteogenic cell** เป็นเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์กระดูก จะอยู่บริเวณขอบเนื้อกระดูก สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและเจริญพัฒนาเป็น osteoblast cell

ข. **osteoblast cell** เป็นเซลล์สร้างเนื้อกระดูกที่เจริญพัฒนามาจากเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์กระดูก เซลล์นี้จะอยู่บริเวณขอบของเนื้อกระดูก และสร้างโปรตีนที่เรียกว่า ออสติออยด์ (osteoid) ซึ่งโปรตีนดังกล่าวนี้จะมีสารอนินทรีย์มาสะสมและกลายเป็นเนื้อกระดูก และยังมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสะสมเกลือแร่ (mineralization) ของกระดูก เซลล์จะผลิตเอนไซม์ alkaline phosphatase เพื่อดึงฟอสเฟตมาสะสมที่คอลลาเจน นอกจากนี้ osteoblast cell ยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการสลายกระดูก เมื่อถูกกระตุ้นด้วย parathyroid hormone ซึ่งจะกระตุ้นการสร้าง osteoclast-stimulating factor ไปกระตุ้นการเจริญเติบโตและการทำงานของ osteoclast cell

ค. **osteocyte cell** เป็นเซลล์ที่เจริญต่อมาจาก osteoblast cell ที่ได้สร้างเนื้อกระดูกจนล้อมรอบตัวเซลล์ และเป็นเซลล์กระดูกที่เจริญเต็มที่แล้ว รอบๆ เซลล์จะเป็นช่องที่เรียกว่า ลากูนา (lacuna) และแต่ละลากูนาจะติดต่อกันด้วยช่องทางผ่านเล็กๆที่เรียกว่า คานาลิคูไล (canaliculi) ซึ่งทำให้แต่ละ osteocyte cell การสื่อสารติดต่อกันได้ ออกซิเจนและสารอาหารจะถูกลำเลียงจากหลอดเลือดภายในช่องฮาเวอร์เชียนเข้ามายังแต่ละเซลล์ผ่านทางช่องนี้ แม้ osteocyte cell จะเป็นเซลล์กระดูกที่โตเต็มที่แล้ว แต่ยังมีหน้าที่ในการควบคุมระดับแคลเซียมและสารนอกเซลล์อื่นๆ

ง. **osteoclast cell** เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีหลายนิวเคลียส เจริญมาจากเซลล์ต้นกำเนิดโมโนไซต์ (monocyte stem cells) มีหน้าที่สำคัญในกระบวนการก่อรูปกระดูก (bone remodeling) โดยการสร้างเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส (acid phosphatase) ที่เร่งการกัดกร่อนเนื้อกระดูก และทำให้กระดูกมีรูปทรงที่เหมาะสม นอกจากนี้ กระบวนการดังกล่าวยังทำให้มีการนำแคลเซียมออกสู่กระแสเลือดอีกด้วย

1.2.1.5 Bone Formation [5]

หมายถึงกระบวนการสร้างกระดูก มี 2 ลักษณะ คือ

ก. Intramembranous ossification วิธีนี้กระดูกเจริญจากเซลล์ต้นกำเนิด mesenchyme โดยตรง

ข. Endochondral ossification วิธีนี้กระดูกเจริญแทนที่กระดูกอ่อน

กระดูกที่ได้จากการเจริญทั้งสองวิธีนี้ มีลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ไม่แตกต่างกันและมีกระบวนการสร้างคล้ายกันคือ osteoblast cell ทำหน้าที่สร้างเนื้อพื้นอินทรีย์ ต่อมามีสารอนินทรีย์และเกลือแร่เข้ามาสะสม เรียกกระบวนการนี้ว่า mineralization หรือ calcification ทำให้กระดูกมีความแข็ง

บริเวณที่มีการสร้างกระดูกเรียกว่า ossification center ส่วนใหญ่มีหลายแห่งและเกิดในเวลาแตกต่างกัน บริเวณแรกที่เกิดการสร้างกระดูกเรียก primary ossification center กระดูกที่สร้างขึ้นในระยะแรกจะเป็นชนิด woven bone ต่อมามีกระบวนการปรับแต่งและเปลี่ยนเป็น mature bone เรียกกระบวนการนี้ว่า bone remodeling ดังนั้นการเจริญของกระดูกจะพบว่ากระบวนการสร้างและการทำลายเกิดขึ้นพร้อมกัน

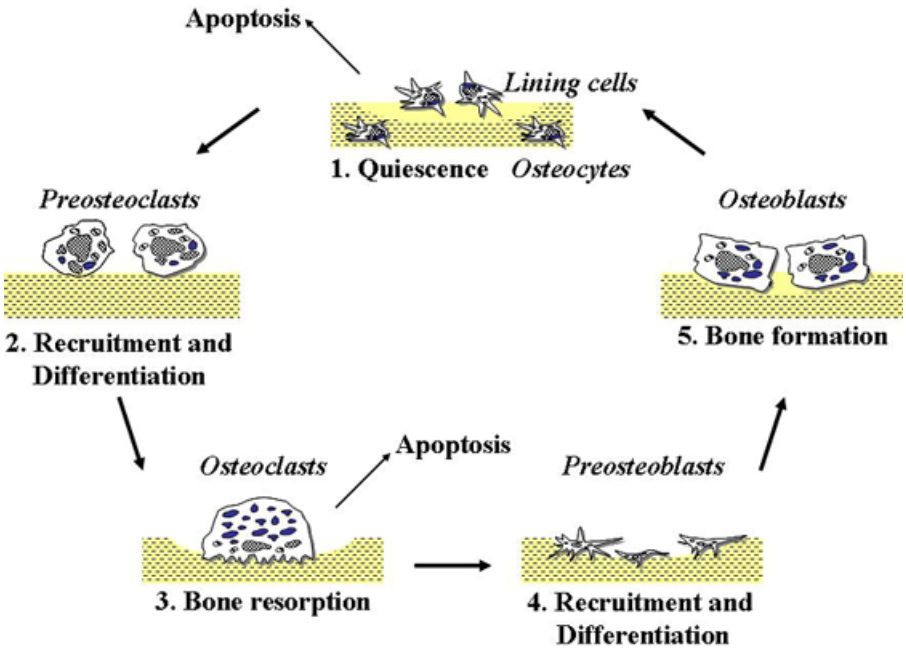
กระดูกในร่างกายส่วนใหญ่สร้างด้วยกระบวนการ intramembranous bone formation ส่วนกระดูกที่สร้างด้วยวิธี endochondral bone formation พบที่บริเวณ epiphysis และที่ spongy bone ของ diaphysis

1.2.1.6 Growth และ modeling [5]

เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในวัยเด็ก เพื่อเพิ่มขนาดของกระดูกโดยเพิ่มทั้งความยาวและความหนาหรือเส้นผ่าศูนย์กลางของกระดูก กระบวนการเหล่านี้เกิดขึ้นโดยมี osteoclast cell ทำหน้าที่สร้างกระดูก (deposit) ขณะเดียวกันก็มี osteoclast cell ทำหน้าที่ทำลายกระดูก (resorption) ทั้งนี้การเจริญของกระดูกขึ้นกับกรรมพันธุ์ เชื้อชาติ ฮอร์โมน และปัจจัยจากภายนอก เช่น การออกกำลังและอาหาร

1.2.1.7 Remodeling [5]

เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นตลอดชีวิต เพื่อปรับแต่งโครงสร้างของกระดูกให้เหมาะกับหน้าที่และเพื่อตอบสนองต่อสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ปรับระดับแคลเซียมในเลือดเพื่อให้อยู่ในระดับสมดุล (calcium homeostasis) โดยกระบวนการย่อยสลายกระดูกโดย osteoclast cell และการสร้างกระดูกโดย osteoblast cell จะเกิดขึ้นในบริเวณเดียวกันภายในหน่วยการปรับแต่งกระดูก เป็นกระบวนการที่ประกอบด้วยขั้นตอนการกระตุ้น (เรียก activation) การย่อยสลายกระดูกด้วย osteoclast cell (เรียก resorption) และการสร้างกระดูกด้วย osteoblast cell (เรียก formation) ตามลำดับ ดังรูปที่ 1.3



รูปที่ 1.3 กระบวนการการสร้างกระดูกใหม่ [7]

ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกระดูกเพื่อตอบสนองต่อสภาพแวดล้อม เห็นได้ชัดจากตัวอย่างที่ทันตแพทย์จัดฟันซึ่งพยายามจัดให้ฟันซี่ที่เรียงอย่างไม่ถูกต้อง ให้เคลื่อนไปเรียงอย่างถูกต้อง โดยการรั้งหรือดึงตัวฟันด้วยวัสดุจัดฟัน ทำให้กระดูกเบ้าฟัน (alveolar bone) ด้านที่มีฟันกดอยู่ (pressure side) เกิดการสลายของกระดูก ส่วนด้านตรงข้าม (เป็น tension side) จะมีการสร้างกระดูกขึ้นใหม่เกิดเบ้ากระดูกฟัน (alveolar socket) ที่มีขนาดพอเหมาะกับตำแหน่งใหม่ของรากฟันที่ฝังอยู่

ดังได้กล่าวแล้ว การเปลี่ยนแปลงของกระดูกเกิดได้ตลอดชีวิต แต่อัตราการสร้างกระดูกในผู้ใหญ่จะเกิดช้ากว่าในเด็ก ผู้สูงอายุจึงมีโอกาสเกิดภาวะกระดูกพรุน (osteoporosis) ได้ง่าย ทั้งนี้เนื่องจากความสามารถในการสร้างกระดูกลดลง ทำให้ช่องว่างในกระดูกกว้างขึ้นตามอายุ และเนื้อกระดูกบางลง นอกจากนี้ผู้สูงอายุยังมีความสามารถในการสร้างสารพื้นอินทรีย์ลดลงด้วย ทำให้กระดูกเปราะและหักได้ง่าย

1.2.1.8 การซ่อมแซมกระดูก [5]

เมื่อกระดูกหัก จะมีเลือดออกเนื่องจากการฉีกขาดของหลอดเลือดตามมา เลือดจะแข็งตัวและเซลล์ fibroblast, macrophage และ neutrophilic granulocyte เข้ามาช่วยกำจัดเศษเนื้อเยื่อ หลังจากนั้น dense connective tissue จะแทรกเข้าไปใน granulation tissue และเจริญเป็น cartilage callus ทำหน้าที่ช่วยเชื่อมปลายกระดูกที่หัก ต่อมา osteoblast cell เจริญจากเซลล์ใน periosteum

และ endosteum ทำหน้าที่สร้างกระดูกแทนที่ cartilage ในขณะเดียวกันก็มี osteoclast cell ช่วย reabsorb ด้วย จึงเกิดกระบวนการ remodeling จนกระดูกเชื่อมต่อกันและมีรูปร่างเหมือนเดิม ประสิทธิภาพของการซ่อมแซมกระดูกขึ้นอยู่กับ การมีเลือดมาเลี้ยงเซลล์อย่างเพียงพอ ประสิทธิภาพของเซลล์ต้นกำเนิดในการสร้างกระดูกใหม่ และการมีวิตามินและแร่ธาตุเพียงพอ

1.2.1.9 สมบัติเชิงกลของกระดูก [8]

ส่วนประกอบของกระดูกที่เป็นสารอินทรีย์ (โดยมากจะเป็นคอลลาเจน) จะมีความเหนียวสูงค่ามอดูลัสต่ำ และมีสมบัติอื่นๆ ที่เป็นลักษณะเฉพาะของพอลิเมอร์ และส่วนประกอบที่เป็นสารอนินทรีย์ ซึ่งเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์ส่วนใหญ่จะทำให้กระดูกมีความแข็งแรงมาก ทำให้กระดูกเป็นวัสดุผสมของเซรามิกส์และสารอินทรีย์ ดังนั้นกระดูกจึงมีความเหนียวสูงและค่ามอดูลัสสัมพัทธ์สูง โดยที่ความเหนียวของกระดูกไม่ได้มาจากคอลลาเจนเท่านั้น แต่เกิดจากโครงสร้างจุลภาคของไฟเบอร์ที่มีความสลับซับซ้อนด้วย

1.2.2 โครงเลี้ยงเซลล์ (Scaffold)

ในงานทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก ส่วนประกอบสำคัญที่ใช้เป็นโครงเลี้ยงเซลล์เพื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ให้เป็นเนื้อเยื่อบนโครงสร้างนั้น ส่วนมากผลิตมาจากวัสดุที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ [9] และต้องสามารถขึ้นรูปเป็นโครงสร้าง 3 มิติที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกับอวัยวะที่จะนำไปใช้ทดแทน [10] และเมื่อเซลล์ที่ทำการเลี้ยง (culture) เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์จนมีปริมาณมากพอ จึงทำการเลี้ยงเซลล์เหล่านี้บนโครงเลี้ยงเซลล์ ให้เจริญเติบโตบนโครงเลี้ยงเซลล์ที่ได้ออกแบบไว้แล้ว จากนั้นจึงทำการใส่เข้าไปแทนที่อวัยวะที่ต้องการ และปล่อยให้กลุ่มเซลล์ที่อยู่บนโครงเลี้ยงเซลล์เจริญเติบโตเป็นเนื้อเยื่อใหม่ทดแทนเนื้อเยื่อเดิม ในขณะที่โครงเลี้ยงเซลล์จะถูกย่อยสลายไป [11] สิ่งที่สำคัญที่สุดคือ โครงเลี้ยงเซลล์ต้องมีความเหมาะสมทางชีวภาพ (biocompatibility) คือสามารถใส่เข้าในร่างกายโดยไม่เกิดการต่อต้านจากระบบภูมิคุ้มกัน และต้องไม่กระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย [12]

โครงเลี้ยงเซลล์ต้องมีคุณสมบัติที่แข็งแรงและคงทนต่อแรง (load) ที่ได้รับ โดยไม่เกิดรอยร้าวหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง วัสดุที่นำมาใช้เตรียมโครงเลี้ยงเซลล์จึงต้องมีแรงยึดเหนี่ยวภายในและระหว่างโมเลกุล (intramolecular and intemolecular bonding) ที่มากพอ อย่างไรก็ตาม วัสดุเหล่านี้จะต้องสามารถย่อยสลายได้ภายในระยะเวลาที่กำหนด [12]

ในการผลิตเนื้อเยื่อเพื่อทำการปลูกถ่ายนั้น ประเด็นสำคัญที่ไม่ควรมองข้ามคือเรื่องของที่ว่างที่ใช้ในกระบวนการต่างๆ ของเซลล์ เช่น การแลกเปลี่ยนก๊าซและขับถ่ายของเสีย การ

หายใจ การกินอาหาร เป็นต้น การแลกเปลี่ยนสารต่างๆจะใช้สื่อกลางคือ เลือด เนื่องจากเซลล์มีขนาดประมาณ 100 ไมครอน [13] ดังนั้นการสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีขนาดของรูพรุนต่ำ จึงต้องคำนึงถึงเรื่องนี้ด้วย

ปัจจุบันมีเทคโนโลยีที่ใช้ผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ให้มีรูปร่างโครงสร้าง และรูปแบบตามที่ต้องการ รวมทั้งสามารถกำหนดคุณสมบัติทางกายภาพของพื้นที่ผิว ความพรุนและขนาดรูพรุนภายในโครงเลี้ยงเซลล์ได้ ซึ่งการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์มีหลายวิธีแตกต่างกัน ดังตัวอย่างแสดงในตารางที่ 1.2

ตารางที่ 1.2 เทคโนโลยีที่ใช้ผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ [13]

เทคโนโลยี	ขนาดของรูพรุน (μm)	ความพรุน (%)
การหล่อ (Solvent casting)	30 - 300	20 - 50
เยื่อแผ่นบางแบบซ้อนทับ (Membrane lamination)	30 - 300	< 85
การหลอม (Melt-molding)	50 - 500	< 80
การรีด (Extrusion)	< 100	< 84
การระเหิดแห้ง (Freeze dry)	< 200	< 97
ของไหลเหนือวิกฤติ (Supercritical-fluid)	< 100	10 - 30

สารต่างๆ ที่นำมาใช้ผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ เพื่อใช้ในงานทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกในยุคแรกๆ คือ วัสดุประกอบแต่งของคอลลาเจนกับไกลโคซามิโนไกลแคน หลังจากนั้นได้พัฒนามาใช้ injectable calcium alginate matrices และใช้ fibrin glue ในการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ซึ่งวัสดุเหล่านี้มีข้อจำกัดในการใช้งาน กล่าวคือ ความแข็งแรงน้อย ระยะเวลาในการสลายตัวเร็ว แต่สามารถเข้ากันได้ทางชีวภาพ เป็นต้น [9]

1.2.3 วัสดุทดแทนกระดูก [14]

ถึงแม้ว่ากระดูกปลูก (Bone graft) คือ กระดูกที่ตัดออกมาจากอวัยวะส่วนอื่นของผู้ป่วย (Autograft bone) หรือกระดูกที่ได้รับบริจาคจากผู้อื่น (Allograft bone) หรือกระดูกของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น กระดูกวัว (Xenograft bone) จะเป็นที่ยอมรับกันว่าสามารถใช้เพื่อแก้ปัญหาการเชื่อมติดของกระดูก (Bone union) หรือใช้เพื่อเติมลงในส่วนที่บกพร่องของกระดูก (Bone defect) ก็ตาม แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นมักจะเป็นกรณีที่ต้องใช้กระดูกปลูกจำนวนมากหรือมีชิ้นขนาดใหญ่

โดยเฉพาะการซ่อมส่วนที่หายไปของกระดูก ทำให้ไม่สามารถหา Autograft ที่มีขนาดเหมาะสมมาใช้ได้อย่างเพียงพอ การใช้ Allograft พอที่จะช่วยแก้ปัญหาเรื่องปริมาณและขนาดได้ แต่ยังมีปัญหาเกี่ยวกับปฏิกิริยาทางระบบภูมิคุ้มกันในผู้รับ ส่วน Xenograft bone จะทำให้ผู้รับเสี่ยงต่อการติดเชื้อและเกิดปฏิกิริยาต่อต้านจากระบบภูมิคุ้มกันของผู้รับ และปัญหาอีกหลายประการที่เกิดจากการใช้โลหะในร่างกายมนุษย์ ทำให้มีความพยายามในการแก้ปัญหาเหล่านี้ แนวทางหนึ่งคือ ศึกษาและพัฒนาวัสดุทดแทนกระดูก ทั้งที่เป็นสารธรรมชาติ และสารสังเคราะห์ โดยพยายามที่จะให้มีโครงสร้างและสมบัติคล้ายกับกระดูกมากที่สุด

1.2.3.1 คุณสมบัติของวัสดุทดแทนกระดูก [15]

สารทดแทนกระดูกจำนวนมากที่มีการใช้อยู่ในปัจจุบันหรือกำลังมีการพัฒนาขึ้นมาใหม่ ล้วนแต่พยายามที่จะทำให้มีคุณสมบัติที่ดี ดังนี้คือ

ก. **Biocompatibility** หมายถึงความสามารถที่เข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของร่างกาย ซึ่งจะทำให้มีการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูกเข้าไปภายในวัสดุทดแทนกระดูกจนเป็นเนื้อเดียวกัน โดยไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่จะเป็นผลให้มีการสร้างเนื้อเยื่อไฟเบอร์รอบๆ วัสดุ

ข. **Biodegradability** หมายถึงความสามารถที่วัสดุค่อยๆ สลายตัวโดยกลไกต่างๆ ภายในร่างกาย ซึ่งจะทำให้สารทดแทนกระดูกที่ใช้ค่อยๆ ถูกกำจัดออกไปจากตำแหน่งที่ใส่หลังจากที่มีการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูกเข้าไปแทนที่แล้ว จนในที่สุดเมื่อหมดหน้าที่แล้ว สารทดแทนกระดูกที่ดีควรจะสามารถถูกร่างกายสลายและกำจัดออกไปจนหมด จุดสำคัญที่น่าสนใจคือ อัตราการสลายตัวของสารทดแทนกระดูก จะต้องสอดคล้องกับอัตราการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูกที่เข้าไปแทนที่ เพราะถ้าหากการสลายตัวเกิดขึ้นเร็วเกินไป จะทำให้บริเวณที่ใส่สารทดแทนกระดูกขาดความแข็งแรง และเกิดการแตกหรือหักได้เมื่อได้รับแรงกระทำ เนื่องจากการเจริญของกระดูกยังเข้าไปไม่มากพอที่จะทำหน้าที่แทน แต่ถ้าการสลายตัวเกิดขึ้นช้าหรือไม่มีการสลายตัว สารทดแทนกระดูกนั้นก็จะเป็นตัวขัดขวางการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูก ทำให้เนื้อเยื่อกระดูกไม่สามารถเจริญเข้าไปแทนที่ได้ ซึ่งจะมีผลต่อชีวกลศาสตร์ของกระดูกส่วนนั้นในระยะยาว

ค. ความแข็งแรง เนื่องจากวัสดุทดแทนกระดูกส่วนใหญ่ถูกพัฒนาเพื่อแก้ปัญหาส่วนของกระดูกที่บกพร่องไป การใช้วัสดุทดแทนต่างชนิดกัน จึงต้องพิจารณาถึงความแข็งแรงของวัสดุที่ใช้ด้วย โดยเฉพาะเมื่อใช้ขนาดใหญ่หรือใช้กับกระดูกที่ต้องรับน้ำหนัก สารทดแทนกระดูกที่มีคุณสมบัติอื่นๆ ดี แต่มีความเปราะก็มีข้อจำกัดในการนำไปใช้ เมื่อเทียบกับสารอื่นที่มีความแข็งแรงของโครงสร้างดีกว่า

ง. Osteoinductive capabilities หมายถึง ความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เนื้อเยื่อกระดูกโดยรอบตรงตำแหน่งที่รับ (Recipient site) มีการเจริญเข้าไปในวัสดุทดแทนกระดูกที่ใช้ โดยความสามารถนี้เป็นจุดสำคัญจุดหนึ่งที่เป็นที่ต้องการ และมีความพยายามในการพัฒนาให้วัสดุทดแทนกระดูกให้มีคุณสมบัติข้อนี้ และเป็นคุณสมบัติที่สำคัญที่ทำให้กระดูก Autograft ดีกว่ากระดูกปลูกชนิดอื่นๆ และวัสดุทดแทนกระดูกทั้งหลายที่มีอยู่ ความพยายามที่จะทำให้สารทดแทนกระดูกมีความสามารถในการเหนี่ยวนำเนื้อเยื่อกระดูกยังไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร จึงเป็นเหตุผลที่ต้องมีการผสมส่วนประกอบอื่นๆ เข้ากับวัสดุทดแทนกระดูก เพื่อให้มีความสามารถในข้อนี้ เช่น การใช้ Bone morphogenetic protein (BMP) หรือแม้แต่การใช้ไขกระดูกหรือส่วนประกอบบางส่วนจากไขกระดูกหรือเลือดของผู้รับ เป็นต้น

จ. Bioinert คือ เป็นวัสดุที่มีความเฉื่อย ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นโดยง่าย คุณสมบัติข้อนี้จะทำให้สามารถผสมสารอื่นที่จำเป็น เช่น ยาปฏิชีวนะ เข้ากับสารทดแทนกระดูกที่จะใช้ได้ โดยไม่เกิดปฏิกิริยาต่อกัน

ฉ. ง่ายต่อการเตรียม สามารถทำรูปแบบหรือขนาดได้ตามความต้องการได้ง่าย และสามารถเก็บไว้ใช้ได้นาน เป็นคุณสมบัติปลีกย่อยที่บางครั้งทำให้มีผลต่อการเลือกใช้วัสดุทดแทนกระดูกบางชนิด

1.2.3.2 หน้าที่ของวัสดุทดแทนกระดูก [8]

วัสดุทดแทนกระดูก ถูกนำมาใช้โดยทำหน้าที่เป็นโครงสร้างที่เอื้อต่อการเจริญเข้าไปของเนื้อเยื่อกระดูก หรืออาจกล่าวได้ว่าทำหน้าที่เป็นสื่อนำกระดูก เช่นเดียวกับการทำหน้าที่ของกระดูกปลูกโดยทั่วไป หากมองที่หน้าที่ส่วนนี้จะเห็นได้ว่า วัสดุทดแทนกระดูกที่มีโครงสร้างเป็นรูพรุนน่าจะเหมาะสมกว่าวัสดุที่มีเนื้อแน่น แต่หน้าที่สำคัญอีกประการหนึ่งของวัสดุทดแทนกระดูก

คือการให้ความแข็งแรงแก่กระดูกส่วนที่ขาดหายไป ฉะนั้นหากจะเน้นให้เป็นวัสดุที่มีความแข็งแรงก็จำเป็นจะต้องทำให้มีเนื้อแน่นพอสมควร

จะเห็นได้ว่า ความยากของการพัฒนาวัสดุทดแทนกระดูก นอกจากจะอยู่ที่การค้นหาสารที่มีคุณสมบัติดังกล่าวแล้ว ยังอยู่ที่ขั้นตอนการผลิตหรือสังเคราะห์เพื่อให้ได้โครงสร้างที่เอื้อต่อการเจริญเข้าไปของเนื้อเยื่อกระดูกและมีความแข็งแรงเหมาะสมกับการนำไปใช้งานต่อไป

1.2.4 วัสดุชีวภาพ (Biomaterials)

1.2.4.1 เซรามิกส์ (Ceramics) [16]

แก้ว (Glass) มีความสำคัญในทางการแพทย์ในอดีต เนื่องจากนำมาใช้ทำเครื่องมือเครื่องใช้ ภาชนะใส่สารเคมี เทอร์โมมิเตอร์ เป็นต้น และเป็นที่นิยมอย่างกว้างขวาง ความก้าวหน้าของการวิจัยทำให้การใช้ประโยชน์จากแก้วและเซรามิกส์ขยายกว้างขึ้น เช่น ใช้แก้วเป็นตัวบรรจุและนำส่ง enzymes, antibodies, antigens และ hormones เนื่องจากเซรามิกส์เป็นวัสดุที่เฉื่อยต่อปฏิกิริยาเคมี ต้านทานแรงกดสูงๆได้ ทนต่อการกัดกร่อน จึงได้นำมาใช้ในผู้ป่วย ที่เป็นโรคเกี่ยวกับและกระดูกและข้อมากขึ้น

เซรามิกส์เป็นวัสดุที่ประกอบด้วยธาตุที่เป็นโลหะและอโลหะ จับกันด้วยพันธะไอออนิก (ionic bond) และพันธะโควาเลนซ์ (covalent bond) ซึ่งการจับกันเช่นนี้ทำให้ไม่มีอิเล็กตรอนอิสระเหลืออยู่ เซรามิกส์จึงเป็นวัสดุที่นำไฟฟ้าและความร้อนได้ไม่ดี มีความโปร่งแสงแต่ค่อนข้างจะเปราะ มีความเสถียรสูงกว่าพอลิเมอร์ ปัจจุบันเซรามิกส์กำลังได้ความสนใจอย่างมากในการนำมาประยุกต์ใช้งานทางการแพทย์ เช่น ไพโรคาร์บอน (pyrocarbon) ถูกนำมาใช้ผลิตวาล์วปิด-เปิดของลิ้นหัวใจเทียม เพราะทำได้ง่ายและเข้ากับเนื้อเยื่อได้ดี อะลูมินา (alumina) นำมาใช้เกี่ยวกับกระดูกและข้อเทียม เนื่องจากทนต่อแรงกดได้มาก และมีความแข็งยิ่งยวด วัสดุไฮดรอกซีอะพาไทต์ ที่มีรูพรุนถูกนำมาใช้เพื่อฝังในร่างกาย โดยเฉพาะกรณีกระดูกหัก ร่างกายจะสร้างกระดูกใหม่ขึ้นมาสอดแทรกตามรูพรุนของวัสดุดังกล่าว ช่วยในเกิดกระดูกใหม่ที่มีความแข็งแรงใกล้เคียงกับกระดูกเดิม

ในด้านศัลยกรรมกระดูก (orthopedics) และทันตกรรม แบ่งเซรามิกส์ออกเป็น 4 ชนิด ดังนี้

ก. **เซรามิกส์ชนิดเฉื่อย** มวลสารภายในแน่น ผิวไม่มีรูพรุน กระดูกใหม่จะเจริญมาปกคลุมผิวขรุขระของเซรามิกส์ การใช้ทำโดยฝังและยึดให้แน่นกับส่วนกระดูกที่หายไป

ข. **เซรามิกส์ชนิดเฉื่อยที่มีรูพรุน** กระดูกใหม่สามารถเจริญเข้าไปในรูพรุนได้ มีความมั่นคงเชิงกล ยึดกับกระดูกรองรับได้ดี

ค. **เซรามิกส์ชนิดไม่มีรูพรุน** มวลสารภายในแน่น ผิวมีความว่องไวต่อสารหลั่งในร่างกาย เช่น glass และ glass-ceramics ทำให้ยึดติดกับกระดูกรองรับโดยเกิดพันธะเคมีระหว่างผิววัสดุและกระดูกใหม่ได้ดี

ง. **เซรามิกส์ชนิดมวลสารแน่น** มีรูพรุนหรือไม่มีรูพรุนก็ได้ สามารถสลายตัวและดูดซับในร่างกายได้ และถูกแทนที่โดยกระดูกใหม่ที่สร้างขึ้นมา

เซรามิกส์ที่ใช้ทำเป็นข้อเทียมต่างๆในปัจจุบันมีการศึกษาในแง่ปฏิกิริยาเคมีกับเนื้อเยื่อ และกับสิ่งแวดล้อม บริเวณที่ถูกฝังเข้าไป การดูดซับภายในร่างกาย ความว่องไว/ความเฉื่อยของพื้นผิว เป็นต้น

1.2.4.1.1 ไฮดรอกซีอะพาไทต์ (Hydroxyapatite, (HA)) [15,16]

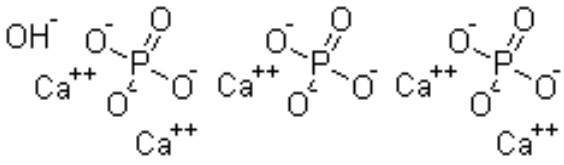
ไฮดรอกซีอะพาไทต์ ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) (รูปที่ 1.4) น้ำหนักโมเลกุล 502.31กรัม/โมล จุดหลอมเหลว 1100 ^{o}C เป็นเซรามิกส์ที่ย่อยสลายได้ ถูกนำมาใช้มากที่สุดชนิดหนึ่งทั้งในแบบเนื้อแน่น (dense hydroxyapatite) และแบบมีรูพรุน (porous hydroxyapatite) เนื่องจากเป็นส่วนประกอบหลักของกระดูกและฟัน มีความหนาแน่นต่ำ มีความเสถียรทางเคมีสูง ต้านทานต่อการขัดสีสูง ไม่ถูกต่อต้านจากระบบภูมคุ้มกัน ไม่เป็นพิษต่อเนื้อเยื่อ มีอัตราการเสื่อมสลายต่ำ คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพใกล้เคียงกับแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบกระดูก ช่วยทำให้กระดูกใหม่เจริญได้เร็วขึ้น สามารถยึดติดกับกระดูกใหม่ได้โดยตรง ไม่ต้องอาศัยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเป็นตัวกลาง

แม้ว่าไฮดรอกซีอะพาไทต์จะมีสมบัติทางเคมีที่ใกล้เคียงกับแร่ที่เป็นส่วนประกอบของกระดูกมนุษย์ แต่มีสมบัติเชิงกลต่ำ คือ มีความเปราะ (brittlessness) มีความแข็งแรง (strength) และ ความทนต่อความล้า (fatigue resistance) ต่ำมาก เช่น ไฮดรอกซีอะพาไทต์ชนิดเนื้อแน่นจะมีค่า

ความทนต่อแรงกด (compressive strength) อยู่ระหว่าง 100-200 MPa และ ค่าความทนต่อการแตกหัก (fracture toughness) ไม่เกิน 1 MPa/m ซึ่งแตกต่างจากกระดูกโดยธรรมชาติเป็นอย่างมาก

สมบัติเชิงกลที่สำคัญของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่นำไปใช้งานในทางการแพทย์ คือ ความแข็ง (hardness) และ ความทนต่อแรงกดดัด (flexural bending strength) ซึ่งไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่บริสุทธิ์ จะมีสมบัติเชิงกลที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับกระดูกจริงของมนุษย์ ดังนั้นการปรับปรุงสมบัติเชิงกลของไฮดรอกซีอะพาไทต์จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อจะได้วัสดุที่สามารถนำไปใช้งานได้จริง

