



การออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ในการสร้างวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกโดยใช้
พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ



โดย
นายพิษณุ เพิ่มขึ้น

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

การออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ในการสร้างวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกโดยใช้พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต
ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

DESIGN OF PERFUSION BIOREACTOR FOR TISSUE-ENGINEERED BONE
DEVELOPMENT USING COMPUTATIONAL FLUID DYNAMICS



By

MR. Phitsanu PHERMKAUN

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (BIOTECHNOLOGY)

Department of BIOTECHNOLOGY

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2022

Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ	การออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ในการสร้าง
	วิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกโดยใช้พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ
โดย	นายพิษณุ เพิ่มขึ้น
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ แผนก ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	อาจารย์ ดร. ชลเทพ อูสาคุ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วนิดา วัฒนการุณ
	อาจารย์ ดร. นาฎระพี แซนเซซ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย (ผู้รักษาการแทน)
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สาริต นิรัติศัย)

พิจารณาเห็นชอบโดย

.....ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ดร. อธิวัฒน์ รังกูพันธ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(อาจารย์ ดร. ชลเทพ อูสาคุ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วนิดา วัฒนการุณ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(อาจารย์ ดร. นาฎระพี แซนเซซ)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เชษฐา พันธุ์เครือบุตร)

620920066 : เทคโนโลยีชีวภาพ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโท

คำสำคัญ : โครงเลี้ยงเซลล์, รูปทรงเรขาคณิต, ความเป็นรูพรุน, พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ, ถึงปฏิกรณ์ชีวภาพ

นาย พิษณุ เพิ่มขึ้น: การออกแบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ในการสร้างวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกโดยใช้พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อาจารย์ ดร. ชลเทพ อูสาคุ

สังคมผู้สูงอายุในปัจจุบันมีความต้องการการปลูกถ่ายกระดูกด้วยวัสดุทดแทนจากโครงเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วยเซลล์กระดูกจำนวนมาก อย่างไรก็ตามการพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงเซลล์บนโครงเลี้ยงเซลล์ที่ทำให้เกิดเซลล์กระดูกจำนวนมากและเหมาะสมกับการนำไปใช้กับผู้ป่วยในแต่ละรายมีการใช้ต้นทุนแรงงานและเวลาในการผลิตที่สูง งานวิจัยนี้ได้นำพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ มาใช้ทดสอบระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพและโครงเลี้ยงเซลล์ที่ออกแบบเบื้องต้น ก่อนที่จะนำเสนอรูปแบบของระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพและโครงเลี้ยงเซลล์ที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในการผลิตวัสดุทดแทนกระดูกจริง โดยเริ่มจากศึกษาผลกระทบของรูปทรงภายในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion และความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ต่อสถานะทางอุทกพลศาสตร์ ซึ่งเป็นตัวเหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดไปสู่เซลล์กระดูกพบว่ารูปทรงแบบทรงกรวยที่มีตัวของส่วนกระจายอาหารเลี้ยงมีการกระจายตัวของการไหลและความเค้นเฉือนของของเหลวที่ทั่วถึงและเหมาะสมต่อการกระตุ้นให้เป็นเซลล์กระดูก (0.149-0.160 mPa) และเมื่อจำลองการไหลผ่านโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีความเป็นรูพรุนลดลงจาก 90% ไปเป็น 10% ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเจริญเติบโตของเซลล์กระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์ พบว่าความเร็วและความเค้นเฉือนมีค่าสูงขึ้น แต่ยังคงอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลล์กระดูก จากนั้นศึกษาโครงเลี้ยงเซลล์ที่สร้างขึ้น 5 รูปแบบ ได้แก่ F-RD, Schwarz_P, Gyroid, Neovius_P และ OrthoCircle ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบไหลทิศทางเดียวและหลายทิศทางการไหล พบว่า โครงเลี้ยงเซลล์ทุกรูปแบบมีระดับความเร็วและความเค้นเฉือนในโครงเลี้ยงเซลล์อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลล์กระดูก แต่ในระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพหลายทิศทางการไหล ให้ความเร็วและความเค้นเฉือนที่สูงกว่าการไหลเพียงทิศทางเดียว และเมื่อนำผลจากการจำลองดังกล่าวมาเทียบผลการทดลองการไหลในระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพทั้ง 2 แบบที่มีโครงเลี้ยงเซลล์ทั้ง 5 รูปแบบ พบว่าที่ความเร็วของการไหลเข้าระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพ (1.179-6.602 mm/s) ผลจากการจำลองและการทดลองมีค่าที่คล้ายคลึงกัน แต่เมื่อความเร็วในการไหลเข้าสูงขึ้นผลการทดลองของความเร็วและความเค้นเฉือนจะมีค่าแตกต่างจากการจำลองประมาณ 2-3 เท่า กระบวนการศึกษาระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพและโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณสามารถจำลองสถานะที่เกิดในโครงเลี้ยงเซลล์เบื้องต้น ก่อนที่นำข้อมูลมาใช้ในการผลิตวัสดุทดแทนกระดูกจากโครงเลี้ยงเซลล์ต่อไป

620920066 : Major (BIOTECHNOLOGY)

Keyword : scaffold geometry porosity computational fluid dynamics bioreactor

MR. PHITSANU PHERMKAUN : DESIGN OF PERFUSION BIOREACTOR FOR TISSUE-ENGINEERED BONE DEVELOPMENT USING COMPUTATIONAL FLUID DYNAMICS
THESIS ADVISOR : CHONLATEP USAKU, Ph.D.

The emerging aging society has caused a growing demand for bone grafts with scaffolds made up of large amounts of bone cells. However, developing a scaffold-based cell culture system that can provide sufficient number of bone cells and thus be suitable for treatment of individual patient is time consuming and labor intensive. In this study, prior to implementing a suitable bioreactor and a scaffold for the production of bone substitute materials, computational fluid dynamics was applied to in silico test the tentative-designed bioreactors and scaffold structures. First, the effects of perfusion bioreactor interior geometry and scaffold porosity on hydrodynamic conditions, which involves stimulation of bone cells generation, were studied. The bioreactor with the conical shaped inlet and outlet and the culture medium distributing unit (MDU) showed a more uniform distribution of fluid flow and shear stress, and the values of shear stress were appropriate for the activation of bone cells (0.149-0.160 mPa). As the flow within the scaffold where its porosity was decreased from 90% to 10%, which represented the growing number of bone cells on the scaffold, was simulated, the velocity and shear stress values were found to be higher, despite within the suitable range for bone cell induction. Next, effects of five different scaffold structures: F-RD, Schwarz_P, Gyroid, Neovius_P and OrthoCircle on hydrodynamic conditions were evaluated in both unidirectional and multidirectional bioreactors. It appeared that, despite difference in structure, pore diameter and porosity, velocity and shear stress within all the scaffolds were still in the range suitable for bone cell formation. Nevertheless, within the multidirectional bioreactor, their values were improved compared to that in the unidirectional one. By comparing the simulations with the experiments in the two bioreactors, it was found that, at small inlet flow velocities (1.179-6.602 mm/s), the results of simulations and experiments were comparable. However, when the inlet flow velocity was higher, the experimental result of velocity and shear stress was 2-3 times higher than that from the simulations. The proposed studies of designed bioreactors and scaffolds with computational fluid dynamics can first simulate hydrodynamic conditions within the tentative scaffold, so that the data obtained can be later used for the production of bone replacement material from the scaffold.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างยิ่งจาก อาจารย์ ดร. ชลเทพ อุสาคุอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำเป็นอย่างดีที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยตลอดจนช่วยในการปรับปรุงข้อบกพร่องต่าง ๆ ตลอดการทำวิจัย รวมถึงตรวจทาน และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ผู้วิจัยตระหนักถึงความทุ่มเท และความเอาใจใส่อย่างดียิ่งของอาจารย์และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วนิดา วัฒนการุณ และอาจารย์ ดร. นาฏระพี (กรุณา) แชนเซซ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนช่วยปรับปรุงแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ชีรวัฒน์ รังกูพันธ์ ที่ให้ความกรุณาเป็นประธานสอบวิทยานิพนธ์ให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมสำหรับการแก้ไขและปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เชษฐา พันธุ์เครือบุตร ที่ให้ความกรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม และสนับสนุน ANSYS® 2020 R2 software งานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิรพัฒน์ ทองนีก จากภาควิชาวิศวกรรมเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม และสนับสนุน 3D printed scaffold งานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณอาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากรทุกท่าน ที่ให้ความรู้แก่ผู้วิจัยตลอดระยะเวลาการศึกษา และขอขอบพระคุณภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่อำนวยความสะดวกทั้งสถานที่ อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมีต่าง ๆ ในการทำวิจัย ทำให้งานวิจัยดำเนินได้อย่างสะดวก และสำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คุณทิพาภรณ์ทรัพย์สมบูรณ์คุณประไพ บางเขย และคุณนุชนาฏ เลี้ยงอำนาจ เจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านการเบิกเครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีต่าง ๆ ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คุณวัลพิไล ยอดยิ่งทวีลาภ และคุณศิลา ศรียา ที่ช่วยอำนวยความสะดวกติดต่อประสานงานในการดำเนินการยื่นคำร้องต่าง ๆ จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ นางสาวพรทิพย์ ชูโชติ และนางสาวทอฝัน พูลทอง เพื่อนที่ดีที่สุด ที่คอยช่วยเหลือให้คำปรึกษา ร่วมทุกข์ร่วมสุข ร่วมฝ่าฟันอุปสรรคต่าง ๆ และคอยให้กำลังใจข้าพเจ้าเสมอมาจนสามารถทำงานสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ เพื่อน ๆ ในรุ่นปริญญาโททุกคน ที่คอยเป็นกำลังใจซึ่งกันและกัน และร่วมฝ่าฟันอุปสรรคต่าง ๆ จนสามารถผ่านอุปสรรคต่าง ๆ มาได้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณตา คุณยาย คุณแม่ และครอบครัว ที่ให้ความสนับสนุน การศึกษามาโดยตลอด คอยสร้างรอยยิ้ม เสียงหัวเราะและแรงผลักดันต่าง ๆ ที่ทำให้ผู้วิจัยมีกำลังใจ ศึกษสำเร็จจุล่งไปได้ด้วยดี

นาย พิษณุ เพิ่มขึ้น



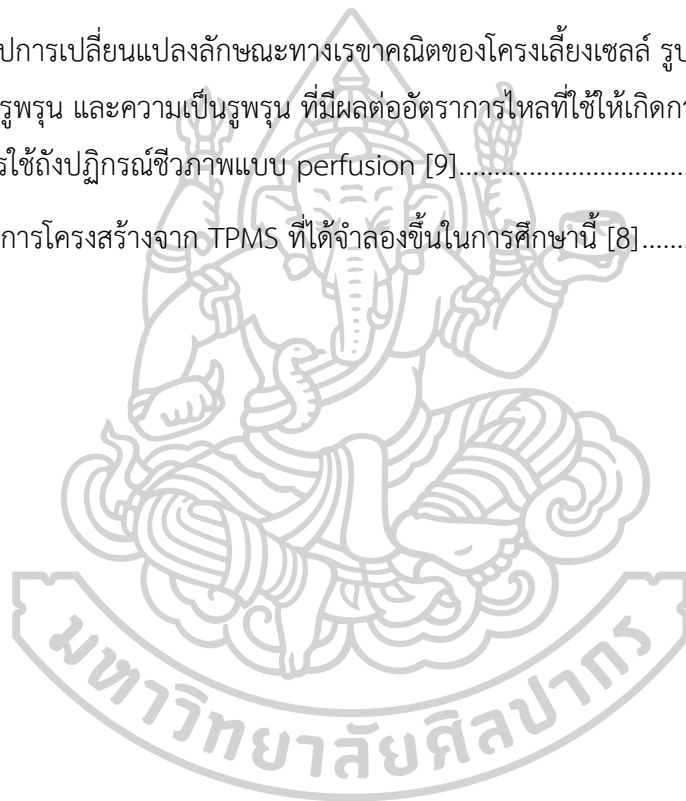
สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 กระดูก (Bones).....	5
2.1.1 การเจริญและพัฒนาของกระดูก.....	6
2.1.2 ชีวกลศาสตร์ในการสร้างเนื้อเยื่อกระดูกทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก.....	8
2.2 วิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering).....	10
2.3 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactors).....	15
2.4 พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (Computational Fluid Dynamics: CFD) [33].....	20
2.4.1 การไหลแบบปั่นป่วน (turbulence flow) ใน CFD.....	22
2.4.2 แบบจำลองความปั่นป่วน (turbulence mode).....	23
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	25

2.6 สมมุติฐานที่ได้จากงานวิจัยที่ผ่านมา.....	31
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย.....	33
3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	33
3.2 การจำลองการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion.....	34
3.3 ศึกษาผลกระทบของรูปทรงการไหลภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทาง....	36
3.4 ศึกษาผลกระทบของความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ.....	38
3.5 ศึกษาผลกระทบของโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทางการไหล.	39
3.6 ศึกษาผลกระทบของทิศทางการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทาง.....	41
3.7 การทดลองผลกระทบของโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ	43
3.7.1 ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทางการไหล.....	43
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	47
4.1 ผลกระทบของรูปทรงการไหลภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทางการไหล.....	47
4.2 ผลกระทบของความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ	49
4.3 ผลกระทบของโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทางการไหล	51
4.4 ผลกระทบของทิศทางการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหล.	54
บทที่ 5 สรุปและการอภิปรายผลการทดลอง	59
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	59
5.2 ข้อเสนอแนะ	60
รายการอ้างอิง	62
ภาคผนวก.....	67
ภาคผนวก ก การสร้างแบบจำลองพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (Computational Fluid Dynamics: CFD).....	68
ภาคผนวก ข ข้อมูลผลของการจำลองและการทดลองภายในเงื่อนไขต่าง ๆ	84
ประวัติผู้เขียน.....	87

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 การเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ [5].....	18
ตารางที่ 2 ภาพรวมงานวิจัยที่ผ่านมา 5 ปีย้อนหลังที่ใช้ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพสำหรับกระดุก วิศวกรรมเนื้อเยื่อ ผลกระทบของสารละลายที่การกระจายในระบบ perfusion และ compression ที่ใช้สิ่งกระตุ้นด้วยแรงเชิงกล [30].....	19
ตารางที่ 3 สรุปการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเรขาคณิตของโครงเลี้ยงเซลล์ รูปร่างของรูพรุน เส้นผ่าน ศูนย์กลางของรูพรุน และความเป็นรูพรุน ที่มีผลต่ออัตราการไหลที่ใช้ให้เกิดการสร้างกระดูกบนพื้นที่ ผิว สำหรับการใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion [9].....	29
ตารางที่ 4 สมการโครงสร้างจาก TPMS ที่ได้จำลองขึ้นในการศึกษานี้ [8].....	40



สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะและองค์ประกอบของกระดูกแข็งยาวในระดับมหากายวิภาค [13].....	5
ภาพที่ 2 การเจริญและพัฒนาของกระดูกในกระบวนการ Intramembranous ossification [15]...	7
ภาพที่ 3 การเจริญและพัฒนาของกระดูกในกระบวนการ Endochondral ossification [16]	8
ภาพที่ 4 ภาคตัดขวางของเซลล์กระดูก nucleated แสดงโครงของโครงสร้างภายในของกระดูก [19]	9
ภาพที่ 5 ระดับความเค้นเฉือนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์และมนุษย์ เพื่อกระตุ้นให้เกิดการ เปลี่ยนแปลงของเซลล์ไปเซลล์กระดูกและเซลล์หลอดเลือดในการเพาะเลี้ยงแบบคงที่หรือ (2D) และแบบไดนามิกหรือ (3D) [10].....	11
ภาพที่ 6 องค์ประกอบของวิศวกรรมเนื้อเยื่อ [27].....	15
ภาพที่ 7 ลักษณะถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้ในงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ โดยที่ (a) Spinner flask, (b) Rotating-wall, (c) Hollow-fiber, (d) Direct perfusion และ (e) Dynamic compression [31]	17
ภาพที่ 8 ปริมาตรควบคุม.....	21
ภาพที่ 9 ค่าความเร็ว "u" ในการไหลแบบปั่นป่วน [36].....	22
ภาพที่ 10 แผนภาพการใช้โปรแกรม ANSYS® ในการจำลองระบบและการกำหนดค่าต่าง ๆ ของ ANSYS® software จะดำเนินการเป็นไปตามลำดับ	35
ภาพที่ 11 แผนผังกระบวนการของระบบระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion (A) 1 ทิศทางและ (B) หลายทิศทางการไหล.....	35
ภาพที่ 12 การออกแบบระบบถังปฏิกรณ์แบบ perfusion 1 ทิศทางการไหลเพื่อศึกษาผลกระทบของ รูปทรงของระบบต่อการไหล ความดันและความเค้นเฉือน.....	37
ภาพที่ 13 การจำลองลักษณะการไหลของของไหลในระบบถังปฏิกรณ์แบบ perfusion 1 ทิศทางการ ไหล โดย (A) ไม่มีการบรรจุโครงเลี้ยงและไม่มีติดตั้ง MDU, (B) ติดตั้งแค่ MDU และ (C) มีการ บรรจุโครงเลี้ยงและติดตั้ง MDU ภายในรูปทรงทั้งหมด	38

ภาพที่ 14 การจำลองลักษณะการไหลของของไหลในระบบถังปฏิกรณ์แบบ perfusion 1 ทิศทางการไหลรูปทรงกรวย ซึ่งมีการติดตั้งตัว MDU ที่มีการเปลี่ยนแปลงของขนาดรูปบน MDU ที่ 0.65, 1, 2 และ 4 mm และความเป็นรูปทรงแท่งในโครงเลี้ยงเซลล์ที่ต่าง ๆ ตั้งแต่ 10-90%.....	39
ภาพที่ 15 (A) โครงสร้างของ TPMS ใน 1 ส่วนย่อย ทั้ง 5 แบบ ที่นำมาในการจำลอง และ (B) โครงสร้างหลาย ๆ ส่วนย่อยมาประกอบกันเป็นโครงเลี้ยงขนาด $2 \times 2 \times 2 \text{ cm}^3$ ที่ใช้ในการจำลองและการทดลองในห้องปฏิบัติการ.....	40
ภาพที่ 16 รูปแบบการจำลองการไหลของของไหลในระบบถังปฏิกรณ์แบบ perfusion 1 ทิศทางการไหลทั้งหมดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ (ทรงกลม กรวย และกระบอก).....	41
ภาพที่ 17 การออกแบบระบบถังปฏิกรณ์แบบ perfusion หลายทิศทางการไหลเพื่อศึกษาผลกระทบของรูปทรงของระบบต่อการไหล ความดันและความเค้นเฉือน	42
ภาพที่ 18 การทดลองและแบบจำลองการไหลของของไหลในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหลที่มีรูปทรงเป็นรูปทรงกรวยทุกทิศทางการไหลเข้าออก	42
ภาพที่ 19 แผนผังกระบวนการทดลองการไหลของระบบระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทางการไหล.....	44
ภาพที่ 20 แผนผังกระบวนการทดลองการไหลของระบบระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหล.....	45
ภาพที่ 21 (A) โครงเลี้ยงเซลล์ที่สร้างขึ้นจากพอลิคาร์บอเนตด้วยเทคนิคการพิมพ์ภาพสามมิติ 5 แบบ และ (B) MDU ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูที่ 2 mm	45
ภาพที่ 22 ภาพรวมระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ได้ทำการออกแบบไว้คร่าว ๆ จำนวน 8 ระบบ	46
ภาพที่ 23 ผลกระทบของรูปทรงการไหลภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทาง โดย (A) ความดัน (B) ความเร็ว และ (C) ความเค้นเฉือน ณ บริเวณจุดศูนย์กลางและภายในโครงเลี้ยงเซลล์ ที่กำหนดการจำลองการไหลเป็น Control (เครื่องเปล่า ๆ) Only MDU (ติดตั้งแค่ MDU) และสุดท้ายมีการบรรจุโครงเลี้ยงใส่ MDU ที่ติดตั้งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ความเร็วในการไหลเข้าต่างกัน	48
ภาพที่ 24 ลักษณะการกระจายตัวของความเร็วของการจำลองและการทดลอง ที่ความเร็วและอัตราการไหลเข้าระบบถังปฏิกรณ์เดียวกัน โดยที่ (A) ทรงกระบอก (B) ทรงกลมและ (C) ทรงกรวย ที่มีการกำหนดรูปแบบการไหลที่แตกต่างกับ 2 รูปแบบ.....	49

