

จิราภรณ์ สีนนา : การพัฒนาไฮโดรเจลแบบฉีดจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และไหมไฟโบรอิน โดยใช้แสงเพื่อให้เกิดโครงสร้างร่างแหสำหรับใช้ในวิศวกรรมเนื้อเยื่อหมอนรองเข่า (DEVELOPMENT OF POLY (VINYL ALCOHOL)/ SILK FIBROIN INJECTABLE HYDROGELS BY PHOTO CROSSLINKING FOR MENISCUS TISSUE ENGINEERING).  
อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.ยุพาพร รักสกุลพิวัฒน์ , 88 หน้า

คำสำคัญ : พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ ไหมไฟโบรอิน ไฮโดรเจลแบบฉีด วิศวกรรมเนื้อเยื่อหมอนรองเข่า

จุดมุ่งหมายในการศึกษานี้คือ การพัฒนาไฮโดรเจลแบบฉีดโดยใช้แสงยูวีทำให้เกิดการเชื่อมขวางแบบร่างแหโดยสารจะเปลี่ยนสถานะจากของเหลวกลายเป็นของแข็งคล้ายเจลโดยใช้วัสดุจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และไหมไฟโบรอินเพื่อใช้เป็นโครงร่างเลี้ยงเซลล์ในหมอนรองเข่า ซึ่งจะนำไปประยุกต์ใช้ในการผ่าตัดแบบส่องกล้องในข้อเข่า (Arthroscopic Surgery) และศึกษาสมบัติทางกายภาพ สมบัติทางกลของวัสดุและทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ เพื่อนำไปใช้เป็นไฮโดรเจลแบบฉีดรักษาส่วนที่ฉีกขาดในหมอนรองเข่าในอนาคต

พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นหนึ่งในวัสดุที่ใช้งานบ่อยที่สุดในวิศวกรรมเนื้อเยื่อ มีคุณสมบัติเชิงกลสูง ไม่เป็นพิษ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพที่ดี และย่อยสลายได้ในทางชีวภาพ แต่มีข้อด้อยคือ เซลล์ไม่สามารถยึดติดได้ ส่วนไหมไฟโบรอินมีความเข้ากันได้ของเซลล์ที่ดีเยี่ยม เช่น การยึดเกาะเซลล์ได้ดีและการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ดี รวมถึงสมบัติทางกลและการย่อยสลายได้ในชีวภาพ วัสดุทั้งสองนี้จึงถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในฐานะโครงร่างเลี้ยงเซลล์สำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ถึงแม้ว่าวิศวกรรมเนื้อเยื่อจะได้ผลที่ดีในการทดลองในหลอดทดลอง แต่ยังไม่สามารถใช้งานในทางคลินิกได้ จึงขอเสนอโครงร่างเลี้ยงเซลล์แบบการขึ้นรูปสองเฟส (Biphasic) ที่สามารถฉีดผ่านการผ่าตัดแบบส่องกล้องเข้าไปในหมอนรองเข่า ซึ่งสามารถเปลี่ยนจากของเหลวให้กลายเป็นของแข็งคล้ายเจลโดยใช้แสงยูวี ไฮโดรเจลจึงเป็นวัสดุที่ถูกเลือกนำมาพัฒนาเป็นไฮโดรเจลแบบฉีดได้ เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุให้มีการยึดเกาะเซลล์ที่ดีขึ้น รวมทั้งความเข้ากันได้กับสภาพแวดล้อมทางชีวภาพในร่างกายของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และไหมไฟโบรอิน โดยไหมไฟโบรอินถูกเตรียมด้วยกระบวนการละลายโดยใช้ไมโครเวฟเป็นตัวช่วยให้สามารถลดเวลาในการเตรียม รวมทั้งได้น้ำหนักโมเลกุลที่สูง การกราฟต์ด้วยไกลซิดีลเมทาคริเลท ลงบนสายโซ่ของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA-g-GMA) ผ่านปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน และไหมไฟโบรอิน (SF-g-GMA) ผ่านปฏิกิริยาการเปิดวงแหวนของอีพอก เพื่อปรับปรุงหมู่ฟังก์ชันที่สามารถเกิดกระบวนการพอลิเมอไรเซชันด้วยแสงยูวีได้ (Photopolymerization) สภาวะที่ดีที่สุดของ PVA-g-GMA ถูกเตรียมที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร และ SF-

g-GMA ถูกเตรียมที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร นำทั้งสองมาผสมที่สัดส่วนต่างกัน PVA-g-GMA ต่อ SF-g-GMA 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 และ 0:100 สัดส่วนน้ำหนักโดยน้ำหนัก จากนั้นใช้ตัวริเริ่มปฏิกิริยาทางแสง คือ Lithium phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphinate (LAP) ผสมเข้ากับสารละลายผสมแล้วขึ้นรูปเป็นไฮโดรเจลด้วยการฉีดเข้าแม่พิมพ์แล้วให้ไฮโดรเจลคงรูปด้วยแสงยูวี ที่ความยาวคลื่นแสง 365 นาโนเมตร ความเข้มแสง 6 มิลลิวัตต์ต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 10 นาที

จากการศึกษาสัดส่วนที่ต่างกันในการขึ้นรูปไฮโดรเจลโดยการผสมระหว่าง PVA-g-GMA และ SF-g-GMA พบว่า ทุกสัดส่วนสามารถขึ้นรูปเป็นไฮโดรเจลแบบฉีดได้ โหมดไฟเบอร์อินเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีจากโครงสร้างแบบสุ่มเป็นโครงสร้างการจัดเรียงตัวเป็นแผ่นซิต ซึ่งส่งผลต่อสมบัติเชิงกล ให้ค่ามอดุลัสการกดอัดใกล้เคียงกับหมอนรองเข่าของมนุษย์ และมีขนาดรูพรุน 27-155 ไมโครเมตร ใกล้เคียงกับขนาดของเซลล์คอนโดโรไซต์ของมนุษย์รวมทั้งการผสมระหว่าง PVA-g-GMA และ SF-g-GMA มีสมบัติการย่อยสลายที่ดีกว่า PVA-g-GMA และ SF-g-GMA ที่ไม่ผสมกัน นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาการห่อหุ้มเซลล์ด้วยไฮโดรเจล โดยการผสมเซลล์คอนโดโรไซต์ของมนุษย์ลงในสารละลายผสมระหว่าง PVA-g-GMA และ SF-g-GMA แล้วฉีดขึ้นรูปเป็น Biphasic ไฮโดรเจล เมื่อเพิ่มปริมาณสัดส่วน SF-g-GMA มากขึ้นช่วยส่งเสริมการรอดของเซลล์คอนโดโรไซต์ของมนุษย์มากขึ้น โดยส่งเสริมการมีชีวิตอยู่ของเซลล์คอนโดโรไซต์ของมนุษย์ ดังนั้น เมื่อศึกษาคุณสมบัติต่างๆ แล้วพบว่า biphasic ไฮโดรเจลแบบฉีด โดยใช้สารละลาย PVA-g-GMA และ SF-g-GMA ที่อัตราส่วน 75 ต่อ 25 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยน้ำหนัก มีความสามารถในการพัฒนาเพื่อเป็น biphasic ไฮโดรเจลแบบฉีดที่มีเซลล์เป็นองค์ประกอบเพื่อรักษาการฉีกขาดของหมอนรองเข่าที่สามารถขึ้นรูปได้ด้วยแสงยูวีและใช้เทคนิคการผ่าตัดแบบส่องกล้องได้

ลายมือชื่อนักศึกษา.....*จิราภรณ์ ลิ้มหา*.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....*[Signature]*.....

สาขาวิชาวิศวกรรมพอลิเมอร์

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....*[Signature]*.....

ปีการศึกษา 2565

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....*[Signature]*.....

JIRAPORN SINNA : DEVELOPMENT OF POLY (VINYL ALCOHOL)/SILK FIBROIN  
INJECTABLE HYDROGELS BY PHOTO CROSSLINKING FOR MENISCUS TISSUE  
ENGINEERING THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. YUPAPORN RUKSAKULPIWAT,  
Ph.D., 88 PP.

Keyword: Poly (vinyl alcohol) Silk Fibroin Injectable Hydrogel Meniscus Tissue  
Engineering

The aim of this research is to develop photocrosslinking of a biphasic injectable hydrogel material that can be injected into the human body as liquids and cure to form an in situ solid hydrogel. A biphasic injectable hydrogel material with a modified chemical structure derived from poly (vinyl alcohol) (PVA) and silk fibroin (SF) for meniscus tissue engineering that is applicable to arthroscopic surgery.

PVA is one of the most commonly used materials in tissue engineering because of its high mechanical properties, non-toxic nature, good biocompatibility, and biodegradability. But the disadvantage is that the cells cannot adhere. As for SF, it has excellent cell compatibility, such as cell adhesion and cell proliferation, as well as mechanical properties and biodegradability. Thus, these two materials have been frequently used as cytoskeletons in tissue engineering. Although tissue engineering works well in in vitro experiments, it is not yet clinically viable. We therefore propose a biphasic scaffold that could be injected via an arthroscope portal during the liquid phase and become solid after injection into the meniscus and can be injected into the human body as liquids and cure to form an in situ solid hydrogel. To improve the properties of the material to have better cell adhesion as well as the biocompatibility of polyvinyl alcohol and silk fibroin. The silk fibroin was prepared by a microwave-assisted dissolve process to reduce the preparation time and obtain a high molecular weight. Grafting glycidyl methacrylate (GMA) onto PVA (PVA-g-GMA) chains via transesterification reaction and SF (SF-g-GMA) via epoxy ring opening reaction to improve functional groups capable of polymerization with UV light. The best condition of PVA-g-GMA was prepared at a concentration of 10% w/v and concentrated at 50%

w/v. The PVA-g-GMA and SF-g-GMA were mixed in different proportions: 100:0, 75:25, 50:50, 25:75, and 0:100% w/w, and then the photoinitiator, lithium phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphinate (LAP), was mixed with the mixture and formed into a hydrogel by injecting it into a mold, and then the hydrogel was stabilized by UV light. (wavelength 365 nm, light intensity 6 mW/cm<sup>2</sup>) for 10 minutes.

The different proportions in hydrogel formation by mixing PVA-g-GMA and SF-g-GMA were studied. Relate found that all proportions can be molded into injectable hydrogels. SF changes its chemical structure from random to  $\beta$ -sheet conformation, which affects its mechanical properties. The compressive modulus was similar to that of the human meniscus. It has a porous size of 27–155  $\mu$ m, similar to that of human chondrocyte cells. PVA-g-GMA and SF-g-GMA have better degradation properties than unmixed PVA-g-GMA and SF-g-GMA.

Hydrogel encapsulation of cells was also studied. Human chondrocytes were mixed in a mixture of PVA-g-GMA and SF-g-GMA and then injected into a biphasic hydrogel under UV light. Live and dead cells were tested for cytotoxicity properties and gene expression. PVA-g-GMA/SF-g-GMA biphasic injectable hydrogels, increasing the ratio of SF-g-GMA promoted the viability of human chondrocytes with the in vitro cell test. The PVA-g-GMA/SF-g-GMA 75:25 biphasic injectable hydrogel has the potential to be used as a rapidly photocurable biphasic injectable hydrogel for cell-encapsulated augmentation based on mechanical properties, live and dead cells, cell viability, gene expression, and in vitro degradation for meniscus repair by using arthroscopic surgery.

School of Polymer Engineering  
Academic Year 2022

Student's Signature..... Jiraporn Sinna.....

Advisor's Signature..... [Signature].....

Co-Advisor's Signature..... [Signature].....

Co-Advisor's Signature..... [Signature].....