มีการนำไฮดรอกซีอะพาไทต์มาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ในหลายลักษณะ เช่น ใช้ควบคุมการปลดปล่อยยา ใช้ทดแทนกระดูกส่วนที่สูญเสีย



รูปที่ 1.4 โครงสร้างของไฮดรอกซีอะพาไทต์ [17]

จากทฤษฎีพบว่าไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ได้จากการสังเคราะห์ประกอบด้วย Ca และ P ในอัตราส่วนโดยโมล เท่ากับ 1.67 มีความคล้ายคลึงทางเคมีกับกระดูกตามธรรมชาติมาก อย่างไรก็ตามไฮดรอกซีอะพาไทต์ชนิดนี้มีข้อด้อยคือ มีผลทางชีวภาพต่ำกว่ากระดูกจริง

งานวิจัยพบว่าความแข็งแรงเชิงกลและการแตกหักของไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถปรับปรุงโดยใช้เทคนิคการเผา โดยการเพิ่มสารที่มีจุดหลอมเหลวต่ำเข้าไปทำให้เกิดการหลอมติดกันของอนุภาค ความแข็งแรงของเซรามิกส์ผสมจึงเพิ่มขึ้น

รูพรุนภายในโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีการเชื่อมต่อกันนำไปสู่การยึดเกาะอย่างมั่นคงของวัสดุที่นำมาใช้ เนื้อเยื่อกระดูกเติบโตดีเข้าไปในรูพรุนได้ดี เป็นการเพิ่มความแข็งแรงของรอยต่อระหว่างเนื้อเยื่อใหม่กับวัสดุที่ใช้ โครงเลี้ยงเซลล์ในอุดมคติต้องปลอดภัย กระตุ้นให้เซลล์รอบๆ เจริญเติบโตเพื่อสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมาทดแทนส่วนที่ได้รับความเสียหาย คุณสมบัติประการหนึ่งที่จำเป็นให้การรักษาประสบความสำเร็จ คือ การใช้วัสดุที่มีรูพรุน และเซลล์กระดูกยึดเกาะได้ดี (osteophilic) โดยสามารถป้องกันการเคลื่อนของเซลล์กระดูกที่ฝังเข้าไปยังบริเวณอื่น กล่าวคือ รูพรุนควรมีขนาดไม่น้อยกว่า 100 ไมครอน จากนั้นจะมีการสร้างหลอดเลือด เซลล์จึงได้รับอาหาร

ขับถ่ายของเสีย และอยู่รอดได้ [5] นักวิจัยได้ทำการเพิ่มสารที่ช่วยรับแรงกระแทก โดยออกแบบให้มีพื้นที่ผิวหน้าขนาดใหญ่ เหมาะสำหรับการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของกระดูกใหม่

1.2.4.1.2 ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (Tricalcium phosphate, (TCP)) [4]

ไตรแคลเซียมฟอสเฟต ($Ca_3O_8P_2$) น้ำหนักโมเลกุล 310.18 กรัม/โมล จุดหลอมเหลว 1670 ^{o}C มีคุณสมบัติเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อของร่างกาย โครงสร้างที่มีรูพรุน จะเอื้อต่อการเจริญเติบโตของเซลล์กระดูก จึงถูกแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อใหม่ และมีการปรับรูปในเวลาต่อมา อัตราการเจริญเติบโตของกระดูกเข้าไปในรูพรุนจะแปรตามตำแหน่งที่ใส่เข้าไปในร่างกาย เนื่องจากกระดูกแต่ละบริเวณมีเซลล์ต้นกำเนิดกระดูก (osteoprogenitor cell) ในปริมาณที่แตกต่างกัน

ไตรแคลเซียมฟอสเฟตมีจุดเด่นคือสามารถย่อยสลายได้ด้วยตัวเอง อาจเกิดโดยกระบวนการ passive dissolution หรือ osteoclastic resorption แคลเซียมและฟอสเฟตที่เกิดจากการสลายของไตรแคลเซียมฟอสเฟต จะมีองค์ประกอบทางเคมีเหมือนกับที่พบในร่างกาย จึงไม่ทำให้เกิดพิษ เนื่องจากอัตราการสลายตัวเกิดขึ้นช้า จึงไม่กระทบต่อระดับแคลเซียมและฟอสเฟตในเลือด

การนำไตรแคลเซียมฟอสเฟตใส่แทนกระดูกซึ่งเสียหายจากอุบัติเหตุ ทำให้เกิดการสมานของรอยแตก มีการเจริญเติบโตของกระดูกเข้าไปในโครงเลี้ยงเซลล์ ผลที่ได้เทียบได้กับการใช้ไฮดรอกซีอะพาไทต์แบบรูพรุน แต่ไตรแคลเซียมฟอสเฟตสลายตัวได้ดีกว่า แม้จะเป็นที่ยอมรับถึงประสิทธิภาพจากผลการทดลองในสัตว์และการใช้ทางคลินิก แต่ไตรแคลเซียมฟอสเฟตมีปัญหาด้านคุณสมบัติเชิงกล คือ ทนต่อแรงกดหรือแรงอัดได้น้อย โดยมีค่าเฉลี่ยน้อยกว่ากระดูกของร่างกายโดยทั่วไป ทำให้การใช้ตรงบริเวณที่ต้องรับแรงกระทำมากๆ ถูกจำกัดลงใน เมื่อนำไตรแคลเซียมฟอสเฟตผสมกับไฮดรอกซีอะพาไทต์ พบว่าทำให้ไฮดรอกซีอะพาไทต์คงตัวมากขึ้นที่อุณหภูมิสูงๆ [18]

1.2.4.1.3 แคลเซียมซิลิเคต (calcium silicate, (CS)) [19]

แคลเซียมซิลิเคต (CaO_3Si) (รูปที่ 1.5) ชนิด Wollastonite มีน้ำหนักโมเลกุล 116.16 กรัม/โมล จุดหลอมเหลว 1540 ^{o}C เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของหินปูนที่มีแคลไซต์ (Calcite, $CaCO_3$) รวมกับซิลิกา (Silica, SiO_2) โดยจะต้องมีความร้อนและความดันเข้ามาเกี่ยวข้องด้วยดังปฏิกิริยาเคมีที่แสดง

$$CaCO_3 + SiO_2 \rightarrow CaSiO_3 + CO_2 \quad (1.1)$$

Calcite quartz wollastonite carbon dioxide

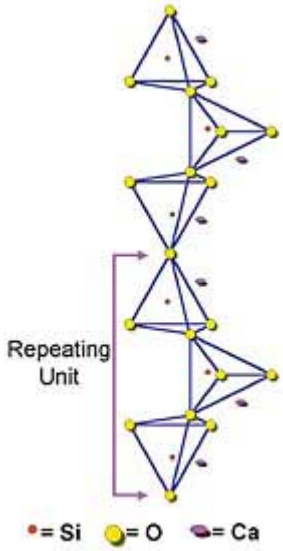
Wollastonite เป็นแร่ธาตุที่ประกอบด้วย CaO 48.28 % และ SiO_2 51.72 % โดยน้ำหนัก และมีไอออนของโลหะปนอยู่ในปริมาณเล็กน้อยดังตาราง 1.3

ตารางที่ 1.3 องค์ประกอบทางเคมีของแคลเซียมซิลิเคตชนิด wollastonite [19]

ส่วนประกอบทางเคมี	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
CaO	47.00
SiO_2	50.00
Fe_2O_3	1.00
Al_2O_3	0.30
K_2O	0.10
MnO	0.10
MgO	0.30
TiO_2	0.05
P_2O_5	0.04
Moisture	0.20
Loss on ignition	0.20
Undermined	0.71

1) โครงสร้างผลึกของแคลเซียมซิลิเคต [20]

แคลเซียมซิลิเคตจัดอยู่ในกลุ่ม pyroxenoid และอยู่ในกลุ่มย่อย inosilicate ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างแบบสายโซ่เดี่ยวซิลิเคต (Single chain silicate) เกิดจากซิลิกา 3 หมู่ที่มีการจัดเรียงตัวแบบเตตระฮีดรอล (tetrahedral) เชื่อมต่อกันโดยมีแคลเซียมแทรกอยู่ในช่องออกตระฮีดรอล (octahedral) สารประกอบประเภทนี้มีการจัดเรียงผลึกในหลายลักษณะ เช่น ไตรคลินิค (triclinic) โมโนคลินิค (monoclinic) และเฮกซะโกนอล (hexagonal)



รูปที่ 1.5 โครงสร้างผลึก wallastonite [21]

2) สมบัติของแคลเซียมซิลิเคต [19,20]

2.1) สมบัติทางกายภาพของแคลเซียมซิลิเคต

รูปร่างของผลึกของ Wallastonite มีรูปร่างแบบแท่งยาวคล้ายเข็ม (Acicular) ความหนาแน่นของสารบริสุทธิ์อยู่ในช่วง 2.87-3.09 g/cm^3 ที่มีค่าเป็นช่วงเนื่องมาจากมีโลหะอื่นเจือปน เช่น อะลูมินัม เหล็ก แมงกานีส โพแทสเซียม และโซเดียม มาแทนที่แคลเซียมในโครงสร้างผลึก มีสีค่อนข้างขาว แต่ถ้ามีโลหะอื่นเจือปนสีอาจจะเปลี่ยนเป็นสีครีม

2.2) สมบัติทางเคมีของแคลเซียมซิลิเคต

Wallastonite มีสูตรโมเลกุล $CaSiO_3$ มวลโมเลกุล 116 และมีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 0.0095 g/100 ml ให้ค่า pH อยู่ในช่วง 8-10 Wallastonite ที่บริสุทธิ์จะเฉื่อยต่อปฏิกิริยาเคมี แต่สามารถละลายน้ำได้บ้าง ดังสมการ

$$CaSiO_3 + nH_2O \rightarrow Ca(OH)_2 + SiO_2.(n-1)H_2O \qquad (1.2)$$

การมี $Ca(OH)_2$ เกิดขึ้นทำให้ค่า pH เพิ่มขึ้น จึงเกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับกรด โดยเฉพาะกรดไฮโดรคลอริก กรดชนิดอื่นที่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้คือ กรดซัลฟิวริก กรดฟอสฟอริก กรดอะซิติก กรดซิตริก กรดแลกติก และกรดฟอร์มิก เป็นต้น ปฏิกิริยาของ Wallastonite กับกรดฟอสฟอริกเป็นดังสมการ

$$3CaSiO_3 + 2H_3PO_4 \rightarrow Ca_3(PO_4)_2 + 3H_2SiO_3 \qquad (1.3)$$

1.2.4.2 พอลิเมอร์และพลาสติก (Polymers and Plastics) [16]

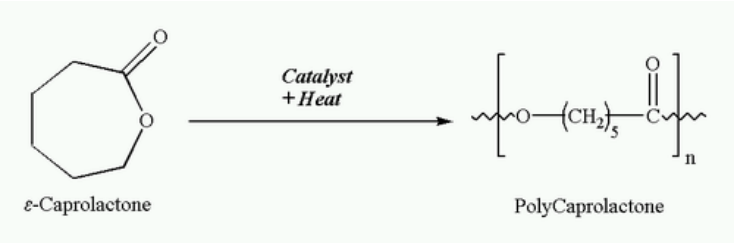
พลาสติก โดยทั่วไปหมายถึงวัสดุที่ไม่ใช่โลหะ สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้อย่างถาวรเมื่อได้รับความร้อนหรือแรงอัด แบ่งเป็น เทอร์โมพลาสติก เป็นวัสดุที่เปลี่ยนแปลงรูปร่างเมื่อได้รับความร้อนและแรงอัด และเทอร์โมเซตติ้ง เป็นวัสดุที่รูปร่างไม่เปลี่ยนแปลงอีกแม้จะได้รับความร้อน

พอลิเมอร์ หมายถึง วัสดุที่เกิดจากการรวมโมเลกุลของหน่วยย่อยหลายๆ หน่วยมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะโควาเลนซ์เป็นลูกโซ่ จึงมีองค์ประกอบหลัก คือ -C-C- (carbon-to-carbon bond) ยกเว้นบางชนิดเป็นพันธะ ester พันธะ amide หรือพันธะ –si-o-si คาร์บอนในพอลิเมอร์จะใช้อิเล็กตรอนร่วมกับอะตอมอื่นๆ ได้แก่ Hydrogen (H) Nitrogen (N) Oxygen (O) Fluorine (F) Silicone (S) และ Chlorine (Cl) เป็นต้น

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพอลิเมอร์กับโลหะหรือเซรามิกส์ พบว่าพอลิเมอร์มีข้อได้เปรียบกว่า คือ สามารถผลิตได้หลายรูปแบบเพื่อเหมาะกับการใช้งาน เช่น ทำเป็นน้ำมัน เป็นแผ่นฟิล์มของแข็ง ไม่เกิดการกัดกร่อนในร่างกาย มีความคล้ายคลึงกับเนื้อเยื่อธรรมชาติ เช่น คอลลาเจน adhesive polymer นำมาใช้ยึดแทนการเย็บบาดแผล ยึดอวัยวะฉีกขาด พอลิเมอร์มีความหนาแน่นใกล้เคียงกับเนื้อเยื่อธรรมชาติ คือประมาณ 1 กรัม/ซม ส่วนข้อเสียเปรียบ คือ มีค่ามอดูลัสความยืดหยุ่นต่ำ และความหยุ่นตัวน้อย (low viscoelastic) จึงไม่เหมาะสมที่จะรับน้ำหนักมากๆ มีโอกาสเกิด creep and crazing ง่าย (fatique or cracking) เนื่องจากการผลิตวัสดุพอลิเมอร์ด้วยขบวนการ พอลิเมอร์ไรเซชันไม่สามารถเกิดขึ้นสมบูรณ์ 100 % ได้ พอลิเมอร์จึงอาจเสื่อมสภาพได้เมื่อนำมาใช้ในร่างกาย

1.2.4.2.1 พอลิคาโปรแลคโตน (polycaprolactone, (PCL))

พอลิคาโปรแลคโตนเป็นเส้นใยสังเคราะห์ aliphatic มีจุดหลอมเหลว 60 °C มีสูตรโมเลกุลดังรูปที่ 1.6 จัดอยู่ในกลุ่ม Polyester ผลิตจากมอนอเมอร์ที่มีชื่อว่า 2-methylene-1, 3-dioxepane โดยปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันที่ 80 ° C ภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน และมี diethyl-zinc เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา [16]



รูปที่ 1.6 สูตรโมเลกุลของพอลิคาโปรแลคโตน [22]

พอลิคาโปรแลคโตนที่นำมาใช้งานในด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อมีน้ำหนักมวลโมเลกุลประมาณ 25,000 - 75,000 [13,23] ที่ขนาดมวลโมเลกุล 60,000 มีความหนาแน่น 1.145 กรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อพอลิคาโปรแลคโตนมีโครงสร้างผลึกที่สมบูรณ์จะมีค่าพลังงานหลอมเหลวของโครงสร้างผลึกประมาณ 135.44 - 135.56 จูลต่อกรัม แต่พอลิคาโปรแลคโตนที่ใช้ในงานเป็นรูปที่มีค่าพลังงานหลอมเหลวของโครงสร้างผลึกที่ 62.2 - 73.2 จูลต่อกรัม มีความพรุน 55-61% ค่ามอดูลัสแรงดึง (Tensile Modulus) 400 - 600 MPa และค่าของมอดูลัสการอัด (Compressive Modulus) 1.58 - 6.9 MPa [23]

คุณสมบัติเชิงชีวภาพของพอลิคาโปรแลคโตน มีระยะเวลาในการย่อยสลายที่ 24 - 36 เดือนในสารละลายที่มีเซลล์ fibroblast อยู่ [13] ในการสลายตัวจะได้มอนอเมอร์คือ caproic acid พอลิคาโปรแลคโตนได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกาในการใช้งานด้านการแพทย์ ดังนั้นในการใช้งานทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกจึงสามารถใช้ได้ เนื่องจากไม่มีผลจากปัญหาด้านความเข้ากันได้ทางชีวภาพ [23]

การประยุกต์ใช้งานพอลิคาโปรแลคโตนในด้านงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกในช่วงแรก มีการนำมาใช้งานในรูปแผ่นฟิล์มบาง เพิ่มการยึดติดของเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนบริเวณข้อต่อต่อมามีการพัฒนาเป็นโครงเลี้ยงเซลล์แบบฟองน้ำซึ่งเป็นโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตจากพอลิเมอร์ผสมระหว่างพอลิคาโปรแลคโตนและ Poly-L-lactide ผลิตโดยเทคนิค microfabricate โครงสร้างที่ได้มีความเป็นระเบียบ เช่น รูปรังผึ้ง มีความแข็งแรง แต่มีต้นทุนในการผลิตสูง [23] พอลิคาโปรแลคโตนมักใช้เป็นวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่ย่อยสลายได้ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์ในร่างกายย่อยสลายได้เช่นกัน จึงได้รับความสนใจศึกษาอย่างมากในการนำมาใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ ใช้ประโยชน์ในระบบนำส่งยา ทำไหมละลาย และใช้ในการซ่อมแซม ฟื้นฟูเนื้อเยื่อ ผลการทดสอบเชิงกลพบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วยไฮดรอกซีอะพาไทต์กับพอลิคาโปรแลคโตน มีความชอบน้ำมากกว่าและเอื้อต่อการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์มากกว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วยพอลิคาโปรแลคโตนอย่างเดียว [24]

1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เตรียมโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกจากพอลิคาโปรแลคโตน ไฮดรอกซีอะพาไทต์ ไตรแคลเซียมฟอสเฟต และแคลเซียมซิลิเคต และศึกษาสมบัติทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้

1.4 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาอัตราส่วนของ พอลิคาโปรแลคโตน ไฮดรอกซีอะพาไทต์ ไตรแคลเซียมฟอสเฟต และแคลเซียมซิลิเคตที่เหมาะสม เพื่อเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีกิจกรมทางชีวภาพที่ดี

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้โครงเลี้ยงเซลล์กระดูกชนิดรับน้ำหนักได้ (Load-bearing) มีสมบัติทางกายภาพและชีวภาพเบื้องต้นที่เหมาะสม ซึ่งคาดว่าจะนำไปทดลองในสิ่งมีชีวิตต่อไป

บทที่ 2

ตรวจสอบเอกสาร

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

H.W. Kim และคณะ (2004) [25] ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากไฮดรอกซีอะพาไทต์ ที่เคลือบด้วยสารละลาย HA ผสมกับ PCL โดยละลายสาร HA ในน้ำกลั่นผสมกับสาร triethyl phosphate ($(C_2H_5O)_3PO$, TEP) เป็นตัวกระจาย แล้วเติมสารละลายพอลิไวนิลบิวทิล (PVB) เป็นตัวประสาน คนให้เข้ากัน นำพอลิยูรีเทนโฟมจุ่ม (dipping method) ลงในสารละลาย HA แล้วเป่าด้วยปืนลม เพื่อไล่สารส่วนเกินที่ติดอยู่รูพรุนออก นำไปอบที่ 80 ^{o}C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำซ้ำ 2 ครั้ง แล้วนำไปซินเทอริ่งที่ 600 ^{o}C และ 1300 ^{o}C อุณหภูมิละ 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาเคลือบด้วยสารละลาย HA-PCL ที่มี HA:PCL = 0.25, 1 และ 4 w/w จนปิดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง พบว่า โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจาก HA ด้วยวิธีจุ่มเคลือบมีความพรุนสูง (ประมาณ 87 %) ขนาดรูพรุน 150-200 μm การเคลือบด้วย HA-PCL มีข้อดีคือ PCL ช่วยปรับปรุงความเปราะและการรับแรงของโครงเลี้ยงเซลล์ ส่วนไฮดรอกซีอะพาไทต์จะช่วยเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเซลล์กระดูกใหม่ ได้โครงเลี้ยงเซลล์มีความพรุนสูง ช่วยในระบบกักเก็บและลำเลียงสารอาหารและยา

N. Kivrak และคณะ (1998) [26] ศึกษาผลของอุณหภูมิซินเตอร์ที่ใช้เผาโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากไฮดรอกซีอะพาไทต์และไตรแคลเซียมฟอสเฟต โดยวิธีตกตะกอนในหลายๆ อัตราส่วน (one step chemical precipitation technique) ในช่วง 20% - 90% HA ซินเทอริ่งที่ 1000 – 1300 ^{o}C ผลเป็นดังดังตารางที่ 2.1

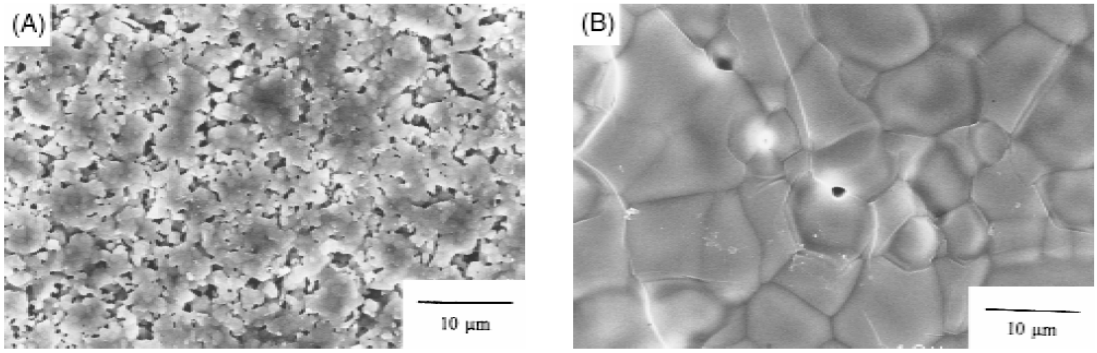
ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของ HA และ TCP หลังจากการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1000 – 1300 °C ที่เตรียมจาก HA และ TCP หลายๆอัตราส่วน [26]

องค์ประกอบเริ่มต้น	องค์ประกอบภายหลังการซินเทอริ่ง			
	1000 °C	**1100 °C**	**1200 °C**	**1300 °C**
20%HA + 80%TCP	18%HA + 82%TCP	24%HA + 76%TCP	32%HA + 68%TCP	50%HA + 50%TCP
30%HA + 70%TCP	36%HA + 64%TCP	52%HA + 48%TCP	70%HA + 30%TCP	53%HA + 47%TCP
40%HA + 60%TCP	44%HA + 56%TCP	45%HA + 55%TCP	20%HA + 80%TCP	33%HA + 67%TCP
50%HA + 50%TCP	48%HA + 52%TCP	26%HA + 74%TCP	10%HA + 90%TCP	23%HA + 77%TCP
60%HA + 40%TCP	61%HA + 39%TCP	66%HA + 34%TCP	65%HA + 35%TCP	64%HA + 36%TCP
70%HA + 30%TCP	71%HA + 29%TCP	63%HA + 37%TCP	72%HA + 28%TCP	71%HA + 29%TCP
80%HA + 20%TCP	82%HA + 18%TCP	85%HA + 15%TCP	83%HA + 17%TCP	78%HA + 22%TCP
90%HA + 10%TCP	89%HA + 11%TCP	87%HA + 13%TCP	90%HA + 10%TCP	88%HA + 12%TCP

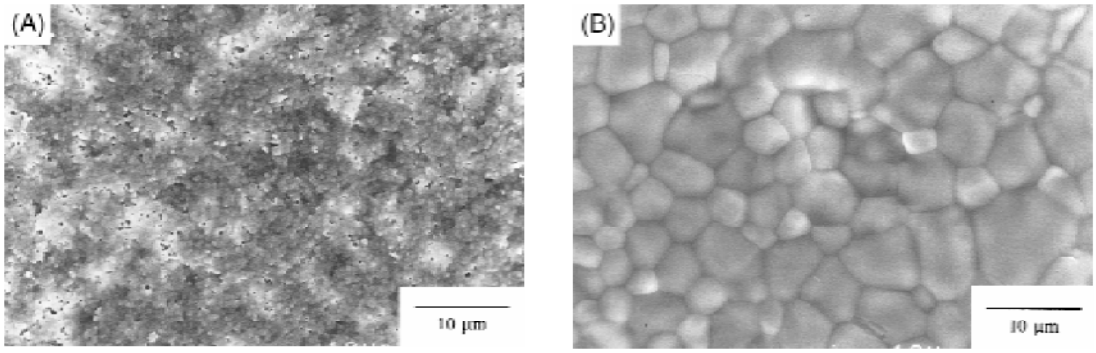
พบว่า ที่ 20% HA อัตราส่วนของ HA จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ซินเทอริ่งเพิ่มขึ้น ที่ 30% HA อัตราส่วนของ HA เพิ่มขึ้นในช่วง 1000 – 1200 °C แต่จะลดที่อุณหภูมิ 1300 °C ที่ 40% และ 50% HA อัตราส่วน HA จะลดลงในช่วง 1000 – 1200 °C แต่จะเพิ่มเมื่ออุณหภูมิ 1300 °C และที่มากกว่า 60% HA อัตราส่วน HA ต่อ TCP หลังการซินเทอริ่ง จะคงที่ทุกๆอุณหภูมิ อธิบายได้ว่า HA เปลี่ยนเป็นเฟสของไตรแคลเซียมฟอสเฟตตามลำดับดังนี้

- HA เปลี่ยนไปเป็นเฟสของ เบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟต เมื่ออุณหภูมิซินเทอริ่งน้อยกว่า 1200 °C
- HA เปลี่ยนไปเป็นเฟสของ แอลฟา-ไตรแคลเซียมฟอสเฟต เมื่ออุณหภูมิซินเทอริ่งมากกว่า 1200 °C

ผลของอุณหภูมิต่อค่าความพรุน พบว่า โครงเลี้ยงเซล์ที่ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1000 °C มีความพรุนมากกว่าที่ซินเทอริ่งที่ 1300 °C (รูปที่ 2.1 และ 2.2)



รูปที่ 2.1 ผล SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ 20%HA–80%TCP (A) ซินเทอริ่งที่ 1000°C 5 h, (B) ซินเทอริ่งที่ 1300°C 5 h [26]



รูปที่ 2.2 ผล SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ 70%HA–30%TCP (A) ซินเทอริ่งที่ 1000°C 5 h, (B) ซินเทอริ่งที่ 1300°C 5 h [26]

J.A. Juhasz และคณะ (2004) [27] ศึกษาผลกระทบของปริมาณ และขนาดของสารตัวเติม (additive) ที่มีผลต่อสมบัติเชิงกลของวัสดุที่ประกอบด้วยไฮดรอกซีอะพาไทต์กับพอลิเอทิลีน (PE) (HAPEX) และอะพาไทต์-วอลลาสโตไนท์ (Apatite-Wollastonite, (A-W)) กับ PE (AWPEX) ขนาดอนุภาค A-W คือ 6.7 μm และ 4.4 μm ไฮดรอกซีอะพาไทต์ คือ 3.4 μm โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนในช่วง 10 – 50 % โดยปริมาตร ผลการทดสอบสมบัติเชิงกล พบว่า HAPEX มีค่าความเครียดของการแตกหัก (strain) ต่ำกว่า AWPEX เพราะไฮดรอกซีอะพาไทต์กับพอลิเอทิลีนมีแรงยึดเหนี่ยวที่แข็งแรงกว่า อะพาไทต์-วอลลาสโตไนท์กับพอลิเอทิลีน ส่วนผลของขนาดของสารตัวเติม พบว่า อนุภาคขนาดเล็กจะให้โครงสร้างที่มีความแข็งแรงดัดโค้งงอและมอดุลัสโค้งงอมากกว่าที่ประกอบด้วยอนุภาคขนาดใหญ่ แต่มีค่าความเครียดการแตกหักต่ำกว่า เพราะว่าอนุภาคขนาดเล็กมีพื้นผิวสัมผัสที่มากกว่า ทำให้การยึดติดระหว่างอนุภาคกับพอลิเมอร์เกิดได้ดีกว่าขนาดอนุภาคใหญ่ ดังนั้นการใช้สารตัวเติมที่มีอนุภาคขนาดเล็ก จะส่งผลให้เกิดเสริมแรงมีประสิทธิภาพ

มากขึ้น และเมื่อปริมาณสารตัวเติมเพิ่มมากขึ้นก็จะส่งผลให้ค่าความแข็งแรงดัดโค้งและค่ามอดุลัสโค้งงอมีค่าสูงขึ้น แต่ค่าความเครียดการแตกหักจะลดลง

Suphasinee (2005, 2007) [28,29] ศึกษาโครงสร้าง PCL แบบมีรูพรุนที่เตรียมโดยวิธีการหล่อแบบ/ชะล้างอนุภาค โดยทำการละลาย PCL ในคลอโรฟอร์มให้มีความเข้มข้นในช่วง 7-13 %wt ทิ้งไว้ในตู้ควันเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นผสมด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่แตกต่างกัน 4 ขนาดคือ 106-150 μm., 150-300 μm., 300-500 μm. และ 500 μm.-1.25 mm. ในปริมาณ 70, 75, 80 และ 85 %wt ขึ้นรูปในแบบพิมพ์ จะได้ชิ้นงานที่มีสารผสมของ PCL และเกลือ ละลายอนุภาคเกลือออกโดยแช่ในน้ำ 16 ชั่วโมง จะได้โครงสร้าง PCL ที่มีรูพรุน โดยมีค่าความพรุนสูงถึง 91.38 % ใช้โซเดียมคลอไรด์ขนาด 106-300 μm. ปริมาณ 85 wt.% ในปี ค.ศ. 2007 ได้ศึกษาและพัฒนาการเตรียมโครงสร้างวัสดุชีวภาพแบบมีรูพรุนสำหรับการใช้งานทางการแพทย์ด้วยวิธีการเดิม แต่จะผสมผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ลงใน PCL ใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์ ซึ่งสามารถควบคุมได้ โดยเปลี่ยนแปลงขนาดหรือปริมาณของอนุภาคเกลือ พบว่ารูพรุนมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ การทดสอบเชิงกลพบว่าโครงสร้างวัสดุผสมที่มีรูพรุน มีค่าความต้านทานแรงดึงน้อยกว่าโครงสร้างแบบรูพรุนที่มีเฉพาะ PCL ชิ้นงานที่เป็นวัสดุผสมมีความชอบน้ำมากกว่าชิ้นงานที่มี PCL จึงเอื้อต่อการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์

S. Simone และคณะ (2008) [18] ศึกษาเกี่ยวกับการเตรียมองค์ประกอบของไบโอแอคทีฟเซรามิกส์ (bioactive ceramics) เพื่อพัฒนาคุณสมบัติเชิงกลของกระดูกเทียม พบว่าไดแคลเซียมซิลิเคตเป็นตัวเสริมแรงด้านความแข็งแรงดัด ของไฮดรอกซีอะพาไทต์ เตรียมโครงเลี้ยงเซลล์โดยวิธี Fast Hot Pressing (FHP) ที่ 1500 °C และลดอุณหภูมิมาที่ 1200-1300 °C เพื่อให้ไฮดรอกซีอะพาไทต์รวมตัวกันเป็นการเพิ่มความแข็งแรงความยืดหยุ่นและความเหนียวของโครงเลี้ยงเซลล์ด้วย ทำให้กระดูกเทียมมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับกระดูกจริง บางครั้งการซินเทอริ่งไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่อุณหภูมิ 1200-1500 °C อาจทำให้ไฮดรอกซีอะพาไทต์สลายตัวได้ อย่างไรก็ตามไดแคลเซียมซิลิเคตจะทำให้ไฮดรอกซีอะพาไทต์คงตัวมากขึ้นที่อุณหภูมิสูงๆ พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วยไดแคลเซียมซิลิเคตกับไฮดรอกซีอะพาไทต์ 20/80%wt ให้ค่าความแข็งแรงดัดเท่ากับ 70 ± 7 MPa เมื่อซินเทอริ่งที่ 1500 °C

นราวุธ ทองมะโรงสี (2003) [16] ศึกษาโครงเลี้ยงเซลล์จากพอลาโปรแลคโตน ที่ขึ้นรูปโดยเทคนิคการหล่อ (casting method) และใช้เกลือและผงชูรสเป็นตัวสร้างรูพรุน ในอัตราส่วนเกลือ : ผงชูรส : พอลิคาโปรแลคโตน ที่ 7.5 : 7.5 : 1 และอีกการทดลองใช้เกลือเพียงอย่างเดียวที่อัตราส่วนเกลือ : พอลิคาโปรแลคโตน 15 : 1 โดยน้ำหนัก โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ มีความ