- ภาพที่ 25 ผลกระทบของความเป็นรูปทรงของโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทาง ซึ่งกำหนดขนาดรูบน MDU เป็น 0.65-4 mm และความเป็นรูปทรงของโครงเลี้ยงที่เปลี่ยนแปลงไปจาก 90 เป็น 10%) และ ด้วยความเร็วในการไหลเข้าที่ 0.747 mm/s โดยที่ (A) ความดัน (B) ความเร็ว และ (C) ความเค้นเฉือน ณ ภายในโครงเลี้ยงเซลล์ที่กำหนด..... 50
- ภาพที่ 26 ผลกระทบของโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทางการไหลทั้ง 3 รูปทรง และโครงเลี้ยงเซลล์ 5 แบบ ที่กำหนดความเร็วการไหลเข้าตั้งแต่ 1.179-17.212 mm/s โดยที่ (A) ลักษณะการไหลในการทดลอง (B) เป็นความเร็ว และ (C) ความเค้นเฉือน ณ บริเวณโครงสร้างรูปทรงของโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งหมด 53
- ภาพที่ 27 ผลกระทบของทิศทางการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหลายทิศทางการไหลที่ประกอบด้วยโครงเลี้ยงเซลล์ 5 แบบ และกำหนดความเร็วในการไหลเข้าคงที่ที่ 17.212 mm/s ในรูปแบบ $X \rightarrow X$, $X \rightarrow Y$ และ $Y \rightarrow X$ โดยที่ (A) ลักษณะการไหลในการทดลอง ส่วนความเร็วและความเค้นเฉือน ณ บริเวณรูปทรงของโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งหมด (B & C) ไหลเข้าทาง X และ (D & E) ไหลเข้าทาง Y แก่ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 56
- ภาพที่ 28 (ต่อ) ในรูปแบบ $Y \rightarrow Y$, $X \rightarrow XY$ และ $Y \rightarrow XY$ โดยที่ความเร็วและความเค้นเฉือน ณ บริเวณรูปทรงของโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งหมด (B & C) ไหลเข้าทาง X และ (D & E) ไหลเข้าทาง Y แก่ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 57
- ภาพที่ 29 (ต่อ) ในรูปแบบ $XY \rightarrow X$, $XY \rightarrow Y$ และ $XY \rightarrow XY$ โดยที่ความเร็วและความเค้นเฉือน ณ บริเวณรูปทรงของโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งหมด (B & C) ไหลเข้าทาง X และ (D & E) ไหลเข้าทาง Y แก่ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 58

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การเพิ่มขึ้นของประชากรที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไป โดยเฉพาะในประเทศที่มีสังคมผู้สูงอายุทำให้โรคที่เกี่ยวข้องกับกระดูกและข้อ เช่น โรคกระดูกพรุนและโรคข้อเข่าเสื่อม เป็นต้น [1] กำลังกลายเป็นหนึ่งในปัญหาด้านสาธารณสุขที่สำคัญทั่วโลก ปกติแล้วการแตกหักของกระดูกสามารถซ่อมแซมและเกิดการสร้างขึ้นใหม่ได้เอง โดยอาจมีการใส่อุปกรณ์ช่วย เช่น การใส่เฝือก การใส่โลหะยึดตรึงกระดูก รยางค์ภายนอกร่างกาย การใส่โลหะยึดตรึงกระดูกภายในร่างกาย เป็นต้น [2] อย่างไรก็ตามการรักษาเหล่านี้อาจไม่ได้ผลในผู้สูงอายุเนื่องจากมีระดับการกระตุ้นและการเติบโตของกระดูกลดน้อยลง [3] ในปัจจุบันได้มีการศึกษาและพัฒนาการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับกระดูกโดยการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อกระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์ (scaffold) จากชีววัสดุที่เข้ากับร่างกายได้ดี เช่น เซรามิก โพลีเอสเตอร์ คอลลาเจน ไนโอม เป็นต้น [4] เพื่อเลียนแบบบทบาทและโครงสร้างของเมทริกซ์นอกเซลล์ (Extracellular matrix, ECM) ตลอดจนคุณสมบัติต่อการสร้างกระดูก ถึงแม้ว่าวิธีการนี้มีราคาที่สูงและจำเป็นต้องใช้เซลล์ที่เฉพาะต่อผู้ป่วย แต่ยังสามารถช่วยลดขั้นตอนของกระบวนการการสร้างกระดูกในผู้ป่วยลง ดังนั้น ความต้องการใช้การปลูกถ่ายเนื้อเยื่อกระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์น่าจะสูงขึ้นในอนาคตอันใกล้

โดยทั่วไปการผลิตเนื้อเยื่อกระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์จะเกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดในโครงเลี้ยงเซลล์ เซลล์ต้นกำเนิดที่มีก่นนำมาใช้ ได้แก่ mesenchymal stem cell, hematopoietic, progenitor cell และ embryonic stem cell ระบบที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงโดยทั่วไปเป็นแบบสองมิติ (2D) [5] โดยเป็นการเพาะเลี้ยงเซลล์ในโครงเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีระบบให้อาหารเลี้ยงไหลผ่านโครงเลี้ยง ดังนั้นจึงมีข้อจำกัดในการถ่ายเทมวลสารของอาหาร/ของเสีย-เข้า/ออกโครงเลี้ยงเซลล์ และเนื่องจากระบบดังกล่าวไม่สามารถเลียนแบบสภาวะที่เสมือนจริงของโครงสร้างที่ผลิตกระดูกในร่างกายได้ จึงส่งผลให้การเพิ่มจำนวนของเซลล์เนื้อเยื่อกระดูกที่เกิดขึ้นมีปริมาณน้อยและไม่ทั่วทั้งโครงเลี้ยงเซลล์ การเพาะเลี้ยงแบบไดนามิกหรือสามมิติ (3D) ที่สามารถกระตุ้นให้เกิดสภาวะทางอุทกพลศาสตร์เช่นเดียวกับในร่างกาย เช่น การไหลของของเหลว ความดันอุทกพลศาสตร์แรงและความเค้นเฉือน เป็นต้น จึงอาจเหมาะสมสำหรับในกรณีนี้ ซึ่งรูปแบบการเพาะเลี้ยงแบบ 3D ที่นิยมใช้ คือ การเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ที่ให้อาหารเลี้ยงเซลล์ไหลผ่านโครงสร้างรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ จึงทำให้เกิดสภาวะกระตุ้นการสร้างเซลล์กระดูกจากเซลล์ต้น

กำเนิดได้ ดังนั้น การไหลของของเหลวจึงเป็นตัวแปรที่สำคัญมากในการเพาะเลี้ยงเซลล์กระดูกในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion [4, 6, 7]

การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการเพิ่มจำนวน (proliferation) และการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ (differentiation) จากเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์สร้างกระดูก osteoprogenitor [7] ขึ้นอยู่กับความเค้นเฉือนที่เกิดจากการไหลของของไหลในโครงสร้างรูพรุน ดังนั้นโครงสร้างรูพรุนในโครงเลี้ยงเซลล์จึงเป็นอีกตัวแปรหลักตัวแปรหนึ่งที่มีผลต่อการกระจายตัวของความเร็วของของเหลวและความเค้นเฉือนในโครงเลี้ยงเซลล์ จึงได้มีการศึกษาผลของโครงสร้างและขนาดของโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีความเป็นรูพรุนแตกต่างกันต่อการสร้างเซลล์กระดูกในโครงเลี้ยงเซลล์ โดยโครงสร้างที่มีการนำไปศึกษา ได้แก่ Schwarz_P, Schwarz_D, Gyroid, Neovius structure และ IWP ที่ความเป็นรูพรุนตั้งแต่ 60-90% และความเป็นรูพรุนที่เหมาะสมอยู่ที่ 80% [8] นอกจากนี้ งานวิจัยที่ผ่านมาได้ศึกษาผลของการไหลของอาหารเลี้ยงในโครงเลี้ยงเซลล์ ซึ่งพบว่าความเร็วและอัตราการไหลเข้าถังปฏิกรณ์ชีวภาพระหว่าง 0.166-1.66 mm/s และ 0.5-5 ml/min ตามลำดับ [9] เป็นระดับที่เหมาะสมสำหรับการจำลองการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion บนโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีความเป็นรูพรุนที่ 50-90% ในขณะที่ความเค้นเฉือนที่เหมาะสมมีค่าระหว่าง 0.1-10 mPa ภายในโครงเลี้ยงเซลล์ [10] อย่างไรก็ตาม การรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับกระดูกด้วยการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อกระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์จะมีความแตกต่างกันในแต่ละบุคคลและส่วนต่าง ๆ ในร่างกาย ดังนั้นการศึกษาค้นหาโครงเลี้ยงเซลล์ที่เหมาะสมภายใต้สภาวะที่ศึกษาโดยอาศัยการทดลองเพียงอย่างเดียวจึงมีการใช้จ่ายสูงและใช้เวลานานในแต่ละขั้นตอน จึงได้มีการนำพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (Computational Fluid Dynamics, CFD) ที่สามารถช่วยจำลองการไหลของของไหลภายในโครงเลี้ยงเซลล์และผลกระทบต่อสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ได้ [4, 9, 11] โดยเฉพาะอย่างยิ่งความเร็วและความเค้นเฉือนจากการไหลภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ออกแบบไว้จึงสามารถช่วยประเมินผลกระทบของสภาวะบนคอมพิวเตอร์ (*in silico*) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสร้างและเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ไปสู่เซลล์กระดูกได้อย่างมีประสิทธิภาพในการทดลองมากยิ่งขึ้น

ในงานวิจัยฉบับนี้ได้มุ่งเน้นไปที่แนวทางการศึกษาระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion และผลกระทบของโครงเลี้ยงเซลล์ โดยใช้พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ ประเมินผลกระทบของสภาวะที่เกิดจากการไหลในโครงเลี้ยงเซลล์ โดยเริ่มจากการศึกษาผลกระทบของรูปร่างภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพร่วมกับโครงเลี้ยงเซลล์ในรูปแบบการไหล 1 ทิศทางต่อสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ภายในโครงเลี้ยงเซลล์ ได้แก่ ความดัน ความเร็ว และความเค้นเฉือน หลังจากนั้น ศึกษาผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์จากที่ได้ศึกษาในงานวิจัยที่ผ่านมาจำนวน 5 แบบ ได้แก่ F-RD, Schwarz_P, Gyroid, Neovius_P และ OrthoCircle

มาใช้ในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีการไหล 1 ทิศทางและหลายทิศทาง สุดท้ายนำผลที่ได้จากการจำลองพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณมาเปรียบเทียบกับผลการทดลองในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ที่ทำงานร่วมกับโครงเลี้ยงเซลล์ที่ได้มีการออกแบบและขึ้นรูปไว้ โดยใช้สภาวะการไหลแบบเดียวกันกับการจำลอง ดังนั้น วิธีที่ได้เสนอในงานวิจัยนี้จึงสามารถนำไปใช้เป็นตัวแบบสำหรับการสร้างโครงเลี้ยงเซลล์จากวัสดุทางชีวภาพในอนาคตได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1. ศึกษาผลกระทบของรูปร่างภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ของการไหล 1 ทิศทาง และความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ต่อสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ ที่เหมาะสมกับการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ต้นกำเนิด
2. ศึกษาผลกระทบของโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่ออกแบบและสร้างขึ้นภายใต้สภาวะการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion
 - ศึกษาผลกระทบจากการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทาง
 - ศึกษาผลกระทบจากการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหลายทิศทาง
3. เปรียบเทียบผลของโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์จากการจำลองด้วยพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณกับผลการทดลองในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion และโครงเลี้ยงเซลล์ที่สร้างจากเทคนิคการพิมพ์แบบสามมิติตามที่ได้ออกแบบไว้

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

ศึกษาผลกระทบของปัจจัยของสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ที่จำลองและสร้างขึ้น ที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อกระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์ ได้แก่

- รูปร่างและขนาดภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ
- ส่วนประกอบในถังปฏิกรณ์ เช่น หน่วยที่ช่วยเพิ่มกระจายสารอาหารและเซลล์ (MDU)
- ความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไป
- ชนิดของโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์ที่นิยมนำมาใช้ในการจำลอง
- ระบบการให้ทิศทางการไหลของของเหลว ใน 1 ทิศทางและหลายทิศทางการไหล

โดยการศึกษาผลกระทบของสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ในการออกแบบโครงเลี้ยงเซลล์และถังปฏิกรณ์ชีวภาพ จากการจำลองการไหลของของไหลในวัสดุรูพรุนในโปรแกรม ANSYS® 2020 R2 โมด Geometry ในการระบุขนาดและสัดส่วนรูปร่างภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพและรูปแบบการไหลแบบต่าง ๆ จากนั้นนำมาจำลองการไหล CFD ในโมด Fluid Flow (CFX) เพื่อประเมินผล

กระทบของความดันและความเร็วจากการกำหนดความเร็วในการไหลเข้าสู่ระบบตามที่ศึกษา ก่อนนำความเร็วที่ได้ไปคำนวณการหาความเค้นเฉือนที่เกิดขึ้น ณ บริเวณที่บรรจุและในรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ออกแบบไว้

จากนั้นนำผลลัพธ์ที่ได้จากการจำลอง CFD มาสร้างระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้งานในการทดลองในห้องปฏิบัติการ เพื่อเปรียบเทียบกับผลกระทบจากการจำลองการไหลในระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพต่อสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ โดยถึงปฏิกรณ์ชีวภาพจะสร้างจากอะคริลิกและโครงเลี้ยงเซลล์ที่ออกแบบไว้และสร้างขึ้นจากเทคนิคการพิมพ์แบบสามมิติจากพอลิคาร์บอเนตที่ง่ายต่อการขึ้นรูปโครงสร้างต่าง ๆ ราคาถูกและโปร่งแสง เพื่อให้เห็นถึงลักษณะการไหลของของไหลและวัดได้ถึงระดับของความเร็วและความเค้นเฉือนที่เกิดขึ้นภายในโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์เบื้องต้น ก่อนนำไปเป็นต้นแบบสำหรับการผลิตโครงสร้างจากวัสดุทางชีวภาพที่จะนำไปใช้งานในร่างกาย (*in vivo*) ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

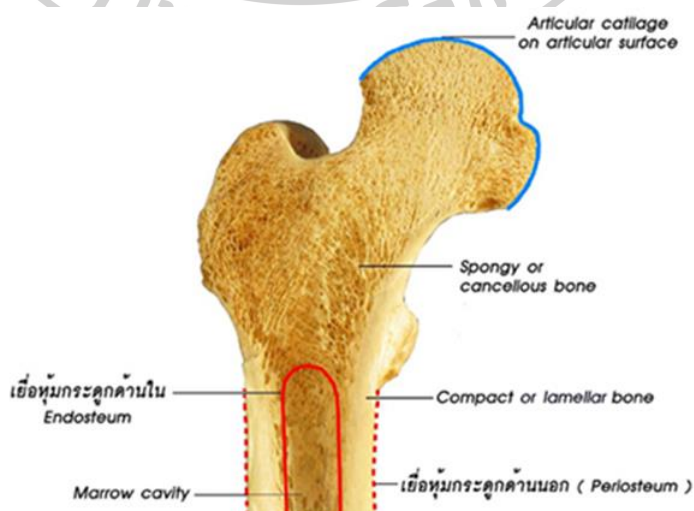
1. สามารถจำลองและสร้างถึงปฏิกรณ์ชีวภาพที่สามารถให้สภาวะทางอุทกพลศาสตร์ต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดไปสู่เซลล์สร้างกระดูกได้อย่างมีประสิทธิภาพ
2. สามารถช่วยลดค่าใช้จ่ายและระยะเวลาในการศึกษาผลกระทบของสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ต่อกระบวนการพัฒนาดังปฏิกรณ์ชีวภาพ โดยใช้การจำลองทางพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (CFD)
3. สามารถลดจำนวนในการทดลองเพื่อหาโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์ภายใต้สภาวะการไหลและถึงปฏิกรณ์ชีวภาพที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนและการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์กระดูก

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กระดูก (Bones)

กระดูก เป็นโครงสร้างที่มีความแข็งแรงทำหน้าที่ค้ำจุนโครงสร้างของร่างกายสัตว์มีกระดูกสันหลัง ช่วยในการเคลื่อนไหว และสะสมแร่ธาตุหลายชนิด เช่น แคลเซียม (calcium) และฟอสเฟส (phosphate) เป็นหลัก และยังเป็นแหล่งสร้างเซลล์เม็ดเลือดภายในไขกระดูก โดยที่กระดูกจะประกอบไปด้วยสารอินทรีย์และอนินทรีย์ ซึ่งแบ่งตามน้ำหนักสุทธิของกระดูก จะมีแร่ธาตุและสารอินทรีย์ประมาณ 60-70% เป็นวัสดุอนินทรีย์กับวัสดุอินทรีย์ 25% และน้ำ 5% โดยปริมาตร ส่วนสารอนินทรีย์ 36% อินทรีย์ 36% และน้ำ 28% ซึ่งเรียกส่วนนี้ว่า กระดูกเนื้อแน่น (compact bone) ซึ่งมีช่องว่างของเนื้อกระดูกน้อยมาก คิดเป็นประมาณ 80% ของเนื้อกระดูกในร่างกาย โดยที่ชั้นในของกระดูกจะมีลักษณะที่โปร่งคล้ายฟองน้ำที่มีเส้นใยประสานกัน เรียกว่า กระดูกเนื้อโปร่ง (spongy/cancellous bone) มีน้ำหนักเบา [12] เป็นที่อยู่ของหลอดเลือดและไขกระดูก (marrow) (ภาพที่ 1) ส่วนด้านนอกของกระดูกจะมีเยื่อหุ้มกระดูก (periosteum) และมีหลอดเลือดและเส้นประสาทมาเลี้ยงเนื้อกระดูก ยกเว้นที่บริเวณข้อต่อจะไม่มี ซึ่งทำให้การเจริญและการพัฒนาของเนื้อเยื่อกระดูกมีความแตกต่างกัน กระดูกจึงเป็นอวัยวะที่มีหลายรูปร่างเพื่อให้สอดคล้องกันกับการทำงานของกระดูกในแต่ละส่วน เช่น กะโหลกศีรษะ (skull) ที่มีลักษณะแบนแต่แข็งแรงมาก เพื่อป้องกันการกระทบกระเทือนของสมอง หรือกระดูกต้นขา (femur) ที่มีลักษณะยาวเพื่อเป็นจุดเกาะของกล้ามเนื้อต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนไหวของร่างกาย เป็นต้น



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะและองค์ประกอบของกระดูกแข็งแรงในระดับมหากายวิภาค [13]

โดยปกติในร่างกายมนุษย์จะมีการสร้างและการสลายตัวของกระดูกอยู่ตลอดเวลา อาศัยเซลล์ในการทำงานร่วมกัน 4 ชนิด ได้แก่ osteogenic, osteoblast, osteocyte และ osteoclast cells

ออสติโอเจนิค (osteogenic) เป็นเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์กระดูก พบบริเวณ endosteum ลักษณะเซลล์เป็นรูปกระสวยมีนิวเคลียสเดียว เมื่อไม่มีการกระตุ้นเซลล์จะคงรูปเป็นเซลล์ต้นกำเนิดในกลุ่มเซลล์มีเซนไคม์ แต่เมื่อมีการกระตุ้น เช่น กระดูกแตกหัก เป็นต้น เซลล์จะเพิ่มจำนวนและเจริญเติบโตไปเป็นเซลล์ osteoblast

ออสติโอเบลาสต์ (osteoblast) เป็นเซลล์สร้างเนื้อเยื่อกระดูกที่เจริญมาจากเซลล์ osteogenic ซึ่งพบได้ตามขอบของเนื้อกระดูก จะสร้างโปรตีนที่เรียกว่า ออสติอยด์ (osteoid) ที่มีสารอนินทรีย์มาสะสมและกลายเป็นเนื้อกระดูก ที่มีหน้าที่สะสมเกลือแร่ (mineralization) ของกระดูก โดยเซลล์จะผลิตเอนไซม์ alkaline phosphatase เพื่อดึงฟอสเฟตมาสะสมที่คอลลาเจน นอกจากนี้ยังสามารถสลายกระดูกเมื่อถูกกระตุ้นด้วย parathyroid ที่ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตและการทำงานของเซลล์ osteoclast

ออสติโอไซต์ (osteocyte) เป็นเซลล์ที่เจริญมาจาก osteoblast ที่ได้สร้างเนื้อกระดูกจนล้อมรอบตัวเซลล์กระดูก ซึ่งเป็นเซลล์กระดูกที่เจริญเต็มที่แล้ว ที่รอบ ๆ เซลล์จะเป็นช่องที่เรียกว่า ลากูนา (lacuna) โดยแต่ละลากูนาจะติดต่อกันด้วยช่องทางเล็ก ๆ ที่เรียกว่า คานาลิคูล (canaliculi) ที่ทำให้เซลล์สามารถติดต่อสื่อสารกันได้โดยออกซิเจนและสารอาหารจะถูกแลกเปลี่ยนผ่านทางช่องนี้ ถึงแม้ว่า osteocyte จะเป็นเซลล์กระดูกเจริญเต็มที่แล้ว แต่ยังมีหน้าที่ในการควบคุมระดับแคลเซียมและสารนอกเซลล์อื่น ๆ อีกด้วย

