

การพัฒนาวัสดุทดแทนกระดูกจากกระดูกวัว

สุพรรณิ ปทุมารักษ์,^a จรัสศรี ลอประยูร,^b วินัสรินทร์ อินทร์ติยะ,^a สิทธา ปิยะวิจิรวงศ์,^c นพ. ประวิทย์ อัครเสริณนท์,^c ^a ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ,^b มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, ^c คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

บทนำ

โดยทั่วไปเมื่อร่างกายเกิดการสูญเสียกระดูกไม่ว่าจะเนื่องมาจากโรคหรืออุบัติเหตุก็ตาม หากเป็นบริเวณเล็กน้อย กลไกของร่างกายสามารถสร้างหรือซ่อมแซมตัวเองได้ แต่ถ้าเป็นโพรงใหญ่ การสร้างหรือซ่อมแซมกระดูกอาจเกิดได้ไม่สมบูรณ์และเป็นไปอย่างช้าเกินไป ทำให้ไฟบริลหรือเนื้อเยื่อ (fibrous tissue) สามารถเกิดแทนที่เนื้อกระดูกได้ จึงจำเป็นต้องหากระดูกมาเสริมซึ่งสามารถนำมาจากกระดูกบริเวณอื่นของร่างกายผู้ป่วยเอง เช่น เขียงควาน หรือสามารถนำมาจากกระดูกบริจาคของผู้เสียชีวิตที่เก็บแช่แข็งไว้ในธนาคารกระดูก อย่างไรก็ตาม การใช้กระดูกแช่แข็งมีข้อจำกัดอาจมีปัญหาด้านการติดเชื้อ ส่วนการใช้กระดูกของผู้ป่วยเองก็มีข้อจำกัดที่ผู้ป่วยต้องได้รับการผ่าตัดเพิ่มขึ้น และข้อจำกัดในเรื่องปริมาณกระดูกที่สามารถนำมาใช้งานได้ ด้วยข้อจำกัดดังกล่าว จึงได้มีการพัฒนาวัสดุทดแทนกระดูกขึ้นมา

ไฮดรอกซีเอปาทิต (hydroxyapatite) เป็นวัสดุทดแทนกระดูกตัวหนึ่งซึ่งเป็นที่นิยมเนื่องจากมีคุณสมบัติสามารถเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย (biocompatible) และสามารถทำให้เกิดการสร้างกระดูกเชื่อมต่อกันได้ (osteoconductive) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าในประเทศไทยยังไม่เป็นที่นิยมใช้วัสดุทดแทนกระดูก เนื่องจากต้องนำเข้าจากต่างประเทศราคาจึงสูงมาก ทางศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (MTEC) ได้มีการสำรวจความต้องการจากแพทย์ในประเทศไทย พบว่า ในขณะนี้ สารไฮดรอกซีเอปาทิตแบบรูพรุนเป็นที่ต้องการมากที่สุด จึงได้สนับสนุนให้มีการวิจัยและพัฒนาวัสดุตัวนี้ขึ้นมาเพื่อกระตุ้นให้เกิดการใช้งานเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของวงการรักษา

การพัฒนาไฮดรอกซีเอปาทิตแบบรูพรุนจากกระดูกวัว เพื่อใช้งานเป็นวัสดุทดแทนกระดูกนั้น ได้ผ่านการเตรียมโดยนำกระดูกวัวมากำจัดไขมันและโปรตีนออก และนำไปเผาที่อุณหภูมิสูงมากกว่า 1,000 °C หลังจากนั้นนำวัสดุที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์ทดสอบ ซึ่งในบทความนี้จะเป็นการรายงานสรุปผลการทดสอบไฮดรอกซีเอปาทิตที่ได้พัฒนาขึ้นเพื่อแสดงให้เห็นว่ามีความปลอดภัยสามารถที่จะนำไปใช้ทดสอบในผู้ป่วยได้ดังนี้

1. การวิเคราะห์วัสดุที่เตรียมได้ตามมาตรฐาน ASTM F 1581-95b : Standard Specification for Composition of Anorganic Bone for Surgical Implant ดังนี้

1.1 ปริมาณ calcium และ phosphorus วิเคราะห์โดยเทคนิค XRF

ตารางที่ 1 : แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ calcium และ phosphorus โดยเทคนิค XRF

Elements	Wt% ± SD
Calcium	39.4 ± 0.1
Phosphorus	17.8 ± 0.1

1.2 ปริมาณ โลหะหนัก วิเคราะห์โดยเทคนิค ICP

ตารางที่ 2 : แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักโดยเทคนิค ICP

elements	As	Cd	Hg	Pb	Mo	Cu	Ag	Ni	Co	Sb	Bi	Tl	Fe	Zn *
ppm	<1	<0.2	<1	<2	0.7	<1	0.2	<1	<1	<0.5	<0.5	<1	<0.01%	223±35

* ปริมาณ element ที่แสดงในตารางที่ 2 เป็นไปตามข้อกำหนดของ ASTM F 1581-95b ยกเว้น Zn ที่มีปริมาณมาก แต่อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบกันดีว่า Zn เป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญต่อหนึ่งต่อการเจริญเติบโตของมนุษย์และสัตว์ นอกจากนี้ยังมีผลต่อการสร้างกระดูกดังในรายงานที่ตีพิมพ์ในวารสาร The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine 11, 1998, p 119-135 กล่าวถึงเรื่อง "Role of Zinc in Bone Formation and Bone Resorption"

1.3 ตรวจสอบเฟสโดยเทคนิค X-ray diffraction analysis

จากการวิเคราะห์ XRD pattern ที่ได้เทียบกับ JCPDS card # 9-0432 ตามที่ ASTM F1581-95b กำหนดพบว่าเป็น XRD pattern ของ hydroxyapatite

1.4 ปริมาณ organic ที่หลงเหลือวัดจาก total carbon or nitrogen ใช้เทคนิค CHN analyser

การวิเคราะห์หาปริมาณ organic สามารถหาได้จากปริมาณ total carbon or total nitrogen

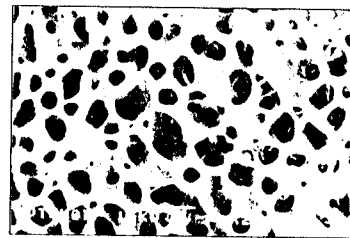
ตารางที่ 4 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณ carbon & nitrogen

Wt% C	Wt% N
0.04	-

จากตารางที่ 4 พบว่าตรวจไม่พบ nitrogen ซึ่งแสดงว่าไม่มีปริมาณ organic หลงเหลืออยู่ สำหรับปริมาณ carbon ที่พบเพียง 0.04 wt% นั้นน่าจะมาจาก carbonate group ซึ่งโดยปกติจะพบได้ใน hydroxyapatite ที่ผลิตมาจากกระดูก เพราะในกระดูกนั้นจะประกอบไปด้วย hydroxyapatite และ ion species อื่นๆ เช่น carbonate group ซึ่งจะ substituted ในโครงสร้างของ hydroxyapatite บางส่วน (Natural and Living Biomaterials by Garth W. Hastings, Paul Ducheyne, CRC Press, Inc., 1984, p. 31-34)

2. Morphology และ size ของรูพรุน ใช้ Scanning electron microscopy (SEM) SEM picture แสดงขนาดของรูพรุน >100 μm และมีลักษณะเชื่อมต่อกัน (inter-connecting pore system)

รูปที่ 1 : แสดงลักษณะและขนาดรูพรุนของไฮดรอกซีเอปาทิต



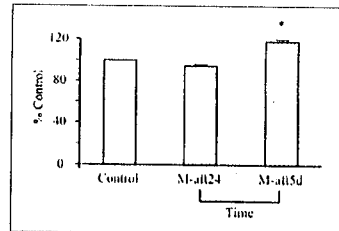
3. การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุ (Biological evaluation) ตามมาตรฐาน ISO 10993

โดยแบ่งออกเป็น

3.1 In-vitro test :

ศึกษาผลของ Hydroxyapatite ต่อการเจริญของเซลล์กระดูกเพาะเลี้ยง (human osteoblasts)

พบว่าในช่วงแรก (24h) ของการเพาะเลี้ยงเซลล์กระดูกบนวัสดุมีจำนวนเซลล์ลดลงไปบ้างเล็กน้อยเมื่อเทียบกับ control แต่ก็ยังมีเซลล์เหลือมากกว่า 80% จึงถือว่าไม่ toxic เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไป 5 วันพบว่าเซลล์สามารถเจริญได้ปกติ มีจำนวนเพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 2

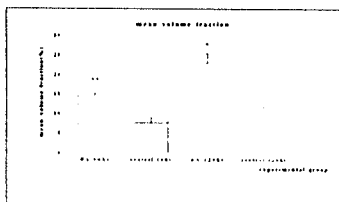


รูปที่ 2 : Cell viability of primary human osteoblast cell culture (HOB) after cells were coincubated with hydroxyapatite for 24h and 5 days. Data expressed as mean ± SEM of 36 determinations (wells) from 3 batches of cells on separate experimental days (n=36). *p < 0.05 when compared with control untreated cells.

3.2 In-vivo test ทำการปลูกถ่าย Hydroxyapatite (HA) ในหนูขาว

ผลการทดสอบการปลูกถ่าย HA ในหนูขาวเป็นเวลา 12 สัปดาห์พบว่ากระดูกและเนื้อเยื่อโดยรอบมีการตอบสนองต่อการปลูกถ่าย HA ตามกระบวนการของ bone healing ที่มี polymorphonuclear cells ในระยะแรก ต่อมาจะมี fibroblast, endothelial cells และ blood vessels migrate เข้าไปยังบริเวณ defect และมีการสร้างกระดูกตามมา ด้านที่มี HA อยู่ การสร้างกระดูกเกิดได้ดีกว่าเนื่องจาก HA เป็นส่วนช่วยทำหน้าที่เป็นโครงให้ tissue fibers, blood vessels และ mesenchymal cells ยื่นเข้าไปถึงส่วนกลางของ defect จากผลการศึกษาเชิงปริมาณพบว่าการสร้างกระดูกบริเวณ defect ด้านที่ปลูกถ่าย HA ดีกว่าด้าน control ซึ่งแสดงว่า HA มีคุณสมบัติของการเป็น osteoconductivity

รูปที่ 3 แสดงค่า volume density ของกระดูกที่สร้างขึ้นเปรียบเทียบกับระหว่าง implanted และ control sides



สรุป ไฮดรอกซีเอปาทิตแบบรูพรุนที่พัฒนาขึ้นได้นี้ มีคุณสมบัติเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด และผลการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพแสดงให้เห็นว่าปลอดภัยที่จะนำไปใช้ในผู้ป่วยได้ หากแพทย์หรือโรงพยาบาลที่สนใจ

จะนำไฮดรอกซีเอปาทิตไปใช้กับผู้ป่วย สามารถติดต่อได้ที่ ดร.สุพรรณิ ปทุมารักษ์ โทร 644-8150-94 ต่อ 345 หรือติดต่องานประสานอุตสาหกรรมและพัฒนาธุรกิจ เอ็มเทค โทร 642-5345-9 ต่อ 21, 25