เค้นแรงดึงในช่วง 0.0147 – 0.0784 MPa. ขนาดรูพรุน 105 – 205 ไมครอน ค่าความพรุนในช่วง 78.44 – 85.72 % มีอัตราการย่อยสลายเมื่อแช่ในสารละลาย Phosphate Buffered Saline (PBS) ประมาณ 0.28 % โดยน้ำหนัก ผลจากการวิจัยสรุปได้ว่า โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากพอลิคาโปรแลคโตน ที่ใช้เกลือและผงชูรสเป็นสารสร้างรูพรุนมีค่าความพรุนและความเค้นแรงดึงน้อยกว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้เกลือสร้างรูพรุนเพียงอย่างเดียว แต่ในงานวิจัยนี้เลือกใช้โครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้พอลิคาโปรแลคโตน 30 % (w/v) ใช้เกลือและผงชูรสเป็นตัวสร้างรูพรุน ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน เนื่องจากความเห็นของศัลยแพทย์ ที่เห็นว่าโครงเลี้ยงเซลล์ชนิดนี้มีความทนต่อแรงกดและเหมาะสมที่จะนำไปเลี้ยงเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน

ค่าความเข้มข้นของสารละลายพอลิคาโปรแลคโตน มีผลต่อค่าความพรุน และความเค้นแรงดึง คือ ความเข้มข้นยิ่งมากจะส่งผลให้ค่าความพรุนลดลง แต่ความเค้นแรงดึงมากขึ้น อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์พอลิคาโปรแลคโตนไม่มีผลต่ออัตราการย่อยสลายภายนอกร่างกายของโครงเลี้ยงเซลล์แบบรูพรุน ในระยะเวลา 10 สัปดาห์

W. Xue และคณะ (2005) [30] ทำการศึกษาความว่องไวทางชีวภาพของสาร wollastonite โดยเคลือบสาร wollastonite ลงบนโลหะไทเทเนียม (Ti-6Al-4V) ด้วยการพ่นพลาสมา เพื่อศึกษาผลการปลูกถ่ายเซลล์ในเนื้อเยื่อกระดูกข้อ (cortical bone) และไขกระดูก (marrow) ของสุนัขเป็นเวลา 3 เดือน ด้วยวิธี Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive Spectroscopy (SEM-EDS) พบว่า เกิดชั้นของ Ca-P ในอัตราส่วน Ca/P เท่ากับ 1.43 บนพื้นผิวโลหะไทเทเนียมที่เคลือบด้วยสาร wollastonite ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่า Ca/P ของไฮดรอกซีอะพาไทต์ซึ่งมีค่าเท่ากับ คือ 1.65 กลไกการเกิด HA เริ่มจาก wollastonite ที่ละลายใน SBF เกิดการแลกเปลี่ยนไอออนของแคลเซียมของ wollastonite กับไอออนของไฮโดรเจนของสารละลาย SBF หลังจากนั้นเกิดการตกผลึกมาเป็น Ca-P หรือ HA และผลึกของ HA ที่ก่อตัวเกิดการขยายตัวเพิ่มขึ้น หลังจากการปลูกถ่ายอวัยวะไปเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า กระดูกสามารถเกิดการเชื่อมต่อขึ้นใหม่และเกิดเนื้อเยื่อของเส้นใย (fibrous) โดยปฏิกิริยาเกิดรอบๆบริเวณที่เป็นโลหะไทเทเนียมที่เคลือบด้วย wollastonite ซึ่งไม่พบในไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบด้วยสาร wollastonite จึงสรุปได้ว่า wollastonite มีความสามารถในการเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของร่างกายและช่วยเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างผลึก HA เพื่อซ่อมแซมเนื้อเยื่อและกระดูกของที่ใช้ทดสอบ

W. Cheng และคณะ (2005) [31] ศึกษาเกี่ยวกับการสร้างโครงเลี้ยงเซลล์จาก poly (L- lactic acid) (PDLLA) ผสมกับสารเบต้าไดแคลเซียมซิลิเคต (β-Ca_2SiO_4) ด้วยวิธีหล่อแบบ/ชะล้างเกลือ โดยใช้โซเดียมคลอไรด์เป็นสารสร้างรูพรุน โดยนำผง PDLLA ละลายในคลอโรฟอร์มให้

มีความเข้มข้น 5 % (w/v) แล้วเติมผงเบต้า-ไดแคลเซียมซิลิเคต คนให้เข้ากันเป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ ในอัตราส่วน NaCl : PDLLA = 1:9 และอัดลงในแม่แบบเทฟลอน ขนาด 60 mm. ทิ้งไว้ในตู้ควันเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไป vacuum ที่ 60 ^{o}C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อระเหยตัวทำละลายที่เหลืออยู่ออกให้หมด แช่น้ำ DI เพื่อชะล้างโซเดียมคลอไรด์ออกเป็นเวลา 24 ชั่วโมงโครงสร้างและรูปร่างของรูพรุนตรวจดูได้ด้วยเทคนิค SEM ความหนาแน่นของรูพรุนวัดได้ด้วยวิธี Archimedes PDLLA วัดความชอบน้ำด้วยวิธีวัดมุมสัมผัส (θ) พบว่า PDLLA บริสุทธิ์ มี θ เท่ากับ 83.4 $\pm$ 1.9^{o} ในขณะที่เบต้า-ไดแคลเซียมซิลิเคตบริสุทธิ์มี θ เท่ากับ 0^{o} เมื่อนำ PDLLA ผสมกับเบต้า-ไดแคลเซียมซิลิเคต ในอัตราส่วน 80/20 % พบว่า θ เท่ากับ 53.1 $\pm$ 1.8^{o} ซึ่งค่าความชอบน้ำ (hydrophilic) ที่ดีควรมี θ ในช่วง 0^{o}-30^{o} จากผลการทดลองที่ได้ แสดงว่าค่าความชอบน้ำจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณของเบต้า-ไดแคลเซียมซิลิเคตที่เพิ่มขึ้น

S. Xu และคณะ (2008) [32] ได้ทำการศึกษาความสามารถในการสร้างกระดูกใหม่ (bone- regenerative capacity) และอัตราการดูดซึม (resorption) ของวัสดุเซรามิกส์ชีวภาพประเภทเบต้า-แคลเซียมซิลิเคตแบบพรุน (β-$CaSiO_3$, β-CS) เปรียบเทียบกับประเภทเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตแบบพรุน (β-$Ca_3(PO_4)_2$, β-TCP) โดยวิธี *in vivo* ซึ่งทำการฝังโครงเลี้ยงเซลล์ในกระต่ายที่เกิดความเสียหายของกะโหลกศรีษะและเก็บตัวอย่างที่ 4, 8 และ 16 สัปดาห์หลังการปลูกถ่ายวัสดุชีวภาพ จากการวิเคราะห์ด้วย Micro CT เพื่อศึกษาอัตราการดูดซึม พบว่าบริเวณที่ปลูกถ่าย β-CS มีอัตราการดูดซึมเร็วกว่า และมีความสามารถในการสร้างกระดูกใหม่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับบริเวณที่ปลูกถ่าย β-TCP และจากการวิเคราะห์โดยเทคนิคเนื้อเยื่อวิทยา พบว่ามีการเกิด TRAP-positive multinucleated cells บนพื้นผิวของ β-CS ซึ่งบ่งชี้ว่ามีการสลายตัวของ β-CS ขึ้น นอกจากนั้นยังพบว่ามีการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูกเข้าไปในโครงสร้างที่มีความพรุนของ β-CS และพบชั้นของ apatite บนพื้นผิวของ β-CS ด้วย จากการทดสอบด้วย SEM และ EDX พบว่าเนื้อเยื่อกระดูกไม่ได้มีการเชื่อมต่อโดยตรงกับ β-CS แต่จะเชื่อมต่อกันผ่านชั้นของ apatite ที่เกิดขึ้นภายหลังการปลูกถ่ายวัสดุชีวภาพ ซึ่งการเกิดชั้นของ apatite นี้เป็นปัจจัยสำคัญของการเชื่อมต่อของเนื้อเยื่อกระดูกกับ β-CS ดังนั้นจากงานวิจัยฉบับนี้จึงสามารถสรุปได้ว่า β-CS มีความว่องไวในการตอบสนองต่อการสร้างเนื้อเยื่อใหม่และสามารถย่อยสลายได้ในร่างกายของสิ่งมีชีวิต สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อได้

M. G. Gandolfi และคณะ (2010) [33] ศึกษาการก่อตัวของผลึก apatite ของแคลเซียมซิลิเคต สำหรับใช้ในงานทันตกรรม โดยนำแคลเซียมซิลิเคตซีเมนต์ (wTC) ที่อยู่ในรูปไดแคลเซียมซิลิเคต และไตรแคลเซียมซิลิเคต และผสมแอลฟา-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตกับ wTC

(wTC-TCP) อัดขึ้นรูปแล้วนำไปแช่ในสารละลาย DBPS (Dulbecco's phosphate buffered saline) 5 ชั่วโมง 14 และ 28 วัน พบว่า wTC มีผลึกทรงกลมเล็กๆของ apatite เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 5 ชั่วโมง พบว่า wTC-TCP มีตะกอนของ Ca-P หนาที่สุดเมื่อเทียบกับสูตรอื่นๆ แต่เมื่อแช่นานมากๆ จะทำให้เกิดความผิดปกติของตะกอน Ca-P คือ apatite ที่เกิดจะเริ่มกลายเป็นผลึกหินปูน (calcite) แม้จะไม่เป็นพิษต่อร่างกาย แต่เป็นผลต่อการเจริญโตของเซลล์

จากการวิเคราะห์ SEM พบว่าที่พื้นผิวซีเมนต์จะปกคลุมไปด้วยฟิล์มน้ำบางๆ และในรูพรุนและช่องว่างจะมีเจล Si-OH เข้าไปเกาะ มีลักษณะเป็นผลึกคล้ายเข็มและตะกอนอื่นที่แทรกตัวอยู่ หลังจากการแช่ในสารละลาย PBS ที่มีความเข้มข้นปานกลาง พบว่า จะมีผลึกที่ผอมและจุดกลมๆกระจายบางๆไปทั่วพื้นผิว จากผลดังกล่าว แสดงให้เห็นได้ว่า CS มีความเป็น bioactivity สูง หลังจากแช่ไป 14-28 วัน พบว่า พื้นผิวมีชั้นของ apatite ทรงกลมปกคลุมหนาและกระจายไปทั่วพื้นผิว

เกี่ยวกับลักษณะของพื้นผิว ความแตกต่างของพื้นผิวถูกนำมาพิจารณาในการเลือกวัสดุที่จะนำมาใช้งาน ซึ่งความขรุขระของพื้นผิวไม่ใช่ปัจจัยหลัก แต่ปัจจัยที่มีความสำคัญมากกว่า คือ การก่อตัวของชั้น apatite จากที่ Ca ไอออนแตกตัวออกมาจากอนุภาคแคลเซียมซิลิเคต และหมู่ฟังก์ชัน Si - OH บนพื้นผิวซึ่งกระตุ้นให้มี Ca^{+} ไอออนเข้ามาเกาะ เนื่องจาก Si-OH ถูกดึง H ออกไปกลายเป็น $Si\text{-}O^{-}$ และทำหน้าที่เป็นบริเวณที่จะมีการสะสมของ Ca และ P ต่อไป ส่งผลดีต่อการยึดเกาะของเซลล์ osteoblast สรุปได้ว่า การใช้ Si แทนที่ HA ให้ผลดีกว่าการใช้ hydroxyapatite เดี่ยวๆ เนื่องจาก wTC เกิดการสะสมของ apatite ในเวลาอันสั้นเมื่อแช่ในสารละลาย PBS และการสะสม apatite ในอัตราที่สูง การผสมแอลฟา-ไตรแคลเซียมซิลิเคตกับซีเมนต์หรือแคลเซียมซิลิเคต จึงเป็นการเพิ่มศักยภาพด้าน bioactive ของวัสดุทางการแพทย์

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุและสารเคมี

3.1.1 ผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ สำหรับผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ (Fluka analytical)

3.1.2 ผงเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟต สำหรับผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ (Sigma-Aldrich)

3.1.3 ผงแคลเซียมซิลิเคต ใช้เป็นสารผสมเพื่อผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ (Riedel-deltaen)

3.1.4 สารพอลิคาโปรแลคโตน เป็นสารเคลือบโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน (Sigma-Aldrich)

3.1.5 พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เป็นตัวประสานในการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ โดยเทคนิคแบบจุ่มเคลือบ (Sigma-Aldrich)

3.1.6 คลอโรฟอร์ม (Merck KGaA, Germany) เป็นตัวทำละลายสารพอลิคาโปรแลคโตน

3.1.7 น้ำปราศจากไอออน (deionized water) สำหรับเป็นตัวทำละลายสารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

3.1.8 ใยบวบแห้ง (luffa fiber) เป็นแม่พิมพ์ในการเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์

3.1.9 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของ Phosphate Buffered Saline (PBS) ได้แก่ NaCl Na_2HPO_4 KCl และ KH_2PO_4

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์

3.2.1 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 600 และ 1000 มิลลิลิตร

3.2.2 แท่งแม่เหล็กคน (Magnetic Bar) และ Magnetic stirrer

3.2.3 Forcept

3.2.4 ช้อนตักสาร

3.2.5 ตู้อบ

3.2.6 เครื่องชั่ง รุ่น PG5002-S (Mettler Toledo, Switzerland)

3.2.7 กระบอกตวงขนาด 100 และ 500 มิลลิลิตร

3.2.8 โถดูดความชื้น (Desiccators)

3.2.9 แท่งแก้วคน

3.2.10 โกร่งบดยา (Molta)

3.2.11 เตาเผา

3.2.12 ปืนลม

3.2.13 กรรไกร

3.2.14 กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) FEI รุ่น Quanta 400 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

3.2.15 เครื่อง Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometer (EDX) JEOL รุ่น JSM-5800 LV ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

3.2.16 เครื่องทดสอบแรงอัด LLOYD รุ่น LR30K ภาควิชาบรรจุภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

3.2.17 เครื่องทดสอบ Contact angle ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

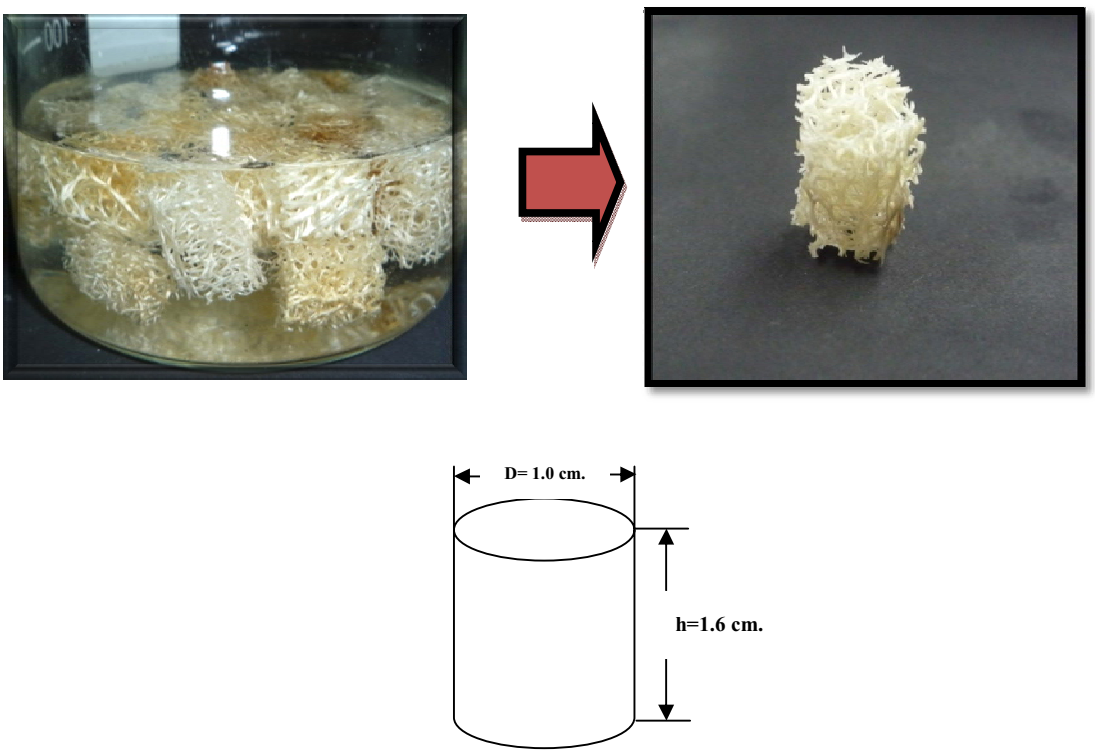
แบ่งออกเป็น 2 กิจกรรม

1. เตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยวิธีการจุ่มเคลือบ

1.1 เตรียมใยบวบ

1) นำใยบวบแช่น้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

2) นำใยบวบที่อบแล้วมาตัดเป็นรูปทรงกระบอก เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร สูง 1.6 เซนติเมตร (อ้างอิง: ASTM C773-88(2011) Standard Test Method for Compressive (Crushing) Strength of Fired Whiteware Materials) และนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง



รูปที่ 3.1 ใยบวบที่ตัดให้ได้ขนาดและรูปทรงตามที่กำหนด

1.2 เตรียมสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 6 %

1) นำผงพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 6 กรัม แล้วเติมน้ำปราศจากไอออนให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2) นำสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ คนบนฮอตเพลตด้วยแท่งคนแม่เหล็กเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

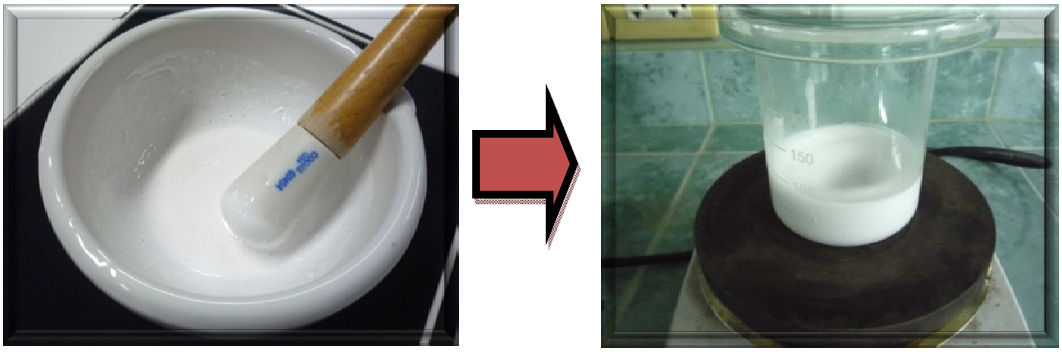
1.3 เตรียมสารละลายโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน

1) ผสมไฮดรอกซีอะพาไทต์ ไตรแคลเซียมฟอสเฟต แคลเซียมซิลิเคต ในโกร่งบดยาโดยมีพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 6 % เป็นตัวประสาน ดังตารางที่ 3.1

2) นำสารละลายเซรามิกส์ที่บดผสมแล้วไปคนในบีกเกอร์บนฮอตเพลตด้วยแท่งคนแม่เหล็ก ความเร็ว 500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนโดยน้ำหนักของสารที่ใช้เตรียมโครงเลี้ยงเซลล์

สูตร	HA	ß-TCP	CS
HTC1	2	1	-
HTC2	2	1	1
HTC3	2	1	2
HTC4	2	1	3



รูปที่ 3.2 การเตรียมสารแขวนลอยสำหรับเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน

1.4 เตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยวิธีการจุ่มเคลือบ (Dipping Method)

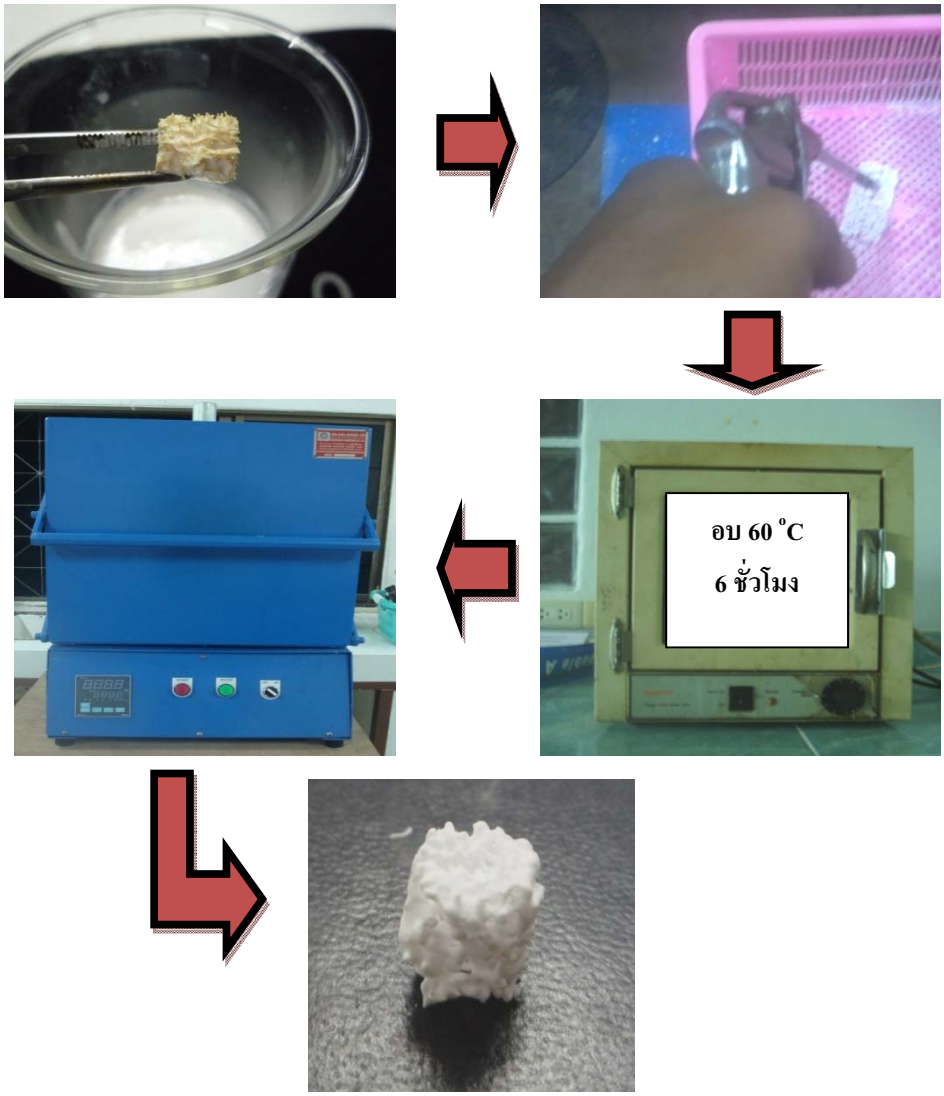
1) นำใยบวบที่เตรียมไว้จุ่มลงในสารแขวนลอยเซรามิกส์ที่เตรียมได้ (จุ่ม 10 วินาที แล้วกลับหัวจุ่ม 10 วินาที) ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที

2) เป่าสารแขวนลอยเซรามิกส์ที่อุดตันอยู่ในรูพรุนด้วยปืนลม ใช้แรงดัน 10 บาร์ อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

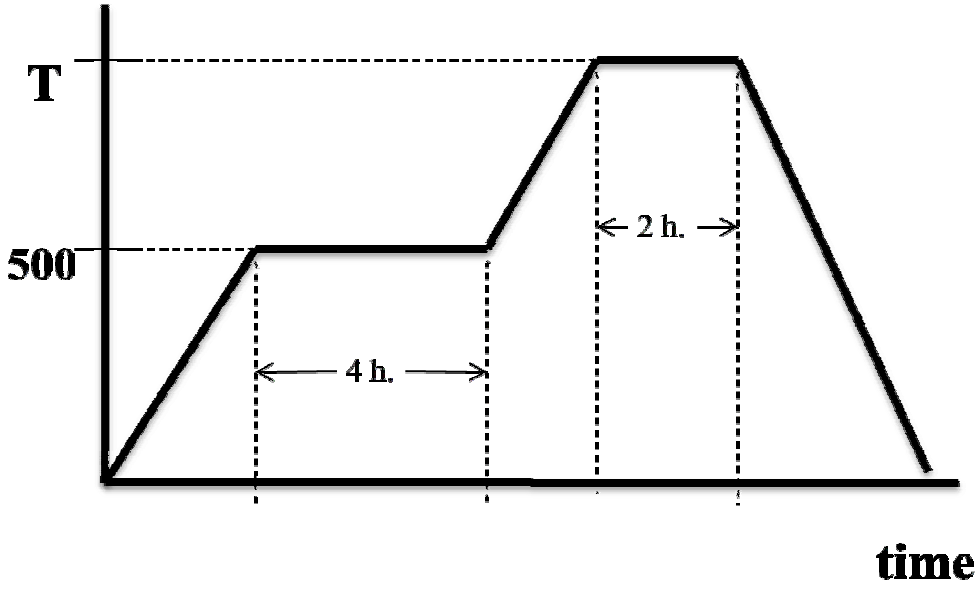
3) ทำซ้ำในข้อที่ 1) และ 2) (Dipping step) จำนวน 7 ครั้ง

4) นำโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ เผาที่ 1150 °C หรือ 1250 °C

5) นำโครงเลี้ยงเซลล์ที่ได้หลังจากการเผา อบไล่ความชื้นในโถดูดความชื้น



รูปที่ 3.3 การเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยวิธีการจุ่มเคลือบ (Dipping Method)



รูปที่ 3.4 อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ซินเทอริ่ง T=1150 °C หรือ 1250 °C

2. เตรียมสารเคลือบพอลิเมอร์

2.1 เตรียมสารละลายผสมสารพอลิคาโปรแลคโตน

1) นำพอลิคาโปรแลคโตนละลายด้วยคลอโรฟอร์มแล้วผสมไฮดรอกซีอะพาไทต์เบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเกต ตามสัดส่วนในตารางที่ 3.2

2) คนผสมให้เข้ากันด้วย magnetic stirrer โดยใช้อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 30 นาที

2.2 เคลือบสารผสมพอลิเมอร์บนโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน

1) นำโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมไว้ในขั้นตอนข้างต้น จุ่มลงในสารละลายผสมพอลิเมอร์ที่เตรียมขึ้น (จุ่ม 10 วินาที แล้วกลับหัวจุ่ม 10 วินาที) แล้วปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

2) จุ่มเคลือบและปล่อยให้แห้ง เป็นจำนวน 7 ครั้ง

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของสารเคลือบผสมพอลิเมอร์ที่ HA: ß-TCP=2:1, (HA+ ß-TCP):CS=4:1

สูตร	PCL (wt %)	HA (wt %)	ß-TCP (wt %)	CS (wt %)
HTCxP30	30	37.33	18.67	14
HTCxP50	50	26.67	13.33	10
HTCxP70	70	16	8	6

หมายเหตุ x เท่ากับ 1-4 คือ โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้หลังการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิสูง

รูปที่ 3.5 โครงเลี้ยงเซลล์หลังการเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์

3.4 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. วิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคด้วยเครื่อง SEM

1.1 วิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคก่อนการแช่ในสารละลาย PBS

1.2 วิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคหลังการแช่สารละลาย PBS เป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

2. วิเคราะห์ปริมาณธาตุกึ่งคุณภาพด้วยเครื่อง EDX

2.1 วิเคราะห์ปริมาณธาตุกึ่งคุณภาพหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเลา 4 สัปดาห์

3. ทดสอบการรับแรงเชิงกล

3.1 ทดสอบการรับแรงกดหลังจากการเคลือบเสริมแรงด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์

4. ทดสอบมุมสัมผัส (contact angle)

4.1 ทดสอบค่ามุม contact angle หลังจากเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์

บทที่ 4

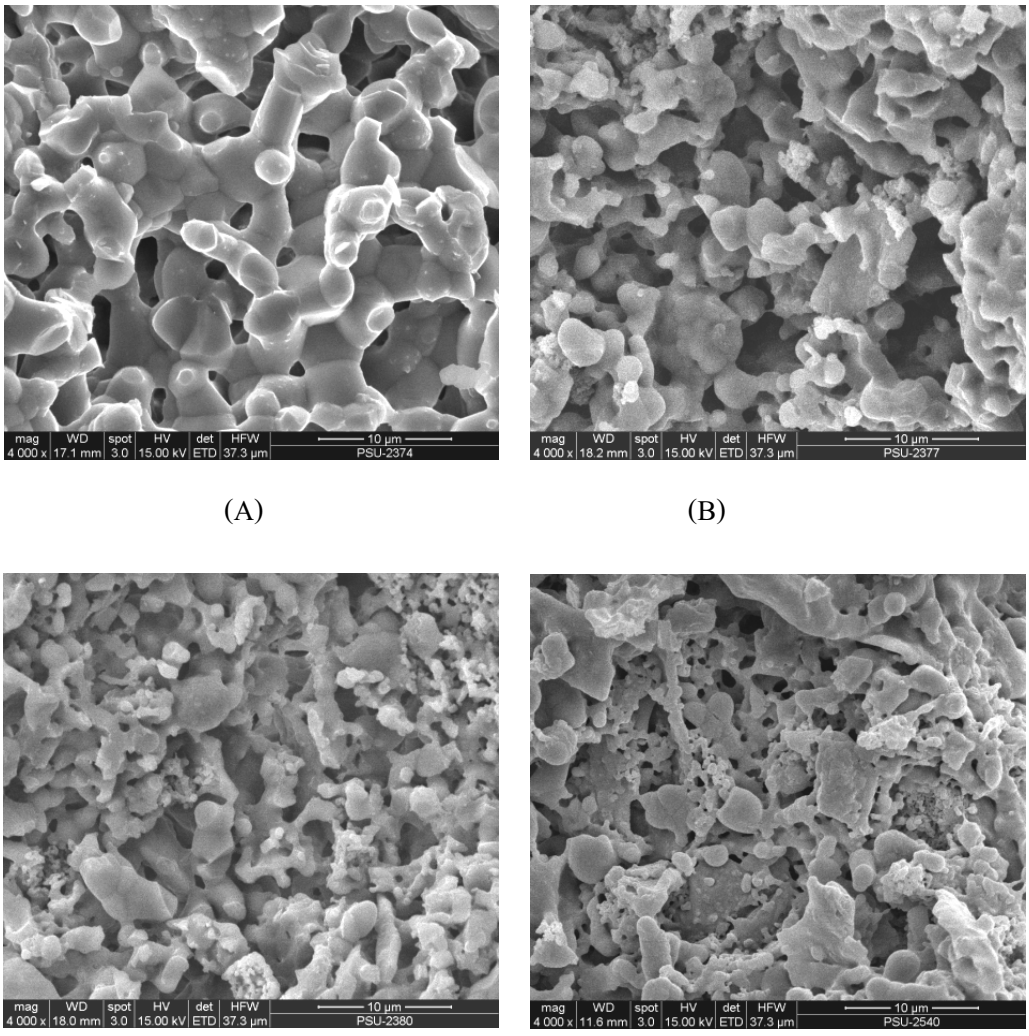
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการทดลอง

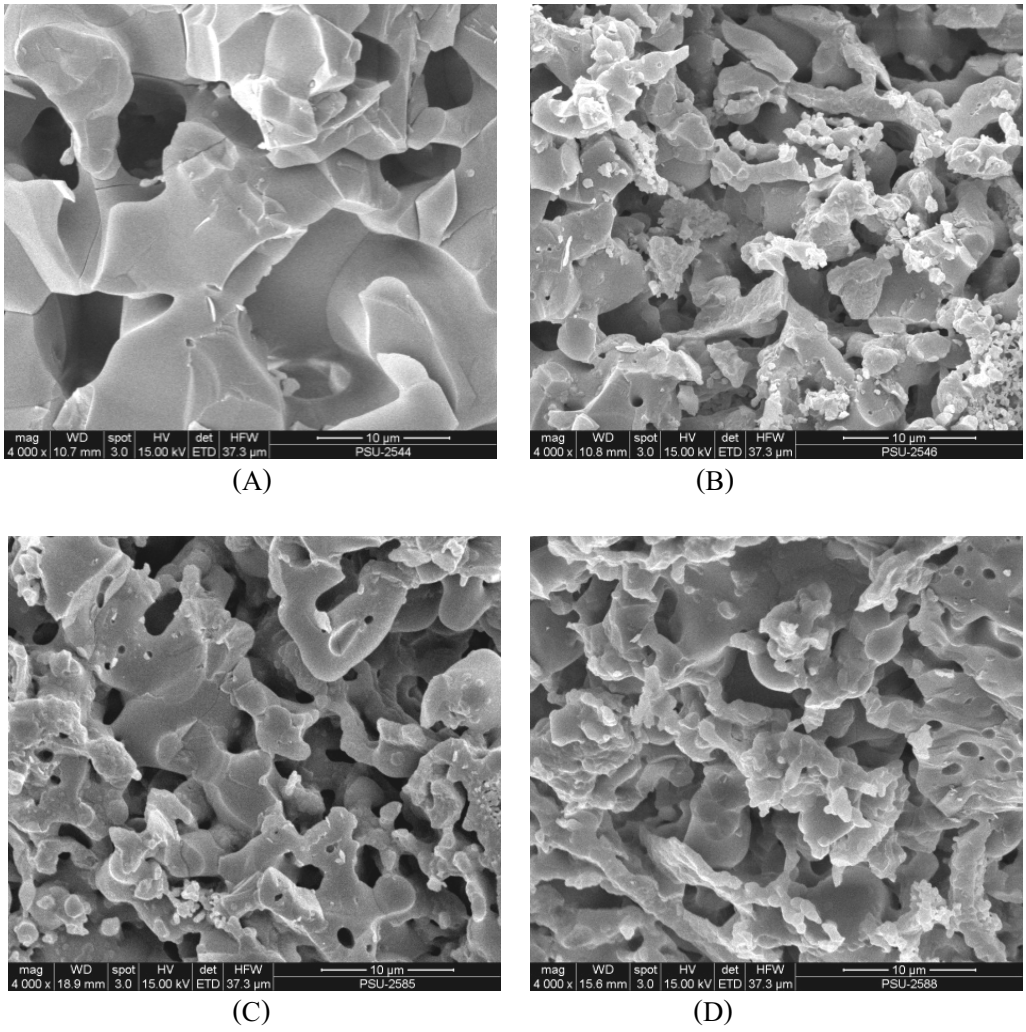
งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อโครงสร้างและคุณสมบัติของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้จากสารผสมไฮดรอกซีอะพาไทต์และเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่มีและไม่มีแคลเซียมซิลิเคตเป็นองค์ประกอบ โดยมีสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 6 % เป็นตัวประสาน มีใยบวบ (luffa fiber) เป็นแม่พิมพ์เพื่อสร้างโครงเลี้ยงเซลล์แบบมีรูพรุน ด้วยวิธีการจุ่มเคลือบ (dipping method) และซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1150 °C และ 1250 °C ศึกษาองค์ประกอบและอัตราส่วนของสารที่ใช้เตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ อุณหภูมิในการซินเทอริ่ง ประสิทธิภาพการเกิด apatite เมื่อแช่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์-น้ำเกลือ (phosphate buffered saline, PBS) เป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ และสมบัติเชิงกลหลังการเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ และความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำของพื้นผิว

4.1.1 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ตรวจสอบด้วยเทคนิค SEM

ผลการตรวจสอบโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบ และซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1150 °C หรือ 1250 °C แสดงในรูปที่ 4.1-4.2



รูปที่ 4.1 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบ และซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1150 °C (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM



รูปที่ 4.2 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบ และซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1250 ^{o}C (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM

ตารางที่ 4.1 ค่าความพรุนเฉลี่ยของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1150 °C และ 1250 °C

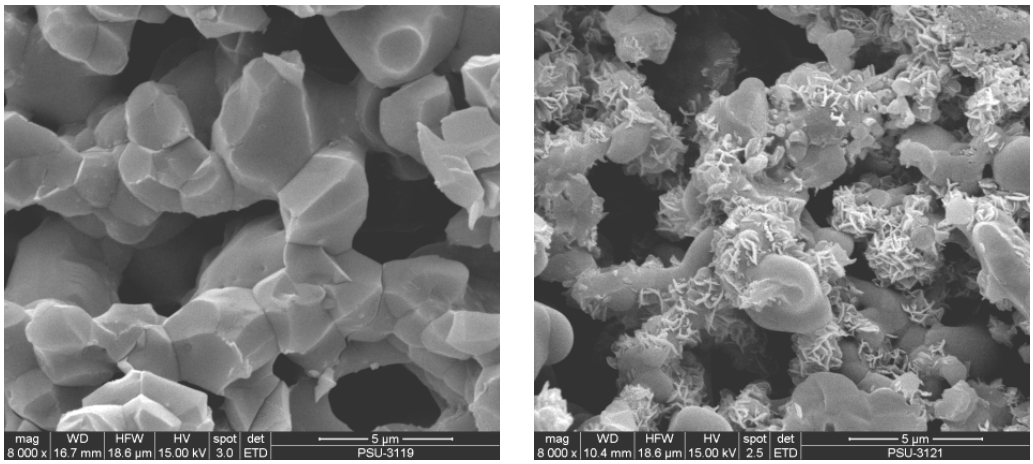
สูตร	ค่าความพรุนเฉลี่ย (μm)	
	1150 °C	1250 °C
HTC1	55 ± 2	27 ± 2
HTC2	61 ± 3	46 ± 3
HTC3	69 ± 5	57 ± 5
HTC4	75 ± 5	63 ± 5

จากรูปที่ 4.1 และ 4.2 พบว่าทุกสูตร ทั้งที่เผาซินเทอริ่งที่ 1150 °C และ 1250 °C มีรูพรุนขนาดเล็กกระจายอยู่เป็นจำนวนมาก โดยสูตร HTC1 มีลักษณะเกรนที่ใหญ่และผิวมันวาวกว่าสูตรอื่นๆ อย่างชัดเจน โดยเฉพาะในกรณีที่ซินเทอริ่งที่ 1250 °C สามารถเรียงลำดับขนาดเกรนจากใหญ่ไปหาเล็กได้ดังนี้ คือ HTC1>HTC2>HTC3>HTC4 เมื่อปริมาณของแคลเซียมซิลิเคตเพิ่มขึ้น พบว่า โครงเลี้ยงเซลล์มีขนาดรูพรุนเล็กลง ค่าความพรุนเฉลี่ยเพิ่มขึ้น อนุภาคของแคลเซียมซิลิเคตแทรกตัวอยู่ระหว่างไฮดรอกซีอะพาไทต์และเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟต และมีบางส่วนอยู่บริเวณขอบของเกรนแต่ไม่สามารถรวมตัวกับสารข้างต้นได้

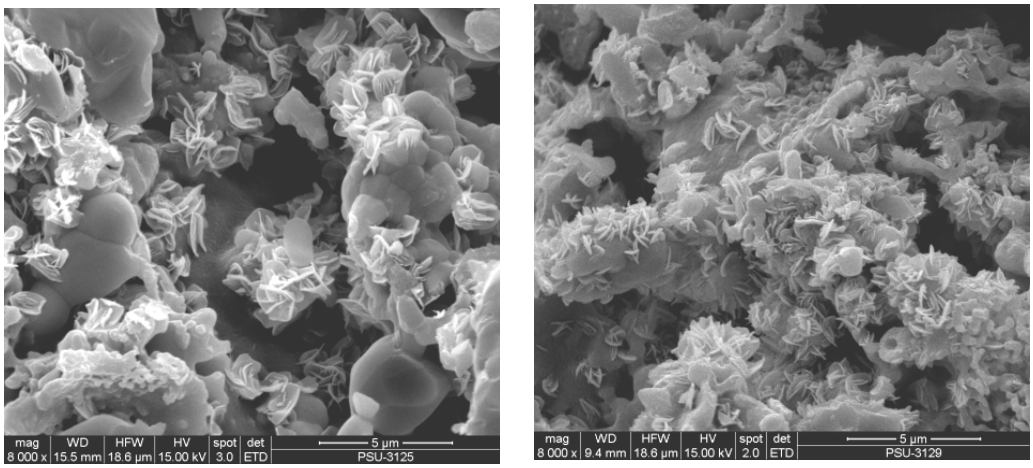
จากตารางที่ 4.1 พบว่าแนวโน้มค่าความพรุนเฉลี่ย HTC1<HTC2<HTC3<HTC4 โดยโครงเลี้ยงเซลล์ที่เผาซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1250°C มีค่าความพรุนเฉลี่ยน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 1150 °C

4.1.2 โครงสร้างทางจุลภาคภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS

ผลการตรวจสอบโครงสร้างทางจุลภาคภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบ และซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1150 °C และ 1250 °C ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.3-4.6

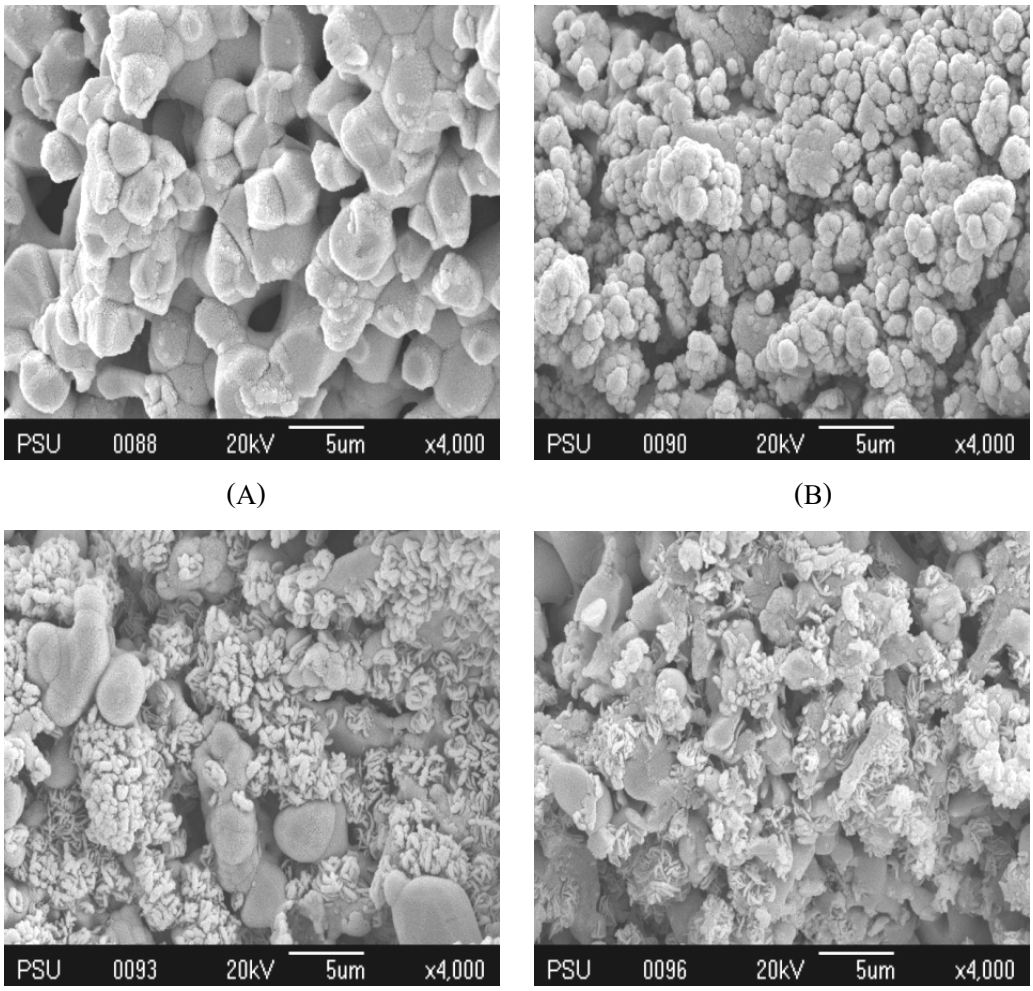


(A) (B)



(C) (D)

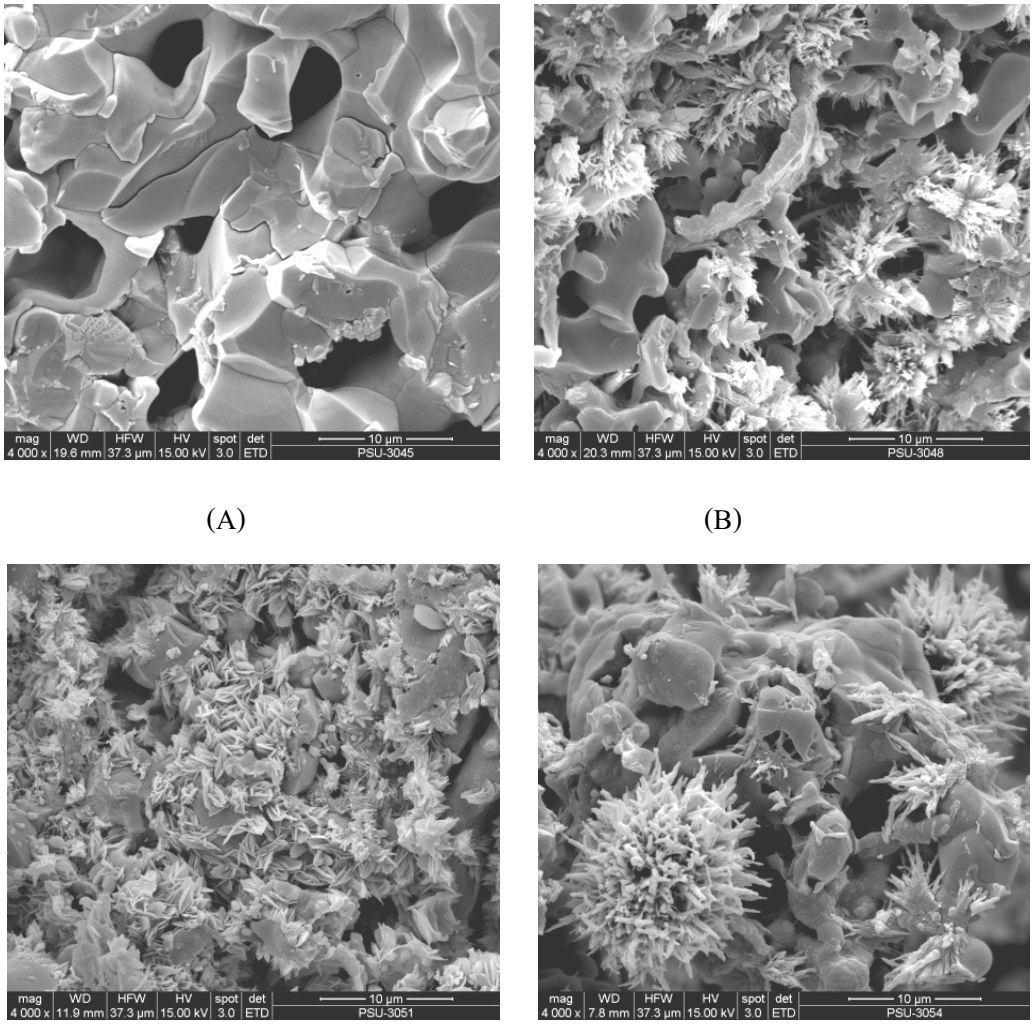
รูปที่ 4.3 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบ และซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1150 ^{o}C (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ภายหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM



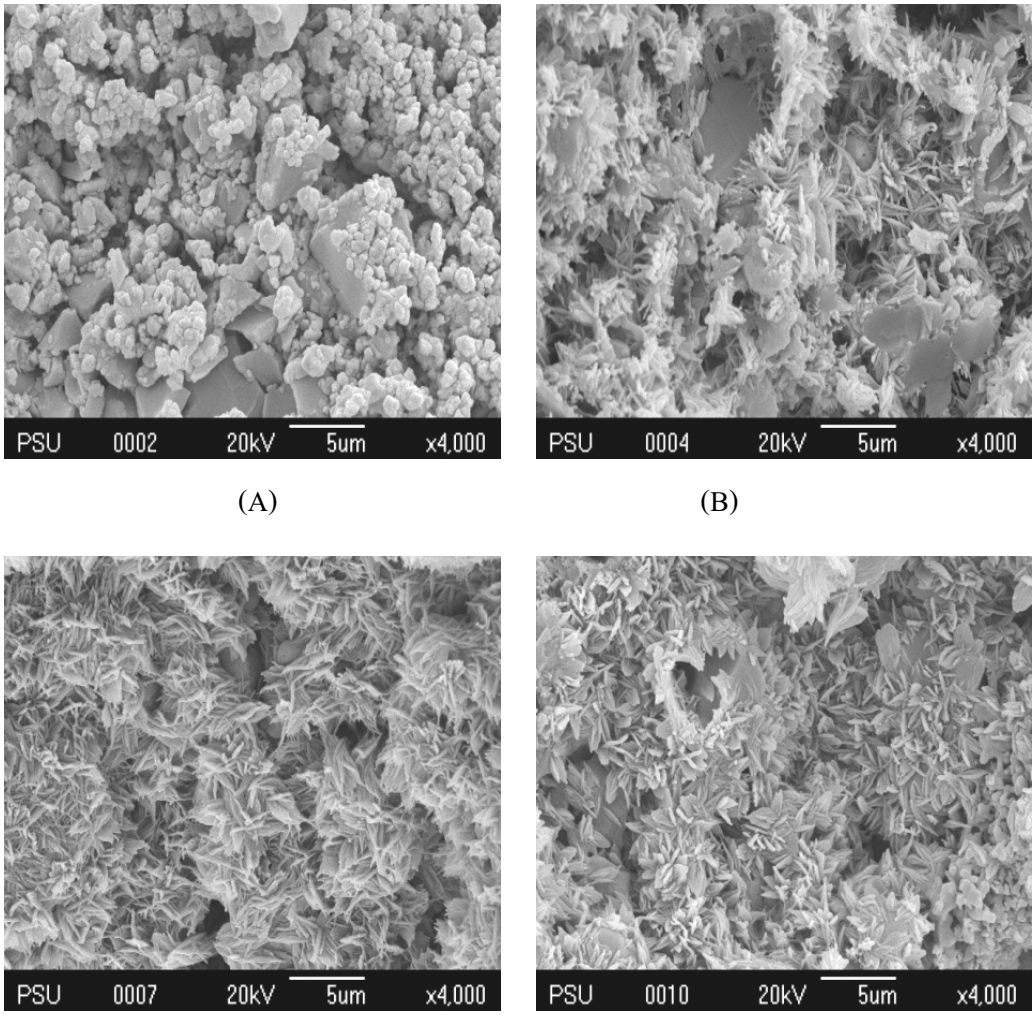
(A) (B)

(C) (D)

รูปที่ 4.4 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบ และซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1150 ^{o}C (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ภายหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM



รูปที่ 4.5 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบ และซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1250 ^{o}C (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ภายหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM



(A) (B)

(C) (D)

รูปที่ 4.6 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ในแต่ละส่วนประกอบ และซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1250 ^{o}C (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ภายหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM

รูปที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงที่พื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ โดยมีการก่อตัวของผลึก apatite ซึ่งมีรูปร่างทรงรีค่อนข้างกลม ตัวหนอน และจะสังเกตได้ชัดหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.4) สูตร HTC1 ซึ่งไม่มีแคลเซียมซิลิเคตเป็นองค์ประกอบ สังเกตพบว่า มีผลึกเกิดขึ้นน้อยมากหรือแทบจะไม่เกิดในช่วง 2 สัปดาห์แรก ตรงกันข้ามกับสูตรที่มีแคลเซียมซิลิเคตเป็นองค์ประกอบ เมื่อปริมาณแคลเซียมซิลิเคตเพิ่ม จำนวนผลึก apatite จะเพิ่มขึ้นด้วย เรียงลำดับปริมาณการเกิดผลึกในช่วง 2 สัปดาห์หลังการแช่ในสารละลาย PBS คือ HTC4>HTC3>HTC2 >HTC1 ซึ่งเมื่อพิจารณาการเกิดผลึก apatite ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่

การซินเทอริ่งที่ 1250 °C และ 1150 °C พบว่า ปริมาณการเกิดผลึก apatite เป็นไปตามปริมาณของแคลเซียมซิลิเคตและระยะเวลาในการแช่สารละลาย PBS จากรูปที่ 4.3-4.6 ยังพบว่าการเกิดผลึกของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิสูงกว่าจะมีผลึก apatite มากกว่าการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิต่ำ เมื่อมีองค์ประกอบของสารเหมือนกัน

การก่อตัวของผลึก apatite สามารถสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนภายหลังการแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ และเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ ผลึก apatite เกิดการก่อตัวและปกคลุมทั่วพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ ซึ่งสามารถยืนยันได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Scanning electron microscope-Energy dispersive X-ray spectrometry (SEM-EDX) เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของปริมาณธาตุองค์ประกอบบนพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ภายหลังการแช่ใน PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ดังตารางที่ 4.2 และ 4.3

ตารางที่ 4.2 ผล EDX แสดงธาตุองค์ประกอบบนพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1150 °C ภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Element	**Element %**			
	HTC1	**HTC2**	**HTC3**	**HTC4**
C	2.479	3.108	2.918	3.678
O	14.388	16.63	18.898	17.616
Si	0.299	8.569	13.58	14.69
P	22.029	17.581	14.443	11.87
Ca	59.146	50.95	47.49	44.083
อื่นๆ	1.659	3.162	2.671	8.063
รวม	**100**	**100**	**100**	**100**

ตารางที่ 4.3 ผล EDX แสดงธาตุองค์ประกอบบนพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1250 °C ภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Element	Element %			
	HTC1	**HTC2**	**HTC3**	**HTC4**
C	2.988	3.282	3.608	3.579
O	13.168	19.167	18.668	19.452
Si	0	7.886	8.897	14.967
P	18.815	17.827	15.876	12.321
Ca	51.59	49.591	49.056	41.064
อื่นๆ	13.439	2.247	3.895	8.617
รวม	**100**	**100**	**100**	**100**

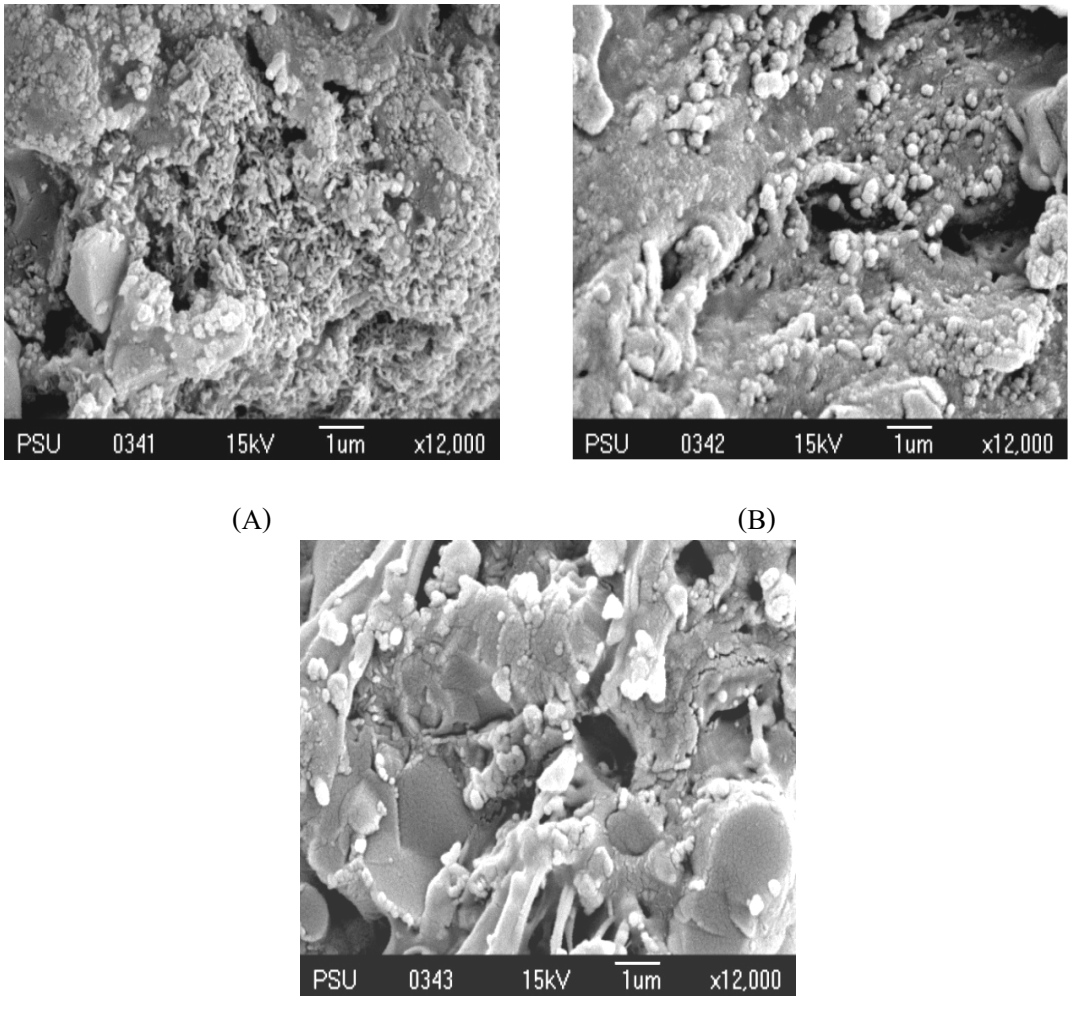
ตารางที่ 4.4 อัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสของโครงเลี้ยงเซลล์ที่แช่ในสารละลาย PBS เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

สูตร	Ca:P		Si:(Ca+P+Si)	
	1150 °C	**1250 °C**	**1150 °C**	**1250 °C**
HTC1	2.46	2.74	0.004	0.000
HTC2	2.90	2.78	0.111	0.105
HTC3	3.29	3.09	0.180	0.121
HTC4	3.71	3.33	0.208	0.219

รูปร่างผลึก apatite ที่เกิดแตกต่างกัน เช่น ภายหลังการแช่โครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในในสารละลาย PBS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่ามีผลึก apatite คล้ายดอกกะหล่ำปลีและตัวหนอน เนื่องจากผลึกแต่ละประเภทเกิดจากสารตั้งต้นที่แตกต่างกัน ภายหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ผลึก apatite รูปเดิมอาจถูกปกคลุมด้วยผลึกรูปใหม่ที่เกิดขึ้นอย่างมากในภายหลัง จากตารางที่ 4.2-4.4 พบว่าสัดส่วนของ Si:(Ca+P+Si) เพิ่มขึ้นเมื่อสารตั้งต้นมี Si เพิ่มขึ้น

(HTC4>HTC3>HTC2>HTC1) เมื่อนำมาพิจารณาร่วมกับรูปที่ 4.3-4.6 อาจคาดเดาได้ว่า ผลึก apatite ส่วนใหญ่อาจจะเป็นผลึกที่เกิดจาก Si เป็นหลัก หรือผลึก apatite ที่เกิด อาจจะมี Si เป็นองค์ประกอบหลัก

4.1.3 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ ภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM



(A) (B)

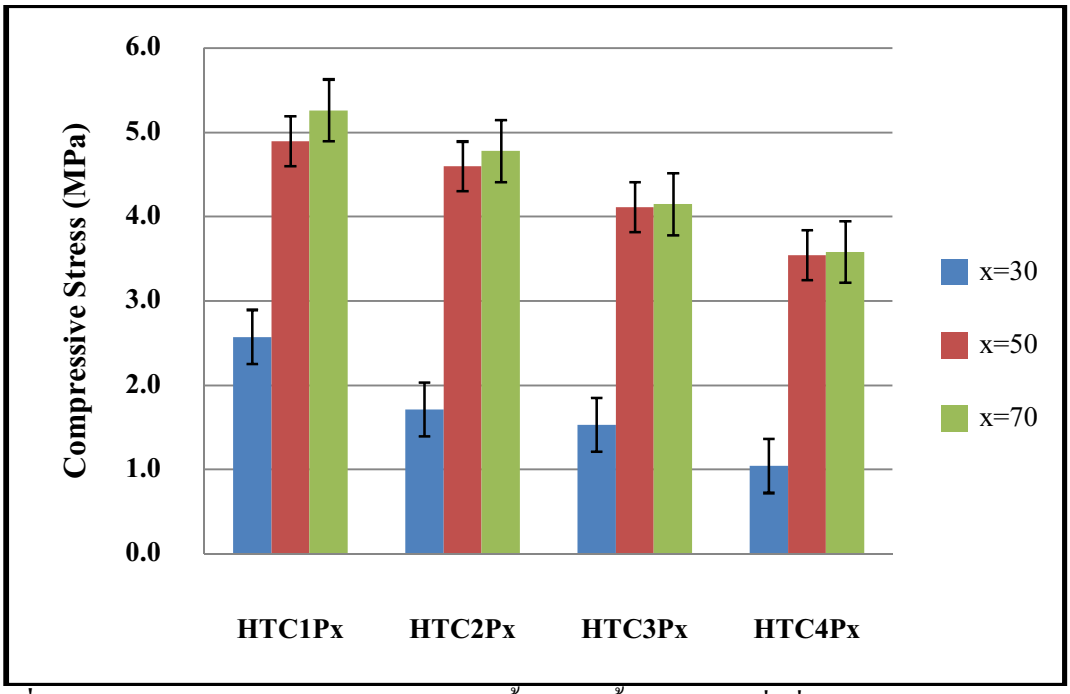
(C)

รูปที่ 4.7 ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ HTC3 ที่เคลือบด้วยสารผสมพอลิคาโปรแลคโตน (A) PCL 30 wt.%, (B) PCL 50 wt.%, (C) PCL wt.70 % ภายหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM

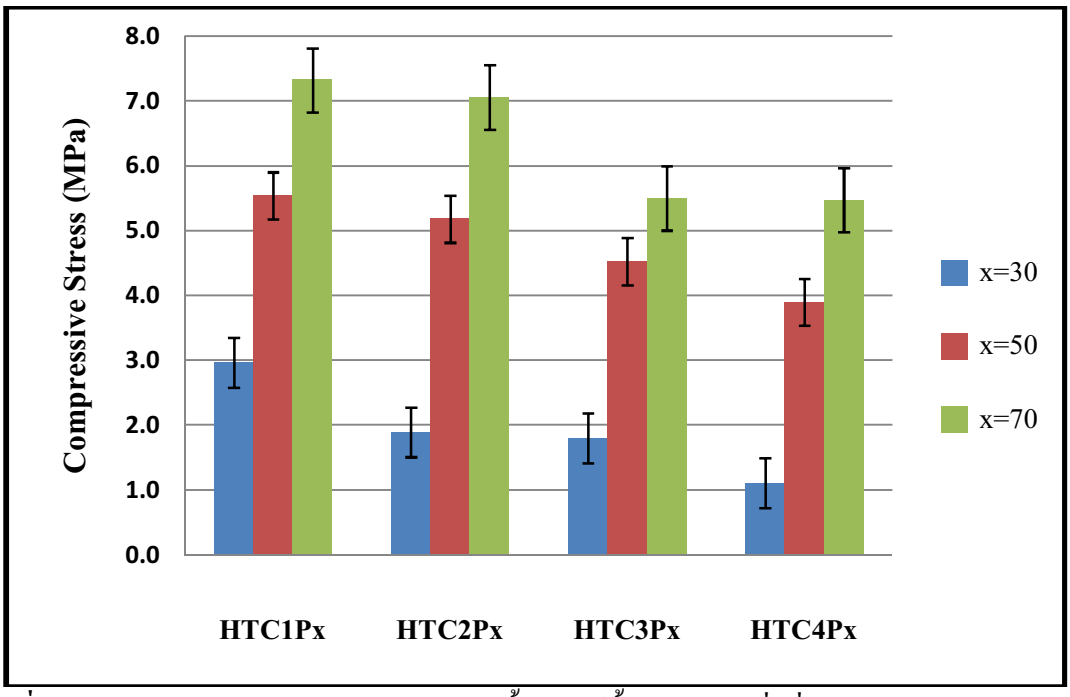
จากรูปที่ 4.7 พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ %PCL สูงจะไม่ค่อยพบผลึก apatite บนผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ เนื่องจากพอลิคาโปรแลคโตนเป็นสารที่ไม่เปียกน้ำ ป้องกันไฮดรอกซีอะพาไทต์ เบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และแคลเซียมซิลิเคตไม่ให้สัมผัสกับน้ำ ผลึก apatite จึงเกิดได้น้อย แตกต่างกับสารเคลือบที่มีสารพอลิคาโปรแลคโตน 30 wt.% ซึ่งจะเกิด apatite ได้มาก อย่าไรก็ตามเมื่อเกิดผลึก apatite มาก ความแข็งแรงของโครงเลี้ยงเซลล์จะลดลง เนื่องจากความแข็งแรงของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ ขึ้นอยู่กับปริมาณของพอลิคาโปรแลคโตน

4.1.4 สมบัติเชิงกลของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์

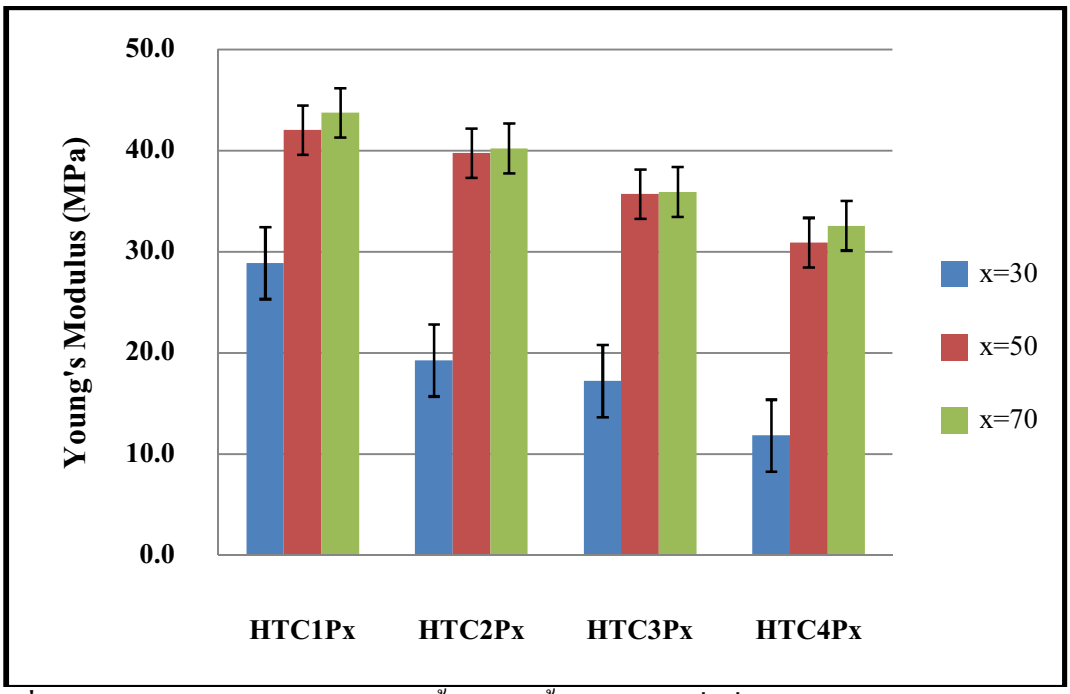
นำโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้จากสารไฮดรอกซีอะพาไทต์ เบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเกต มาเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ ที่มีพอลิคาโปรแลคโตน 30, 50 และ 70 wt.% ผลการทดสอบแรงกดเป็นดังรูปที่ 4.8-4.11



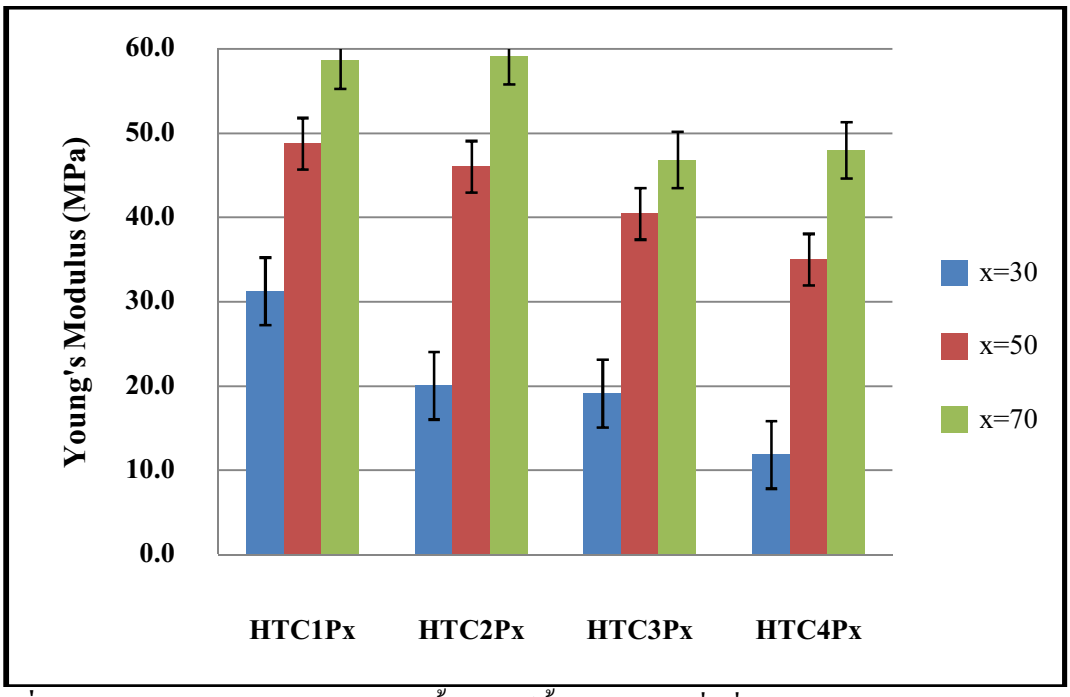
รูปที่ 4.8 ค่าความเค้นแรงอัด (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1150 °C และเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์



รูปที่ 4.9 ค่าความเค้นแรงอัด (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1250 °C และเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์



รูปที่ 4.10 ค่ามอดูลัสของยังของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1150 °C และเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์

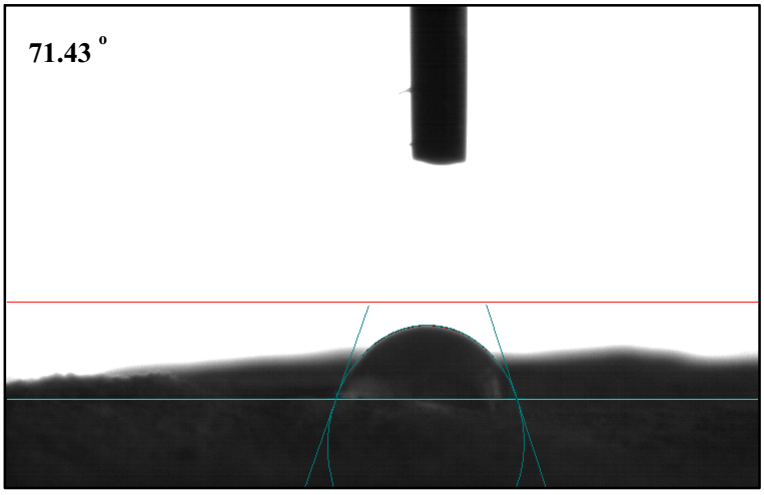


รูปที่ 4.11 ค่ามอดูลัสของยังของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1250 °C และเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์

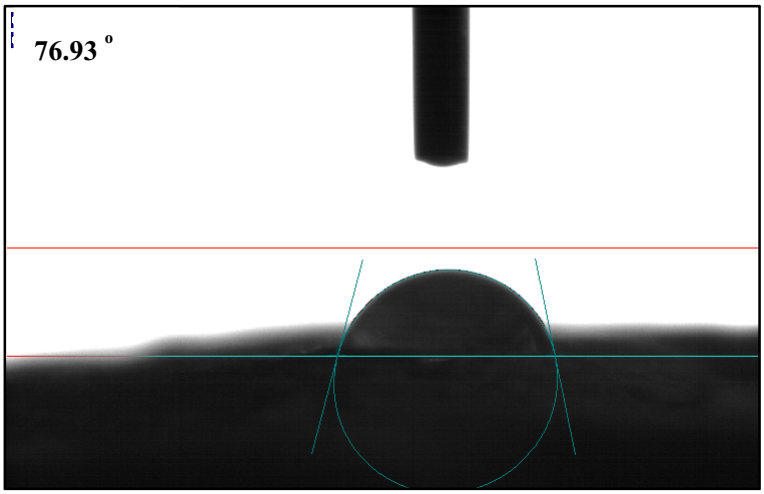
องค์ประกอบและอุณหภูมิที่ใช้ในการซินเทอริ่งของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในไม่ส่งผลต่อการเพิ่มการรับแรงอัดเท่าที่ควร แต่ส่วนที่เป็นตัวแปรหลักของการรับแรงอัดคือ สารเคลือบพอลิเมอร์ผสมที่มีเปอร์เซ็นต์ PCL เพิ่มขึ้น กล่าวคือ โครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มีพอลิคาโปรแลคโตน 70 %wt จะรับแรงอัดได้ดีที่สุด รองลงมาเป็นสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มีพอลิคาโปรแลคโตน 50 %wt และ 30 %wt ตามลำดับ (HTCxP70 > HTCxP50 > HTCxP70)โดยสูตรที่รับแรงอัดได้มากที่สุดคือ HTC1P70 รับแรงกดได้ 7.318 MPa เพราะไม่มีแคลเซียมซิลิเคตเป็นองค์ประกอบ จึงสรุปได้ว่าแคลเซียมซิลิเคตเป็นตัวทำให้การรับแรงอัดของโครงเลี้ยงเซลล์มีค่าลดลง เป็นไปในทำนองเดียวกับรูปที่ 4.8 และ 4.9 คือการรับแรงอัดของ HTC1Px > HTC2Px > HTC3Px > HTC4Px เมื่อ x มีค่าเท่ากัน (x คือ เปอร์เซ็นต์ของพอลิคาโปรแลคโตนในสารเคลือบพอลิเมอร์ โดย x = 30, 50 และ 70)

รูปที่ 4.10 และ 4.11 ค่ามอดูลัสของยังของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1150 °C และ 1250 °C พบว่า ค่ามอดูลัสของยังขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์ของพอลิคาโปรแลคโตนในสารเคลือบพอลิเมอร์ เมื่อปริมาณพอลิคาโปรแลคโตนเพิ่ม มอดูลัสของยังก็จะเพิ่มขึ้นด้วย คือ โครงเลี้ยงเซลล์ HTC1P70 ที่แกนชั้นในผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1250 °C จะให้ค่ามอดูลัสของยังสูงสุด (58.66 MPa)

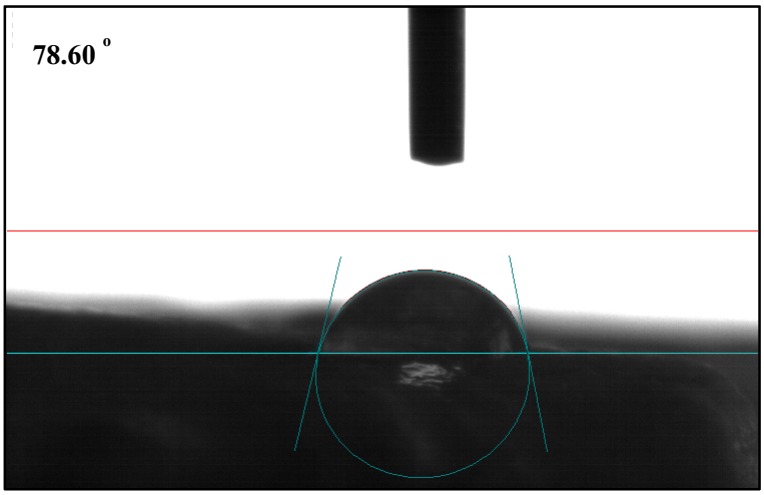
4.1.5 ผล contact angle ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบพอลิเมอร์



รูปที่ 4.12 ค่ามุมสัมผัสของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มีพอลิคาโปรแลคโตน 30 %wt



รูปที่ 4.13 ค่ามุมสัมผัสของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มีพอลิคาโปรแลคโตน 50 %wt



รูปที่ 4.14 ค่ามุมสัมผัสของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มีพอลิคาโปรแลคโตน 70 %wt

รูปที่ 4.14 ถึง 4.16 ค่ามุมสัมผัสของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มีพอลิคาโปรแลคโตน 30 %wt, 50 %wt และ 70 %wt มีค่าเท่ากับ 71.43°, 76.93° และ 78.60° ตามลำดับ แสดงว่าพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีพอลิคาโปรแลคโตนในสารเคลือบพอลิเมอร์อยู่ 70 %wt มีความไม่ชอบน้ำมากที่สุด

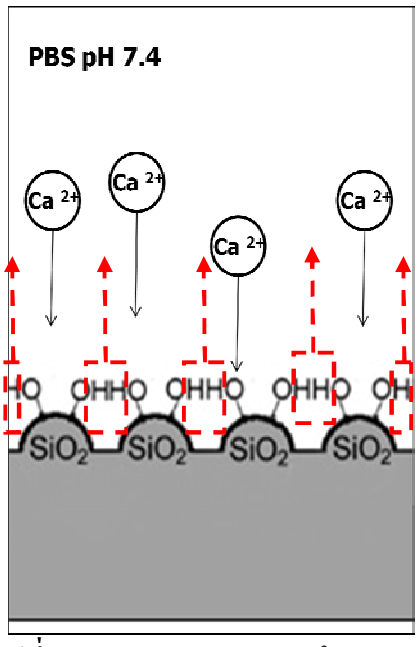
4.2 วิจารณ์ผลการทดลอง

จากรูปที่ 4.1 พบว่า HTC1 มีขนาดเกรนที่ใหญ่ เกิดจากการหลอมเหลวของไฮดรอกซีอะพาไทต์ (จุดหลอมเหลว 1100 °C) เมื่อซินเทอริ่งที่ 1150 °C ทำให้เกิดการเชื่อมของเกรนไฮดรอกซีอะพาไทต์กับเกรนของเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต (จุดหลอมเหลว 1670 °C) ที่หลอมเหลวได้เล็กน้อย (ไฮดรอกซีอะพาไทต์หลอมรวมกับเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนเฟสของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่อุณหภูมิสูง กลายเป็นเฟสเดียวกับเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต โดยก่อนการเปลี่ยนเฟสมีการปลดปล่อยพลังงานออกมาจึงทำให้เกิดการเปลี่ยนเฟสและหลอมรวมตัวกัน)

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะเกรนกับสูตรอื่นๆ ที่มีแคลเซียมซิลิเคตซึ่งมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าไฮดรอกซีอะพาไทต์และเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟตมาก พบว่า เมื่อปริมาณแคลเซียมซิลิเคตเพิ่มขึ้นขนาดรูพรุนจะลดลง เนื่องจากแคลเซียมซิลิเคตเข้าไปอยู่ในช่อว่างระหว่างเกรนไฮดรอกซีอะพาไทต์และเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต เนื่องจากแคลเซียมซิลิเคตที่มีจุดหลอมเหลว 1540 °C จึงหลอมเหลวได้เล็กน้อยที่ 1150 °C เกิดเป็นเกรนขนาดเล็กบริเวณรอยต่อของเกรนขนาดใหญ่ เกิดลักษณะเกรนทำนองเดียวกันกับการินเทอริ่งที่ 1250 °C พบว่าอุณหภูมิที่ใช้ซินเทอริ่งโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในมีผลต่อขนาดของเกรน ขนาดรูพรุน และจำนวนรูพรุน คือ เมื่ออุณหภูมิในการซินเทอริ่งสูงขึ้น ขนาดเกรนและรูพรุนจะใหญ่ขึ้น เนื่องจากสารที่เป็นองค์ประกอบของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในเกิดการหลอมรวมตัวกันได้มากขึ้น ช่องว่างระหว่างอนุภาคจึงลดลง รูพรุนขนาดเล็กบางส่วนถูกหลอมปิดไปหลังจากการซินเทอริ่งเหลือเฉพาะรูพรุนที่มีขนาดใหญ่

ผลของแคลเซียมซิลิเคตต่อขนาดรูพรุนและความพรุน พบว่าเมื่อมีปริมาณเพิ่มขึ้นขนาดของรูพรุนจะลดลง แต่ค่าความพรุนจะเพิ่มขึ้น โดยมีอนุภาคของแคลเซียมซิลิเคตแทรกอยู่ระหว่างรูพรุนเป็นจำนวนมาก เนื่องจากแคลเซียมซิลิเคตมีความหนาแน่นต่ำกว่าไฮดรอกซีอะพาไทต์และเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต จึงฟุ้งกระจายได้ง่าย การผสมสูตรโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในที่มี %CS สูงๆ จึงมีความยากลำบาก แคลเซียมซิลิเคตบางส่วนจับตัวกันเป็นกลุ่ม จึงไม่สามารถจุ่มเคลือบโครงเลี้ยงเซลล์ให้มีพื้นผิวที่สม่ำเสมอได้

หลังการแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลาย PBS โครงเลี้ยงเซลล์จะมีสภาพเป็น active site Ca^{2+} แตกตัวออกมาจากทั้งไฮดรอกซีอะพาไทต์ เบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเคต แต่แคลเซียมซิลิเคตเป็นตำแหน่งที่เกิด nucleation เพราะบริเวณพื้นผิวมีหมู่ Si-OH เมื่อเวลาผ่านไป H^+ ถูกดูดออกกลายเป็น $Si\text{-}O^-$ (nucleation site) ดังนั้น Ca^{2+} จึงมาจับและเกิดเป็นผลึก apatite ที่บริเวณนี้ [33-35] ดังรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 กระบวนการเกิดผลึก apatite

สาเหตุที่ผลึก apatite ที่เกิดขึ้นบนโครงเลี้ยงเซลล์อย่างไม่ต่อเนื่อง เนื่องจากแคลเซียมซิลิเคตอยู่ในช่องว่างระหว่างอนุภาคของไฮดรอกซีอะพาไทต์และเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และบริเวณรอยต่อของเกรน จึงเป็นตำแหน่งที่เกิด apatite เมื่อปริมาณแคลเซียมซิลิเคตในโครงเลี้ยงเซลล์เพิ่มขึ้น ผลึก apatite เกิดมากขึ้น (HTC4 > HTC3 > HTC2 > HTC1)

โครงเลี้ยงเซลล์ที่มีและไม่มีแคลเซียมซิลิเคตเป็นองค์ประกอบแช่ในสารละลาย PBS เป็นระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ มีรูปร่างผลึก apatite แตกต่างกัน เพราะที่พื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์มี nucleation site ที่แตกต่างกัน [36]

โครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในที่เตรียมโดยไม่ผสมแคลเซียมซิลิเคตลงไปสามารถรับแรงกดได้ดีที่สุดเมื่อนำไปซินเทอริ่งที่ 1250 °C เนื่องจากทำให้ไฮดรอกซีอะพาไทต์หลอมรวมตัว ทำให้ช่องว่างระหว่างอนุภาคของสารลดลง โครงเลี้ยงเซลล์มีความพรุนลดลง ขนาดเกรนใหญ่ขึ้นทำให้สามารถรับแรงได้มากขึ้น

ความสามารถในการรับแรงของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในที่เคลือบสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มีพอลิคาโปรแลคโตน ไม่ได้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในอย่างเป็นนัยสำคัญ แต่ขึ้นอยู่กับปริมาณของพอลิโปรแลคโตนในสารเคลือบพอลิเมอร์ ถ้ามีปริมาณพอลิคาโปรแลคโตนมาก ค่าความเค้นแรงอัดจะมีค่ามากด้วย โดยสูตรที่รับแรงอัดและมอดูลัสของยังมากที่สุดคือ HTC1P70 ซึ่งมีแกนชั้นในเป็น HA:TCP เท่ากับ 2:1 และ PCL เคลือบอยู่ 70 %wt รับแรงได้สูงสุด 7.318 MPa สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับ cancellous bone [41]

มุมสัมผัสของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์มีค่าสูง เมื่อปริมาณพอลิคาโปรแลคโตนมาก โครงเลี้ยงเซลล์จะมีความไม่ชอบน้ำสูง เนื่องจากพอลิคาโปรแลคโตนเป็นสารไม่มีขั้วจึงละลายน้ำได้ยาก

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากการเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในที่ประกอบด้วยไฮดรอกซีอะพาไทต์ เบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และแคลเซียมซิลิเคตซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มีพอลิคาโปรแลคโตน 30, 50 และ 70 %wt สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. ขนาดของรูพรุนและค่าความพรุนขึ้นอยู่กับปริมาณของแคลเซียมซิลิเคต คือ เมื่อแคลเซียมซิลิเคตเพิ่ม ขนาดรูพรุนลดลง แต่ค่าความพรุนเพิ่มขึ้น เพราะอนุภาคของแคลเซียมซิลิเคตไปแทรกอยู่ระหว่างอนุภาคของไฮดรอกซีอะพาไทต์และเบต้าไตรแคลเซียมซิลิเคต
2. ขนาดเกรนของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในขึ้นอยู่กับอุณหภูมิซินเทอริ่ง คือ เมื่อซินเทอริ่งที่อุณหภูมิสูงกว่า ขนาดเกรนใหญ่กว่า เพราะ ไฮดรอกซีอะพาไทต์เกิดการหลอมรวมตัวกับเบต้าไตรแคลเซียมได้มากขึ้น
3. สูตรโครงเลี้ยงเซลล์ที่เกิดผลึก apatite ได้สม่ำเสมอที่สุดหลังการแช่ PBS ที่ 2 และ 4 สัปดาห์ คือ HTC3 ที่มีไฮดรอกซีอะพาไทต์ 40 %wt เบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต 20 %wt และแคลเซียมซิลิเกต 40 %wt ซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
4. การรับแรงอัดขึ้นอยู่กับปริมาณของพอลิคาโปรแลคโตนที่ใช้ในสารเคลือบพอลิเมอร์ เมื่อพอลิคาโปรแลคโตนเพิ่ม การรับแรงอัดและค่ามอดูลัสของยังเพิ่มขึ้น แต่จะลดลงเมื่อปริมาณแคลเซียมซิลิเคตเพิ่มขึ้น สูตรโครงเลี้ยงเซลล์ที่รับแรงอัดและค่ามอดูลัสของยังมากที่สุด คือ HTC1P70 ที่มีพอลิคาโปรแลคโตน 70 %wt แต่มีความชอบน้ำน้อยที่สุด
5. ค่ามุมสัมผัส เป็นค่าที่สื่อถึงความชอบน้ำของโครงเลี้ยงเซลล์ จะมีความชอบน้ำ ละลายน้ำได้ดีเมื่อปริมาณแคลเซียมซิลิเคตเพิ่มขึ้น แต่จะลดลงเมื่อปริมาณพอลิคาโปรแลคโตนเพิ่มขึ้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองที่ได้จากงานวิจัยนี้ ทำให้ได้ข้อเสนอแนะที่น่าสนใจในการทำการวิจัยเพิ่มเติมในเรื่องที่เกี่ยวข้อง ดังต่อไปนี้

1. ทำการเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์โดยการเผาที่อุณหภูมิสูงกว่า 1250 ^{o}C เพื่อให้การหลอมรวมตัวของไฮดรอกซีอะพาไทต์ เบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และแคลเซียมซิลิเคตเกิดได้มากขึ้น
2. ทำการปรับปรุงวิธีผสมสารแคลเซียมให้ผสมเข้ากับสารไฮดรอกซีอะพาไทต์และเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟตอย่างสมบูรณ์
3. ทำการเพิ่มสารชนิดอื่นๆเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติเชิงกลให้ดีขึ้น เช่น การรับแรงกด แรงดัด
4. ทำการทดลองนำโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ทดลองเลี้ยงในสัตว์ทดลอง เพื่อดูการเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ ความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างกระดูกใหม่ และระยะเวลาในการสลายตัว

เอกสารอ้างอิง

[1] “กระดูก” Available online: http://www.bloggang.com (สืบค้นเมื่อ 10 มกราคม 2554).

[2] J. Reignier, M. A. Huneault, Preparation of interconnected poly(ε-caprolactone) porous scaffolds by a combination of polymer and salt particulate leaching. Polymer 47, 4703-4717 (2006).

[3] C. Mauli Agrawal, Robert B. Ray, Biodegradable polymeric scaffolds for musculoskeletal regeneration. J. Biomed. Mater., Res. 55, 141-150 (1998).

[4] สุกิจ แสงนิพันธ์กุล, กระดูกและกระดูกอ่อน. คณะแพทยศาสตร์ ภาควิชาออร์โทปิดิกส์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (1990).

[5] “ระบบโครงกระดูก” Available online: http://school.obec.go.th (สืบค้นเมื่อ 5 มกราคม 2554).

[6] “กระดูก” Available online: http://th.wikipedia.org (สืบค้นเมื่อ 5 มกราคม 2554).

[7] “กระบวนการสร้างกระดูก” Available online: http://www.bioscience.org (สืบค้นเมื่อ 10 มกราคม 2554)

[8] W. Suchanek, M. Yashima, Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. J. Master. Res. 13(1) (1998).

[9] R.J. Koch, G. K. Gorti, Tissue engineering with chondrocytes. Facial Plastic Surgery 18, 59-68 (2002).

[10] R. Langer, Tissue engineering. Molecular Therapy 1, 12-15 (2000).

[11] A. Atala, R.P. Lanza, Methods of tissue engineering. 1st ed. New York: Academic Press. (2002).

[12] B.D. Boyan, C.H. Romero J., and Z. Schwartz, Bone and cartilage tissue engineering. Clinical Plastic Surgery 26, 629-645 (1999).

[13] D.W. Hutmacher, Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. Biomaterial 21, 2529-2543 (2000).

[14] L. Cerroni, R. Filocamo, M. Fabbri, C. Piconi, S. Caropreso and S.G. Codo. Growth of osteobalst-like cells on porous hydroxyapatite ceramics: An in vitro study. Biomolecular engineering 19, 119-124 (2002).

[15] C. Kumar. Tissue, Cell and Organ Engineering. Nanotechnologies for the life science volume 9, 4-5, 227-234 (2011).

[16] นราวุธ ทองมะโรงสี. การผลิตโครงเลี้ยงเซลล์จากวัสดุที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพเพื่องานวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, (2003).

[17] “hydroxyapatite” Available online: http://us.chemicalbook.com (สืบค้นเมื่อ 11 มกราคม 2554)

[18] S. Sprio, A. Tampieri, G. Celotti and E. Landi, Development of hydroxyapatite/ calcium silicate composites addressed to the design of load-bearing bone scaffolds. Journal of mechanical behavior of biomedical materials 2, 147-155 (2008).

[19] สุพัตรา จินาวัฒน์. การขึ้นรูปไฮดรอกซีอะพาไทต์ชนิดพรุนโดยใช้ไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต และไดแคลเซียมฟอสเฟตแอนไฮดรัสจากอุตสาหกรรมกระดูกสัตว์. เทคโนโลยีเซรามิก คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, (1999).

[20] “chemical properties” Available online: http://www.nycominerals.com (สืบค้นเมื่อ 20 มีนาคม 2554).

[21] “wallastonite” Available online: http://www.rtvanderbilt.com (สืบค้นเมื่อ 20 มีนาคม 2554)

[22] “polycaprolactone” Available online: http://reference.findtarget.com (สืบค้นเมื่อ 20 มีนาคม 2554)

[23] H.Y. Kweon, M.K. Yoo, I.K. Park, H.C. Lee, H.S. Lee, J.S. Oh T. Akike and C.S. Cho. A novel degradable polycaprolactone networks for tissue engineering. Biomaterials 24, 801-808 (2003).

[24] สุภาสินี ลิมปานุภาพ. การเตรียมโครงสร้างวัสดุชีวภาพแบบมีรูพรุนด้วยเทคนิคหล่อแบบ/กำจัดอนุภาค. คณะวิทยาศาสตร์ หาวิทยาลัยขอนแก่น, (2007).

[25] H.W. Kim, J.C. Knowles and H.E. Kim. Hydroxyapatite/poly(Ɛ-caprolactone) composite coatings on hydroxyapatite porous bone scaffold for drug delivery. Biomaterials 25, 1279-1287 (2004).

[26] N. Kivrak and A. Cuneyt Tas. Synthesis of calcium hydroxylapatite-tricalcium phosphate (HA-TCP) composite bioceramic powders and their sintering behavior. J.Am. Ceram. Soc., 81[9] 2245-2252 (1998).

[27] J.A. Juhasz, S.M. Best and R. Brooks. Mechanical properties of glass ceraic A-W-polyethylene composites: effect of filler content and particle size. Biomaterials 25, 949-955 (2004).

[28] S. Limpanuphap, Preparation of porous poly (ε-capro-lactone) structure, 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology, (2005).

Available online: http://www.scisoc.or.th/stt/31/sec_e/paper/stt31_E0064.pdf, October 25, 2009.

[29] S. Limpanuphap, "Preparation of Porous Biomaterial Structures by a Solvent Casting/ Particulate Leaching Technique".

Available online: http://www.champa.kku.ac.th/kkurj/book/12_3/323.pdf, December 10, 2009.

[30] W. Xue, X. Liu, X. Zheng and C. Ding. In vivo evaluation of plasma-sprayed wollastonite coating. Biomaterials, 26, 3455-3460 (2005).

[31] W. Cheng, H. Li and J. Chang. Fabrication and characterization of β-dicalcium silicate /poly (D, L-lactic acid) composite scaffolds. Materials Letters, 59, 2214–2218 (2005).

[32] S. Xu, K. Lin, Z. Wang, J. Chang, L. Wang, J. Lu and C. Ning. Reconstruction of calvarial defect of rabbits using porous calcium silicate bioactive ceramics. Biomaterials 29, 2588-2596 (2008).

[33] M.G. Gandolfi, G. Ciapetti, P. Taddei, F. Perut, A. Tinti, M. Vivan, B.van eerbeek and C. Prati. Apatite formation on bioactive calcium-silicate cements for dentistry affects surface topography and human marrow stromal cells proliferation. Dental Materials 26, 974-992 (2010).

[34] C. Ohtsuki, M. Kamitakahara , T. Miyazaki. Coating bone-like apatite onto organic substrates using solutions mimicking body fluids. J Tissue Eng Regen Med 1, 33–38 (2007).

[35] S.J. Ding, M.Y. Shie, C.Y. Wang. Novel fast-setting calcium silicate bone cements with high bioactivity and enhanced osteogenesis in vitro. J Mater Chem 19, 1183–1190 (2009).

[36] S.V. Dorozhkin. A review on the Dissolution Models of Calcium Apatite. Progree in Crystal Growth and Characterizaton of Materials, 45-61 (2002).

[37] “ความเค้น ความเครียด” Available online: http://www.eng.su.ac.th/me/elearning (สืบค้นเมื่อ 15 ตุลาคม 2553)

[38] “SEM” Available online: http://www.nano.kmitl.ac.th (สืบค้นเมื่อ 20 ตุลาคม 2553)

[39] “EDX” Available online: http://www.nn.nstda.or.th (สืบค้นเมื่อ 20 ตุลาคม 2553)

[40] “PBS solution” Available online: http://kb.psu.ac.th (สืบค้นเมื่อ 11 มกราคม 2554)

[41] “Bone mechanical properties” Available online: www.tcd.ie/bioengineering (สืบค้นเมื่อ 11 กันยายน 2554)

ภาคผนวก

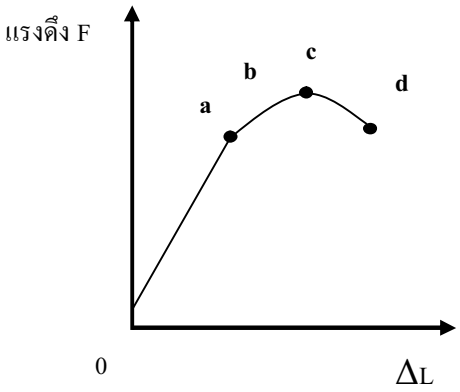
ภาคผนวก ก

ทฤษฎีเพิ่มเติม

1. ความเค้นและความเครียดในวัสดุ [37]

1.1 กฎของฮุก

กฎของฮุก (Hooke's law) เมื่อนำเส้นโลหะ เช่น เส้นลวด เหล็กหรือทองแดงมาดึง จะพบว่า ความยาวของเส้นโลหะที่ยืดออกเป็นปฏิภาคโดยตรงกับขนาดของแรงดึง ดังแสดงในรูปที่ ก.1



รูปที่ ก.1 ความสัมพันธ์ระหว่างแรงดึงกับความยาวของเส้นโลหะที่ยืดออก

จากกราฟ สรุปได้ว่า

1. ช่วง oa คือ ช่วงที่เป็นไปตามกฎของฮุก โดยจุด a เรียกว่า ขีดจำกัดการแปรผันโดยตรง (Proportion limit) และถ้าออกแรงอีกเล็กน้อยถึงจุด b และเอาแรงออก จะทำให้ลวดโลหะมีความยาวกลับสู่ความยาวเดิมได้ เรียกจุดที่ b นี้ว่า ขีดจำกัดสภาพยืดหยุ่น (Elastic limit)

2. ตั้งแต่จุดที่ b เป็นต้นไป เส้นโลหะมีการเปลี่ยนแปลงรูปอย่างถาวร กล่าวคือ เมื่อเอาแรงออก ลวดโลหะที่ยืดออกจะไม่สามารถหดคืนสภาพกลับไปยาวเท่าเดิมได้

3. ที่จุด c เรียกว่า จุดคราก (Yield point) คือ จุดที่ความยาวของเส้นโลหะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่ออกแรงดึงเพียงเล็กน้อย

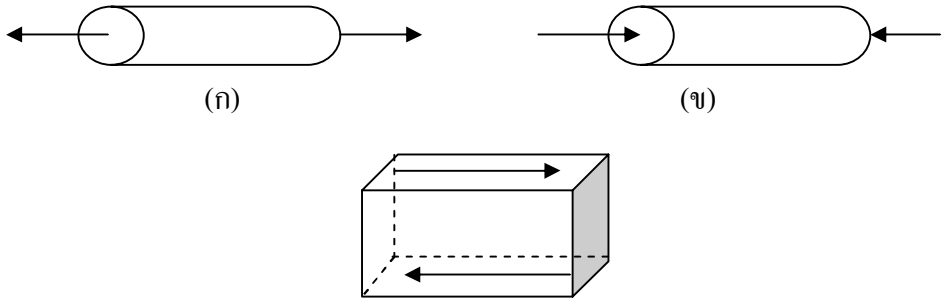
4. จุด d เส้นโลหะจะขาด เรียกว่า จุดแตกหัก (Breaking point)

5. การผิดรูปแบบยืดหยุ่น (Elastic deformation) เกิดขึ้นในช่วง oa เรียกสภาพของวัตถุในช่วงนี้ว่า สภาพยืดหยุ่น (Elasticity)

6. การผิดรูปแบบพลาสติก (Plastic deformation) เกิดขึ้นในช่วง bd วัตถุจะเปลี่ยนรูปอย่างถาวร

1.2 แรงที่ทำให้วัตถุผิดรูป

แรงที่ทำให้วัตถุผิดรูปมีด้วยกัน 3 แบบ ดังรูปที่ ก.2



(ก) (ข)

(ค)

รูปที่ ก.2 แรงที่ทำให้วัตถุผิดรูป
(ก) แรงดึง (ข) แรงอัด (ค) แรงเฉือน

1) แรงดึง (Tensile forces) คือแรงที่กระทำต่อวัตถุแล้วทำให้วัตถุมีความยาวเพิ่มขึ้น

2) แรงอัด (Compression forces) คือแรงที่กระทำต่อวัตถุแล้วทำให้วัตถุมีความยาวลดลง

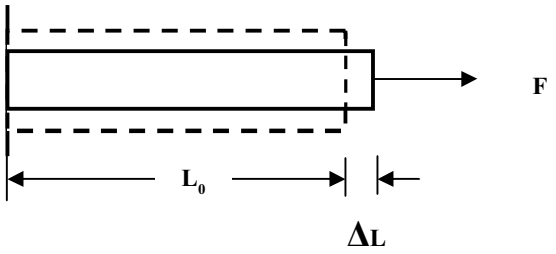
3) แรงเฉือน (Shear forces) คือแรงที่กระทำต่อวัตถุแล้วทำให้วัตถุเลื่อนไป หรือทำให้แท่งวัตถุบิดรูปร่างไปจากเดิมตามแนวยาว เรียกว่า แรงบิด (Forces of torsion)

1.3 ความเค้นและความเครียด

ความเค้น (Stress, σ) คือ อัตราส่วนของแรงที่ตั้งฉากกับผิว (F) ต่อพื้นที่ภาคตัดขวาง (A)

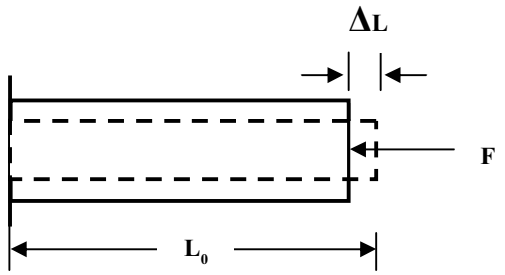
$$\sigma = F/A$$

ความเค้นดึง (Tensile stress) คือ อัตราส่วนของแรงดึงที่ตั้งฉากกับผิว (F) ต่อพื้นที่ภาคตัดขวาง (A) มีผลทำให้วัตถุยาวขึ้นดังรูปที่ ก.3



รูปที่ ก.3 ความเค้นดึง

ความเค้นอัด (Compressive stress) คือ อัตราส่วนของแรงอัดที่ตั้งฉากกับผิว (F) ต่อพื้นที่ภาคตัดขวาง (A) มีผลทำให้วัตถุหดลงดังรูปที่ ก.4



รูปที่ ก.4 ความเค้นอัด

ความเครียดตามยาว (Longitudinal strain, ε) คือ อัตราส่วนของความยาวที่เปลี่ยนไป (ΔL) ต่อความยาวเดิม (L_0)

$$\varepsilon = \Delta L/L_0$$

ความเครียดดึง (Tensile strain) คือ อัตราส่วนของความยาวที่เพิ่มขึ้น (ΔL) ต่อความยาวเดิม (L_0)

ความเครียดอัด (Compressive strain) คือ อัตราส่วนของความยาวที่ลดลง (ΔL) ต่อความยาวเดิม (L_0)

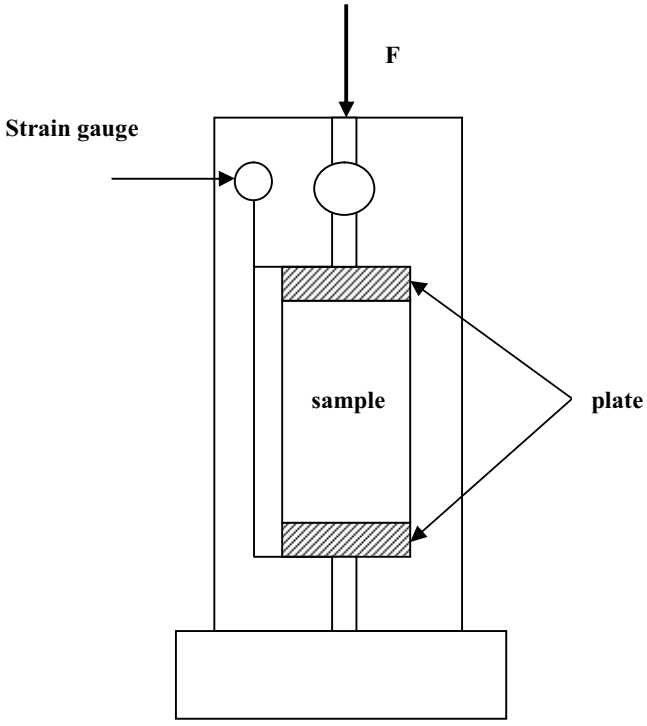
1.4 มอดูลัสของยัง (Young's modulus)

มอดูลัสของยัง (E) คือ อัตราส่วนของความเค้นตามยาว (σ) ต่อความเครียดตามยาว (ε)

$$E = \sigma / \varepsilon = (F/A)/(\Delta L/L_0)$$

มอดูลัสของยังมีหน่วยเป็น นิวตันต่อตารางเมตร (N/m^2) หรือ นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร (N/mm^2)

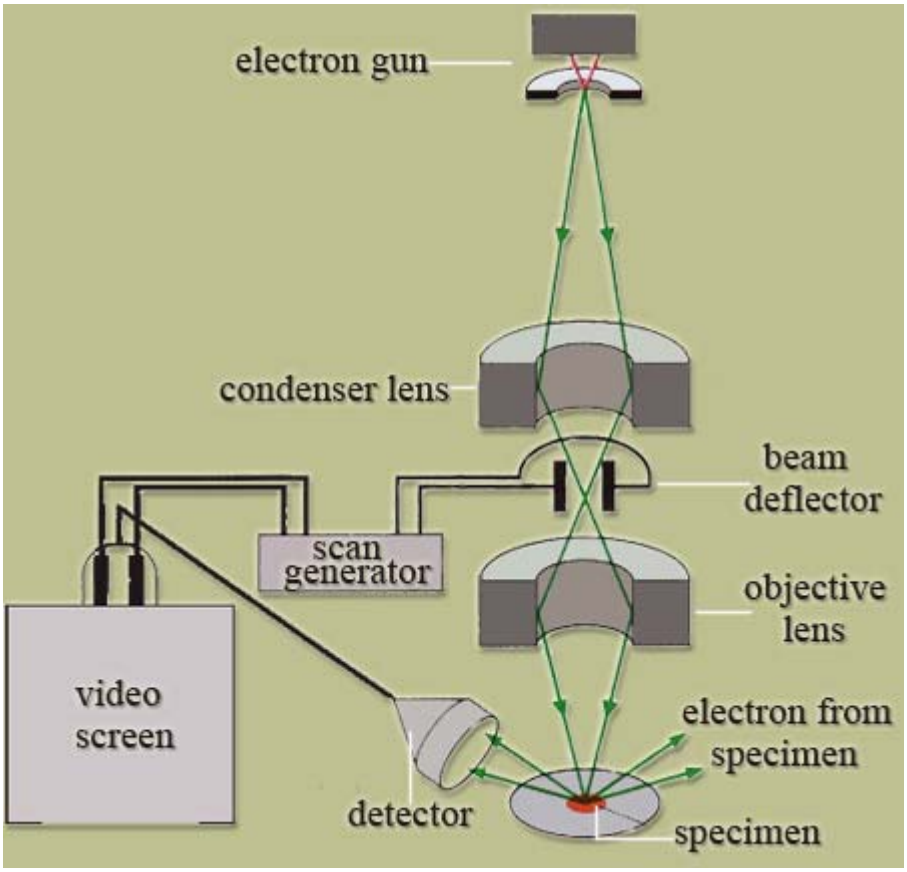
วัตถุที่มีมอดูลัสของยังมาก แสดงว่า วัตถุมีความทนต่อการเปลี่ยนแปลงความยาว หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือ วัตถุนั้นมีการเปลี่ยนแปลงความยาวน้อย ในขณะที่มีความเค้นมาก



รูปที่ ก.5 ภาพจำลองการทดสอบแรงอัด

2.หลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscope, SEM) [38]

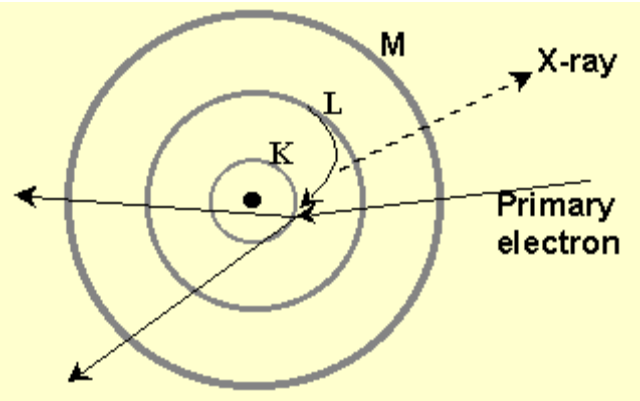
กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจะประกอบด้วยแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนซึ่งทำหน้าที่ผลิตอิเล็กตรอนเพื่อป้อนให้กับระบบ โดยกลุ่มอิเล็กตรอนที่ได้จากแหล่งกำเนิดจะถูกเร่งด้วยสนามไฟฟ้า จากนั้นกลุ่มอิเล็กตรอนจะผ่านเลนส์รวบรวมรังสี (condenser lens) เพื่อทำให้กลุ่มอิเล็กตรอนกลายเป็นลำอิเล็กตรอน ซึ่งสามารถปรับให้ขนาดของลำอิเล็กตรอนใหญ่หรือเล็กได้ตามต้องการ หากต้องการภาพที่มีความคมชัดจะปรับให้ลำอิเล็กตรอนมีขนาดเล็ก หลังจากนั้นลำอิเล็กตรอนจะถูกปรับระยะโฟกัสโดยเลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) ลงไปบนผิวชิ้นงานที่ต้องการศึกษา หลังจากลำอิเล็กตรอนถูกกราดลงบนชิ้นงานจะทำให้เกิดอิเล็กตรอนทุติยภูมิ (secondary electron) ขึ้น ซึ่งสัญญาณจากอิเล็กตรอนทุติยภูมินี้จะถูกบันทึก และแปลงไปเป็นสัญญาณทางอิเล็กทรอกนิกส์และถูกนำไปสร้างเป็นภาพบนจอโทรทัศน์ต่อไป และสามารถบันทึกภาพจากหน้าจอโทรทัศน์ได้เลย ดังรูปที่ ก.6



รูปที่ ก.6 ภาพจำลองการทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

3. การวิเคราะห์โครงเลี้ยงเซลล์ด้วยเทคนิคการกระจายพลังงานของรังสีเอกซ์(Energy Dispersive X-ray analysis; EDX) [39]

การตรวจสอบชนิดและปริมาณธาตุด้วยเทคนิคการกระจายพลังงานของรังสีเอกซ์ (energy dispersive X-ray analysis; EDX) ใช้หลักการการกระเจิงของอิเล็กตรอนในชิ้นงาน แล้วปลดปล่อยรังสีเอ็กซ์ออกมา ซึ่งรังสีเอกซ์ที่ปลดปล่อยออกมานั้น เป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละธาตุที่ปล่อยออกมา ซึ่งในอะตอมประกอบด้วยนิวเคลียสที่มีประจุบวกและอิเล็กตรอนที่มีประจุลบอยู่รอบๆ ทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างประจุภายในอะตอม แต่ประจุทั้งสองจะต้องสมดุลกันในแต่ละธาตุ การเรียงตัวของอิเล็กตรอนรอบนิวเคลียสของอะตอมมีลักษณะเป็นวง โดยอิเล็กตรอนชั้นในสุดจะมีพลังงานต่ำสุด แต่มีพลังงานพันธะที่แข็งแรงที่สุด และอิเล็กตรอนชั้นนอกนั้นจะมีพลังงานศักย์สูงแต่พลังงานพันธะต่ำ และระดับชั้นพลังงานชั้นต่างๆ ของอิเล็กตรอนจะเรียงจากวงในออกไปนอกได้ดังนี้ K, L, M, N, O, P และ Q ตามลำดับ และเนื่องจากความแตกต่างของระดับพลังงานยึดเหนี่ยวของอิเล็กตรอนรอบๆนิวเคลียส ทำให้อิเล็กตรอนตั้งต้น (primary electron) ที่มีพลังงานศักย์มากกว่า จึงมักจะไปแทนที่ในระดับพลังงานชั้น K มากกว่าชั้น L



รูปที่ ก.7 การเกิดรังสีเอกซ์

การชนของอิเล็กตรอนตั้งต้น จะเข้าไปชนอิเล็กตรอนภายในวงให้หลุดออกไปจากอะตอม จึงเกิดสภาวะที่ถูกกระตุ้น คือ ไม่เสถียรจึงมีความพยายามทำให้เกิดการเสถียร โดยการที่อิเล็กตรอนในระดับชั้นพลังงานวงนอกจะเข้าไปแทนที่ โดยกระโดดลงไปแทนที่ช่องว่างที่อิเล็กตรอนวงในหลุดออกไป แล้วทำให้เกิดการปลดปล่อยพลังงานส่วนเกินออกมาในรูของรังสีเอกซ์ (X-ray photon) ซึ่งมีพลังงานเท่ากับความแตกต่างของอิเล็กตรอนจากระดับชั้นพลังงานที่เข้า

มาแทนทีกันดังรูป ก. และตัวรับสัญญาณ จะรับรังสีเอกซ์ที่ถูกปลดปล่อยออกมา นับจำนวนและพลังงานที่ปลดปล่อยออกมาแล้วนำเสนอในรูประหว่างระดับพลังงานและจำนวนที่ปลดปล่อยออกมาซึ่ง อิเล็กตรอนในแต่ละชั้นของธาตุต่างๆ ก็มีพลังงานที่แตกต่างกันไป ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวดังนั้น เราสามารถวิเคราะห์ชิ้นงานได้ว่า มีองค์ประกอบของธาตุใดบ้าง และมีปริมาณสัดส่วนเท่าใด

4. การเตรียมสารละลาย phosphate bufferd saline (PBS) pH 7.4 [40]

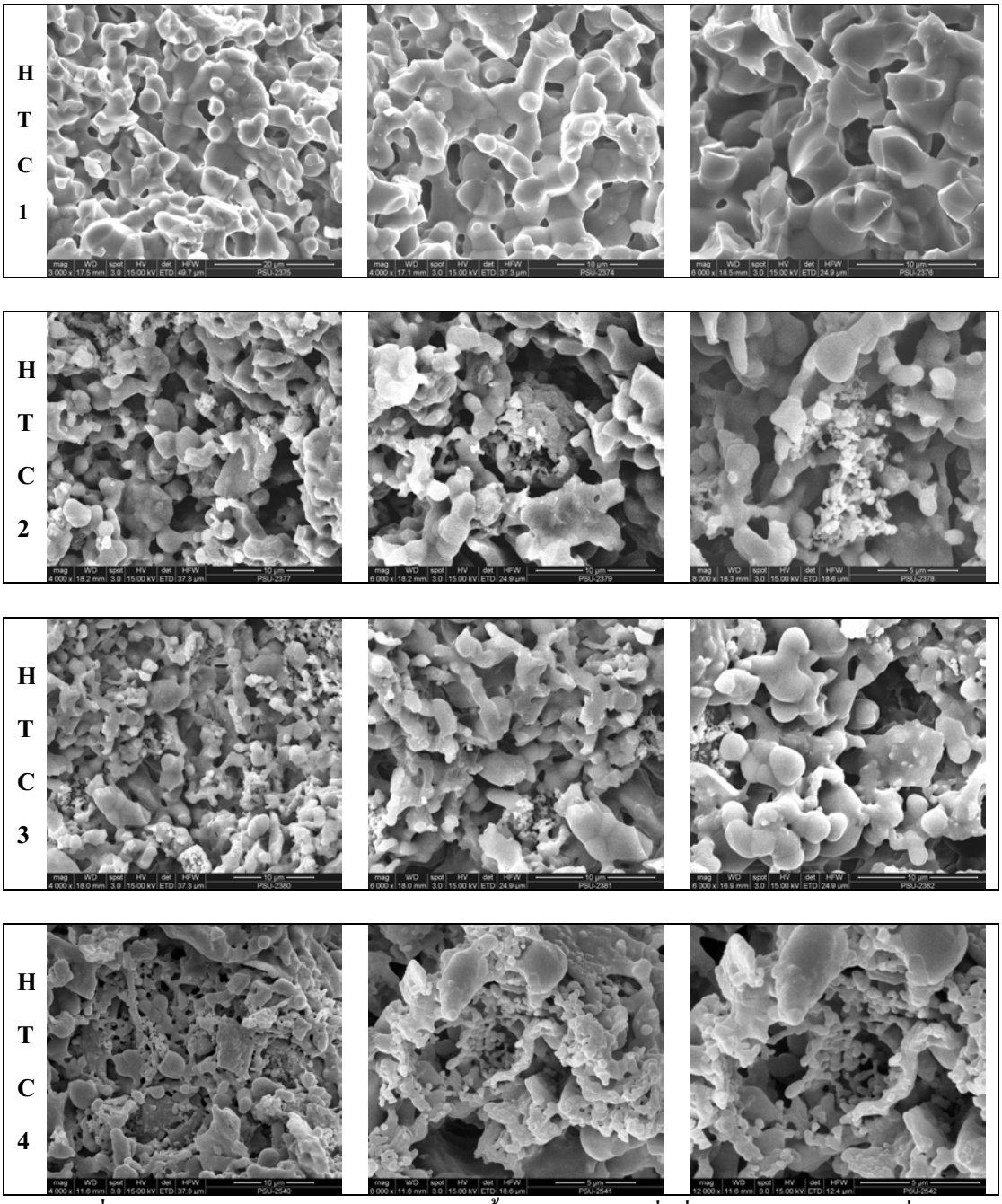
เตรียมสารละลาย PBS pH 7.4 ดังนี้ ชั่งโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 80 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตแอนไฮดรัส (Na_2HPO_4) 14.4 กรัม โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 2 กรัม และโพแทสเซียมฟอสเฟต (KH_2PO_4) 2.4 กรัม ละลายสารทั้งหมดรวมกันด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร และปรับ pH เท่ากับ 7.4

ภาคผนวก ข

ข้อมูลการทดลองและการคำนวณ

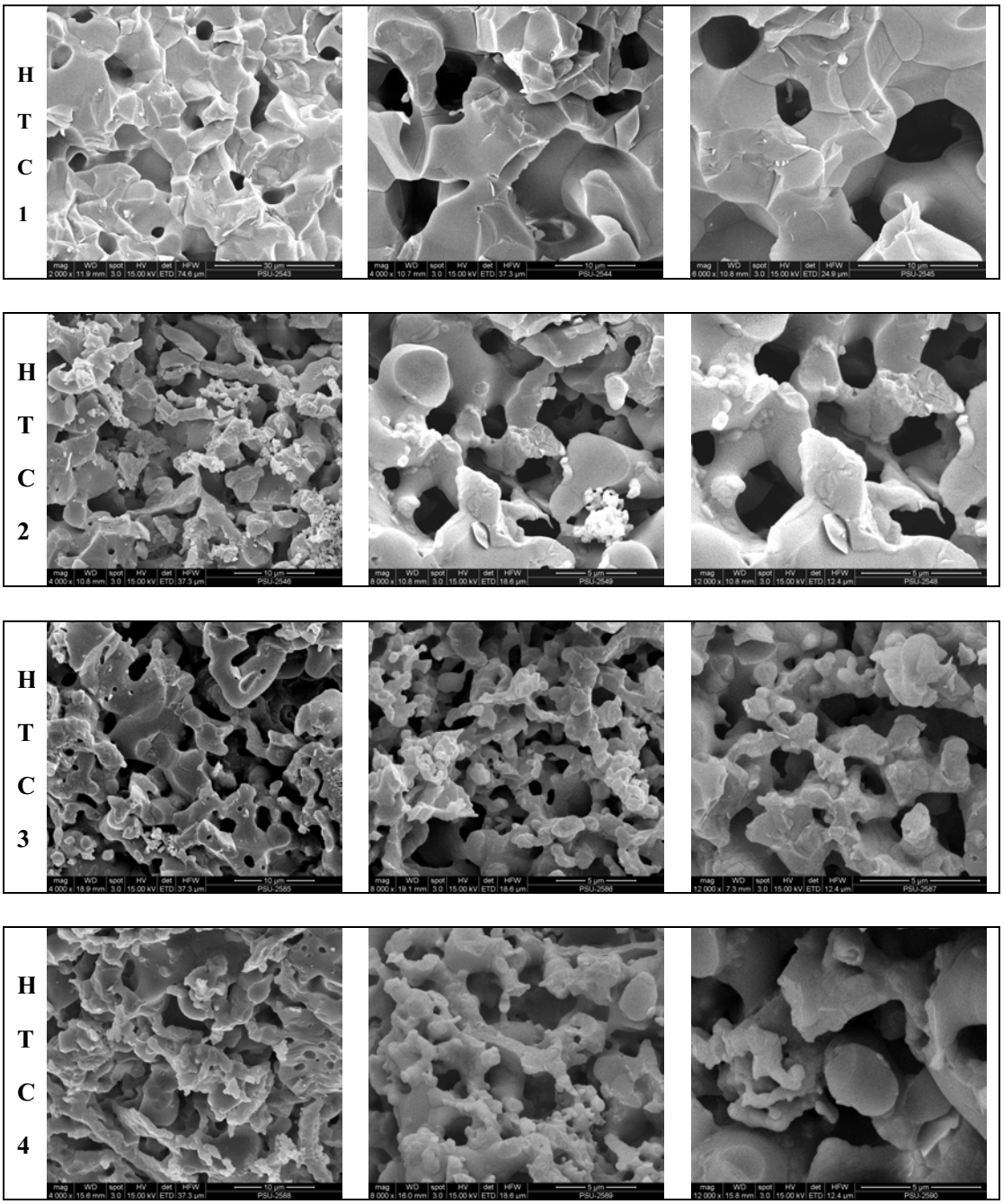
ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM

1. ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง



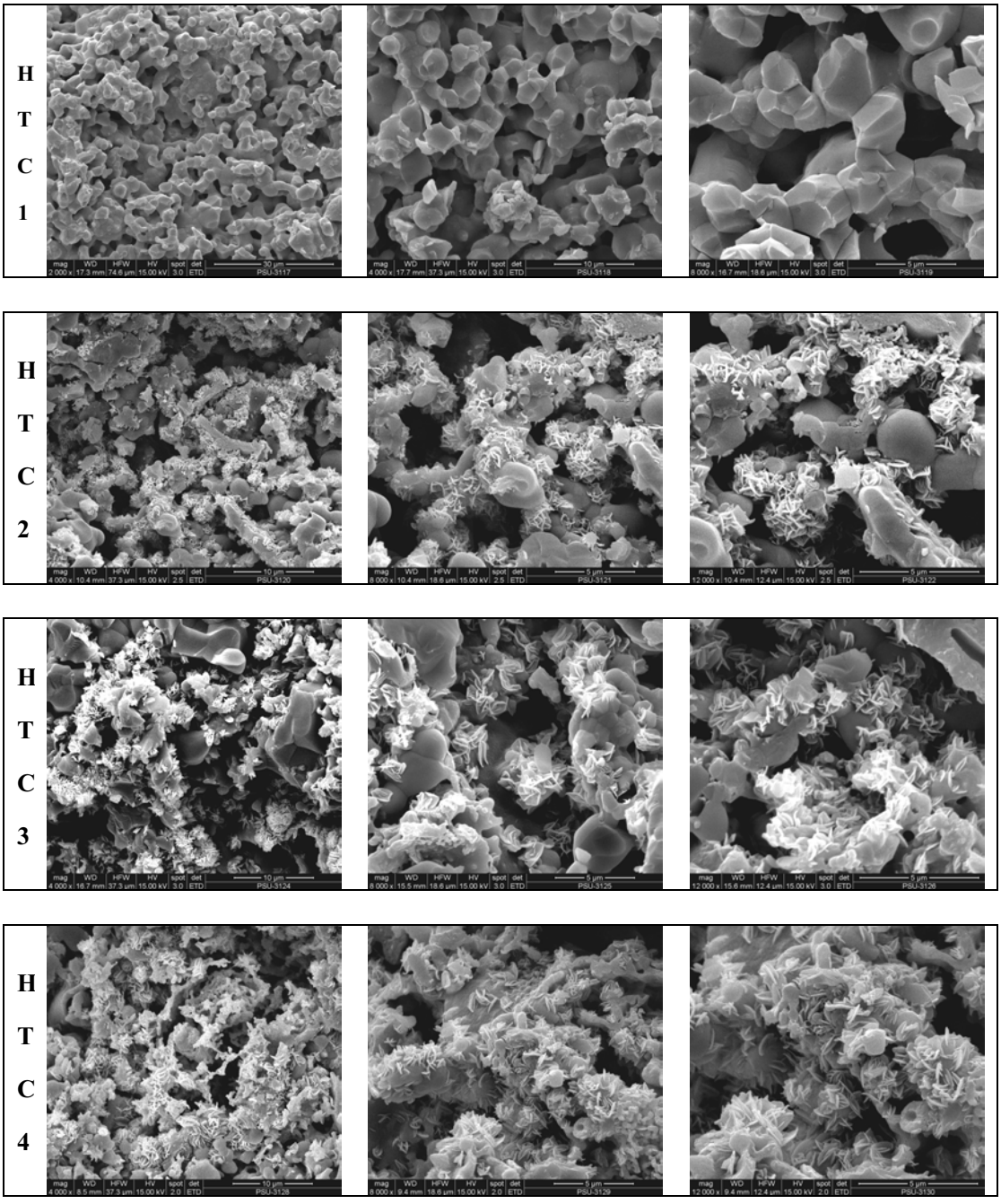
รูปที่ ข.1 ผลการวิเคราะห์ SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

2. ลักษณะทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง



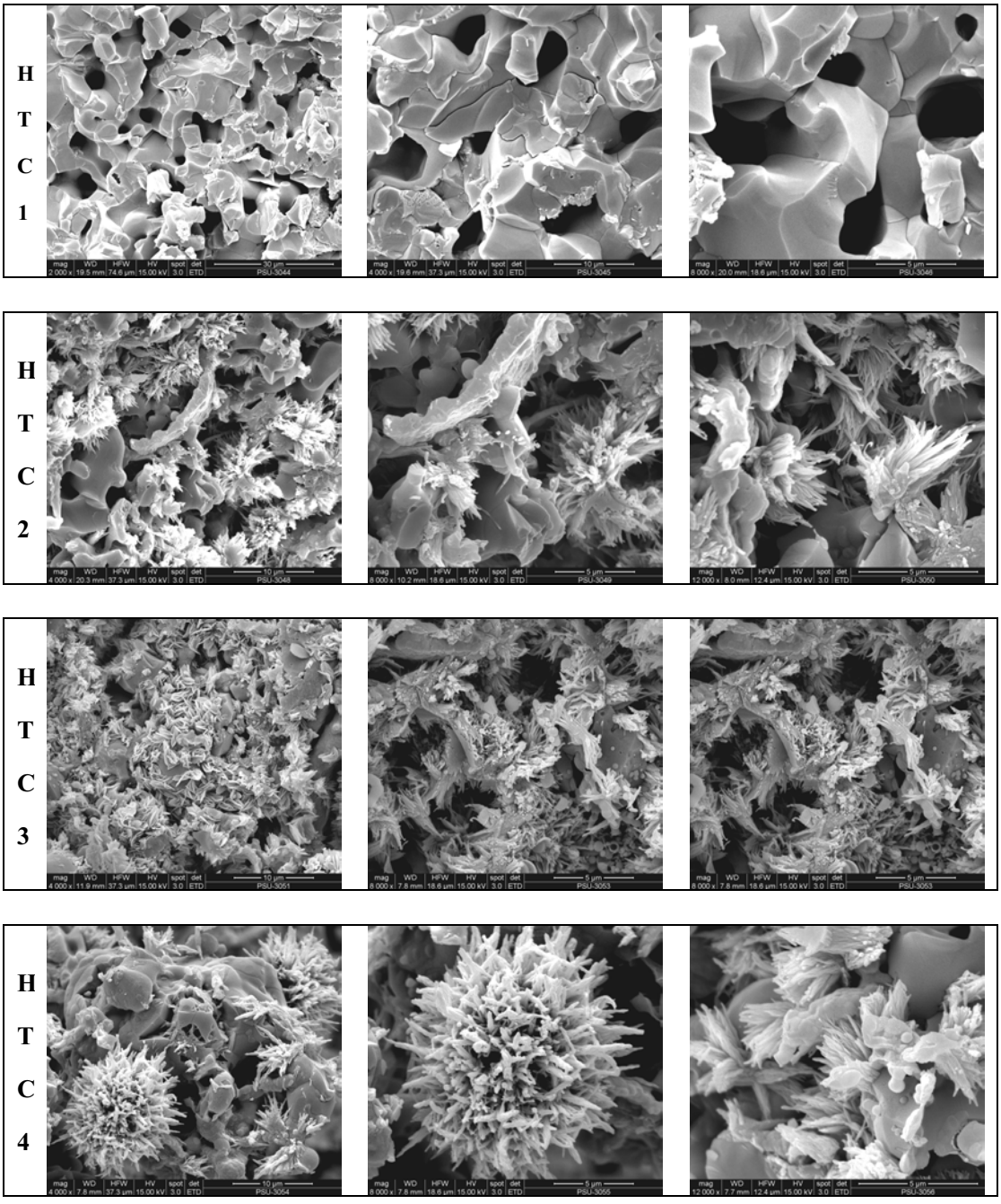
รูปที่ ข.2 ผลการวิเคราะห์ SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3. โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังการแช่สารละลาย PBS เป็นเวลา 2 สัปดาห์



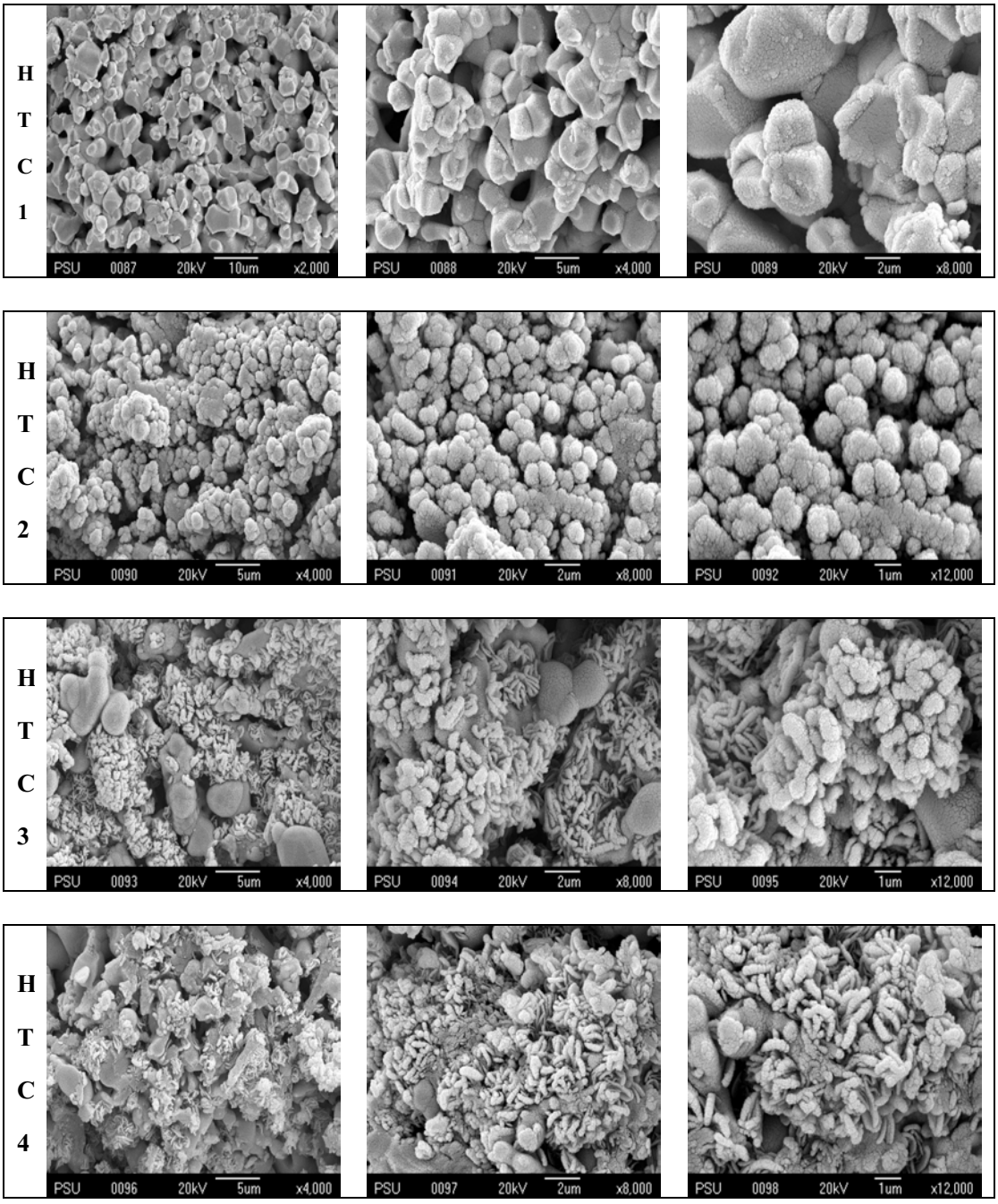
รูปที่ ข.3 ผลการวิเคราะห์ SEM หลังแช่ในสารละลาย PBS 2 สัปดาห์ ของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

4. โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังการแช่สารละลาย PBS เป็นเวลา 2 สัปดาห์



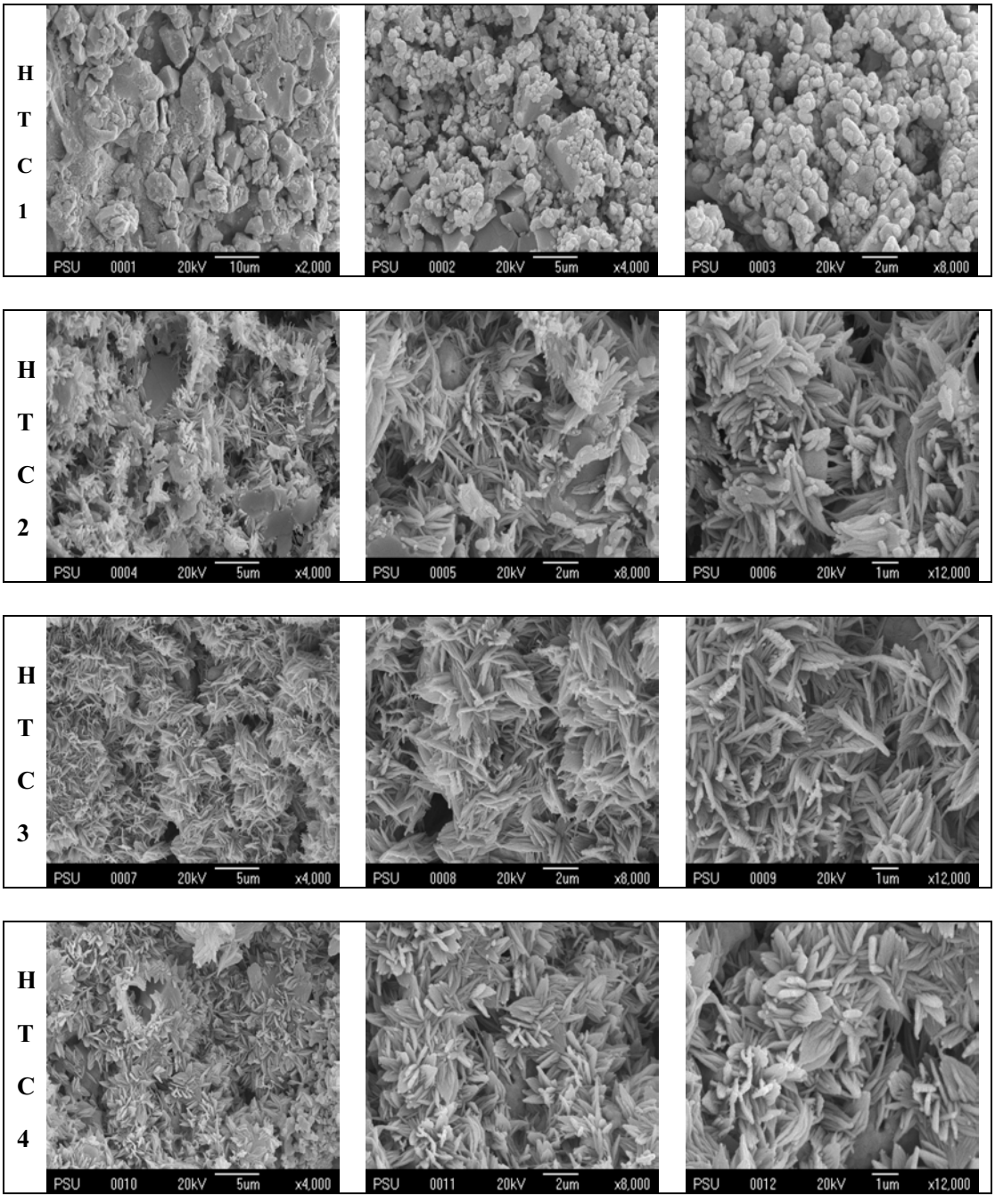
รูปที่ ข.4 ผลการวิเคราะห์ SEM หลังแช่ในสารละลาย PBS 2 สัปดาห์ ของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

5. โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังการแช่สารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์



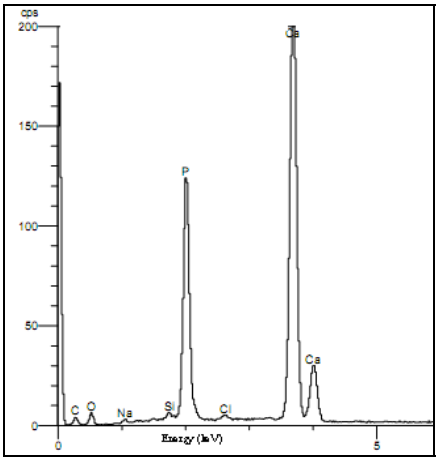
รูปที่ ข.5 ผลการวิเคราะห์ SEM หลังแช่ในสารละลาย PBS 4 สัปดาห์ ของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

6. โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังการแช่สารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์



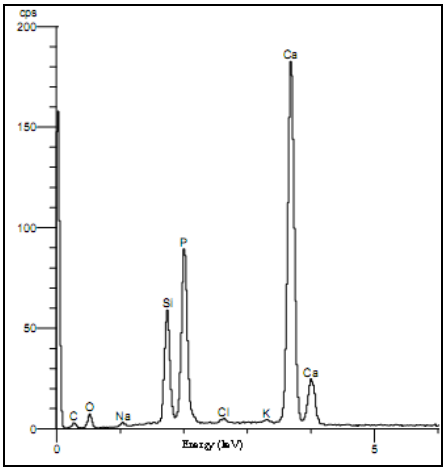
รูปที่ ข.6 ผลการวิเคราะห์ SEM หลังแช่ในสารละลาย PBS 4 สัปดาห์ ของโครงเลี้ยงเซลล์ซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

(A) HTC1, 1150 °C



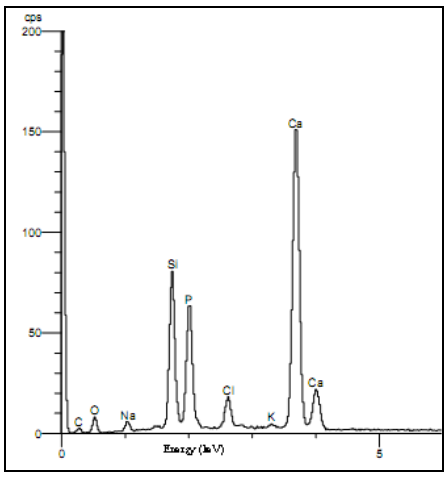
Element	Element %
C	2.479
O	14.388
Si	0.299
P	22.029
Ca	59.146
อื่นๆ	1.659
รวม	**100**

(B) HTC2, 1150 °C



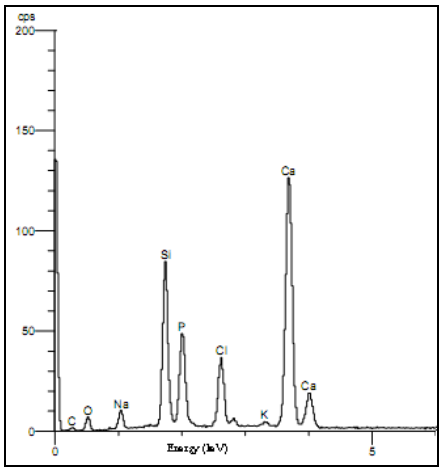
Element	Element %
C	3.108
O	16.63
Si	8.569
P	17.581
Ca	50.95
อื่นๆ	3.162
รวม	**100**

(C) HTC3, 1150 °C



Element	Element %
C	2.918
O	18.898
Si	13.58
P	14.443
Ca	47.49
อื่นๆ	2.671
รวม	**100**

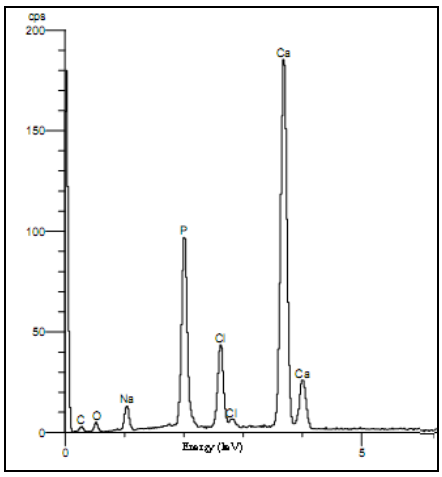
(D) HTC4, 1150 °C



Element	Element %
C	3.678
O	17.616
Si	14.69
P	11.87
Ca	44.083
อื่นๆ	8.063
รวม	**100**

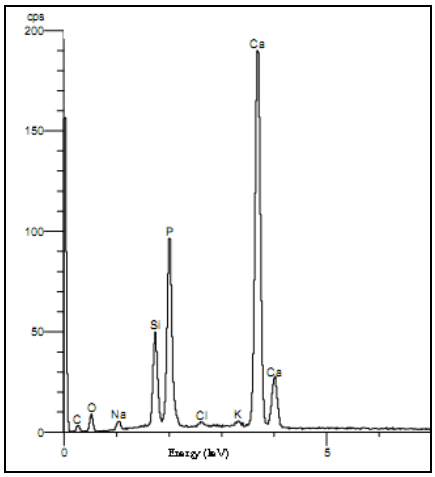
รูปที่ ข.7 ผล EDX ของธาตุองค์ประกอบบนพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์หลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1150 °C) (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ตามลำดับ

(A) HTC1, 1250 °C



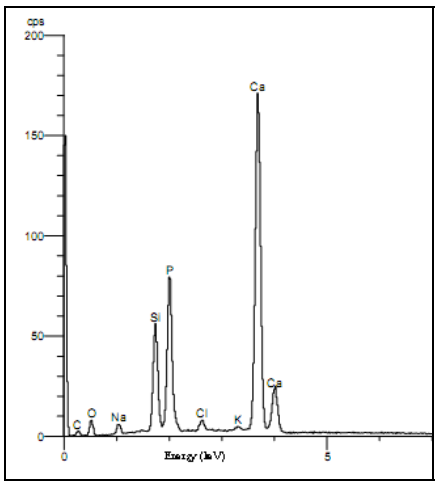
Element	Element %
C	2.988
O	13.168
Si	0
P	18.815
Ca	51.59
อื่นๆ	13.439
รวม	**100**

(B) HTC2, 1250 °C



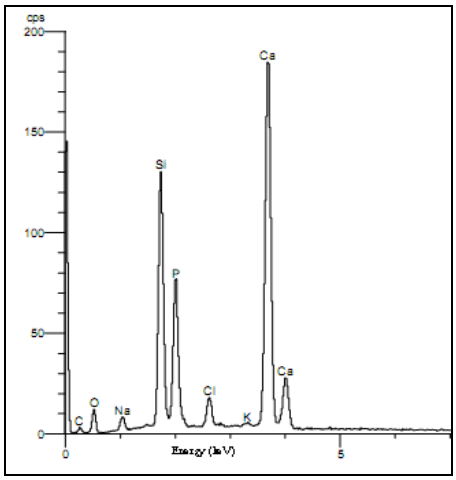
Element	Element %
C	3.282
O	19.167
Si	7.886
P	17.827
Ca	49.591
อื่นๆ	2.247
รวม	**100**

(C) HTC3, 1250 °C



Element	Element %
C	3.608
O	18.668
Si	8.897
P	15.876
Ca	49.056
อื่นๆ	3.895
รวม	**100**

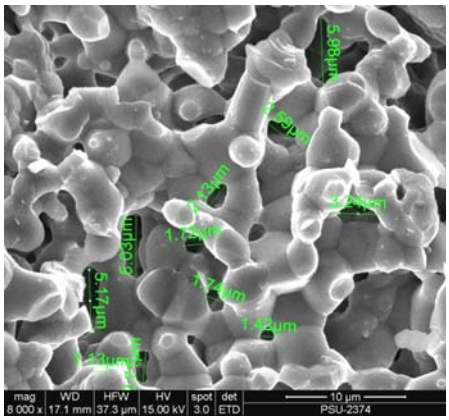
(D) HTC4, 1250 °C



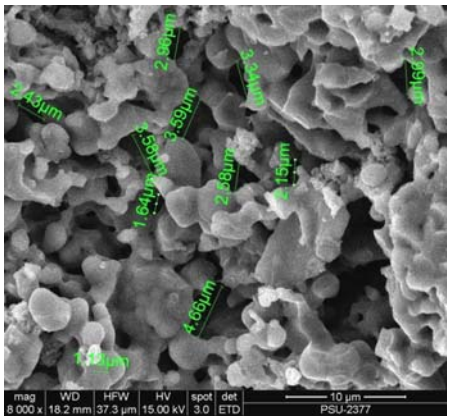
Element	Element %
C	3.579
O	19.452
Si	14.967
P	12.321
Ca	41.064
อื่นๆ	8.617
รวม	**100**

รูปที่ ข.8 ผล EDX ของธาตุองค์ประกอบบนพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์หลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1250 °C) (A) สูตร HTC1, (B) สูตร HTC2, (C) สูตร HTC3 และ (D) สูตร HTC4 ตามลำดับ

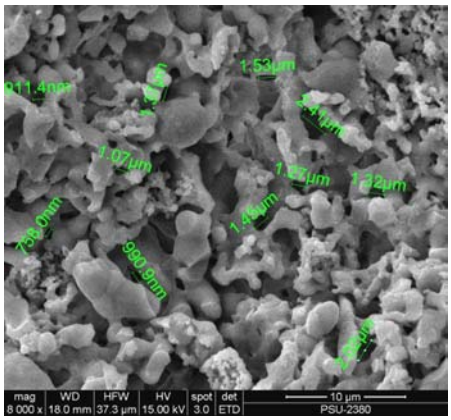
HTC1 1150 °C



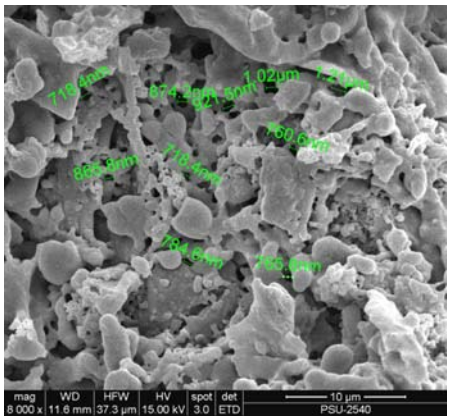
HTC2 1150 °C



HTC3 1150 °C



HTC4 1150 °C

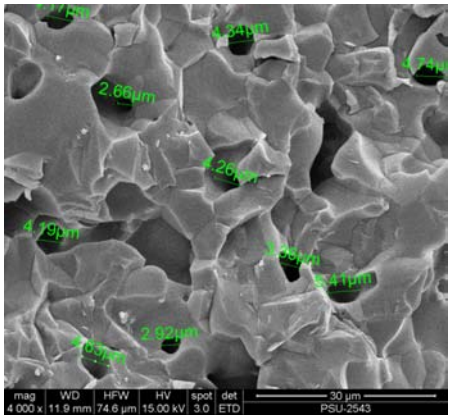


รูปที่ ข.9 ขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน HTC1 HTC2 HTC3 และ HTC4 ซินเทอริ่งที่ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

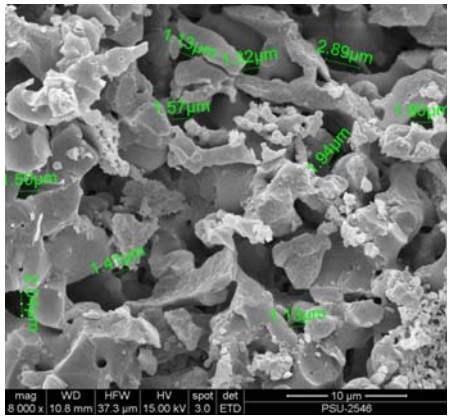
ตารางที่ ข.1 ขนาดรูพรุนในโครงเลี้ยงเซลล์ HTC1, HTC2, HTC3 และ HTC4 ซินเทอริ่งที่ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

สูตร	Pore size (µm)									
HTC1	5.98	2.59	3.24	2.13	1.72	1.74	1.42	5.03	2.7	5.17
HTC2	2.43	2.96	3.59	3.58	1.64	4.66	2.58	3.34	2.15	2.99
HTC3	1.32	2.02	0.99	1.37	1.07	1.45	1.53	2.41	1.27	1.45
HTC4	0.718	0.865	0.718	0.784	0.765	0.76	0.921	0.874	1.02	1.21

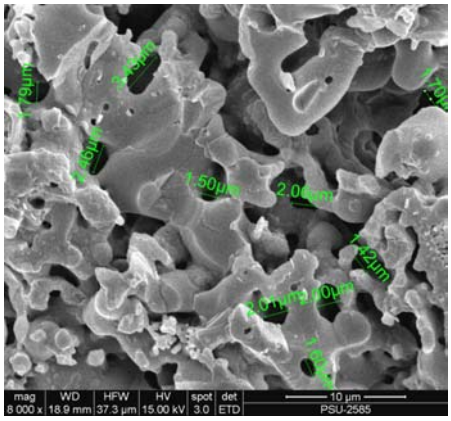
HTC1 1250 °C



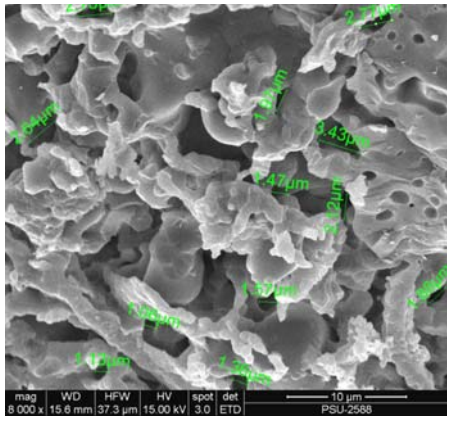
HTC2 1250 °C



HTC3 1250 °C



HTC4 1250 °C



รูปที่ ข.10 ขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นใน HTC1 HTC2 HTC3 และ HTC4 ซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ตารางที่ ข.2 ขนาดรูพรุนในโครงเลี้ยงเซลล์ HTC1, HTC2, HTC3 และ HTC4 ซินเทอริ่งที่ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

สูตร	Pore size (µm)									
HTC1	4.17	2.66	4.34	4.74	4.26	3.36	5.41	4.19	2.92	4.63
HTC2	1.13	1.57	1.32	2.89	1.94	1.9	1.13	1.41	1.5	2.04
HTC3	1.79	2.46	3.43	1.5	2.06	2.01	1.6	2	1.42	1.7
HTC4	2.1	2.64	1.97	2.77	3.43	1.47	1.13	1.06	1.36	1.57

2. ข้อมูลการทดสอบเชิงกล

2.1 การทดสอบแรงอัด (compression test)

1) สูตรการคำนวณ

Compressive stress (σ) = F/A ; MPa, N/mm^2 (1)

Compressive strain (ε) = $\Delta L/L_0$ (2)

Young's modulus (E) = σ/ε ; MPa, N/mm^2 (3)

เมื่อ F = แรงสูงสุดที่ใช้กดชิ้นงานแตกหรือเสียรูป (N)

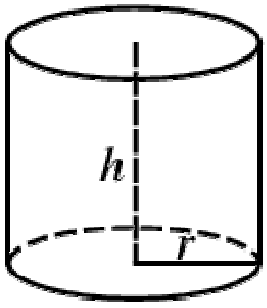
A = พื้นที่หน้าตัดของชิ้นงาน (mm^2)

ΔL = ระยะหดตัวของชิ้นงานเมื่อได้รับแรงกระทำ (mm)

L_0 = ความยาวเริ่มต้นของชิ้นงาน (mm)

2) Test Specimen (ASTM C 773-88)

ทรงกระบอกตัน เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.0 cm. สูง 1.6 cm.



r = 0.5 cm.

h = 1.6 cm.

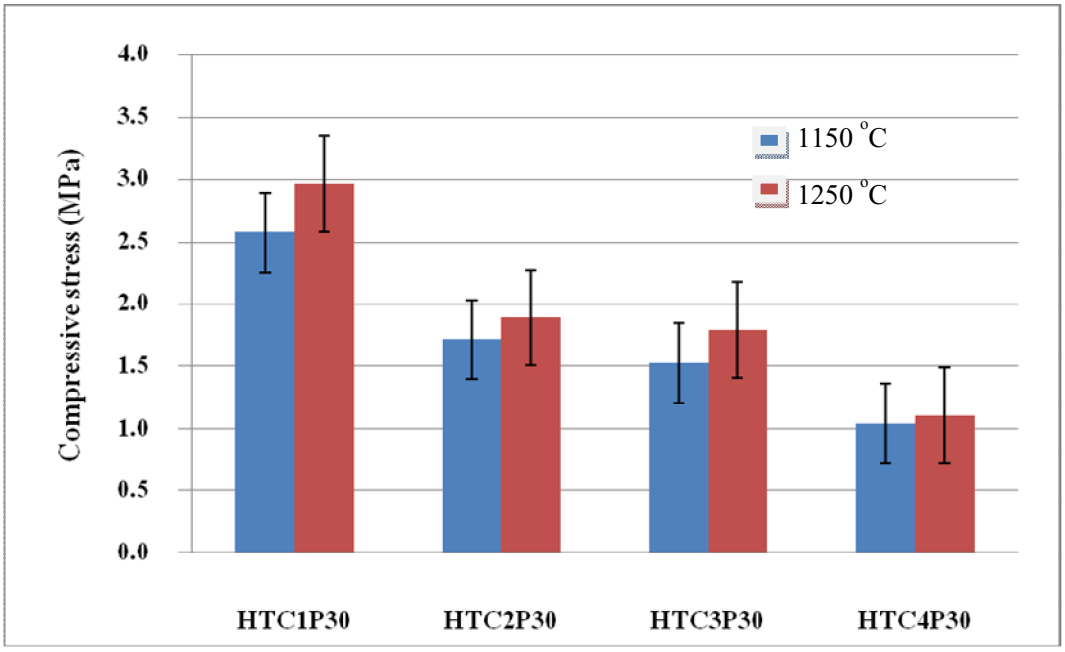
รูปที่ ข.11 ขนาดของ Test Specimen

3) เงื่อนไขการทดสอบ

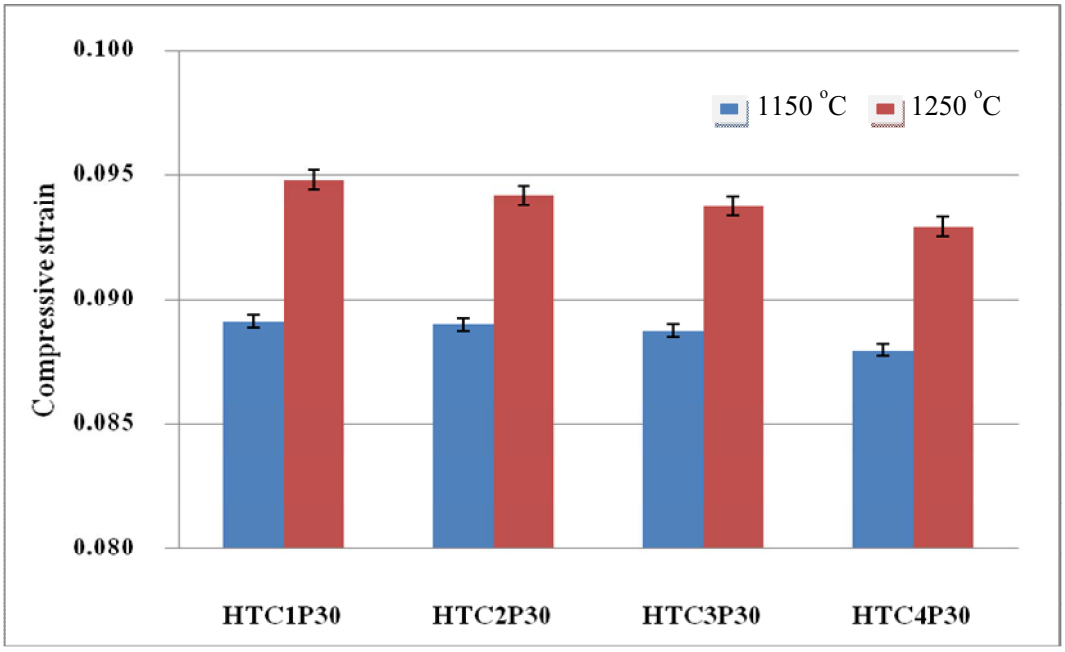
แรงกด 1 N ความเร็วในการอัด 13 mm/min.

ตารางที่ ข.3 ค่าแรงอัด (compression test) ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยพอลิคาโปรแลคโตน 30 % wt

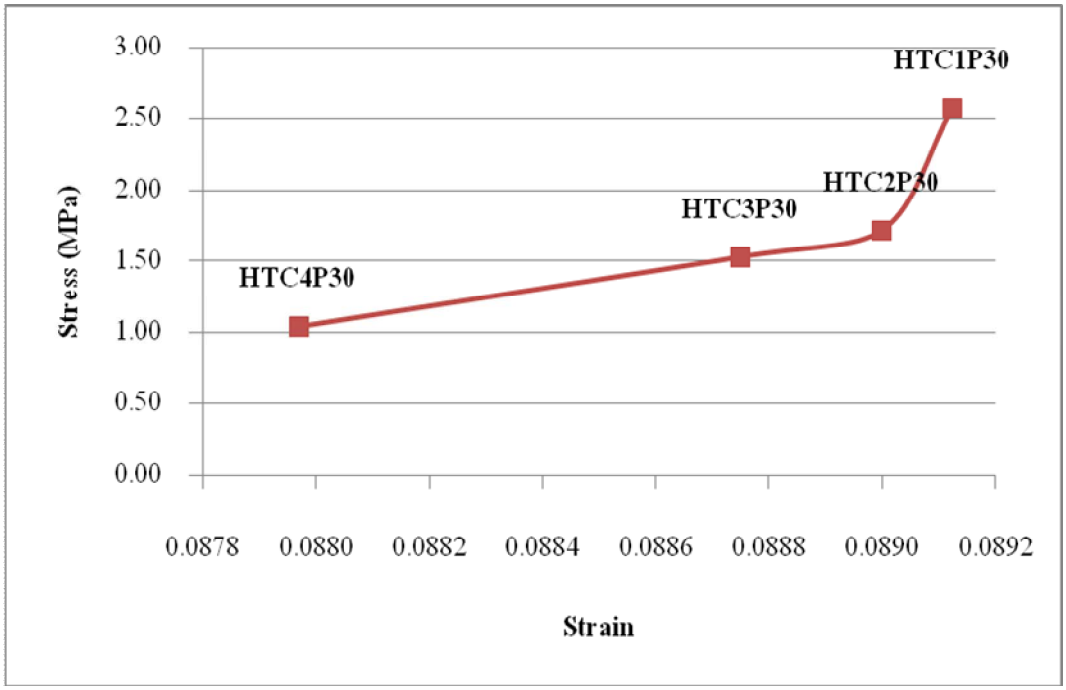
สูตร	1150 °C					1250 °C				
	F(N)	ΔL (mm)	Stress (MPa)	strain	E (MPa)	F(N)	ΔL (mm)	Stress (MPa)	strain	E (MPa)
HTC1P30	40.28	1.42	2.56	0.0887	28.90	51.23	1.51	3.26	0.0944	34.54
	41.98	1.43	2.67	0.0894	29.87	43.13	1.53	2.74	0.0956	28.70
	39.25	1.43	2.50	0.0893	27.99	45.47	1.51	2.89	0.0944	30.66
HTC2P30	27.65	1.42	1.76	0.0890	19.78	31.98	1.50	2.03	0.0938	21.71
	27.17	1.42	1.73	0.0889	19.45	27.54	1.51	1.75	0.0944	18.57
	26.16	1.43	1.66	0.0892	18.67	29.64	1.51	1.89	0.0944	19.99
HTC3P30	24.41	1.42	1.55	0.0886	17.53	28.63	1.50	1.82	0.0938	19.43
	22.42	1.42	1.43	0.0888	16.07	28.64	1.50	1.82	0.0938	19.44
	25.38	1.42	1.62	0.0889	18.17	27.37	1.50	1.74	0.0938	18.58
HTC4P30	16.83	1.40	1.07	0.0875	12.25	17.51	1.48	1.11	0.0925	12.04
	16.13	1.41	1.03	0.0881	11.65	17.18	1.50	1.09	0.0938	11.66
	16.28	1.41	1.04	0.0883	11.73	17.38	1.48	1.11	0.0925	11.96



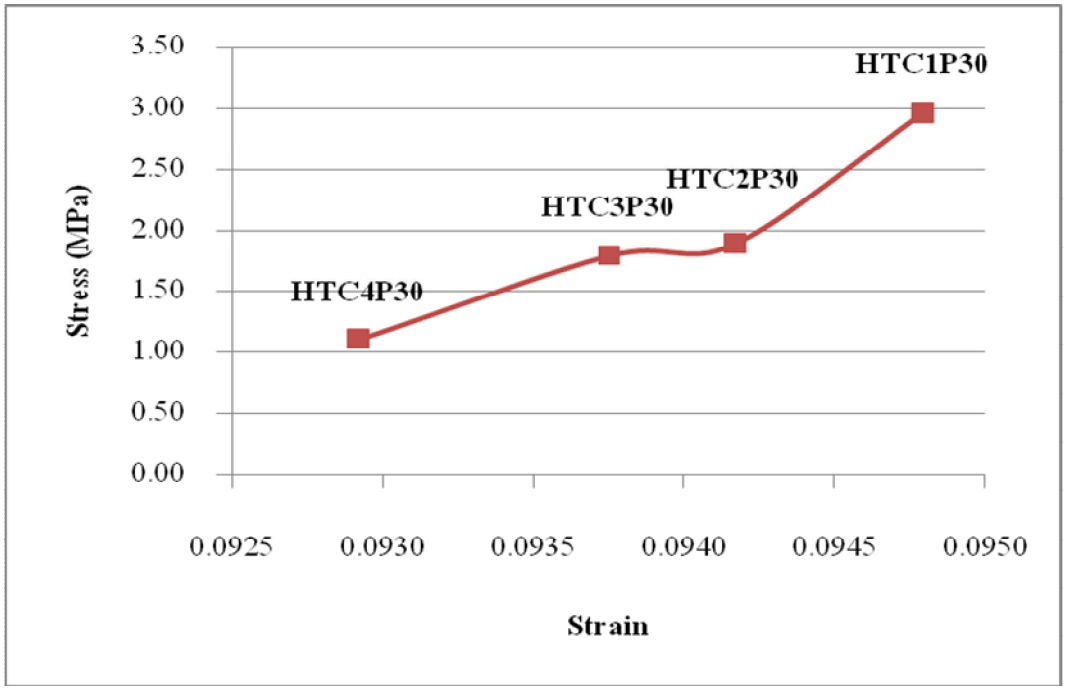
รูปที่ ข.12 ค่า Compressive Stress (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 30 %wt



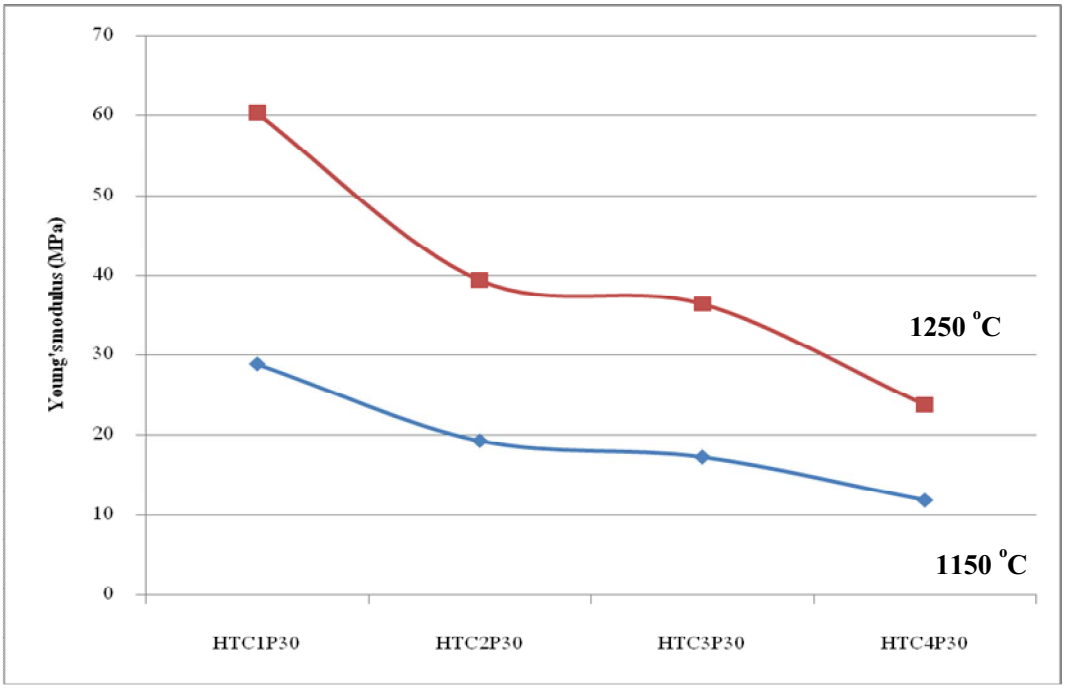
รูปที่ ข.13 ค่า Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 30 %wt



รูปที่ ข.14 ค่า Compressive Stress (MPa) และ Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1150 °C เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 30 %wt



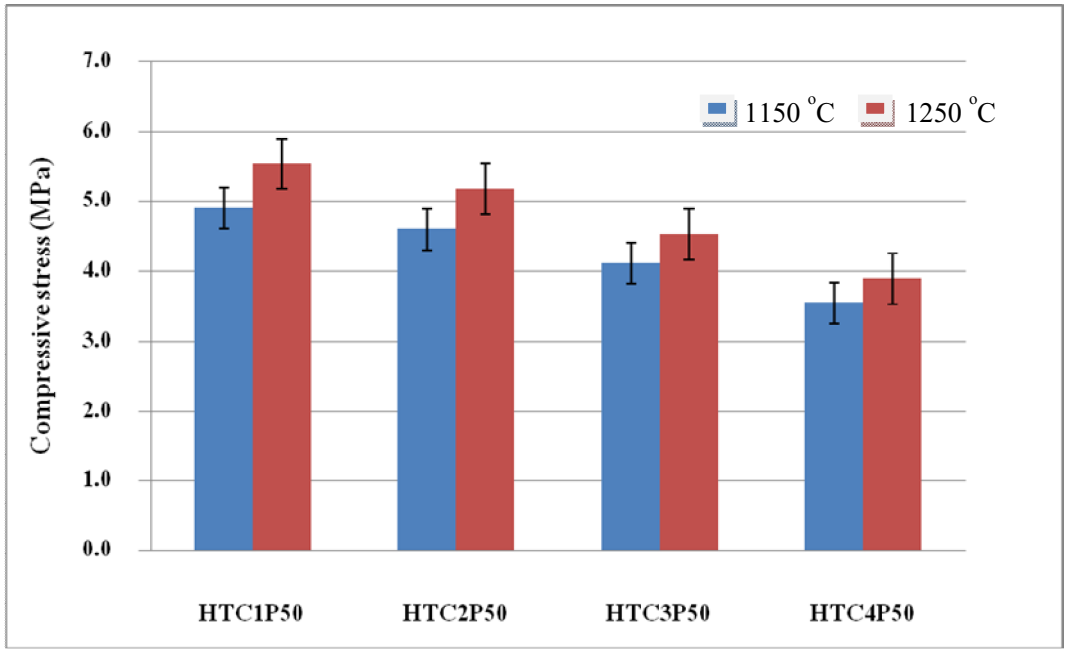
รูปที่ ข.15 ค่า Compressive Stress (MPa) และ Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1250 °C เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 30 %wt



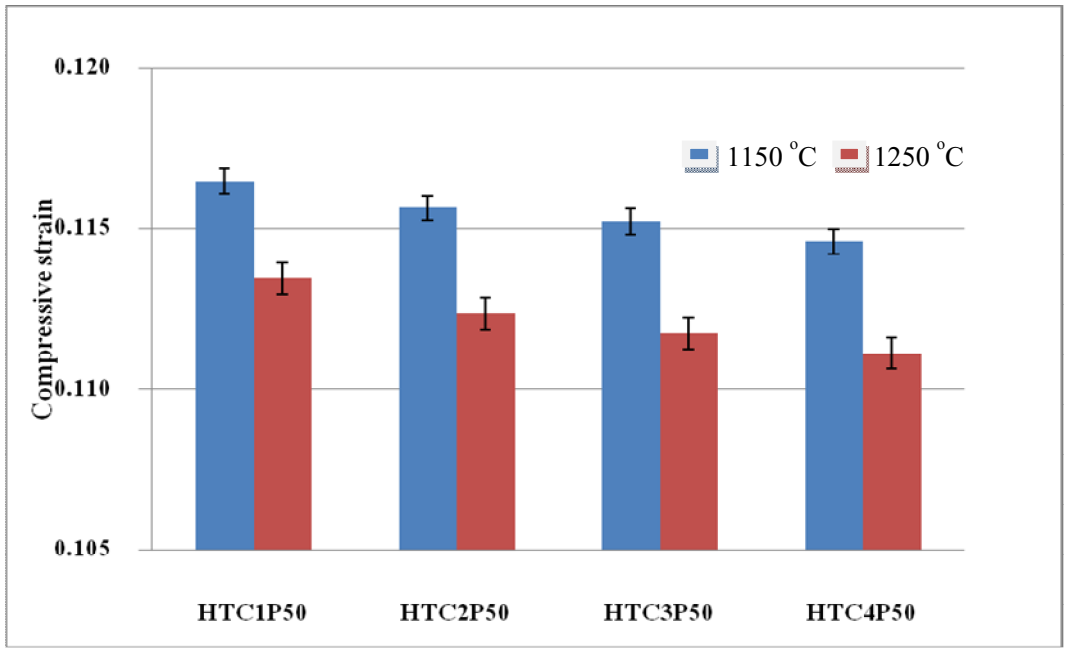
รูปที่ ข.16 ค่า Young's Modulus (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 30 %wt

ตารางที่ ข.4 ค่าแรงอัด (compression test) ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยพอลิคาโปรแลคโตน 50 %wt

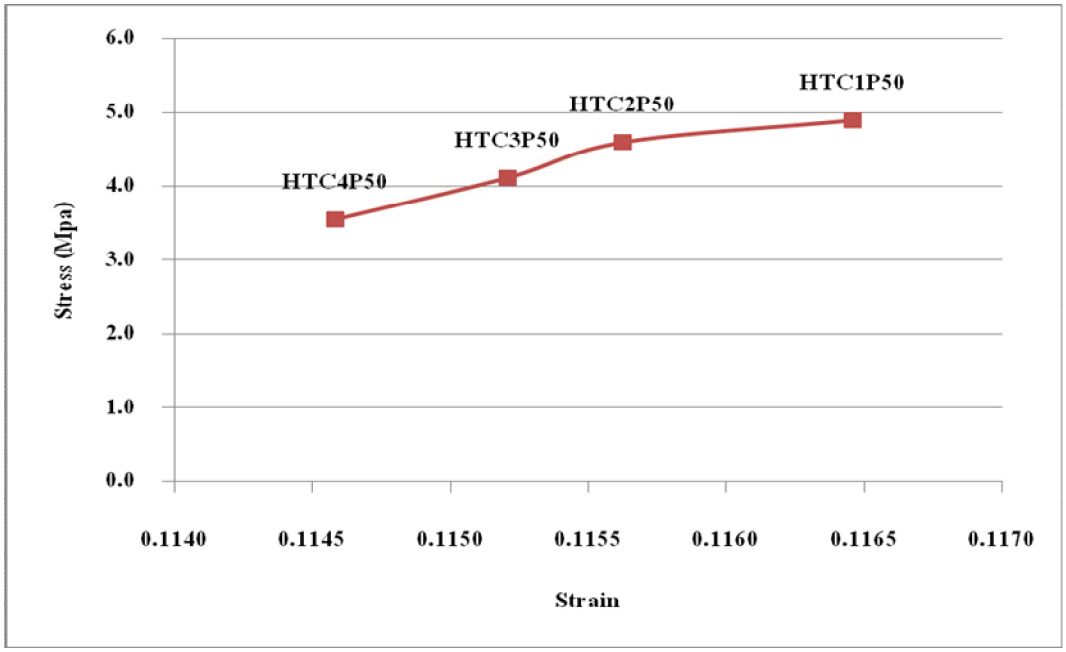
สูตร	1150 °C					1250 °C				
	F(N)	ΔL (mm)	Stress (MPa)	strain	E (MPa)	F(N)	ΔL (mm)	Stress (MPa)	strain	E (MPa)
HTC1P50	75.32	1.87	4.79	0.117	41.01	84.01	1.81	5.35	0.113	47.31
	76.64	1.86	4.88	0.116	41.95	88.80	1.82	5.65	0.114	49.72
	79.01	1.86	5.03	0.116	43.25	88.25	1.82	5.62	0.114	49.40
HTC2P50	74.27	1.85	4.73	0.116	40.87	82.60	1.80	5.26	0.112	46.75
	71.95	1.85	4.58	0.116	39.60	80.14	1.80	5.10	0.112	45.34
	70.63	1.85	4.49	0.116	38.87	81.31	1.79	5.17	0.112	46.14
HTC3P50	67.87	1.85	4.32	0.116	37.36	69.98	1.78	4.45	0.111	40.03
	62.32	1.84	3.97	0.115	34.48	69.07	1.79	4.40	0.112	39.31
	63.94	1.84	4.07	0.115	35.38	74.23	1.79	4.72	0.112	42.13
HTC4P50	57.63	1.83	3.67	0.114	32.06	62.50	1.79	3.98	0.112	35.55
	57.98	1.84	3.69	0.115	32.08	61.56	1.78	3.92	0.111	35.14
	51.66	1.83	3.29	0.114	28.74	59.65	1.76	3.80	0.110	34.51



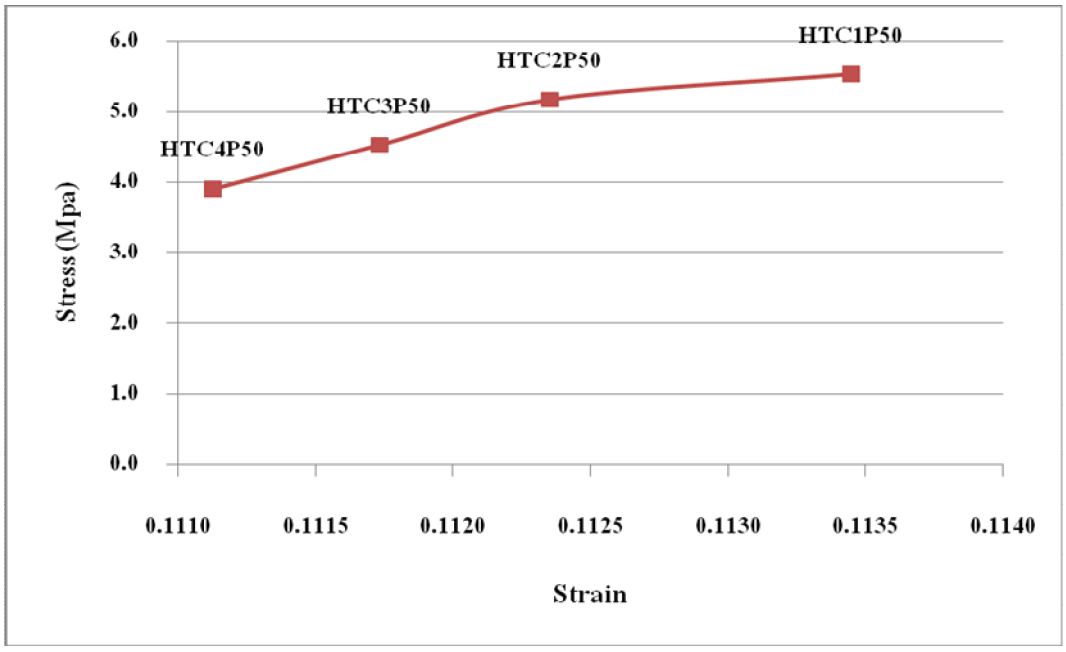
รูปที่ ข.17 ค่า Compressive Stress (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 50 %wt



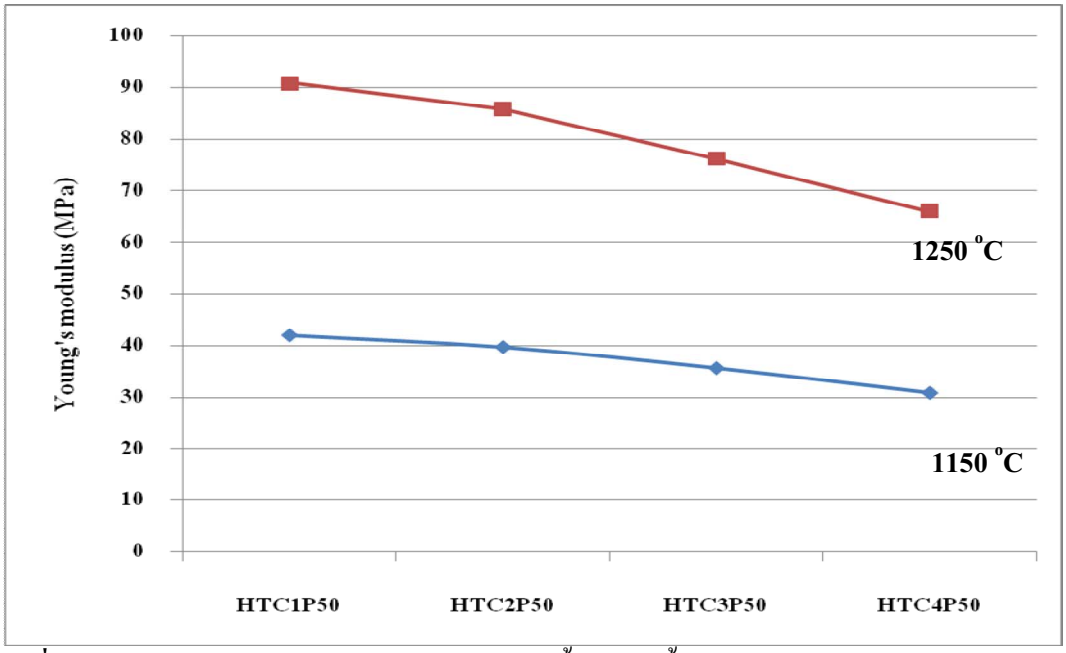
รูปที่ ข.18 ค่า Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 50 %wt



รูปที่ ข.19 ค่า Compressive Stress (MPa) และ Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1150 °C เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 50 %wt



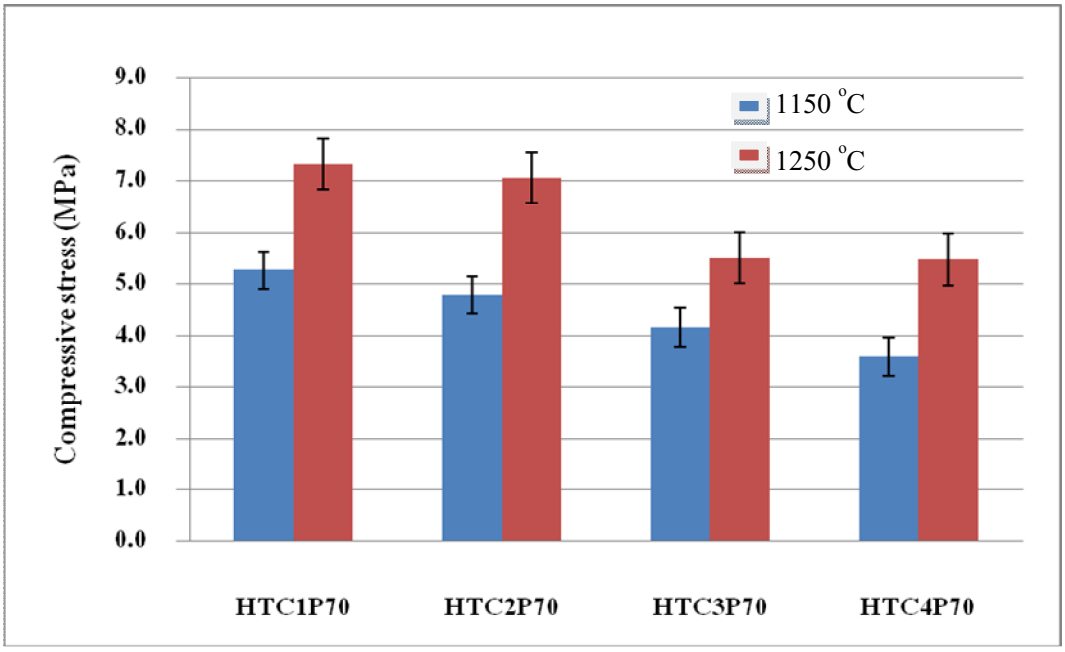
รูปที่ ข.20 ค่า Compressive Stress (MPa) และ Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1250 °C เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 50 %wt



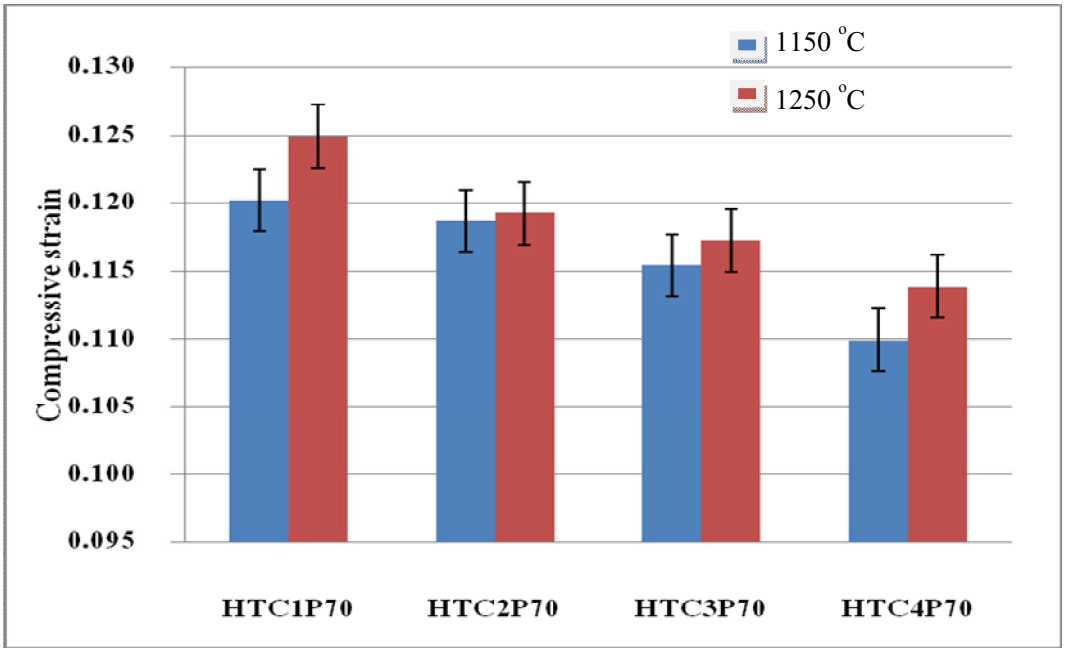
รูปที่ ข.21 ค่า Young's Modulus (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 50 %wt

ตารางที่ ข.5 ค่าแรงอัด (compression test) ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยพอลิคาโปรแลคโตน 70 % wt

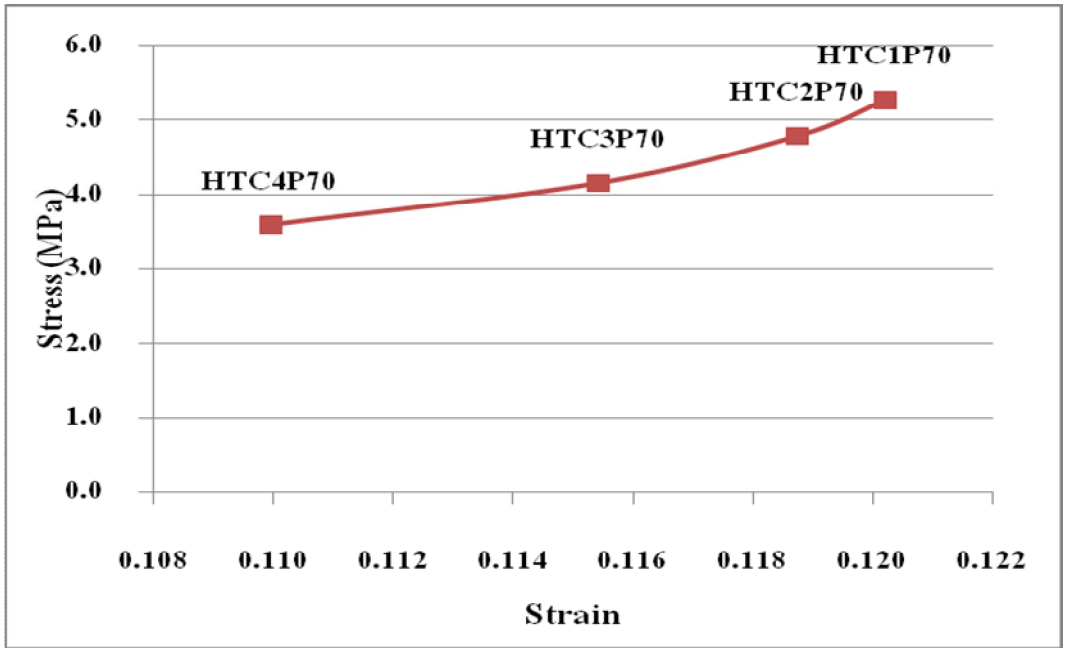
สูตร	1150 °C					1250 °C				
	F(N)	ΔL (mm)	Stress (MPa)	strain	E (MPa)	F(N)	ΔL (mm)	Stress (MPa)	strain	E (MPa)
HTC1P70	83.23	1.90	5.30	0.12	44.60	110.72	2.07	7.05	0.129	54.57
	84.39	1.96	5.37	0.12	43.84	115.67	1.98	7.36	0.124	59.48
	80.62	1.91	5.13	0.12	42.98	118.60	1.95	7.55	0.122	61.93
HTC2P70	72.53	1.90	4.62	0.12	38.87	110.77	1.93	7.05	0.120	58.59
	76.66	1.90	4.88	0.12	41.08	110.34	1.90	7.02	0.119	59.01
	76.23	1.90	4.85	0.12	40.87	111.47	1.90	7.09	0.118	59.89
HTC3P70	66.56	1.89	4.24	0.12	35.86	81.78	1.88	5.20	0.118	44.19
	64.26	1.85	4.09	0.12	35.37	86.05	1.89	5.48	0.118	46.36
	64.87	1.80	4.13	0.11	36.70	91.28	1.85	5.81	0.116	50.12
HTC4P70	56.17	1.81	3.57	0.11	31.68	84.43	1.78	5.37	0.112	48.19
	57.66	1.74	3.67	0.11	33.80	87.88	1.83	5.59	0.114	48.92
	55.19	1.74	3.51	0.11	32.39	85.50	1.85	5.44	0.116	46.98



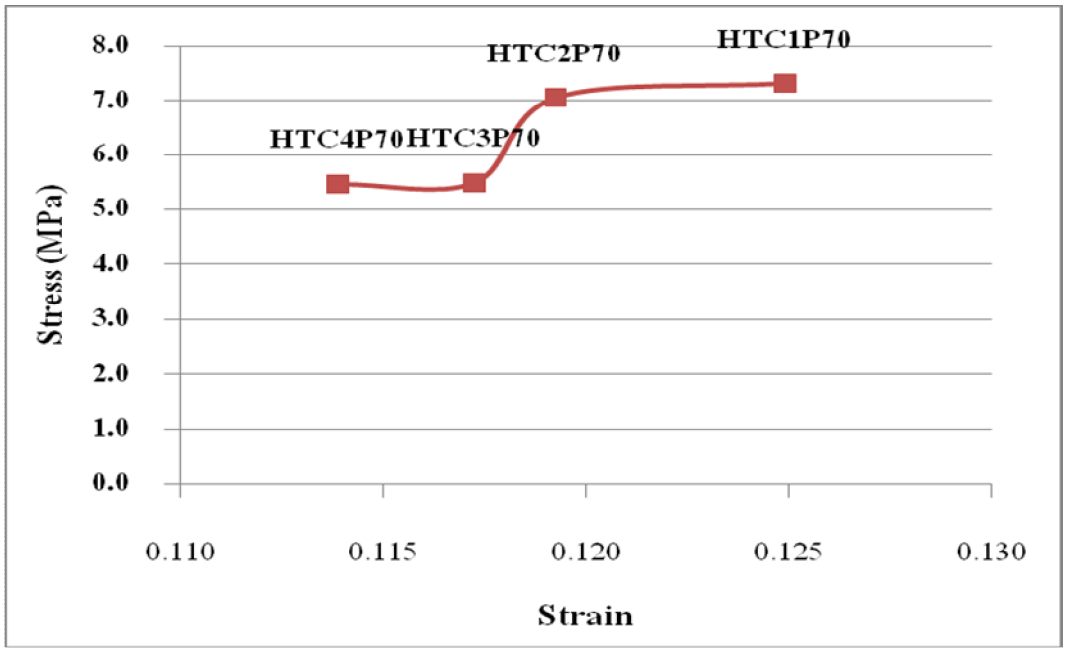
รูปที่ ข.22 ค่า Compressive Stress (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 70 %wt



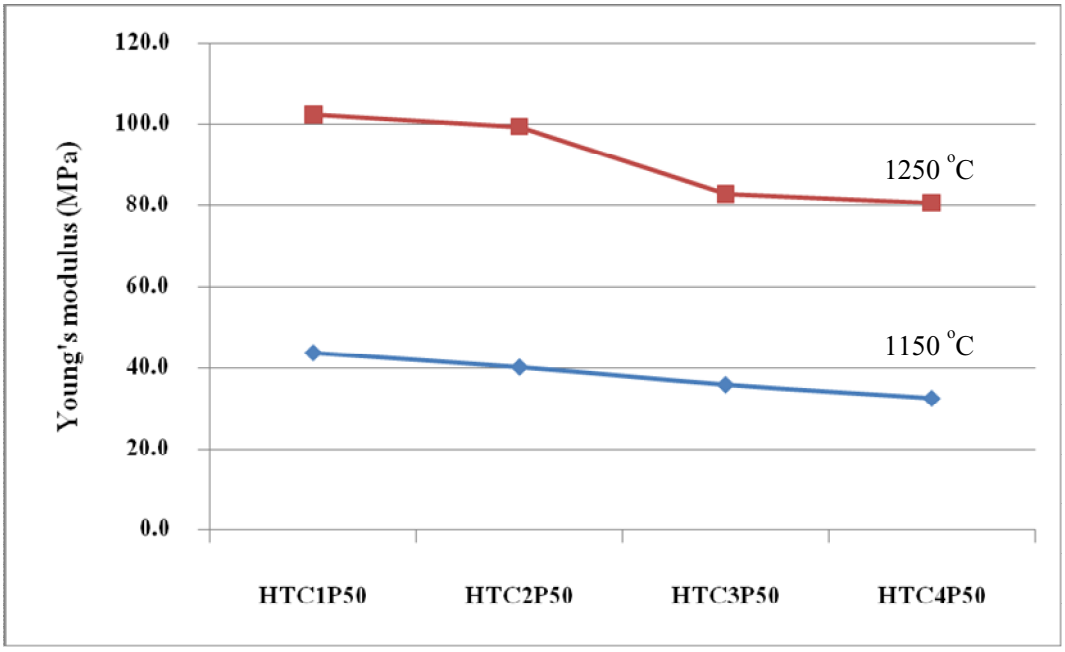
รูปที่ ข.23 ค่า Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 70 %wt



รูปที่ ข.24 ค่า Compressive Stress (MPa) และ Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1150 °C เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 70 %wt



รูปที่ ข.25 ค่า Compressive Stress (MPa) และ Compressive Strain ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในซินเทอริ่งที่ 1250 °C เคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 70 %wt



รูปที่ ข.26 ค่า Young's Modulus (MPa) ของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 70 %wt

3. ผลการทดสอบมุมสัมผัส

ตารางที่ ข.6 ค่ามุมสัมผัสของโครงเลี้ยงเซลล์ชั้นในเคลือบด้วยสารเคลือบพอลิเมอร์ที่มี PCL 30, 50 และ 70 %wt

%PCL	Contact Angle (°)			Avg. Contact Angle (°)
	1	2	3	
30	70.7	72.1	71.5	71.43
50	75.4	78.3	77.1	76.93
70	76.8	79.9	79.1	78.60

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นายสนธยา หนูเกื้อ

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5210120098

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต (วิศวกรรมเคมี)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2549

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนสาขาความเป็นเลิศด้านวิศวกรรมเคมี (Discipline of Excellence on Chemical Engineering, DOE) ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์