

## บทที่ 5

### อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของพื้นผิวไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์ที่มีผลต่อพฤติกรรมของเซลล์กระดูกรอบ ๆ นั้นว่ามีความเกี่ยวข้องกับการใช้งานของไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์ในทางคลินิก มีการศึกษาอยู่หลาย ๆ รายงานที่อธิบายถึงอิทธิพลของพื้นผิวไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์ที่มีผลต่อการตอบสนองของเซลล์ (55-60)

กลไกสำคัญประการหนึ่งที่มีผลต่อความสำเร็จของการใช้งานของรากเทียม (Dental Implant) คือ การเกิดกระดูกรอบ ๆ รากเทียม (Bone formation) ซึ่งประกอบด้วยขบวนการต่าง ๆ ตั้งแต่เซลล์มีการยึดเกาะ (Cell attachment) การเจริญ (Proliferation) และการดิฟเฟอเรนทิเอท (Differentiation) จนเกิดการสร้างแร่ธาตุตามมา (Bone matrix) (61-63)

สำหรับพฤติกรรมการยึดเกาะและการแพร่กระจายของเซลล์กระดูกรอบ ๆ ไทเทเนียมนั้น มีรายงานการศึกษาที่กล่าวถึงการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Morphology) ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุต่าง ๆ เช่น Osteoblast-like cells (50) และ Fibroblast (52) ซึ่งพบว่า การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่ยึดเกาะสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ระยะ (Stage of attachment) ตามลักษณะรูปร่างของเซลล์ คือ

1. เซลล์ที่ไม่มีการแพร่กระจาย (not spread) เซลล์จะมีรูปร่างกลม ยังไม่มีส่วนยื่นของเซลล์ (protrusion or filopodia)
2. เซลล์ที่ยึดเกาะบนผิวไทเทเนียมดีแล้วจะมีการแผ่ขยายบางส่วน (partially spread) ตัวเซลล์จะมีส่วนแผ่ขยายออกด้านข้าง 1 ด้านหรือมากกว่า เป็นลักษณะ filopodial growth แต่การแผ่ขยายของพลาสมาเมมเบรน (plasma membrane) จะไม่แผ่ขยายอย่างสมบูรณ์
3. ในระยะท้าย ๆ ตัวเซลล์มีการแผ่ขยายออกไปบางส่วนร่วมกับมีลักษณะ cytoplasmic webbing คือ ลักษณะแผ่ออกคล้ายพังผืดของไซโตพลาสมา
4. เซลล์ที่มีการแผ่ขยายเต็มที่ (fully spread) เซลล์จะมีการขยายขอบเขตของพลาสมาเมมเบรนออกไปรอบ ๆ ด้าน มีลักษณะของพื้นที่ผิวที่ใหญ่กว่าเซลล์ในระยะที่ 1 – 3 อย่างชัดเจนและเซลล์มีลักษณะแบนราบ (flattening) (52)

และในการศึกษาเกี่ยวกับพฤติกรรมของการยึดเกาะของ Osteoblast-like cells บนพื้นผิววัสดุต่าง ๆ (64,65) จะเป็นการศึกษาโดยการตรวจนับจำนวนเซลล์โดยไม่ได้สังเกตรูปร่างของเซลล์ในระยะต่าง ๆ บนพื้นผิวของวัสดุแต่เป็นการแยกเซลล์ที่เกาะยึดออกมาตรวจนับโดยการย่อยด้วยเอนไซม์และตรวจนับเซลล์ ในสารแขวนลอยที่ได้ ทั้งที่ในความเป็นจริงแล้ว ในช่วงเวลาแรกตั้งแต่เซลล์ยึดเกาะบนผิววัสดุ เมื่อทำการตรวจจำนวนเซลล์บนผิววัสดุจริง ๆ จะมีเซลล์ที่มีรูปร่างอยู่หลายระยะ ซึ่งขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของพื้นผิววัสดุนั้น ๆ ว่า เซลล์สามารถมีพฤติกรรมการยึดเกาะและแพร่กระจายได้ดีเพียงใด ส่วนการตรวจนับจำนวนเซลล์ที่ย่อยแยกออกมาแล้วจะได้เพียงจำนวนเซลล์แต่ไม่ได้อ้างอิงถึงรูปร่างของเซลล์ที่เกาะยึด ว่าอยู่ในระยะเดียวกันหรือไม่ ดังนั้นการแปรผลโดยดูจากจำนวนเซลล์ที่นับทางอ้อม คือ ย่อยแยกเซลล์ออกมานับเพียงอย่างเดียวเพื่ออ้างอิงถึงอิทธิพลหรือคุณสมบัติของพื้นผิววัสดุชนิดต่าง ๆ ต่อพฤติกรรมการยึดเกาะของเซลล์จึงมีความไม่สมบูรณ์ของข้อมูล ซึ่งในการศึกษาค้นคว้าวิจัยได้เลือกวิธีตรวจนับจำนวนเซลล์ด้วยการตรวจนับโดยตรงของเซลล์กระดูก Osteoblast-like cells ที่เกาะยึดอยู่บนพื้นผิวของวัสดุไทเทเนียมอัลลอยด์จริง ๆ โดยสังเกตรูปร่างของเซลล์ในระยะต่าง ๆ ด้วย

นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาอื่น ๆ ที่กล่าวถึงอิทธิพลของลักษณะพื้นผิวไทเทเนียม เช่น รายงานการศึกษาของ Gottfredsen และคณะ (66) รายงานว่าพื้นผิวของไทเทเนียมชนิดที่ถูกพ่นด้วย  $TiO_2$  ( $TiO_2$ -Blasted implant) สามารถเพิ่มระดับการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณผิวสัมผัสของรากเทียมกับเนื้อเยื่อ ซึ่งผลการศึกษานี้แสดงว่า ในระยะแรกของการตอบสนองของเซลล์ชนิด Osteoblast-like cells นั้น เซลล์มีการแพร่กระจาย (Spreading) บนพื้นผิวไทเทเนียมที่มีผิวเรียบได้มากกว่าบนพื้นผิวไทเทเนียมชนิด  $TiO_2$ -Blasted แต่ในบางรายงานการศึกษา (67,68) พบว่า การยึดเกาะของเซลล์กระดูกบนพื้นผิวไทเทเนียมแบบ Rough sandblasted มีระดับสูงกว่าการยึดเกาะบนพื้นผิวไทเทเนียมแบบ Rough surface อื่น ๆ ที่ได้จากการขัด (Polishing) การลับ (Grinding) หรือการทำ Acid etching ซึ่งรายงานการศึกษานี้ได้ทำการตรวจวัดร้อยละของจำนวนเซลล์ที่ยึดเกาะที่ระยะเวลา 30 60 และ 120 นาที โดยไม่ได้ตรวจนับจำนวนเซลล์ที่มีรูปร่างของเซลล์เหมือนกัน เช่น ระดับของการแพร่กระจายของเซลล์บนพื้นผิวที่แตกต่างกัน ซึ่งคณะผู้ศึกษารายงานว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของร้อยละของเซลล์ที่ยึดเกาะในช่วงเวลา 5 นาทีแรกและในช่วง 60 – 120 นาทีต่อมา ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้น่าจะมีความไม่สมบูรณ์ มีข้อมูลจากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อื่น ๆ (67,69,70) พบว่าเซลล์ที่แพร่กระจายเต็มที่ จะมีพื้นที่เกาะยึดเป็น 5-10 เท่าของเซลล์ในระยะ 1 หรือ 2 ซึ่งบนพื้นผิวที่เซลล์สามารถแพร่กระจายได้ดี เมื่อเวลาผ่านไปจะไม่มีพื้นที่ผิวว่างเหลือให้เซลล์ใหม่มายึดเกาะได้ แต่ถ้าพื้นผิวใดที่เซลล์ไม่สามารถแพร่กระจายได้ดี เมื่อเวลาผ่านไปก็ยังมีพื้นที่ว่างสำหรับการยึดเกาะของเซลล์ใหม่ได้

รายงานการศึกษาการตรวจนับจำนวนเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิววัสดุต่าง ๆ เหล่านี้ มีทั้งวิธีที่ตรวจนับเซลล์ที่ยึดเกาะจริง ๆ (71,72) และการแยกเซลล์ที่ยึดเกาะออกจากพื้นผิว ก่อนตรวจนับ เช่น การย่อยด้วยเอนไซม์ (17,65)

นอกจากนี้การเพิ่มความขรุขระของพื้นผิวของไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์ โดยการทำให้ blast ด้วยผงของโลหะอื่น จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในส่วนประกอบของพื้นผิว (Surface composition) ซึ่งอาจจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการเข้ากันกับเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต (Biocompatibility) โดยบริเวณชั้นออกไซด์ของโลหะจะมีการดูดซึมของอออนเพิ่มขึ้น เช่นในการทดลองของ Sader และคณะ ในปี 2005 (73) ก็ไม่พบผลเสียของผงอลูมิเนียมที่ใช้เตรียมพื้นผิวของไทเทเนียม โดยการทำให้ blast พื้นผิวด้วยผงอลูมิเนียมออกไซด์ ( $Al_2O_3$ ) ขนาด 65 ไมครอน โดยศึกษาการยึดเกาะและการเจริญของเซลล์ Osteoblast ในห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ในการศึกษาของ Wennerberg และคณะ (74) พบว่า การเพิ่มความขรุขระของพื้นผิวโดยการทำให้ blast พื้นผิวของไทเทเนียมด้วยผงอลูมิเนียมออกไซด์ ( $Al_2O_3$ ) ขนาด 25 และ 75 ไมครอน พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของอออนของอลูมิเนียมบริเวณพื้นผิวของไทเทเนียมอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มไทเทเนียมที่ทำการขัดอย่างเดียว ซึ่งการเพิ่มขึ้นของอออนของอลูมิเนียม ในการทดลองนี้ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงที่เป็นผลเสียของอออนของอลูมิเนียมเพราะว่า ยังพบการเพิ่มขึ้นของกระดูกรอบ ๆ พื้นผิวไทเทเนียมและมีการเพิ่มขึ้นของแรงในการดึงไทเทเนียมออกจากกระดูก (Screw removal torque)

แต่ในการศึกษาของ Johansson และคณะ (75) กลับพบว่า อออนของอลูมิเนียมที่ออกมาจากไทเทเนียมอัลลอยด์ ( $Ti6Al4V$ ) มีผลทำให้แรงในการดึงไทเทเนียมออกจากกระดูกลดลง และมีการลดลงของการสร้างกระดูกรอบ ๆ พื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ สำหรับในการศึกษารั้งนี้ ผลที่ได้พบว่าพฤติกรรมการยึดเกาะและการแพร่กระจายของ Osteoblast-like cells บนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ที่ทำการ blast พื้นผิวด้วยผงอลูมิเนียมออกไซด์ ( $Al_2O_3$ ) ขนาด 50 ไมครอน มีการยึดเกาะและแพร่กระจายของเซลล์ได้ดีและหนาแน่นมาก แสดงให้เห็นว่าไม่พบผลเสียจากการเพิ่มขึ้นของ อออนของอลูมิเนียมต่อการตอบสนองของเซลล์หรือการเพิ่มขึ้นของอออนอลูมิเนียมในการศึกษารั้งนี้อาจจะมีจำนวนไม่มากพอที่จะเป็นอันตรายต่อเซลล์ เหมือนในการศึกษาของ Johansson และคณะ (75)

ความขรุขระของพื้นผิว (Surface roughness) และ Micro-topography มีผลต่อการยึดเกาะของเซลล์ (55) รูปร่างของเซลล์จะขึ้นอยู่กับขนาดของเซลล์ (Dimension) เช่น mesenchymal cells ขนาดความยาวเฉลี่ย 5-12  $\mu m$  นั่นคือ ถ้าขนาดความขรุขระ (Surface roughness) มีค่ามากกว่าความยาวของเซลล์ จะทำให้เซลล์ รับรู้ว่าเป็น Smooth surface สำหรับเซลล์นั้น ๆ คือ เซลล์จะยึดเกาะอยู่ระหว่าง Peaks ของพื้นผิว มีการศึกษาพบว่า Osteoblast-like cells มีการยึดเกาะ

อย่างแข็งแรงในพื้นที่ผิวของไทเทเนียมที่มีขนาดความขรุขระ (Surface roughness) หรือค่าเฉลี่ย Ra 6-7  $\mu\text{m}$  มากกว่าพื้นที่ผิวที่มีขนาดความขรุขระ Ra 0.2  $\mu\text{m}$  (54) สำหรับในการศึกษาครั้งนี้ ค่า Ra ของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิด sandblast ซึ่งมีค่า 0.27  $\mu\text{m}$  พบว่ามีการตอบสนองของเซลล์ดีกว่าไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดอื่น ๆ ที่มีค่า Ra น้อยกว่า และเมื่อเปรียบเทียบการยึดเกาะและแพร่กระจายของเซลล์ SaOs2 บนพื้นที่ผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิด S120 S400 และ S1200 ที่ระยะเวลา 30 นาที หลังการเพาะเซลล์ พบว่า เซลล์มีการยึดเกาะบนพื้นที่ผิวที่มีค่า Ra สูงกว่า

สำหรับรูปร่าง การเรียงตัวและการยึดเกาะของเซลล์กระดูก ยังพบด้วยว่ามีการเปลี่ยนแปลง โดยขึ้นอยู่กับลักษณะของพื้นผิวของไทเทเนียม (gross morphology) (43) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้เซลล์ SaOs2 มีการยึดเกาะ แพร่กระจายได้บนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ทั้ง 4 แบบ และสำหรับรูปร่างของเซลล์ที่ยึดเกาะในการทดลองนี้ไม่พบความแตกต่างของรูปร่างของเซลล์ทั้ง 4 ระยะเวลา บนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ทั้ง 4 แบบ ทั้งนี้เนื่องจาก Pattern ของพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดที่ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide เบอร์ 120 400 และ 1200 มี Pattern เดียวกันและ Uniform คือมีลักษณะเป็นร่องขนานไปในทิศทางเดียวกัน เป็นลักษณะพื้นผิวแบบ Anisotropic ส่วนในพื้นที่ผิวแบบ sandblast ซึ่งมีลักษณะรูปร่างพื้นผิวเป็นแบบ Irregular Pattern ที่เรียกว่า Isotropic นั้น การยึดเกาะของเซลล์บนพื้นผิวเซลล์จะยึดเกาะได้ดีและหนาแน่นมากทำให้ไม่สามารถตรวจนับจำนวนของเซลล์ที่ยึดเกาะได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการสังเกตรูปร่างและพฤติกรรมของการยึดเกาะโดยดู Individual cell ก็ทำได้ยากกว่าเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวอื่น ทั้งนี้ อาจจะเนื่องจากผลของการใช้เวลาเพาะเซลล์ที่นานเกินไปและเทคนิคในการเพาะเซลล์ลงบนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ในการทดลองนี้ โดยการหยดสารแขวนลอยของเซลล์ลงบนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์และทิ้งไว้ระยะเวลาหนึ่งเพื่อให้เซลล์ยึดเกาะก่อนที่จะเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ลงไป ทำให้การยึดเกาะของเซลล์บนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิด sandblast ซึ่งเซลล์มีการตอบสนองและยึดเกาะได้ดีมีจำนวนเซลล์ที่ยึดเกาะมากกว่าพื้นผิวอื่นที่ใช้เวลาเท่ากัน

นอกจากนี้รูปร่างของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ ทั้ง 4 แบบ ในการทดลองนี้ ยังพบด้วยว่าเซลล์ส่วนใหญ่จะอยู่ในระยะที่ 2 และ 3 แสดงว่าเมื่อเซลล์เริ่มมีการยึดเกาะบนพื้นผิวแล้วจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์จากระยะที่ 1 ไปสู่ ระยะที่ 2 และ 3 เร็วมาก แสดงว่าบนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ทุกแบบที่เตรียมได้จากการทดลองครั้งนี้ เซลล์มีการยึดเกาะและแพร่กระจายได้ดี แสดงว่าการเตรียมพื้นผิวด้วยวิธีการที่ใช้ในการทดลองนี้ ไม่พบความแตกต่างของการยึดเกาะของเซลล์ อันเนื่องมาจากอิทธิพลของการเตรียมพื้นผิว

นอกจากนี้การศึกษาปริมาณของ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดต่าง ๆ ยังพบด้วยว่า ที่ระยะเวลา 30 นาที ปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ ที่มีความขรุขระมากกว่าจะมีค่าสูงกว่าปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะ

บนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ ที่มีความขรุขระน้อยกว่า ซึ่งสอดคล้องกับจำนวนเซลล์ที่นับได้ โดยตรงบนพื้นผิว แต่เมื่อเวลาผ่านไป 20 ชั่วโมงกลับไม่พบความแตกต่างของปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิด sandblast S120 และ S400 แสดงว่า เซลล์สามารถยึดเกาะและแพร่กระจายได้ดีบนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ ไม่ว่าจะมีการเตรียมพื้นผิวด้วยวิธีใดเมื่อมีการเพาะเซลล์ในระยะเวลา 20 ชั่วโมง ส่วนการเพาะเซลล์ที่เวลา 30 นาทีนั้น ความแตกต่างของความขรุขระของพื้นผิวมีอิทธิพลต่อการยึดเกาะและแพร่กระจายของเซลล์ โดยเซลล์จะยึดเกาะได้ดีบนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิด sandblast ซึ่งมีความขรุขระมากกว่าพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดอื่น

## 5.2 สรุปผลการวิจัย

ในการศึกษารูปร่างและพฤติกรรมของการยึดเกาะของเซลล์ไลน์กระดูกบนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์แบบต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ สรุปผลศึกษาได้ดังนี้

### ก. ลักษณะพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์

ความขรุขระของพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ (Surface roughness) ทั้ง 4 กลุ่ม มีความแตกต่างกัน โดยมีลักษณะที่แตกต่างกันของความขรุขระของพื้นผิวที่ตรวจพบด้วยภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และ มีค่า Ra ที่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < .05$ ) กลุ่มของพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิด sandblast มีค่า Ra สูงสุด และ รองลงมา คือ กลุ่มที่ขัดด้วยกระดาษ silicon carbide เบอร์ S120 S400 และ S1200 ตามลำดับ

### ข. การยึดเกาะของเซลล์ SaOs2 บนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์

รูปร่างและพฤติกรรมของเซลล์ที่ยึดเกาะ บนพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ ในการศึกษา นี้ พบว่า ส่วนใหญ่เซลล์มีการยึดเกาะอยู่ในระยะที่ 2 และ 3 ทั้งนี้การเพิ่มความขรุขระมีผลต่อจำนวนเซลล์ และพฤติกรรมการยึดเกาะของเซลล์ SaOs2 ในช่วงเวลา 30 นาทีแรก โดยในพื้นผิวไทเทเนียมที่มีความขรุขระ (Ra) มากกว่า หรือมีความหยาบมากกว่า จะดึงดูดให้เซลล์มายึดเกาะมากกว่าพื้นผิวที่มีความขรุขระน้อยกว่า แต่เมื่อเวลาผ่านไป 20 ชั่วโมง การยึดเกาะของเซลล์บนพื้นผิวไทเทเนียมชนิด SB S120 และ S400 กลับไม่มีความแตกต่างกัน นั่นคือ ถ้าจะศึกษาอิทธิพลของการเตรียมพื้นผิวด้วยวิธีเหล่านี้ต่อจำนวนเซลล์ และพฤติกรรมการยึดเกาะของเซลล์ SaOs2 อาจจะต้องศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับหน้าที่ของเซลล์ เช่น การสร้าง ALP เป็นต้น

### ก.ผลการศึกษาด้วยวิธีวัดค่า DNA Assay

ที่เวลา 30 นาที พบว่า ร้อยละของปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ ชนิด sandblast S120 S400 และ S1200 มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบโดยใช้สถิติแบบพหุคูณของ Scheffe พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < .05$ ) ระหว่างร้อยละของปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิด sandblast เมื่อเปรียบเทียบกับร้อยละของปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ ชนิด S120 S400 และ S1200

ส่วนปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ที่เวลา 20 ชั่วโมง ร้อยละของปริมาณ DNA ของเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยด์ ชนิด Sandblast S120 และ S 400 กลับพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > .05$ )

### 5.3 ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษานี้เป็นการศึกษาโดยใช้เซลล์ไลน์ในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะที่กำหนด จึงมีข้อจำกัดในการทดลอง เช่น ในการศึกษารูปร่างของเซลล์โดยการตรวจนับโดยตรงบนพื้นผิววัสดุ จะเกิดข้อผิดพลาดของการทดลองได้ถ้าพื้นผิวนั้นสามารถดึงดูดให้เซลล์ยึดเกาะได้เร็วมาก ๆ จึงเป็นการยากที่จะทำการนับเซลล์โดยตรงบนพื้นผิววัสดุนั้น ถ้าเป็นไปได้อาจจะออกแบบการทดลองโดยใช้วิธีย้อยเซลล์ออกมา นับจะดีกว่าสำหรับพื้นผิววัสดุบางประเภท

2. ในการศึกษาครั้งต่อไปเกี่ยวกับความขรุขระของพื้นผิว (Ra) อาจกำหนดช่วงของค่า Ra ให้มีความละเอียดมากขึ้น เพื่อประโยชน์ในการศึกษาอิทธิพลของความขรุขระของพื้นผิวต่อการตอบสนองของเซลล์กระดูก

3. การศึกษานี้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งแตกต่างกับสภาวะที่แท้จริงของร่างกายสิ่งมีชีวิต หากเป็นไปได้ควรมีการทดลองในร่างกายสิ่งมีชีวิต เพื่อให้มีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างและพฤติกรรมของเซลล์กระดูกต่อพื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอยด์ชนิดต่างๆ เพื่อประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไป