บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไทเทเนียม เป็นวัสดุทางการแพทย์ที่ใช้อย่างแพร่หลาย ทั้งในงานศัลยกรรมกระดูกออร์โธปิดิกส์ (Orthopaedics) งานศัลยกรรมช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล งานทันตกรรมประดิษฐ์และงานทันตกรรมรากเทียม (Dental Implant) เนื่องจากคุณสมบัติที่สำคัญของไทเทเนียมที่ ทำให้ได้รับการยอมรับ และเหมาะสมที่จะใช้เป็นวัสดุทดแทนทางการแพทย์ (Biomaterial) คือ มีความเข้ากันกับเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต (Biocompatibility) ทั้งกับกระดูกและเนื้อเยื่อรอบข้างรวมทั้งมีความทนทานต่อการใช้งาน มีความแข็งแรงสูง น้ำหนักเบาและทนต่อการกัดกร่อนจากของเหลวชีวภาพในร่างกาย (1,2,3,4) ดังนั้นจึงมีการนำเอาไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์มาใช้อย่างมากมายในทางทันตกรรม สำหรับในงานศัลยกรรมช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล ไทเทเนียมถูกนำมาใช้แพร่หลายมาก ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการรักษา การบูรณะและฟื้นฟูสภาพในส่วนของกระดูกขากรรไกรและใบหน้า

นับตั้งแต่ Branemark และ คณะ (5) ได้ค้นพบปรากฏการณ์ Osseointegration เมื่อประมาณ 40 ปีที่แล้ว ได้มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับวัสดุชีวภาพต่าง ๆ ที่พยายามออกแบบลักษณะพื้นผิวของวัสดุการแพทย์ เพื่อให้เกิดการยึดอยู่อย่างยาวนานของวัสดุการแพทย์หรือรากเทียม เพราะคุณสมบัติพื้นผิวของรากเทียมทั้งในส่วนประกอบ (Surface composition) พลังงานที่พื้นผิว (Surface energy) รวมทั้งความขรุขระของพื้นผิว (Surface roughness) ล้วนแต่มีความเกี่ยวข้องกัน (6) และมีอิทธิพลต่อการเกิดกระดูก (Bone formation) รอบ ๆ รากเทียม

ความขรุขระของพื้นผิว (Surface roughness: Ra) ของไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์ ที่สัมผัสกับเนื้อเยื่อ เช่น กระดูก พบเป็นปัจจัยหนึ่งที่ได้รับการยอมรับว่ามีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของพฤติกรรมของเซลล์กระดูกที่อยู่รอบ ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การยึดเกาะ (Adhesion) การเพิ่มจำนวน (Proliferation) และการเปลี่ยนแปลงเซลล์ (Differentiation) เพื่อทำหน้าที่ เช่น เกิดการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์ (Extracellular Matrix) และเกิดการสะสมของแร่ธาตุตามมา (7,8,9,10,11,12) นอกจากนี้ยังพบว่า ความขรุขระของพื้นผิวมีผลต่อการเกิด bone contact และ bone formation ในสัตว์ทดลองด้วย (8) จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า ลักษณะของพื้นผิวของไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์ เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อเซลล์ที่ยังมีความขัดแย้งกัน เช่น

รายงานของ Rosa และ Beloti (13) ในปี 2003 พบว่า การเปลี่ยนแปลงความขรุขระของพื้นผิวไทเทเนียมไม่มีผลต่อเซลล์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ขณะที่การศึกษาของ Deligianni และคณะ (14) ในปี 2001 พบว่า อัตราการเจริญและการยึดเกาะของเซลล์ที่นำมาจากไขกระดูกมนุษย์จะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อผิวของไทเทเนียม อัลลอยด์ (Ti6Al4V) มีความขรุขระเพิ่มขึ้นซึ่งตรงกับการศึกษาของ Degasne และคณะ (15) ในปี 1999 ซึ่งศึกษาใน Human osteoblast-like cells พบว่า ความขรุขระของผิวไทเทเนียมแปรผันตามการยึดเกาะ การแพร่กระจายและการเจริญของเซลล์

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาใน Macrophage cell line โดย Takebe และคณะ (16) ซึ่งพบว่า พื้นผิวของไทเทเนียม ที่มีความขรุขระสูงกว่า เซลล์จะสามารถยึดเกาะแพร่กระจายและแสดงออกของ BMP-2 ได้มากกว่าเช่นกัน ส่วนการศึกษาของ Lange และคณะ ใน MG63 osteoblast cells พบว่า ระดับของ Integrin expression แปรผันตามความขรุขระของพื้นผิวไทเทเนียมด้วย (17)

จากการศึกษาเกี่ยวกับผลของความขรุขระ (Ra) ของพื้นผิวไทเทเนียมที่กล่าวมาข้างต้นส่วนใหญ่ จะพบว่า การเพิ่มความขรุขระมีผลต่อการเพิ่มการยึดเกาะของเซลล์ แต่ค่าของความขรุขระ (Ra) ที่ใช้ในการทดลองมีอยู่หลากหลายและยังไม่มีข้อมูลในการทดลองใดที่บอกค่าความขรุขระที่ดีที่สุดได้สำหรับพื้นผิวของไทเทเนียมหรือรากเทียมแต่ละชนิด เคยมีรายงานการศึกษาของ Albrektsson และ Wennerberg ในปี 2004 (18) ที่พบว่า ค่าความขรุขระของพื้นผิวรากเทียมในช่วง 1 – 2 μm ให้ผลการตอบสนองของเซลล์ดีกว่า ค่าความขรุขระที่มากกว่าหรือน้อยกว่านี้ การทดลองเกี่ยวกับการตอบสนองของเซลล์ที่ผ่านมาส่วนใหญ่จะศึกษาในช่วงค่าความขรุขระของพื้นผิว 1 – 2 μm หรือ มากกว่า ส่วนในช่วงความขรุขระของพื้นผิวที่ต่ำกว่า ยังไม่มีผู้ศึกษามากนัก ดังนั้นในการทดลองนี้ จึงทำการทดลองโดยศึกษาถึงอิทธิพลของความขรุขระของพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ ที่มีค่าความขรุขระในช่วงที่ต่ำกว่าค่าดังกล่าว โดยจะศึกษาการตอบสนองของเซลล์ Osteoblast-like cells ในแง่ของรูปร่าง พฤติกรรมการยึดเกาะ การแพร่กระจาย โดยเลือกที่จะเปรียบเทียบความแตกต่างของความขรุขระของพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ที่ขัดด้วยกระดาษทรายเบอร์ต่าง ๆ และพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์จากการทำ Sandblast ซึ่งจะช่วยเพิ่มความเข้าใจต่อการตอบสนองของเซลล์ รวมทั้งเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำไปพัฒนาในการเลือกใช้ไทเทเนียมอัลลอยด์ สภาพพื้นผิวต่าง ๆ ในการรักษาทางทันตกรรมต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาอิทธิพลของพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ที่มีความขรุขระของพื้นผิวแบบต่าง ๆ ต่อการตอบสนองของเซลล์กระดูก (Osteoblast-like cells) ในแง่ของรูปร่าง พฤติกรรมการยึดเกาะ การแพร่กระจาย ในระยะต่าง ๆ ของการยึดเกาะ (Stage of Attachment)

1.3 สมมติฐานของงานวิจัย

H_0 : ไม่มีความแตกต่างกันของรูปร่าง พฤติกรรมการยึดเกาะ การแพร่กระจาย ในระยะต่าง ๆ ของการยึดเกาะ (Stage of Attachment) ของเซลล์กระดูก (Osteoblast-like cells) บนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ที่มีความขรุขระของพื้นผิวแตกต่างกัน

H_1 : มีความแตกต่างกันของรูปร่าง พฤติกรรมการยึดเกาะ การแพร่กระจาย ในระยะต่าง ๆ ของการยึดเกาะ (Stage of Attachment) ของเซลล์กระดูก (Osteoblast-like cells) บนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ที่มีความขรุขระของพื้นผิวแตกต่างกัน

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

1.ทำให้ทราบถึงรูปร่าง จำนวนและพฤติกรรมของเซลล์กระดูก (Osteoblast-like cells) ในระยะต่าง ๆ ของการยึดเกาะ (Stage of Attachment) บนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ที่มีความขรุขระของพื้นผิวแตกต่างกัน

2.ทำให้ทราบถึงอิทธิพลของพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ที่มีความขรุขระของพื้นผิวแตกต่างกันต่อพฤติกรรมของเซลล์กระดูก (Osteoblast-like cells)

3.เป็นแนวทางในการศึกษาค้นคว้าวิจัยต่อไป

1.5 วิธีดำเนินการวิจัย

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ เซลล์ไลน์ของกระดูกชนิด SaOS2 และชิ้น

โลหะไทเทเนียมอัลลอยด์รูปทรงกลมที่มีการเตรียมพื้นผิวที่มีความขรุขระแตกต่างกัน จำนวน 4 แบบ คือ 1.พื้นผิวเรียบ ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide เบอร์ 1200 2.พื้นผิวหยาบ ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide เบอร์ 400 3.พื้นผิวหยาบขัดด้วยกระดาษ silicon carbide เบอร์ 120 และ 4.พื้นผิวที่เป็น Sandblast ที่พ่นด้วยผง Al_2O_3 ขนาด 50 ไมครอน ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยตรวจลักษณะของพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์แต่ละชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน Scanning Electron Microscope (SEM) และวัดค่าความขรุขระของพื้นผิว (Surface roughness : Ra) ด้วยเครื่อง Profilometer ศึกษารูปร่าง พฤติกรรมการยึดเกาะ และการแพร่กระจายของเซลล์ไลน์กระดูกบนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ที่มีความขรุขระแตกต่างกันด้วยวิธี Scanning Electron Microscope (SEM) และเปรียบเทียบ Cell Attachment และ Proliferation ด้วยการวัดค่า DNA Assay วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS for Window Version 11.5 โดยใช้ค่าเฉลี่ย ร้อยละ และสถิติ Analysis of Variance (ANOVA) ระดับนัยสำคัญ .05

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย