

ผลของลักษณะที่แตกต่างกันของสภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบาง
ด้วยวิธีโซล-เจลต่อปริมาณการสร้างไฟบริน: การศึกษาเปรียบเทียบในห้องปฏิบัติการ



นาย อนรรฆพันธ์ คำตัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาศัลยศาสตร์ช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล ภาควิชาศัลยศาสตร์

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF DIFFERENT CRYSTALLINE OF SOL-GEL DERIVED TITANIUM OXIDE
THIN FILM ON FIBRIN CLOT FORMATION: A COMPARATIVE IN VITRO STUDY



Mr. Anakapan Kumton

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Oral and Maxillofacial Surgery

Department of Surgery

Faculty of Dentistry

Chulalongkorn University

Academic Year 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของลักษณะที่แตกต่างกันของสภาพผลึกไทเทเนียม
ออกไซด์ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจลต่อปริมาณการ
สร้างไฟบริน: การศึกษาเปรียบเทียบในห้องปฏิบัติการ

โดย

นาย อนรรฆพันธ์ คำตัน

สาขาวิชา

ศัลยศาสตร์ช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล

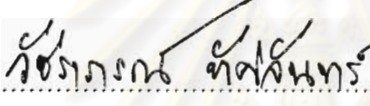
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

อาจารย์ ทันตแพทย์ ดร.ณรงค์ ลุมพิกานนท์

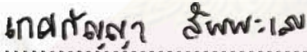
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

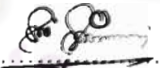
รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.ประสิทธิ์ ภาวสันต์

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโท


..... คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง วุฒราภรณ์ ทัศนจันทร์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.เกศกัญญา สัพพะเลข)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ ทันตแพทย์ ดร.ณรงค์ ลุมพิกานนท์)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. ประสิทธิ์ ภาวสันต์)


..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(อาจารย์ ดร.ณิรันดฐ ควณชีตชู)

อนรรฆพันธ์ คำตัน : ผลของลักษณะที่แตกต่างกันของสภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจลต่อปริมาณการสร้างไฟบริน: การศึกษาเปรียบเทียบในห้องปฏิบัติการ (EFFECTS OF DIFFERENT CRYSTALLINE OF SOL-GEL DERIVED TITANIUM OXIDE THIN FILM ON FIBRIN CLOT FORMATION: A COMPARATIVE *IN VITRO* STUDY)

อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อ. ทพ. ดร.ณรงค์ ลุมพิกานนท์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : รศ. ทพ. ดร. ประสิทธิ์ ภาวสันต์, 95 หน้า.

การศึกษาในห้องปฏิบัติการนี้ ได้ถูกออกแบบมาเพื่อศึกษาการเกาะยึดของเกล็ดเลือดและการสร้างไฟบรินบนสภาพผลึกที่แตกต่างกัน ของไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปเป็นชั้นฟิล์มบาง ด้วยวิธีโซล-เจล โดยใช้เลือดรวมส่วนที่ปราศจากสารต้านการแข็งตัว ชั้นฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ถูกขึ้นรูปบนแผ่นกระจกใสด้วยวิธีโซล-เจล แบบจุ่มเคลือบ โดยเคลือบให้ได้ความหนา 1-4 ชั้น และปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน (200 และ 550 °C) ลักษณะเชิงภูมิศาสตร์ระดับนาโนสเกลของพื้นผิวสภาพผลึก และ องค์ประกอบของธาตุ บนชั้นฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ ตรวจวัดโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม เทคนิคเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรกชัน และ เทคนิคอีดีเอ็กซ์ ตามลำดับ โดยพบว่าการสภาพเป็นผลึกของไทเทเนียมออกไซด์บนฟิล์มบางหนา 1 ชั้นที่ปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 200 °C (200-1) มีลักษณะอสัณฐาน ในขณะที่การเรียงตัวของผลึกไทเทเนียมออกไซด์บนฟิล์มบางหนา 4 ชั้นที่ปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 550 °C (550-4) มีลักษณะอะนาเทส เมื่อนำฟิล์มบางที่มีการเรียงตัวของผลึกไทเทเนียมออกไซด์ที่แตกต่างกัน 2 แบบนี้ มาศึกษาปฏิกิริยาทางชีววิทยาเบื้องต้นคือ การเกาะยึดของเกล็ดเลือด และ การสร้างไฟบริน โดยใช้เลือดรวมส่วนที่ปราศจากสารต้านการแข็งตัว ด้วยภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด ไม่ปรากฏความแตกต่างของการเกาะยึดของเกล็ดเลือดบนตัวอย่าง 200-1 และ 550-4 แต่พบว่าตัวอย่าง 550-4 มีการสร้างไฟบรินในระดับที่สูงกว่าตัวอย่าง 200-1 ผลการวิจัยบ่งชี้ว่า สภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์แบบอะนาเทส ส่งเสริมการสร้างไฟบรินได้ดีกว่า

ภาควิชา ศัลยศาสตร์.....

สาขาวิชา ศัลยศาสตร์ช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล.....

ปีการศึกษา 2553.....

ลายมือชื่อนิสิต.....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

ประสิทธิ์ ภาวสันต์

5176142532: MAJOR ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY

KEYWORDS : SOL-GEL / TiO₂ / FIBRIN FORMATION / WHOLE BLOOD / CRYSTALLINITY

ANAKAPAN KUMTON : EFFECTS OF DIFFERENT CRYSTALLINE OF SOL-GEL DERIVED TITANIUM OXIDE THIN FILM ON FIBRIN CLOT FORMATION: A COMPARATIVE *IN VITRO* STUDY. THESIS ADVISOR : NARONG LUMBIKANANDA, DDS., Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : PRASIT PAVASON, DDS., Ph.D., 95 pp.

This *in vitro* study was designed to investigate platelet adhesion and fibrin clot formation on different crystallinities of sol-gel derived TiO₂ thin film using non anti-coagulated human fresh whole blood. TiO₂ thin film was prepared on glass slide substrate by sol-gel dip coating technique to generate 1-4 layers of film and heat-treated at different temperatures (200°C and 550°C). Surface nano-topography, crystallinity and element composition of TiO₂ film were determined by atomic force microscope, x-ray diffraction and EDX techniques respectively. The crystallinity of the TiO₂ thin film heat-treated at 200°C, 1 cycle (200-1) was amorphous, while that at 550°C, 4 cycles (550-4) was anatase. These two different crystalline TiO₂ films were subjected to a study of initial biological reactions: platelet adhesion and fibrin clot formation utilizing human venous fresh whole blood. SEM image illustrated that both 200-1 and 550-4 did not show different effects on platelet adhesion but the 550-4 exhibited higher degree of fibrin clot formation than the 200-1. The results suggested that the crystallinity of TiO₂ in anatase phase demonstrated a better result of fibrin clot formation.

Department : Surgery.....

Student's Signature

A. Intm

Field of Study : Oral and Maxillofacial Surgery

Advisor's Signature

N. Lumbikananda

Academic Year : 2010.....

Co-Advisor's Signature

Prasit Pavason

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบคุณ อาจารย์ ทันตแพทย์ ดร. ณรงค์ ลุมพิกานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ สำหรับความรัก และความเอาใจใส่เป็นอย่างดีแก่ข้าพเจ้า ตลอดจนความรู้ คำปรึกษา และข้อเสนอแนะทั้งทางวิชาการ คุณธรรม และจริยธรรม ที่เป็นประโยชน์ ตลอดเวลาที่ข้าพเจ้าได้ศึกษาอยู่ รวมถึงคณาจารย์ในภาควิชาศัลยศาสตร์ สำหรับความรู้ที่ถ่ายทอดให้ พยาบาล เจ้าหน้าที่ในภาควิชาที่ช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกแก่ข้าพเจ้าเป็นอย่างดี

รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. ประสิทธิ์ ภาวสันต์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม และในฐานะหัวหน้าหน่วยวิจัยเนื้อเยื่ออินทรีย์ สำหรับการสนับสนุนวัสดุอุปกรณ์ และห้องปฏิบัติการในการทดลอง รวมถึงทุกคนในหน่วยวิจัยที่ให้ ความช่วยเหลือและคำแนะนำที่มีประโยชน์

ศาสตราจารย์ ดร. พิชญ์ ศุภผล วิทยาลัยปิโตรเลียม และปิโตรเคมี สำหรับคำแนะนำการแก้ไขบทความ ความรู้ทางวัสดุศาสตร์ การติดต่อประสานงาน จนทำให้ได้ผลการทดลองที่ดี

อาจารย์ ดร. ณิรนุช ควรเชิดชู ภาควิชาเทคโนโลยีวัสดุ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง สำหรับคำแนะนำ การแก้ไขบทความ และความรู้ทางวัสดุศาสตร์ที่มีประโยชน์ รวมถึงทางภาควิชา ที่เชื้อเพื่อเตาเผาเซรามิก สำหรับขึ้นรูปวัสดุ

อาจารย์ ไพพรรณ พิทยานนท์ สำหรับ ความรู้และคำปรึกษาทางสถิติที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ทันตแพทย์หญิง ธิดารัตน์ อังวรารวงศ์ สำหรับความช่วยเหลือและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการทดลองในห้องปฏิบัติการ

คุณลาวัลย์ บุญประคอง และ คุณผกาวัลย์ มุสิกพงศ์ จากศูนย์วิจัยชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ฝ่ายวิจัยคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับเงินทุนสนับสนุนจากเงินทุนวิจัยสำหรับอาจารย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยแก่ อาจารย์ ทันตแพทย์ ดร. ณรงค์ ลุมพิกานนท์

ดร.แพรว จิตติพลังศรี ภรรยา และ อาจารย์ประจำ ภาควิชาวรรณคดีเปรียบเทียบ คณะอักษรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำปรึกษาด้านการใช้ภาษา และเป็นกำลังใจให้ตลอดมา

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณ นาย สุธรรม และ นาง สุชาดา คำตัน บิดาและมารดา ที่ได้ให้ชีวิตและโอกาสทางการศึกษา แก่ข้าพเจ้า รวมถึง ครอบครัว เพื่อน และ ทุกคนที่มีส่วนร่วมในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ แต่ไม่ได้กล่าวนามถึง ณ ที่นี้ ทั้งที่เป็นกำลังใจและมีส่วนผลักดันให้ข้าพเจ้าเขียนให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วง ได้เป็นมหาบัณฑิตสมความตั้งใจ

สารบัญ

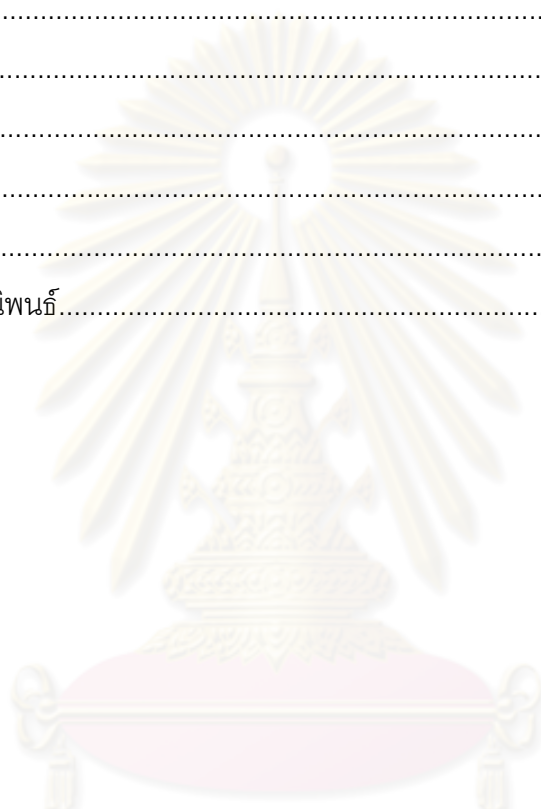
	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 รูปแบบการวิจัย.....	2
1.4 กรอบแนวความคิดในงานวิจัย.....	3
1.5 คำถามการวิจัย.....	3
1.6 สมมติฐานการวิจัย.....	3
1.7 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	4
1.8 คำสำคัญ.....	4
1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 รากเทียมไทเทเนียม.....	5
2.2 ไทเทเนียมออกไซด์.....	7
2.3 ผิวรากเทียม.....	9
2.4 ผลของผิวรากเทียมที่ถูกปรับสภาพต่อกระบวนการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน.....	10
2.5 การปรับสภาพพื้นผิวรากเทียม.....	10
2.6 วิธีการปรับสภาพพื้นผิวรากเทียมโดยการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์ ด้วยวิธีโซล-เจล.....	11
2.7 การสร้างกระดูกเชื่อมประสาน.....	15
2.8 การศึกษาในห้องปฏิบัติการ.....	22

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	26
3.1 การขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์เป็นฟิล์มบางบนพื้นผิวแก้วสไลด์และการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของชั้นฟิล์มไทเทเนียมออกไซด์.....	26
3.1.1 การเตรียมวัสดุแกนตั้งต้น.....	26
3.1.2 การเตรียมสารละลายไทเทเนียมออกไซด์โซล.....	26
3.1.3 การจุ่มเคลือบและการขึ้นรูปฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์.....	26
3.1.4 การวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะสัมผัส	28
3.1.5 การวิเคราะห์โครงสร้างและการเรียงตัวของผลึก.....	29
3.1.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุโดยเทคนิคเอ็ดเอ็กซ์.....	29
3.2 การทดสอบปฏิกิริยาทางชีววิทยา.....	30
3.2.1 การเตรียมชิ้นตัวอย่างสำหรับทดสอบปฏิกิริยาทางชีววิทยา.....	30
3.2.2 การเก็บตัวอย่างเลือดที่นำมาทดสอบ.....	30
3.2.3 ขั้นตอนการทดสอบปฏิกิริยาทางชีววิทยา.....	31
3.2.4 การตรวจวัดการเกาะยึดของเกล็ดเลือด.....	33
3.2.5 การตรวจวัดการสร้างไฟบริน.....	35
บทที่ 4 ผลการศึกษาและการวิเคราะห์ผล.....	36
4.1 การศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปด้วยวิธีโซล-เจล	36
4.1.1 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของพื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะสัมผัส.....	36
4.1.2 ผลการศึกษาลักษณะโครงสร้างและการเรียงตัวของผลึกด้วยเทคนิคเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรกชัน.....	38
4.1.3 ผลการศึกษาองค์ประกอบของธาตุของชั้นฟิล์มด้วยเทคนิคเอ็ดเอ็กซ์.....	41
4.2 การศึกษาปฏิกิริยาทางชีววิทยา.....	43
4.2.1 ผลการศึกษากการเกาะยึดของเกล็ดเลือด.....	43
4.2.2 ผลการศึกษาลักษณะของโครงร่างไฟบริน.....	46

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และ ข้อเสนอแนะ.....	57
5.1 อภิปรายผล.....	57
5.2 สรุปผลการวิจัย.....	61
5.3 ข้อเสนอแนะ.....	62
รายการอ้างอิง.....	63
ภาคผนวก.....	71
ภาคผนวก ก.....	72
ภาคผนวก ข.....	83
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	95



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญญัตินำ

ตารางที่		หน้า
2.1	แสดงองค์ประกอบทางเคมีของซีพีไทเทเนียมเกรดต่างๆ	6
2.2	แสดงคุณสมบัติของไทเทเนียมชนิดต่างๆที่นำมาใช้ในทางการแพทย์.....	6
3.1	แสดงการกำหนดรหัสแทนสำหรับบันทึกรายงานแทนกลุ่มตัวอย่างต่างๆ.....	28
4.1	แสดงผลการวัดค่าความขรุขระเฉลี่ยและความหนาของชั้นฟิล์มของกลุ่มตัวอย่างต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะสัมผัส.....	38
4.2	แสดงร้อยละของปริมาณธาตุที่เป็นองค์ประกอบเฉลี่ยบนชั้นฟิล์มไทเทเนียมออกไซด์ในกลุ่มตัวอย่างต่างๆ.....	41
4.3	แสดงกลุ่มตัวอย่างที่เลือกมาทำการศึกษาเปรียบเทียบผลทางชีววิทยา.....	43
4.4	แสดงผลการนับจำนวนเกล็ดเลือดเดี่ยว ที่เกาะยึดบนผิวไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิวเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจลในแต่ละการทดลองระหว่าง 2 กลุ่มตัวอย่าง.....	46
4.5	แสดงจำนวนภาพการสร้างไฟบริน ที่ทำการจำแนกตามลักษณะไฟบริน.....	56

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.1	กรอบแนวคิดในงานวิจัย.....	3
2.1	แผนภาพแสดงออกไซด์ฟิล์มบนไทเทเนียมบริสุทธิ์.....	7
2.2	ภาพวาดแสดงขั้นตอนการขึ้นรูปโดยการจุ่มเคลือบ.....	13
2.3	แสดงลวดลายการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ ของไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิต่างกันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง	14
2.4	ภาพจำลองเหตุการณ์แสดงองค์ประกอบของเซลล์ต่างๆ ที่อยู่รอบผิวรากเทียมเมื่อทำการฝังรากเทียมลงในเบ้ากระดูกที่เตรียมไว้.....	16
2.5	ภาพจำลองเหตุการณ์แสดงการเคลื่อนตัวของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระดูกผ่านโครงร่างไฟบริน มายังผิวของรากเทียม.....	16
2.6	ภาพจำลองเหตุการณ์แสดงการสร้างกระดูกแบบเริ่มจากผิวสัมผัสของรากเทียม	20
2.7	ภาพจำลองเหตุการณ์แสดงการสร้างกระดูกแบบเริ่มจากกระยะห่างเข้ามาสู่ผิวรากเทียม.....	21
3.1	ภาพถ่ายแสดงขั้นตอนการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์เป็นฟิล์มบางบนพื้นผิวกระจกสไลด์.....	27
3.2	ภาพถ่ายแสดงการเก็บตัวอย่างเลือดที่นำมาทดสอบ.....	30
3.3	ภาพถ่ายแสดงขั้นตอนการทดสอบปฏิกิริยาทางชีววิทยา.....	31
3.4	แผนภาพแสดงขั้นตอนการทดสอบปฏิกิริยาทางชีววิทยา.....	32
3.5	แผนภาพแสดง รูปแบบการบันทึกภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเพื่อตรวจวิเคราะห์การเกาะยึดของเกล็ดเลือด และ การสร้างไฟบริน บนพื้นผิวไทเทเนียมออกไซด์ที่ศึกษา.....	32
3.6	ภาพถ่ายแสดงการแต้มสีของเกล็ดเลือดเดี่ยวที่เกาะยึดบนผิวไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิวเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล เพื่อทำการตรวจนับ ด้วยโปรแกรม photoshop version 7.0.....	34
3.7	ภาพถ่ายแสดงการนับจำนวนเกล็ดเลือดเดี่ยวที่เกาะยึดบนผิวไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิวเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล ที่ผ่านการแต้มสีโดยใช้โปรแกรม image pro plus.....	34

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.1	ภาพถ่ายสามมิติจากกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมบนพื้นที่ขนาด 1x1 ตารางไมโครเมตร.....	37
4.2	ลดลายการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ที่ตกกระทบบนพื้นผิวของฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปบนกระจกสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจลและปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ และจำนวนชั้นที่ต่างกัน.....	39
4.3	ภาพถ่าย แสดงผงบดละเอียดของไทเทเนียมออกไซด์โซล ที่ได้จากการระเหยไทเทเนียมออกไซด์โซลจนกลายเป็นผลึกแล้วนำไปปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียสและ 550 องศาเซลเซียสก่อนนำมาบดละเอียด....	40
4.4	ลดลายการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ที่ตกกระทบบนผงบดละเอียดที่ได้จากการระเหยสารละลายไทเทเนียมออกไซด์โซล ที่อุณหภูมิ 200 และ 550 องศาเซลเซียส.....	40
4.5	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แสดงการกระจายตัวของไทเทเนียมบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุโดยเทคนิคดีเอ็กซ์.....	42
4.6	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะการเกาะยึดของเกล็ดเลือดที่ปรากฏเมื่อผิววัสดุสัมผัสเลือดรวมส่วนเป็นเวลา 2 นาที.....	44
4.7	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แสดงเกล็ดเลือดระยะต่างๆ.....	45
4.8	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เท่าแสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 200-1 เมื่อสัมผัสเลือดรวมส่วน 5 นาที (การทดลองที่ 1).....	48
4.9	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เท่าแสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 550-4 เมื่อสัมผัสเลือดรวมส่วน 5 นาที (การทดลองที่ 1).....	49
4.10	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เท่าแสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 200-1 เมื่อสัมผัสเลือดรวมส่วน 5 นาที (การทดลองที่ 2)	50

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.11	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เท้าแสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 550-4 เมื่อสัมผัสเลือดรวมส่วน 5 นาที (การทดลองที่ 2)	51
4.12	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เท้าแสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 200-1 เมื่อสัมผัสเลือดรวมส่วน 5 นาที (การทดลองที่ 3).....	52
4.13	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เท้าแสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 550-4 เมื่อสัมผัสเลือดรวมส่วน 5 นาที (การทดลองที่ 3).....	53
4.14	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เท้าแสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 200-1 และ 550-4 เมื่อสัมผัสเลือดรวมส่วน 5 นาที เปรียบเทียบจากการทดลองทั้ง 3 ครั้ง.....	54
4.15	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แสดงการจำแนกลักษณะของไฟบรินที่ปรากฏทั้ง 4 ลักษณะ.....	55
4.16	แผนภูมิแท่งแสดง การรวมจำนวนภาพการสร้างไฟบริน ที่จำแนกไว้ตามลักษณะต่างๆ ของกลุ่มตัวอย่าง 200-1 และ 550-4.....	56

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

รากเทียมเป็นวัสดุทางการแพทย์ที่นำมาใช้ฝังในขากรรไกร เพื่อเป็นอวัยวะทดแทนฟันที่สูญเสียไป ในทางคลินิก ตัวชี้วัดที่บ่งบอกถึงความสำเร็จคือ เสถียรภาพ และการยึดติดกับกระดูกของรากเทียมหลังจากที่ได้ใช้งานมาแล้ว อันเป็นผลมาจากการฟื้นฟูสภาพของกระดูกรอบรากเทียม โดยการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน^[1, 2] การเชื่อมติดของกระดูกแบบนี้ เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเป็นลำดับขั้นตอน โดยขั้นตอนต่างๆเหล่านี้ ได้ถูกหยิบยกมาเป็นรูปแบบการศึกษา หรือประเมินปฏิริยาระหว่างผิวรากเทียม และกระดูกที่รองรับ ตัวอย่าง เช่น การศึกษาการดูดซับของโปรตีน^[3, 4] กระบวนการเกาะยึดของเซลล์^[5] บนผิวของรากเทียมในห้องปฏิบัติการ^[5, 6] หรือ การศึกษาในสัตว์ทดลอง^[7-9] ตลอดจนการศึกษาทางคลินิกในผู้ป่วย^[10-14] เพื่อประเมิน หรือตรวจวิเคราะห์ประสิทธิภาพของรากเทียม และ สำหรับวัสดุเทียมที่นำมาใช้ในร่างกายมนุษย์ จำเป็นต้องมีการตรวจประเมินเบื้องต้น อย่างถูกต้องแม่นยำ ในห้องปฏิบัติการ ก่อนนำมาใช้ในสัตว์ทดลองหรือในมนุษย์ ดังนั้น การตรวจวิเคราะห์ และประเมินผลในห้องปฏิบัติการ จึงมีความสำคัญ และได้มีรายงานการศึกษาเหล่านี้อยู่มากมาย^[5, 15-17]

สำหรับวัสดุชีวภาพ (biomaterial) ที่เป็นที่ยอมรับ และนิยมนำมาใช้ทำรากเทียมคือ ซีทีไทเทเนียม (commercially pure titanium, cpTi) เกรด 4 ซึ่งมีความแข็งแรง และ มีความเข้ากันได้ดีทางชีวภาพ (biocompatibility)^[18] เป็นผลจากชั้นไทเทเนียมออกไซด์ ที่สามารถเกิดขึ้นเองได้โดยธรรมชาติ เมื่อผิวนอกของไทเทเนียมสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ และชั้นนี้เป็นส่วนที่สัมผัสกับผิวกระดูก รวมถึงของเหลวในร่างกาย ซึ่งจะมีผลต่อการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน ในปัจจุบันงานค้นคว้าวิจัย ได้พัฒนาไปถึงขั้นที่จะส่งเสริมให้เกิดการสร้างกระดูกบนผิวรากเทียม อย่างมีประสิทธิภาพในระยะเวลาย่นสั้นลง^[19] และ การใช้เทคโนโลยีปรับสภาพผิวของรากเทียมด้วยวิธีการต่างๆ เพื่อเพิ่มพื้นที่ และความขรุขระของผิวสัมผัส^[20] ตลอดจนปรับปรุงองค์ประกอบของพื้นผิว (surface composition) ได้กลายเป็นที่ยอมรับ และใช้กันอย่างแพร่หลาย สภาพผิวของรากเทียมที่ได้รับการปรับสภาพ มีบทบาทต่อการสร้างของกระดูกรอบรากเทียมระยะแรก เนื่องจากสภาพความขรุขระ และองค์ประกอบทางเคมีของพื้นผิว จะมีอิทธิพลต่อการเกาะยึดของเลือด เนื้อเยื่อหรือเซลล์บนผิวรากเทียม อันส่งผลต่อการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน^[21] หนึ่งในวิธีการเหล่านั้น ได้แก่ วิธีโซล-เจล (sol-gel) ที่ถูกนำมาใช้เพื่อขึ้นรูปชั้นไทเทเนียมออกไซด์ ให้มีความหนา และ รูปร่างสม่ำเสมอ โดยการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มบาง และปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน เพื่อให้เกิดสภาพผลึกที่แตกต่างกันในมาตราส่วนที่เล็กระดับนาโนเมตร เช่น อะนาทาส (anatase) และ รูไทต์ (rutile) เป็นต้น ซึ่งต่างจากไทเทเนียมออกไซด์ ที่เกิดขึ้นบนผิวไทเทเนียม

ตามธรรมชาติ ที่มีลักษณะแบบอสัณฐาน (amorphous) และ เชื่อว่าสภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์ที่แตกต่างกัน น่าจะส่งผลต่อปฏิกิริยาการตอบสนองทางชีววิทยา และการดึงดูดเซลล์แตกต่างกัน

จากกระบวนการสร้างของกระดูก (osteogenesis) รอบรากเทียม ทันทีที่ผิววัสดุรากเทียมถูกฝังลงในเบ้ากระดูก ที่ได้ถูกกรอตัดเตรียมไว้แล้ว จะมีการดูดซับโปรตีน และเลือด ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อลำดับแรก ที่เข้ามาสัมผัสกับผิวรากเทียม ปฏิกิริยาแรกที่เลือดเข้ามาทำกับผิวรากเทียม จะมีผลต่อการแข็งตัวของเลือด (clot formation) ผ่านการกระตุ้น กระบวนการห้ามเลือด(hemostasis)^[22, 23] ทำให้ มีการสร้างโครงร่างไฟบรินมาเกาะยึดกับผิวของรากเทียม และกระดูกที่สัมผัสล้อมรอบ ขณะเดียวกัน การกระตุ้นจากโปรตีนต่างๆที่เหมาะสม ทำให้เกิดการดึงดูดทางเคมี ที่ตามมาด้วยการเคลื่อนตัว (migration) ของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูก (osteoprogenitor) ผ่านโครงร่างไฟบริน (fibrin scaffold) และโปรตีนดังกล่าว มาสู่ผิวของรากเทียม ก่อนจะพัฒนาการ (differentiation) เป็นเซลล์สร้างกระดูกต่อไป เนื่องจากการเคลื่อนตัวของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระดูกสู่ผิวรากเทียม เป็นส่วนสำคัญของกระบวนการนำการสร้างกระดูก (osteoconduction) ในการสร้างกระดูกแบบเริ่มจากผิวสัมผัสของรากเทียม (contact osteogenesis)^[21] ดังนั้น การกระตุ้นเซลล์ของเลือดให้มาเกาะยึดที่ผิวรากเทียม ก็น่าจะมีบทบาทสำคัญในขั้นตอนแรกของการสร้างกระดูกรอบรากเทียม จึงมีความจำเป็น ที่จะต้องเข้าใจกลไกเบื้องต้น หรือเริ่มแรกในกระบวนการเชื่อมประสานของกระดูก กับรากเทียม มีผู้เชื่อว่า แนวความคิดนี้ จะนำไปสู่กลยุทธ์ในเชิงชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับการออกแบบรากเทียม อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการทำปฏิกิริยาในธรรมชาติ ยังมีจำกัด และการศึกษาปรากฏการณ์ในขั้นตอนนี้ ที่ผ่านมา มีเพียงการใช้องค์ประกอบของเลือดบางส่วน เช่น เพลตเล็ตริชพลาสมา (platelet rich plasma, PRP) เพื่อศึกษาลักษณะของ blood/implant interface ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น น่าจะต่างไปจากการใช้เลือดรวมส่วน (whole blood) ซึ่งมีองค์ประกอบของเลือดครบถ้วน^[17] นอกจากนี้ รายงานบางส่วนได้ใช้เลือดรวมส่วนที่ใส่สารต้านการแข็งตัว (anti-coagulated blood)^[4, 23] แม้จะทราบกันดีว่า พฤติกรรมทางชีวภาพของเลือดปกติ และเลือดที่ผสมสารต้านการแข็งตัวนั้นแตกต่างกัน^[24]

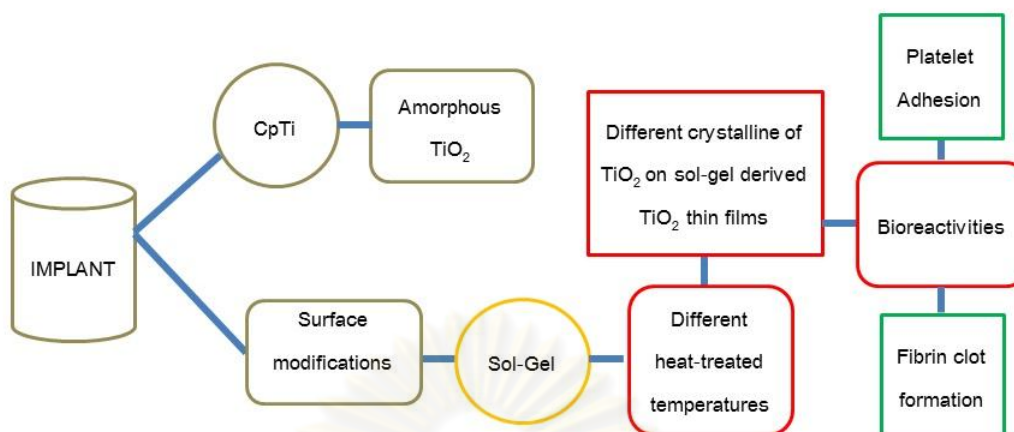
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบ การเกาะยึดของเกล็ดเลือด และปริมาณในการสร้างไฟบริน บนผิวไทเทเนียมออกไซด์ ที่มีสภาพผลึกแตกต่างกัน จากการขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล โดยการนำเลือดรวมส่วนที่ปราศจากสารต้านการแข็งตัวมาเป็นตัวทดสอบ ในห้องปฏิบัติการ

1.3 รูปแบบการวิจัย

รูปแบบการวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ

1.4 กรอบแนวความคิดในงานวิจัย



ภาพที่ 1.1 แสดงกรอบแนวคิดในงานวิจัย

1.5 คำถามของการวิจัย

1. ไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิวเป็นฟิล์มบาง ด้วยวิธีโซล-เจล ที่มีสภาพผลึก แบบออสัญฐาน และ อะนาเทส จะส่งผลต่อการเกาะยึดของเกล็ดเลือดแตกต่างกันหรือไม่
2. ไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิวเป็นฟิล์มบาง ด้วยวิธีโซล-เจลที่มีสภาพผลึก แบบออสัญฐาน และ อะนาเทส จะส่งผลต่อปริมาณการสร้างไฟบรินแตกต่างกันหรือไม่

1.6 สมมติฐานการวิจัย

สมมติฐานที่ 1

H_0 : ไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิวเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล ที่มีสภาพผลึกแบบออสัญฐาน และ อะนาเทส จะส่งผลต่อการเกาะยึดของเกล็ดเลือด แตกต่างกัน

H_1 : ไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิวเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล ที่มีสภาพผลึกแบบออสัญฐาน และ อะนาเทส จะส่งผลต่อการเกาะยึดของเกล็ดเลือด ไม่แตกต่างกัน

สมมติฐานที่ 2

H_0 : ไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิวเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล ที่มีสภาพผลึกแบบออสัญฐาน และ อะนาเทส จะส่งผลต่อปริมาณการสร้างไฟบริน แตกต่างกัน

H_1 : ไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิวเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล ที่มีสภาพผลึกแบบออสัญฐาน และ อะนาเทส จะส่งผลต่อปริมาณการสร้างไฟบริน ไม่แตกต่างกัน

1.7 ข้อจำกัดในการวิจัย

1. ความผิดพลาดทางเทคนิคที่อาจจะเกิดขึ้น ระหว่างเตรียมชิ้นตัวอย่าง
2. ความผิดพลาดทางเทคนิคที่อาจจะเกิดขึ้น ระหว่างทำการทดสอบ

1.8 คำสำคัญ

ไทเทเนียมออกไซด์, สภาพผลึก, โซล-เจล, ไฟบริน, การเกาะยึดของเกล็ดเลือด

1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นการนำกระบวนการศึกษา ในห้องปฏิบัติการ มาใช้ในการตรวจพิสูจน์ ผลของชั้นผิวไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบาง ด้วยวิธีโซล-เจล ที่มีสภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์ที่แตกต่างกัน
2. สามารถศึกษาเปรียบเทียบ การเกาะยึดของเกล็ดเลือด และปริมาณไฟบริน บนพื้นผิวของชั้นไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบาง ด้วยวิธีโซล-เจล ซึ่งเป็นเหตุการณ์เบื้องต้น ในการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน
3. ทำให้เกิดความเข้าใจ ในปรากฏการณ์การฟื้นฟูสภาพ การตอบสนองของเนื้อเยื่อยิ่งขึ้น อันเป็นแนวคิดในการพัฒนาผิวรากเทียม ที่ส่งเสริมการสร้างของกระดูกอบรากเทียม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 รากเทียมไทเทเนียม

ในปัจจุบันรากเทียมเป็นวัสดุทางการแพทย์ที่ได้รับความนิยม และถือเป็นอวัยวะเทียมเพื่อใช้สำหรับงานบูรณะฟันในช่องปากที่มีประสิทธิภาพ สามารถทำนายผลได้ สำหรับวัสดุที่ใช้ทำรากเทียมที่เป็นที่นิยม และยอมรับอย่างกว้างขวางคือ ไทเทเนียม (titanium) ซึ่งไทเทเนียมนั้นเป็นโลหะที่มีคุณสมบัติคงสภาพสูง น้ำหนักเบา มีคุณสมบัติความเป็นวัสดุชีวภาพ^[25] สามารถเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อของร่างกาย ปัจจุบันไทเทเนียมที่ใช้ในงานทันตกรรมมีอยู่ 2 รูปแบบใหญ่คือ ไทเทเนียมบริสุทธิ์ หรือที่มักเรียกกันว่าซีพีไทเทเนียม (commercially pure titanium, cpTi) และไทเทเนียมอัลลอย (titanium alloy) ความบริสุทธิ์ของซีพีไทเทเนียมสามารถลำดับได้ตั้งแต่เกรด 1 ถึงเกรด 4 (ตารางที่ 2.1) โดยจำแนกประเภทตามองค์ประกอบทางเคมี (chemical composition) ซึ่งคือองค์ประกอบของออกซิเจน คาร์บอน ไนโตรเจน ไฮโดรเจนและ เหล็กที่แทรกผสมอยู่ในไทเทเนียม^[26] รากเทียมส่วนใหญ่จะทำจากซีพีไทเทเนียมเกรด 4 ซึ่งมีคุณสมบัติความแข็งแรงดึง (tensile strength) มากกว่า ซีพีไทเทเนียมเกรดอื่น (เกรด 1-3) ส่วนไทเทเนียมอัลลอย จะนิยมใช้ทำรากเทียมขนาดเล็ก (mini implant) ซึ่งต้องการความแข็งแรงสูง (ตารางที่ 2.2) สำหรับรูปแบบของไทเทเนียมอัลลอย มีอยู่หลายรูปแบบขึ้นกับองค์ประกอบของธาตุต่างๆ เช่น อลูมิเนียม (Al) วาเนเดียม (V) ตัวอย่างของไทเทเนียมอัลลอย ได้แก่ Ti_6Al_4V เป็นต้น

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าซีพีไทเทเนียมดูเหมือนว่าจะมีคุณสมบัติทางกายภาพบางประการที่ดีขกว่าไทเทเนียมอัลลอย แต่ในกระบวนการทางชีววิทยา (biological process) ปฏิกิริยาการรวมตัวกันระหว่างกระดูกเข้ามาประชิดกับผิวของไทเทเนียม (titanium-bone interface) แบบที่เรียกว่า "การสร้างกระดูกเชื่อมประสาน หรือ osseointegration^[2] ในซีพีไทเทเนียมมีความเหนือกว่าไทเทเนียมอัลลอย ซึ่งการสร้างกระดูกลักษณะดังกล่าวส่งผลให้รากเทียมนั้นสามารถรับและถ่ายทอดแรงกด (compressive) และแรงเฉือน (shear) จากการบดเคี้ยวได้ จึงเป็นเหตุผลที่นิยมใช้ซีพีไทเทเนียมในการทำรากเทียม^[27] ในเวลาต่อมา การออกแบบ และพัฒนารูปแบบของรากเทียมจนในปัจจุบัน เป็นไปในแนวทางเดียวกัน^[1] แต่รายละเอียดปลีกย่อย จะแตกต่างกัน ขึ้นกับรายละเอียด เทคนิคทางวิศวกรรม และเคมี โดยทั่วไป รูปร่างของรากเทียม จะมีลักษณะเหมือนรากฟัน (root form) มีความตรง (straight) หรือสอบ (tapered) ก็ได้ และมักจะมีเกลียว (thread) ซึ่งรูปร่าง ขนาด และ จำนวนความถี่ของเกลียวที่แตกต่างกัน ก็จะมีผล ต่อการยึดอยู่ และความเสถียรแบบปฐมภูมิ (primary stability) เมื่อทำการฝังรากเทียมนั้น ลงในกระดูกขากรรไกร อย่างไรก็ตาม การที่รากเทียมจะยึดอยู่ และสามารถรับแรงได้ ต้องอาศัยความเสถียร แบบทุติยภูมิ

(secondary stability) อันเป็นผลจากการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน ซึ่งชั้นไทเทเนียมออกไซด์ที่อยู่บนผิววัสดุรากเทียม มีผลโดยตรงกับการเกิดปรากฏการณ์นี้^[28]

ตารางที่ 2.1 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของซีพีไทเทเนียมเกรดต่างๆ ตาม ISO 5832-2: 1999 (ดัดแปลงจาก Pohler ปี ค.ศ. 2000^[26])

Element	Grade 1	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grades 4A/4B
	ELI				
Nitrogen	0.012	0.03	0.03	0.05	0.05
Carbon	0.03	0.10	0.10	0.10	0.10
Hydrogen	0.125*	0.125*	0.125*	0.125*	0.125*
Iron	0.10	0.20	0.30	0.30	0.50
Oxygen	0.10	0.18	0.25	0.35	0.40
Titanium	balance	Balance	Balance	Balance	Balance

* for billets hydrogen maximum 0.0100%; for flat products hydrogen maximum 0.015%

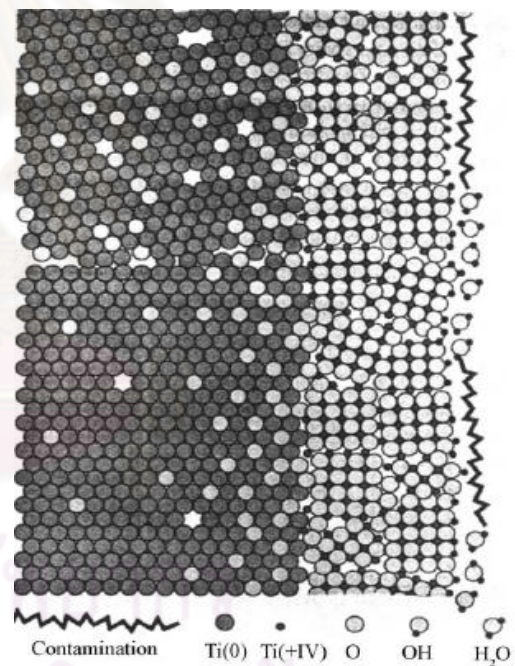
ตารางที่ 2.2 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของไทเทเนียมชนิดต่างๆ ที่นำมาใช้ในทางการแพทย์ (selected Ti-base materials developed for medical applications^[29])

Material	Tensile strength (MPs)	Yield strength (MPs)	Elongation (%)	Elastic modulus (GPa)
α type				
Pure Ti grade 1	240	170	24	102.7
Pure Ti grade 2	345	275	20	102.7
Pure Ti grade 3	450	380	18	103.4
Pure Ti grade 4	550	485	15	104.1
$\alpha+\beta$ type				
Ti-6Al-4V	895-930	825-869	6-10	110-114
Ti-6Al-4V ELI	860-965	795-875	10-15	101-110
Ti-6Al-7Nb	900-1050	880-950	8.1-15	114
Ti-5Al-2.5Fe	1020	895	15	112

2.2 ไทเทเนียมออกไซด์

การที่เซลล์สร้างกระดูก สามารถเข้ามาสร้างกระดูก ประชิดกับผิวรากเทียมได้นั้น เป็นผลมาจาก ชั้นไทเทเนียมออกไซด์ที่เกิดขึ้น เมื่อผิวไทเทเนียม สัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) สร้างเป็นชั้นไทเทเนียมออกไซด์ (titanium oxide, TiO_2) ที่เสถียรเป็นฟิล์มบาง ปกคลุมบนพื้นผิวไทเทเนียมได้เอง (ภาพที่ 2.1) ชั้นไทเทเนียมออกไซด์นี้ มีคุณสมบัติเป็นเซรามิกชีวภาพ (bioactive ceramic) และ นอกจากนี้แล้ว ยังทำให้ไทเทเนียมมีคุณสมบัติการละลายตัวที่ต่ำ ทนต่อการสึกกร่อน (corrosion) และ เป็นฉนวน (insulator) ทำให้มีลักษณะเฉื่อยทางชีวภาพ (biologically inert) จึงไม่ถูกต่อต้าน จากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย^[30] ด้วยคุณสมบัติที่กล่าวมาข้างต้น ทำให้ไทเทเนียม มีคุณสมบัติที่เหนือกว่าวัสดุในทางการแพทย์อื่นๆ อย่างเช่น เหล็กสแตนเลส (stainless steel) โคบอลต์-โครเมียมอัลลอย (Co-Cr alloy)^[31] ซีพีแทนทาลัม (cp tantalum, cpTa) และ ซีพีไนโอเบียม (cp niobium, cpNb)^[29] จึงนิยมนำไทเทเนียม มาใช้งานด้านนี้มากกว่า

ในการฝังรากเทียมลงไปกระดูกที่ได้ถูกกรอดัดไว้แล้ว ชั้นผิวไทเทเนียมออกไซด์ ที่อยู่บนผิวของไทเทเนียม จะเป็นส่วนที่สัมผัสกับเนื้อเยื่อของร่างกายโดยตรง เป็นส่วนแรก และเป็นส่วนที่คงอยู่ระหว่างผิวไทเทเนียม กับเนื้อเยื่อของร่างกาย อย่างไรก็ตาม พบว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของชั้นไทเทเนียมออกไซด์ จะไปมีผลทางเคมี ชีวเคมี (biochemical) และ การทำงานของเซลล์ (cellular activity)^[30] โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในเหตุการณ์ช่วงแรกที่เกิดขึ้น หลังจากทำการฝังรากเทียม คือ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ระหว่างชั้นไทเทเนียมออกไซด์ กับเลือด และของเหลวในร่างกาย เป็นต้น



ภาพที่ 2.1 แผนภาพแสดงออกไซด์ฟิล์มบนไทเทเนียมบริสุทธิ์ (schematic view of the oxide film on pure titanium)^[30]

ในเชิงโครงสร้าง และรูปแบบของสภาพผลึก ไทเทเนียมออกไซด์ จะมีรูปแบบการเรียงตัวของผลึก (crystallographic form) ที่แตกต่างกัน 3 แบบ คือ รูไทต์ อะนาเทส และ บรูไคต์ (brookite) แบบรูไทต์ และ อะนาเทส มีโครงสร้างผลึกแบบ เตตระโกนอล (tetragonal structure)

ส่วนบรูไคต์ เป็นแบบออร์ทอโรมบิก (orthorhombic structure) แต่โครงสร้างของสภาพผลึกที่สำคัญคือ รูไทต์ และ อะนาเทส ซึ่งในโครงสร้างของสภาพผลึกทั้ง 2 แบบนี้ อะตอมของไทเทเนียมสามารถเชื่อมต่อกับอะตอมของออกซิเจนได้ 6 อะตอม และ ทำให้เกิดรูปแบบโครงสร้างที่หลากหลาย^[30]

อย่างไรก็ตาม สภาพผลึกที่ค่อนข้างเป็นลักษณะในอุดมคติ คือแบบรูไทต์ การที่จะทำให้เกิดสภาพผลึกดังกล่าวได้นั้น จำเป็นต้องขึ้นรูป โดยอาศัยความร้อนที่จำเพาะเจาะจง แต่สำหรับไทเทเนียมออกไซด์ ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติแล้ว จะมีสภาพผลึกแบบออสตรูเนียน ซึ่งมีการเรียงตัวของผลึกที่มีรูปร่างไม่แน่นอน ดังนั้น การสร้างหรือขึ้นรูปชั้นฟิล์มไทเทเนียมออกไซด์นี้ มักจะใช้ความร้อน^[30] ผลของการใช้ความร้อนสร้างชั้นฟิล์มออกไซด์ มีปัจจัย ที่มีผลต่อคุณสมบัติของชั้นฟิล์มอยู่ 3 ประการ คือ

1. จำนวนรอบของการอบอ่อน (annealing cycles)[†] ระหว่างการขึ้นรูปโลหะ อันจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลง คุณสมบัติของพื้นผิว (surface properties)
2. อุณหภูมิสุดท้าย ที่ใช้ในการขึ้นรูป (fabrication) หรือ การดัดแปลง (modified) พื้นผิว ภายหลังการขึ้นรูปด้วย กระบวนการทางเคมี (chemical surface modification)
3. อุณหภูมิที่ใช้ในการทำให้ปราศจากเชื้อ (thermal sterilization)

การใช้ความร้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุณหภูมิที่สูงกว่า 200 องศาเซลเซียส จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงโครงสร้างขนาดเล็ก (microstructural properties) เนื่องจาก โดยธรรมชาติแล้ว ถ้าทั้งไทเทเนียมไว้ให้สัมผัสกับอากาศ ที่อุณหภูมิห้องปกติ ออกไซด์ฟิล์มที่เกิดขึ้นเอง จะมีความหนาประมาณ 3-7 นาโนเมตร แต่เมื่อเผาซินเทอร์ (sintering)[‡] เพื่อขึ้นรูปที่อุณหภูมิสูง 450 องศาเซลเซียส และใช้เวลา 10 ถึง 60 นาที ความหนาของออกไซด์ฟิล์มที่เกิดขึ้น จะเพิ่มขึ้น เป็นหลายสิบนานาเมตร นอกจากนี้แล้ว อุณหภูมิที่สูงขึ้น จะมีผลต่อสภาพผลึก โดยที่การเผาซินเทอร์ ที่อุณหภูมิ 300 ถึง 600 องศาเซลเซียส สภาพผลึกที่เกิดขึ้น จะเป็นแบบอะนาเทส แต่ที่อุณหภูมิที่สูง 600 ถึง 800 องศาเซลเซียส สภาพผลึก จะเป็นแบบผสม ระหว่างอะนาเทส กับ รูไทต์ และที่อุณหภูมิสูงกว่า 800 องศาเซลเซียส สภาพผลึกจะเป็นแบบรูไทต์ เพียงอย่างเดียว ดังนั้น อุณหภูมิที่ใช้ในการเผาซินเทอร์ จะมีผลต่อสภาพผลึกของไทเทเนียมออกไซด์ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงระดับผิวนี้ ก็จะมีผลต่อปฏิกิริยาทางชีวภาพที่เกิดขึ้น^[20, 32-34]

[†] การอบอ่อน (annealing) : การอบโลหะที่อุณหภูมิสูงแล้วปล่อยให้เย็นตัวอย่างช้า ๆ เพื่อลดความเครียดในเนื้อโลหะ

[‡] การเผาซินเทอร์ (sintering) : การเชื่อมกลุ่มผงให้แน่นโดยอาศัยความร้อนทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของอะตอมด้วยกลไกต่างๆ บางครั้งเรียกว่าการเผาผนึกหรือการอบผนึก

ดังนั้น การที่จะเพิ่มประสิทธิภาพ และ ปฏิกริยาชีวภาพ เพื่อให้กระดูก เข้ามาสร้างประชิด จึงต้องทำการปรับสภาพผิวของรากเทียม ซึ่งในปัจจุบัน ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี ทำให้มีวิธีการหลากหลายวิธี ที่ใช้ในการปรับสภาพผิวรากเทียมดังกล่าว

2.3 ผิวรากเทียม

ผิวรากเทียมที่ใช้กันในอดีต เป็นผิวที่ไม่ได้รับการปรับสภาพ หรือที่เรียกกันว่าผิวเรียบ หรือ เจียรตัดด้วยเครื่อง (machined surface) ต่อมา มีความเชื่อกันว่า พื้นผิวที่ขรุขระ เป็นการเพิ่มเนื้อที่ผิวสัมผัส กับกระดูก เพื่อให้เกิดความเสถียรแบบทุติยภูมิ (secondary stability) ที่ดี และ เมื่อมีการปรับสภาพผิวของรากเทียม ให้มีลักษณะขรุขระ พบว่า กระบวนการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน มีความรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพดีขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับ ผิวที่เรียบ^[35] ส่งผลให้รากเทียมนั้น สามารถทำหน้าที่ รับแรงได้เร็วขึ้น ทั้งนี้ ได้มีการศึกษาพิสูจน์ ทั้งในห้องปฏิบัติการ ในสัตว์ทดลอง และ ในมนุษย์ เพื่ออธิบายปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้น^[7, 9, 11-14] จนในปัจจุบัน เป็นที่ยอมรับแล้วว่า ผิวรากเทียมที่มีลักษณะเรียบ ที่เคยใช้อย่างแพร่หลายในอดีตนั้น ปัจจุบันได้ถูกแทนที่ โดยผิวลักษณะขรุขระ ซึ่งถูกปรับสภาพ รวมถึงพัฒนาด้วยเทคโนโลยี และวิธีการต่างๆ กัน เช่น การใช้เทคนิคพลาสมาสเปรย์ (plasma spray) การพ่นเป่าด้วยเกลือวัสดุชนิดต่างๆ (grit blasting) การใช้กรดกัด (acid etching) การเคลือบผิวด้วยสารเคมี (chemical coatings) เป็นต้น มีการศึกษาทดสอบคุณสมบัติของวัสดุ ทั้งองค์ประกอบทางกายภาพ (physical) องค์ประกอบทางเคมี และ ชีวภาพ โดยการทดสอบในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีการวัดผลจากค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพ ของผิวรากเทียมที่ถูกปรับสภาพ อาทิ เช่น การวัดค่าประจุที่ผิว (surface energy/charge) การวัดค่ามุมสัมผัส (contact angle) คุณสมบัติในการเปียกของเหลว (wettability) ตลอดจน การเกาะยึดของเซลล์บนผิวรากเทียม เป็นต้น วิธีการปรับเปลี่ยนลักษณะเชิงภูมิศาสตร์ (topography) ของพื้นผิว จากผิวเรียบเป็นผิวที่มีความขรุขระ ดังกล่าวข้างต้นนั้น จะมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมี หรือทางกายภาพของผิวรากเทียม อันจะมีผลต่อ การเปลี่ยนแปลงรูปของเซลล์ ที่มาเกาะยึด เพราะว่า โปรตีนในเลือด และการตอบสนองของเกล็ดเลือด จะมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลง คุณสมบัติทางกายภาพของวัสดุ^[17] แม้ว่าการเปลี่ยนแปลงนั้น จะเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ มีการศึกษาพบว่า ผิวไทเทเนียมเองก็มีคุณสมบัติกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด (thrombogenicity) ได้ดีกว่าวัสดุชีวภาพชนิดอื่น ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าว จะส่งผลดี ต่อกระบวนการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน ต่อมา^[36]

2.4 ผลของผิวรากเทียมที่ถูกปรับสภาพต่อกระบวนการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน

การปรับสภาพผิวรากเทียม นั้น เริ่มตั้งแต่การทำให้ผิววัสดุมีความขรุขระในระดับมหภาค (macro level) จนในปัจจุบัน ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีด้านวิศวกรรม และเคมี ทำให้การปรับ

สภาพผิวรากเทียม มีความขรุขระ ถึงระดับจุลภาค ในไมโครสเกล (micro scale) หรือแม้กระทั่งนาโนสเกล (nano scale)^[37] ผลของความขรุขระระดับมหภาค ส่งผลให้เกิดเสถียรภาพ และการยึดอยู่ของรากเทียมแบบปฐมภูมิ แต่ผลที่เกิดจากการปรับสภาพผิวให้ขรุขระ ในระดับไมโคร จะส่งผลต่อปฏิกิริยาการยึดเกาะของโครงร่างไฟบริน การเคลื่อนตัวมาและการเกาะยึดของเซลล์ ส่วนความขรุขระในระดับนาโนสเกล จะมีผลต่อปฏิกิริยาต่างๆ เช่น ปฏิกิริยาการดูดซับของโปรตีน ปฏิกิริยาการเกาะยึด และ ตอบสนองของเซลล์ เป็นต้น ทั้งนี้ เพื่อให้เกิดความเสถียรแบบทุติยภูมิ (secondary stability) อย่างรวดเร็ว อันเป็นผลจากการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน^[35, 38]

การเปลี่ยนแปลง ลักษณะเชิงภูมิศาสตร์ และความขรุขระ ของผิวรากเทียมในระดับจุลภาคนี้ ส่งผลดี ต่อกระบวนการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน ผ่านทางทางปฏิกิริยา จากการดูดซับโปรตีนบนผิวรากเทียม^[4]ที่มีผลต่อการกระตุ้น การตอบสนองของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระดูก ให้สามารถเคลื่อนมาประชิด ยังผิวรากเทียมได้ โดยเซลล์เคลื่อนตัวผ่านโปรตีน และโครงร่างของไฟบริน ที่อยู่ในเลือดที่แข็งตัวรอบรากเทียม^[21] ความขรุขระของพื้นผิวนี้ ยังมีผลโดยตรง ต่อการเกาะยึด ของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระดูก ต่อเนื่องไป จนถึงการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (proliferation) และ พัฒนาการของเซลล์ (differentiation) ไปเป็น เซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) ต่อไป มีรายงานการศึกษา จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยใช้เซลล์ จากกระดูกคาววาเรียม (calvarium) ของหนู^[5] พบว่า เซลล์ที่เหมือนเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast-like cell) สามารถเกาะยึดอย่างรวดเร็ว บนผิววัสดุที่ขรุขระ รวมทั้ง มีพัฒนาการเพื่อเป็นเซลล์ ที่ไปทำหน้าที่สร้างกระดูกได้มากกว่า นอกจากนี้ ผิววัสดุที่ขรุขระ สามารถดึงดูดเกล็ดเลือด และโมโนไซต์ (monocyte) ให้มาเกาะยึด ได้ดีกว่าผิววัสดุที่เรียบ ซึ่งเกล็ดเลือด เมื่อถูกกระตุ้น ก็จะทำให้เกิดการหลั่งโกรทแฟคเตอร์จำนวนมาก ที่เกี่ยวข้องกับการฟื้นฟูสภาพของแผล และการสร้างกระดูก^[39] อันเป็นปฏิกิริยาแรกๆ ของการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน ดังนั้น กระบวนการปรับสภาพผิวรากเทียม ให้ขรุขระมีวัตถุประสงค์เพื่อ พัฒนาให้กระบวนการการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน มีความรวดเร็วขึ้น ส่งผลให้รากเทียมนั้น สามารถรับแรงได้เร็วขึ้นด้วย เมื่อก้าวถึงการปรับสภาพผิวของรากเทียมให้ได้ลักษณะดังกล่าวข้างต้น โดยใช้เทคโนโลยี และวิธีการในปัจจุบัน สามารถอธิบายได้ดังนี้

2.5 การปรับสภาพพื้นผิวรากเทียม (surface modification)

แนวความคิดในการปรับสภาพ และพัฒนาผิวรากเทียม ให้มีลักษณะขรุขระ เริ่มต้นจากแนวความคิด ที่จะเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัส ระหว่างผิวรากเทียม และกระดูกเพื่อให้เกิดเสถียรภาพที่ดี จนมาถึงปัจจุบัน ที่มีการพัฒนาผิวรากเทียม เพื่อให้มีการเชื่อม และ ส่งเสริมการสร้างกระดูกรอบรากเทียมอย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ โดยในปัจจุบัน มีหลายวิธี^[20] อันได้แก่ การใช้เทคนิคพลาสมาสเปรย์ การพ่นเป่าด้วยเกล็ดวัสดุชนิดต่างๆ การใช้กรดกัด วิธีอะโนไดซ์เซชัน และ การ

เคลือบผิวด้วยสารเคมี หรือ แม้กระทั่งในปัจจุบัน มีการเคลือบผิวด้วยสารชีวภาพ (bioactive coating) เช่น การเคลือบด้วยสารเซรามิกชีวภาพ พวกละเอียดผสมฟอสเฟต หรือ การขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์ ด้วยวิธีโซล-เจล เป็นต้น โดย วิธีการแต่ละวิธี จะทำให้เกิด ลักษณะความขรุขระบนพื้นผิว ที่แตกต่างกัน แต่ในการศึกษานี้ ได้เลือกพื้นผิว ที่เกิดจากการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์ ด้วยวิธีโซล-เจล มาทำการศึกษา ซึ่งกระบวนการนี้ จะทำให้ได้ฟิล์มเคลือบที่บาง และ มีความขรุขระในระดับนาโนสเกล ดังนั้น ในบทความนี้ จะกล่าวถึงเฉพาะ การปรับสภาพพื้นผิวรากเทียม โดยการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์ ด้วยวิธีโซล-เจล

2.6 วิธีการปรับสภาพพื้นผิวรากเทียมโดยการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์ด้วยวิธีโซล-เจล

วิธีโซล-เจลนี้ เป็นวิธีการเคลือบวิธีหนึ่ง ซึ่งมีข้อดีหลายประการ เหนือกว่าการเคลือบด้วยการใช้พลาสมาสเปรย์^[40, 41] โดยหลักการ สามารถดัดแปลงโครงสร้างเชิงอนุภาค (microstructure) ของผลึกได้ โดยการเปลี่ยนแปลงทางเคมี (chemistry) หรือ ในส่วนกระบวนการขึ้นรูป โดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะ (condition) ต่างๆ เช่น อุณหภูมิในการปรับสภาพด้วยความร้อน เป็นต้น ซึ่งกระบวนการโซล-เจล (sol-gel process) นี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อ ทำให้เกิดฟิล์มบางของเซรามิกที่หนาน้อยกว่า 10 ไมโครเมตร และ วิธีการนี้ จะส่งผลดีหลายประการ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการขึ้นฟิล์มขึ้นด้วยวิธีทั่วไป ได้แก่

1. ส่งผลดีต่อการควบคุมองค์ประกอบทางเคมีของผิวที่เคลือบ
2. ฟิล์มที่เคลือบสม่ำเสมอเป็นเนื้อเดียวกัน (homogenous films)
3. ลดอุณหภูมิในกระบวนการเพิ่มความหนาแน่น (densification) ของเซรามิก และสามารถควบคุมลักษณะทางจุลภาค (microstructure) ของฟิล์มได้
4. ใช้เครื่องมือน้อย และค่าใช้จ่ายไม่สูง เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเคลือบด้วยวิธีอื่น

เมื่อพิจารณาจากความหมาย กระบวนการโซล-เจล คือ กระบวนการสังเคราะห์สารประเภทออกไซด์ (oxides) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการแยกสลายด้วยน้ำ (hydrolysis) ของสารประกอบแอลคอกไซด์ (alkoxides) ผ่านกระบวนการโซล-เจลทรานซิชัน (sol-gel transition) ซึ่งเป็นกระบวนการเชื่อมต่อนี้ เป็นโครงร่างของออกไซด์ ในหน่วยนาโนเมตร โดยมีมวลโมเลกุลอย่างไม่จำกัด สำหรับคำจำกัดความของคำว่า “โซล” คือ การกระจายของอนุภาคคอลลอยด์ (colloid) ในของเหลว โดยทั่วไปแล้ว อนุภาคโซล มีขนาดเล็กเพียงพอ ที่จะแขวนลอยอยู่ในของเหลว โดยใช้หลักการเคลื่อนที่ แบบบราวเนียน (Brownian motion) ขณะที่ “คอลลอยด์” คือ อนุภาคนาโนเมตร กระจายอยู่ทั่วไป ในของเหลว และ “เจล” คือ วัสดุที่ประกอบไปด้วยของแข็ง ล้อมรอบด้วยของเหลว ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาการควบแน่นของอนุภาคโซล กลายมาเป็นวัสดุที่มีโครงสร้างว่าง

ชนิดสามมิติ เมื่อเทียบระหว่าง สารละลายกับโซล ในกระบวนการโซล-เจล จะพบว่า ขั้นตอนแรกเป็นการหาองค์ประกอบ ที่ทำให้สารตั้งต้นเกิดเป็นสารละลาย^[40]

โดยทั่วไป กระบวนการโซล-เจล มักใช้ในการเตรียมแก้ว และเซรามิก ซึ่งสามารถเตรียมได้ทั้งวัสดุอสัณฐาน และวัสดุที่มีโครงสร้างผลึก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ องค์ประกอบของสารตั้งต้น วิธีการเตรียม และ การให้ความร้อน โดยปัจจัยเหล่านี้ จะนำไปสู่กระบวนการ ที่ให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นผง หรือไม่เป็นผง แต่วิธีการที่ทำให้เกิดเป็นฟิล์ม คือ กระบวนการให้ผลิตภัณฑ์ไม่เป็นผง หมายถึง กระบวนการที่เริ่มจาก สารแอลกอฮอล์ที่ถูกย่อยสลาย ให้ผลิตภัณฑ์แก้ว หรือเซรามิกที่มีรูพรุน และ มีรูปร่างตามที่ต้องการ เช่น ฟิล์ม เส้นใย เป็นต้น ไม่ว่าจะเป็ กระบวนการที่ให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นผง หรือไม่เป็นผง ก็ตาม ต่างมีความสำคัญต่อการขึ้นรูปเซรามิก และ กระบวนการ ที่ทำให้สารมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น (predensification process) ปัจจัยสำคัญของกระบวนการนี้คือ ความบริสุทธิ์ของสารตั้งต้น และปัจจัยอื่นๆ^[42]

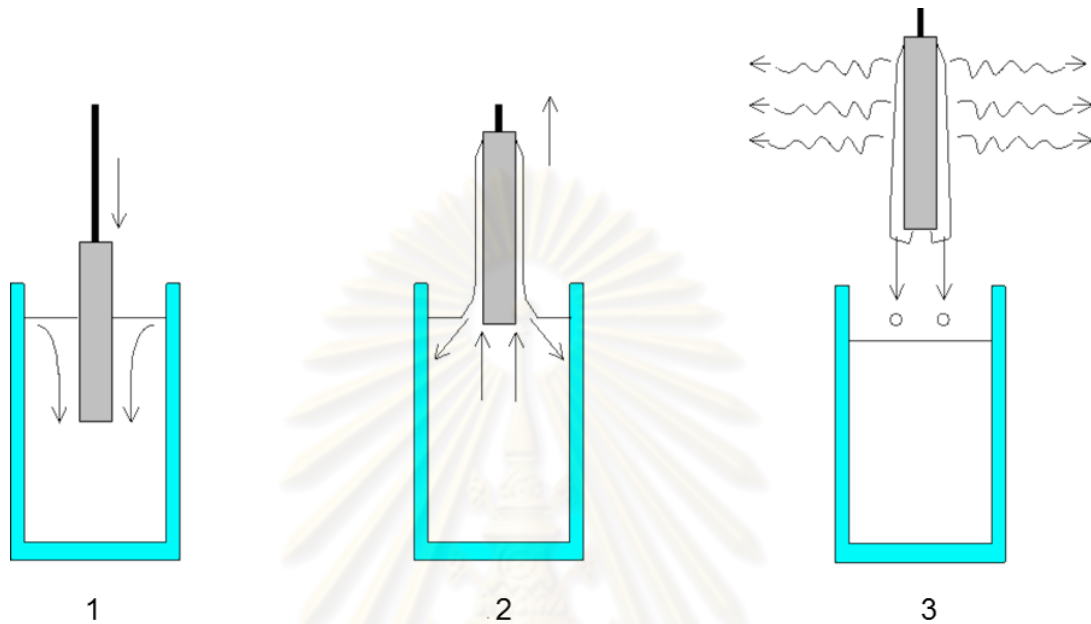
เนื่องจากสารตั้งต้นของกระบวนการนี้ อยู่ในรูปสารละลายเคมี ซึ่งจะทำหน้าที่สร้างโครงร่างขึ้นมา ตัวอย่างของสารละลายดังกล่าว เช่น อัลคอกไซด์ของโลหะ (metal alkoxides) คลอไรด์ของโลหะ (metal chlorides) และ สารละลายเซรามิก (ceramic solution) เป็นต้น โดยในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะสารละลายเซรามิก โดยรูปแบบการเตรียมสารละลายเซรามิก สำหรับกระบวนการโซล-เจล มีอยู่ 2 วิธี คือ

วิธีที่ 1 เป็น การกระจาย (dispersion) ของอนุภาคคอลลอยด์ (colloid) ในของเหลว เพื่อที่จะก่อตัว (form) เป็น “โซล” ตามมาด้วยการ destabilization ของโซลเพื่อผลิตเจลแบบพาร์ติคูลเลต (particulate gel)

วิธีที่ 2 เป็น การนำเอาสารประกอบโลหะอินทรีย์ (metalorganic compound) มาย่อยสลายด้วยน้ำ และ ควบแน่น เพื่อให้เกิดเจล แบบพอลิเมอร์ริก (polymeric gel)

เมื่อทำการเตรียมสารละลายแล้ว ขั้นตอนต่อไปคือ การนำไปขึ้นรูป โดยวิธีการขึ้นรูปนั้นสามารถทำได้ 2 วิธี คือ การจุ่มเคลือบ (dip coating) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายในการเคลือบผิว (ภาพที่ 2.2) ส่วนอีกวิธี คือ การเคลือบผิวแบบหมุน (spin coating) แต่อย่างไรก็ตาม การขึ้นรูปนี้ยังไม่สมบูรณ์จนกว่าจะนำไปปรับสภาพด้วยความร้อน (heat treatment) ด้วยอัตราคงที่ เพื่อให้ผลึกของเซรามิกจับตัวกันแน่น โดยอุณหภูมิปกติ ที่ใช้ในการปรับสภาพด้วยความร้อนอยู่ระหว่าง 400 ถึง 920 องศาเซลเซียส และด้วยวิธีการนี้ จะทำให้ได้ชั้นฟิล์มที่บางมาก มีความหนาตั้งแต่ 0.1 ถึง 1 ไมโครเมตร ซึ่งฟิล์มเหล่านี้เมื่อสัมผัสกับของเหลวในร่างกาย ก็จะกระตุ้นการดึงดูดของผลึกอะพาไทท์ในระบบชีววิทยาของร่างกายให้มาสะสมที่ผิว อย่างไรก็ตาม การขึ้นรูปด้วยวิธีโซล-เจลนั้นมีความหลากหลาย อันเป็นผลจากปัจจัยต่างๆ อาทิ เช่น องค์ประกอบของสารละลาย ระยะเวลาที่

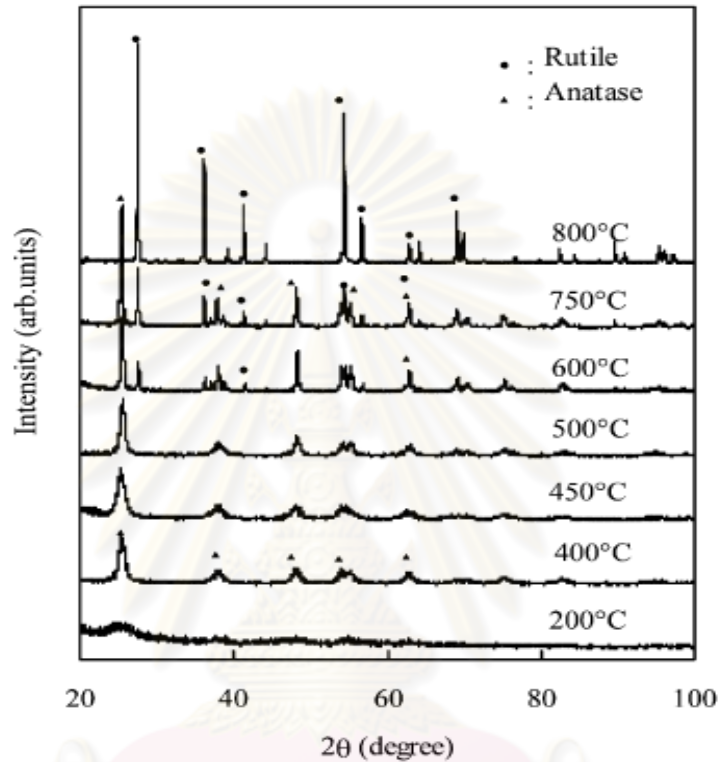
ทั้งฟิล์มไว้ก่อนนำไปปรับสภาพด้วยความร้อน อุณหภูมิที่ใช้ในการปรับสภาพด้วยความร้อน เป็น ต้น ซึ่งปัจจัยที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ เป็นผลให้เกิดความแตกต่างเชิงโครงสร้างและรูปแบบการเรียงตัว ของผลึก เมื่อทำการขึ้นรูปแล้ว



ภาพที่ 2.2 ภาพวาดแสดงขั้นตอนการขึ้นรูปโดยการจุ่มเคลือบ (stage of the dip coating process)^[43] โดย ขั้นตอนที่หนึ่ง (1) เป็นการจุ่มเคลือบแกนตั้งต้น ลงในสารละลายโซล ขั้นตอนที่สอง (2) ดึงแกนตั้งต้นที่เปียกสารละลายโซลขึ้นมา และ ขั้นตอนที่สาม (3) ปล่อยให้ละลายโซลระเหยเพื่อให้เกิดชั้นของเจลขึ้น

จากรายงานการศึกษา^[30] พบว่า อุณหภูมิการปรับสภาพด้วยความร้อนที่สูงขึ้น จะทำให้สภาพผลึกของไทเทเนียมออกไซด์ เป็นระเบียบมากขึ้น โดยการปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 200 องศาเซลเซียส จะให้สภาพผลึกแบบ อสัณฐาน แต่การปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 400 องศาเซลเซียส ถึง 500 องศาเซลเซียส จะได้สภาพผลึกแบบอะนาเทส และความเป็นอะนาเทส จะเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิการปรับสภาพด้วยความร้อน ให้สูงขึ้นอีก แต่ไม่เกิน 600 องศาเซลเซียส ส่วนการปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 600-750 องศาเซลเซียส จะได้สภาพผลึกแบบอะนาเทส และ รูไทต์ สำหรับที่อุณหภูมิเหนือกว่า 800 องศาเซลเซียส จะได้สภาพผลึกแบบรูไทต์อย่างเดี่ยว (ภาพที่ 2.3)^[44] โดยสภาพผลึกแบบรูไทต์นี้ เป็นโครงสร้างผลึกแบบออคตาหีด และเชื่อว่า ความแตกต่างเชิงโครงสร้างผลึกนี้ จะไปมีผลต่อพฤติกรรมของเซลล์^[45] หรือ ปฏิกริยาต่อองค์ประกอบอื่นในร่างกาย แตกต่างกันด้วย

สำหรับการศึกษานี้ ได้เลือกใช้สารละลายเซรามิก ของไทเทเนียมออกไซด์ โดยใช้การเตรียมสารละลายเป็นเจล แบบพาร์ติคูลेट (วิธีที่ 1) และ นำไปขึ้นรูปด้วยการจุ่มเคลือบ ก่อนนำไปปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส และ 550 องศาเซลเซียส เพื่อให้เกิดสภาพผลึก ที่มีโครงสร้างผลึกแบบอัสฐาน และ แบบอะนาเทส ตามลำดับ



ภาพที่ 2.3 ลวดลายการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ ของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลา 1 ชั่วโมงแสดงลักษณะสภาพผลึกของไทเทเนียมออกไซด์ที่เกิดขึ้น ตามช่วงของอุณหภูมิการปรับสภาพด้วยความร้อน^[44]

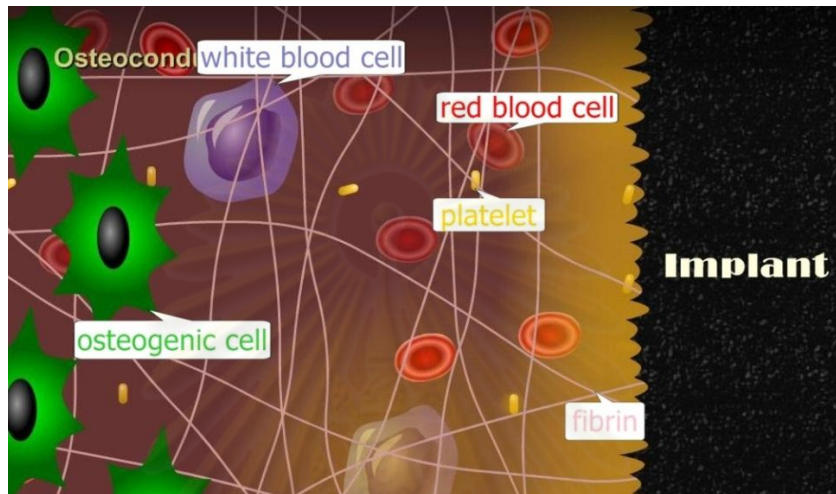
จากบทความข้างต้น จะเห็นได้ว่า พื้นผิวของรากเทียมไทเทเนียมมีบทบาทอย่างยิ่งต่อปฏิกิริยาทางชีวภาพ แม้พื้นผิวมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ หรือเคมีเพียงเล็กน้อย ก็จะทำให้เกิดปฏิกิริยาที่เปลี่ยนไป อันจะส่งผลโดยตรง ต่อการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน ผลที่เกิดจากการปรับสภาพพื้นผิวรากเทียม ได้นำไปสู่ความสนใจในการศึกษา กระบวนการสร้างกระดูกเชื่อมประสานควบคู่กันไป เพื่อที่จะได้อธิบายปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้น ดังนั้นเราจึงจำเป็นต้องเข้าใจ กระบวนการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน เพื่อนำมาพัฒนาและออกแบบรากเทียมให้มีความเหมาะสม

2.7 การสร้างกระดูกเชื่อมประสาน (formation of osseointegration)

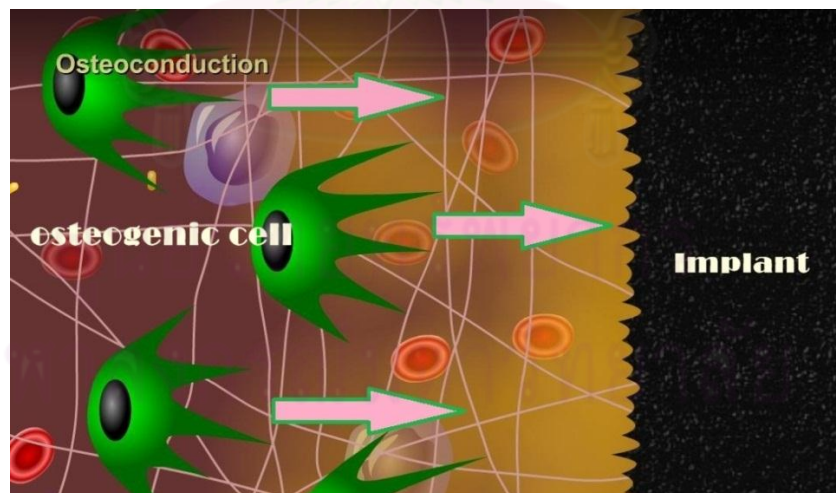
ในปี ค.ศ. 1969 Branemark ได้สังเกตว่า กระดูกปกติ สามารถสร้างเข้ามาแนบประชิดกับผิวสกรูไทเทเนียม หรือ รากเทียมโดยตรง โดยไม่มีชั้นของเนื้อเยื่ออ่อน เข้ามาแทรกระหว่างกลาง และ เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า “การสร้างกระดูกเชื่อมประสาน”^[2, 46] โดย ได้ให้นิยามความหมายของการสร้างกระดูกเชื่อมประสานว่า “เป็นการเชื่อมต่อประสานโดยตรง ทางโครงสร้างและการทำหน้าที่ ระหว่างกระดูกมีชีวิตที่มีการเรียงตัวเป็นลำดับอย่างมีระเบียบ กับผิวของรากเทียมที่ได้รับแรงบดเคี้ยวมาแล้ว” (a direct structural and functional connection between ordered, living bone and the surface of a load-bearing implant)^[46, 47] ในทางคลินิก เราสามารถสังเกตกระบวนการนี้ได้ โดยดูจากความเสถียร และการยึดติดกับกระดูกของรากเทียม แต่ลักษณะทางคลินิกนี้ ก็ไม่สามารถอธิบายกระบวนการทางชีวภาพ (biologic process) ที่เกี่ยวกับการควบคุมการสร้างกระดูก และการคงรักษาเสถียรภาพของรากเทียม กับผิวกระดูก กระบวนการที่ซับซ้อนเกี่ยวกับการยึดติดนี้ เริ่มต้นตั้งแต่ การเตรียมกระดูกเพื่อฝังรากเทียม ผลที่ตามมาก็คือ การเริ่มการซ่อมแซมของกระดูก ตามมาด้วย การสร้างกระดูกรอบๆรากเทียม โดยกระบวนการ จะต้องใช้เวลา และมีพลวัต (dynamic) ตลอดเวลา ทั้งนี้ การสร้างดังกล่าวจะสมบูรณ์ประมาณ 3-4 เดือน หลังจากนั้น พื้นผิวระหว่าง (interface) กระดูก กับรากเทียมนดังกล่าว ก็คงสภาพได้ โดยการเกิดกระบวนการปรับรูปของกระดูก (bone remodeling) ซึ่งเกิดวนเวียน ตลอดอายุการใช้งานของรากเทียม อย่างไรก็ตาม หากจะอธิบายถึงปรากฏการณ์นี้ ในเชิงกระบวนการทางชีวภาพ โดยเสนอแนวทางที่ว่า การสร้างของกระดูกรอบรากเทียม เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นเป็นลำดับ ต่อเนื่องกันไปอย่างเป็นระบบ โดยเริ่มจากกระบวนการดังต่อไปนี้

การแข็งตัวของเลือด (blood clot formation) เป็นที่ทราบกันดีว่า ในการฝังรากเทียมนั้น จะต้องมีการเตรียมพื้นที่ของกระดูก เพื่อให้เป็นที่อยู่ของรากเทียม วิธีการดังกล่าว ทำให้เกิดภาวะเลือดออก อันเป็นผลจากกระดูกที่ถูกกรัดตัด เมื่อทำการฝังรากเทียม ย่อมเกิดช่องว่างเล็กๆ ระหว่างรากเทียม กับกระดูกที่จะมีเลือดแทรกซึมอยู่ ผิวรากเทียมเมื่อสัมผัสกับเลือด มักจะดูดซับเอาน้ำพลาสมาโปรตีน (plasma protein) ที่อยู่ในเลือด ทำให้เกล็ดเลือดเข้ามายึดเกาะ และถูกกระตุ้น การกระตุ้นเกล็ดเลือด จะมีผลให้เกิดการสลายแกรนูล (degranulation) ตามมา (ภาพที่ 2.4)^[21] ขณะเดียวกัน ก็เกิดการสร้างไฟบริโนอย่างรวดเร็ว อันเป็นผลมาจาก กลไกการแข็งตัวของเลือด (extrinsic and intrinsic pathway) เลือดที่แข็งตัว จะทำหน้าที่เป็นสิ่งกีดขวางทางกายภาพ ที่จะหยุดยั้งภาวะเลือดออก นอกจากนี้ การกระตุ้นเกล็ดเลือด ทำให้มีการหลั่ง โกรทแฟคเตอร์ (growth factor) และไซโตไคน์ (cytokine) ที่เกี่ยวข้องกับการฟื้นฟูสภาพของแผลจำนวนมากเช่น platelet-derived growth factor (PDGF), insulin-like growth factor (IGF), transforming growth factor β (TGF- β), vascular endothelial growth factors (VEGF) และ fibroblast

growth factors (FGF)^[39, 48] ผลดังกล่าว นำไปสู่การดึงดูดทางเคมี ซึ่งจะชักนำให้เซลล์ที่เกี่ยวข้องกระดูก (osteogenic cell) เคลื่อนตัวมาที่ผิวของรากเทียม โดยเซลล์นั้น เคลื่อนตัวผ่านทางโครงร่างไฟบริน (fibrin scaffold) อันเกิดจากการแข็งตัวของเลือดซึ่งเป็นแหล่งสะสม (reservoir) โกรทแฟคเตอร์ และ ไซโตไคม์ กลไกนี้ทำให้เกิดการสร้างเมทริกซ์ และสานตัวกันเป็นโครงร่าง ทำให้เซลล์ที่เกี่ยวข้องกระดูก เคลื่อนตัวเข้ามาสู่ผิวรากเทียมได้^[21] (ภาพที่ 2.5)



ภาพที่ 2.4 ภาพจำลองเหตุการณ์ แสดงองค์ประกอบของเซลล์ต่างๆ ที่อยู่รอบผิวรากเทียม เมื่อทำการฝังรากเทียมลงในเบ้ากระดูกที่เตรียมไว้ และเกล็ดเลือดที่ไปสัมผัสกับผิวรากเทียม ถูกกระตุ้นจนมีผลให้เกิดการสลายแกรนูล^[21]



ภาพที่ 2.5 ภาพจำลองเหตุการณ์ แสดงการเคลื่อนตัวของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระดูก ผ่านโครงร่างไฟบริน มายังผิวของรากเทียม^[21]

จึงเห็นได้ว่า ผิวรากเทียมที่สัมผัสกับเนื้อเยื่อในร่างกาย คือ ส่วนสำคัญ ที่มีผลโดยตรงต่อการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเลือด และรากเทียม เนื่องจากโปรตีนที่ถูกดูดซับ และการตอบสนองของ

เกล็ดเลือด จะไวต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพของผิวรากเทียมที่สัมผัส แม้ว่าการเปลี่ยนแปลงนั้น จะเกิดเพียงเล็กน้อย การยึดเกาะ และปฏิกิริยาต่างๆ จะเกิดได้ดีบนผิวที่มีความขรุขระมากกว่า พื้นผิวที่เรียบ^[49] ภายหลังจากการแข็งตัวของเลือด จะเกิดการเหนี่ยวนำเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ (inflammatory cells) เข้ามาสู่ที่บาดแผล นิวโทรฟิลล์ จะเป็นเซลล์ตัวแรกที่แทรกซึม และเคลื่อนตัวมาถึงก่อน ส่งผลทำให้ มีการเพิ่มจำนวนของโมโนไซต์ (monocyte) และเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblast) โดยโมโนไซต์ จะเปลี่ยนตัวเอง ไปเป็นแมคโครฟาจ (macrophage) มาทำหน้าที่ ย่อยสลายเศษเนื้อเยื่อ หรือส่วนที่เสียหาย (debris) ที่บริเวณแผลตรงส่วนกลางของก้อนเลือด มีการทำงานของเซลล์จำนวนมาก ทำให้ มีความต้องการใช้ออกซิเจนมาก แต่ก็มีไม่เพียงพอ จึงทำให้เกิดการสันดาปแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic metabolism) ผลที่เกิดขึ้น ทำให้ได้กรดแลคติกกลางก้อนเลือด ส่งผลให้ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) และออกซิเจนลดลง จึงเกิดการดึงดูดเซลล์หลอดเลือด (endothelial cell) และเซลล์ต้นกำเนิด (mesenchymal cell) มาที่บริเวณแผล ทำให้เกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่^[49]

การสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) เป็นปัจจัยสำคัญ ที่บ่งชี้ความสำเร็จของการรักษาด้วยอย่างหนึ่ง ความสามารถในการทำงานของเซลล์ ในระหว่างที่มีการซ่อมแซมกระดูก โดยเฉพาะ ที่ปลายของหลอดเลือดฝอยที่ฉีกขาด จะมีเซลล์หลอดเลือด เคลื่อนตัวมาตามปฏิกิริยาการเข้าหา เพื่อที่จะสร้างตัวเป็นหน่อของหลอดเลือดฝอย ที่มีลักษณะกลวง สิ่งกระตุ้นให้เกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่ ได้แก่ ออกซิเจนปริมาณต่ำ กระบวนการสันดาปสูง และ การกระตุ้นการทำงานของแมคโครฟาจ ร่วมกับกระบวนการฟื้นฟูสภาพของแผล ที่เกิดขึ้นภายใน 48-72 ชั่วโมงแรก^[50] หลอดเลือดใหม่ที่สร้างขึ้น มีประมาณร้อยละ 60 ของเนื้อเยื่อแกรนูเลชัน ส่วนที่เหลือจะเป็นพวกแมคโครฟาจ เซลล์สร้างเส้นใย และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ที่จับตัวกันอย่างหลวมๆ (loose connective tissue) การสร้างเนื้อเยื่อแกรนูเลชันนี้ จะเริ่มในวันที่ 4 และ ต่อเนื่องไปประมาณ 3 สัปดาห์ ระหว่างนี้ จะมีการสร้างเส้นใย และการสร้างหลอดเลือด สานตัวกันเป็นโครงยึด โดยอาศัยการทำงานร่วมกันขององค์ประกอบ 3 อย่าง คือ แมคโครฟาจ เซลล์สร้างเส้นใย และหลอดเลือดใหม่ โดยแมคโครฟาจ จะหลั่งโกรทแฟคเตอร์ ไปกระตุ้นให้เซลล์สร้างเส้นใย สร้างโครงยึดนอกเซลล์ (extracellular matrix, ECM) เพื่อช่วยค้ำยันให้เซลล์ และชักนำเส้นเลือดให้ขนส่งสารอาหารที่จำเป็นมาสำหรับการสร้างเซลล์ ต่อจากนั้น โครงค้ำยันนี้ ก็จะถูกแทนที่ด้วย เส้นใยคอลลาเจน ที่เซลล์สร้างเส้นใยสร้างขึ้น ประมาณวันที่ 7-10 เซลล์สร้างเส้นใยบางส่วน จะเปลี่ยนเป็นเซลล์สร้างเส้นใยกล้ามเนื้อ (myofibroblast) ซึ่งทำให้เกิดการดึงตัวของแผล

การสร้างกระดูก woven จุดเริ่มต้นของการสร้างเนื้อเยื่อแข็งหรือกระดูกเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในเซลล์ ที่เกี่ยวกับรูปร่าง และการเรียงตัวของนิวเคลียส (polarization) ของเซลล์สร้างกระดูก รวมถึง การผลิตและ หลังโปรตีน ในช่วงแรก มีการดูดซับโปรตีนเกี่ยวกับ

กระดูกที่ไม่ใช่คอลลาเจน (non-collagenous protein) อันได้แก่ ออสทีโอพอนติน (osteopontin) และ โบนาไซโอโปรตีน (bone sialoprotein) มาบนผิวรากเทียม ซึ่งมีโครงยึดคอลลาเจนคาดอยู่ โดย แคลเซียมฟอสเฟต (calcium phosphate) จะทำหน้าที่เป็นแกนผลึก ด้านที่เป็นแคลเซียมจะทำหน้าที่จับกับโปรตีน ตามมาด้วย การสร้างผลึกบนโครงยึดคอลลาเจน ท้ายที่สุด โครงค้ำยันที่เป็นคอลลาเจน ก็จะถูกแทนที่ทั้งหมดด้วยผลึกของแคลเซียมฟอสเฟต หรือเรียกว่าการสะสมแร่ธาตุ เรียกลักษณะกระดูกที่สร้างใหม่นี้ว่า “woven bone” หรือ “primary bone spongiosa” กระบวนการสร้างกระดูกนี้ เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และไม่ได้เกิดในเวลาเดียวกัน (asynchronous) ดังนั้น รูปร่างกระดูกที่เกิดขึ้น จึงไม่เป็นระเบียบ ตามการเรียงตัวของเส้นใยคอลลาเจน รูปร่างที่ไม่เรียบของเซลล์กระดูก รวมทั้งความหนาแน่นของแร่ธาตุ ที่ยังอยู่ในระดับต่ำ การสร้างกระดูกนี้จะเกิดในช่วง 4-6 สัปดาห์หลังการฝังรากเทียมในกระดูก

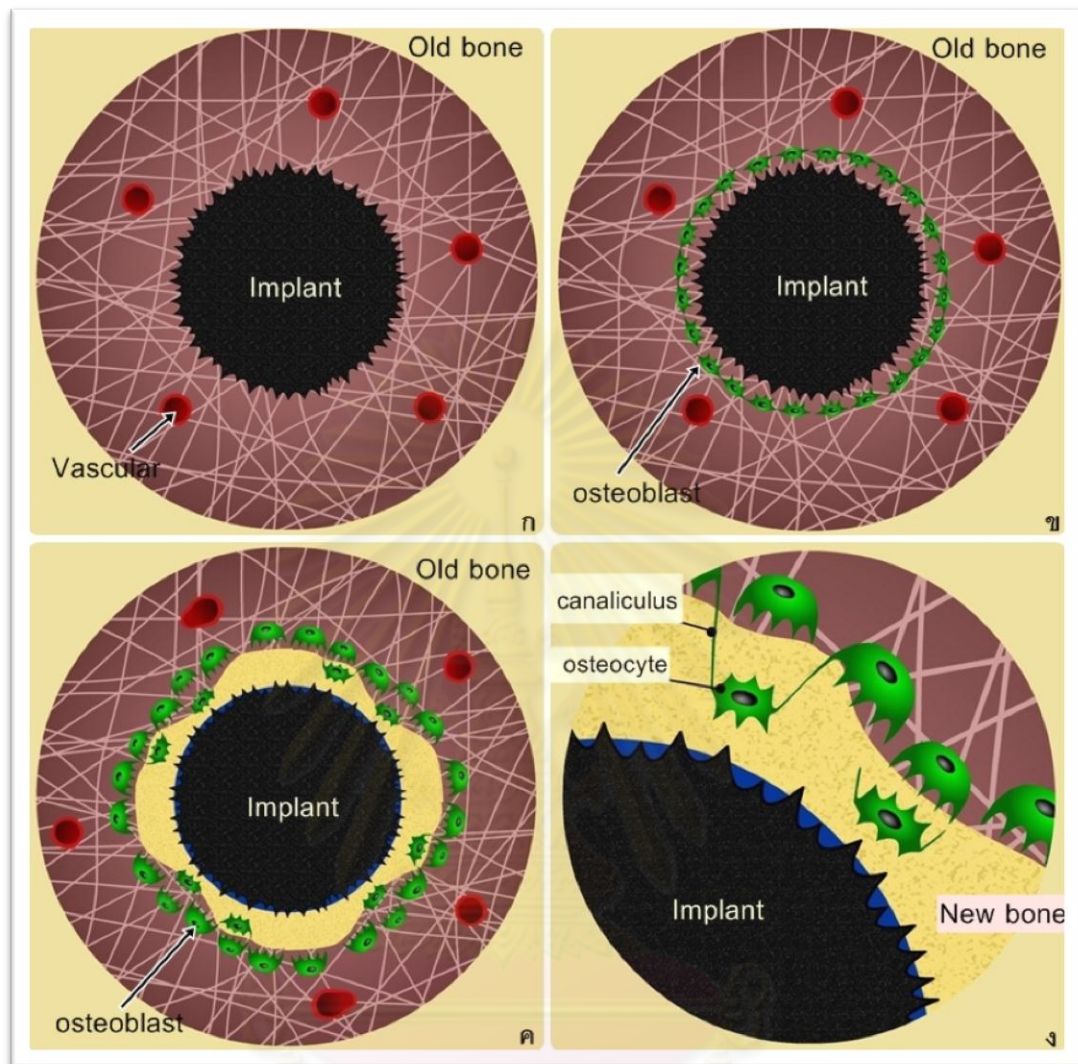
การสร้างกระดูก lamellar ในเดือนที่ 2 woven bone จะถูกแทนที่ด้วยกระดูก lamellar ซึ่งจะมีบทบาทต่อไปในการสร้างระบบฮาร์เวอร์เซียน (haversian architecture) และ ไขกระดูก (bone marrow)^[51] เส้นใยคอลลาเจนจะมารวมตัวและเรียงตัวเป็นชั้นๆ อย่างเป็นระเบียบ โดยจะเห็นมีเส้นแนวแยกระหว่างชั้น (alternating course) ซึ่งทำให้เกิดความแข็งแรงสูง กระดูก lamellar ที่สร้างใหม่จะมีโครงสร้างเป็นวง โดยมีรูตรงกลาง จะสัมผัสอยู่ชิดกับผิวรากเทียม ลักษณะเช่นนี้ ทำให้รากเทียมยึดติด และเป็นผลดีต่อการรับแรงจากการบดเคี้ยว^[25]

กระบวนการปรับรูปของกระดูก (bone remodeling) เริ่มประมาณเดือนที่ 3 และจะเพิ่มอัตราการทำงานต่อเนื่องขึ้นเรื่อยๆ อีกหลายสัปดาห์ ก่อนที่อัตราการทำงานจะช้าลง แต่ยังคงความต่อเนื่องอยู่ตลอดชีวิต กระบวนการนี้ ชี้ให้เห็นถึงการทำหน้าที่ และการปรับตัวของกระดูกต่อการรับแรง โดยการเปลี่ยนทิศทาง และการเรียงตัวของกระดูก^[52] กระบวนการปรับรูปของกระดูก เริ่มต้นจากการละลายตัวของกระดูก โดยเซลล์สลายกระดูก (osteoclast) ตามมาด้วย การสร้างกระดูก และสะสมแร่ธาตุโดยเซลล์สร้างกระดูก การสร้างและการทำลายนั้นจะเกิดควบคู่กันไปตลอดอายุของรากเทียม^[52]

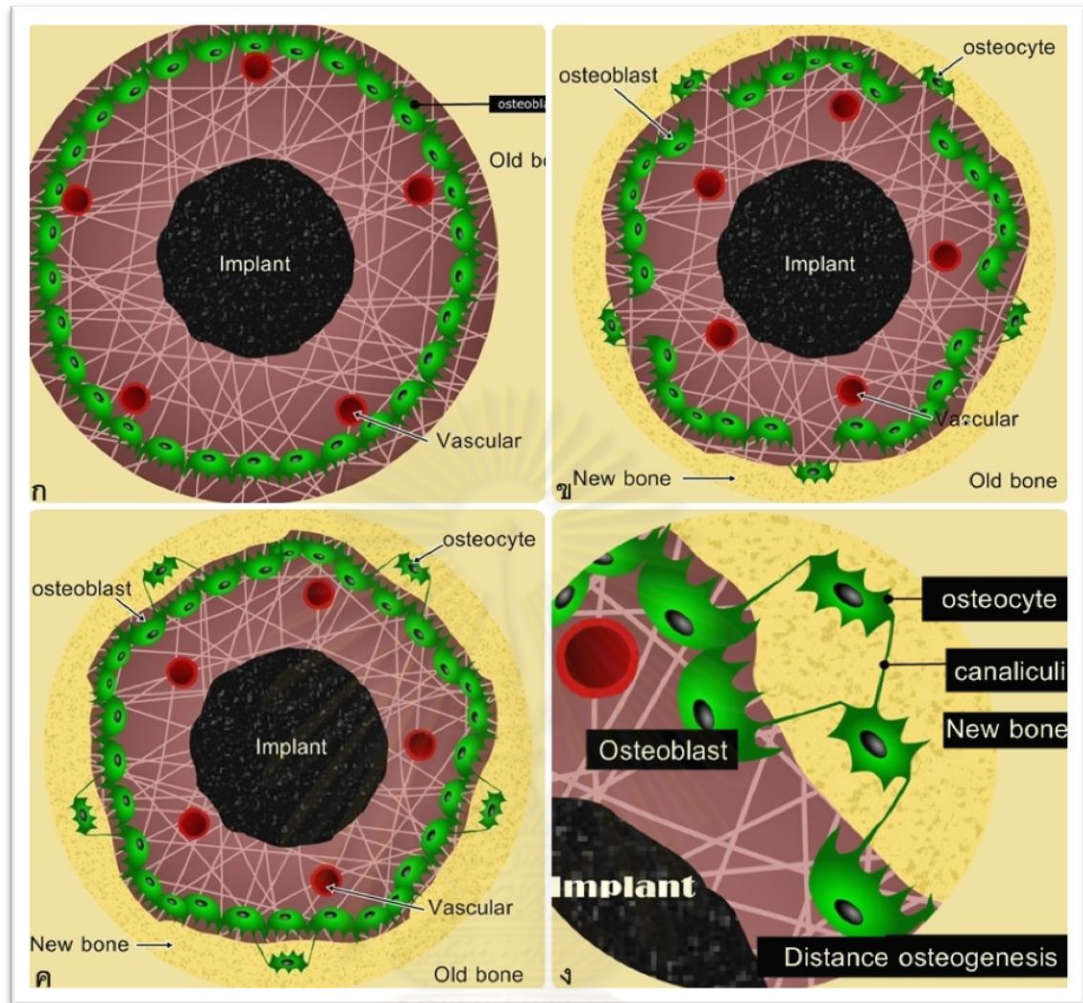
จากความก้าวหน้าในการศึกษากระบวนการสร้างกระดูกรอบรากเทียม อันเป็นผลจากการพัฒนาพื้นผิวของรากเทียม ทำให้มีความสนใจในการศึกษากระบวนการทางชีวภาพควบคู่กันไป เพื่อพัฒนาพื้นผิวรากเทียม ในช่วงที่ผ่านมา นักวิจัยได้ค้นพบว่า มีรูปแบบการสร้างกระดูกรอบรากเทียมซึ่งมีลักษณะการสร้าง 2 แบบคือ

การสร้างกระดูกแบบเริ่มจากผิวสัมผัสของรากเทียม (contact osteogenesis) และแบบเริ่มจากระยะห่างเข้ามาสู่ผิวรากเทียม (distance osteogenesis) การสร้างกระดูกเชื่อมประสานล้อมรอบรากเทียม เป็นผลมาจากปรากฏการณ์ที่แตกต่างกัน 2 ลักษณะ คือ การสร้างกระดูกแบบเริ่มจากผิวสัมผัสของรากเทียม (contact osteogenesis) (ภาพที่ 2.6) และ การสร้างกระดูกแบบเริ่มจากระยะห่างเข้ามาสู่ผิวรากเทียม (distance osteogenesis)^[21] (ภาพที่ 2.7) ในปรากฏการณ์ทั้งสองมีการสร้างกระดูกใหม่ที่เรียกว่า “de novo bone formation”^[51] การทำลายหรือความเสียหายที่เกิดขึ้นจากการเจาะกระดูก จะกระตุ้นให้เกิดการสร้างกระดูกบริเวณดังกล่าว ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไปมา ในปี ค.ศ. 1988 Roberts^[48] รายงานว่า ภายหลังจากการถอดกระดูก แม้ว่าจะใช้เทคนิคทางศัลยกรรมที่เหมาะสม แต่กระดูกแข็ง (compact bone) ภายในระยะ 1 มิลลิเมตรที่ติดกับบริเวณที่ถอดกระดูก จะตายภายหลังจากการทำหัตถการ กระบวนการซ่อมแซม และ ปรับรูปของกระดูกบริเวณที่กระดูกตาย จะใช้เวลาประมาณ 4 เดือน โดยผิวของกระดูกที่เหลืออยู่ จะมีเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระดูก มาเกาะยึดและทำหน้าที่สร้างและหลังเมทริกซ์เพื่อสร้างกระดูกต่อไป

การสร้างกระดูกใหม่ขึ้นโดยตรงบนผิวรากเทียม เกิดจากการเคลื่อนตัวของเซลล์ต้นกำเนิดที่เกี่ยวข้องกับกระดูกเข้ามาเกาะยึดโดยตรงบนผิวรากเทียม ก่อนจะพัฒนาตัวเองไปเป็นเซลล์สร้างกระดูก เรียกกระบวนการนี้ว่า กระบวนการนำการสร้างกระดูก (osteoconduction) เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระดูก เชื่อว่ามาจากเซลล์เนื้อเยื่อรอบหลอดเลือดที่ยังไม่พัฒนา (pericyte)^[51] เซลล์ต้นกำเนิด (mesenchymal cell) ที่ยังไม่ได้พัฒนา จะเคลื่อนตัวผ่านโครงร่างของไฟบรินที่มีลักษณะ สามมิติและโครงสร้างโปรตีนอื่นๆ ที่อยู่ในเลือดที่แข็งตัว เข้ามาสู่ผิวของรากเทียม จากนั้นจะพัฒนาตัวเองไปเป็นเซลล์สร้างกระดูก และ เริ่มสร้างกระดูก โดยเซลล์สร้างกระดูกนั้นจะหลังเมทริกซ์ที่ปราศจากคอลลาเจน (collagen free matrix) ที่เรียกว่าซีเมนต์ไลน์ (cement line)^[53] บนผิวรากเทียมโดยตรง การที่เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระดูกจะมาทำหน้าที่ข้างต้นได้ จำเป็นต้องอาศัยเลือดมาหล่อเลี้ยงอย่างพอเพียงในบริเวณนั้น การสร้างกระดูกแบบเริ่มจากระยะห่างเข้ามาสู่ผิวรากเทียม และ แบบเริ่มจากผิวสัมผัสของรากเทียม เกิดขึ้นพร้อมๆ กันในตำแหน่งประชิดกันระหว่างผิวรากเทียมและกระดูก แต่การสร้างกระดูกแบบเริ่มจากผิวสัมผัสของรากเทียม จะช่วยให้รากเทียมมีความเสถียรแบบทุติยภูมิ (secondary stability) ได้เร็วกว่า^[21]



ภาพที่ 2.6 ภาพจำลองเหตุการณ์ แสดงการสร้างกระดูกแบบเริ่มจากผิวสัมผัสของรากเทียม (contact osteogenesis)^[21] โดยเริ่มจาก การแข็งตัวของเลือดจนเกิดโครงร่างไฟบริน และการเข้ามาของหลอดเลือดรอบรากเทียม (ก) จากนั้น เซลล์สร้างกระดูกเคลื่อนตัวผ่านโครงร่างของไฟบริน ที่มีลักษณะสามมิติ และโครงสร้างโปรตีนอื่นๆ ที่อยู่ในเลือดที่แข็งตัว เข้ามาสู่ผิวของรากเทียม (ข) เซลล์สร้างกระดูกจะหลั่งเมทริกซ์ที่ปราศจากคอลลาเจน ที่เรียกว่าซีเมนต์ไลน์ และเริ่มกระบวนการสร้างกระดูก (ค) ระหว่างการสร้างกระดูก เซลล์สร้างกระดูกบางส่วน ถูกฝังตัวกลายเป็น osteocyte และมีการเชื่อมต่อกันด้วย canaliculus (ง)



ภาพที่ 2.7 ภาพจำลองเหตุการณ์ แสดงการสร้างกระดูกแบบเริ่มจากระยะห่างเข้ามาสู่ผิวรากเทียม (distance osteogenesis)^[21] เริ่มจากการพัฒนาของเซลล์ต้นกำเนิดเป็นเซลล์สร้างกระดูก (ก) แล้วจึงเริ่มกระบวนการสร้างกระดูกบนพื้นผิวกระดูกเดิม รวมถึงเริ่มมีการฝังตัวของ osteocyte เมื่อสร้างกระดูกไประยะหนึ่ง (ข) จากนั้น เซลล์สร้างกระดูกเคลื่อนตัวมาแทนบริเวณที่ osteocyte ถูกฝังตัว (ค) osteocyte ที่อยู่ในกระดูกมีการเชื่อมต่อกันด้วย canaliculi (ง)

ดังนั้น จากความเข้าใจในกระบวนการทางชีวภาพของการสร้างกระดูกรอบรากเทียมข้างต้นนั้น ร่วมกับแนวคิดด้านการพัฒนาความรู้ และเทคโนโลยีการปรับสภาพผิวของรากเทียม ด้วยวิธีต่างๆ รวมถึงวิธีไฮล-เจด จึงนำมาสู่ความสนใจ ศึกษาปรากฏการณ์ดังกล่าว นอกจากนี้ยังได้ตระหนักอีกว่า เลือดซึ่งเป็นเนื้อเยื่อลำดับแรกที่มาสัมผัสกับผิววัสดุรากเทียม มีความสำคัญ และเป็นขั้นตอนแรกที่มีบทบาทต่อการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน^[36] แม้กระนั้น ปริมาณงานวิจัย และความรู้ยังคงมีจำนวนจำกัด ด้วยเหตุนี้ ผู้ศึกษาจึงสนใจที่จะนำเอาวิธีการศึกษาทางห้องปฏิบัติการ มาศึกษาโดยรวบรวมความรู้ จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ที่เกี่ยวข้องนำมาปรับใช้

2.8 การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

งานวิจัยในห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องกับเลือดและผิวรากเทียมไทเทเนียมรวมถึงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการโซล-เจลเท่าที่สามารถรวบรวมได้ มีดังต่อไปนี้

ในปี ค.ศ. 1999 Hong และคณะ^[36] ได้ศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติการสร้าง thrombin บนพื้นผิววัสดุชีวภาพต่างๆที่ใช้กันในงานทางการแพทย์ 6 ชนิด ได้แก่ ไทเทเนียมผิวขัดเรียบ (polished titanium surface) ไทเทเนียมที่เคลือบผิวด้วยไทเทเนียมไนไตรด์ (TiN) ทั้งชนิดผิวเรียบ (smooth TiN) และผิวชนิดปรับสภาพให้ขรุขระ 2 แบบคือ rough TiN I และ rough TiN II รวมทั้งเหล็กไร้สนิม (stainless steel) และพีวีซี (PVC) เมื่อสัมผัสกับเลือดรวมส่วน ในแบบจำลองช่องว่าง (*in vitro* chamber model) ที่ออกแบบและพัฒนาโดย Hong ในปี ค.ศ. 1999^[23] เพื่อใช้เป็นเครื่องมือทดสอบการสัมผัสของเลือดบนพื้นผิววัสดุชีวภาพ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งพื้นผิววัสดุชีวภาพ และ เหตุการณ์ระดับเชิงโมเลกุล (molecular events) ที่เกิดขึ้นในสภาพของเหลว (fluid phase) ผลการศึกษาพบว่า rough TiN I ให้ผลในการกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด และ ระบบคอมพลีเมนต์ได้สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับ smooth TiN แต่อย่างไรก็ตามในบทวิจารณ์ได้มีการวิเคราะห์ประเด็น thrombin-antithrombin (TAT) generation ที่มีความแตกต่างกันอย่างมาก ทั้งที่การวัดการจับของเกล็ดเลือด ที่พิจารณาจากค่าการจับกับ adenosine triphosphate (ATP) ซึ่งในไทเทเนียม และ ไทเทเนียมไนไตรด์ มีค่าสูงกว่าสแตนเลสสตีลเล็กน้อยเท่านั้น ความขัดแย้งที่ปรากฏนี้ ยังหาข้อสรุปไม่ได้ และมีแนวคิดที่จะนำไปศึกษาต่อ

ในปี ค.ศ. 2000 Park และ Davies^[35] ได้รายงานผลการศึกษา ระหว่างเม็ดเลือดแดงและเกล็ดเลือดกับผิวของรากเทียม โดยเปรียบเทียบระหว่างพื้นผิวเรียบ (machined surface) กับพื้นผิวที่มีการปรับสภาพให้ขรุขระ โดยใช้กรดกัด 2 ชนิดที่เรียกอย่างย่อว่า DAE ผู้วิจัยได้พิจารณาการเกาะกลุ่มกันของเม็ดเลือดแดง และ เกล็ดเลือด โดยใช้ดัชนีการเกาะกลุ่ม (agglomeration index) ผลการศึกษาพบว่า หลังจากปล่อยให้เลือดสัมผัสกับผิวรากเทียม 10 นาที ปริมาณเม็ดเลือดแดงที่เกาะยึดบนพื้นผิวทั้ง 2 แบบ จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยพื้นผิวที่มีการปรับสภาพให้ขรุขระ หรือ DAE จะมีปริมาณของเม็ดเลือดแดงมากกว่าพื้นผิว machined surface และในปีต่อมา (ค.ศ. 2001) Park และคณะ^[49] ก็ได้รายงานผลการศึกษาในห้องปฏิบัติการ เกี่ยวกับปฏิกิริยาระหว่างเกล็ดเลือดกับไทเทเนียม ในเชิงเปรียบเทียบ ผลการควบคุมหน้าที่ของเกล็ดเลือด ผู้วิจัยศึกษาผิวรากเทียมที่แตกต่างกัน 4 ชนิดคือ DAE กับ 320G ซึ่งเป็นผิวขรุขระและ machined surface กับ ผิวขัดเรียบ (polished surface) โดยให้สัมผัสกับเพลตเล็ตริชพลาสมา (platelet rich plasma, PRP) และวัดผลจากความสามารถในการกระตุ้นการทำงานของเกล็ดเลือดเกล็ดเลือด โดยวัดค่าการก่อตัวของอนุภาคจากเกล็ดเลือด (platelet-derived microparticle formation) และ

การแสดงออกของพีซีเล็กซ์ (p-selection expression) ผลการศึกษาพบว่า พื้นผิวชนิดขรุขระให้ผลในการกระตุ้นการทำงานของเกล็ดเลือดได้ดีกว่าผิวเรียบ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Di Iorio และคณะ^[54] รายงานผลการศึกษาทางห้องปฏิบัติการ ในปี ค.ศ. 2005 โดยเชื่อว่าไฟบริน มีความสำคัญต่อการเคลื่อนตัวของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระดุกมายังผิวรากเทียม และ ความขรุขระของพื้นผิวรากเทียม มีผลต่อการเกาะยึดและปริมาณของโครงร่างไฟบริน จึง ทำการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณของไฟบรินที่เกิดขึ้น หลังจากปล่อยให้เลือดรวมส่วนสัมผัสและ ทำปฏิกิริยาบนพื้นผิวรากเทียมที่มีความเรียบ และขรุขระ ต่างกัน เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างออก และ นำไปผ่านกระบวนการ เพื่อบันทึกภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ก่อนใช้ โปรแกรมวิเคราะห์ภาพ "image J" วัดปริมาณของไฟบริน ผลการศึกษาพบว่าปริมาณของไฟบริน ที่มาเกาะยึดบนพื้นผิวชนิดขรุขระ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับพื้นผิว ที่เรียบ สอดคล้องกับการศึกษาของ Sammons และคณะปี ค.ศ. 2005^[5] ที่เชื่อว่าความขรุขระของ พื้นผิวมีผลต่อการเกาะยึดของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระดุก โดยทำการศึกษาเรื่องการเกาะยึดของ เซลล์สร้างกระดุกบนผิวรากเทียมในห้องปฏิบัติการและให้ผลไปในทางเดียวกัน

ในปี ค.ศ. 2007 Thor และคณะ^[17] ทำการศึกษาปฏิกิริยาการตอบสนองของการแข็งตัวของ เลือด (thrombogenic response) ระหว่างเลือดรวมส่วนที่ใส่สารต้านการแข็งตัวของเลือด (heparinized whole blood) เพลตเล็ตริชพลาสมา (platelet rich plasma, PRP) และ เพลตเล็ต พัวพลาสมา (platelet poor plasma, PPP) เมื่อสัมผัสกับ พื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอย (Ti-13Nb-13Zr) ที่มีรูปร่างเป็นแผ่นสี่เหลี่ยมจัตุรัส การศึกษานี้ วัดการสร้างทรอมบิน (thrombin generation) โดยพิจารณาจากค่า thrombin-antithrombin (TAT) complex และใช้แบบจำลอง ในห้องปฏิบัติการ ที่พัฒนาโดย Hong ปี ค.ศ. 1999^[23] ผลการศึกษาพบว่า เลือดรวมส่วนที่ใส่สารต้าน การแข็งตัวของเลือด ทำให้เกิดการสร้างทรอมบินเหนือกว่า เพลตเล็ตริชพลาสมา และ เพลตเล็ต พัวพลาสมา ประมาณ 1,000 เท่า จากนั้นได้นำเลือดรวมส่วนที่ใส่สารต้านการแข็งตัวของเลือดมา สัมผัสกับพื้นผิวของแผ่นไทเทเนียม รูปแบบที่มีใช้ทางคลินิก ได้แก่ ผิวที่เคลือบด้วยไฮดรอกซีอะพา ไทต์ (hydroxyapatite, HA), TiO₂ grit-blasted titanium (TiOB) และ fluoride ion-modified grit-blasted titanium (TiOB-F) รวมถึงผิวเรียบ (machined titanium) วัดผลด้วยวิธีการเดียวกัน พบว่าพื้นผิวชนิด fluoride ion-modified grit-blasted titanium (TiOB-F) ให้ผลในการสร้าง ทรอมบิน เหนือกว่าทุกกลุ่ม ทั้งนี้ทางผู้วิจัยได้สรุปผลการศึกษาไว้ว่าน่าสนใจว่าเลือดรวมส่วนมี ความจำเป็นอย่างยิ่งในการสร้างทรอมบิน และการกระตุ้นเกล็ดเลือดระหว่างการฝังรากเทียม

จากรายงานที่รวบรวมมาข้างต้น แสดงให้เห็นว่ามีผู้ที่สนใจศึกษาขั้นตอนปฏิกิริยาแรกๆ ที่ เกิดขึ้นในกระบวนการสร้างกระดุกเชื่อมประสานบนผิวรากเทียมและนำมาใช้ทดสอบหรือ

ตรวจสอบคุณสมบัติที่เกิเกิดขึ้นบนผิวรากเทียมแบบต่างๆ ส่วนการศึกษาในห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องกับการขึ้นรูปด้วยวิธีโซล-เจลนั้นเท่าที่รวบรวมได้มีรายงานดังนี้

ในปี ค.ศ. 2003 Liu และคณะ^[44] ศึกษาการนำวิธีขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์เป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล มาใช้ขึ้นรูปฟิล์มบางบน นิเกิล-ไทเทเนียมอัลลอย (Ni-Ti alloy) โดยมีวัตถุประสงค์ที่จะปรับปรุงคุณสมบัติ ให้นิเกิล-ไทเทเนียมอัลลอย มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ โดยศึกษาเปรียบเทียบกับนิเกิล-ไทเทเนียมอัลลอย ที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการ ในมุมการศึกษา คุณสมบัติทางกายภาพ ผู้วิจัยได้ศึกษาทั้งกระบวนการขึ้นรูป รูปร่างลักษณะของพื้นผิว และลักษณะโครงสร้างของฟิล์มไทเทเนียมออกไซด์ด้วย เทคนิคเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรคชัน และ กล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม ผลการศึกษาพบว่า อนุภาคระดับนาโนสเกลของไทเทเนียมออกไซด์มีการฝังตัวอยู่ในชั้นฟิล์มที่หนา 205 นาโนเมตรและ โครงสร้างผลึกไทเทเนียมออกไซด์ส่วนใหญ่เป็นแบบอะนาเทส ชั้นฟิล์มที่เกิดขึ้นมีความแน่น (compact) และเรียบ (smooth) ส่วนคุณสมบัติความต้านทานต่อการกัดกร่อน (corrosion resistance) พบว่าฟิล์มบางของไทเทเนียมออกไซด์ ช่วยปรับปรุงคุณสมบัติความต้านทานต่อการกัดกร่อนของนิเกิล-ไทเทเนียมอัลลอย การศึกษาเชิงชีววิทยาในด้านความเข้ากันได้ของเลือด (blood compatibility) วัดผลจากการเกาะยึดของเกล็ดเลือด ซึ่งการศึกษานี้ใช้เลือดที่ผสมสารต้านการแข็งตัวของเลือด ผลการศึกษาพบว่า นิเกิล-ไทเทเนียมอัลลอย ที่เคลือบด้วยไทเทเนียมออกไซด์มีความเข้ากันได้ของเลือดดีกว่านิเกิล-ไทเทเนียมอัลลอย ที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ ผู้วิจัยจึงสรุปผลการศึกษาว่าการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์ฟิล์มด้วยวิธีโซล-เจลที่นำมาใช้ขึ้นรูปฟิล์มบนนิเกิล-ไทเทเนียมอัลลอย จะช่วยปรับปรุงคุณสมบัติต่างๆทั้งทางกายภาพและชีวภาพของนิเกิล-ไทเทเนียมอัลลอย

ในปี ค.ศ. 2006 Advincula และคณะ^[55] ได้ศึกษาเปรียบเทียบ ระหว่างไทเทเนียมอัลลอยที่ผ่านกระบวนการกัดด้วยกรด และ ปล่อยให้เกิดออกไซด์เอง (passivated Ti6Al4V) กับไทเทเนียมอัลลอย ที่ผ่านกระบวนการเคลือบผิว โดยวิธีการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์ด้วยวิธีโซล-เจล (sol-gel-coated Ti6Al4V) แล้วนำมาทดสอบ การเกาะยึดของเซลล์สร้างกระดูก และการสร้างเมทริกซ์ ผลการศึกษารายงานว่า พื้นผิวของไทเทเนียมอัลลอย ที่ผ่านกระบวนการเคลือบผิวโดยวิธีการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์ด้วยวิธีโซล-เจล ให้ผลการเกาะยึดของเซลล์สร้างกระดูกและการสร้างเมทริกซ์ สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับพื้นผิวไทเทเนียมอัลลอยที่ผ่านกระบวนการกัดด้วยกรดและปล่อยให้เกิดออกไซด์เอง คณะผู้วิจัยได้สรุปผลการศึกษาว่าคุณสมบัติของไทเทเนียมอัลลอยสามารถดัดแปลงให้มีการส่งเสริมความไวต่อปฏิกิริยาชีวภาพ (bioreactivity) ด้วยการปรับสภาพพื้นผิวด้วยวิธีโซล-เจล

ส่วนอีกการศึกษาโดย Areva และคณะในปี ค.ศ. 2007^[45] ได้รายงานผลของการเคลือบผิวซีพีไทเทเนียมเกรด 2 ด้วยการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์-ซิลิกาออกไซด์ ($\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$) ด้วยวิธีโซล-

เจล และปัจจัยที่ศึกษา คือความแตกต่างของสัดส่วนระหว่างไทเทเนียมออกไซด์ และ ซิลิกา ออกไซด์ ในองค์ประกอบของสารละลายที่ใช้ในการเคลือบ ต่อปฏิกิริยาการตอบสนองของเซลล์ สร้างเส้นใย (fibroblast) และ เซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) ผลการศึกษาพบว่า พื้นผิวที่เคลือบ ด้วยสารละลาย ที่ประกอบด้วยไทเทเนียมออกไซด์ ร้อยละ 70 ต่อ ซิลิกาออกไซด์ ร้อยละ 30 จะ ส่งผลดีต่อ เซลล์สร้างเส้นใย แต่ในขณะที่พื้นผิวที่เคลือบด้วย สารละลายที่ประกอบด้วยไทเทเนียม ออกไซด์ ร้อยละ 30 ต่อ ซิลิกาออกไซด์ ร้อยละ 70 จะส่งผลดีต่อเซลล์สร้างกระดูก

จากการรวบรวมรายงานมาทั้งหมด จะเห็นได้ว่า การศึกษาเพื่อประเมินปฏิกิริยาเบื้องต้น เมื่อผิวของรากเทียมสัมผัสกับเลือด หรือ ส่วนประกอบของเลือด มีวิธีการวัดผลในหลายรูปแบบ บนพื้นผิวที่แตกต่างกัน ซึ่งพื้นผิวต่างๆที่ศึกษาเปรียบเทียบ มีความแตกต่างในระดับไมโครสเกล แต่รูปแบบการศึกษานบนพื้นผิวที่มีความแตกต่างระดับนาโนสเกล ในแง่การเกาะยึดของเกล็ดเลือด และการสร้างไฟบริน ยังไม่พบมีรายงานการศึกษาให้เห็น ในการศึกษาที่มุ่งความสนใจที่จะ ศึกษาปฏิกิริยาเบื้องต้นที่เกิดขึ้น เมื่อเลือดสัมผัสกับไทเทเนียมออกไซด์ ซึ่งเป็นชั้นที่อยู่นอกสุดของ ไทเทเนียม และนำไทเทเนียมออกไซด์ที่มี สภาพผลึกแบบออสทราอีน ซึ่งมีการเรียงตัวของผลึกไม่ แน่นหนา กับสภาพผลึกแบบอะนาทาส ซึ่งมีการเรียงตัวของผลึกเป็นระเบียบและมีโครงสร้าง หนาแน่นมากกว่า นำมาศึกษาเปรียบเทียบ โดยเตรียมและขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์บนแกนตั้งต้น คือ กระจกสไลด์ได้ด้วยวิธีโซล-เจล ดังที่มีผู้เคยศึกษามาแล้ว ^[33] จากนั้นใช้เลือดรวมส่วนที่ ปราศจากสารต้านการแข็งตัวของเลือดมาสัมผัสโดยตรงบนพื้นผิวที่เตรียมไว้ ก่อนตรวจวัดการ เกาะยึดของเกล็ดเลือด รวมถึงการสร้างโครงร่างไฟบริน เชื่อว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ไทเทเนียมออกไซด์ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงในระดับนาโนสเกลนี้ จะส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยา ดังกล่าว จึงเป็นที่มาของการศึกษา และการออกแบบการศึกษาในครั้งนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งการศึกษาเป็น 2 ส่วนหลัก คือ (1) การขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์เป็นฟิล์มบางบนพื้นผิวแก้วสไลด์ และการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของชั้นฟิล์มไทเทเนียมออกไซด์ด้านต่างๆ เพื่อนำมาเลือกใช้สำหรับศึกษาปฏิกิริยาทางชีววิทยา (2) การศึกษาปฏิกิริยาทางชีววิทยา โดยการใช้เลือดรวมส่วนที่ปราศจากสารต้านการแข็งตัวของเลือดกับผิวของชั้นฟิล์มไทเทเนียมออกไซด์ เพื่อวิเคราะห์การเกาะยึดของเกล็ดเลือดและการสร้างไฟบริน

3.1. การขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์เป็นฟิล์มบางบนพื้นผิวแก้วสไลด์และการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของชั้นฟิล์มไทเทเนียมออกไซด์

3.1.1 การเตรียมวัสดุแกนตั้งต้น

การศึกษานี้ได้นำกระจกสไลด์ (Superior, Germany) ขนาดกว้าง 20 มิลลิเมตรยาว 75 มิลลิเมตร และมีความหนา 1 มิลลิเมตร มาเป็นวัสดุแกนตั้งต้นเพื่อจุ่มเคลือบ (dip coating) ในสารละลายไทเทเนียมออกไซด์ด้วยเทคนิคโซล-เจล เนื่องจากเป็นวัสดุที่หาได้ง่าย ราคาถูกและสะดวกในการนำมาใช้จุ่มเคลือบโดยกระจกสไลด์จะถูกนำไปทำความสะอาดโดยการแช่ในสารละลายปิรันยา ซึ่งเป็นส่วนผสมของกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 35 ในสัดส่วน 7 ต่อ 3 ตามลำดับ เป็นเวลา 10 นาทีจากนั้นนำมาล้าง (rinse) ออกด้วยน้ำปราศจากไอออน (de-ionized water) จำนวน 3 ครั้ง ก่อนนำมาตากให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 3.1 ก)

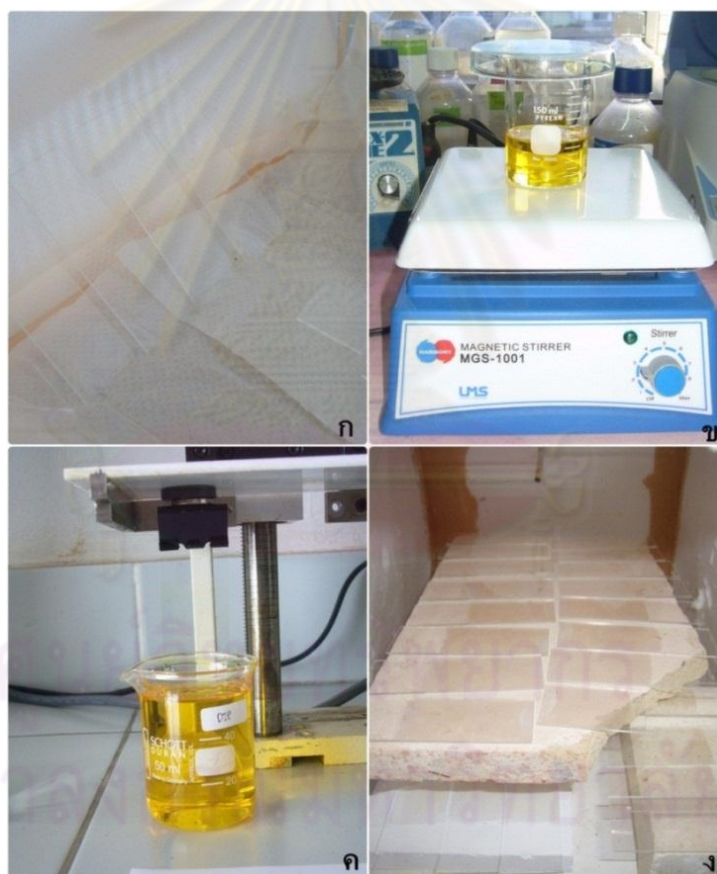
3.1.2 การเตรียมสารละลายไทเทเนียมออกไซด์โซล

สารละลายไทเทเนียมออกไซด์โซล ที่ใช้ในการศึกษานี้มีสารตั้งต้นคือสารละลายเตตระบิวทิลออร์โทไทแทนเตต (tetrabutyl orthotitanate, $C_{16}H_{36}O_4Ti$) ปริมาณ 9.1 มิลลิลิตร เอทานอลบริสุทธิ์ (absolute ethanol, C_2H_5OH) ปริมาณ 46.98 มิลลิลิตร กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นร้อยละ 37 (37% hydrochloric acid, HCl) ปริมาณ 1.1 มิลลิลิตรและสารละลายอะซิติลอะซิโตน (acetylacetone, $C_5H_8O_2$) ปริมาณ 2.8 มิลลิลิตร^[56, 57] นำสารละลายทั้ง 4 ชนิดมาผสมกันตามลำดับ คนให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารโดยใช้แม่เหล็กหมุนวน (magnetic stirrer) เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง (ภาพที่ 3.1 ข) ที่อุณหภูมิห้องก่อนนำไปใช้จุ่มเคลือบ

3.1.3 การจุ่มเคลือบและการขึ้นรูปฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์

นำกระจกสไลด์ที่ผ่านการเตรียมพื้นผิวแล้วมาทำการจุ่มเคลือบกับสารละลายไทเทเนียมออกไซด์โซล ที่เตรียมจากวิธีข้างต้นด้วยอัตราเร็วคงที่ 1.66 มิลลิเมตร/วินาที (ภาพที่ 3.1 ค)

จากนั้นทิ้งให้แห้งประมาณ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปปรับสภาพด้วยความร้อน โดยใช้เตาเผาเซรามิก (Lindberg 1100 °C, LBS799C, USA) ที่อุณหภูมิ 200 หรือ 550 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 3.1 ง) เริ่มต้นกระบวนการที่อุณหภูมิห้อง แล้วค่อยเพิ่มอุณหภูมิขึ้นด้วยอัตราคงที่ 2 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิที่ต้องการข้างต้น จากนั้นคงอุณหภูมิไว้ 30 นาที ก่อนปล่อยให้เย็นตัวลงตามลำดับ และสำหรับการเพิ่มความหนาของชั้นฟิล์มทำโดย การนำกระจกใสที่ขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิวเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อนแล้ว มาทำซ้ำตั้งแต่ขั้นตอนการจุ่มเคลือบ จนจบกระบวนการปรับสภาพด้วยความร้อน การศึกษานี้กำหนดความหนาของกลุ่มตัวอย่าง ตั้งแต่ 1-4 ชั้น ของแต่ละอุณหภูมิ จำนวนกลุ่มตัวอย่างละ 10 ชั้น และ ทำการกำหนดรหัสสำหรับบันทึกรายงานแทนกลุ่มตัวอย่างต่างๆ ที่ทำการเตรียมด้วยกระบวนการข้างต้น เพื่อใช้สำหรับใช้ในศึกษาและรายงานผลการศึกษา ตามตารางที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 ภาพถ่าย แสดงขั้นตอนการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์เป็นฟิล์มบางบนพื้นผิวกระจกใส เริ่มจาก กระจกใสที่ผ่านการเตรียมพื้นผิวด้วยสารละลายปิรันยา (ก) การคนสารละลายไทเทเนียมออกไซด์โซลให้เข้ากัน ด้วยเครื่องผสมสารโดยใช้แม่เหล็กหมุนวน (ข) การนำกระจกใสที่ผ่านการเตรียมพื้นผิวแล้วมาจุ่มเคลือบกับสารละลายไทเทเนียมออกไซด์โซล (ค) การปรับสภาพด้วยความร้อนด้วยเตาเผาเซรามิก (ง)

ตารางที่ 3.1 แสดงการกำหนดรหัสแทนสำหรับบันทึกรายงานแทนกลุ่มตัวอย่างต่างๆ

กลุ่มตัวอย่าง	อุณหภูมิที่ใช้ปรับสภาพด้วย ความร้อน (องศาเซลเซียส)	จำนวนชั้นเคลือบ	รหัสแทน (code)
1	200*	1	200-1
2	550	1	550-1
3	550	2	550-2
4	550	3	550-3
5	550	4	550-4

*จากการศึกษานำร่องที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส พบการหลุดร่อนของฟิล์มบางในชั้นที่ 2 จึงไม่สามารถเตรียมฟิล์มบางในชั้นถัดไปได้

3.1.4 การวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะสัมผัส (surface topography analysis by atomic force microscope in tapping mode)

กล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม (AFM; Nanoscope IV , Multimode, Veeco, Santa Barbara, CA, USA) เป็นเครื่องมือที่ไม่ได้ใช้แสงที่มองเห็นได้ แต่เป็นเครื่องมือที่ใช้ปลายแหลมที่มีขนาดเล็กระดับอะตอมวัดแรงระหว่างอะตอมหรือโมเลกุล หรือวัดเกี่ยวกับการลอดผ่านได้แบบควอนตัมของอิเล็กตรอน จึงทำให้สามารถที่จะวัดได้อย่างละเอียดในระดับสเกลของควอนตัม (ระดับอะตอมหรือโมเลกุล) จึงสามารถวัดในสเกลขนาดเล็กระดับนาโนเมตรได้ โดยมีความละเอียดอยู่ในระดับ 0.1 นาโนเมตรและการศึกษานี้นำมาใช้วัดและวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวของชั้นฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิวบนกระจกสไลด์ในพื้นที่ 1 ตารางไมโครเมตร ($1 \times 1 \mu\text{m}^2$) ที่บริเวณกึ่งกลางของชิ้นตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวของชั้นฟิล์มซึ่งมีขนาดเล็กในระดับนาโนสเกล รวมถึงวัดความขรุขระของพื้นผิว (roughness) แสดงผลด้วยค่าเฉลี่ย 2 ค่าคือความขรุขระเชิงสถิติ (root mean square, rms) ซึ่งจะเป็นค่าที่วัดได้ทุกค่ามาหาค่าเฉลี่ยและค่าความขรุขระเฉลี่ย (roughness average, Ra) ซึ่งจะไม่นำค่าที่สูงมากเกินไปและต่ำมากเกินไปมาคำนวณ ส่วนการวัดความหนาของชั้นฟิล์มทำโดยการชูดผิวของฟิล์มจนถึงผิวบนของกระจกสไลด์ ทำการวัด 3 ตำแหน่งต่อชิ้นก่อนนำมาหาค่าเฉลี่ยและรายงานผลในหน่วยนาโนเมตร

3.1.5 การวิเคราะห์โครงสร้างของสภาพผลึก (crystalline structure analysis)

การศึกษาผ่านเทคนิคเอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน (X-ray diffraction, XRD) เป็นเทคนิคที่อาศัยหลักการของการยิงรังสีเอ็กซ์ ที่ทราบความยาวคลื่นไปกระทบชิ้นงาน และ เกิดการเลี้ยวเบนของรังสีที่มุมต่างๆกัน โดยมีตัวตรวจจับ (detector) เป็นตัวรับข้อมูล เนื่องจากสารประกอบและธาตุที่มีส่วนผสม หรือโครงสร้างต่างกัน จะทำให้เกิดการเลี้ยวเบน ที่มุมที่มีองศาต่างกัน ข้อมูลที่ได้รับ จึงสามารถบ่งบอกชนิดของสารประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง และสามารถนำมาใช้ศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับโครงสร้างผลึกของสารตัวอย่างได้ นอกจากนี้ ข้อมูลที่ได้ ยังสามารถนำมาหาค่าประมาณการของปริมาณความเป็นผลึก ขนาดของผลึก และ ความเค้น ของสารประกอบในสารตัวอย่างได้

การวิเคราะห์สภาพผลึก จึงใช้เทคนิคเอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน ด้วยเครื่องวิเคราะห์ธาตุด้วยรังสีเอ็กซ์ (XRD; D8 Discover; Bruker AXS, Karlsruhe, Germany) โดยมุม 2θ ที่วัดในอยู่ช่วง 20° - 80° แหล่งกำเนิดรังสีที่ใช้คือ $\text{CuK}\alpha$ ที่ความยาวคลื่น (λ) = 1.54 \AA ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้เท่ากับ 40 kV และกระแสไฟฟ้าเท่ากับ 40 mA

3.1.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุโดยเทคนิคอีดีเอ็กซ์ (Energy Dispersive X-Ray (EDX) composition analysis)

การวิเคราะห์ธาตุที่เป็นองค์ประกอบ ของชั้นฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิวบนกระจกสไลด์ จะทำโดยใช้เทคนิคอีดีเอ็กซ์ ซึ่งใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด-อีดีเอ็กซ์ (SEM-EDX, JSM 5410LV, JEOL, Tokyo, Japan) ทำการวัดปริมาณธาตุที่เป็นองค์ประกอบในชั้นฟิล์มกลุ่มตัวอย่างละ 3 ตำแหน่ง แสดงผลเชิงปริมาณและกราฟ รวมถึง แสดงผลภาพการกระจายตัวของธาตุนั้นฟิล์มได้อีกด้วย

ในการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ จะใช้ตัวอย่างในการวิเคราะห์ คือ กระจกสไลด์ที่ขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิว เป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจลและปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส หรือ 550 องศาเซลเซียส ที่ความหนาของชั้นฟิล์ม 1, 2, 3 และ 4 ชั้น กลุ่มละ 1 ชั้น ในแต่ละการทดสอบ ส่วนการวิเคราะห์สภาพผลึก มีกลุ่มตัวอย่างเพิ่มจากกลุ่มอื่นคือ ผงที่ได้จากการระเหยสารละลายไทเทเนียมออกไซด์โซล แล้วนำไปปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส และผงที่ได้จากการระเหยสารละลายไทเทเนียมออกไซด์โซล แล้วนำไปปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส

3.2 การทดสอบปฏิกิริยาทางชีววิทยา

3.2.1 การเตรียมชิ้นตัวอย่างสำหรับทดสอบปฏิกิริยาทางชีววิทยา

นำกระจกสไลด์ที่ขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิวเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส และ 550 องศาเซลเซียส รวมทั้งกลุ่มควบคุมซึ่งคือ กระจกสไลด์ที่ผ่านการเตรียมพื้นผิวด้วยน้ำยาปิรันยา แต่ไม่ได้ขึ้นรูปชั้นฟิล์มไทเทเนียมออกไซด์เคลือบผิว มาตัดแบ่งโดยใช้อุปกรณ์ตัดกระจก ที่ออกแบบมาเฉพาะ เพื่อป้องกันไม่ให้นิ้วมือสัมผัสโดนผิวหน้าของวัสดุ ให้ได้ขนาดกว้าง 20 มิลลิเมตร ยาว 25 มิลลิเมตร จากนั้นนำชิ้นตัวอย่างซึ่งประกอบไปด้วย กลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลอง 2 กลุ่ม (กลุ่มตัวอย่างละ 2 แผ่น) มาวางเรียงในจานแก้วเพาะเชื้อวงกลม ขนาด 10 เซนติเมตร จำนวน 2 ชุด (ภาพที่ 3.3 ก)

ชุดที่ 1 จะทำการหยุดปฏิกิริยาที่ 2 นาทีเพื่อตรวจวัดการเกาะยึดของเกล็ดเลือด

ชุดที่ 2 จะทำการหยุดปฏิกิริยาที่ 5 นาทีเพื่อตรวจวัดการสร้างไฟบริน

3.2.2 การเก็บตัวอย่างเลือดที่นำมาทดสอบ

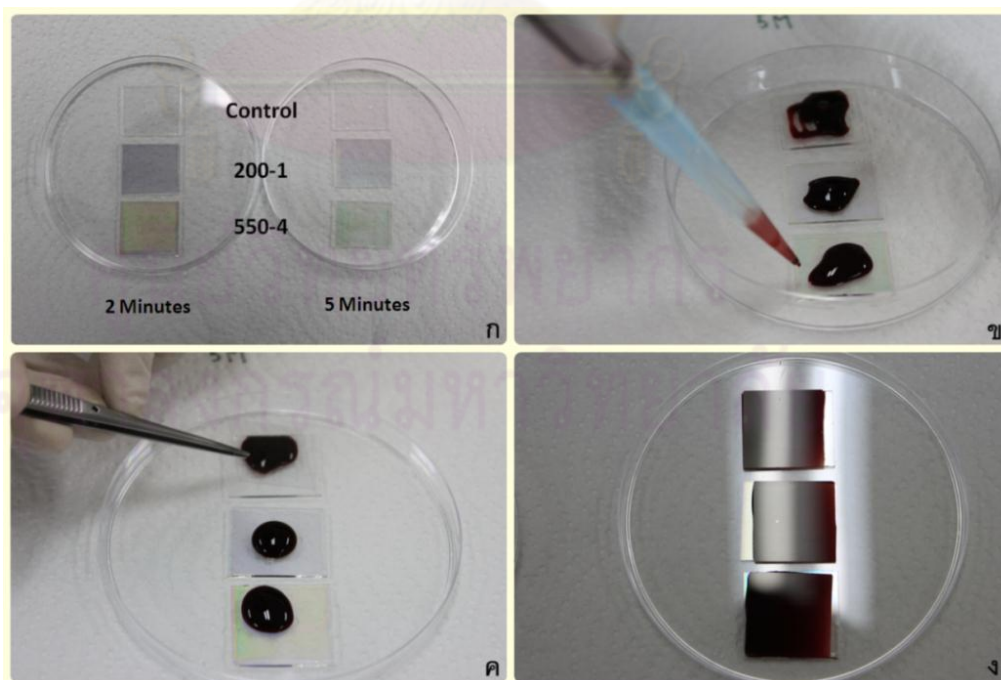
ตัวอย่างเลือดของมนุษย์ที่นำมาใช้ เป็นเลือดรวมส่วน (whole blood) ที่ไม่ได้ใส่สารต้านการแข็งตัวของเลือด จากอาสาสมัคร 3 คน (ครั้งละ 1 คน ต่อการทดลอง) ที่มีสุขภาพแข็งแรงและไม่ได้รับยาใดๆ มาก่อนเจาะเลือดอย่างน้อย 10 วัน อาสาสมัครทั้งหมด ได้รับการชี้แจงรายละเอียดและลงนามยินยอมให้เจาะเลือด ตามข้อพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมว่าด้วยการศึกษาวิจัยในมนุษย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ก่อนได้รับการเจาะเลือดด้วยวิธีการเจาะหลอดเลือดดำที่ข้อพับแขน (cubital venipuncture) ปริมาณ 8-10 มิลลิลิตร (ภาพที่ 3.2 ก) แล้วนำมาเก็บในหลอดทดลอง ที่ไม่ผสมสารต้านการแข็งตัวของเลือด และนำมาใช้ทันที (ภาพที่ 3.2 ข)



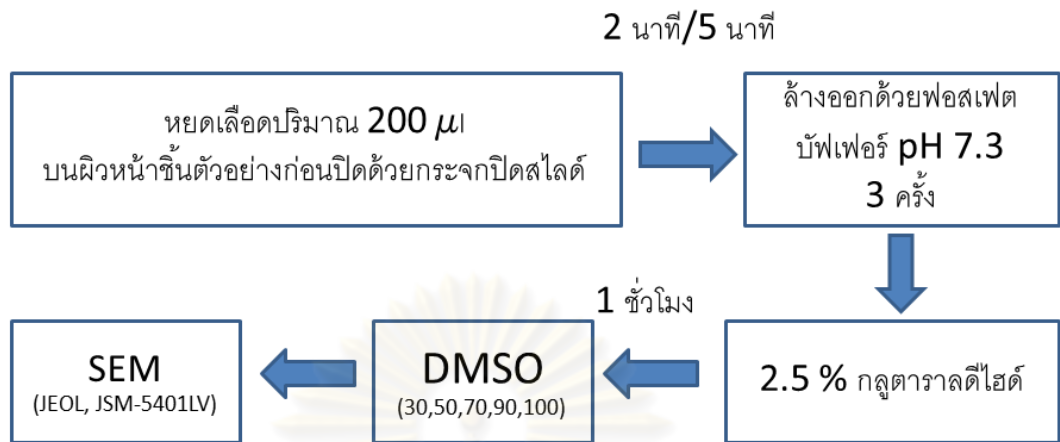
ภาพที่ 3.2 แสดงการเก็บตัวอย่างเลือดที่นำมาทดสอบ โดยวิธีการการเจาะหลอดเลือดดำที่ข้อพับแขน (ก) และการบรรจุเลือดลงในหลอดทดลอง ก่อนนำไปใช้ทันที (ข)

3.2.3 ขั้นตอนการทดสอบปฏิกิริยาทางชีววิทยา

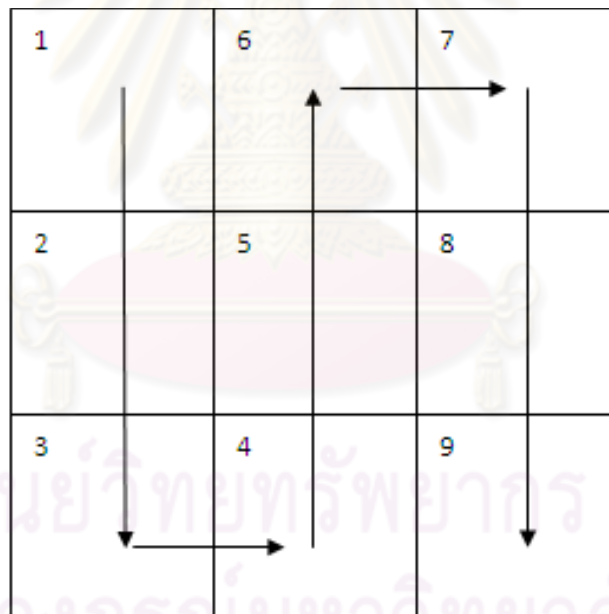
ปิเปตเลือดที่ได้จากการเจาะเลือด ตามวิธีข้างต้นปริมาณ 200 ไมโครลิตร หยดด้วยความสูงประมาณ 0.5 เซนติเมตร เหนือผิวหน้าของชิ้นตัวอย่าง (ภาพที่ 3.3 ข) ก่อน ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ (glass cover slip) (ภาพที่ 3.3 ค) ที่อุณหภูมิห้อง แล้วปล่อยให้ทำปฏิกิริยา (ภาพที่ 3.3 ง) จนครบเวลาที่กำหนดข้างต้น (2 และ 5 นาทีตามลำดับ) ล้างออกด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.3 พร้อมดึงแผ่นปิดกระจกสไลด์ออก และทำการล้างอีกประมาณ 3 ครั้ง ก่อนดอง (fixed) ชิ้นตัวอย่าง ด้วยสารละลาย 2.5% กลูตารัลดีไฮด์ ที่ค่า pH 7.3 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นดูดสารละลายออก และ ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน ก่อนดูทั้ง ชิ้นตัวอย่างทั้งหมด นี้่นำมาผ่านกระบวนการ ดึงน้ำออก (dehydration) โดยใช้ สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide, DMSO) ด้วยความเข้มข้นที่ร้อยละ 30, 50, 70, 90 และ 100 ตามลำดับ ขั้นตอนละ 2 นาที แล้วดูดออก จากนั้นทิ้งให้แห้งในอากาศ จนสารละลายระเหยไปหมด นำชิ้นตัวอย่างทั้งหมด ไปติดแท่นยึด (stub) ก่อนเก็บในตู้ดูดความชื้น 24 ชั่วโมง จากนั้น ฉาบเคลือบผิวด้วยทอง (gold coating) แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (JSM 5410LV, JEOL, Tokyo, Japan) ที่ 50 kV ขั้นตอนทั้งหมดข้างต้น แสดงดังแผนภาพที่ 3.4 จากนั้นทำการเลือกตรวจและบันทึกภาพ บริเวณกึ่งกลางชิ้นตัวอย่างแต่ละชิ้นที่กำลังขยายตั้งแต่ X500 จนถึง X10000 เท่า ตามแบบแผน แสดงดัง แผนภาพที่ 3.5 ทำการบันทึกภาพในรูปแบบไฟล์นามสกุล bmp เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป



ภาพที่ 3.3 ภาพถ่ายแสดงขั้นตอนการทดสอบปฏิกิริยาทางชีววิทยา เริ่มตั้งแต่การวางชิ้นตัวอย่างสำหรับทดสอบ (ก) การหยดเลือด (ข) การปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ (ค) การปล่อยให้เลือดทำปฏิกิริยา (ง)



ภาพที่ 3.4 แผนภาพแสดงขั้นตอนการทดสอบปฏิกิริยาทางชีววิทยา

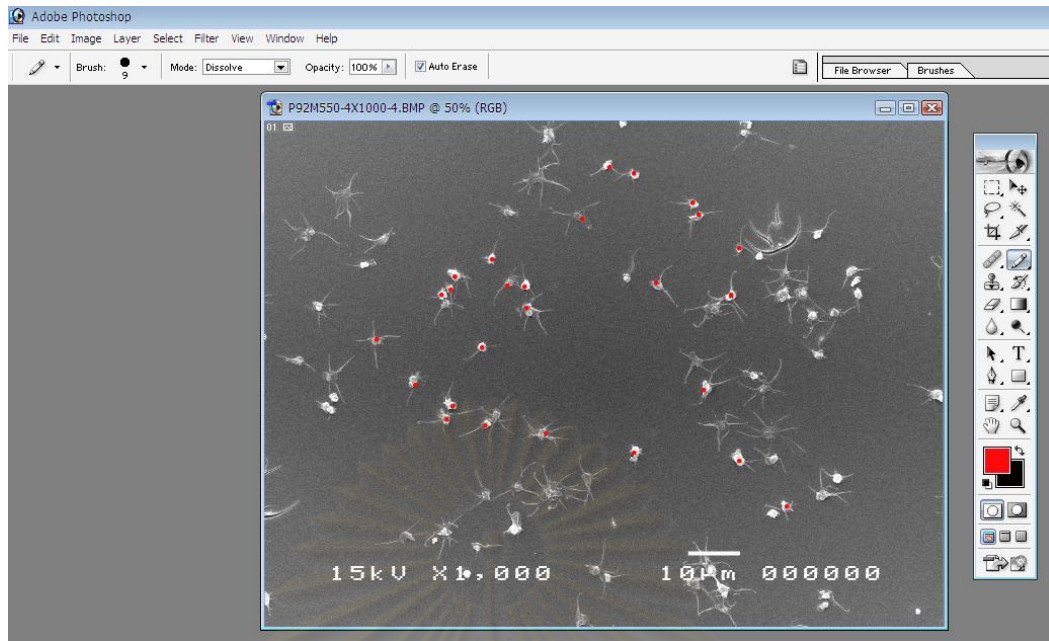


ภาพที่ 3.5 แผนภาพแสดง รูปแบบการบันทึกภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เพื่อตรวจวิเคราะห์การเกาะยึดของเกล็ดเลือด และการสร้างไฟบริน บนพื้นผิวไทเทเนียมออกไซด์ ที่ศึกษา

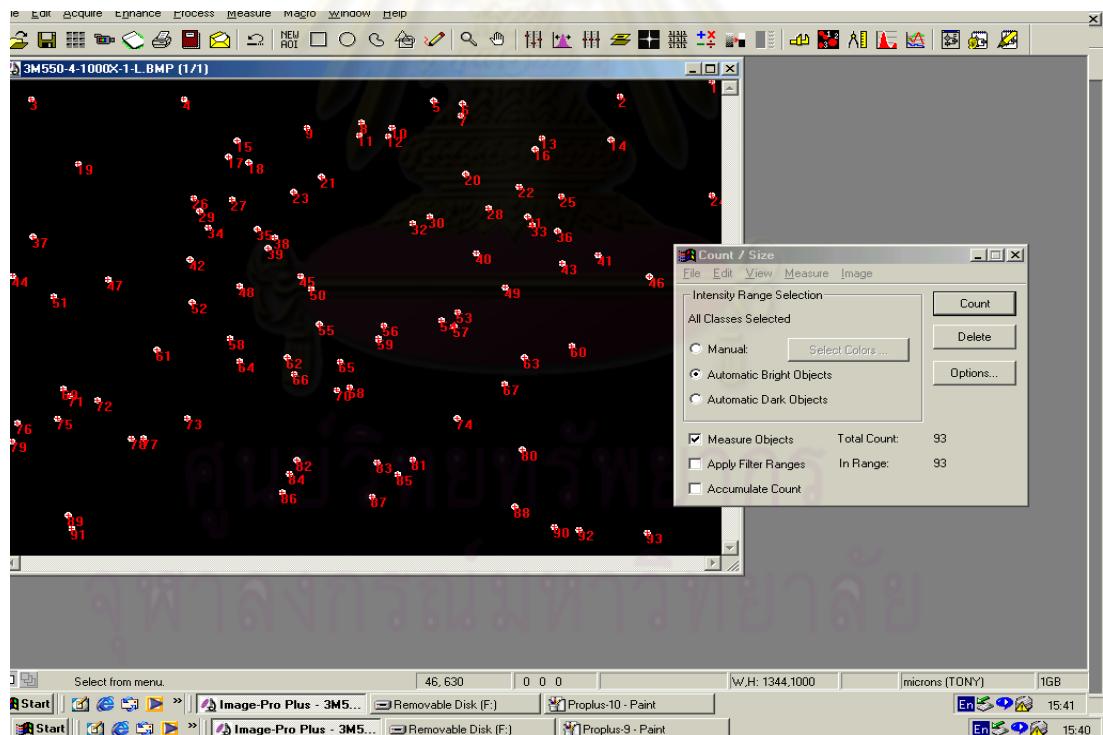
3.2.4 การตรวจวัดการเกาะยึดของเกล็ดเลือด

การศึกษาผลการเกาะยึดของเกล็ดเลือด ดำเนินการ ในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งหยุดปฏิกิริยาที่ 2 นาที แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 การศึกษาคือ การศึกษาสัณฐานวิทยาของเกล็ดเลือด (platelet morphology) และการศึกษาเชิงปริมาณ (quantitative study) ของเกล็ดเลือดที่เกาะยึดบนพื้นผิว สำหรับการตรวจวัดผลเชิงปริมาณ ผู้ศึกษาจึงได้นำภาพถ่ายทางจุลภาคที่กำลังขยาย X1000 เท่า ที่ได้จากการทดลอง 3 ครั้ง โดยใช้เลือดต่างบุคคล และ ทำการทดลองคนละวันเวลา กัน มาวัดผลเชิงปริมาณด้วยการนับเกล็ดเลือดเดี่ยว ซึ่งเป็นลักษณะที่พบมากที่สุดจากการศึกษานำร่อง จึงนำมาใช้เป็นตัวแทนของการศึกษาเชิงปริมาณครั้งนี้ โดยทำการแต้มสีของเกล็ดเลือดเดี่ยวด้วยโปรแกรม photoshop version 7.0 (ภาพที่ 3.6) จนครบจำนวนที่มี ก่อนนำภาพที่ผ่านการแต้มสีแล้ว ไปนับจำนวนเกล็ดเลือดเดี่ยว โดยใช้โปรแกรม image pro plus (ภาพที่ 3.7) ซึ่งจะทำการนับให้อัตโนมัติ และประมวลผลออกมาเป็น จำนวนจุดที่ทำการแต้มในแต่ละภาพ

ในการแต้มสีนี้ ใช้ผู้วัดผลคนเดียว และก่อนทำการนับผลเชิงปริมาณ ได้มีการทดสอบความน่าเชื่อถือของผู้วัดผล โดยสุ่มภาพถ่ายทางจุลภาค จำนวนภาพ 9 ภาพ มาทำการแต้มสีและนับจำนวนเพื่อวัดผล 2 ครั้ง แล้วจึงนำมาทดสอบด้วยวิธีการทางสถิติ โดยใช้สถิติ การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยสองกลุ่ม (paired t-test) และสหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (pearson correlation) ผลการทดสอบความน่าเชื่อถือพบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการนับทั้ง 2 ครั้ง โดยพิจารณาจากค่า p-value=0.225 ซึ่งมากกว่าค่าที่ยอมรับได้ทางสถิติ คือ p-value=0.2 รวมถึงค่า สหสัมพันธ์แบบเพียร์สันเท่ากับ 0.969 (p-value<0.01) ที่มีค่าใกล้ 1 จึงเป็นที่ยอมรับว่า ผู้วัดมีความเที่ยงตรงในการวัด และการวัดผล จะทำจากการรวมจำนวนเกล็ดเลือดที่ได้จากภาพถ่ายจุลภาค 9 ภาพ ต่อชิ้นตัวอย่างและต่อการทดลอง ทำการทดลอง 3 ครั้งโดยใช้เลือดต่างบุคคล แล้วนำค่ามาทดสอบสถิติแบบ นอนพาราเมตริก (non-parametric) ซึ่งเลือกใช้สถิติแบบ Kruskal-Wallis ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95



ภาพที่ 3.6 ภาพถ่าย แสดงการแต้มีสีของเกล็ดเลือดเดี่ยวที่เกาะยึดบนผิวไทเทเนียมออกไซด์เคลือบ
ผิวเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล เพื่อทำการตรวจนับ ด้วยโปรแกรม photoshop version 7.0



ภาพที่ 3.7 ภาพถ่าย แสดงการนับจำนวนเกล็ดเลือดเดี่ยวที่เกาะยึดบนผิวไทเทเนียมออกไซด์เคลือบ
ผิวเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล ที่ผ่านการแต้มีสีโดยใช้โปรแกรม image pro plus

3.2.5 การตรวจวัดการสร้างไฟบริน

การศึกษการสร้างไฟบริน ดำเนินการ ในชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งหยุดปฏิกิริยาที่ 5 นาที แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 การศึกษา คือ การศึกษาทางสัณฐานวิทยา ของลักษณะการสร้างไฟบรินในระยะต่างๆ (fibrin characterization) แล้วจำแนกเป็นแบบต่างๆ และ การศึกษาเชิงปริมาณของไฟบรินที่เกิดขึ้นบนพื้นผิว การตรวจวัดการสร้างไฟบรินเชิงปริมาณ อาศัยข้อมูลจากการศึกษาลักษณะของไฟบรินที่จำแนกเป็นแบบต่างๆ โดยนำภาพถ่ายของไฟบรินที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวของแต่ละตัวอย่าง มาอธิบายผลเชิงพรรณนา จำแนกลักษณะการสร้างไฟบรินในระยะต่างๆ ประมวลผล แจกแจงความถี่ ก่อนแสดงข้อมูลเป็นเชิงปริมาณ



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการศึกษาและการวิเคราะห์ผล

4.1 การศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปด้วยวิธีโซล-เจล

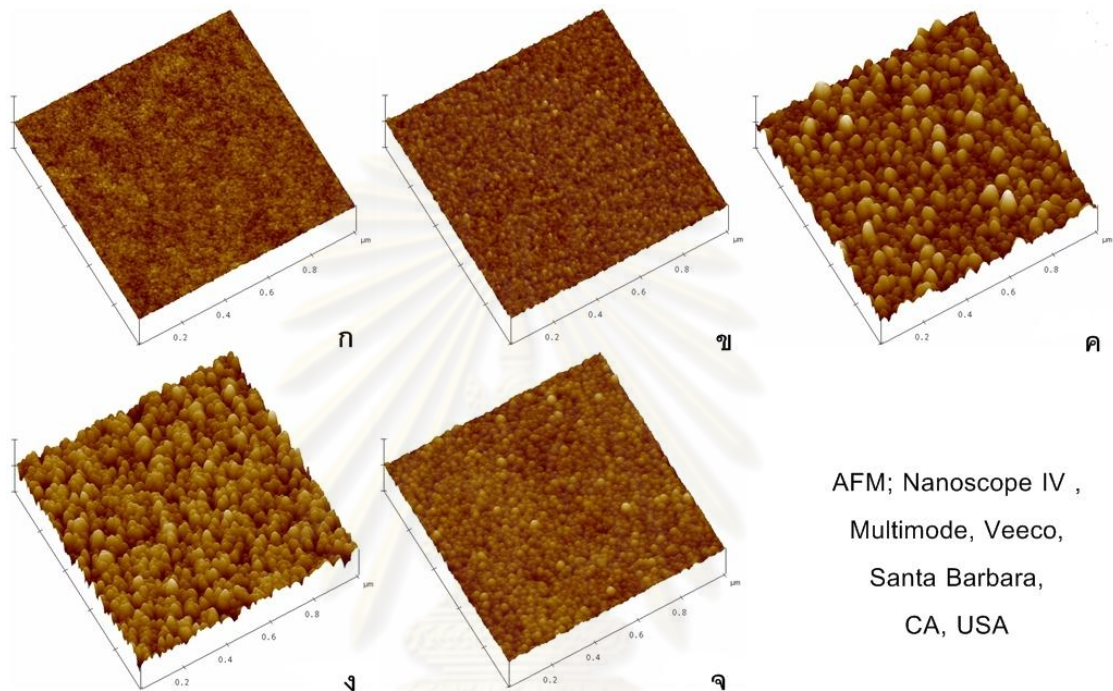
การขึ้นรูปฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ บนกระจกสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 และ 550 องศาเซลเซียส แล้วนำมาเพิ่มจำนวนชั้นและความหนาของฟิล์ม จากการสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่า กลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่ม ให้ลักษณะของสีที่แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตาม การขึ้นรูปฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์บนกระจกสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส 2 รอบกระบวนการกลับพบว่า ฟิล์มไม่สามารถยึดเกาะกับฟิล์มชั้นแรกได้ และมีการหลุดร่อนออกของชั้นฟิล์มที่เคลือบ จึงไม่สามารถทำซ้ำในกระบวนการนี้ได้อีกสำหรับที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียสนี้ แต่อย่างไรก็ตาม ไม่พบลักษณะการหลุดร่อนนี้ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส ดังนั้นในการศึกษานี้ สามารถทำการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์เป็นฟิล์มบาง บนกระจกสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 สามารถเตรียมได้ 1 รอบกระบวนการซึ่งเท่ากับความหนา 1 ชั้น ส่วนการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์เป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส สามารถเตรียมได้ 4 รอบกระบวนการ หรือเท่ากับการเพิ่มความหนาได้ถึง 4 ชั้น โดยที่ฟิล์มยังสามารถยึดเกาะกันได้ โดยไม่มีการหลุดร่อนออกมา (ภาพแสดงในภาคผนวก ข) อย่างไรก็ตามการสังเกตด้วยตาเปล่า ไม่สามารถบ่งบอก ความแตกต่างของคุณสมบัติทางกายภาพของชั้นฟิล์มได้ แต่สามารถสะท้อนถึงคุณสมบัติทางกายภาพที่เปลี่ยนไป จึงต้องอาศัยการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของพื้นผิวด้วยเทคนิคต่างๆ โดยนำกลุ่มตัวอย่างที่ได้ทั้งหมด มาผ่านการวิเคราะห์

4.1.1 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของพื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิด เคาะสัมผัส

4.1.1.1 ผลการศึกษาลักษณะของพื้นผิว

ผลการวิเคราะห์ พื้นผิวไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบาง บนกระจกสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อนด้วยอุณหภูมิ และ จำนวนชั้นที่แตกต่างกัน พบว่ากลุ่มตัวอย่าง 200-1 (ภาพ 4.1 ก) มีลักษณะของพื้นผิวที่เรียบสม่ำเสมอ ส่วนกลุ่มตัวอย่าง 550-1 (ภาพ 4.1 ข) ให้ลักษณะของฟิล์มที่เรียบ แต่มีลักษณะของนิวเคลียส (nucleation) เป็นปุ่มนูนเล็กๆ กระจายอยู่บนผิวบางตำแหน่ง ในขณะที่กลุ่มตัวอย่าง 550-4 (ภาพ 4.1 จ) แม้จะมีลักษณะของพื้นผิวคล้ายกับกลุ่มตัวอย่าง 550-1 แต่พื้นผิวที่ปรากฏมีลักษณะที่ขรุขระ ลักษณะของนิวเคลียสเป็นปุ่มนูนเล็กๆ กระจายตัวทั่วไป อย่างหนาแน่นและสม่ำเสมอกว่า สำหรับกลุ่มตัวอย่าง 550-2

และ 550-3 ให้ลักษณะของฟิล์มที่ขรุขระ โดยกลุ่มตัวอย่างที่ 550-2 มีลักษณะของนิวเคลียสที่มีปม
 อนุขนาดใหญ่ กระจายทั่วไปบนพื้นผิว (ภาพ 4.1 ค) แต่กลุ่มตัวอย่าง 550-3 พบลักษณะของ
 นิวเคลียส ที่เป็นปมอนุขนาดใหญ่โตขึ้น (ภาพ 4.1 ง) ขณะที่การรวมตัวของนิวเคลียสหนาแน่นมากกว่า
 กลุ่มตัวอย่าง 550-2



ภาพที่ 4.1 ภาพถ่ายสามมิติ จากกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมบนพื้นที่ขนาด 1x1 ตารางไมโครเมตร
 แสดงลักษณะที่ปรากฏ ของไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบาง บนกระจกสไลด์ด้วยวิธีไฮล-
 เจลและปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ และ จำนวนชั้นที่แตกต่างกัน ของกลุ่มตัวอย่าง 200-1
 (ก) 550-1 (ข) 550-2 (ค) 550-3 (ง) และ 550-4 (จ)

4.1.1.2 ผลการวัดค่าความขรุขระของพื้นผิว

จากการวัดค่าความขรุขระเฉลี่ย (Ra) ของกลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่ม ขึ้นตัวอย่างละ 3 ตำแหน่ง
 พบว่ากลุ่มตัวอย่าง 200-1 ให้ค่าความขรุขระเฉลี่ย น้อยที่สุดคือ 0.590 ± 0.01 นาโนเมตร และ
 ตัวอย่าง 550-3 ให้ค่าความขรุขระเฉลี่ย มากที่สุดคือ 4.711 ± 0.05 นาโนเมตร ผลการทดลอง
 ทั้งหมดแสดงดังตารางที่ 4.1

4.1.1.3 ผลการศึกษาความหนาของชั้นฟิล์ม

จากการวัดความหนาของชั้นฟิล์ม โดยทำการวัดกลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่ม ชั้นตัวอย่างละ 3 ตำแหน่ง พบว่าจำนวนชั้นที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความหนาเพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยกลุ่มตัวอย่าง 550-4 ให้ความหนามากที่สุดคือ 197.78 ± 8.90 นาโนเมตรและกลุ่มตัวอย่าง 550-1 ให้ความหนาน้อยที่สุดคือ 68.51 ± 1.64 นาโนเมตร ผลการทดลองทั้งหมดแสดงดังตารางที่ 4.1

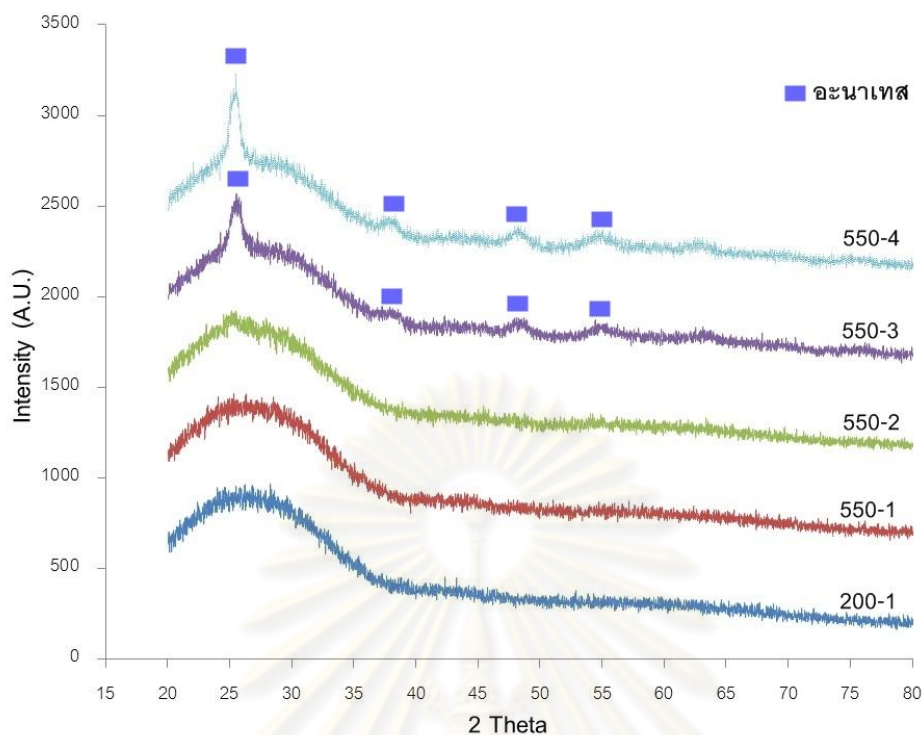
ตารางที่ 4.1 แสดงผลการวัดค่าความขรุขระเฉลี่ย และความหนาของชั้นฟิล์มไทเทเนียมออกไซด์ ของกลุ่มตัวอย่างต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะสัมผัส

กลุ่มตัวอย่าง	จำนวนชั้นเคลือบ	ค่า Ra (nm)	ค่า Rms (nm)	ความหนา(nm)
200-1	1	0.590	0.749	100.66 ± 0.58
550-1	1	1.021	1.309	68.51 ± 1.64
550-2	2	4.464	5.674	81.44 ± 3.05
550-3	3	4.711	5.882	151.04 ± 3.81
550-4	4	1.414	1.833	197.78 ± 8.90

จากผลการศึกษา ลักษณะทางภูมิศาสตร์บนพื้นผิว ของฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ พบได้ตั้งแต่ฟิล์มเรียบ ที่มีลักษณะของนิวเคลียสเป็นปุ่มนูนเล็กๆ กระจัดกระจายอยู่ทั่วไป โดยมีขนาดและความหนาแน่นแตกต่างกัน ขึ้นกับอุณหภูมิ และ จำนวนชั้นเคลือบ ซึ่งทำให้มีระดับความขรุขระของพื้นผิวแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม ค่าความขรุขระของพื้นผิว อาจจะไม่ได้อแปรผันตามจำนวนชั้นความหนา

4.1.2 ผลการศึกษาลักษณะสภาพผลึกด้วยเทคนิคเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรกชัน

จากการวิเคราะห์ โดยใช้เครื่องเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรคโตมิเตอร์ ซึ่งแสดงผลออกมาในรูปของลวดลายการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ พบว่ากลุ่มตัวอย่าง 550-3 และ 550-4 ในชั้นฟิล์มบางที่ขึ้นรูปนั้น แสดงผลเป็นสารประกอบของไทเทเนียมออกไซด์ มีโครงสร้างผลึกแบบอะนาเทส การเรียงตัวของผลึกแบบ บอดีเซ็นเตอร์เตตระโกนอล (body-centered tetragonal) ส่วนกลุ่มตัวอย่าง 200-1, 550-1 และ 550-2 ในชั้นฟิล์มบางที่ขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์นั้น ไม่สามารถบอกชนิดสารประกอบได้ และลักษณะโครงสร้างผลึกเป็นแบบอสัณฐาน ซึ่งหมายถึงการเรียงตัวของผลึกไม่เป็นระเบียบ การวิเคราะห์ผลนี้ ทำโดย การนำค่าที่ได้ไปเทียบกับค่ามาตรฐานทางผลึกวิทยา ที่จะแสดงค่าเฉพาะตำแหน่ง ซึ่งบ่งบอกถึงความเป็นสารประกอบไทเทเนียมออกไซด์ ที่มีโครงสร้างผลึกแบบอะนาเทส ผลการทดลอง แสดงดังภาพที่ 4.2



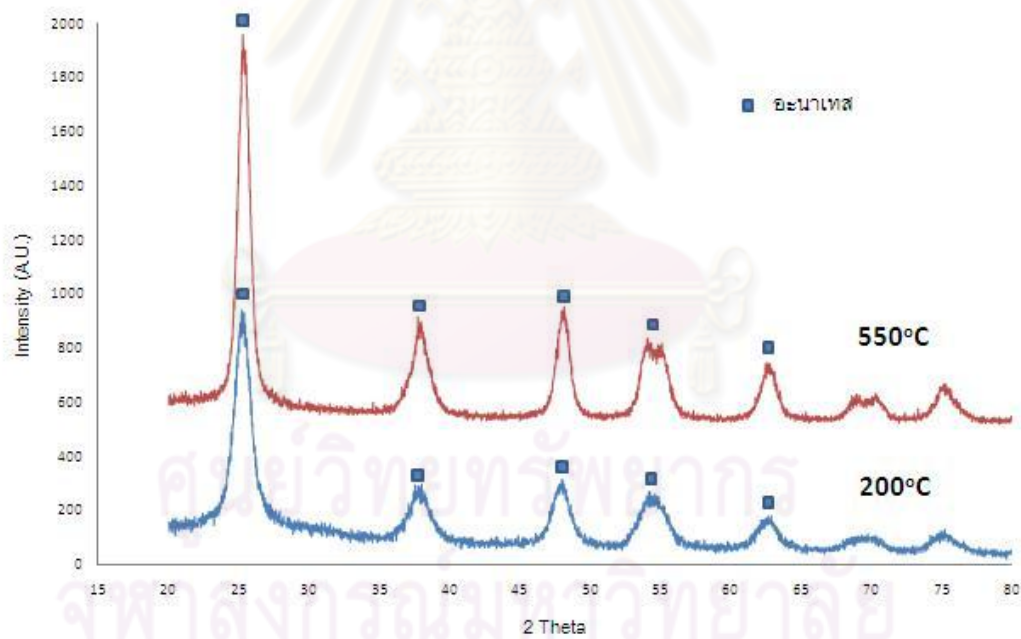
ภาพที่ 4.2 ลวดลายการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ ที่ตกกระทบบนพื้นผิวของฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปบนกระจกสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ และจำนวนชั้นที่ต่างกัน

■ แสดงลักษณะโครงสร้างผลึกแบบอะนาเทส (จากตำแหน่งมุม 2θ ที่ 25.28, 37.80, 48.05 และ 55.06 องศา)

เมื่อนำเอาสารละลายไทเทเนียมออกไซด์โซล ที่ใช้จุ่มเคลือบมาระเหยจนเป็นผลึก แล้วแบ่งนำไปปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส และ 550 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาบดเป็นผงละเอียด โดยพบว่า ผงบดละเอียดที่ได้จากการระเหยไทเทเนียมออกไซด์โซล แล้วนำไปปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส มีสีน้ำตาล (ภาพที่ 4.3 ก) ส่วนผงบดละเอียดที่ได้จากการระเหยไทเทเนียมออกไซด์โซลแล้วนำไปปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียสมีสีขาว (ภาพที่ 4.3 ข) และ เมื่อนำไปวิเคราะห์โครงสร้างผลึก พบว่าผงบดละเอียดทั้ง 2 ตัวอย่าง ให้ผลการวิเคราะห์ เป็นสารประกอบของไทเทเนียมออกไซด์ มีโครงสร้างผลึกแบบอะนาเทส การเรียงตัวของผลึกแบบบอดีเซ็นเตอร์เตตระโกนอล โดยที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส ให้ลักษณะที่มีความเป็นระเบียบของผลึกสูงกว่าที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์จาก ลวดลายการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ ที่มีลักษณะแคบ และ มีความชันมากกว่า (ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.3 ภาพถ่าย แสดงผงบดละเอียดของไทเทเนียมออกไซด์โซล ที่ได้จากภาวะเหี่ยไทเทเนียมออกไซด์โซลจนกลายเป็นผลึกแล้วนำไปปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส และ 550 องศาเซลเซียสก่อนนำมาบดละเอียด ซึ่งที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียสให้สีน้ำตาล (ก) และที่ 550 องศาเซลเซียสให้สีขาว (ข)



ภาพที่ 4.4 ลวดลายการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ที่ตกกระทบบนผงบดละเอียดที่ได้จากการระเหยสารละลายไทเทเนียมออกไซด์โซล ที่อุณหภูมิ 200 และ 550 องศาเซลเซียส

■ แสดงลักษณะโครงสร้างผลึกแบบอะนาเทส (จากตำแหน่งมุม 2θ ที่ 25.28, 37.80, 48.05, 55.06 และ 62.69 องศา)

จากผลการศึกษา จึงพอจะสรุปได้ว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล คือ อุณหภูมิที่ใช้ในการปรับสภาพด้วยความร้อน และ จำนวนชั้นความหนา

4.1.3 ผลการศึกษาองค์ประกอบของธาตุบนชั้นฟิล์ม ด้วยเทคนิคอีดีเอกซ์

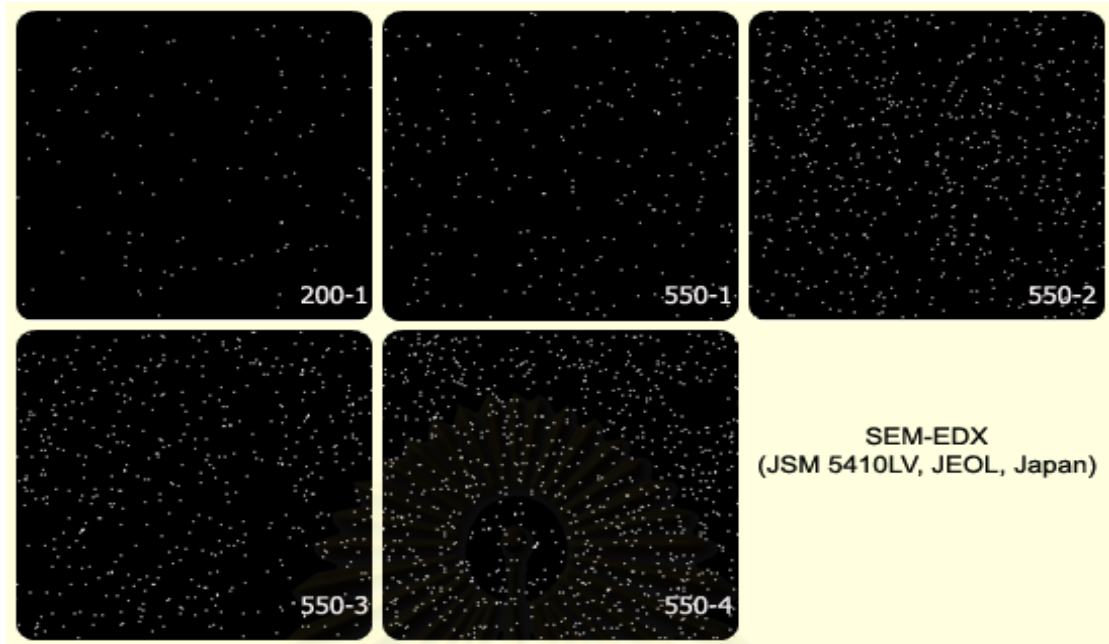
จากการวิเคราะห์ธาตุที่เป็นองค์ประกอบด้วยเทคนิคอีดีเอกซ์ พบว่ามีธาตุหลายชนิดประกอบอยู่บนไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนกระจกสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจลและปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิต่างกัน ในการศึกษาทำการวัดตัวอย่างละ 3 ตำแหน่งแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยแสดงผลดังตาราง 4.2 โดยพบว่า มีธาตุที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ คาร์บอน ออกซิเจน และซิลิกอน ซึ่งมีสัดส่วนค่อนข้างสูง นอกนั้นจะเป็นองค์ประกอบอื่น ๆ ที่มีสัดส่วนไม่มาก เช่น โซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม สังกะสี คลอรีน และ แบเรียม ส่วนไทเทเนียมนั้นมีอยู่ในสัดส่วนไม่มากเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณของธาตุไทเทเนียมจะมีสัดส่วนเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มความหนาของฟิล์ม โดยปริมาณไทเทเนียมที่เป็นองค์ประกอบในชั้นฟิล์มของกลุ่มตัวอย่าง 200-1 และ 550-1 มีค่าใกล้เคียงกันคือ 1.51 ± 0.28 และ 1.63 ± 0.24 จากนั้นเพิ่มขึ้นเป็น 3.87 ± 0.15 ในตัวอย่าง 550-2 ส่วนตัวอย่าง 550-3 และ 550-4 มีค่า 5.69 ± 0.28 และ 7.79 ± 0.61 ตามลำดับ

เมื่อนำมาวัดการกระจายตัวของไทเทเนียมพบว่าพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 550-4 มีปริมาณความหนาแน่น รวมถึงการกระจายตัวของไทเทเนียมบนพื้นผิวสม่ำเสมอมากที่สุด ส่วนพื้นผิวของกลุ่มตัวอย่าง 200-1 มีปริมาณความหนาแน่นของไทเทเนียมน้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณธาตุที่ตรวจวัดได้ (ภาพที่ 4.5)

ตารางที่ 4.2 แสดงร้อยละของปริมาณธาตุที่เป็นองค์ประกอบเฉลี่ยบนชั้นฟิล์มไทเทเนียมออกไซด์ในกลุ่มตัวอย่างต่างๆ

ธาตุ	200-1	550-1	550-2	550-3	550-4
C	45.42 ± 2.82	41.87 ± 3.19	37.07 ± 2.73	42.49 ± 2.59	44.27 ± 0.39
O	27.31 ± 2.22	28.96 ± 1.60	29.25 ± 1.55	25.12 ± 0.92	30.59 ± 0.25
Na	3.06 ± 0.20	3.71 ± 0.22	3.42 ± 0.12	2.96 ± 0.11	3.52 ± 0.04
Si	16.13 ± 0.50	16.78 ± 0.92	17.99 ± 0.65	16.09 ± 0.90	10.51 ± 0.15
Cl	0.14 ± 0.13	0 ± 0	0.15 ± 0.02	0.13 ± 0.12	0.13 ± 0.12
K	2.07 ± 0.09	2.19 ± 0.06	2.48 ± 0.05	2.37 ± 0.13	1.23 ± 0.01
Ca	2.92 ± 0.09	2.96 ± 0.10	3.34 ± 0.59	3.13 ± 0.22	1.40 ± 0.03
Ti	1.51 ± 0.28	1.63 ± 0.24	3.87 ± 0.15	5.69 ± 0.28	7.79 ± 0.61
Zn	0.89 ± 0.78	1.34 ± 0.06	1.47 ± 0.10	1.38 ± 0.21	0.26 ± 0.09
Ba	0.55 ± 0.48	0.57 ± 0.49	0.96 ± 0.17	0.63 ± 0.55	0 ± 0

แสดงค่าเป็นร้อยละ \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



ภาพที่ 4.5 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แสดงการกระจายตัวของไทเทเนียม (อนุภาคสีขาว) บนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่างเมื่อทำการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุโดยเทคนิคอีดีเอกซ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 การศึกษาปฏิกิริยาทางชีววิทยา

ในการศึกษาเชิงเปรียบเทียบ ผลของปฏิกิริยาทางชีววิทยา ต่อลักษณะที่แตกต่างกันของสภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล ในด้านการเกาะยึดของเกล็ดเลือดและการสร้างไฟบริน กลุ่มตัวอย่างที่นำมาศึกษาเปรียบเทียบได้ผ่านการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ และ สภาพผลึกของพื้นผิว ได้ถูกเลือกมาทำการศึกษาคือกลุ่มตัวอย่าง 200-1 ซึ่งมีการเรียงตัวของผลึกแบบอสังฐาน และกลุ่มตัวอย่าง 550-4 ซึ่งมีการเรียงตัวของผลึกแบบอะนาเทส สำหรับแบบหลังนี้ มีการเรียงตัวของผลึกไทเทเนียมออกไซด์ ที่มีลักษณะเป็นระเบียบมากที่สุด จากการเตรียมฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ด้วยวิธีโซล-เจล ในการทดลองครั้งนี้ รายละเอียดดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงกลุ่มตัวอย่างที่เลือกมาทำการศึกษาเปรียบเทียบผลทางชีววิทยา

กลุ่มตัวอย่าง	Rms (นาโนเมตร)	การเรียงตัวของผลึก
200-1	0.749	แบบอสังฐาน
550-4	1.833	แบบอะนาเทส

4.2.1 ผลการศึกษาการเกาะยึดของเกล็ดเลือด

4.2.1.1 การศึกษารูปร่างของเกล็ดเลือด

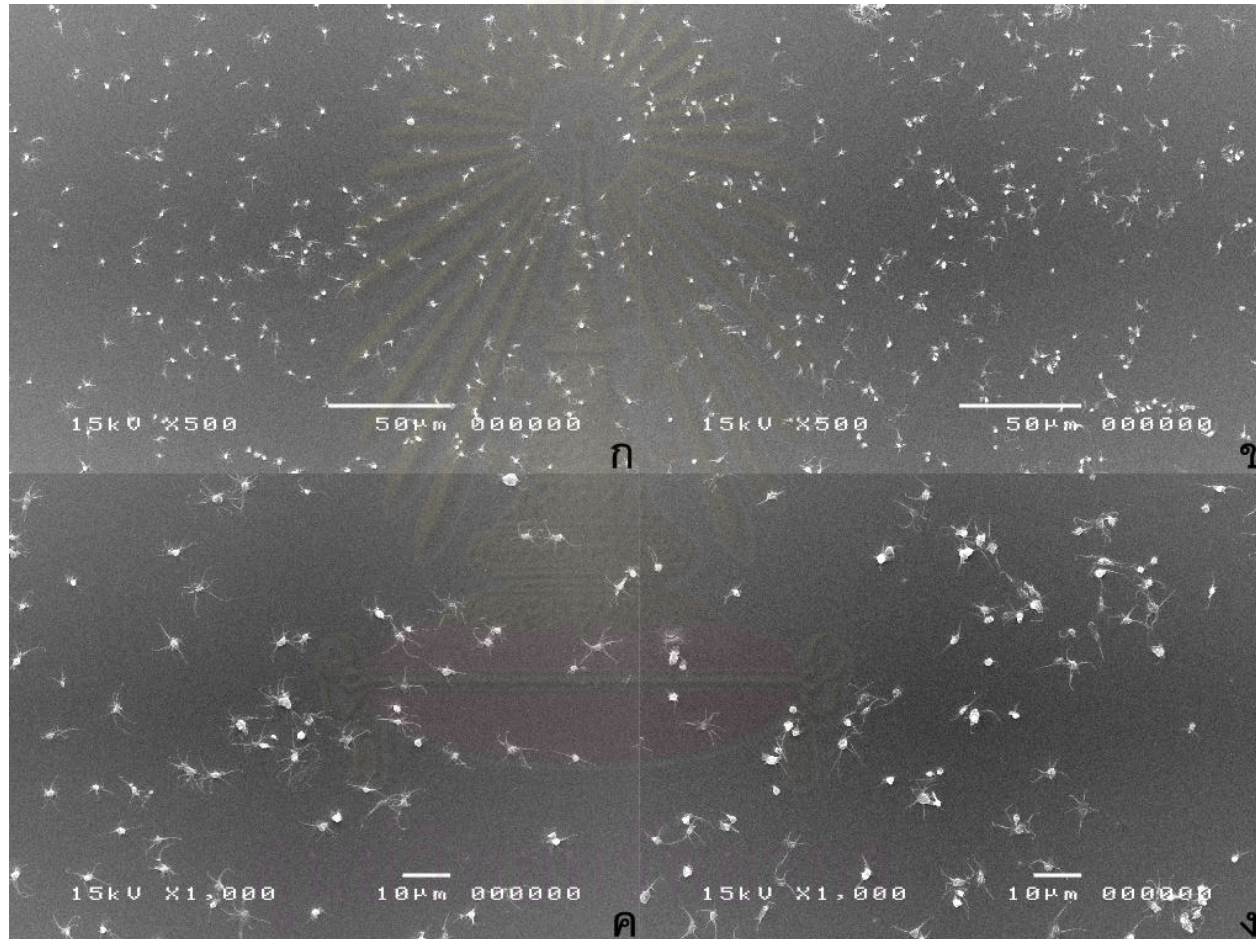
จากการทดลองทั้ง 3 ครั้งพบว่าเมื่อผิวของไทเทเนียมออกไซด์สัมผัสกับเลือดรวมส่วนเป็นเวลา 2 นาที ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดที่กำลังขยาย X500 และ X1000 เท่า แสดงลักษณะคล้ายๆกัน ดังภาพที่ 4.8 โดยพบว่าบนผิววัสดุ มีเกล็ดเลือดเกาะอยู่เป็นส่วนใหญ่ และที่กำลังขยายสูงขึ้นสามารถสังเกตรูปร่างของเกล็ดเลือดที่ปรากฏอยู่ และสามารถจะจำแนกลักษณะของเกล็ดเลือดได้เป็น 4 ลักษณะโดย

ลักษณะที่ 1 คือมีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว โดยเป็นแบบที่พบเป็นส่วนใหญ่ของเกล็ดเลือดที่ปรากฏทั้งหมด ลักษณะของเกล็ดเลือดเดี่ยวมีรูปร่างคล้ายดาว มีขาเทียม (pseudopodia) ยื่นออกมา (ภาพที่ 4.9 ก)

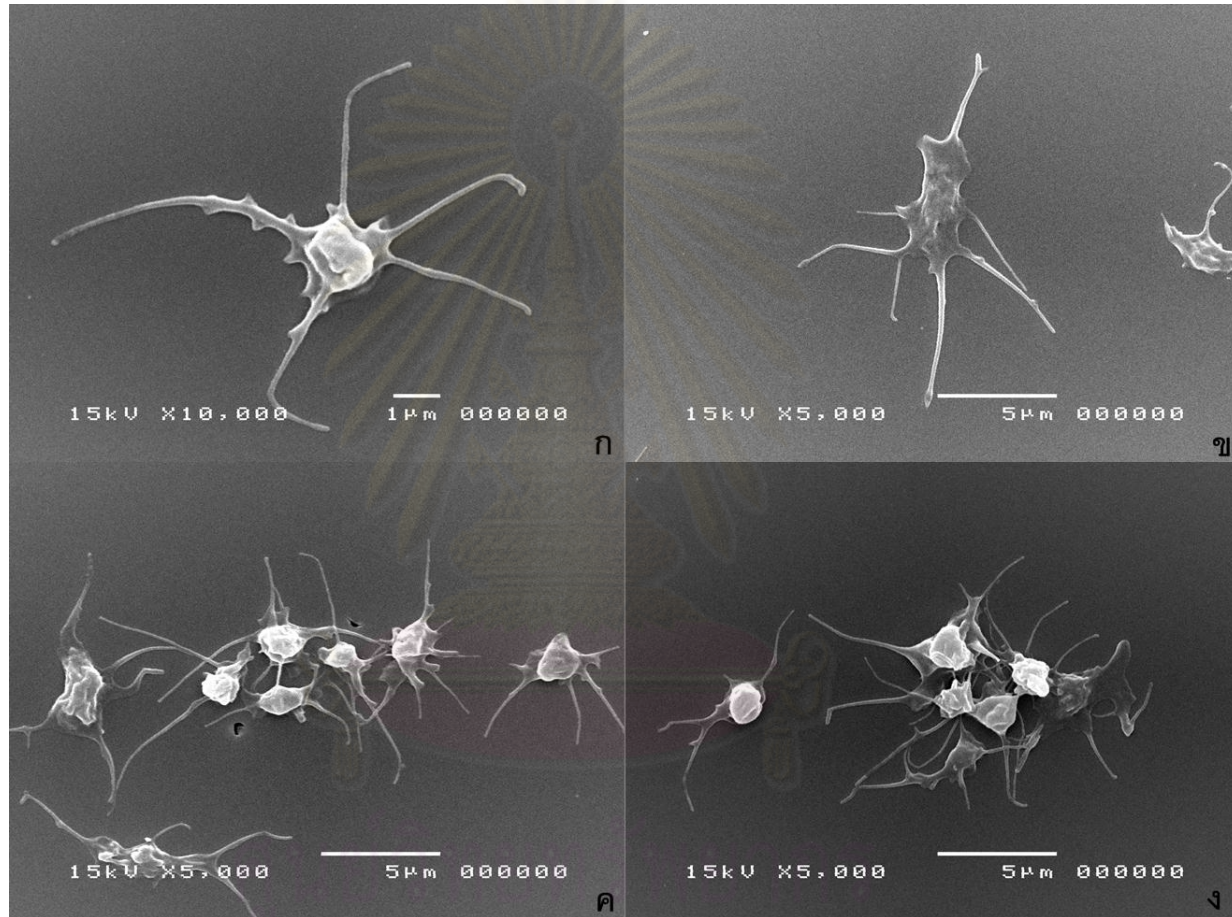
ลักษณะที่ 2 คือพบที่มีการแผ่ตัวออกของเกล็ดเลือด (spreading) (ภาพที่ 4.9 ข)

ลักษณะที่ 3 คือลักษณะของเกล็ดเลือดเดี่ยวบางส่วนมีการเข้ามาใกล้ชิดติดกันแต่ยังไม่ได้รวมตัวกันเป็นกลุ่ม (ภาพที่ 4.9 ค)

ลักษณะที่ 4 คือเกล็ดเลือดมีการมาทับถมและรวมตัวกันเป็นกลุ่ม (aggregation) (ภาพที่ 4.9 ง)



ภาพที่ 4.6 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะการเกาะยึดของเกล็ดเลือดที่ปรากฏ เมื่อผิววัสดุสัมผัสเลือดรวมส่วนเป็นเวลา 2 นาที ที่กำลังขยาย x500 เท่าของกลุ่มตัวอย่าง 200-1 (ก) และ 550-4 (ข) และที่กำลังขยาย x1000 เท่าของกลุ่มตัวอย่าง 200-1 (ค) และ 550-4 (ง)



ภาพที่ 4.7 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงเกล็ดเลือดระยะต่างๆ เริ่มตั้งแต่ เกล็ดเลือดเดี่ยวที่มีขาเทียม (pseudopodia) ยื่นออกมา (ก) เกล็ดเลือดแผ่กระจายตัว (spreading) (ข) เกล็ดเลือดเดี่ยวที่มาอยู่ใกล้ชิดติดกัน (ค) และเกล็ดเลือดที่เริ่มมาเกาะกลุ่ม (aggregation) ช้อนทับกัน (ง)

4.2.1.2 การศึกษาเปรียบเทียบเชิงปริมาณของการเกาะยึดของเกล็ดเลือดเดี่ยว

เมื่อทำการวัดจำนวนเกล็ดเลือดเดี่ยวทั้งหมดในแต่ละภาพ ซึ่งในแต่ละการทดลอง ประกอบไปด้วยภาพถ่ายทางจุลภาคขึ้นตัวอย่างละ 9 ภาพ นำจำนวนเกล็ดเลือดเดี่ยวที่นับได้จากแต่ละภาพ นำมารวมกันทั้งหมด แสดงผลตามตารางที่ 4.4 และเมื่อนำผลการทดลองที่ได้จากทั้ง 3 การทดลอง มาเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มและระหว่างการทดลอง พบว่าจำนวนของเกล็ดเลือดเดี่ยวที่ได้มีความแตกต่างกันในแต่ละการทดลอง แต่เมื่อใช้การทดสอบทางสถิติแบบ Kruskal-Wallis กลับพบว่าไม่มีความแตกต่างกันของปริมาณเกล็ดเลือดเดี่ยวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างกลุ่มตัวอย่าง 200-1 และ 550-4 ($p\text{-value}=0.565$)

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการนับจำนวนเกล็ดเลือดเดี่ยว ที่เกาะยึดบนผิวไทเทเนียมออกไซด์ เคลือบผิวเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจล ในแต่ละการทดลอง ระหว่าง 2 กลุ่มตัวอย่าง

การทดลองที่	200-1	550-4
1 (N=9)	562	351
2 (N=9)	517	612
3 (N=9)	495	590

ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p\text{-value}=0.565$)

4.2.2 ผลการศึกษาลักษณะของโครงร่างไฟบริน

4.2.2.1 การวิเคราะห์เชิงพรรณนา

จากการสังเกต ภาพที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ที่กำลังขยาย X1000 เท่า พบว่าลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏ มีความสัมพันธ์กัน และสามารถเปรียบเทียบให้เห็นความแตกต่าง โดยใช้การวิเคราะห์เชิงพรรณนา เพื่ออธิบายสิ่งที่ปรากฏ แบ่งตามการทดลองได้ดังนี้

ผลการทดลองครั้งที่ 1

จากกลุ่มตัวอย่าง 200-1 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนประกอบรวมทั้ง 9 ภาพ ที่กำลังขยาย X1000 เท่า (ภาพที่ 4.8) พบว่า เกือบทุกตำแหน่งของภาพ มีการสร้างโครงข่ายไฟบริน (fibrin network) แต่ ลักษณะการสร้างไฟบริน มีเป็นบางบริเวณ และกระจายตัวเป็นกลุ่มๆ ไม่สม่ำเสมอ อย่างไรก็ตาม ตำแหน่งที่ 3, 6 และ 7 ของ ภาพที่ 4.8 พบ ลักษณะที่แตกต่างกัน คือ ชั้นของโครงข่ายไฟบริน ซ้อนทับกันหนา สังเกตจาก การมีเม็ดเลือดแดง และ เม็ดเลือดขาวมาเกาะกลุ่ม และ ถูกฝังตัวอยู่ในโครงข่ายของไฟบรินที่หนาตัว นอกจากนั้น บางส่วนยังแสดงให้เห็นลักษณะของเกล็ดเลือดเดี่ยว ที่ยังไม่มีกลายตัวไป (ตำแหน่งที่ 8) ในขณะที่ กลุ่มตัวอย่าง 550-4 โดยภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนประกอบรวมทั้ง 9 ภาพ ที่กำลังขยาย X1000 เท่า (ภาพที่ 4.9) มีการสร้างไฟบริน 8 ตำแหน่ง และ การสร้างโครงข่ายไฟบรินนั้น มีกระจายตัวเป็นชั้นบางอย่าง

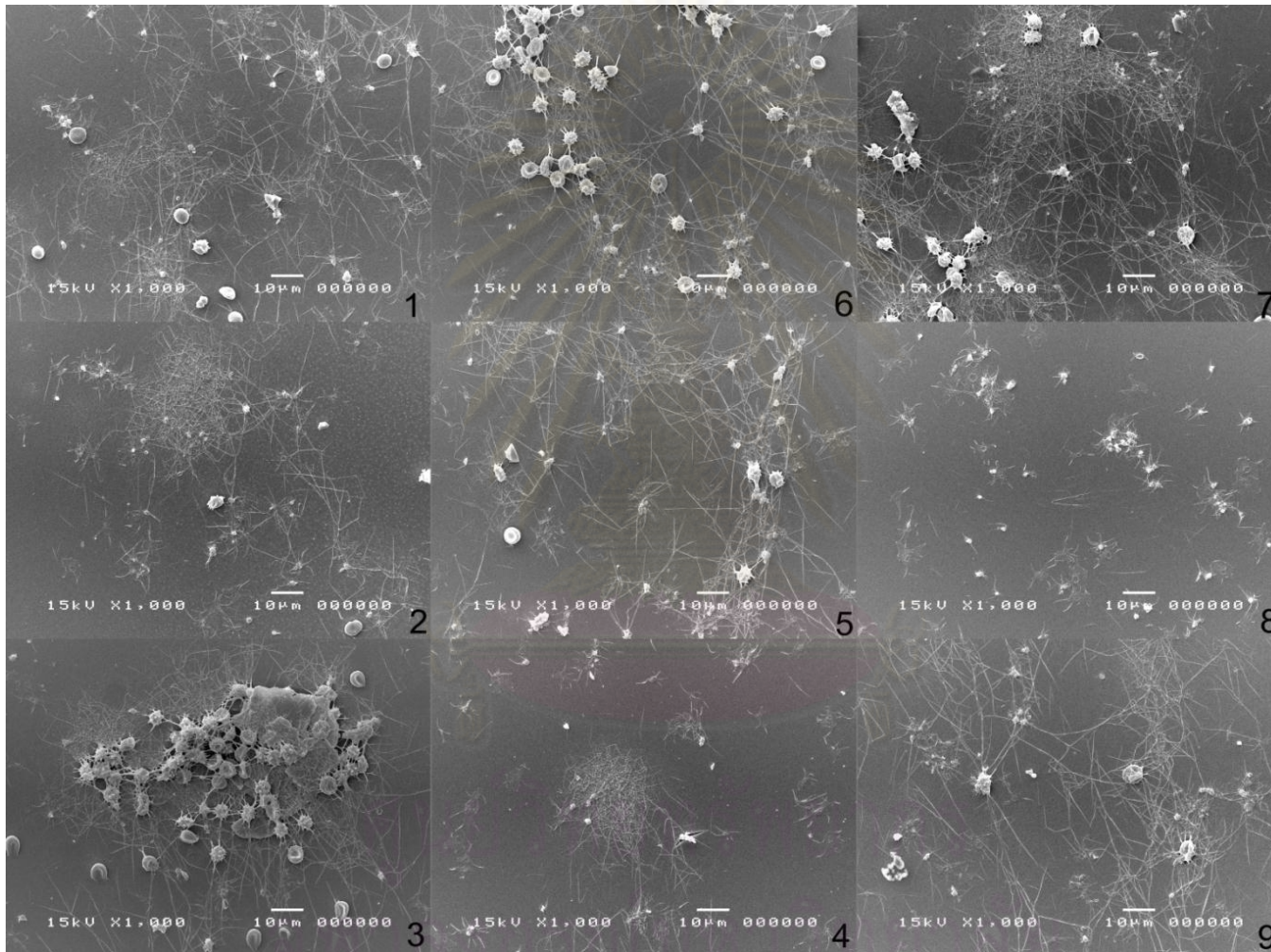
สม่ำเสมอ ปกคลุมพื้นผิวของวัสดุส่วนใหญ่ และมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน รวมถึง การที่เม็ดเลือดแดงเริ่มมาเกาะยึด และ แผ่กระจายอยู่บนโครงใยไฟบรินอย่างสม่ำเสมอ โดยรวมแล้วพบว่า การกระจายของไฟบรินค่อนข้างเป็นระเบียบ มีลักษณะสม่ำเสมอ มีความละเอียดของโครงใยไฟบริน รวมถึงสานต่อกันเป็นร่างแห มากกว่ากลุ่ม 200-1 จากการเปรียบเทียบ พบว่า การทดลองนี้แม้จะมีการสร้างไฟบรินเหมือนกัน แต่กลุ่มตัวอย่าง 550-4 มีลักษณะของไฟบรินที่ละเอียด และกระจายเต็มพื้นที่มากกว่ากลุ่มตัวอย่าง 200-1

ผลการทดลองครั้งที่ 2

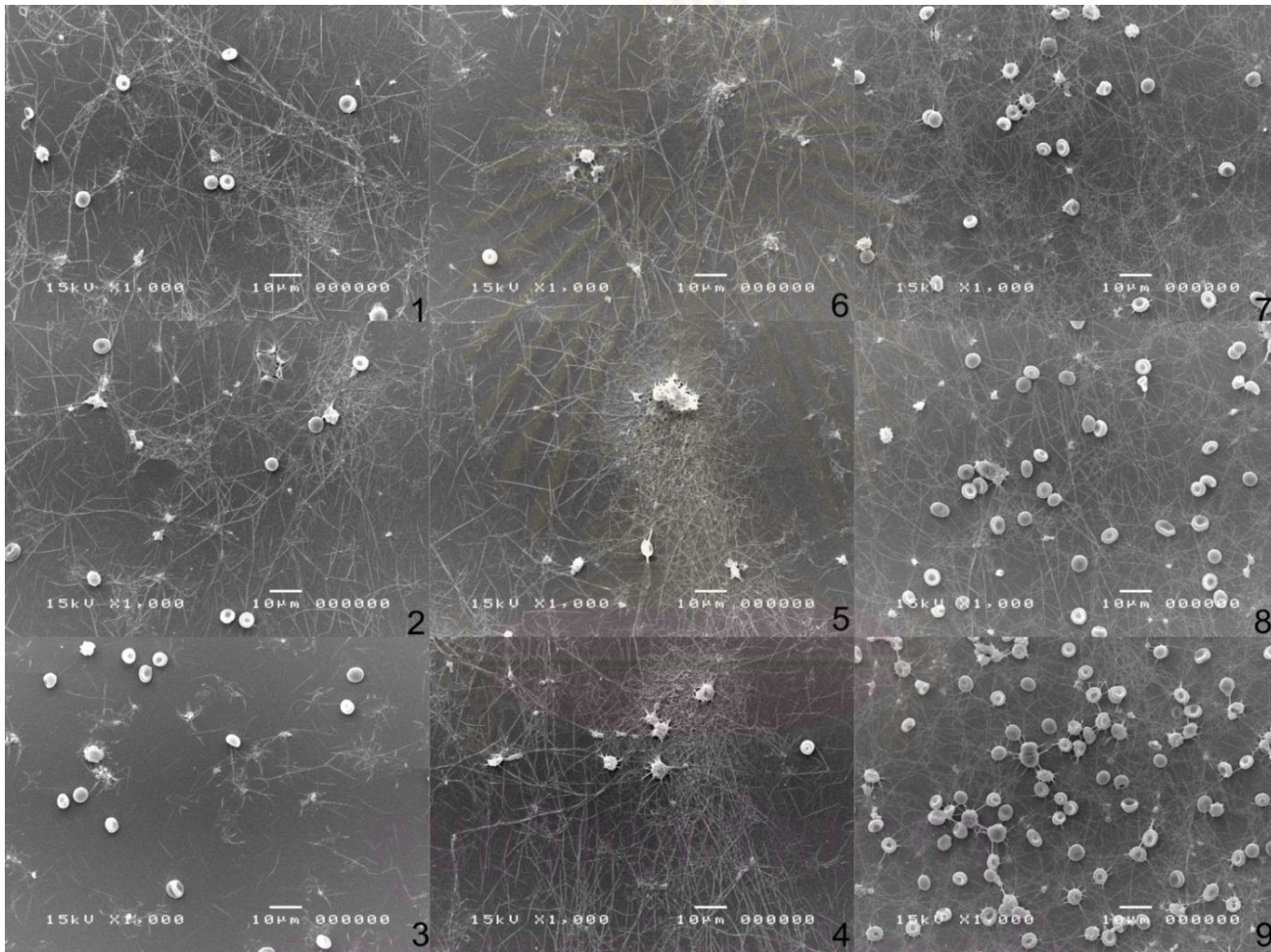
จากกลุ่มตัวอย่าง 200-1 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวม 9 ภาพที่กำลังขยาย X1000 เท่า (ภาพที่ 4.10) พบว่าลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏส่วนใหญ่เป็นเกล็ดเลือดเดี่ยวที่ยังไม่สลายตัวจำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป ลักษณะสม่ำเสมอคล้ายลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏที่เวลา 2 นาที แต่อย่างไรก็ตาม มี 3 บริเวณ (ภาพที่ 4.10 ตำแหน่งที่ 4, 5 และ 6) ซึ่งอยู่บริเวณกึ่งกลางของชิ้นตัวอย่างเท่านั้น ที่สามารถสังเกตเห็นว่า เริ่มมีการสร้างไฟบรินขึ้นมาอย่างบางๆ ในขณะที่กลุ่มตัวอย่าง 550-4 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวม 9 ภาพที่กำลังขยาย X1000 เท่า (ภาพที่ 4.11) แสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏให้เห็นว่า มีการสร้างไฟบรินจำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป และชั้นไฟบรินที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่ มีการมาเกาะยึดของเม็ดเลือดแดงบนโครงใยไฟบรินในหลายบริเวณ (ภาพที่ 4.11 ตำแหน่งที่ 2, 5, 6, 7, 8 และ 9) การกระจายตัวของไฟบรินส่วนใหญ่ สม่ำเสมอปกคลุมผิววัสดุ โครงใยไฟบรินมีการประสานตัวด้วยความละเอียด จากการเปรียบเทียบพบว่า การทดลองที่ 2 นี้ พื้นผิวของกลุ่มตัวอย่าง 550-4 มีการสร้างของไฟบริน ในปริมาณที่มากกว่ากลุ่มตัวอย่าง 200-1 รวมถึง ความละเอียดของโครงใยไฟบรินที่เกิดขึ้นมีลักษณะคล้ายกับ ลักษณะที่เกิดขึ้นในการทดลองที่ครั้ง 1

ผลการทดลองครั้งที่ 3

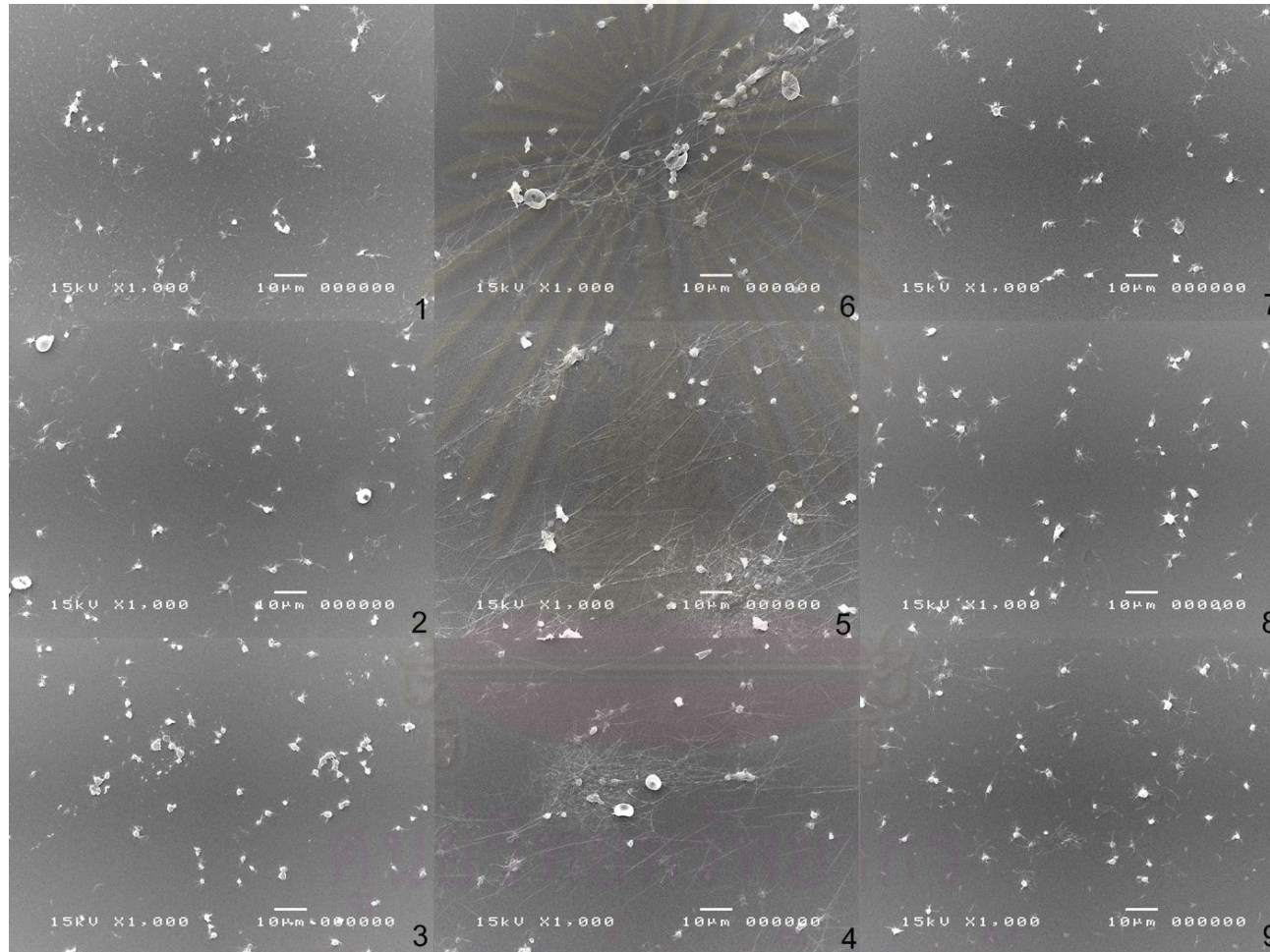
จากกลุ่มตัวอย่าง 200-1 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวม 9 ภาพที่กำลังขยาย X1000 เท่า (ภาพที่ 4.12) พบว่า ลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏส่วนใหญ่ คล้ายกับการทดลองที่ 2 ซึ่งส่วนใหญ่ พบลักษณะของเกล็ดเลือดเดี่ยวที่ยังไม่สลายตัว จำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป ลักษณะสม่ำเสมอ ในขณะที่กลุ่มตัวอย่าง 550-4 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวม 9 ภาพที่กำลังขยาย X1000 เท่า (ภาพที่ 4.13) แสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏให้เห็นว่า มีการสร้างไฟบรินจำนวนมาก กระจายอยู่ทั่วไปปกคลุมผิววัสดุ จากการเปรียบเทียบพบว่า การทดลองที่ 3 นี้ พื้นผิวของกลุ่มตัวอย่าง 550-4 มีการสร้างของไฟบรินในปริมาณที่มากกว่ากลุ่มตัวอย่าง 200-1 ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกัน รวมถึงลักษณะของโครงร่างไฟบรินที่เกิดขึ้น คล้ายกับการทดลองที่ครั้ง 1 และ 2



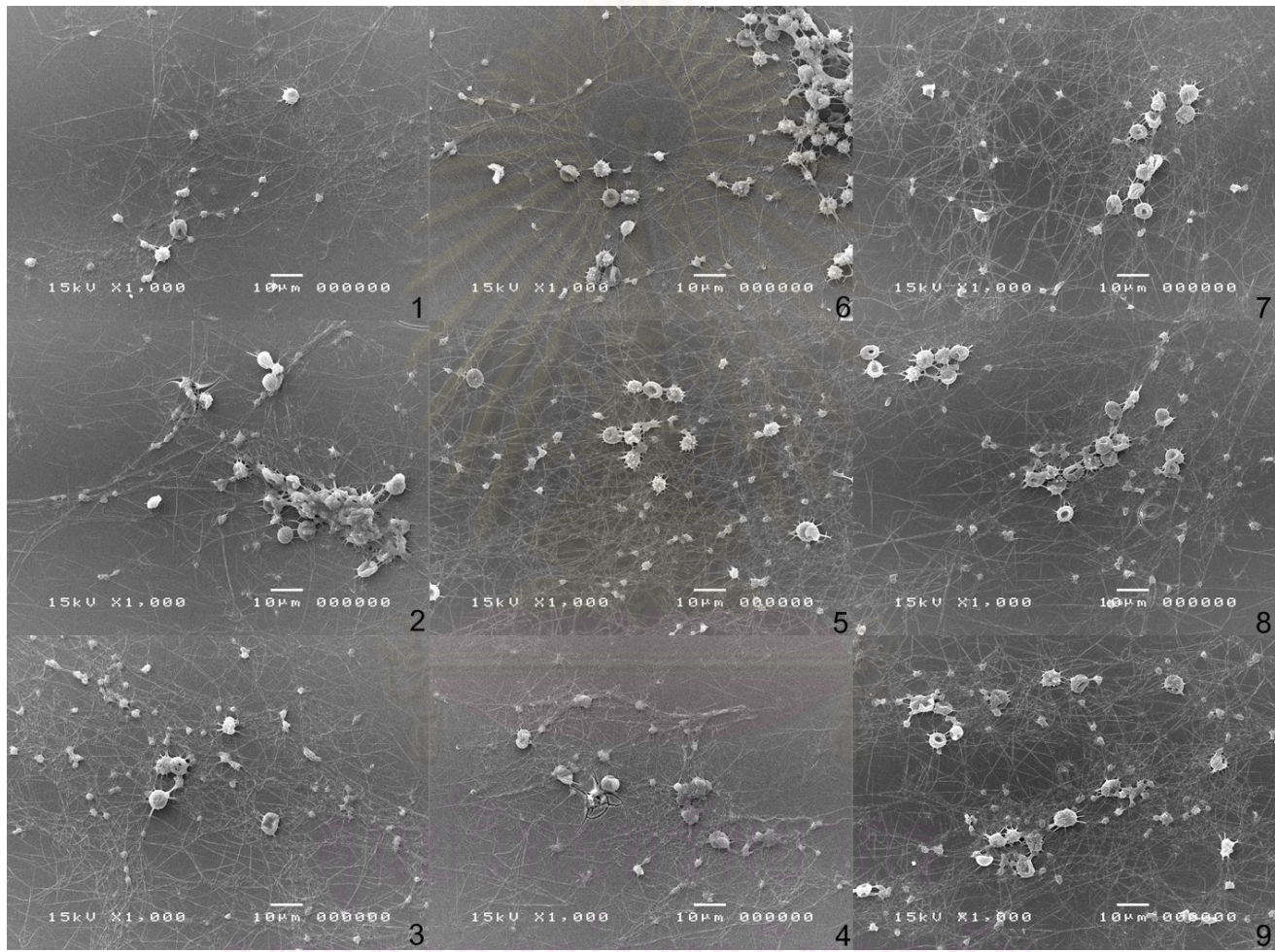
ภาพที่ 4.8 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เพื่อแสดงลักษณะการสร้างใยบินที่ปรากฏบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 200-1 เมื่อสัมผัสสิ่งแวดล้อมส่วน 5 นาที (การทดลองที่ 1)



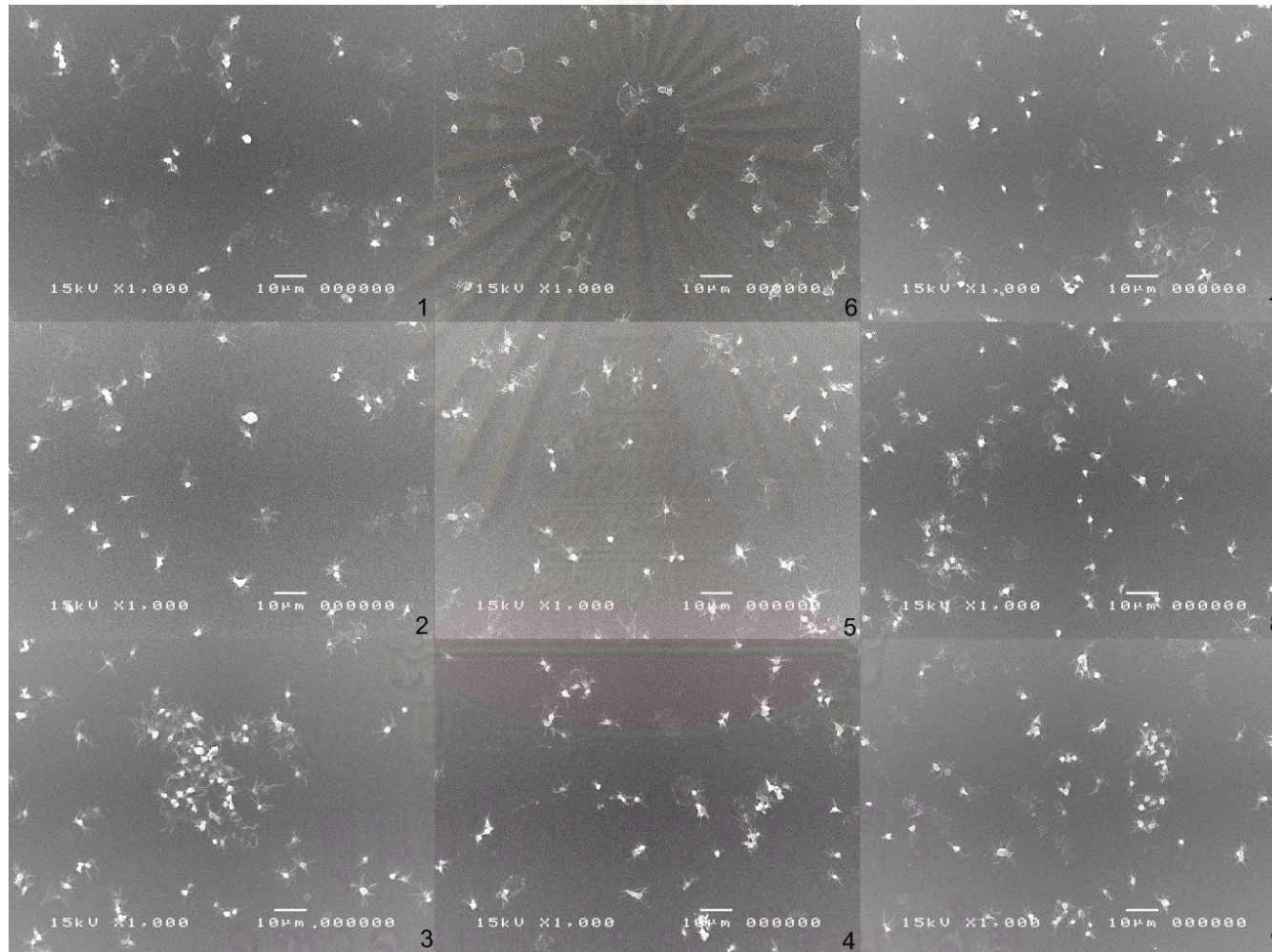
ภาพที่ 4.9 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เท่าแสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 550-4 เมื่อสัมผัสสิ่งแวดล้อมส่วน 5 นาที (การทดลองที่ 1)



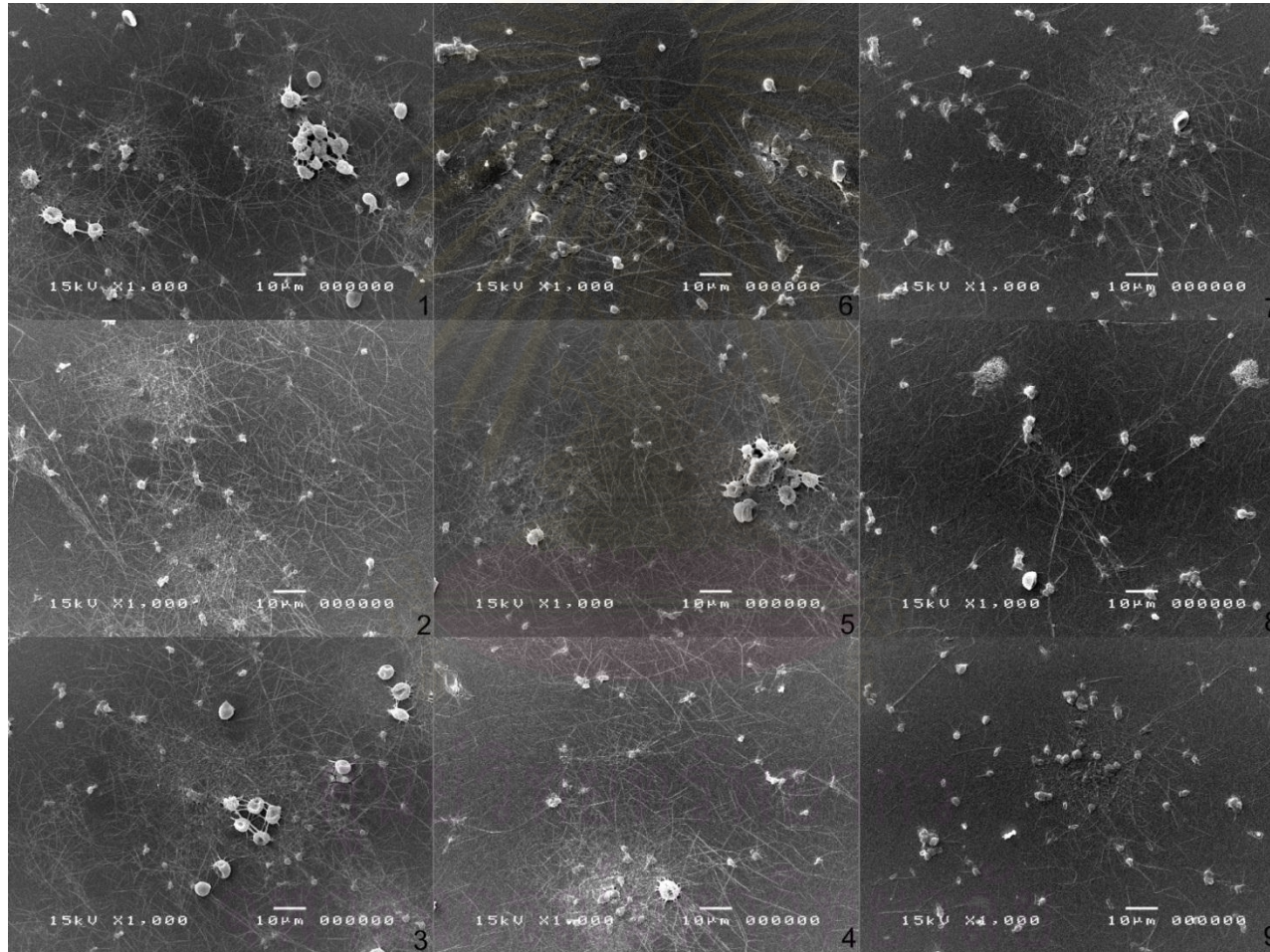
ภาพที่ 4.10 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เท่าแสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 200-1 เมื่อสัมผัสเลือดรวมส่วน 5 นาที (การทดลองที่ 2)



ภาพที่ 4.11 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เท่าแสดงลักษณะการสร้างใยปรีนที่ปรากฏบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 550-4 เมื่อสัมผัสเลือดรวมส่วน 5 นาที (การทดลองที่ 2)

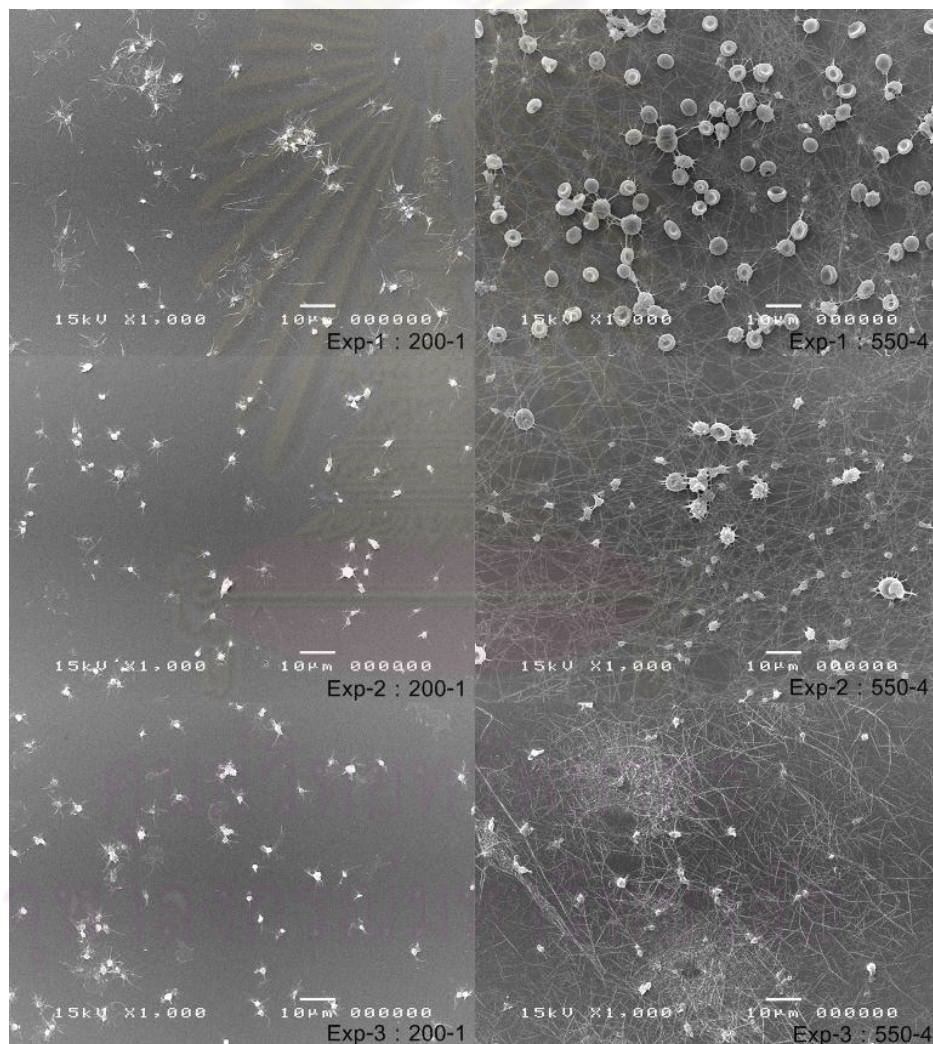


ภาพที่ 4.12 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เท่าแสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 200-1 เมื่อสัมผัสเลือดรวมส่วน 5 นาที (การทดลองที่ 3)



ภาพที่ 4.13 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เท่าแสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏบนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 550-4 เมื่อสัมผัสสิ่งแวดล้อมส่วน 5 นาที (การทดลองที่ 3)

ผลการศึกษา จากการทดลองทั้ง 3 ครั้ง พบว่า เมื่อปล่อยให้เลือดรวมส่วนทำปฏิกิริยาบนผิววัสดุ แนวโน้มของผลการทดลองที่เกิดขึ้น เป็นไปในทิศทางเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบการสร้างไฟบริน ที่เวลาเท่ากัน (ภาพที่ 4.14) บนพื้นผิวขึ้นตัวอย่าง 550-4 มีการสร้างไฟบริน ที่มีปริมาณสูงกว่า บนพื้นผิวขึ้นตัวอย่าง 200-1 จากการสังเกต ลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏส่วนใหญ่ บนขึ้นตัวอย่าง 550-4 มีโครงร่างไฟบรินเกิดขึ้น แต่ในขณะที่ขึ้นตัวอย่าง 200-1 มีไฟบรินเกิดขึ้นบ้างเป็นบางบริเวณ และ ยังปรากฏลักษณะของเกล็ดเลือดเดี่ยวอยู่เป็นส่วนใหญ่ ลักษณะโครงร่างไฟบรินที่เกิดขึ้น บนขึ้นตัวอย่าง 550-4 มีลักษณะปกคลุม กระจายเต็มพื้นที่มากกว่า นอกจากนี้ยังพบว่า ไฟบรินที่เกิดขึ้น มีลักษณะเป็นเส้นใยที่ละเอียด เมื่อส่องขยายที่กำลังขยายมากขึ้น

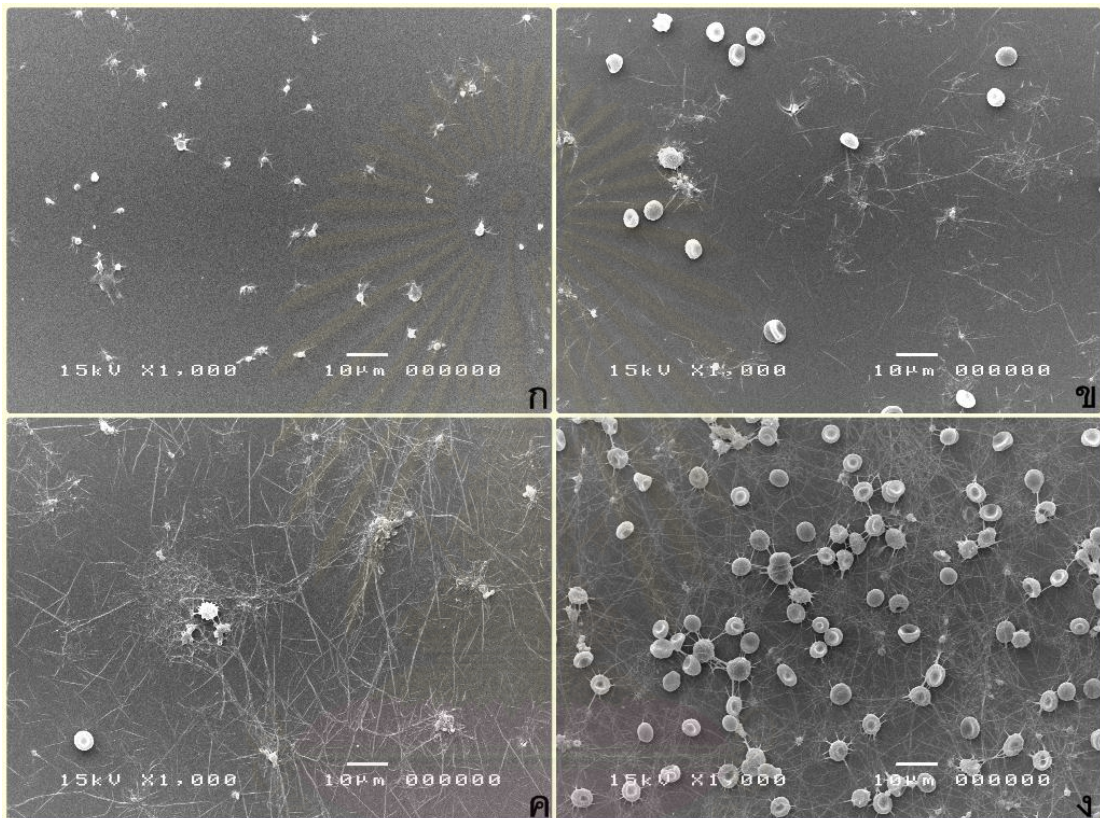


ภาพที่ 4.14 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรวมที่กำลังขยาย X1000 เท่าแสดงลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏ บนพื้นผิวกลุ่มตัวอย่าง 200-1 และ 550-4 เมื่อสัมผัสเลือดรวมส่วน 5 นาที เปรียบเทียบจากการทดลองทั้ง 3 ครั้ง

Exp=การทดลองครั้งที่

4.2.2.2 การศึกษาลักษณะทางกายภาพโครงร่างไฟบริน

จากการสังเกต ภาพถ่ายทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย X500 และ X1000 เท่า ของลักษณะการสร้างไฟบรินที่ปรากฏบนพื้นผิว ตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มจาก 3 การทดลอง พบว่า ลักษณะของไฟบรินที่ปรากฏบนผิวไทเทเนียมออกไซด์ที่ศึกษา สามารถจำแนกเป็นลักษณะต่างๆ ได้ 4 ลักษณะ ดังภาพที่ 4.15



ภาพที่ 4.15 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงการจำแนกลักษณะของไฟบรินที่ปรากฏทั้ง 4 ลักษณะ

ลักษณะที่ 1 มีแต่เกล็ดเลือดเดี่ยว (ก)

ลักษณะที่ 2 เริ่มมีไฟบรินเกิดขึ้นเล็กน้อยเป็นหย่อมๆ มี/ไม่มีเม็ดเลือดแดง (ข)

ลักษณะที่ 3 มีไฟบรินเกิดขึ้นกระจายสม่ำเสมอมีเม็ดเลือดแดงแต่ไม่มีการฝังตัวของเม็ดเลือดแดงภายใต้โครงร่างไฟบริน (ค)

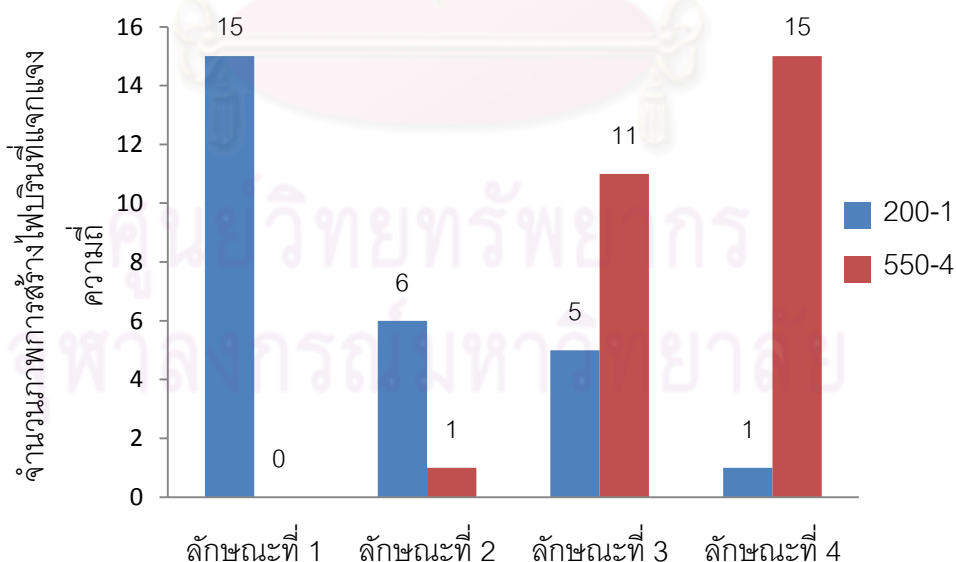
ลักษณะที่ 4 มีไฟบรินเกิดขึ้นกระจายสม่ำเสมอและมีการฝังตัวของเม็ดเลือดแดงภายใต้โครงร่างไฟบริน (ง)

4.2.2.3 การศึกษาเชิงปริมาณของลักษณะไฟบรินที่เกิดขึ้น

จากการศึกษา ลักษณะของโครงร่างไฟบรินเชิงพรรณนาข้างต้น ให้ผลในแนวทางเดียวกัน พบว่า กลุ่มตัวอย่าง 550-4 ซึ่งมีสภาพผลึกแบบอะนาเทส สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างไฟบรินในปริมาณมากกว่า กลุ่มตัวอย่าง 200-1 ซึ่งมีสภาพผลึกแบบออสทราล และเพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลอง และแสดงเป็นข้อมูลเชิงปริมาณ จึงนำภาพถ่ายที่ได้ในแต่ละการทดลอง ไปเปรียบเทียบกับ ภาพการจำแนกลักษณะไฟบรินทั้ง 4 ลักษณะ แล้วนำมาแจกแจงความถี่ และสรุปผลเป็นเชิงปริมาณ ตามตารางที่ 4.5 และแผนภาพที่ 4.16 พบว่ากลุ่มตัวอย่าง 550-4 มีจำนวนภาพถ่ายที่ปรากฏลักษณะที่ 3 และ 4 มากกว่า ซึ่งแสดงถึงการสร้างไฟบรินที่มีปริมาณมากกว่ากลุ่มตัวอย่าง 200-1 ที่ปรากฏภาพถ่ายเป็นแบบลักษณะที่ 1 และ 2 เป็นส่วนใหญ่

ตารางที่ 4.5 แสดงจำนวนภาพถ่ายการสร้างไฟบริน ที่ทำการจำแนกตามลักษณะไฟบริน

ลักษณะการ สร้างไฟบรินที่ ปรากฏ	การทดลองที่ 1		การทดลองที่ 2		การทดลองที่ 3	
	200-1	550-4	200-1	550-4	200-1	550-4
ลักษณะที่ 1	0	0	6	0	9	0
ลักษณะที่ 2	3	1	3	0	0	0
ลักษณะที่ 3	5	5	0	2	0	4
ลักษณะที่ 4	1	3	0	7	0	5



ภาพที่ 4.16 แผนภูมิแท่งแสดง การรวมจำนวนภาพถ่ายการสร้างไฟบริน ที่จำแนกไว้ตามลักษณะต่างๆ ของกลุ่มตัวอย่าง 200-1 และ 550-4

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และ ข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผล

การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษา ปฏิริยาทางชีวภาพเมื่อเลือดสัมผัสกับพื้นผิวที่มีสภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์แตกต่างกันในระดับนาโนสเกล และการศึกษานี้เลือกที่จะใช้แผ่นกระจกสไลด์เป็นแกนตั้งต้นเพื่อที่จะขึ้นรูปชั้นไทเทเนียมออกไซด์บนพื้นผิว แทนที่จะใช้ไทเทเนียมเนื่องจากหาง่ายและมีราคาถูก มีพื้นผิวแบน เรียบ สะดวกต่อวิธีการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์เป็นฟิล์มบางด้วยวิธีการโซล-เจล และสำหรับวิธีนี้ มีข้อดีหลายประการคือ เป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อน มีต้นทุนดำเนินการถูก สามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางของสารประกอบประเภทเซรามิก รวมถึงควบคุมความหนาและองค์ประกอบของชั้นฟิล์มได้^[40, 58] นอกจากนี้ฟิล์มที่ขึ้นรูปด้วยวิธีการนี้ยังมีค่าการยึดเกาะ (bonding strength) กับวัสดุที่เป็นแกนตั้งต้นที่ดี ตามรายงานของ Pätsi และคณะในปี ค.ศ. 1998^[59] พบว่าค่าการยึดเกาะระหว่างฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์กับไทเทเนียมมีค่าประมาณ 24-26 เมกกะปาสคาล (MPs) ซึ่งเพียงพอต่อการยึดอยู่ และไม่หลุดร่อนออกไประหว่างการฝังรากเทียมลงในเบ้ากระดูกที่เตรียมไว้ วิธีการนี้อาจจะดีเมื่อเทียบกับการเคลือบด้วยวิธีการอื่นเช่น ไทเทเนียมพลาสมาสเปรย์^[20] ที่มีรายงานการหลุดออกของชั้นเคลือบและไปขัดขวางการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน และทำให้ระยะห่างระหว่างผิวรากเทียมกับกระดูกเพิ่มมากขึ้น^[60, 61] จากข้อดีของวิธีการนี้ทำให้สามารถเตรียมไทเทเนียมออกไซด์ในลักษณะที่ต้องการได้ ในการศึกษาที่มีความพยายามที่จะขึ้นรูปฟิล์มบางและให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 700 องศาเซลเซียสเพื่อให้เกิดโครงสร้างผลึกของไทเทเนียมออกไซด์แบบรูโทด์ แต่พบว่ากระจกสไลด์ที่ใช้เป็นแกนตั้งต้นมีการบิดเบี้ยวเนื่องจากไม่สามารถทนความร้อนระดับนี้ได้ จึงไม่สามารถนำมาวิเคราะห์พื้นผิวได้ ดังนั้นอาจจำเป็นต้องเปลี่ยนแกนตั้งต้นเป็นวัสดุอื่นซึ่งทนความร้อนได้สูงกว่ากระจกสไลด์

ในการสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่า การเพิ่มขึ้นความหนาและและปรับสภาพด้วยความร้อนแต่ละครั้งฟิล์มไทเทเนียมออกไซด์ที่ได้มีลักษณะปรากฏที่ไม่เหมือนกัน เนื่องจากมุมตกกระทบของแสงมีความเข้มเพิ่มขึ้นเมื่อชั้นของเคลือบเพิ่มขึ้น ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงสีของชั้นฟิล์มอาจเกิดจากการแทรกสอดของแสง อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงแต่ละครั้งนอกจากจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพดังกล่าวแล้ว ก็ยังผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับอะตอมซึ่งมีขนาดเล็กมาก จึงจำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือในการวัดและวิเคราะห์ผล และวิธีการในการวิเคราะห์พื้นผิวของวัสดุก็มีหลายวิธี แต่อย่างไรก็ตามก็ยังมีวิธีใดวิธีหนึ่งที่ดีที่สุดที่วัดผลและตัดสินคุณสมบัติทางกายภาพของพื้นผิวเหล่านั้น จึงจำเป็นต้องอาศัยหลายวิธีในการประเมินผลการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวในด้านต่างๆ อาทิเช่น การวัดความขรุขระ ความสามารถในการเปียกของวัสดุ (wettability) องค์ประกอบทางเคมี ค่าความเป็นประจุของพื้นผิว (surface charge) การเรียงตัว

ของผลึก และการตอบสนองต่อปฏิกิริยาทางชีวภาพ เป็นต้น และการที่ไม่สามารถบ่งบอกได้ว่าปัจจัยใด เป็นปัจจัยที่โดดเด่นในแต่ละสถานการณ์ ดังนั้นการควบคุมปัจจัยและตัวแปรจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ^[62] การศึกษานี้ได้เลือกนำเอาวิธีการวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม การศึกษาผ่านเทคนิคเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรคชัน และ การวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุโดยเทคนิคอิตี เอ็กซ์ มาเป็นเครื่องมือในการวิเคราะห์ลักษณะและองค์ประกอบของพื้นผิว ซึ่งวิธีการทั้งหมดนี้เป็น ที่ยอมรับและใช้กันทั่วไป^[62] โดยให้รายละเอียดของชั้นฟิล์มที่แตกต่างกันเพื่อจะได้นำมาวิเคราะห์ ผลเชิงชีววิทยาต่อไป จากการตรวจวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มในระดับนาโนสเกล พื้นผิวมี ลักษณะแตกต่างกันโดยการขึ้นรูปไทเทเนียมออกไซด์เป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจลและปรับสภาพ ด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียสให้ลักษณะของฟิล์มที่เรียบแต่ด้วยสภาวะเดียวกันแต่ เปลี่ยนอุณหภูมิการปรับสภาพด้วยความร้อนเป็น 550 องศาเซลเซียส ที่ชั้นความหนาเท่ากันคือ 1 ชั้นกลับให้ลักษณะพื้นผิวภายนอกที่มีลักษณะเป็นนิวเคลียสเกิดขึ้นบ้าง แสดงว่าปัจจัยอุณหภูมิ มี ผลอย่างยิ่งต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของชั้นฟิล์ม และนอกจากนี้พื้นผิวมีความ ขรุขระมากขึ้นในฟิล์มที่มีความหนา 2 และ 3 ชั้น ก่อนลดลงที่ความหนา 4 ชั้น จึงสามารถตั้ง ข้อสังเกตได้ว่าในชั้นฟิล์มที่มีความหนา 2 และ 3 ชั้น อาจจะมีปริมาณของอนุภาคหรือธาตุที่ไม่ เพียงพอ ทำให้การเชื่อมต่อกันของอนุภาคไม่สมบูรณ์เต็มที่ เกิดเป็นลักษณะของปุ่มนิวเคลียส ขนาดใหญ่ ไม่สม่ำเสมอดังกล่าว แต่เมื่อจุ่มเคลือบและปรับสภาพด้วยความร้อนเป็นครั้งที่ 4 ปริมาณของอนุภาคที่เพิ่มขึ้น อาจจะได้มาเติมเต็มช่องว่างดังกล่าวทำให้เกิดลักษณะของฟิล์มที่ หนาแน่นและเรียบ

สำหรับความหนาของชั้นฟิล์มที่พบว่ากลุ่มตัวอย่าง 200-1 ให้ความหนามากกว่ากลุ่ม ตัวอย่าง 550-1 และ 550-2 นั้นไม่สามารถหาข้อสรุปได้ แต่ปัจจัยที่อาจจะมีผลคืออุณหภูมิที่ เปลี่ยนไป ส่วนที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียสนั้น ความหนาของชั้นฟิล์มมีค่าสูงขึ้นตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Paez และ Matousek ในปี ค.ศ. 2004^[33] ที่วัดความหนาโดยหักชั้น ตัวอย่างและใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด วัดระหว่างชั้นฟิล์มกับผิวกระจก การศึกษานี้ได้ลองทำการวัดด้วยวิธีการเดียวกันนี้ แต่ไม่สามารถวัดผลได้เป็นเพราะกล้อง จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่มีอยู่ ไม่สามารถขยายภาพระดับ 20000 เท่าได้ประกอบกับ ไม่มีความชำนาญเพียงพอในการเตรียมตัวอย่าง ทำให้ไม่สามารถวัดผลด้วยวิธีการเดียวกันนี้

จากผลการศึกษาสภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์ที่ถูกปรับสภาพด้วยความร้อนด้วยอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถวิเคราะห์สภาพผลึกได้เป็นแบบอะนาเทส และมีการเรียงตัวของ ผลึกแบบบอดีเซ็นเตอร์เตตระโกนอล เมื่อชั้นฟิล์มบางมีความหนา 3 ชั้นขึ้นไป สอดคล้องกับ การศึกษาของ Paez และ Matousek ปี ค.ศ. 2004^[33] ส่วนความหนาที่ต่ำกว่านี้ เครื่องวิเคราะห์ ธาตุด้วยรังสีเอ็กซ์ ไม่สามารถบอกชนิดสารประกอบและโครงสร้างผลึกได้ เนื่องจากปริมาณสาร

เคลือบ อาจจะมีปริมาณน้อยเกินไปทำให้เครื่องมือไม่สามารถตรวจวัดได้ อย่างไรก็ตามแม้ว่าเครื่องวิเคราะห์ธาตุด้วยรังสีเอ็กซ์ จะไม่สามารถตรวจวัดและบ่งบอกชนิดสารประกอบได้ แต่ผลจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเอสไอเอ็ม-อีดีเอ็กซ์ फिल्मบางที่ได้ก็เป็นสารประกอบของไทเทเนียมออกไซด์ และความหนาของชั้นฟิล์มที่เพิ่มขึ้น ปริมาณไทเทเนียมที่เป็นองค์ประกอบก็จะเพิ่มขึ้น และมีการกระจายตัวบนชั้นฟิล์มมากขึ้นด้วย

ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการนำสารละลายไทเทเนียมออกไซด์โซลไประเหยจนเหลือเป็นผลึกแล้วไปทำการปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส และ 550 องศาเซลเซียส ให้สีที่แตกต่างกันซึ่งที่อุณหภูมิสูง ให้สีของผลึกเป็นสีขาว แสดงว่าอาจจะเหลือส่วนที่เป็นอินทรีย์น้อยกว่า เป็นที่น่าสนใจว่าผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรกชันให้ผลเป็นโครงสร้างผลึกแบบอะนาเทส การเรียงตัวของผลึกแบบบอดีเซ็นเตอร์เตตระโกนอลเหมือนกัน แม้จะปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน และยังไม่สามารถหาข้อสรุปได้ แต่อย่างไรก็ตาม ลวดลายการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ ที่ตกกระทบบนพื้นผิวของผงบดละเอียดและปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่ามีความชันกว่า ลวดลายการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ ที่ตกกระทบบนพื้นผิวของผงบดละเอียดและปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส บ่งบอกถึงสภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์ที่มีความเป็นระเบียบมากกว่า แสดงว่าปัจจัยอุณหภูมิมิผลต่อสภาพผลึก โดยอุณหภูมิที่สูงกว่าทำให้การเรียงตัวของผลึกมีความเป็นระเบียบมากขึ้น

จากผลการวิเคราะห์พื้นผิวดังกล่าว พบว่าฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ มีความหนาที่แตกต่างกันนั้น ส่งผลต่อสภาพเป็นผลึกของไทเทเนียมออกไซด์ การศึกษาในครั้งนี้จึงเลือกกลุ่มตัวอย่างที่มีสภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์ต่างกันมากคือกลุ่มตัวอย่าง 200-1 และ 550-4 ซึ่งมีโครงสร้างผลึกแบบออสติเนียนและอะนาเทสตามลำดับ มาทำการทดลองเชิงเปรียบเทียบปฏิกิริยาทางชีววิทยาในแง่ของการเกาะยึดของเกล็ดเลือดและปริมาณในการสร้างไฟบริน แม้จะมีความหนาที่แตกต่างกันแต่ก็ไม่ได้ส่งผลต่อปฏิกิริยาทางชีววิทยา ตามรายงานการศึกษาของ Jokinene ในปี ค.ศ. 1998^[63] พบว่าความหนาของฟิล์มไทเทเนียมออกไซด์ ไม่มีผลต่อปฏิกิริยาทางชีววิทยาในห้องปฏิบัติการ แต่พื้นผิวชั้นนอกสุดที่มีความสำคัญเพราะเป็นส่วนที่สัมผัสโดยตรงกับเนื้อเยื่อของร่างกาย และในการศึกษาปฏิกิริยาชีววิทยาเริ่มต้น จากการที่เลือดรวมส่วนที่ปราศจากสารต้านการแข็งตัวของเลือดสัมผัสกับ ไทเทเนียมออกไซด์ที่มีสภาพผลึกที่ต่างกันเป็นเวลา 2 นาที โดยพบว่าผลการทดสอบการเกาะยึดของเกล็ดเลือดเดี่ยวไม่มีความแตกต่างของปริมาณเกล็ดเลือดเดี่ยวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นั้น อาจจะเป็นเพราะความขรุขระของพื้นผิวในระดับนาโนสเกล ไม่ได้มีผลต่อการเกาะยึดของเซลล์เหมือนกับความขรุขระของพื้นผิวในระดับไมโครสเกล ดังรายงานการศึกษาของ Park และ Davies ปี ค.ศ. 2003^[35] ที่ศึกษาการเกาะยึดของ

เม็ดเลือดแดงเดี่ยวบนผิวรากเทียมที่มีความขรุขระต่างกันในระดับไมโครสเกล โดยพื้นผิวที่มีลักษณะขรุขระมากกว่า จะมีการเกาะยึดของเม็ดเลือดแดงสูงกว่า การศึกษานี้ไม่ได้เตรียมผิวให้มีความขรุขระในระดับไมโครสเกล แต่ขึ้นรูปฟิล์มไทเทเนียมออกไซด์ด้วยวิธีโซล-เจลบนแผ่นกระจกสไลด์ ซึ่งมีความเรียบใกล้เคียงกันตามมาตรฐานการผลิต จึงเป็นเหตุผลว่าค่าการเกาะยึดของเกล็ดเลือดเดี่ยว จึงมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการที่เลือกใช้เกล็ดเลือดเดี่ยวมาเป็นตัวแทน ในการวัดค่าการเกาะยึดของเกล็ดเลือดในเชิงปริมาณ เนื่องจากการศึกษาทางสัณฐานวิทยา พบเกล็ดเลือดลักษณะนี้ในปริมาณสูงกว่าเกล็ดเลือดในระยะอื่นตามที่จำแนกลักษณะไว้ อย่างไรก็ตาม นอกเหนือจากเกล็ดเลือดเดี่ยวแล้ว เกล็ดเลือดที่อยู่ในระยะอื่น^[64]ที่ได้จากการศึกษา ควรจะได้นำมาใช้ศึกษาในเชิงปริมาณเช่นกัน แต่สำหรับการศึกษานี้ไม่ได้นำมาใช้ศึกษาเนื่องจากมีข้อจำกัดด้านเวลา และการศึกษาต่อไปควรจะนำมาศึกษาด้วย

การตรวจวัดการสร้างไฟบริน โดยการปล่อยให้เลือดรวมส่วนที่ปราศจากสารต้านการแข็งตัวของเลือดสัมผัสกับกับ ไทเทเนียมออกไซด์ที่มีสภาพผลึกที่ต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ที่พบว่า การสร้างไฟบรินบนพื้นผิวไทเทเนียมออกไซด์ที่มีสภาพผลึกแบบอะนาเทส มีการสร้างไฟบรินรวดเร็วและมีปริมาณมากกว่าพื้นผิวที่เป็นสภาพผลึกแบบออร์โธโรโมน แสดงว่าสภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์แบบอะนาเทส ซึ่งมีการเรียงตัวและโครงสร้างผลึกเป็นระเบียบกว่าแบบออร์โธโรโมนั้น มีผลต่อการสร้างไฟบริน อาจเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวในระดับนาโนสเกล โดยมีหลักฐานสนับสนุนจากบทความทบทวนวรรณกรรมซึ่งเขียนโดย Mendonca และคณะปี ค.ศ. 2008^[38] ที่สนับสนุนการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวระดับนาโนสเกลว่า จะมีผลต่อลักษณะทางภูมิศาสตร์และองค์ประกอบทางเคมีของพื้นผิวรากเทียม และโครงสร้างผลึกที่เปลี่ยนไป อาจส่งผลต่อประจุบนพื้นผิว แต่อย่างไรก็ตามหนึ่งในปัญหาของการศึกษาพื้นผิวที่มีการเปลี่ยนแปลงในระดับนาโนเมตร คือ เป็นการยากที่จะแยกว่า ผลกระทบที่เกิดขึ้นมาจากองค์ประกอบทางเคมี หรือ เป็นผลจากประจุของพื้นผิวที่เปลี่ยนไป อาจจะต้องสมมติฐานได้คือ การมีประจุบนพื้นผิวที่เปลี่ยนไป ทำให้เกิดการกระตุ้นการแข็งตัวของเลือดให้รวดเร็วขึ้น และเป็นประเด็นที่ควรมีการศึกษาต่อไป ในบทความเดียวกันนี้ มีการสนับสนุนถึงผลที่เกิดขึ้นจากการศึกษาครั้งนี้คือ แนวความคิดในการดัดแปลงพื้นผิวรากเทียม โดยการนำเอานาโนเทคโนโลยีมาใช้ดัดแปลงพื้นผิว และการดัดแปลงดังกล่าวจะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงทาง physicochemical เช่น การเชื่อมติดของกระดูกหรือ ชีวเคมี (biochemical) อาทิ การเปลี่ยนแปลงการดูดซับโปรตีน หรือ การเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการเกาะยึดของเซลล์ เป็นต้น ด้วยแนวความคิด 2 แบบคือ ลักษณะของพื้นผิวที่ดัดแปลงให้มีการเรียงตัวของร่องและหลุมบนพื้นผิวที่เป็นระเบียบ (organized manner) หรือเรียกว่า isotropic และแบบที่สองคือ ลักษณะการเรียงตัวของร่องและหลุมบนพื้นผิวที่ไม่เป็นระเบียบ (unorganized manner) หรือที่

เรียกว่า anisotropic และ การที่จะทำให้เกิดลักษณะนี้ได้ก็ขึ้นอยู่กับวิธีการตัดแปลงแต่ส่วนใหญ่จะได้ลักษณะอย่างหลังมากกว่า

อย่างไรก็ตามผลการศึกษาที่ได้เรื่องการเกาะยืดของไฟบรินยังมีผู้นำมาศึกษาไม่มากนัก สำหรับการศึกษารื่องไฟบรินกับผิวรากเทียมมีให้เห็นในการศึกษาของ Diloril และคณะปี ค.ศ. 2004^[54] ซึ่งทำการศึกษารื่องความขรุขระกับปริมาณของไฟบรินแล้ววัดผลเชิงปริมาณโดยใช้โปรแกรม Image J มาวัดปริมาณไฟบรินเป็นพื้นที่ในหน่วยตารางพิกเซล แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยก่อนรายงานผล ซึ่งการศึกษานี้ได้ลองทำตามขั้นตอนดังกล่าวพบว่าในการปรับความต่างของสี (contrast) ด้วยโปรแกรมอัตโนมัติ ให้ผลการทดลองไม่สอดคล้องกับความเป็นจริงเนื่องจากบางภาพที่สังเกตด้วยตาเปล่าไม่พบไฟบริน แต่กลับให้ค่าปริมาณตารางพิกเซล สูงกว่าภาพที่มีไฟบรินปรากฏอยู่จึงไม่ได้นำวิธีการนี้มาใช้ในการศึกษา แต่เลือกที่จะนำภาพที่ได้ มาแบ่งกลุ่มและแจกแจงความถี่ อธิบายเป็นเชิงพรรณนา จากการสังเกตเบื้องต้น พบว่าผลที่ได้มีความสอดคล้องกัน สามารถนำมาอธิบายถึงผลการทดลองที่ได้เป็นอย่างดีเป็นรูปธรรม เห็นภาพชัดเจนขึ้น วิธีการนี้จึงน่าจะเป็นอีกหนึ่งวิธีที่สามารถนำมาใช้ในการศึกษารื่องการเกาะยืดของไฟบรินในเชิงปริมาณได้เช่นกัน

5.2 สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้สามารถเตรียมไทเทเนียมออกไซด์ให้เป็นฟิล์มบางเคลือบบนผิวกระจกสไลด์ได้โดยกระบวนการโซล-เจล ความหนาของชั้นฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์เพิ่มขึ้นตามจำนวนของชั้นฟิล์ม มีค่า 68-200 นาโนเมตร สีของชั้นฟิล์มเปลี่ยนไปเมื่อความหนาของฟิล์มเพิ่มขึ้นเนื่องจากการแทรกสอดของแสงที่กระทบกับพื้นผิว เมื่อมีการปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน และ จำนวนชั้นเคลือบหนามากขึ้น ระดับความขรุขระของพื้นผิวแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามค่าความขรุขระของพื้นผิว ไม่ได้แปรผันตามจำนวนชั้นความหนา นอกจากนี้สภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์ เป็นลักษณะอะนาเทส เมื่อฟิล์มบางไทเทเนียมออกไซด์ที่เคลือบบนผิวกระจกสไลด์มีความหนา 3 ชั้นขึ้นไป และ ลักษณะอะนาเทสจะเด่นชัดมากขึ้น เมื่อชั้นฟิล์มหนาเพิ่มขึ้น แสดงว่าความหนาของชั้นฟิล์ม ก็เป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อสภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์ นอกเหนือจากอุณหภูมิ และด้วยกระบวนการผลิต หรือ ขึ้นรูปด้วยเทคนิคโซล-เจลนี้ เราสามารถควบคุมผลของสภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์ที่ต้องการได้ และผลการศึกษาทางชีววิทยา ด้วยวิธีการทางห้องปฏิบัติการนี้ สามารถแสดงให้เห็นว่า สภาพของผลึกไทเทเนียมออกไซด์ที่เปลี่ยนไปนั้นมีผลต่อการสร้างไฟบริน โดยสภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์ที่มีลักษณะอะนาเทส มีแนวโน้มที่สามารถเอื้อต่อการสร้างไฟบรินได้ดีกว่า สภาพผลึกไทเทเนียมออกไซด์ที่มีลักษณะแบบออสถูรอน แต่ไม่ได้มีผลต่อการเกาะยืดของเกล็ดเลือด อย่างไรก็ตาม ผลที่ได้ยังไม่อาจสรุปผลได้อย่างชัดเจน เนื่องจาก

เป็นการยากที่จะแยกว่า ผลที่เปลี่ยนแปลง มาจากปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งอย่างชัดเจน เพราะปัจจัยอื่น เช่น ความขรุขระของพื้นผิวระดับนาโนสเกล อาจจะมีส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงนี้ด้วย จึงต้องศึกษา ปัจจัยอื่นต่อไป

5.3 ข้อเสนอแนะ

การศึกษาต่อไป ควรนำวิธีการทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ มาศึกษาวัสดุคุณสมบัติ หรือ ลักษณะอื่นๆ ของพื้นผิว เช่น ความสามารถในการเปียกของวัสดุ องค์ประกอบทางเคมี และค่าความเป็นประจุของพื้นผิว เป็นต้น รวมถึงการศึกษาเปรียบเทียบกับ ฟิล์มบางของไทเทเนียม ออกไซด์ที่ขึ้นรูปด้วยวิธีโซล-เจล เคลือบผิวบนแผ่นไทเทเนียม และ วัสดุชีวภาพอื่นๆ เช่น อะลูมินา รวมถึง เซรามิกชีวภาพ (bioceramic) ตัวอื่นๆ เช่น tri-calcium phosphate เป็นต้น จากนั้นนำไป ศึกษาเปรียบเทียบเชิงชีววิทยา ด้านการทำปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับเลือด รวมถึงด้านอื่นๆ ด้วย เช่น การศึกษาการเกาะยึดของเซลล์สร้างกระดูก หรือ เปรียบเทียบการสร้างแคลเซียมฟอสเฟตบน พื้นผิว ด้วยวิธีการที่มีผู้เคยศึกษาและเป็นที่ยอมรับ สำหรับการศึกษที่เกี่ยวข้องกับเลือด เรื่องการ เกาะยึดของเกล็ดเลือด ควรนำเอาเกล็ดเลือดที่ตรวจพบในระยะอื่นๆ ตามที่จำแนกมาเป็น ค่าพารามิเตอร์ในการวัดผลเชิงปริมาณ ส่วนการเกาะยึดของไฟบริน อาจจะวัดความแข็งแรงของ โครงร่างไฟบรินที่เกิดขึ้น และการศึกษาควรทำต่อเนื่องไปถึง การศึกษาในสัตว์ทดลองและมนุษย์ โดยฝังรากเทียมไทเทเนียมที่ผ่านการดัดแปลงพื้นผิวด้วยวิธีโซล-เจลนี้ มาใช้ทดสอบด้วย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

- (1).Albrektsson, T., Johansson, C. and Sennerby, L. Biological aspects of implant dentistry: osseointegration. Periodontol 2000. 4 (February 1994): 58-73.
- (2).Branemark, P. I., Adell, R., Breine, U., Hansson, B.O., Lindstrom, J. and Ohlsson, A. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. Scand J Plast Reconstr Surg. 3 (1969): 81-100.
- (3).Davies, J. E. In vitro modeling of the bone/implant interface. Anat Rec. 245 (1996): 426-45.
- (4).Kanagaraja, S., Lundstrom, I., Nygren, H. and Tengvall, P. Platelet binding and protein adsorption to titanium and gold after short time exposure to heparinized plasma and whole blood. Biomaterials. 17 (December 1996): 2225-32.
- (5).Sammons, R. L., Lumbikanonda, N., Gross, M. and Cantzler, P. Comparison of osteoblast spreading on microstructured dental implant surfaces and cell behaviour in an explant model of osseointegration. A scanning electron microscopic study. Clin Oral Implants Res. 16 (December 2005): 657-66.
- (6).Pesskova, V., Kubies, D., Hulejova, H. and Himmlova, L. The influence of implant surface properties on cell adhesion and proliferation. J Mater Sci Mater Med. 18 (March 2007): 465-73.
- (7).Buser, D., Schenk, R. K., Steinemann, S., Fiorellini, J. P., Fox, C. H. and Stich, H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. J Biomed Mater Res. 25 (July 1991): 889-902.
- (8).Gotfredsen, K., Wennerberg, A., Johansson, C., Skovgaard, L. T. and Hjorting-Hansen, E. Anchorage of TiO₂-blasted, HA-coated, and machined implants: an experimental study with rabbits. J Biomed Mater Res. 29 (October 1995): 1223-31.

- (9). Wong, M., Eulenberger, J., Schenk, R. and Hunziker, E. Effect of surface topology on the osseointegration of implant materials in trabecular bone. J Biomed Mater Res. 29 (December 1995): 1567-75.
- (10).Francischone C. E, Vasconcelos L. W, Branemark P. I. Osseointegration and its benefits : Osseointegration and esthetics in single tooth rehabilitation Sao Paulo: Quintessence Publ Co. 2001.
- (11).Ivanoff, C. J., Hallgren, C., Widmark, G., Sennerby, L. and Wennerberg, A. Histologic evaluation of the bone integration of TiO₂ blasted and turned titanium microimplants in humans. Clin Oral Implants Res. 12 (April 2001): 128-34.
- (12).Ivanoff, C. J., Widmark, G., Johansson, C. and Wennerberg, A. Histologic evaluation of bone response to oxidized and turned titanium micro-implants in human jawbone. Int J Oral Maxillofac Implants. 18 (May-June 2003): 341-8.
- (13).Shalabi, M. M., Gortemaker, A., Van't Hof, M. A., Jansen, J. A. and Creugers, N. H. Implant surface roughness and bone healing: a systematic review. J Dent Res. 85 (2006): 496-500.
- (14).Trisi, P., Lazzara, R., Rebaudi, A., Rao, W., Testori, T. and Porter, S. S. Bone-implant contact on machined and dual acid-etched surfaces after 2 months of healing in the human maxilla. J Periodontol. 74 (July 2003): 945-56.
- (15).Martin, J. Y., Schwartz, Z., Hummert, T. W., Schraub, D. M., Simpson, J., Lankford, J., Jr., et al. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63). J Biomed Mater Res. 29 (March 1995): 389-401.
- (16).Soskolne, W. A., Cohen, S., Sennerby, L., Wennerberg, A. and Shapira, L. The effect of titanium surface roughness on the adhesion of monocytes and their secretion of TNF-alpha and PGE₂. Clin Oral Implants Res. 13 (February 2002): 86-93.

- (17).Thor, A., Rasmusson, L., Wennerberg, A., Thomsen, P., Hirsch, J. M., Nilsson, B., et al. The role of whole blood in thrombin generation in contact with various titanium surfaces. Biomaterials. 28 (February 2007): 966-74.
- (18).Freese, H. L., Volas, M. G. and Wood, J. R. Metallurgy and Technological Properties of Titanium and Titanium Alloys. Brunette, et al. ed. Metallurgy and fabrication: surface and technological properties. Berlin: Springer 2001.
- (19).Cooper, L. F., Zhou, Y., Takebe, J., Guo, J., Abron, A., Holmen, A., et al. Fluoride modification effects on osteoblast behavior and bone formation at TiO₂ grit-blasted c.p. titanium endosseous implants. Biomaterials. 27 (February 2006): 926-36.
- (20).Le Guehenec, L., Soueidan, A., Layrolle, P. and Amouriq, Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. Dent Mater. 23 (July 2007): 844-54.
- (21).Davies, J. E. Understanding peri-implant endosseous healing. J Dent Educ. 67 (August 2003): 932-49.
- (22).Hong, J. , Azens, A., Ekdahl, K. N. , Granqvist, C. G. and Nilsson, B. Material-specific thrombin generation following contact between metal surfaces and whole blood. Biomaterials. 26 (April 2005): 1397-1403.
- (23).Hong, J., Ekdahl, K. N., Reynolds, H., Larsson, R. and Nilsson, B. A new in vitro model to study interaction between whole blood and biomaterials. Studies of platelet and coagulation activation and the effect of aspirin. Biomaterials. 20 (April 1999): 603-11.
- (24).Johnson, K., Aarden, L., Choi, Y., De Groot, E. and Creasey, A. The proinflammatory cytokine response to coagulation and endotoxin in whole blood. Blood. 87 (June 1996): 5051-60.

- (25).Schenk, R. K. and Buser, D. Osseointegration: a reality. Periodontol 2000. 17 (June 1998): 22-35.
- (26).Pohler, O.E. Unalloyed titanium for implants in bone surgery. Injury. 31 (December 2000): 7-13.
- (27).Steinemann, S. G. Titanium--the material of choice? Periodontol 2000. 17 (June 1998): 7-21.
- (28).Liu, X., Chu, P. K. and Ding, C. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. Mater Sci Eng. 47 (December 2004): 49-121.
- (29).Balazic, M, Kopac, J, Jackson , M.J and Ahmed, W. Review: titanium and titanium alloy applications in medicine. IJNBM. 1 (2007): 3-34.
- (30).Textor, M., Sittig, C., Frauchiger, V. and Tosatti, S. Properties and Biological Significance of Natural Oxide Films on Titanium and Its Alloys. Brunette, et al. ed. Metallurgy and fabrication; surface and technological properties. pp.171-224. Berlin: Springer, 2001.
- (31).Long, M. and Rack, H. J. Titanium alloys in total joint replacement--a materials science perspective. Biomaterials. 19 (September 1998): 1621-39.
- (32).Deligianni, D. D., Katsala, N., Ladas, S., Sotiropoulou, D., Amedee, J. and Missirlis, Y. F. Effect of surface roughness of the titanium alloy Ti-6Al-4V on human bone marrow cell response and on protein adsorption. Biomaterials. 22 (June 2001): 1241-51.
- (33).Paez, L. R. and Matousek, J. Properties of sol-gel TiO₂ layers on glass substrate. Ceram Silik. 48 (April 2004): 66-71.
- (34).Sul, Y. T., Johansson, C., Byon, E. and Albrektsson, T. The bone response of oxidized bioactive and non-bioactive titanium implants. Biomaterials. 26 (November 2005): 6720-6730.

- (35).Park, J. Y. and Davies, J. E. Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces. Clin Oral Implants Res. 11 (December 2000): 530-9.
- (36).Hong, J., Andersson, J., Ekdahl, K. N., Elgue, G., Axen, N., Larsson, R., et al. Titanium is a highly thrombogenic biomaterial: possible implications for osteogenesis. Thromb Haemost. 82 (July 1999): 58-64.
- (37).Stanford, C. M. Surface modifications of dental implants. Aust Dent J. 53 Suppl 1 (June 2008): S26-33.
- (38).Mendonca, G., Mendonca, D. B. S., Aragao, F. J. L. and Cooper, L. F. . Advancing dental implant surface technology from micron to nanotopography. Biomaterials 29 (July 2008): 3822-35.
- (39).Schilephake, H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. Int J Oral Maxillofac Surg. 31 (October 2002): 469-84.
- (40).Brinker, C.J. and Scherer, G.W. The physics and chemistry of sol-gel processing. Sol-gel science. Academic Press, 1990.
- (41).Daculsi, G., Laboux, O. and Le Geros, R. Outcome and perspectives in bioactive coatings: what's new, what's coming. ITBM-RBM. 23 (2002): 317-325.
- (42).นพพร ธนบดีกิจ, มุทิตา พงษ์มาลา และ สุจิตรา วงศ์เกษมจิตต์ กระบวนการโซล-เจล. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ (Section T) คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2 (พฤษภาคม-สิงหาคม 2545): 369-383.
- (43).Schmidt, H. and Mennig, M. Wet coating technologies for glass. [Online].2000. Available from: <http://www.solgel.com/articles/Nov00/mennig.htm>. [2011, March 15]
- (44).Liu, J., Yang, D., Shi, F. and Cai, Y. Sol-gel deposited TiO₂ film on NiTi surgical alloy for biocompatibility improvement. Thin Solid Films. 429 (April 2003): 225-230.

- (45).Areva, S., Aaritalo, V., Tuusa, S., Jokinen, M., Linden, M. and Peltola, T. Sol-Gel-derived TiO₂-SiO₂ implant coatings for direct tissue attachment. Part II: Evaluation of cell response. J Mater Sci Mater Med. 18 (August 2007): 1633-42.
- (46).Branemark, P. I. , Zarb, G. A. and Albrektsson , T. Tissue-integrated prostheses. Osseo-integration in clinical dentistry. Carol Stream, IL Quintessence Publishers. 1985.
- (47).Albrektsson, T, Branemark, P. I., Hansson, H. A. and Lindstrom, J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. Acta Orthop Scand. 52 (1981): 155-70.
- (48).Roberts, W. E. Bone tissue interface. J Dent Educ. 52 (1998): 232-243.
- (49).Park, J. Y., Gemmell, C. H. and Davies, J. E. Platelet interactions with titanium: modulation of platelet activity by surface topography. Biomaterials. 22 (October 2001): 2671-82.
- (50).Albrektsson, T, Berglundh, T and Lindhe, J. Osseointegration: Historic background and current concepts. Clinical Periodontology and implant dentistry. Clinici Periodontolgy and Implant Dentistry. pp.809-820. Blackwell, 2003.
- (51).Davies, J. E. Mechanisms of endosseous integration. Int J Prosthodont. 11 (September-October 1998): 391-401.
- (52).Stanford, C. M. and Brand, R. A. Toward an understanding of implant occlusion and strain adaptive bone modeling and remodeling. J Prosthet Dent. 81 (May 1999): 553-61.
- (53).Davies, J. E. Bone bonding at natural and biomaterial surfaces. Biomaterials. 28 (December 2007): 5058-67.
- (54).Di Iorio, D., Traini, T., Degidi, M., Caputi, S., Neugebauer, J. and Piattelli, A. Quantitative evaluation of the fibrin clot extension on different implant surfaces: an in vitro study. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 74 (July 2005): 636-42.

- (55).Advincula, M. C., Rahemtulla, F. G., Advincula, R. C., Ada, E. T., Lemons, J. E. and Bellis, S. L. Osteoblast adhesion and matrix mineralization on sol-gel-derived titanium oxide. Biomaterials. 27 (April 2006): 2201-2212.
- (56).Siriwan Pongpom. Preparation of titanium dioxide thin film on glass plate using sol-gel technique for photocatalytic reduction of chromium (VI). Master's thesis, Chulalongkorn University 2004.
- (57).Woranis Petchsuphamit, Thidarat Angwarawong and Sunphat Namano. Effect of sol-gel derived amorphous TiO₂ films on the adhesion, differentiation and in vitro calcification of MC3T3-E1. IJOR. 1 (March 2010): 1-10.
- (58).Piveteau, L. D. Sol-Gel Coating on Titanium. D.M. Brunette, et al. ed. Surface engineering. pp.268-281. Berlin: Springer, 2001.
- (59).Pätsi, M. , J., Hautaniemi, Peltola, T., Kangasniemi, I. and R., Smart. Bonding strengths of titania sol-gel derived coatings on titanium. J Sol-Gel Sci Technol. 11 (1998): 55-66.
- (60).Chang, Y. L., Lew, D., Park, J. B. and Keller, J. C. Biomechanical and morphometric analysis of hydroxyapatite-coated implants with varying cristallinity. J Oral Maxillofac Surg. 57 (September 1999): 1096-108.
- (61).Tinsley, D., Watson, C. J. and Russell, J. L. A comparison of hydroxyapatite coated implant retained fixed and removable mandibular prostheses over 4 to 6 years. Clin Oral Implant Res. 12 (April 2001): 159-66.
- (62).Ratner, Buddy D., Hoffman, Allan S., Schoen, Frederick J. and Lemons, Jack E. Surface properties and surface characterization of materials. pp.42. San Diego, California USA.: Elsevier Academic Press, 2004.

- (63).Jokinen, M., Patsi, M., Rahiala, H., Peltola, T., Ritala, M. and Rosenholm, J. B. Influence of sol and surface properties on in vitro bioactivity of sol-gel-derived TiO₂ and TiO₂-SiO₂ films deposited by dip-coating method. J Biomed Mater Res. 42 (1998): 295-302.
- (64).Rodrigues, S. N. , Goncalves, I. C. , Martins, M. C. L., Barbosa, M. A. and Ratner, B. D. . Fibrinogen adsorption, platelet adhesion and activation on mixed hydroxyl-/methyl-terminated self-assembled monolayers. Biomaterials. 27 (November 2006): 5357-5367.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อมูลและรายละเอียดเกี่ยวกับการทำวิจัยที่ใช้ประกอบ การพิจารณาเข้าร่วมโครงการ (Inform Consent)

การวิจัยนี้เป็นการนำวิธีการทางห้องปฏิบัติการมาศึกษาเปรียบเทียบลักษณะต่างๆของชั้นไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปด้วยวิธีโซล-เจลต่อการสร้างกระดูกเชื่อมประสาน โดยยับยั้งเหตุการณ์ส่วนแรกๆ ในการสร้างกระดูกเชื่อมประสานมาใช้ คือการสร้างไฟบริน ที่จะทำหน้าที่เป็นโครงร่างให้เซลล์เข้ามาเกาะยึดและสร้างกระดูกประชิดผิวต่อไป และการที่จะสร้างไฟบรินได้นั้นจำเป็นต้องมีการสัมผัสกับเลือดและกระตุ้นการแข็งตัวของเลือดต่อมา ดังนั้นการศึกษานี้จำเป็นต้องใช้เลือดรวมส่วนที่ได้จากมนุษย์เพื่อนำมาสัมผัสกับผิววัสดุและศึกษาปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อนำวิธีการทางห้องปฏิบัติการมาศึกษาเปรียบเทียบลักษณะต่างๆของชั้นไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปด้วยวิธีโซล-เจลต่อความไวในการสร้างไฟบรินโดยใช้เลือดรวมส่วนที่ปราศจากสารต้านการแข็งตัว (non anti-coagulated whole blood)

วิธีการทดลอง

เจาะเลือดอาสาสมัครด้วยวิธีการเจาะหลอดเลือดดำที่ข้อพับแขน (cubital venipuncture) ปริมาณ 8-10 มิลลิลิตรแล้วนำมาเก็บในหลอดทดลองที่ไม่มีสารต้านการแข็งตัวของเลือดก่อนใช้ปิเปตอัตโนมัติดูดและหยดลงบนชิ้นตัวอย่างทันที ก่อนหยุดปฏิกิริยาที่เวลาต่างๆ กัน แล้วนำไปผ่านกระบวนการเตรียมชิ้นตัวอย่างเพื่อศึกษาปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านและวัดผลเชิงพรรณนา

ขั้นตอนการทดลองที่เกี่ยวข้องกับอาสาสมัคร

การเจาะเลือดในวันที่ทำการทดลองด้วยวิธีการเจาะหลอดเลือดดำที่ข้อพับแขน (cubital venipuncture) ปริมาณ 8-10 มิลลิลิตรซึ่งกระทำโดยเจ้าหน้าที่ผู้เชี่ยวชาญด้านเทคนิคในการเจาะเลือดก่อนนำมาใส่หลอดทดลองที่ไม่มีสารต้านการแข็งตัวของเลือดและนำมาใช้ทันที

คุณสมบัติและความรับผิดชอบของอาสาสมัคร

1. อาสาสมัครจะต้องเป็นผู้ที่บรรลุนิติภาวะ
2. อาสาสมัครจะต้องเป็นผู้ที่มีสุขภาพร่างกายแข็งแรงไม่มีโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติทางโลหิต
3. อาสาสมัครจะต้องไม่ได้รับยาใดๆมาก่อนเจาะเลือดอย่างน้อย 10 วัน

4. อาสาสมัครจะต้องพักผ่อนอย่างเพียงพอก่อนการเจาะเลือด
5. อาสาสมัครจะต้องพร้อมที่จะรับการเจาะหลอดเลือดดำที่ข้อพับแขน (cubital venupuncture) ปริมาณ 8-10 มิลลิลิตร
6. อาสาสมัครที่ขาดคุณสมบัติข้อใดข้อหนึ่งข้างต้นอาจถูกร้องขอให้ถอนตัวจากการวิจัย
7. อาสาสมัครที่ไม่พร้อมหรือขาดคุณสมบัติข้อใดข้อหนึ่งสามารถถอนตัวจากการวิจัยได้

ค่าตอบแทนที่อาสาสมัครจะได้รับ

อาสาสมัครแต่ละคนจะได้รับค่าตอบแทนคนละ 500 บาทตลอดทั้งการวิจัย

ความเสี่ยงที่อาจจะเกิดขึ้น

การเจาะเลือดในปริมาณน้อยโดยผู้เชี่ยวชาญ มีความเสี่ยงที่ค่อนข้างต่ำแต่หากอาสาสมัครเกิดภาวะที่ไม่พึงประสงค์เช่นเป็นลม หรือเหตุอื่นอันเนื่องมาจากการทำวิจัยอาสาสมัคร จะได้รับการดูแลจนปลอดภัยโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ระยะเวลาที่คาดว่าอาสาสมัครจะต้องเกี่ยวข้องกับการวิจัย

1 ครั้งภายในวันที่ทำการทดลอง

จำนวนของอาสาสมัครโดยประมาณที่จะใช้ในการวิจัย

อาสาสมัครที่จะใช้ในการวิจัยโดยประมาณจำนวน 3 คน

หมายเหตุ หากอาสาสมัครมีข้อสงสัยใดๆ สามารถสอบถามรายละเอียดเพิ่มเติมได้จากผู้วิจัยทุกเมื่อ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Consent Form)

การวิจัยเรื่อง

ผลของลักษณะที่แตกต่างกันของการเรียงตัวของผลึกของไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจลต่อความไวในการสร้างไฟบริน: การศึกษาเปรียบเทียบในห้องปฏิบัติการ

(Effects of different crystalline of sol-gel derived titanium oxide thin film on effective of fibrin clot formation: A comparative *in vitro* study)

ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัยรวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียดและมีความเข้าใจดีแล้ว

ผู้วิจัยรับรองว่าจะตอบคำถามต่างๆ ที่ข้าพเจ้าสงสัยด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้าเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้โดยสมัครใจ ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกการเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เมื่อใดก็ได้และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลใดๆต่อข้าพเจ้า

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลเฉพาะเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะในรูปที่เป็นสรุปผลการวิจัย การเปิดเผยข้อมูลเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าต่อหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกระทำได้เฉพาะกรณีจำเป็น ด้วยเหตุผลทางวิชาการเท่านั้น

ผู้วิจัยรับรองว่าหากเกิดอันตรายใดๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่คิดมูลค่า

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นแล้ว และมีความเข้าใจดีทุกประการ และได้ลงนามในใบยินยอมนี้ด้วยความเต็มใจ

ลงนาม.....ผู้ยินยอม

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....หัวหน้าโครงการวิจัย

(.....ทพ. อนรรฆพันธ์ คำตัน.....)

วันที่ให้คำยินยอมเข้าร่วมวิจัย วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เอกสารยกเลิกการยินยอมเข้าร่วมวิจัย (Withdrawal Form)

การวิจัยเรื่อง

ผลของลักษณะที่แตกต่างกันของการเรียงตัวของผลึกของไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางด้วยวิธีโซล-เจลต่อความไวในการสร้างไฟบริน: การศึกษาเปรียบเทียบในห้องปฏิบัติการ

(Effects of different crystalline of sol-gel derived titanium oxide thin film on effective of fibrin clot formation: A comparative *in vitro* study)

เหตุผลในการยกเลิกการยินยอมเข้าร่วมวิจัย

- ย้ายภูมิลำเนา
- ไม่สะดวกในการเดินทาง
- เหตุผลอื่น.....
-

ลงนาม.....ผู้ยกเลิกการยินยอม
(.....)

ลงนาม.....พยาน
(.....)

ลงนาม.....พยาน
(.....)

ลงนาม.....หัวหน้าโครงการวิจัย
(.....ทพ. อนรรฆพันธ์ คำตัน.....)

วันยกเลิกการยินยอมเข้าร่วมวิจัย วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

การทดสอบทางสถิติ: ความน่าเชื่อถือของผู้วัดผลการทดลอง

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Isolate 1	Isolate2
N		9	9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	40.11	38.78
	Std. Deviation	9.842	7.710
Most Extreme Differences	Absolute	.177	.157
	Positive	.177	.147
	Negative	-.127	-.157
Kolmogorov-Smirnov Z		.531	.470
Asymp. Sig. (2-tailed)		.940	.980

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Isolate 1	40.11	9	9.842	3.281
	Isolate2	38.78	9	7.710	2.570

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Isolatel & Isolate2	9	.969	.000

การทดสอบทางสถิติ: ความน่าเชื่อถือของผู้วัดผลการทดลอง (ต่อ)

Paired Samples Test

		Paired Differences					t
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		
					Lower	Upper	
Pair 1	Isolate1 - Isolate2	1.333	3.041	1.014	-1.004	3.671	1.315

Paired Samples Test

		df	Sig. (2-tailed)
		Pair 1	Isolate1 - Isolate2

Correlations

Correlations

		Isolate 1	Isolate2
Isolate1	Pearson Correlation	1	.969*
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	9	9
Isolate2	Pearson Correlation	.969*	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	9	9

** . Correlation is significant at the 0.01 level

การทดสอบทางสถิติ: การวัดการเกาะยึดของเกล็ดเลือดเชิงปริมาณ

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SUM 200-1	3	3.00	9.00
550-4	3	4.00	12.00
Total	6		

Test Statistics^b

	SUM
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-.655
Asymp. Sig. (2-tailed)	.513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Group

การทดสอบทางสถิติ: การวัดการเกาะยึดของเกล็ดเลือดเชิงปริมาณ (ต่อ)

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

ID	N	Mean Rank
SUM 1	2	2.50
2	2	4.50
3	2	3.50
Total	6	

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

ID	N	Mean Rank
SUM 1	2	2.50
2	2	4.50
3	2	3.50
Total	6	

Means

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
SUM * Group	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%

การทดสอบทางสถิติ: การวัดการเกาะยึดของเกล็ดเลือดเชิงปริมาณ (ต่อ)

Report

SUM

Group	Mean	Std. Deviation	N	Minimum	Maximum
200-1	524.67	34.152	3	495	562
550-4	517.67	144.756	3	351	612
Total	521.17	94.143	6	351	612

Frequencies

Statistics

SUM

200-1	N	Valid	3
		Missing	0
	Mean		524.67
	Std. Deviation		34.152
	Minimum		495
	Maximum		562
	Percentiles	25	495.00
		50	517.00
		75	562.00
550-4	N	Valid	3
		Missing	0
	Mean		517.67
	Std. Deviation		144.756
	Minimum		351
	Maximum		612
	Percentiles	25	351.00
		50	590.00
		75	612.00

การทดสอบทางสถิติ: การวัดการเกาะยึดของเกล็ดเลือดเชิงปริมาณ (ต่อ)

SUM

Group			Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
200-1	Valid	495	1	33.3	33.3	33.3
		517	1	33.3	33.3	66.7
		562	1	33.3	33.3	100.0
		Total	3	100.0	100.0	
550-4	Valid	351	1	33.3	33.3	33.3
		590	1	33.3	33.3	66.7
		612	1	33.3	33.3	100.0
		Total	3	100.0	100.0	

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ข

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



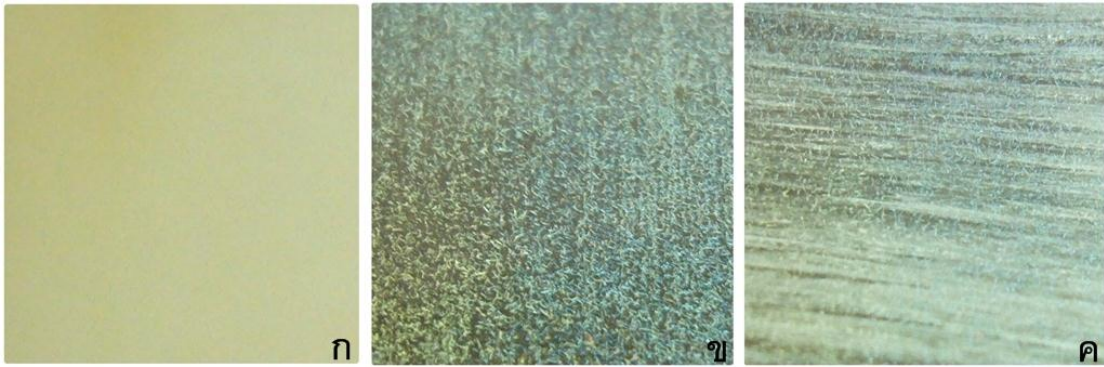
ภาพแสดง สารเคมีที่ใช้เป็นองค์ประกอบ ของสารละลายไทเทเนียมออกไซด์โซล ประกอบไปด้วย สารละลายเทตระบิวทอโอไททานเตต (tetrabutly orthotitanate, $C_{16}H_{36}O_4Ti$) (ก) เอทานอลบริสุทธิ์ (absolute ethanol) (ข) กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้นร้อยละ 37 (HCl) (ค) และ สารละลายอะซิติลอะซิโตน (acetylacetone, $C_5H_8O_2$) (ง)



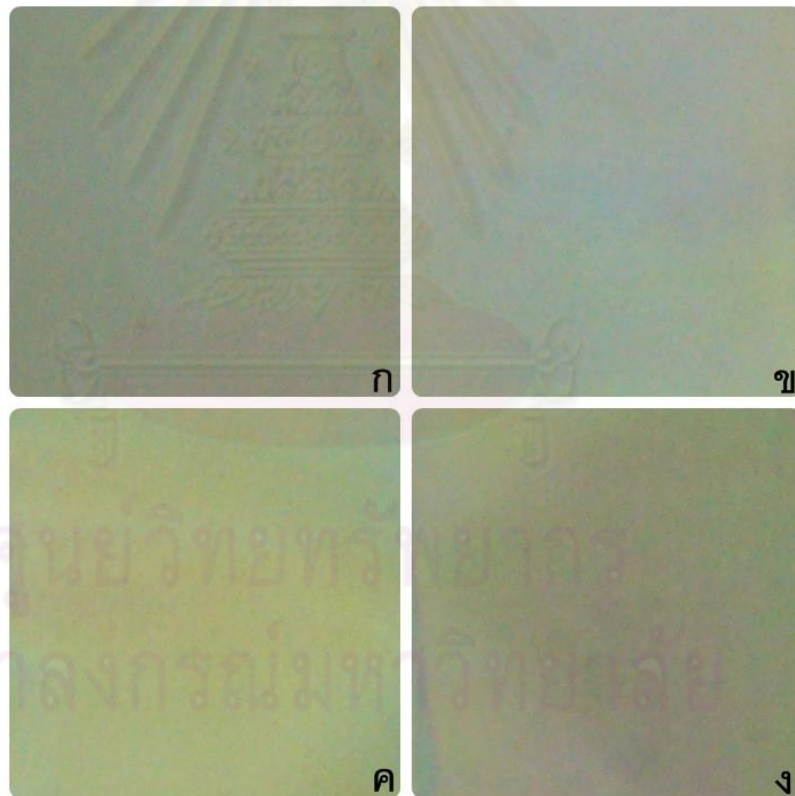
ภาพแสดง เตาเผาเซรามิก (Lindberg 1100 °C, LBS799C, USA)



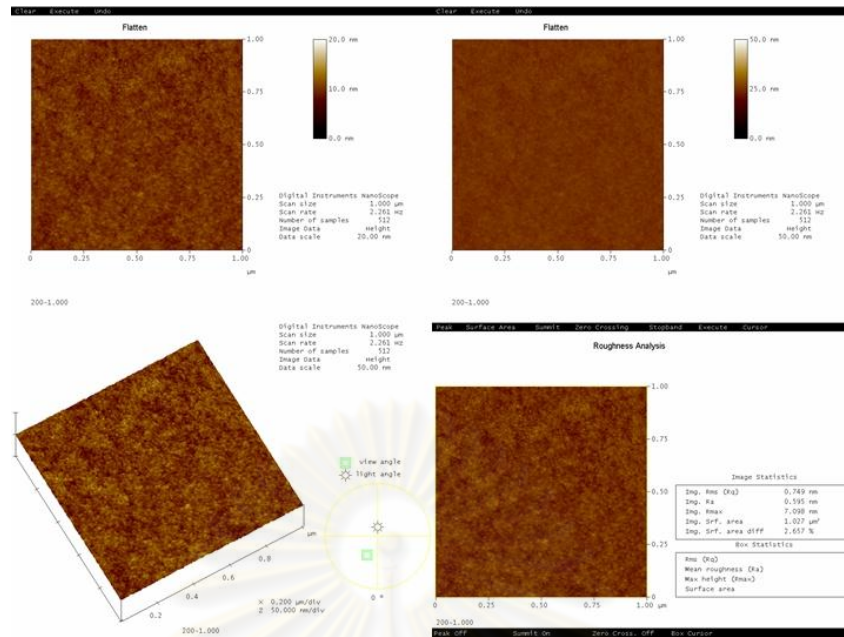
ภาพแสดง กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (JSM 5410LV, JEOL, Tokyo, Japan)



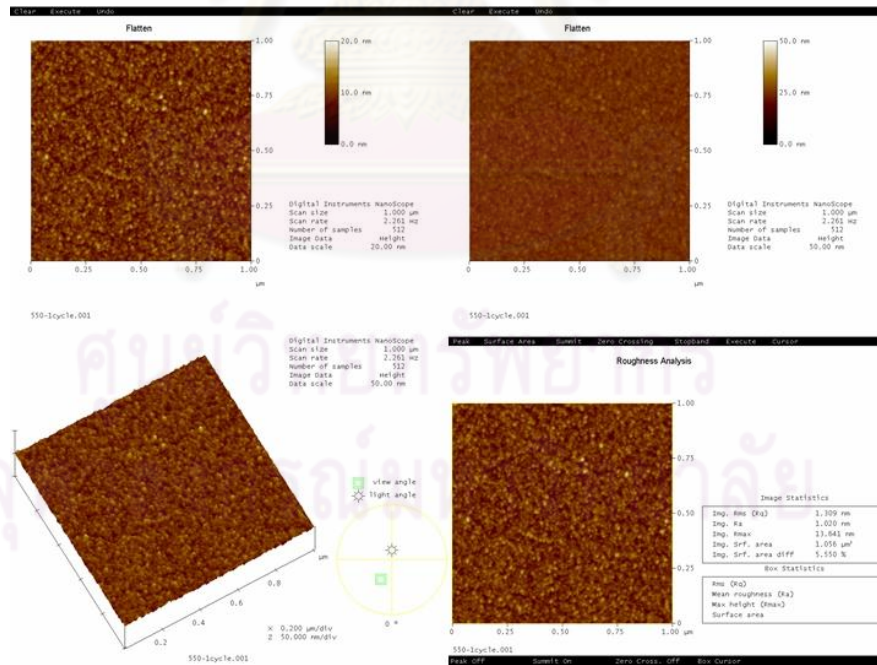
ภาพแสดง ลักษณะทางกายภาพที่มองเห็นด้วยตาเปล่า ของไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนกระจกสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจล และ ปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส 1 รอบ (ก) 2 รอบ (ข) และ ฟิล์มบางบนกระจกสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส 2 รอบ ที่มีการหาคูความร้อนเมื่อลُبสัมผัส (ค)



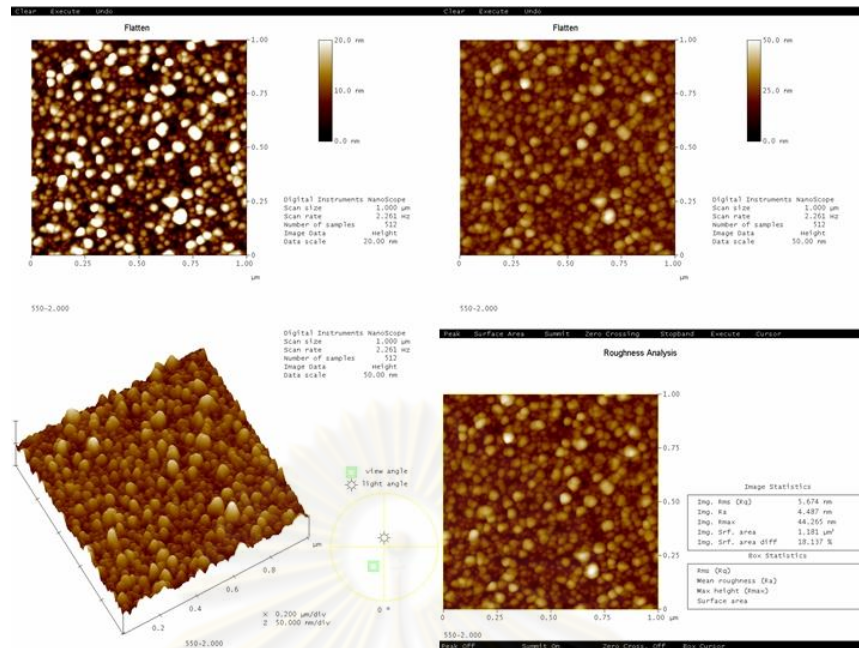
ภาพแสดง ลักษณะทางกายภาพที่มองเห็นด้วยตาเปล่า ของไทเทเนียมออกไซด์ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนกระจกสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจลและปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 1 รอบ (ก) 2 รอบ (ข) 3 รอบ (ค) 4 รอบ (ง)



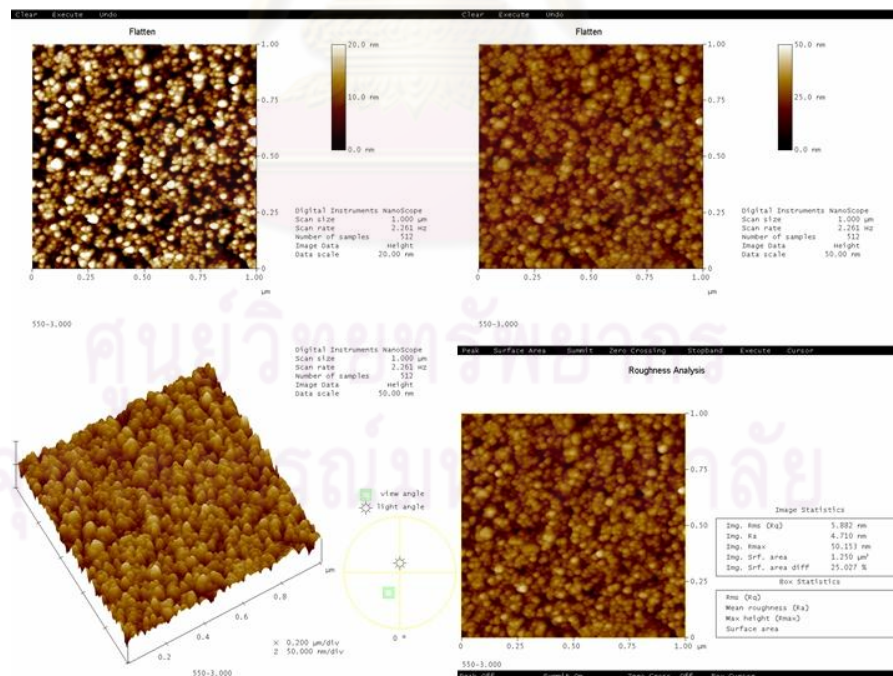
ภาพแสดง ผลการวิเคราะห์พื้นผิวของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้วสไลด์ ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส 1 รอบ (200-1) ด้วย กล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะสั่มผัส



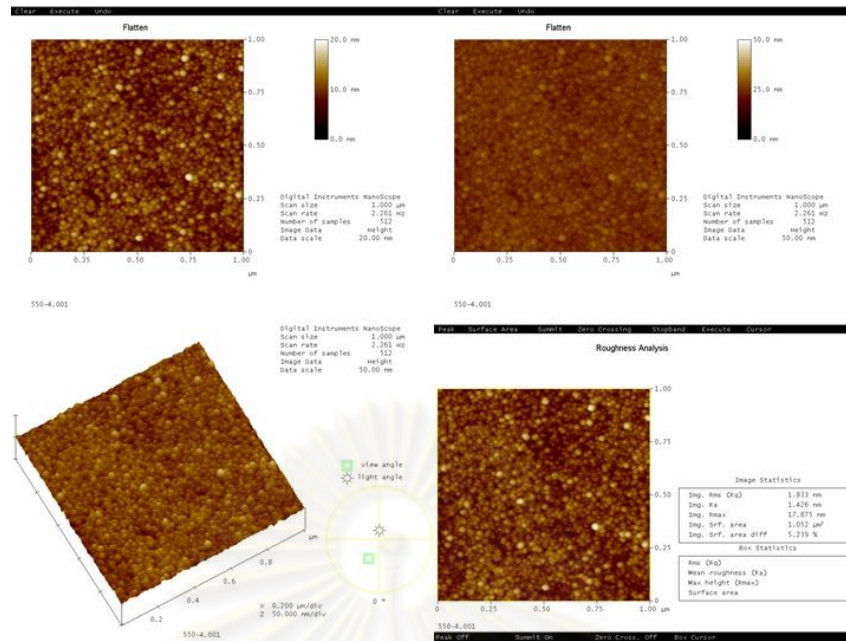
ภาพแสดง ผลการวิเคราะห์พื้นผิวของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้วสไลด์ ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 1 รอบ (550-1) ด้วย กล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะสั่มผัส



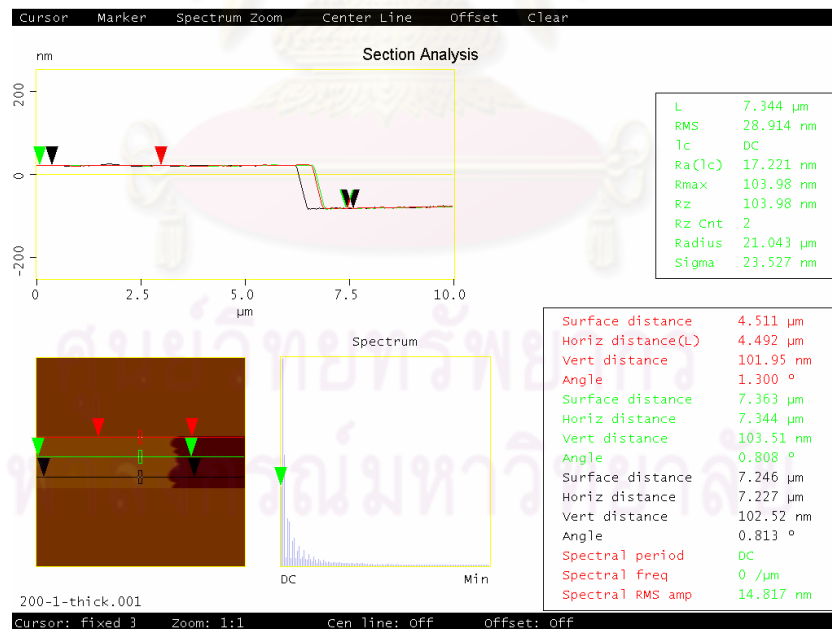
ภาพแสดง ผลการวิเคราะห์พื้นผิวของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้วไลต์ ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 2 รอบ (550-2) ด้วย กล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะสั่มผัส



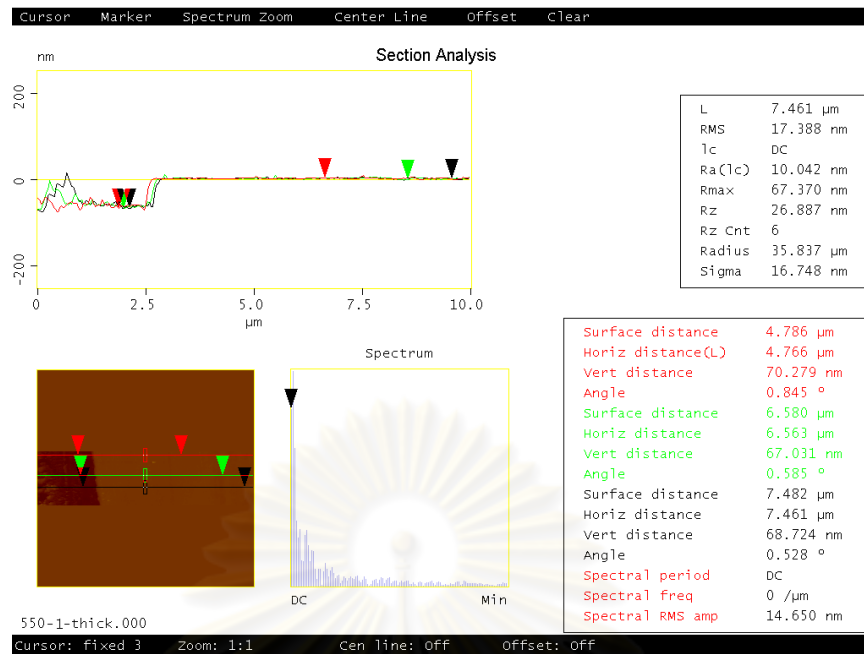
ภาพแสดง ผลการวิเคราะห์พื้นผิวของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้วไลต์ ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 3 รอบ (550-3) ด้วย กล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะสั่มผัส



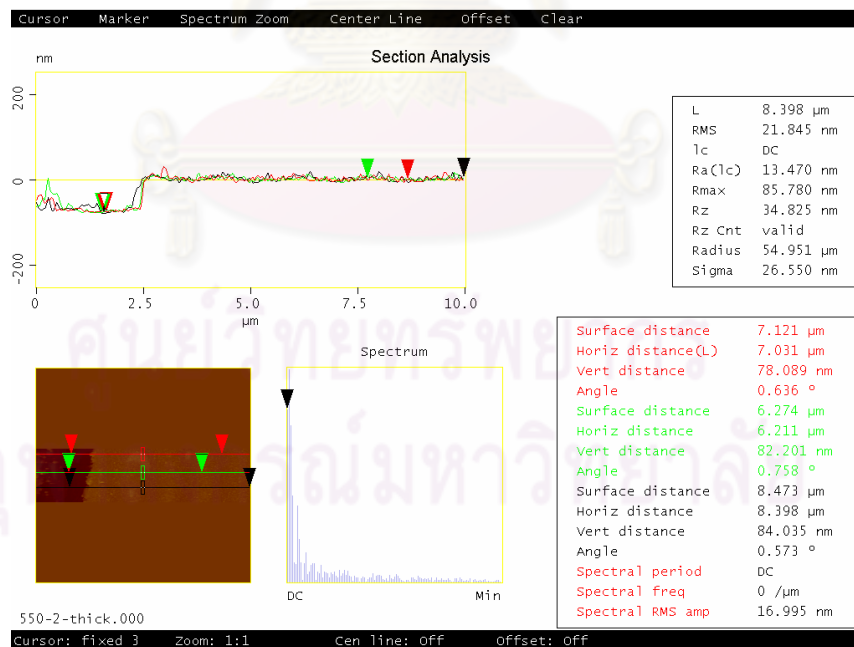
ภาพแสดง ผลการวิเคราะห์พื้นผิวของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้วสไลด์ ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 4 รอบ (550-4) ด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะส้อมผัด



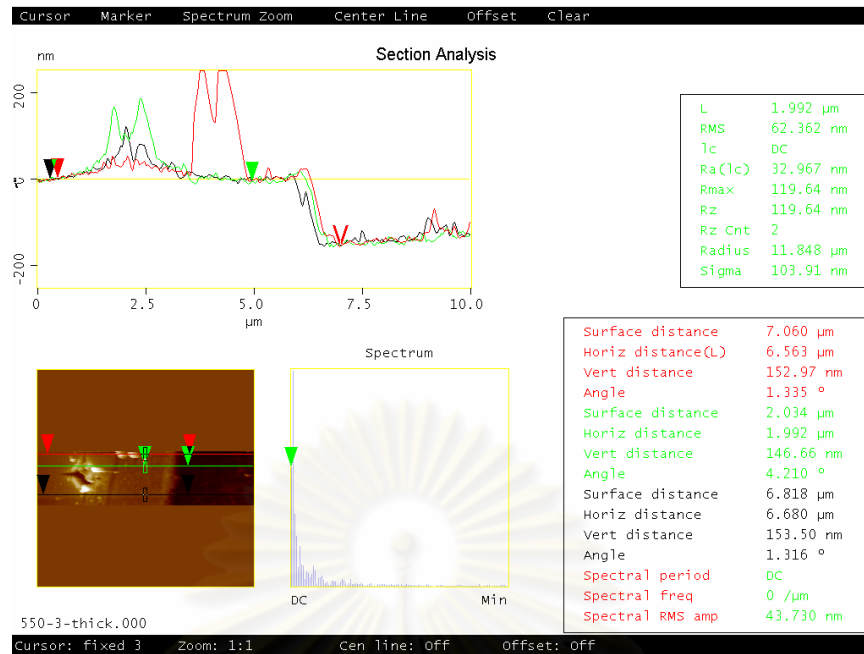
ภาพแสดง ผลการวิเคราะห์ความหนาของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้วสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส 1 รอบ (200-1) ด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะส้อมผัด



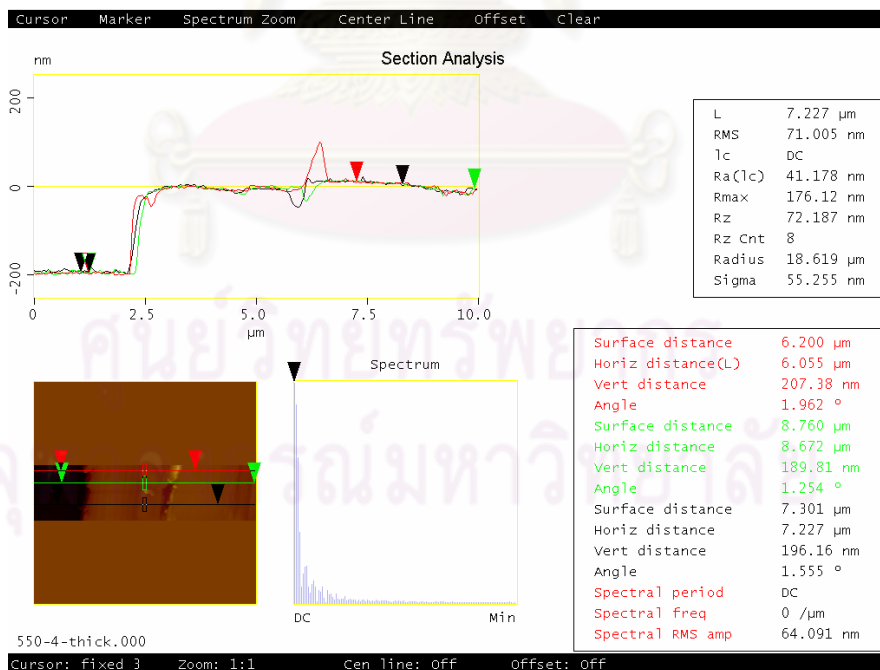
ภาพแสดง ผลการวิเคราะห์ความหนาของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้ว สไลด์ด้วยวิธีไซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 1 รอบ (550-1) ด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะสัมผัส



ภาพแสดง ผลการวิเคราะห์ความหนาของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้ว สไลด์ด้วยวิธีไซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 2 รอบ (550-2) ด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะสัมผัส



ภาพแสดง ผลการวิเคราะห์ความหนาของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้ว สไลด์ด้วยวิธีไฮล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 3 รอบ (550-3) ด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะสัมผัส



ภาพแสดง ผลการวิเคราะห์ความหนาของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้ว สไลด์ด้วยวิธีไฮล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 4 รอบ (550-4) ด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอมชนิดเคาะสัมผัส

ตารางแสดง ผลการวิเคราะห์ธาตุบนพื้นผิวของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้วสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส 1 รอบ (200-1)

Element	% Element (1)	% Element (2)	% Element (3)	% Average
C	42.47	48.08	45.70	45.42
O	29.10	24.82	28.01	27.31
Na	3.01	2.90	3.28	3.06
Si	16.64	15.65	16.11	16.13
Cl	0.17	0.25	0	0.14
K	2.12	1.97	2.12	2.07
Ca	2.97	2.81	2.97	2.92
Ti	1.27	1.44	1.81	1.51
Zn	1.42	1.25	0	0.89
Ba	0.82	0.83	0	0.55

ตารางแสดง ผลการวิเคราะห์ธาตุบนพื้นผิวของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้วสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 1 รอบ (550-1)

Element	% Element (1)	% Element (2)	% Element (3)	% Average
C	40.90	39.28	45.43	41.87
O	29.47	30.24	27.16	28.96
Na	3.80	3.88	3.46	3.71
Si	16.99	17.57	15.77	16.78
K	2.19	2.25	2.13	2.19
Ca	2.94	3.06	2.87	2.96
Ti	1.48	1.50	1.91	1.63
Zn	1.40	1.35	1.28	1.34
Ba	0.83	0.88	0	0.57

ตารางแสดง ผลการวิเคราะห์ธาตุบนพื้นผิวของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้วสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 2 รอบ (550-2)

Element	% Element (1)	% Element (2)	% Element (3)	% Average
C	40.22	35.61	35.37	37.07
O	27.46	30.19	30.09	29.25
Na	3.29	3.49	3.49	3.42
Si	17.24	18.30	18.43	17.99
Cl	0.16	0.16	0.13	0.15
K	2.43	2.50	2.52	2.48
Ca	3.27	3.36	3.38	3.34
Ti	3.80	3.77	4.05	3.87
Zn	1.35	1.52	1.53	1.47
Ba	0.78	1.10	1.01	0.96

ตารางแสดง ผลการวิเคราะห์ธาตุบนพื้นผิวของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้วสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 3 รอบ (550-3)

Element	% Element (1)	% Element (2)	% Element (3)	% Average
C	45.48	41.19	40.81	42.49
O	24.18	25.17	26.01	25.12
Na	2.83	3.04	3.01	2.96
Si	15.06	16.57	16.65	16.09
Cl	0.23	0	0.16	0.13
K	2.22	2.42	2.47	2.37
Ca	2.90	3.33	3.16	3.13
Ti	5.93	5.76	5.39	5.69
Zn	1.16	1.57	0	0.91
Ba	0	0.96	0	0.32

ตารางแสดง ผลการวิเคราะห์ธาตุบนพื้นผิวของไทเทเนียมออกไซด์ ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มบางบนแผ่นแก้วสไลด์ด้วยวิธีโซล-เจล และปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 4 รอบ (550-4)

Element	% Element (1)	% Element (2)	% Element (3)	% Average
C	63.39	45.56	45.98	51.64
O	0	20.80	23.54	14.78
Na	0	2.59	2.71	1.77
Si	16.16	14.02	13.00	14.39
Cl	0	0.34	0	0.11
K	3.19	2.40	2.23	2.6
Ca	4.24	3.11	3.13	3.49
Ti	13.02	9.01	9.41	10.48
Zn	0	1.29	0	0.43
Ba	0	0.88	0	0.29

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ทันตแพทย์ อนรรฆพันธ์ คำตัน เกิดเมื่อวันอาทิตย์ที่ 6 เดือนกันยายน พ.ศ. 2524 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ระดับปริญญาบัณฑิตสำเร็จการศึกษาทันตแพทยศาสตรบัณฑิต ที่คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเมื่อปี พ.ศ. 2548

ระหว่างการศึกษาในระดับปริญญาบัณฑิต เคยได้รับรางวัลชนะเลิศการประกวดงานวิจัยแบบปากเปล่า (oral presentation) เรื่องผลของสารสกัดจากสมุนไพรบางชนิดต่อเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ในไบโอฟิล์ม (effects of some herbal extracts on *Streptococcus mutans* in biofilm) จากหมวดชีววิทยาช่องปาก (oral biology) เนื่องในงานวันวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และได้รับทุนจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ให้ไปนำเสนอผลงานวิจัยเดียวกันนี้ในงานประชุมนักเรียนทันตแพทย์ภาคพื้นเอเชียแปซิฟิก (Asia Pacific Dental Student Association Congress, APDSA) ที่ เมืองอะเดเลด (Adelaide) ประเทศออสเตรเลีย (Australia) เมื่อปี พ.ศ. 2545

ประสบการณ์การทำงาน เข้ารับราชการเป็นข้าราชการ ในสังกัดกระทรวงสาธารณสุข ครั้งแรกเมื่อเดือน เมษายน พ.ศ. 2548 ที่โรงพยาบาลนาดูน อำเภอนาดูน จังหวัดมหาสารคาม และดำรงตำแหน่งหัวหน้าฝ่ายทันตสาธารณสุขจนถึงปี พ.ศ. 2550 จากนั้นได้ย้ายมาสังกัดที่โรงพยาบาลสามพราน อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ก่อนลามาศึกษาต่อที่ภาควิชา ศัลยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ 12 พฤษภาคม พ.ศ.2551 จนถึงวันที่ 11 พฤษภาคม พ.ศ.2553 และจากนั้นก็กลับไปปฏิบัติราชการต่อตามเดิม ณ โรงพยาบาลสามพราน อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

ศูนย์วิทยพัชกร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย