บทคัดย่อ (Abstract)

177740

วัตถุประสงค์ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะค้นหาขนาดของสารโปรตีนที่มีผลต่อการเจริญเติบโตอาตมัน (growth factors, GFs) ในเกล็ดเลือดที่มีขนาดเหมาะสมในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและพัฒนาของเซลล์ต้นกำเนิดแบบมีเซนไคม์ในไขกระดูกโดยทำการศึกษาในสัตว์ทดลอง **วัสดุและวิธีการทดลอง** ภายใต้ภาวะสลบเลือดและไขกระดูกจะถูกเก็บจากหนูแรทขาว (Spraque-Dawly rats) ขนาด 350 – 400 กรัม จำนวน 25 ตัว เกร็ดเลือดเข้มข้น (PC) และ พลาสมาที่มีเกร็ดเลือดต่ำ (PPP) จากนั้นทำการวัดความเข้มข้นของ GFs ที่ได้จากการแตกตัวของเกร็ดเลือดโดยวิธี ELISA ไขกระดูกที่เก็บได้จะถูกนำมาเลี้ยงในน้ำเลี้ยงเซลล์ที่มีความจำเพาะสำหรับเซลล์กระดูก เซลล์ไขกระดูก (BMSCs) ที่อยู่ในระยะการเลี้ยงที่ 2 (2nd passage) จะถูกนำมาตรวจสอบการแสดงออกของคุณสมบัติของการเป็นเซลล์สร้างกระดูก แล้วจึงถูกนำมาใส่ลงบนตัวรองรับสามมิติที่ทำมาจากคอลลาเจนของกระดูกวัว (Insoluble collagenous bovine bone matrix, ICBM) เพื่อนำไปฝังในกล้ามเนื้อที่ขาหลังของหนู การศึกษานี้แบ่งเป็น 5 กลุ่มการทดลอง กลุ่ม A – C ตัวอย่างที่ฝังในกล้ามเนื้อด้นซ้ายของหนูคือ ICBM, BMSCs, PPP and GFs 1, 3 และ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนด้านขวาฝังตัวอย่างควบคุม ICBM, BMSCs และ PPP ในกลุ่ม D ฝังตัวอย่างที่ประกอบด้วย ICBM BMP-2 และ PPP ในกล้ามเนื้อด้านซ้าย และฝัง ICBM และ BMP-2 ในกล้ามเนื้อด้านขวา กลุ่ม E ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมทำการฝัง ICBM และ PPP และ ICBM อย่างเดียวในกล้ามเนื้อด้านซ้ายและขวาตามลำดับ โดยในแต่ละกลุ่มมีหนู 5 ตัว ทำการวัดอัตราเร็วของการสร้างกระดูกโดยการวิเคราะห์การติดสารเรืองแสง และวัดปริมาณการสร้างกระดูกใหม่ด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์สามมิติขนาดเล็ก (micro computer tomography, micro-ct) **ผลการศึกษา** การศึกษานี้พบว่าความเข้มข้นของ TGF-beta1 มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับจำนวนของเกร็ดเลือดใน PC BMSCs สามารถพัฒนามาเป็นเซลล์สร้างกระดูกในระยะตัวอ่อนและตัวแก่และสร้างกระดูกในกล้ามเนื้อได้ ปริมาณการสร้างกระดูกที่สูงที่สุดและอยู่ในระยะที่มีการพัฒนาของการสร้างกระดูกสูงสุดพบในกลุ่ม D ที่มีการฝัง BMP-2 ร่วมกับ PPP ตามมาด้วยการฝัง BMP-2 **สรุป** ตัวรองรับสามมิติที่เป็นรูพรุนที่ทำมาจากคอลลาเจนของกระดูกวัวและไฟบรินเจลที่ได้จากพลาสมาที่มีเกร็ดเลือดต่ำเป็นองค์ประกอบของของโครงร่างสามมิติที่สำคัญในการนำส่งเซลล์และสารโปรตีนเข้าสู่บริเวณที่ต้องมีการซ่อมแซมกระดูกและยังมีส่วนช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์ นอกจากนี้ไฟบรินเจลส่งเสริมการสร้างกระดูกของ BMP-2 การศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าเกร็ดเลือดสามารถทำหน้าที่เป็นแหล่งของสารโปรตีนส่งเสริมการเจริญเติบโตอาตมันของเซลล์กระดูกแต่ผลของขนาดของสารโปรตีนที่มีต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์กระดูกไม่สามารถระบุได้จากการศึกษานี้

Abstract— This study aimed to determine range of effective doses of autologous growth factors from platelet concentrate on osteoblastic differentiation of autologous differentiated rat bone marrow stromal cells (BMSc) in vivo. **Materials and Methods**: Under general anesthesia blood and bone marrow were collected from 25 male Spraque-Dawly rats (350-400 grams). Platelet concentrate (PC) and platelet poor plasma (PPP) were prepared using open tube centrifugation technique. Autologous growth factors (GFs) were obtained from activated platelet concentrate (PC). Amount of TGF-β1 in the GFs was quantified using ELISA. Bone marrow was cultivated in osteogenic culture medium. Osteoblastic differentiation of bone marrow stromal cells (BMSCs) in the 2nd passage was characterized. Differentiated BMSCs were seeded on collagenous bovine bone matrix (ICBM) and implanted intramuscularly in tight muscle of rats. The study was categorized into 5 groups, Groups A-C, ICBM, PPP and BMSCs with different concentrations of TGF-β1 in GFs, 1, 3 and 10 ng of TGF-β1 were implanted on left side and BMSCs without GFs were implanted on right sides. In Group D, ICBM and bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) with and without PPP were implanted on right and left sides, respectively and Group E, ICBM with and without PPP were implanted on right and left sides, respectively. Rate of bone formation was investigated by detecting sequential fluorochrome deposition and amount of heterotopic bone formation were investigated using micro-computer tomography (micro-CT). **Results**: It was found that concentrations of TGF-β1 in platelet concentrate were moderately correlated to numbers of platelets. BMSCs differentiated into pre-and mature osteoblasts in vitro and formed heterotopic bone. The highest amount of new formed bone was found in Group D on right side, BMP-2 with PPP. **Conclusions**: A tissue construct of collagenous bone matrix and autologous fibrin was an effective carrier of cells and osteogenic proteins in vivo. Fibrin gel enhanced osteogenic induction potential of BMP-2. Platelets are a potential source of autologous growth factors to be applied in bone tissue engineering, but a range of effective doses of autogenous growth factors on heterotopic bone formation was not found.