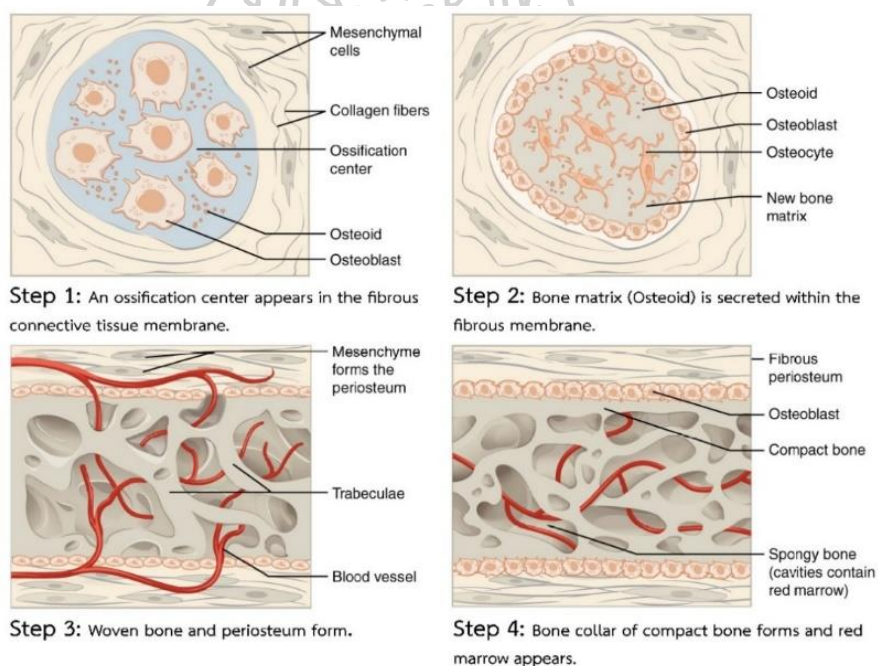
ออสติโอคลาสต์ (osteoclast) เป็นเซลล์ที่เจริญมาจากเซลล์ต้นกำเนิดของเม็ดเลือดในไขกระดูกโมโนไซต์ (monocyte stem cells) มีขนาดใหญ่และหลายนิวเคลียส มีหน้าที่สำคัญในการก่อรูปกระดูก (bone remodeling) ที่อาศัยการผลิตเอนไซม์แอซิดฟอสเฟส (acid phosphatase) ในการเร่งให้เนื้อกระดูกเกิดการกัดกร่อน ทำให้กระดูกมีลักษณะที่เหมาะสม และยังเป็นตัวนำแคลเซียมออกสู่กระแสเลือด

2.1.1 การเจริญและพัฒนาของกระดูก

การเจริญและพัฒนาของกระดูกจะเริ่มตั้งแต่ช่วงที่อยู่ในครรภ์ โดยกระบวนการสร้างเนื้อกระดูก (ossification) สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 รูปแบบ [14] คือ

1) Intramembranous ossification เป็นกระบวนการอันเกิดจากการรวมตัวของกลุ่ม

เซลล์มีเซนไคม์ (mesenchymal cells) ซึ่งจะสร้างเนื้อคอลลาเจนไฟเบอร์ ประกอบด้วยเส้นเลือดเล็ก ๆ ไฟโบรบลาสและเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์กระดูก โดยที่เซลล์ต้นกำเนิดเซลล์กระดูก (osteoprogenitor cells) จะเกิดการแบ่งตัวมากขึ้น แล้วเปลี่ยนแปลงกลายเป็นเซลล์ออสติโอ بلاสต์ มีหน้าที่สะสมสารอนินทรีย์ให้กลายเป็นเนื้อกระดูกและเปลี่ยนเป็นเซลล์ออสติโอไซต์ ในเวลาต่อมา โดยกระบวนการนี้จะเกิดในช่วงการพัฒนาร่างกายของตัวอ่อนในครรภ์มารดา (embryonic development) จากนั้นกระดูกส่วนใหญ่จะเจริญโดยเยื่อหุ้มกระดูก (periosteal new bone formation) ทำให้กระดูกมีความกว้างเพิ่มขึ้น สามารถพบในบริเวณที่กระดูกเป็นแผ่นเรียบ เช่น กระดูกขากรรไกรล่างกะโหลกศีรษะ เป็นต้น จะไม่พบฟอสของกระดูกอ่อนเกิดขึ้นในกระบวนการนี้ ซึ่งการเจริญและพัฒนาของกระดูกจากกระบวนการ Intramembranous ossification แสดงดังภาพที่ 2

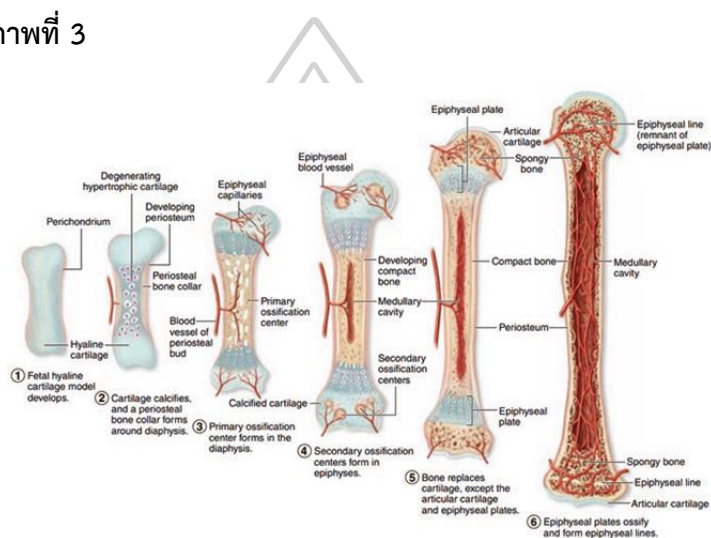


ภาพที่ 2 การเจริญและพัฒนาของกระดูกในกระบวนการ Intramembranous ossification [15]

2) Endochondral ossification เป็นกระบวนการอันเกิดจากการรวมตัวของกลุ่มเซลล์มีเซนไคม์ ซึ่งเข้าไปแทนที่เซลล์กระดูกอ่อนผ่านทางเส้นเลือด

โดยเริ่มจากส่วนกลางของกระดูกซึ่งเป็นจุดสร้างกระดูกปฐมภูมิ เมื่อกลุ่มเซลล์มีเซนไคม์พัฒนาไปเป็นเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์กระดูก แล้วจะกลายเป็นเซลล์ออสติโอ بلاสต์ โดยมีหน้าที่สะสมสารอนินทรีย์บนกระดูกอ่อน และเซลล์ออสติโอคลาสต์ซึ่งทำหน้าที่ทำลายทราบีคิวลา (trabeculae) ของ

กระดูกอ่อน และกระดูกบางส่วน จากนั้นเซลล์ออสติโอไซต์จะสร้างกระดูกที่เจริญเติบโตเต็มที่ (lamellar bone) เข้าไปแทนที่ นอกจากนี้พบว่ามีกระดูกทุติยภูมิที่บริเวณปลายกระดูก การสร้างกระดูกทั้งสองจุดจะดำเนินต่อไปจนกระทั่งมาบรรจบกันที่แนวแผ่นอีพิไฟเซียล (epiphyseal plate) จะเริ่มสร้างหลังคลอดจน กระทั่งเข้าสู่วัยผู้ใหญ่ แนวดังกล่าวนี้จะถูกแทนที่ด้วยกระดูกทั้งหมด แม้ว่าการเจริญพัฒนาของกระดูกจะหยุดไปแล้วแต่ยังคงมีกระบวนการก่อรูปของกระดูกอย่างต่อเนื่อง เพื่อซ่อมแซมความเสียหายเล็ก ๆ น้อย ๆ ของกระดูก เช่น บริเวณกระดูกที่มีการแตกหัก เป็นต้น และเป็นการรักษาระดับแคลเซียมในกระแสเลือดอีกด้วย การเจริญและพัฒนาของกระดูกในกระบวนการดังกล่าวแสดงดังภาพที่ 3

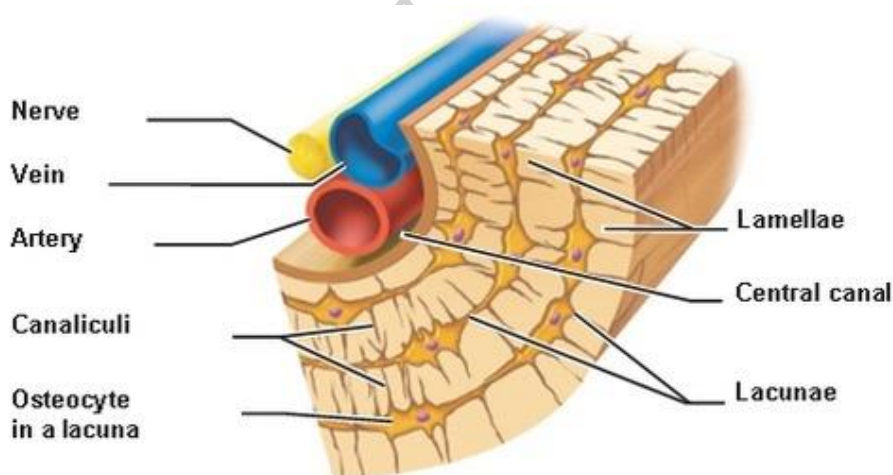


ภาพที่ 3 การเจริญและพัฒนาของกระดูกในกระบวนการ Endochondral ossification [16]

2.1.2 ชีวกลศาสตร์ในการสร้างเนื้อเยื่อกระดูกทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก

การรักษาโรคกระดูกหรือการเปลี่ยนกระดูกในปัจจุบันมีจำนวนมากกว่า 4 ล้านครั้งต่อปีโดยที่มากกว่า 50% เป็นการปลูกถ่ายกระดูก ซึ่งสิ่งนี้จึงทำให้การรักษากระดูกเป็นอันดับ 2 รองจากเลือด ในรายการวัสดุที่ปลูกถ่าย โดยใช้วิธีการปลูกถ่ายกระดูกแบบดั้งเดิม คือ การปลูกถ่ายกระดูกที่ได้มาจากตำแหน่งอื่นของตัวผู้ป่วยเอง (autograft) และ การใช้กระดูกของบุคคลอื่นหรือที่เรียกว่ากระดูกปลูกถ่ายร่วมสายพันธุ์ (allograft) ซึ่งมีข้อเสียและความเสี่ยงสูง ในข้อจำกัดของปริมาณกระดูก การผ่าตัดทำให้รุกรานและการขาดแคลนผู้บริจาค ดังนั้น จึงมีความต้องการสูงต่อวัสดุที่ปลูกถ่าย ต้องมีคุณสมบัติที่เหมาะสมกับเจ้าบ้านและการใช้งานทางการแพทย์ โดยทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกจึงอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษา แต่อย่างไรก็ตามการพัฒนาเนื้อเยื่อกระดูกทดแทนและวัสดุทางชีวภาพหรือโครงเลี้ยงเซลล์ที่ต้องการร่วมกับปัจจัยทางชีวภาพทางเคมี ชีวกลศาสตร์ และเซลล์ต้นกำเนิดเพื่อสร้างเนื้อเยื่อภายนอกร่างกาย (*in vivo*) ที่ได้รับการออกแบบทางวิศวกรรมในหลอด

ทดลองให้เหมาะสมกับเซลล์เจ้าบ้านยังไม่บรรลุผล [10] ซึ่งปัจจัยที่สำคัญทางชีวกลศาสตร์ที่เหมาะสม การสร้างเซลล์กระดูกส่วนใหญ่มิ 2 รูปแบบที่ควบคุมการหมุนเวียนในร่างกาย: จากความเครียดใน ระดับที่คาดการณ์ไว้อยู่ที่ $< 2000 \mu\text{E}$ [17] ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนรูปร่างกายภาพและความเค้นเฉือน (shear) ที่เกิดจากการไหลของของเหลวที่ $0.8\text{--}3 \text{ Pa}$ โดยของเหลวนั้น จะเคลื่อนที่คั่นระหว่างหน้า ผ่าน lacunae ภาพที่ 4 ที่เกิดจากการบีบอัดและความตึงเครียดระหว่างการไหลของการตอบสนอง การทำงานของกระดูกต่อระบบการรับน้ำหนักตามความเครียดที่ทำให้เกิดการเสียรูปของเซลล์จาก การบวมแบบ hypotonic ด้วยความดันไฮโดรสแตติกหรือความเครียดแกนเดียว/แกนสองแกน [18]



ภาพที่ 4 ภาคตัดขวางของเซลล์กระดูก nucleated แสดงโพรงของโครงสร้างภายในของกระดูก [19]

เนื่องจากความเค้นเฉือนหรือความเค้นเฉือนจากการไหลของของไหลมีผลต่อการพัฒนาของ โครงสร้างกระดูก จึงสามารถสร้างสมการขึ้นได้โดยพิจารณาจากการเคลื่อนที่ของของเหลวที่สัมผัสกับ พื้นผิวด้วย Newtonian fluids ที่ไม่มีบีบอัดของ Batchelor ปี 2000 [20] ซึ่งความเค้นเฉือนจะเป็น สัดส่วนเชิงเส้นกับระดับความเร็วที่ตั้งฉากกับระนาบของความเค้นเฉือน โดยค่าคงที่ของสัดส่วนจะ เท่ากับความหนืดของของเหลวนั้น ดังสมการต่อไปนี้

$$\tau_{ij} = \mu \left(\frac{\partial v_i}{\partial y_j} + \frac{\partial v_j}{\partial y_i} \right) \quad (1)$$

โดยที่ τ_{ij} = ความเค้นเฉือนบนหน้า i^{th} ขององค์ประกอบของไหลในทิศทาง j^{th} (Pa)

μ = ความหนืดของของเหลว (kg/(m·s))

v_i และ v_j = ความเร็วในทิศทาง i^{th} และ j^{th} ตามลำดับ (m/s)

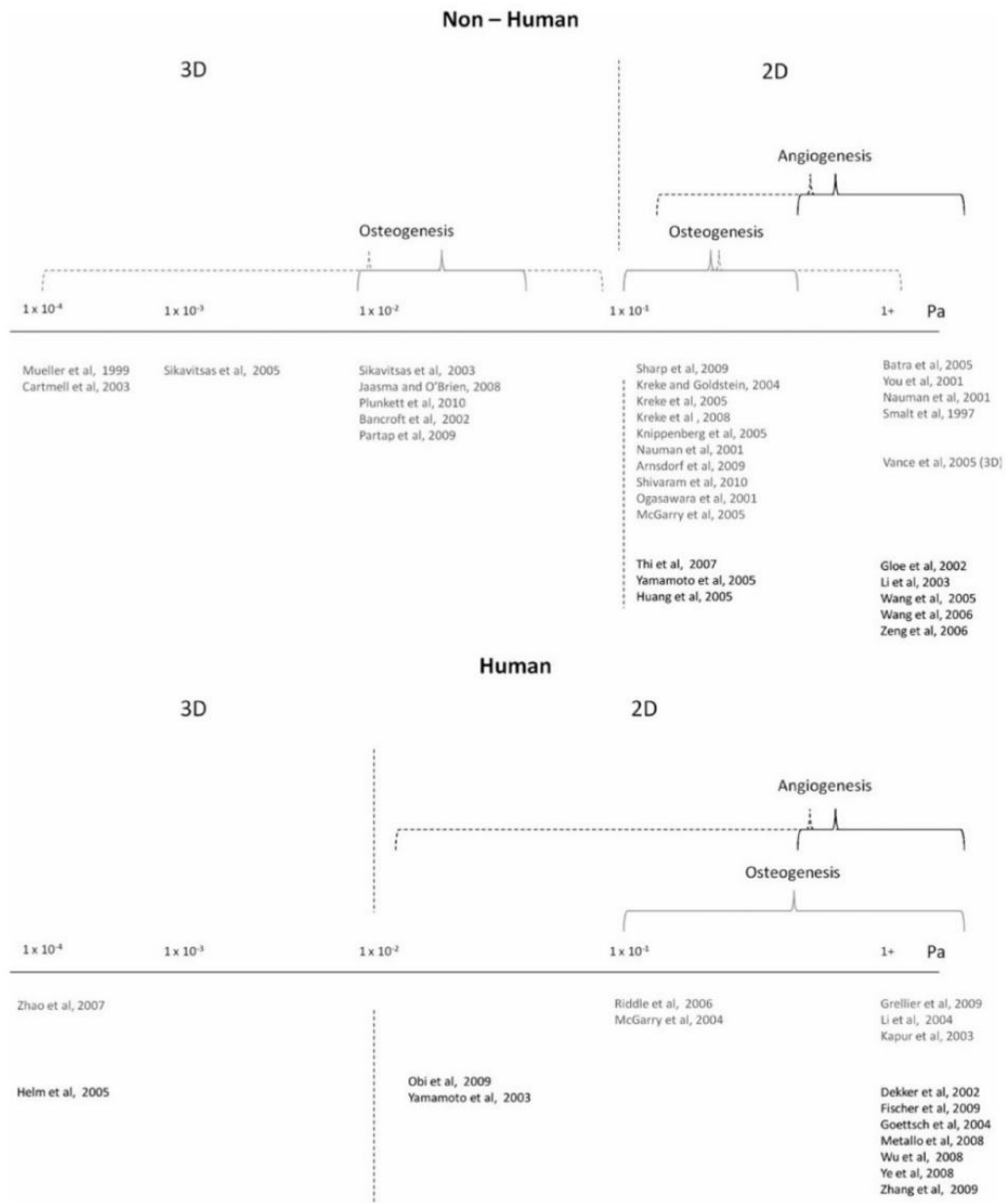
y_i และ y_j = พิกัดทิศทาง i^{th} และ j^{th} ตามลำดับ (m)

ซึ่งสมการเป็นสมการสำหรับหาความเค้นเฉือนของของไหล ที่มีพฤติกรรมเป็นไปตามกฎของนิวตันหรือเรียกสมการนี้ว่า สมการความหนืดของนิวตัน (Newton's equation of viscosity) โดยที่ μ (อ่านว่า mu) คือ ค่าสัมประสิทธิ์ ความหนืดไดนามิกส์ (Dynamic Viscosity) หรือ ความหนืดสัมบูรณ์ (Absolute Viscosity)

จากที่ผ่านได้มีการศึกษาและพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์และมนุษย์ให้มีการชักนำให้เกิดเซลล์กระดูกและหลอดเลือดเป็นจำนวนมากในการเพาะเลี้ยงแบบสองมิติหรือ “2D” ที่ประยุกต์ใช้ความเค้นเฉือนกับการเพาะเลี้ยงบนแพลตฟอร์มขึ้นเดียวในหลายแบบ เช่น การไหลแบบขนาน การไหลตามแนวรัศมีหรือเป็นจานหมุน และแบบหมุนเหวี่ยง ดังในภาพที่ 5 ระดับความเค้นเฉือนที่ใช้กระตุ้นให้เกิดการสร้างเซลล์กระดูกและหลอดเลือดของสัตว์อยู่ในช่วง 0.1 ถึง 1 Pa และ 0.5 ถึงมากกว่า 1 Pa ตามลำดับ เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงเซลล์มนุษย์อยู่ในช่วง 0.5 ถึงมากกว่า 1 Pa ของเซลล์กระดูก แต่เซลล์หลอดเลือดสามารถกระตุ้นให้เกิดได้ตั้งแต่ 0.01 Pa และในการเพาะเลี้ยงแบบไดนามิกหรือสามมิติ “3D” ส่วนใหญ่นิยมใช้ถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion กระตุ้นให้เกิดความเค้นเฉือนผ่านโครงสร้างรูพรุนของการเพาะเลี้ยงเซลล์กระดูกในสัตว์อยู่ในช่วง 0.1 ถึง 100 mPa และมนุษย์ที่ 0.1 ถึง 10 mPa เช่นเดียวกับการกระตุ้นให้เกิดเซลล์หลอดเลือด [10]

2.2 วิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering)

วิศวกรรมเนื้อเยื่อเป็นกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อ (regeneration of function tissues) เพื่อซ่อมแซมหรือปรับปรุงการทำงานของเนื้อเยื่อและอวัยวะที่สูญเสียหรือบาดเจ็บ ซึ่งโดยปกติจะไม่มีกรงอกใหม่เองในมนุษย์หรือใช้ระยะเวลาในการงอกใหม่ เนื่องจากเนื้อเยื่อของร่างกายมีวัตถุประสงค์การใช้งานที่แตกต่างกัน เช่น ใช้เป็นโครงสร้างและเสริมแรง เป็นต้น โดยอาศัยการทำงานร่วมกันของศาสตร์วิชาต่าง ๆ เพื่อให้ได้เนื้อเยื่อทดแทนที่สามารถเลียนแบบธรรมชาติได้ คล้ายคลึงมากที่สุด โดยจะเป็นการเหนี่ยวนำหรือกระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อที่จำเพาะในตำแหน่งที่ต้องการ ซึ่งต้องอาศัยองค์ประกอบที่สำคัญ 3 อย่าง (tissue engineering triad) คือ โครงสร้างเซลล์ (scaffold หรือ supporting matrices) เซลล์ต้นกำเนิด (stem cells) และโมเลกุลให้สัญญาณหรือสารกระตุ้นทางชีวภาพ (signaling molecules) [21]



ภาพที่ 5 ระดับความเค้นเฉือนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์และมนุษย์ เพื่อกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ไปเซลล์กระดูกและเซลล์หลอดเลือดในในการเพาะเลี้ยงแบบคงที่หรือ (2D) และแบบไดนามิกหรือ (3D) [10]

1. เซลล์ต้นกำเนิด (stem cells)

เซลล์ที่นิยมมาใช้ในการงอกใหม่ของเนื้อเยื่อกระดูก คือ เซลล์ต้นกำเนิด เนื่องจากไม่มีข้อจำกัดในด้านการแบ่งตัว โดยการแบ่งตัวจะเกิดขึ้นในลักษณะที่ไม่สมมาตร (asymmetric division) คือ ในเซลล์ย่อย 1 เซลล์ยังคงลักษณะความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดเช่นเดียวกับเซลล์หลัก (selfrenewal) และอีกเซลล์หนึ่งจะเป็นเซลล์ที่มีการแปรสภาพไปทำหน้าที่เฉพาะ (specialized

cells) โดยเซลล์ต้นกำเนิดสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน (embryonic stem cells) และเซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกาย (post-natal stem cells)

- เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน คือ ส่วนที่เป็นอินเนอร์เซลล์แมส (inner cell mass) ของบลาสโตซิส มีคุณสมบัติเป็นเซลล์ต้นกำเนิดพลูริโพเทนต์ (pluripotent stem cells) สามารถเปลี่ยนเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ ได้เกือบทุกชนิดยกเว้น เซลล์รก และมีข้อจำกัดด้านการควบคุมเซลล์ (cell regulation) คือ ถ้าไม่สามารถควบคุมการแบ่งตัว (proliferation) ของเซลล์ได้จะทำให้เกิดเป็นเนื้องอกหรือมะเร็งและยังอาจเกิดปัญหาด้านจริยธรรม ดังนั้นจึงมุ่งเน้นการใช้งานเซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกายแทน

- เซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกาย คือ เซลล์ต้นกำเนิดที่แยกออกมาจากอวัยวะต่าง ๆ ทำหน้าที่ในการรักษาสมดุลโดยการแทนที่เซลล์ที่ตายแล้ว เช่น เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (mesenchymal stem cell) พบได้ในไขกระดูก (bone marrow) เอ็นกล้ามเนื้อ (tendon) เนื้อเยื่อในของฟัน (dental pulp) โดยทั่วไปเซลล์ที่นิยมนำมาศึกษา คือ เซลล์ต้นกำเนิดที่ได้จากไขกระดูก (bone marrow mesenchymal stem cells; BMSCs) เนื่องจากสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) ได้เมื่อได้รับการกระตุ้นที่เหมาะสม

2. โครงเลี้ยงเซลล์ (scaffold)

การออกแบบชีววัสดุให้มีโครงสร้างที่เหมาะสมก่อนที่จะนำไปใช้เป็นโครงเลี้ยงเซลล์ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกมีความสำคัญมาก เนื่องจากโครงสร้างของวัสดุจะส่งผลต่อพฤติกรรมของเซลล์นอกจากนี้สัมฤทธิ์และรูปแบบของวัสดุต้องเหมาะสมกับการนำไปใช้งาน โดยรูปแบบวัสดุที่พบได้แก่ แบบเจล แผ่น ผง फिल्म เส้นใย และเม็ด ในการเลือกใช้จะต้องคำนึงถึงวัตถุประสงค์เช่น ถ้าใช้กับเนื้อเยื่อที่เกิดความเสียหายบริเวณกว้าง ควรใช้วัสดุแบบแผ่น फिल्म หรือเส้นใย เพื่อให้สามารถปิดทับเนื้อเยื่อที่ได้รับความเสียหายได้หมด ส่วนถ้าใช้ในด้านวัสดุปิดแผลควรใช้วัสดุแบบเจล แต่ถ้าใช้ในด้านตรึงสารหรือบรรจุสารควรใช้แบบผงหรือเม็ด จะช่วยในเรื่องการกักเก็บและปลดปล่อยยาได้ดีกว่า

- วัสดุสำหรับการผลิตวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์

โครงเลี้ยงเซลล์ จะต้องเลือกให้เหมาะสมหากใช้สำหรับเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่ต้องการความแข็งแรงสูง เช่น กระดูกหรือเส้นเอ็น วัสดุที่ใช้ควรมีสมบัติเชิงกลที่ดีมาก แต่ถ้าหากใช้สำหรับเนื้อเยื่อที่ต้องการความยืดหยุ่นและเข้ากับเซลล์ร่างกายได้ดีควรใช้วัสดุที่มีคุณสมบัติเข้ากับร่างกายได้เช่น

คอลลาเจน ไคโตซาน เป็นต้น โดยวัสดุชีวภาพสำหรับการผลิตวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อได้แก่ เซรามิก พอลิเมอร์สังเคราะห์และพอลิเมอร์ธรรมชาติจำพวกเส้นใยจากไหม โดยที่วัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ชีวภาพจากเซรามิก เช่น ไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) และแก้วชีวภาพ (bioglass) ได้มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายสำหรับการสร้างกระดูก เพราะมีลักษณะเด่น คือ มีค่า Young's modulus และความแข็งที่ผิวสูง มีความยืดหยุ่นต่ำ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์กระดูกตามธรรมชาติเป็นอย่างดีเนื่องจากมีลักษณะทางเคมีและโครงสร้างคล้ายคลึงกับแร่ธาตุในกระดูก แต่มีข้อเสียคือ มีความเปราะสูง ขึ้นรูปเป็นรูปแบบต่าง ๆ ยาก สำหรับวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตจากพอลิเมอร์สังเคราะห์ เช่น poly(lactic acid), poly(glycolic acid), poly(DL-lactic-co-glycolic acid) เป็นต้น มีข้อดีคือ สามารถทำให้มีรูปร่างต่าง ๆ ตามต้องการได้ง่าย และสามารถทำการควบคุมการสลายตัวของพอลิเมอร์ได้โดยการปรับเปลี่ยนลักษณะโครงสร้างหรือองค์ประกอบของพอลิเมอร์ [22] แต่มีข้อเสีย คือ มีความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactivity) ต่ำทำให้เซลล์มีการยึดเกาะ การแบ่งตัว และการเพิ่มจำนวนบนโครงเลี้ยงเซลล์ของพอลิเมอร์สังเคราะห์เป็นไปได้ยาก และมีความเสี่ยงสูงที่ร่างกายจะปฏิเสธวัสดุประเภทพอลิเมอร์สังเคราะห์ส่วนโครงเลี้ยงเซลล์จากพอลิเมอร์ธรรมชาติมีความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีกว่าพอลิเมอร์สังเคราะห์ช่วยให้เกิดการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์รวมถึงเกิดการสลายตัวทางชีวภาพของพอลิเมอร์ธรรมชาติที่ดีแต่วัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ที่ได้จากพอลิเมอร์ธรรมชาติมีสมบัติเชิงกลที่ค่อนข้างต่ำ จึงมีข้อจำกัดในการนำไปใช้งานที่เกี่ยวข้องกับอวัยวะที่ต้องรับแรงเชิงกลที่สูง เช่น กระดูก เนื่องจากเป็นวัสดุที่ได้จากธรรมชาติ จึงมักจะไม่สม่ำเสมอทางด้านโครงสร้างและองค์ประกอบ จึงอาจทำให้เกิดปัญหาในการผลิตเพื่อให้ได้วัสดุที่มีสมบัติตามที่ต้องการได้

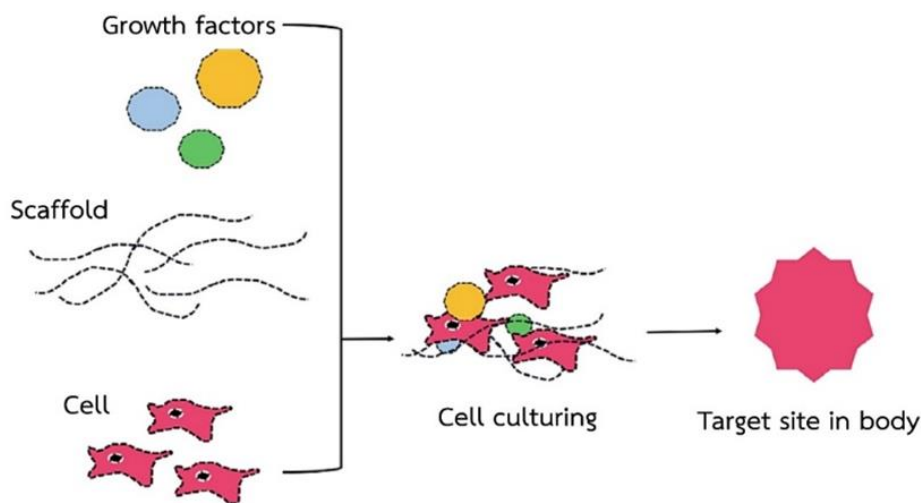
จากข้อดีและข้อเสียข้างต้นของวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตมาจากวัสดุทางชีวภาพแต่ละชนิด มีการใช้ต้นทุน แรงงานและเวลาในการผลิตต่อการพัฒนาโครงสร้างวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ที่สูง จึงทำให้เกิดแนวคิดในการพัฒนาวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้เป็นต้นแบบ ก่อนนำไปการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์จากวัสดุทางชีวภาพ ด้วยเทคนิคการพิมพ์สามมิติจากพอลิเมอร์แบบใสต่าง ๆ ได้แก่ พอลิเอทิลีนเทเรฟทาเลต (PET) พอลิคาร์บอเนต (PC) และพอลิอะซิเตต (POM) เป็นต้น [23] ที่ง่ายต่อการขึ้นรูปต่าง ๆ ราคาถูกและโปร่งแสง เพื่อให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ต่อการกระจายของของไหลและความเค้นเฉือนในช่วงที่เหมาะสมภายใต้สภาวะการไหลที่ศึกษาว่ามีผลช่วยเพิ่มจำนวนและการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ไปเป็นเซลล์กระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์ที่ต้องการได้

- การนำวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ไปใช้ประโยชน์

เป็นตัวรองรับทางกายภาพ (physical support) เพื่อไม่ให้เนื้อเยื่อข้างเคียงยุบตัวเข้ามาในระหว่างการสมานแผล (healing site) เป็นตัวขัดขวาง (barrier) ยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์ (cellular migration) ที่มีการคัดเลือกไว้แล้ว จะทำให้เกิดการชักนำให้เนื้อเยื่อคืนสภาพและกระตุ้นให้กระดูกคืนสภาพ และเป็นวัสดุโครงยึดชั่วคราว (temporary matrices) โดยเป็นตัวรองรับเซลล์ที่เคลื่อนที่เข้ามาในบริเวณนั้น ทำให้เกิดการยึดเกาะ (attachment) เจริญเติบโต (growth) และแปรสภาพกลายเป็นเนื้อเยื่อที่ต้องการ โดยอาจจะถูกฝัง (implantation) เข้าไปเพื่อเหนี่ยวนำให้เซลล์เคลื่อนที่เข้ามายังบริเวณบาดแผล และเกิดการพัฒนาเป็นเนื้อเยื่อใหม่หรืออาจใช้โครงเลี้ยงเซลล์รองรับการยึดเกาะของเซลล์ก่อนจะนำไปฝัง (cell carrier) ในเนื้อเยื่อที่บาดเจ็บ [24, 25] ตลอดจนเป็นตัวปล่อยโมเลกุลให้สัญญาณ (release mechanism for signaling molecules) โดยเป็นโครงร่างชั่วคราวเพื่อรองรับเซลล์ที่เคลื่อนที่เข้ามาในบริเวณที่มีการพัฒนากลายเป็นเนื้อเยื่อ โครงเลี้ยงเซลล์ควรมีลักษณะเป็นรูพรุน (porosity) ที่สามารถเชื่อมต่อกันได้เพื่อความสะดวกในการไหลเวียนของเลือด ช่วยในการแลกเปลี่ยนสารอาหาร ออกซิเจนและขับถ่ายของเสียของเซลล์รวมถึงคุณสมบัติพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ต้องเหมาะสมเพื่อเหนี่ยวนำให้เซลล์เข้ามายึดเกาะ และแบ่งตัวเพิ่มจำนวน เซลล์โดยโครงเลี้ยงเซลล์ควรย่อยสลายได้ (biodegradation) ในเวลาที่เหมาะสม และไม่เป็นพิษ (non-toxic) เพราะถ้าย่อยสลายเร็วเกินไปจะทำให้เซลล์ไม่สามารถสร้างโครงสร้างนอกเซลล์เพื่อการคงรูปได้ แต่ถ้าโครงเลี้ยงเซลล์ยังคงอยู่จะไปขัดขวางการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ

3. โมเลกุลให้สัญญาณหรือสารกระตุ้นทางชีวภาพ (biologically active molecules)

เมื่อมีการบาดเจ็บของกระดูกโมเลกุลให้สัญญาณหรือสารกระตุ้นทางชีวภาพ เช่น ไซโตไคน์ (cytokines) หรือ โกรทแฟกเตอร์ (growth factors) จะมีหน้าที่ในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเคลื่อนที่ของเซลล์มายังบริเวณที่มีการบาดเจ็บ จากนั้นจะเกิดการยึดเกาะเจริญเติบโตและพัฒนาไปเป็นเนื้อเยื่อใหม่ โดยโมเลกุลให้สัญญาณที่มีบทบาทเกี่ยวกับการสร้างเนื้อเยื่อมีหลายชนิด เช่น platelet-derived growth, insulin-like growth factor, fibroblast growth factor, transforming growth factor, vascular endothelial growth factor, bone morphogenetic protein เป็นต้น (ภาพที่ 6) [26]



ภาพที่ 6 องค์ประกอบของวิศวกรรมเนื้อเยื่อ [27]

2.3 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactors)

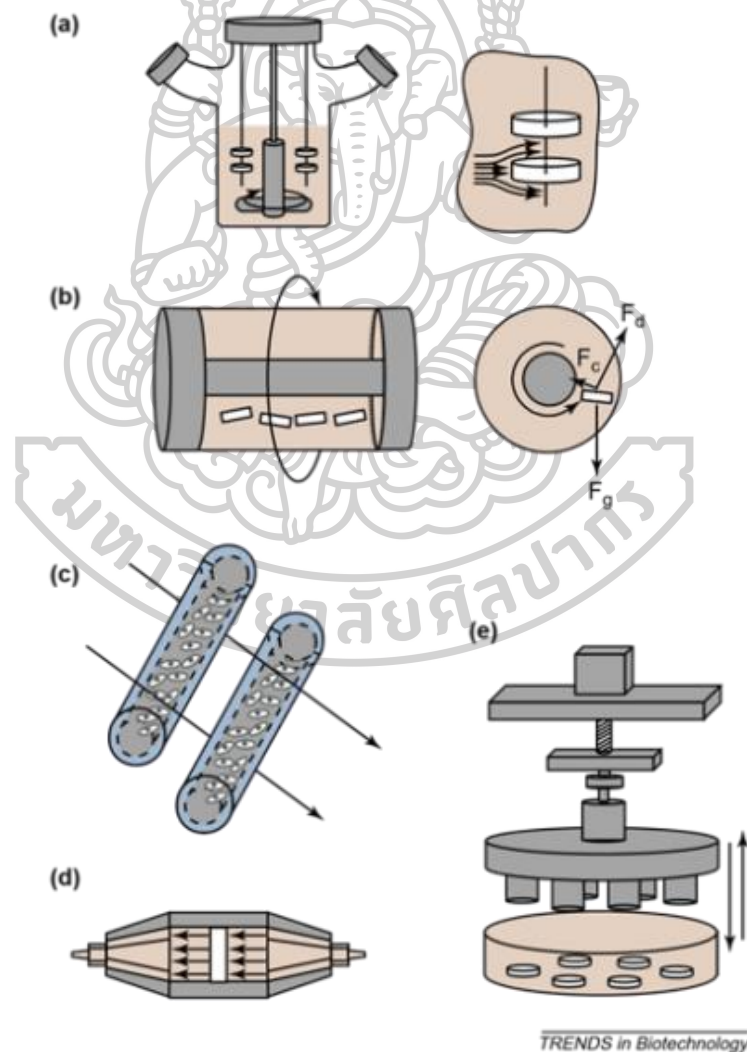
ถังปฏิกรณ์ชีวภาพมีบทบาทสำหรับงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ในการควบคุมสภาวะต่าง ๆ ให้เหมาะสมกับการเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิด เพื่อการเปลี่ยนแปลงเซลล์ไปเป็นเซลล์เนื้อเยื่อที่ต้องการ เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเซลล์บนโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีความหนาภายใต้สภาวะที่คงที่ (static) เป็นการเพาะเลี้ยงแบบสองมิติหรือ “2D” มีปัญหาเช่น ผลของการถ่ายโอนมวลสาร (mass transfer) ที่สร้างขึ้นจากเซลล์โดยไม่มีการระบอบออก [28] ทำให้เซลล์ไม่สามารถกระจายตัวและเจริญเติบโตได้ทั่วทั้งโครงเลี้ยงเซลล์ เซลล์จะเจริญได้ดีที่ผิวรอบนอกของโครงเลี้ยงเซลล์ ส่วนด้านในของของโครงเลี้ยงเซลล์ เซลล์จะไม่เจริญและตายในที่สุดส่งผลให้การสร้างเนื้อเยื่อได้ไม่ดี รวมทั้งช่วยในการทดสอบ Intracellular matrix ที่เซลล์สร้างขึ้น เพื่อให้ได้ผลไวและไม่มีปัญหาของระบบภูมิคุ้มกันเข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้น การเพาะเลี้ยงเซลล์โดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเพื่อใช้ในงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อจึงช่วยลดปัญหาดังกล่าวได้

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา มีงานวิจัยที่การศึกษาและวิเคราะห์การเพิ่มจำนวนและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนและตัวเต็มวัยในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่หลากหลาย (ตารางที่ 1) แสดงให้เห็นว่าศักยภาพในการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิด MSCs, HSPC และ ESC ของมนุษย์และหนู ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเพื่อเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิดภายใต้สภาวะที่กำหนดไว้ แต่อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดของมนุษย์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพการยังคงมีความยุ่งยากและซับซ้อนมากกว่าของหนู รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิด ESC ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ โดยการควบคุมสารอาหารในการเพาะเลี้ยงต่อการทำงานรวมกันในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ [5]

นอกเหนือจากโครงสร้างเซลล์ที่ใช้ในการยึดเกาะของเซลล์ต้นกำเนิดและยังมีส่งผลในการการถ่ายโอนมวลสารที่ใช้งานทางชีวภาพต่อปัจจัยการเจริญเติบโต [29] แต่อย่างไรก็ตามการกำหนดปัจจัยการเจริญยังขึ้นอยู่กับสิ่งเร้าทางชีวกลศาสตร์ (เช่น สภาวะไดนามิก) ซึ่งได้รับรองว่าเป็นตัวชี้วัดพื้นฐานที่มีผลต่อเซลล์เนื้อเยื่อที่ต้องการ ซึ่งโดยปกติแล้วเซลล์เนื้อเยื่อกระดูกของมนุษย์จะมีการกระตุ้นด้วยกลไกทางชีวกลศาสตร์ 2 แบบ คือ ความเค้นเนื่องกับความเครียด [30] โดยที่ค่าเหล่านี้ได้นำมาใช้ในออกแบบสิ่งเร้าต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงแบบไดนามิกหรือสามมิติ “3D” ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบต่าง ๆ ได้แก่

ในภาพที่ 7 (a) ถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบขวดสปินเนอร์ (Spinner flask) เป็นระบบพื้นฐานที่ใช้การปั่นกวนผสมธรรมดาทั่วไป ทำให้เกิดการผสมระหว่างออกซิเจนและสารอาหารให้มีความทั่วถึงและยังลดชั้นความเข้มข้นของเซลล์บนพื้นผิวโครงสร้างอีกด้วย ซึ่งส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของการสังเคราะห์ GAG (glycosaminoglycan) ภายในโครงสร้างเซลล์ แต่เศษส่วนการสังเคราะห์ GAG เฉลี่ยสุทธิที่สะสมขึ้นนั้นทำให้การสร้างกระดูกลดลง เนื่องจากการปั่นกวนจะช่วยเพิ่มการถ่ายโอนมวลแต่ยังสร้างความเสียหายที่เป็นอันตรายต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อ (b) ถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหมุน (Rotating-wall) พัฒนาขึ้นเพื่อลดความเครียดเฉือนที่เกิดขึ้นและเพิ่มอัตราการถ่ายโอนมวลจากการไหล โดยทำให้เกิดแรงในแนวลาก (Fd), แรงเหวี่ยง (Fc) และแรงโน้มถ่วงสุทธิ (Fg) บนพื้นผิวโครงสร้างเซลล์ (c) ถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเส้นใยกลวง (Hollow-fiber) ที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายโอนมวลต่อการเผาผลาญในระหว่างการเพาะเลี้ยงเซลล์และยังมีการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น เช่น เซลล์ต้นกำเนิดจากตับ โดยการใส่เซลล์ไปภายในเจตของลูเมนของเส้นใยกลวงที่มีค่าซึมผ่าน ซึ่งตัวกลางหรือสารอาหารจะซึมผ่านพื้นผิวด้านนอกของเส้นใยไปหล่อเลี้ยงเซลล์ (d) ถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion เป็นการไหลภายในท่อโดยที่ของเหลวหรือสารอาหารและเซลล์จะไหลผ่านรูพรุนโครงสร้างเซลล์ scaffold และยังเป็นระบบที่นิยมใช้กันในการเพาะเลี้ยงหรือการเปลี่ยนแปลงเซลล์ไปเป็นเซลล์ที่ต้องบนโครงสร้างเซลล์แบบ 3 มิติ เนื่องจากระบบนี้ช่วยเพิ่มการถ่ายโอนมวล เพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ไปเป็นเซลล์กระดูก (การสะสมเซลล์กระดูกบนเมทริกซ์โครงสร้าง) เพิ่มอัตราการสังเคราะห์อัลบูมิน (albumin) ในเซลล์ตับซึ่งมีการแสดงออกของโปรตีน markers เช่นเดียวกับ cardiomyocytes ตลอดจนการสังเคราะห์และการสะสม GAG โดย chondrocytes ในระหว่างการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่เกิดการไหลขึ้น และระบบสุดท้าย (e) เป็นถึงปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้แรงกดดันทางกล เช่น การบีบอัดแบบไดนามิกไปยังโครงสร้างเซลล์ที่ได้ทำการออกแบบให้มีความสามารถใช้เป็นต้นแบบของการพัฒนาเซลล์เนื้อเยื่อภายใต้สภาวะการให้แรงเชิงกลทางสรีรวิทยาและเพื่อสร้างเซลล์

เนื้อเยื่อที่ใช้งานได้ ซึ่งการให้แรงอัดนั้นสามารถทำได้โดยมอเตอร์ไมโครสเต็ป (micro-stepper) ที่ควบคุมด้วยคอมพิวเตอร์และสามารถวัดความเค้นของโครงเลี้ยงที่สร้างขึ้นได้โดยการโหลดเซลล์เข้าไป ดังภาพที่ 7 ดังนั้นการที่จะเพิ่มประสิทธิภาพถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบต่าง ๆ ที่กล่าวมานั้นทำให้การเพิ่มจำนวนและพัฒนาของเซลล์เนื้อเยื่อต้องการใช้งานนั้นเพิ่มขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพ จึงต้องจัดการความสัมพันธ์ระหว่างการถ่ายโอนมวล สารอาหาร และของเสียจำนวนมากที่สะสมอยู่ในระบบ รวมไปถึงการเจริญของเซลล์บนโครงเลี้ยงเมทริกซ์ที่มีรูพรุน [31] ที่ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงเซลล์ร่วมกัน "การเพาะเลี้ยงแบบไดนามิก" แสดงให้เห็นว่าความสัมพันธ์ของการกระตุ้นเชิงกลที่เหมาะสม มีผลต่อเพิ่มจำนวนและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์เนื้อเยื่อต้องการได้อย่างมีประสิทธิภาพในหลอดทดลอง (in vitro) [32]



ภาพที่ 7 ลักษณะถึงปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้ในงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ โดยที่ (a) Spinner flask, (b) Rotating-wall, (c) Hollow-fiber, (d) Direct perfusion และ (e) Dynamic compression [31]

ตารางที่ 1 การเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ [5]

Bioreactor Type	Species	Stem cell type	Objective	Notes
Rotating wall vessel	Human	HSPC	Expansion	pH and osm. offline
Spinner flask	Human	HSPC	Expansion	
Perfusion	Sheep	MSC	Expansion	glu. offline
Perfusion	Human	MSC	Expansion	glu. and lac. offline
Perfusion	Human	MSC	Expansion	pH, pO ₂ , glu. and lac. offline
Perfusion	Human	MSC	Expansion	
Rotary cell culture system	Human	MSC	Expansion	
Perfusion	Human	BM stromal	Expansion	
Spinner flask	Mouse	Neural	Expansion	
Instrumented stirred vessel	Mouse	Neural	Expansion	T, pH and pO ₂ control; pH and osm. offline
Stirred vessel	Mouse	Mammary Epithelial	Expansion	
Instrumented stirred vessel	Mouse	Breast cancer	Expansion	T, pH and pO ₂ control; glu., lac., gln. and amm. offline
Spinner flask	Pig	Neonatal pancreatic	Expansion	
Spinner flask	Mouse	ESC	Expansion	pH, glu., lac., gln. and amm. offline
Spinner flask	Mouse	ESC	Expansion	
Spinner flask	Mouse	ESC	Expansion	glu. and LDH offline
Spinner flask	Mouse	ESC	Expansion	pH, glu., lac., gln. and amm. offline
Instrumented stirred vessel	Mouse	ESC	Differentiation	T, pH and pO ₂ control; gas sparging
Rotary cell culture system	Mouse	ESC	Differentiation	
Instrumented spinner flask	Mouse	ESC	Differentiation	Continuous perfusion; pH and pO ₂ control
Spinner flask	Mouse	ESC	Differentiation	
Spinner flask	Human	ESC	Differentiation	

ตัวย่อ: amm., ammonia; BM, bone marrow; ESC, embryonic stem cell; gln., glutamine; glu., glucose; HSPC, haematopoietic stem and progenitor cell; lac., lactate; LDH, lactate dehydrogenase; MSC, mesenchymal stem cell; osm., osmolality; pO₂, oxygen partial pressure; T, temperature.

ข้อมูลงานวิจัยส่วนใหญ่จากอดีตจนถึงปัจจุบันได้มีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดเหล่านั้นมาเรื่อย ๆ โดยจะนำเซลล์ที่จากการแยกออกจากร่างกายมาเพาะบนโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีรูพรุนเพื่อรองรับเซลล์ในการยึดเกาะเป็นเนื้อเยื่อ 3 มิติ ซึ่งทำมาจากพอลิเมอร์ซึ่งมีคุณสมบัติเข้ากับสิ่งมีชีวิตได้ เซลล์เจริญเติบโตได้ดี และย่อยสลายได้ [30] ภายใต้สภาวะถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีการควบคุมสภาวะต่าง ๆ เช่น pH อุณหภูมิ ออกซิเจนละลาย สารอาหาร และอัตราการไหลของของไหลหรือแรงเชิงกลในระบบ [5] มีวัตถุประสงค์เพื่อจะเพิ่มจำนวนและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์เนื้อเยื่อที่ต้องการ โดยถังปฏิกรณ์ชีวภาพชนิดต่าง ๆ

โดยงานวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับกระบวนการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดได้มีการศึกษาบทบาทใน เรื่องการออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีการกระตุ้นเชิงแรงกลทางกายภาพ ที่มีผลกระทบที่ใช้ต่อการ เพิ่มจำนวนและการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ไปเป็นเซลล์เนื้อเยื่อกระดูกที่ต้องการ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ภาพรวมงานวิจัยที่ผ่านมา 5 ปีย้อนหลังที่ใช้ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพสำหรับกระดูก วิศวกรรมเนื้อเยื่อ ผลกระทบของสารละลายที่การกระจายในระบบ perfusion และ compression ที่ใช้สิ่งกระตุ้นด้วยแรงเชิงกล [30]

Author., ปี	ชนิด เซลล์	วัสดุและขนาด โครงเลี้ยง	Physical stimuli	Amount	Stand-alone apparatus	Biological effects
Li et al. 2014	BMSCs	Bovine decalcified bone matrix (10x10x5 mm)	Perfusion และ Compression	Perfusion: 0.5 mL/min และ compression: 10% strain, 0.5 Hz frequency	Yes	ทำการบ่มเพาะเลี้ยงเซลล์บน manual เป็นเวลา 21 วัน ก่อนเดินระบบ พบว่ามีการเพิ่มจำนวนเซลล์และการวิเคราะห์กิจกรรม ALP ที่สูงขึ้นและมีปริมาณแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นภายใต้ สภาพไดนามิกเทียบคงที่ (static)
Baumgartner et al. 2015	hASCs	PLGA/a-CaP	Perfusion และ Compression Chamber: (20x5x12 cm)	Perfusion: 0.3, 0.5, 2 mL/min และ compression: 5% strain, 1 Hz frequency	No, it requires an incubator	Perfusion และ Compression พบว่ามีความหนาแน่น ของเซลล์ที่เพิ่มขึ้นในเชิงเส้นและการเปลี่ยนแปลงไปเป็น เซลล์กระดูก (osteogenic differentiation)
Ding et al. 2016	Sheep BMSCs	Mineral (ϕ ~1500 μ m, ~88% porosity)	Perfusion Chamber: ϕ ~15 mm, length 50 mm)	0.25 mL/min	No, it requires an incubator	ในการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วันนั้นเพียงพอที่จะช่วยใน การส่งเสริมการสร้างกระดูก
Nguyen et al. 2016	hMPCs	Alginate	Perfusion Chamber: (ϕ 6.35x20 mm height)	3 mL/min	No, it requires an incubator	ปรับปรุงการเปลี่ยนแปลงของ hMPCs พบว่าช่วยให้ เซลล์เกิดการสร้างกระดูก
Revichandra n et al. 2016	hMSCs	PCL/TCP (8x5x3.2 mm)	Compression Chamber: (32 cmx3 32 cmx3 19 cm)	0.22% strain, 1 Hz frequency	No, it requires an incubator	หลังจากการกระตุ้นเชิงกลเป็นเวลา 14 วัน พบว่าช่วย เพิ่มการแสดงออกของยีน Osteogenic ในการวิเคราะห์ กิจกรรม ALP และการผลิตเมทริกซ์การเปลี่ยนแปลงแร่ ธาตุ (mineralized)
Sinlapabodin et al. 2016	rMSC	Thai silk fibroin/gelatin /hydroxyapatite (ϕ ~12x10 mm thickness)	Perfusion Chamber: (ϕ 12x20 mm height)	1, 3 and 5 mL/min	No, it requires an incubator	1 mL/min เซลล์มากขึ้น, การเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ กระดูกที่ต่ำ 3 mL/min เซลล์น้อยลง, การเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ กระดูกที่สูง 5 mL/min เซลล์น้อยลง, การเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ กระดูกที่น้อย
Teng et al. 2016	hBMSCs	Polyurethane (ϕ 20 mm; height, 5 mm)	Perfusion และ Compression	Perfusion: 1-10 mL/min และ compression: 10% strain, 0.5-5 Hz frequency	No, it requires an incubator	Perfusion ช่วยเพิ่มการแบ่งเซลล์; ความถี่สูงของ compression ส่งผลให้มีการยับยั้ง การแพร่กระจายและการเปลี่ยนแปลงของ osteogenic ความถี่ต่ำของ compression มีประสิทธิภาพมากกว่า
Bhaskar et al. 2017	hES-MPs	Polyurethane (ϕ 30x5 mm thickness)	Perfusion Chamber: (ϕ 30 x 60 mm height)	3.47 mL/min	No, it requires an incubator	ทำการบ่มเพาะเลี้ยงเซลล์บน Polyurethane เป็นเวลา 2-3 วัน ก่อนเดินระบบ ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง พบว่า วิเคราะห์กิจกรรม ALP ความมีชีวิตและจำนวนเซลล์ มีค่าสูงขึ้นอย่างมี นัยสำคัญภายใต้สภาพไดนามิกเทียบคงที่ (static)
Brunelli et al. 2017	hES-MPs	PCL/Collagen	Compression	5% strain	No, it requires an incubator	วางกระดูกต้น: เป็นตัวกระตุ้นให้เซลล์ตอบสนองอย่างช้าๆ; พบว่ามีบทบาทสำคัญในการขบวนการเปลี่ยนเป็นแร่ธาตุ (mineralized)
Maeda et al. 2017	Immature bone tissues	Immature bone tissues	Compression	1-2% strain, 3-4 Hz frequency	Yes	พบว่า ช่วยการเพิ่มระดับความแข็งของวัสดุ (elastic moduli) และพื้นที่ของแคลเซียม

2.4 พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (Computational Fluid Dynamics: CFD) [33]

แบบจำลองพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (CFD) เป็นการใช้อุปกรณ์คอมพิวเตอร์สำหรับการวิเคราะห์ปัญหาทางด้านพลศาสตร์ของไหล (fluid dynamics) โดยมีพื้นฐานในการพิจารณาของไหลที่มีความต่อเนื่องให้อยู่ในรูปของลักษณะเป็นช่วงโดยอาศัยคอมพิวเตอร์ วิธีการส่วนใหญ่ที่มักจะใช้กันก็คือ การแบ่งช่วงของโดเมนปริภูมิ (spatial domain) ให้เป็นเซลล์เล็ก ๆ เพื่อก่อให้เกิดโครงตาข่ายเชิงปริมาตร (volume mesh) หรือกริด (grid) แล้วใช้อัลกอริธึม (algorithm) ที่เหมาะสมในการแก้สมการของการเคลื่อนที่ซึ่งเป็นสมการออยเลอร์ (euler equation) สำหรับการไหลแบบไม่หนืด (inviscid flow) และสมการนาเวียร์-สโตกส์ (Navier-Stokes equation) สำหรับการไหลแบบหนืด (viscid flow) นอกจากนี้โครงตาข่ายอาจจะมีลักษณะรูปทรงแบบไม่มีโครงสร้างที่แน่นอน (unstructured mesh) เช่น มีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมใน 2 มิติ หรือมีลักษณะเป็นรูปทรงพีระมิดใน 3 มิติ หรืออาจจะมีลักษณะรูปทรงแบบมีโครงสร้างแน่นอน (structured mesh) ก็ได้ [34] โดยถ้าเป็นปัญหาที่มีพลวัต (dynamic) สูงและมีสเกลขนาดใหญ่ตัวกริดอาจจะถูกตัดแปลงให้มีการเปลี่ยนแปลงขึ้นกับเวลาดังระเบียบวิธีการปรับความละเอียดของโครงตาข่ายแบบอะแดปทีฟ (adaptive mesh refinement methods) ในกรณีที่เราดำเนินการแก้ปัญหาทางด้านพลศาสตร์ของไหลโดยไม่อาศัยฐานความรู้ของระเบียบวิธีแบบโครงตาข่าย (mesh-based method) อาจจะใช้ระเบียบวิธีต่าง ๆ ดังนี้

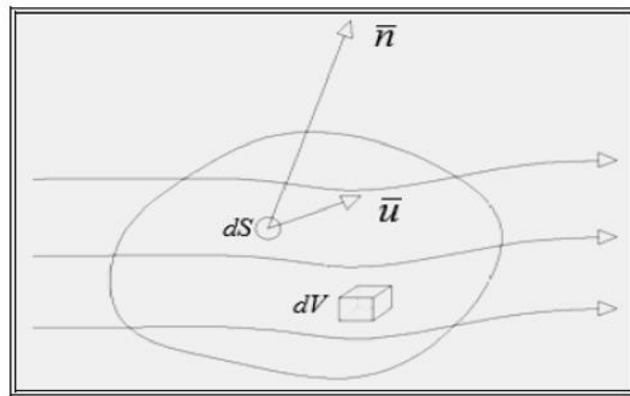
1. ระเบียบวิธีลากรางจ์ (lagrangian method)
2. ระเบียบวิธีสเปกตรัม (spectral method)
3. ระเบียบวิธีแลตติซ-โบลท์ซมานน์ (lattice-boltzmann method)

การคำนวณพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (CFD) เป็นเครื่องมือช่วยแก้ปัญหาที่ซับซ้อนที่เกี่ยวข้องกับการไหลโดยใช้ระเบียบวิธีเชิงตัวเลข (numerical method) คำนวณเพื่อประมวลผลเฉลยของสมการอนุพันธ์ย่อยที่มีความซับซ้อนซึ่งมีความยุ่งยากในการหาผลเฉลยด้วยวิธีแมนตรง หลักสำคัญในการคำนวณพลศาสตร์ของไหลต้องเกี่ยวข้องกับสมการบังคับ ซึ่งสมการบังคับพื้นฐานของพลศาสตร์ของไหลได้แก่ สมการความต่อเนื่อง (continuity equation) และ สมการนาเวียร์-สโตกส์ (Navier-Stokes equations) เป็นต้น

สำหรับการวิเคราะห์การไหลของของเหลว จะไม่คำนึงถึงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิขณะเกิดการไหล ดังนั้นจึงใช้เพียงกฎการอนุรักษ์มวลและกฎอนุรักษ์โมเมนตัมเพื่ออธิบายปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้น จึงขอเน้นเฉพาะกฎการอนุรักษ์มวลและกฎการอนุรักษ์โมเมนตัมเท่านั้น

1. กฎอนุรักษ์มวล เมื่อพิจารณาปริมาตรควบคุมของการไหลต่อเนื่องในสนามการไหลดัง **ภาพที่ 8** จะแสดงถึงการส่งถ่ายของมวลเข้าสู่ระบบและออกจากระบบที่เราสนใจ ซึ่งจะเรียกลักษณะดังกล่าวว่า ปริมาตรควบคุม จะเป็นไปตามหลักการอนุรักษ์มวล คือ

อัตราการเปลี่ยนแปลงภายในปริมาตรควบคุม = อัตราการไหลสุทธิของมวลที่ไหลผ่านผิวควบคุม



ภาพที่ 8 ปริมาตรควบคุม

สามารถเขียนในรูปสมการคือ $\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \bar{u}) = 0$ (2)

จากสมการต่อเนื่อง (Continuity Equation) เมื่อพิจารณาการไหลในเครื่องให้เป็นการไหลแบบอัดตัวไม่ได้ (Incompressible Flow) พบว่า ความหนาแน่นของของเหลวคงที่จะได้สมการความต่อเนื่องเป็นดังสมการ

$$\nabla \cdot (\bar{u}) = 0 \quad \text{หรือ} \quad \frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} + \frac{\partial w}{\partial z} = 0 \quad (3)$$

2. กฎอนุรักษ์โมเมนตัม หลักการอนุรักษ์โมเมนตัมเป็นการประยุกต์ใช้กฎการเคลื่อนที่ข้อที่ 2 ของนิวตันและเมื่อพิจารณาปริมาตรควบคุมจะได้ว่า

อัตราการเปลี่ยนแปลงสุทธิของโมเมนตัมปริมาตรควบคุม = แรงลัพธ์สุทธิที่กระทำต่อปริมาตรควบคุม

อัตราการเปลี่ยนแปลงสุทธิของโมเมนตัมของปริมาตรควบคุมเท่ากับผลรวมของอัตราการเปลี่ยนแปลงโมเมนตัมภายในปริมาตรควบคุมกับโมเมนตัมสุทธิที่ไหลผ่านผิวควบคุม

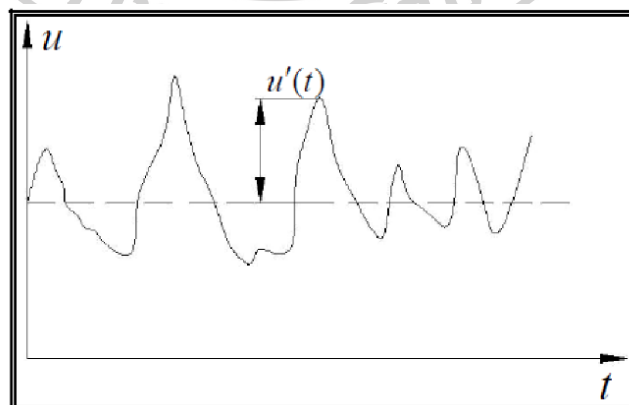
$$\text{ดังสมการ} \quad \frac{\partial}{\partial t} \iiint_V \rho \bar{u} dV + \iint_S \rho \bar{u} (\bar{u} \cdot d\vec{S}) \quad (4)$$

แรงลัพธ์สุทธิที่กระทำต่อปริมาตรควบคุมแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดแรกเป็นแรงเนื่องจากสนามดึงดูด (Field Force) ซึ่งได้แก่ แรงโน้มถ่วงโลก (Body Force) และ แรงเนื่องจากสนามแม่เหล็กไฟฟ้า ชนิดที่สองเป็นแรงที่กระทำต่อผิว (Surface force) ซึ่งแบ่งออกเป็นแรงในแนวตั้งฉาก ได้แก่ ความดัน ความเค้นอัดหรือดึง แรงในแนวขนานกับผิว ได้แก่ ความเค้นเฉือน

โดยปกติสามารถแก้สมการนาเวียร์-สโตกส์สำหรับการไหลแบบราบเรียบ (Laminar Flow) และการไหลแบบปั่นป่วน (Turbulent Flow) ได้โดยตรงเมื่อสเกลความยาวมีความเหมาะสมกับการศึกษา ในกรณีนี้การจำลองแบบการไหลแบบปั่นป่วนอาจจำเป็นต้องอาศัยแบบจำลองปั่นป่วน (Turbulence Model) สำหรับการไหลแบบหมุนวนขนาดใหญ่ (Large Eddy Simulation) จำเป็นต้องอาศัยสมการ RANS (Reynolds-Averaged Navier-Stokes Equations) กับแบบจำลอง $k-\alpha$ หรือแบบจำลองแรงเค้นเรย์โนลด์ส (Reynolds Stress Model) ในการแก้ปัญหา [35]

2.4.1 การไหลแบบปั่นป่วน (turbulence flow) ใน CFD

การไหลแบบปั่นป่วน ค่าของตัวแปรต่าง ๆ มีค่าไม่คงที่มีการเปลี่ยนแปลงตามเวลาที่เปลี่ยนแปลงไป เช่น ความเร็ว ดังภาพที่ 9 แสดงค่าของความเร็ว u ในการไหลแบบปั่นป่วนลักษณะการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้มีความยุ่งยากในการคำนวณค่าตัวแปร เพื่อให้สามารถคำนวณได้ง่ายจึงสมมุติให้คุณสมบัติต่าง ๆ ที่พิจารณาแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนปริมาณเฉลี่ยไม่ขึ้นกับเวลา เช่น \bar{u} \bar{v} หรือ $\bar{\rho}$ กับส่วนที่กระเพื่อม (Fluctuation) เช่น u' v' หรือ ρ'



ภาพที่ 9 ค่าความเร็ว "u" ในการไหลแบบปั่นป่วน [36]

เมื่อทำการเฉลี่ยปริมาณใด ๆ ในสมการควบคุมตลอดช่วงเวลาช่วงหนึ่ง ทำให้เกิดตัวแปรขึ้นมาใหม่ ส่งผลให้มีจำนวนตัวแปรไม่รู้ค่ามากกว่าจำนวนสมการที่มีอยู่จึงจำเป็นต้องอาศัยแบบจำลองความปั่นป่วนเข้ามาช่วยเพื่อทำให้ปัญหาที่เกิดขึ้นเป็นปัญหาแบบปิด (Close Problem) ให้สามารถหาผลเฉลยได้

สมการบังคับของการไหลแบบปั่นป่วน สำหรับของไหลที่อัดตัวไม่ได้ มีอนุสมการที่และค่าสัมประสิทธิ์ความหนืดสัมบูรณ์มีค่าคงที่ ประกอบด้วย

$$1. \text{ สมการความต่อเนื่อง} \quad \frac{\partial}{\partial x_i} (\rho u_i) = 0 \quad (5)$$

$$2. \text{ สมการนาเวียร์ - สโตคส์} \quad \frac{\partial \rho u_i}{\partial t} + \frac{\partial (\rho u_i u_j)}{\partial x_j} = -\frac{\partial p}{\partial x} + \frac{\partial p}{\partial x} \left[\mu \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right) \right] \quad (6)$$

2.4.2 แบบจำลองความปั่นป่วน (turbulence mode)

การหาผลเฉลยสมการความต่อเนื่องและสมการนาเวียร์-สโตคส์จากการเฉลี่ยของเรย์โนลด์ (RANS) ต้องอาศัยแบบจำลองความปั่นป่วนมาช่วยในการคำนวณ โดยใช้หาค่าความเค้นของเรย์โนลด์ ซึ่งจะช่วยให้ไม่ต้องหาค่าของความกระเพื่อม แต่จะสนใจเฉพาะส่วนของค่าเฉลี่ยเท่านั้น สำหรับการเลือกใช้แบบจำลองความปั่นป่วน จะต้องเลือกให้เหมาะสมกับพฤติกรรมการไหลที่เกิดขึ้น จึงจะสามารถคำนวณได้อย่างแม่นยำใช้ระยะเวลาและหน่วยความจำน้อยที่สุด ตัวอย่าง แบบจำลองความปั่นป่วนที่ใช้กันมีหลายแบบ เช่น แบบจำลองความปั่นป่วน k-ε แบบจำลองความปั่นป่วน RAG k-ε แบบจำลองความปั่นป่วน k-ω แบบจำลองความปั่นป่วน The Shear-Stress Transport (SST) k-ω แบบจำลองความปั่นป่วน Reynolds Stress Model (RAM) เป็นต้น และในหัวข้อนี้จะกล่าวถึงแบบจำลองที่นำมาใช้สำหรับงานวิจัยนี้คือ แบบจำลองความปั่นป่วน The Shear-Stress Transport (SST) k-ω

แบบจำลองความปั่นป่วนชนิด Standard k-ω SST[37]

แบบจำลอง k-ω SST ของ Menter [38] สมการพลังงานจลน์ของความปั่นป่วน (k)

$$\text{สามารถเขียนได้ดังนี้} \quad \frac{\partial}{\partial x_i} (\rho k u_i) = \frac{\partial}{\partial x_i} \left[(\mu + \sigma_k \mu_t) \frac{\partial k}{\partial x_i} \right] - \rho \overline{u_i' u_j'} \frac{\partial u_j}{\partial x_i} - \rho \beta^* k \omega \quad (7)$$

สมการอัตราการลดลงของพลังงานจลน์ของค่าความปั่นป่วนจำเพาะ (ω)

สามารถเขียนได้ดังนี้

$$\frac{\partial}{\partial x_i} (\rho \omega u_i) = \frac{\partial}{\partial x_i} \left[(\mu + \sigma_\omega \mu_t) \frac{\partial \omega}{\partial x_j} \right] - \frac{\alpha}{v_t} \rho u_i u_j \frac{\partial u_i}{\partial x_j} - \rho \beta^* \omega^2 + 2(1-F_1) \rho \sigma_{\omega,2} \frac{1}{\omega} \frac{\partial k}{\partial x_j} \frac{\partial \omega}{\partial x_j} \quad (8)$$

โดยที่ค่า Eddy viscosity แสดงได้ดังนี้
$$\mu_t = \rho \frac{k}{\omega} \frac{1}{\max \left[\frac{1}{\alpha^* a_1 \omega} \right]} \quad (9)$$

โดยที่
$$\Omega = \sqrt{\Omega_{ij} \Omega_{ij}}$$

$$\Omega_{ij} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_j} - \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right)$$

$$F_2 = \tanh(\Phi_2^2)$$

$$\sigma_2 = \max \left[2 \frac{\sqrt{k}}{0.09 \omega y}, \frac{500 \mu}{\rho \omega y^2} \right]$$

โดยที่พจน์ความเค้นเรย์โนลด์ ซึ่งสามารถเขียนเป็นสมการตามสมมุติฐานของ Boussinesq ซึ่งค่าคงที่ในสมการได้แก่ $\beta^*, \sigma_2, \sigma_\omega$ หาได้จากสมการ μ_t โดยที่ค่า θ เป็นค่าคงที่ใด ๆ ที่ใช้ในสมการ θ_1 เป็นค่าคงที่ที่มาจากแบบจำลองชนิด k- ω , θ_2 เป็นค่าคงที่ที่มาจากแบบจำลองชนิด k- ϵ ซึ่งค่า

$$(\theta) = F_1 (\theta_1) + (1-F_1) (\theta_2) \quad (10)$$

โดยที่
$$F_1 = \tanh(\Phi_1^4)$$

$$\Phi_1 = \min \left[\max \left(\frac{k}{0.09 \omega y}, \frac{500 \mu}{\rho y^2 \omega} \right) \left(\frac{4pk}{\sigma_{\omega,2} D_\omega^+ y^2} \right) \right]$$

$$D_\omega^+ = \max \left[2 \rho \frac{1}{\sigma_{\omega,2} \omega} \frac{\partial k}{\partial x_j} \frac{\partial \omega}{\partial x_j}, 10^{-20} \right]$$

สำหรับค่าคงที่อื่น ๆ ในสมการมีดังนี้

$$\beta_1 = 0.075, \beta_2 = 0.0826, a_1 = 0.31, \alpha^* = 1$$

การใช้พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณเป็นกระบวนการเชิงตัวเลขและขั้นตอนวิธี (algorithm) ในการแก้ปัญหาเกี่ยวกับการไหล เพื่อวิเคราะห์ปรากฏการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการไหลต่าง ๆ การถ่ายเทความร้อน การแพร่กระจายของอนุภาค รวมถึงการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ด้วยคอมพิวเตอร์เพื่อทำการคำนวณนับหลายครั้งก่อนที่จะสร้างแบบจำลองของปรากฏการณ์ต่าง ๆ ของปฏิกิริยาการไหลต่อขอบพื้นผิว [39] ซึ่งกำหนดโดยสภาวะของขอบเขต แต่ทว่าผลลัพธ์ที่ได้นั้นก็ยังเป็นเพียงการประมาณการณ์ที่ได้จากในหลาย ๆ กรณีเท่านั้น ถึงแม้ว่าจะใช้ซูเปอร์คอมพิวเตอร์ความเร็วสูงในการคำนวณก็

ตาม อย่างไรก็ตาม การพัฒนาของโปรแกรมนี้ในปัจจุบัน ความแม่นยำและความเร็วในการคำนวณ สถานะการณ์ที่ซับซ้อนนั้นได้รับการปรับปรุงให้ดีขึ้นเรื่อย ๆ

โดยปัจจุบันนี้กระบวนการวิเคราะห์ทางพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (CFD) ได้มีการนำมาประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลายเพื่อแก้ปัญหาภาคอุตสาหกรรมและงานวิจัยต่าง ๆ อาทิ การไหลของอากาศผ่านรถยนต์และอากาศยานเพื่อหาแรงยกและแรงต้าน การไหลของกระแสน้ำผ่านลำเรือ การไหลของของไหลผ่านปั๊มและเครื่องอัดไอ กระบวนการทางด้านเคมี การไหลและการถ่ายเทความร้อนต่าง ๆ การกระจายของมลภาวะในอากาศและน้ำ และรวมไปถึงการไหลของน้ำและความร้อนเพื่อหาแรงดันและอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไปในระบบ เป็นต้น ปัจจุบัน CFD ได้มีการพัฒนาไปถึงขั้นใช้ทำนายการไหลแบบเทอร์บิวเลนต์และทรานสิชัน เพื่อให้ได้ความสมจริงของการจำลองการไหลที่นำไปสู่การออกแบบที่มีประสิทธิภาพขึ้น [40]

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ivan Martin และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาถึงปฏิกรณ์ชีวภาพในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ โดยพัฒนาสภาวะและระบบควบคุมสภาวะที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 3D (เช่น pH, อุณหภูมิ, ความดัน, การใช้สารอาหาร และการกำจัดของเสีย) ให้มีจำนวนของเซลล์ที่สูงตลอดจนอัตราการเปลี่ยนแปลงเซลล์ไปเป็นเซลล์กระดูกบนเมทริกซ์ที่สูงขึ้นด้วยถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบต่าง ๆ เช่น Spinner flask, Rotating-wall, Hollow-fiber, Direct perfusion และ Dynamic compression พบว่ามีพื้นที่การสะสม GAG มากขึ้นในส่วนเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนเมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงแบบ 2D (Static) แสดงให้เห็นถึงการไหลแบบไดนามิกที่พัฒนาขึ้น ในการเพาะเลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อแบบ 3D ที่สามารถตรวจวัดและควบคุมให้มีความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์นั้น ๆ จนถึงระดับอุตสาหกรรมในทางคลินิกขนาดใหญ่ได้ [31]

Chi Yip Joan Ma และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาและพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของ haematopoietic ภายใต้สภาวะต่าง ๆ ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ low-shear perfused ที่มีโครงเลี้ยงเซลล์บรรจุอยู่ในรูปแบบของความเค้นเฉือนและการกระจายของสารอาหารต่อการเติบโตของเซลล์กระดูกที่มีความหนาแน่นเซลล์เริ่มอยู่ในช่วง $0.1-1 \times 10^6 \text{ cell/cm}^3$ สภาวะมาตรฐาน (37°C และ $20\% \text{ O}_2$) ในความเข้มข้นกลูโคส 5.5 mM พบว่าการไหลเป็นแบบราบเรียบ (laminar) ด้วยความเร็วเฉลี่ยในโครงเลี้ยงเซลล์เป็น 0.1 mm/s ซึ่งสอดคล้องกับในร่างกาย ภายใต้ค่าการซึมผ่าน $80-95\% \text{ } \varnothing$ ของรูพรุน $250 \text{ } \mu\text{m}$ และที่ $90\% \text{ } \varnothing=250-450 \text{ } \mu\text{m}$ สอดคล้องกับความเค้นเฉือนที่เกิดขึ้นระหว่าง $6.6 \times 10^{-8}-0.086 \text{ dynes/cm}^2$ บนผนังของถึงปฏิกรณ์ชีวภาพ รวมไปถึงปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสม ($4-21\%$) ผลลัพธ์ที่ได้นี้ช่วยยืนยันว่าความสำคัญของ

การไหลและความเข้มข้นออกซิเจน ส่งผลให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโตและพัฒนาของเซลล์ [41]

Anne Reichardt และคณะ (2013) ได้ทำการศึกษาและเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงแบบไดนามิกกับแบบสองมิติแบบคลาสสิก (classic static cultivation) ในการเพิ่มจำนวนเซลล์ การเจริญเติบโตเซลล์บนโครงสร้างเมทริกซ์ และการแสดงออกของโปรตีน marker ด้วยถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหมุน (ที่ 2 rpm และค่อย ๆ เพิ่มอัตราการไหลเข้า (mL/min)) พร้อมตรวจวัด pH อุณหภูมิ และ ออกซิเจนละลาย (pO₂) ด้วยเซ็นเซอร์ เทียบกับการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบสองมิติ ภายใต้สภาวะที่ pH 7.3 37 °C และ 3% O₂ เป็นเวลา 9 วัน พบว่าปริมาณการใช้กลูโคสและการผลิตแลคเตทเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ทั้งสองแบบเช่นเดียวกับลักษณะของเซลล์ที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ซึ่งระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพมีการวัด pH และ อุณหภูมิ เห็นว่าไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลง แต่ปริมาณออกซิเจนละลาย (pO₂) มีปริมาณลดลงและคงที่หลังจากวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ก่อนนำเซลล์ไปพัฒนาให้เป็นเซลล์กระดูกบนโครงสร้างเมทริกซ์ด้วยการย้อมสีอิมมูโนอิมโฟลูออเรสเซนซ์ (Immunofluorescence) พบว่าปริมาณของเซลล์กระดูกบนพื้นที่ของโครงเลี้ยงในระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพมีมากกว่าระบบสองมิติ เนื่องจากเซลล์ที่ได้จากถึงปฏิกรณ์มีค่ามากกว่าระบบแบบสองมิติ ซึ่งการแสดงออกของเซลล์ไม่พบความแตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าถึงปฏิกรณ์ชีวภาพระบบหมุนเป็นระบบที่ช่วยในการขยายจำนวนเซลล์ภายใต้สภาวะที่กำหนดสำหรับเซลล์ต้นกำเนิดนั้น ๆ ได้ [42]

Birgit Weyand และคณะ (2015) ได้ศึกษาแบบจำลองพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (CFD) 3D กับระบบเซ็นเซอร์ออกซิเจนในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพ ด้วยการประเมินจากการไหลและความดันในระบบระหว่างการทดลอง โดยมีอัตราการไหลเข้าที่ 8.77×10^{-4} m/s (1 mL/min) ผ่านโครงเลี้ยงเซลล์คอลลาเจน-อีลาสติน (Collagen-Elastin) ซึ่งมีค่าซึมผ่านที่ 5×10^{-13} ถึง 5×10^{-9} m² ของเส้นใยด้านใน ด้วยถึงปฏิกรณ์ชีวภาพที่สร้างขึ้นมีบายพาสเพื่อลดความเค้นเฉือนที่เกิดจากการไหลผ่านแบบจำลอง แสดงให้เห็นว่าการกระจายของความดันในระบบที่มีการซึมผ่านของโครงเลี้ยงต่าง ๆ ส่งผลให้เกิดผลต่างของความดัน โดยความดันที่เพิ่มขึ้นเมื่อโครงเลี้ยงเซลล์มีค่าการซึมผ่านลดลง คิดเป็น 6.5 Pa, 63 Pa และเพิ่มสูงขึ้นถึง 360 Pa ในการซึมผ่านที่ 5×10^{-11} , 5×10^{-12} และ 5×10^{-13} m² ส่วนมีความเร็วในการไหลอยู่ที่ช่วง 10^{-10} - 10^{-14} m/s และการกระจายตัวของมวลอยู่ในช่วง 0.05-0.15 kg/m²s ก่อนนำมาเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิด mesenchymal ที่ 37°C และ 5% CO₂ พบว่าความหนาแน่นเซลล์บนโครงเลี้ยงเพิ่มมากขึ้นหลังจากวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง แสดงให้เห็นถึงความสำคัญในระบบควบคุมความดันในการเปลี่ยนแปลงของการเจริญและการพัฒนาของเซลล์

ภายในโครงเลี้ยง ตลอดจนปริมาณออกซิเจนที่วัดได้มีปริมาณสูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบสองมิติด้วยเช่นเดียวกัน [4]

Waldemar Hoffmann และคณะ (2015) ได้ทำการศึกษาแบบจำลองระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfused compression (PCB) เพื่อศึกษาผลกระทบของการกระตุ้นเชิงกลระหว่างการรักษารอยแตกหรือการแตกหักที่มีความแตกต่างกันได้ โดยใช้ความเครียดเฉือน/การไหล ผ่านโครงเลี้ยงเซลล์คอลลาเจน (ทรงกระบอก $h=3 \text{ mm} \times \varnothing=8 \text{ mm}$) และนิเกิล-ไทเทเนียม (NiTi) (ทรงกระบอก $h=4 \text{ mm} \times \varnothing=8 \text{ mm}$ 4 mm และเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 mm) ในช่วงแรงบีบอัด 100–200 MPa มาเพาะเลี้ยงเซลล์ของมนุษย์ mesenchymal stromal ด้วยสารอาหารและสภาวะมาตรฐานแบบมีกับไม่มีการไหลแรงบีบอัดทางกลเข้าไป พบว่าการเพาะเลี้ยงแบบที่มีการไหลมีการสะสม glycosaminoglycan (GAG) ต่อ DNA ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการสร้างเซลล์กระดูกเพิ่มขึ้น ดังนั้นการศึกษาแบบจำลองนี้ ที่ทำการประยุกต์ใช้การบีบอัด compression ทางกลและแบบไดนามิก ช่วยเพิ่มการเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำตาลในเลือดได้คล้ายคลึงกับในร่างกายมนุษย์ ส่งผลให้การรักษารอยแตกหักของกระดูกเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน [32]

Y. Guyot และคณะ (2015) ได้ทำการศึกษาแบบจำลองพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (CFD) แบบสามมิติในการกระจายแรงเครียดเฉือนที่เกิดขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโตของ Neotissue บนโครงเลี้ยงเซลล์มาโครไทเทเนียม (ทรงกระบอก $h=6 \text{ mm} \times \varnothing=6 \text{ mm}$) ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ที่รูพรุนรูปร่างเพชรและสี่เหลี่ยม (ขนาด $\varnothing=200 \mu\text{m}$) ก่อนนำมาเพาะเลี้ยง Human Periosteal-Derived Cells (hPDCs) ภายใต้สภาวะมาตรฐาน (37°C , 5% CO_2 และ RH 95%) เป็นเวลา 21 วัน ที่อัตราการไหล 1 mL/min พบว่าการเติบโตของเซลล์แบบ 3D ที่จำลองขึ้น มีการก่อตัวและส่งผลให้ค่าความเครียดเฉือนที่เกิดในโครงเลี้ยงรูปร่างสี่เหลี่ยมเพิ่มขึ้นจาก 3.4 เป็น 5 mPa แต่ส่วนรูปร่างเพชรมีค่าจาก 4 ถึง 8 mPa ของการเติมเต็มช่องที่ 10% แต่เมื่อเติมเต็มไปจนถึง 60% ขึ้นไป ค่าเพิ่มขึ้นจาก 5 เป็น 280 mPa และจาก 8 ถึง 180 mPa ของรูปร่างตามลำดับ แสดงให้เห็นอิทธิพลของสิ่งเร้าทางกลต่อพฤติกรรมของเซลล์ในผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของ neotissue และการสัมผัสของความเครียดเฉือนหลักเลี้ยง ค่าใช้จ่าย และยักรวมไปถึงการใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงอีกด้วย [7]

T. Lambrechts และคณะ (2016) ได้ศึกษาการพัฒนาถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเพลทหลายชั้นที่มีการวัดและควบคุมสภาวะการเพาะเลี้ยง ด้วยค่าออกซิเจนละลาย (40%) pH (7.25-7.56) และอุณหภูมิ (37°C) เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการพัฒนาโครงสร้างเนื้อเยื่อกระดูกแบบสามมิติของ

เซลล์ hPDCs เป็นเวลา 7 วัน พบว่าการเจริญเติบโตและศักยภาพในการพัฒนาไปเป็นเซลล์แบบ adipogenic, osteogenic และ chondrogenic ได้ ในค่าตัวชี้วัดเซลล์ผลิตรกระดูกใกล้เคียงกันกับการเพาะเลี้ยงแบบ 2D แต่มีการผลิตพลังงานสูงกว่าเมื่อสัดส่วนของการผลิตแลคเตทต่อการบริโภคน้ำตาลก่อนนำเซลล์ที่ได้มาปลูกถ่ายกระดูกในร่างกายนกหนู แสดงให้เห็นว่ามีการผลิตรกระดูกในปริมาณที่ใกล้เคียง โดยคิดเป็น $11.6 \pm 3.1\%$ ของเซลล์ถึงปฏิกิริยชีวภาพและ $12.8 \pm 3.3\%$ ของเซลล์จากฟอสฟอรัส ดังนั้นการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าศักยภาพของถังปฏิกรณ์ชีวภาพมีความสามารถในการผลิตร hPDCs ได้ในปริมาณที่มาก และยังคงคุณภาพเซลล์ที่เทียบเท่าเมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงแบบ 2D ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาขยายขนาดเพื่อตอบสนองความต้องการทางการแพทย์และรักษาด้วยเซลล์ต้นกำเนิดต่อไป [43]

Birru Bhaskar และคณะ (2017) ได้ศึกษาการออกแบบและพัฒนาระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ที่ควบคุมได้ เพื่อการกระตุ้นเชิงกลผ่านความเค้นเฉือนที่เกิดจากการไหลของของเหลว (FFSS) ต่อการใช้งานกับโครงเลี้ยงเซลล์ขนาดใหญ่ทำมาจากโพลียูรีเทน (PU) ด้วยอัตราการไหล 3.47 mL/min ซึ่งส่งผลเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนมนุษย์ (Cells hES-MP) มีการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงเซลล์ไปเป็นเซลล์กระดูก ได้สูงกว่าเมื่อเทียบกับการเลี้ยงแบบสองมิติ หลังจากเลี้ยงมา 10 วัน ทั้งความมีชีวิตและจำนวนเซลล์ ที่วิเคราะห์จากกิจกรรมอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (ALP) การทดสอบ resazurin reduction และ PicoGreen dsDNA assay จึงแสดงให้เห็นถึงผลกระทบของ FFSS ของการไหลที่มีผลต่อการกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาของเซลล์ขึ้น ยังมีราคาไม่แพง คุมค่า ใช้งานง่ายและยังมีประโยชน์สำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก ซึ่งมีศักยภาพที่จะนำไปใช้กับเซลล์อื่นและการรวมกับโครงเลี้ยงเซลล์ต่อไป [6]

Dominik Egger และคณะ (2017) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติและพัฒนาระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบขนานแบบ Perfusion ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ 3 มิติ ที่มีการพัฒนาระบบตรวจวัดต่าง ๆ (O_2 , CO_2 , และอุณหภูมิ) รวมไปถึงความดันที่เกิดขึ้นโดยประเมินจากแบบจำลองพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (CFD) ก่อนนำผลลัพธ์ที่ได้มาเพาะเลี้ยงเซลล์ mesenchymal (ASCs) เป็นเวลา 21 วัน ซึ่งได้การออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพออกมา 2 แบบ คือแบบแรกได้สร้างขึ้นมาอย่างง่าย ๆ และแบบที่สอง เป็นระบบฟลูออเรลลาสโตเมอร์ที่มี medium distribution units (MDU) ทำจาก polyoxymethylene (POM) เป็นที่รองรับการกระจาย (O 10 mm มีรูเล็ก ๆ ขนาด O 650 μm เป็นตารางสี่เหลี่ยม) พบว่าแบบจำลองที่สร้างขึ้นเป็นน้ำ $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ที่อัตราการไหลเข้าที่ 3.6, 17.8 และ 35.6 mm/s (1.5, 7.5 และ 15 mL/min) โครงเลี้ยงเซลล์มีความพรุนที่ 66.7% และค่าการซึมผ่านที่ $1.7 \pm 0.9 \times 10^{-10} \text{ m}^2$ แสดงให้เห็นถึงโปรไฟล์การไหลที่กระจายตัวได้ดีในแบบที่สอง เนื่องจากมี MDU

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ช่วงอัตราการไหลที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 0.5-5 mL/min (0.166–1.66 mm/s) ที่ส่งผลให้ให้เกิดการสร้างกระดูกบนพื้นที่ผิว สำหรับการใช้อย่างมีประสิทธิภาพแบบ perfusion ดังตารางที่ 3 ที่ใช้ในการศึกษาซึ่งเป็นวิธีการที่เป็นไปตามเกณฑ์ของ WSS ระดับเซลล์ที่ได้จากการทดลองทางแรงเชิงกล ทางผู้วิจัยจึงคาดหวังว่าวิธีการนี้จะช่วยลดการทดลองและการศึกษาเงื่อนไขของอัตราการไหลที่เหมาะสมต่อการไหล ที่รวมถึงการทำความเข้าใจกับพารามิเตอร์ที่กำหนดการเกิดการสร้างกระดูกบนพื้นที่ผิวโครงเลี้ยงเซลล์ได้ [9]

Jakob Schmid และคณะ (2018) ได้ทำการศึกษาและพัฒนาระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพระดับไมโครแบบ perfusion (perfusion microbioreactor system) มาเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 3D ด้วยการควบคุมระดับปริมาณออกซิเจนให้เหมาะสมต่อเซลล์ โดยระบบสามารถใช้งานพร้อมกัน 4 เครื่องเพื่อลดการทำซ้ำ ซึ่งได้การออกแบบและจำลองพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (CFD) ด้วยคอมพิวเตอร์ร่วมกับตรวจวัดค่าออกซิเจน (OC) ในส่วนศูนย์กลางของโครงเลี้ยงเซลล์ 3 มิติ แนวตั้งตัดด้วยอัตราการไหล (FRs) ระหว่าง 10 และ 250 $\mu\text{L}/\text{min}$ ที่ไหลผ่านโครงเลี้ยงเซลล์ขนาด $10 \times 10 \times 10 \text{ mm}$ ค่าความพรุนอยู่ที่ 68% และค่าการซึมผ่าน (K) เป็น 10^{-9} m^2 พบว่าการกระจายของการไหลที่อัตราการ 250 $\mu\text{L}/\text{min}$ ผ่านโครงเลี้ยงเซลล์มีอัตราการไหลเพิ่มขึ้นประมาณ $4 \times 10^{-4} \text{ m/s}$ และ 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ ประมาณ $1.6 \times 10^{-6} \text{ m/s}$ ก่อนนำมาเพาะเลี้ยงเซลล์ SCP-1 บนโครงเลี้ยงเซลล์ โดยการควบคุมและปรับให้ความเข้มข้นของออกซิเจนอยู่ในระดับที่ 5%, 10% และ 15% จากที่ 21% ซึ่งอีกเครื่องหนึ่งไม่มีการควบคุมใด ๆ พบว่าการที่จะควบคุมระดับออกซิเจนให้มีปริมาณที่มากต้องใช้อัตราการไหลที่สูงขึ้น ($\pm 0.5\%$) แต่ระบบที่ไม่มีการควบคุมระดับออกซิเจนมีปริมาตรลดลงจนเป็นศูนย์ และปริมาณของเซลล์กระดูกที่เพาะยังมีมากและมีความเป็นระเบียบที่สูงกว่าการแบบสองมิติ [44] ดังนั้น การใช้ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพจึงเป็นโอกาสใหม่ในการจำลองและทำการทดลองที่ทำซ้ำได้หลายครั้งขึ้น เพื่อศึกษาหาผลกระทบของสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ต่อการเพิ่มจำนวนและการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดไปสู่การสร้างเซลล์กระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์แบบต่าง ๆ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมตามที่ได้ศึกษาในงานวิจัยที่ผ่านมา ก่อนนำไปใช้งานทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อในอนาคตต่อไป

2.6 สมมุติฐานที่ได้จากงานวิจัยที่ผ่านมา

1. ผลการวิเคราะห์ของวัสดุที่ใช้เป็นโครงเลี้ยงเซลล์ (scaffold) ในงานวิจัยที่ผ่านมา

โครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดของกระดูก ต้องมีคุณสมบัติที่ใกล้เคียงกับในร่างกาย และยังเป็นวัสดุที่สร้างและขึ้นโครงสร้างได้ตามที่ต้องการ รวมถึงคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและเชิงกลที่ช่วยเพิ่มการยึดเกาะของเซลล์ โดยวัสดุนั้นจะต้องย่อยสลายได้ทางกายภาพ และโครงสร้างต้องมีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิดบนโครงสร้างชีววัสดุนั้น ซึ่งส่วนใหญ่เป็นวัสดุที่ได้จากสังเคราะห์ขึ้น เช่น ไบโอบีโอสแตติกส์ พอลิเอสเตอร์ พอลิยูรีเทน ไบโอบอลิเมอร์และโลหะบางชนิด กับวัสดุที่ได้จากธรรมชาติ ได้แก่ ปะการัง คอลลาเจน หรือเป็นกระดูกของมนุษย์หรือกระดูกโหนกวัว [45] อย่างไรก็ตาม ซึ่งการนำวัสดุทางชีวภาพมาใช้ในการสร้างโครงเลี้ยงเซลล์นั้น มีความยุ่งยากต่อการขึ้นรูป ราคาแพง วัสดุยังมีความขุ่นและเสียเมื่อถูกกับความชื้นมาก ๆ ทำให้ยากต่อการศึกษาผลกระทบของการไหลของของไหลในโครงเลี้ยงเซลล์ที่สร้างขึ้น

ดังนั้น ในงานวิจัยฉบับนี้จึงได้เสนอแนวทางการศึกษาวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับต้นแบบ ก่อนนำไปการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์จากวัสดุทางชีวภาพ ด้วยเทคนิคการพิมพ์สามมิติจากพอลิคาร์บอเนต (PC) ที่ง่ายต่อการขึ้นรูปร่างต่าง ๆ ราคาถูกและโปร่งแสง เพื่อที่จะสามารถเห็นถึงการไหลภายในโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ จากนั้นเมื่อนำผลลัพธ์จากการจำลองและการทดลองที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดไปสู่เซลล์กระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์ต้นแบบ จึงนำไปขึ้นรูปด้วยวัสดุทางชีวภาพเพื่อให้เหมาะสมต่อการใช้งานในร่างกายต่อไป

2. ผลการวิเคราะห์ของความเค้นเฉือนที่เหมาะสมต่อการสร้างกระดูก ในงานวิจัยที่ผ่านมา

ความเค้นเฉือนที่เกิดขึ้นจากการไหลผ่านโครงเลี้ยงเซลล์ เป็นปัจจัยสำคัญทางชีวกลศาสตร์ของกระดูกที่เกิดจากการเคลื่อนไหว (ทางกายภาพ) และการไหลของเลือดในกระดูก (0.8–3 Pa) ในการบีบอัดและความตึงเครียดระหว่างการไหล เพื่อตอบสนองการทำงานของกระดูกต่อระบบการรับน้ำหนักสิ่งต่าง ๆ ของร่างกายมนุษย์ [18] ซึ่งในงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 3D ที่นิยมใช้เป็นถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ที่มีความสัมพันธ์ในการให้ความเค้นเฉือนเชิงกลที่เหมาะสมระหว่าง 0.1 ถึง 10 mPa ในขณะที่ความเร็วและอัตราการไหลเข้าถังปฏิกรณ์ชีวภาพอยู่ระหว่าง 0.166-1.66 mm/s และ 0.5-5 ml/min ตามลำดับ ก่อนไหลผ่านโครงเลี้ยงเซลล์ในทิศทางเดียว (แนวระนาบและแนวตั้ง) [6, 11, 43] ซึ่งมีผลกระทบต่อสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลล์กระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์ อย่างไรก็ตาม การไหลที่มีผลต่อ

ความเค้นเคื่อนที่เป็นปัจจัยสำคัญในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดไปสู่ เซลล์กระดูก จึงน่าสนใจที่จะศึกษาผลกระทบของทิศทางการไหลในระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ที่สามารถให้การไหลได้หลายทิศทางบนโครงเลี้ยงเซลล์ เนื่องจากการสร้างกระดูกสามารถ เกิดการเปลี่ยนแปลงได้จากความเค้นเคื่อนจากการไหลในหลายทิศทาง [46]

ดังนั้นในงานวิจัยฉบับนี้จึงได้เสนอแนวทางการศึกษาผลกระทบของทิศทางการไหลในถึง ปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ที่สามารถให้การไหลของของไหลในหลายทิศทางได้ ซึ่งมีผลกระทบต่อสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ในโครงเลี้ยงเซลล์ต่อทิศทางการไหลที่กำหนด ซึ่งอาจนำไปสู่คุณสมบัติที่ ดีขึ้นของการสร้างเซลล์กระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์ต้นแบบต่อไป



บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์ - โน้ตบุ๊กหรือคอมพิวเตอร์

รายละเอียดโน้ตบุ๊ก Acer F5-573G-566F/T005 (15.6) Silver-A0094057

CPU : Intel Core i5-7200U 2.5 GHz Graphics : GeForce GTX 950M 4GB
 RAM : 8GB DDR4 Display : 15.6 inch HD
 HDD : 1TB OS : Linux

คุณสมบัติ Acer F5-573G-566F/T005 (15.6) Silver

ยี่ห้อ	ACER
รุ่น	Aspire F5-573G-566F/T005
โปรเซสเซอร์	Intel Core i5-7200U (2.5 GHz, 3 MB L3 Cache, up to 3.1 GHz)
กราฟิก	NVIDIA GeForce GTX 950M (4GB GDDR5)
หน้าจอแสดงผล	15.6 inch (1366x768) HD Acer CineCrystal LED-backlit LCD
หน่วยความจำหลัก	8GB (8GB x1) DDR4-2133 MHz
	2 x Slots
	Max 32 GB
การจัดเก็บ	1TB 5400 RPM
ออปติคัลดิสก์ไดรฟ์	DVD-Super Multi double-layer drive
เว็บแคม	Acer HD webcam with HDR
เครือข่าย	LAN 10/100/1000 Mbps
ไร้สาย	Bluetooth 4.0
	WiFi 802.11ac
พอร์ต	1 x VGA
	1 x HDMI
	1 x USB2
	2 x USB3
	1 x USB3.1 Port (Type-C)
	1 x CardReader
	1 x COMBO audio jack
	1 x RJ45 LAN Jack for LAN insert
แบตเตอรี่	6 Cells
OS	Linux

3.2 การจำลองการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion

การจำลองกระบวนการวิเคราะห์ CFD ในโปรแกรม ANSYS® 2020 R2 ด้วยซอฟต์แวร์ Ansys® Workbench ได้ความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร. เชษฐา พันธุ์ศรีบุตร ภาควิชาวิศวกรรมโลหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 10 หมายเลขที่ 1 เริ่มจากการจำลองจะพิจารณาจากลักษณะการไหลภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ออกแบบในโปรแกรม ANSYS® 2020 R2 ในโหมด Geometry โดยรูปแบบระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ดังแสดงใน**ภาพที่ 11A** แบบไหลทิศทางเดียวและ**ภาพที่ 11B** หลายทิศทาง การไหลต่อลักษณะการไหลภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ หมายเลขที่ 2 จากนั้นกำหนดขนาดของตาข่าย (mesh) โครงสร้างเป็นปริซึมของเมชเซลล์ประมาณ $1-2 \times 10^6$ เซลล์และพื้นผิวของรูปทรง สำหรับแบบจำลองซึ่งแสดงถึงจำนวนจุดในการไหลที่ซอฟต์แวร์จำลองขึ้นซึ่งหมายความว่าแต่ละจุดแสดงถึงการไหล ณ ตำแหน่งหนึ่งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ หมายเลขที่ 3 หลังจากนั้นทำการกำหนดค่าและตำแหน่งของการไหลเข้าจะกำหนดค่าความเร็วในการไหลเข้าที่แตกต่างกันและในส่วนขาออกกำหนดความดันเป็น 0 Pa และมีการไหลอย่างคงที่ ที่ความหนาแน่นของน้ำที่สมมุติเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นของไหลของนิวตันที่ไม่ได้มีการบีบอัดใด ๆ ด้วยความหนืดของน้ำที่ 37°C และคุณสมบัติของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้สำหรับการจำลองสามารถกำหนดได้ตามเปอร์เซ็นต์ที่ต้องการได้ เพื่อให้เกิดความต่อเนื่อง x-ความเร็ว y-ความเร็ว และ z-ความเร็ว จำนวนการทำซ้ำจะตั้งไว้ที่ 100 และ หมายเลขที่ 4 เป็นเรียกใช้ซอฟต์แวร์เพื่อจำลองและรับผลลัพธ์ ที่แสดง**ภาคผนวก ก** เพื่อประเมินผลกระทบของความดันและความเร็ว ณ ตำแหน่งภายในโครงเลี้ยงเซลล์ ซึ่งการดำเนินการแต่ละครั้งใช้เวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง จากนั้นนำผลลัพธ์ของความเร็วที่ได้ ณ ตำแหน่งที่สนใจมาคำนวณหาความเค้นเฉือนที่เกิดขึ้นการไหลผ่านโครงเลี้ยงเซลล์

เนื่องจากการเคลื่อนที่ของของเหลวหรือของไหลมีสัมผัสกับพื้นผิวด้วย Newtonian fluids ที่ไม่มีบีบอัดของ Batchelor ปี 2000 [20] ซึ่งความเค้นเฉือนเป็นส่วนเชิงเส้นกับระดับความเร็วที่ตั้งฉากกับระนาบของความเค้นเฉือน โดยค่าคงที่ของสัดส่วนจะเท่ากับความหนืดของของเหลวนั้น ดังสมการต่อไปนี้

$$\tau = \mu \left(\frac{dv}{dy} \right) = \mu \cdot u_{\max} \left[-2 \left(\frac{2y}{h} \right) \left(\frac{2}{L} \right) \right] = \mu \frac{-8u_{\max}y}{h^2} \quad (11)$$

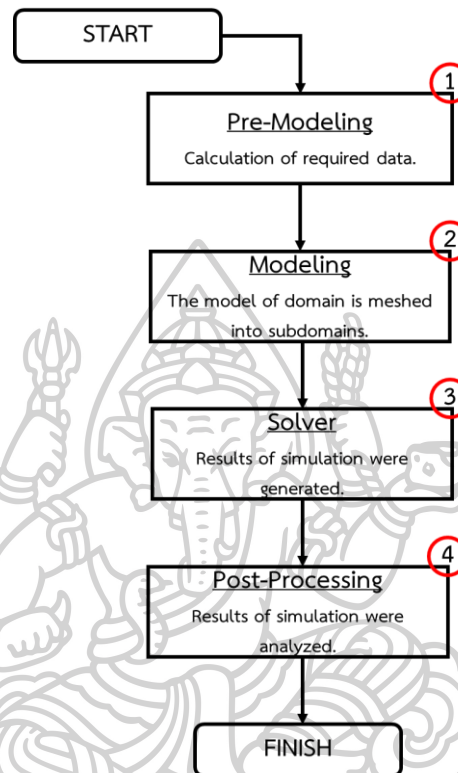
โดยที่ τ = ความเค้นเฉือนของไหล (Pa)

μ = ความหนืดของของเหลว (kg/(m·s)) มีค่าเท่ากับ 1.3×10^{-3} kg/m·s

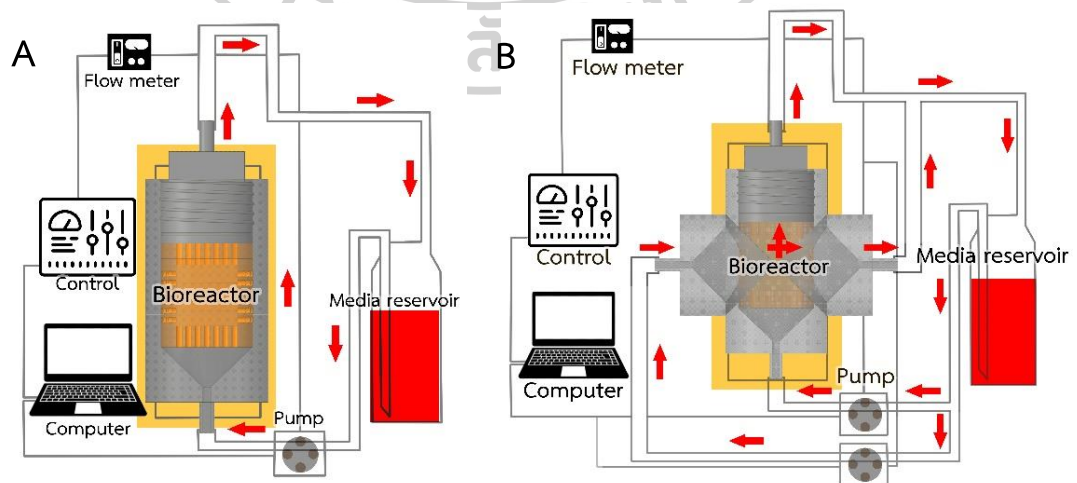
u_{max} = ความเร็วสูงสุด ณ ระยะ y (m/s)

h = ระยะเส้นผ่านศูนย์กลางของการไหล (m)

y = ระยะจากจุดศูนย์กลางจนถึงผนังการไหล (เป็นระยะที่สนใจ) (m)



ภาพที่ 10 แผนภาพการใช้โปรแกรม ANSYS® ในการจำลองระบบและการกำหนดค่าต่าง ๆ ของ ANSYS® software จะดำเนินการเป็นไปตามลำดับ



ภาพที่ 11 แผนผังกระบวนการของระบบระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion (A) 1 ทิศทางและ (B) หลายทิศทางการไหล

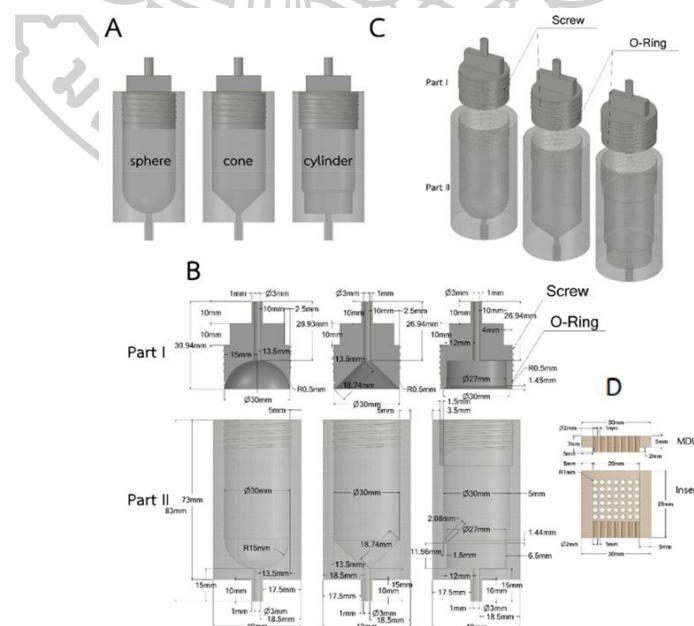
ระบบการทำงานของถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion ในภาพที่ 11A จะแสดงแผนผังกระบวนการของระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทางการไหลตามที่ได้ออกแบบไว้ ซึ่งประกอบด้วยถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (bioreactor) ขวดเก็บสารอาหาร (media reservoir) ปัม (pump) คอมพิวเตอร์ (computer) เครื่องวัดการไหล (flow meter) และการควบคุม ซึ่ง → แสดงถึงทิศทางการไหลของสารละลายอาหาร โดยการดำเนินการจะเริ่มต้นจากการไหลของสารอาหารออกจากขวดเก็บสารอาหารโดยใช้ปั๊ม จากนั้นสารอาหารจะไหลไปที่ด้านล่างของถังปฏิกรณ์แล้วไหลขึ้นไปทางด้านบนของถังปฏิกรณ์แล้วไหลกลับไปขวดเก็บสารอาหาร ซึ่งอัตราการไหลจะควบคุมโดยคอมพิวเตอร์ เพื่อศึกษาผลกระทบของสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทางการไหล ซึ่งมีข้อจำกัดในเรื่องของระบบทิศทางการไหลที่มีผลต่อความเค้นเฉือนในโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ทิศทางเดียวที่ศึกษา ดังนั้น จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจว่าระบบปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion มีการไหลหลายทิศทาง เพื่อศึกษาและพัฒนาระบบปฏิกรณ์ชีวภาพต่อผลกระทบของสภาวะการไหลในโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์แบบหลายทิศทาง เช่น ล่างขึ้นบน และขวาไปซ้าย หรือ ทำได้ทั้งสองอย่างพร้อมกัน เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์กระดูกหรือเซลล์สร้างกระดูกสามารถเกิดขึ้นได้ภายใต้ความเค้นเฉือนจากการไหลได้หลายรูปแบบและหลายทิศทางการไหลของเหลว ซึ่งนำไปสู่คุณสมบัติที่ดีขึ้นอีกแบบหนึ่งของการสร้างกระดูก

กระบวนการทำงานของระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหล จะแสดงในภาพที่ 11B เป็นระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีองค์ประกอบเหมือนกับระบบไหลทิศทางเดียว แต่การไหลของเหลวหรือสารอาหารที่ไหลเข้าไปในถังปฏิกรณ์ชีวภาพจะมีทิศทางการไหลผ่านโครงเลี้ยงเซลล์สามารถเปลี่ยนแปลงได้ โดยมีการไหลเข้า 2 ทางและออก 2 ทาง เป็นรูปทรงกรวย ซึ่งการไหลนี้อาจช่วยกระตุ้นให้เกิดความเค้นเฉือนในโครงเลี้ยงเซลล์ที่หลากหลายกว่าไหลทางเดียว โดยทิศทางการไหลของสารอาหารสามารถควบคุมให้ไหลจากล่างขึ้นบน และขวาไปซ้าย และยังสามารถทำได้ทั้งสองอย่างพร้อมกัน (simultaneously) หรือเป็นระยะไม่ต่อเนื่อง (intermittently) ซึ่งขึ้นอยู่กับการศึกษาผลกระทบของการไหลภายในโครงเลี้ยงเซลล์ต่อระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหลายทิศทางไหล

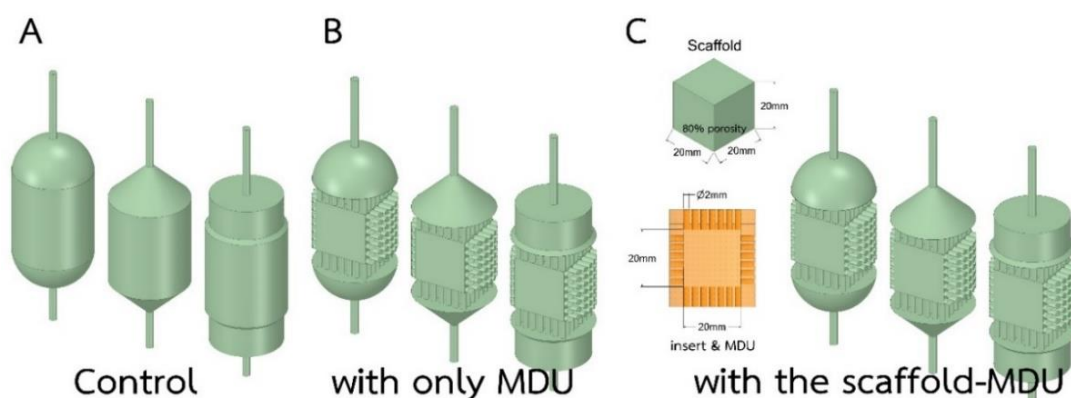
3.3 ศึกษาผลกระทบของรูปทรงการไหลภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทาง

รูปแบบการไหลในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่จำลองจะมีลักษณะการไหลในส่วนขาเข้าและออกแตกต่างกัน 3 รูปทรง คือ ทรงกลม ทรงกรวย และทรงกระบอก ดังแสดงในภาพที่ 12 โดยที่

ภาพที่ 12A แสดงถึงภาพ 2 มิติ ภาพที่ 12B แสดงถึงขนาดของถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทางการไหล ซึ่งมีส่วนประกอบของตัวถังปฏิกรณ์ชีวภาพหลัก 2 ส่วน โดยส่วนที่ 1 คือ piston ที่มี screw cap เป็นฝาปิดด้านบนของระบบพร้อมด้วย O-Ring มีไว้ป้องกันการรั่วซึม เพื่อให้ตัว MDU พร้อมกับโครงเลี้ยงเซลล์ไม่เคลื่อนที่ และในส่วนที่ 2 คือ ตัวห้องเครื่อง housing ของตัวเครื่องถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่เชื่อมต่อท่อสายขาเข้าของสารละลายและถูกปล่อยออกในส่วนท่อด้านบนซึ่งเป็น ส่วนของ piston โดยหน่วยที่ใช้เป็น mm ภาพที่ 12C เป็นภาพ 3 มิติของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 3 รูปทรง และ ภาพที่ 12D แสดงรายละเอียดของ MDU ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูบน MDU 2 mm ที่ติดตั้งไว้ ณ บริเวณกึ่งกลางถังปฏิกรณ์ชีวภาพ โดยใช้โปรแกรม ANSYS® ในการจำลองการไหล ที่กำหนดความเร็วในการไหลเข้าที่แตกต่างกัน 4 แบบ คือ 1.179, 6.602, 11.789 และ 17.212 mm/s ที่มีการกำหนดไว้ในกรไหลในรูปทรงทั้งหมดที่ศึกษา เพื่อประเมินผลกระทบของความดันและความเร็ว ณ ตำแหน่งโครงเลี้ยงเซลล์ ออกมาดังนี้ (A) Control (เป็นการไหลในเครื่องเปล่าๆ) ดังภาพที่ 13A (B) Only MDU (ติดตั้งแค่ MDU) ภาพที่ 13B และ (C) สุดท้ายมีการบรรจุโครงเลี้ยงเซลล์ทรงลูกบาศก์ (กว้าง×ยาว×สูงที่ 20×20×20 mm) ที่กำหนดความเป็นรูพรุน (porosity) ไว้ที่ 80% หรือตามที่ต้องการศึกษามาว่าเหมาะสมต่อการสร้างกระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์บรรจุใน MDU ก่อนติดตั้งในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ดังภาพที่ 13C จากนั้นนำความเร็ว ณ ตำแหน่งโครงเลี้ยงเซลล์ที่ได้มาคำนวณหาความเค้นเฉือนที่เกิดขึ้น ในสมการที่ 11



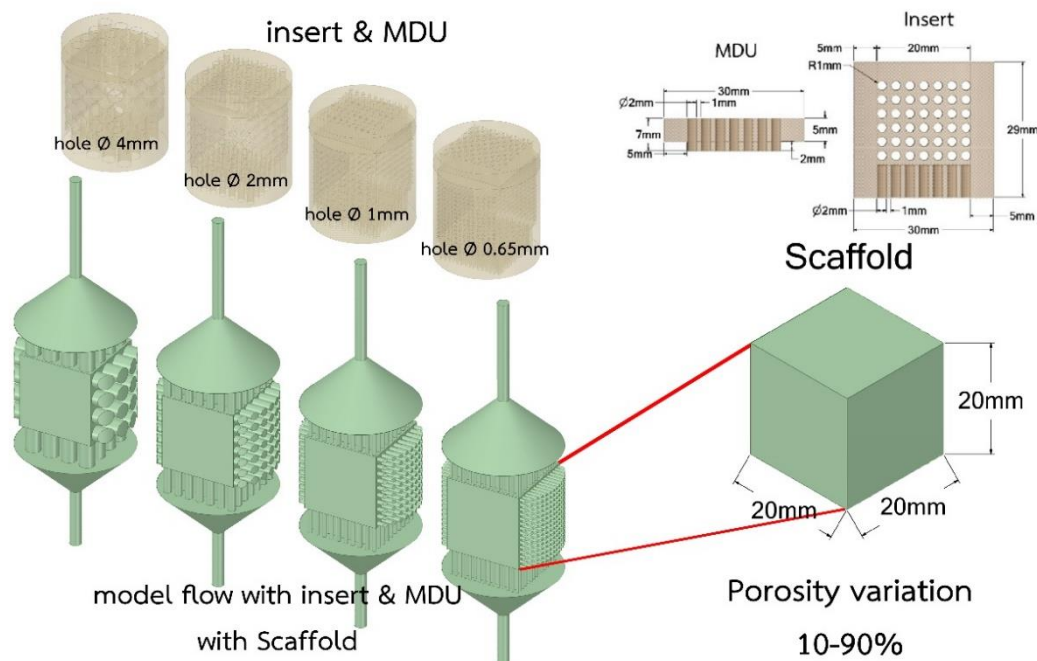
ภาพที่ 12 การออกแบบระบบถังปฏิกรณ์แบบ perfusion 1 ทิศทางการไหลเพื่อศึกษาผลกระทบของรูปทรงของระบบต่อการไหล ความดันและความเค้นเฉือน



ภาพที่ 13 การจำลองลักษณะการไหลของของไหลในระบบถังปฏิกรณ์แบบ perfusion 1 ทิศทางการไหล โดย (A) ไม่มีการบรรจุโครงเลี้ยงและไม่มีการติดตั้ง MDU, (B) ติดตั้งแค่ MDU และ (C) มีการบรรจุโครงเลี้ยงและติดตั้ง MDU ภายในรูปทรงทั้งหมด

3.4 ศึกษาผลกระทบของความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

ในการจำลองผลกระทบของความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทางการไหล จึงได้เลือกรูปทรงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่เหมาะสมที่สุดจากหัวข้อ 3.3 มาใช้ในการจำลองการไหลที่บรรจุโครงเลี้ยงเซลล์ทรงลูกบาศก์ (กว้าง×ยาว×สูง ที่ 20×20×20 mm) ที่มีความเป็นรูพรุนต่าง ๆ ตั้งแต่ 10-90% ใน MDU ที่การเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูบน MDU เป็น 0.65, 1, 2 และ 4 mm และกำหนดความเร็วในการไหลเข้าคงที่ที่ 0.747 mm/s ดังแสดงในภาพที่ 14 เพื่อประเมินผลกระทบของความดันและความเร็วต่อการไหลผ่านโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีความเป็นรูพรุนแตกต่างกันตามที่ได้ศึกษาของ Zhao และคณะ (2018) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของความเป็นรูพรุนที่ลดลงนั้น แสดงถึงเมื่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดไปสู่เซลล์กระดูกอย่างคงที่บนโครงเลี้ยงเซลล์ จากนั้นนำค่าของความดันและความเร็ว ณ ตำแหน่งโครงเลี้ยงเซลล์มาพิจารณา ก่อนนำความเร็วที่ได้ไปคำนวณหาความเค้นเฉือนที่เกิดขึ้นบนโครงเลี้ยงเซลล์ ในสมการที่ 11



ภาพที่ 14 การจำลองลักษณะการไหลของของไหลในระบบถังปฏิกรณ์แบบ perfusion 1 ทิศทางการไหลรูปทรงกรวย ซึ่งมีการติดตั้งตัว MDU ที่มีการเปลี่ยนแปลงของขนาดรูบน MDU ที่ 0.65, 1, 2 และ 4 mm และความเป็นรูพรุนในโครงเลี้ยงเซลล์ที่ต่าง ๆ ตั้งแต่ 10-90%

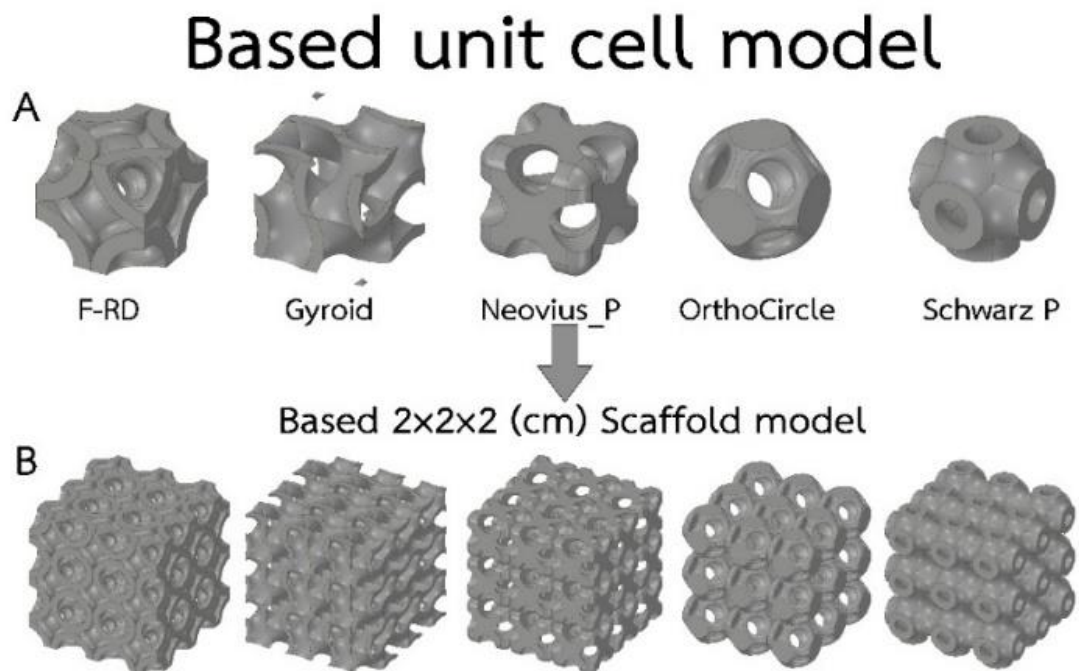
3.5 ศึกษาผลกระทบของโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทางการไหล

โครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้ในการจำลองด้วยโปรแกรม ANSYS® ซึ่งได้นำสมการโครงสร้าง triply-periodic minimal surface หรือ TPMS มาเป็นต้นแบบในการจำลองโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์ที่แสดงในตารางที่ 4 ของสมการ จากนั้นปรับแต่งโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ในโปรแกรม ANSYS® ด้วยการใช้เมาส์ (Mouse) สร้างรูปทรงของโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ เพื่อให้สามารถจำลองการไหลในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพได้ ออกมา 5 แบบดังนี้ แบบ F-RD, Gyroid, Neovius_P, OrthoCircle และ Schwarz_P ที่มีปริมาตรสุทธิของโครงเลี้ยงเซลล์ทรงลูกบาศก์ขนาด กว้าง×ยาว×สูง ที่ 20×20×20 mm ทั้งหมด ดังในภาพที่ 15 โดยที่ภาพที่ 15A เป็นโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์ 1 ส่วนย่อยและ ภาพที่ 15B เป็นการเอาหลาย ๆ ส่วนย่อยมาประกอบกันให้ได้ปริมาตรตามที่ต้องการ และนำมาบรรจุใน MDU ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูบน MDU 2 mm ก่อนติดตั้งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทางการไหล ดังแสดงในภาพที่ 16 และกำหนดความเร็วในการไหลเข้าแตกต่างกัน 4 แบบเป็น 1.179, 6.602, 11.789 และ 17.212 mm/s เพื่อประเมินผลกระทบของความเร็วและความเค้นเฉือนต่อการไหลผ่านโครงสร้างรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ที่แตกต่างกัน ก่อนนำผลกระทบของความเร็ว ณ ตำแหน่งรูพรุนในโครงเลี้ยงเซลล์มาคำนวณหาความเค้นเฉือนที่เกิดขึ้น

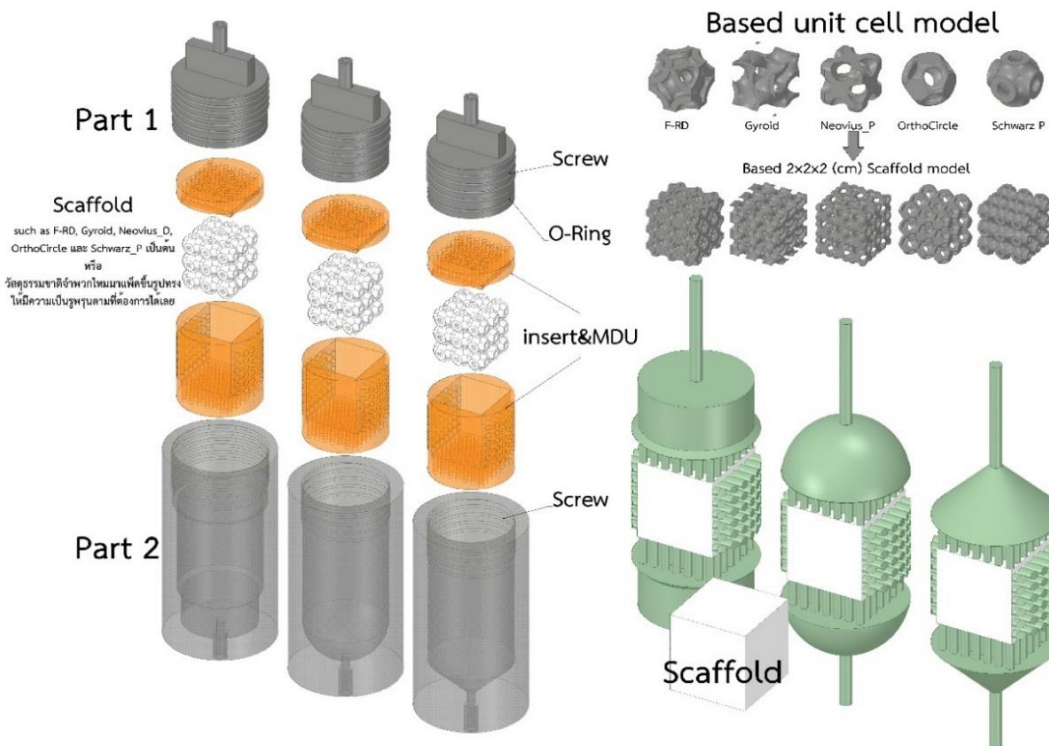
ในสมการที่ 11 ก่อนนำผลลัพธ์ที่ได้ได้มาเปรียบเทียบกับ การทดลองต่อไปในหัวข้อที่ 3.7.1 ระบบถัง ปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทางการไหล

ตารางที่ 4 สมการโครงสร้างจาก TPMS ที่ได้จำลองขึ้นในการศึกษานี้ [8]

ชื่อโครงสร้างของ TPMS	สมการโครงสร้าง TPMS (โดยที่ x, y และ z เป็นพิกัดของ โหนดและ Q เป็นค่าคงที่เท่ากับ 0)
F-RD	$8\cos(x)\cos(y)\cos(z)+\cos(2x)\cos(2y)\cos(2z)-\cos(2x)\cos(2y)+\cos(2y)\cos(2z)+\cos(2z)\cos(2x) = Q$
Schwarz P	$\cos(x) + \cos(y) + \cos(z) = Q$
Gyroid	$\cos(x)\sin(y)+\cos(y)\sin(z)+\cos(z)\sin(x) = Q$
Neovius_P	} เป็นโครงสร้างรูพรุนที่นำมาเป็นรูปต้นแบบจาก Khalil Refai และคณะ ในปี 2020 [47] ที่ใช้ในการจำลองโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์
OrthoCircle	



ภาพที่ 15 (A) โครงสร้างของ TPMS ใน 1 ส่วนย่อย ทั้ง 5 แบบ ที่นำมาในการจำลอง และ (B) โครงสร้างหลาย ๆ ส่วนย่อยมาประกอบกันเป็นโครงเลี้ยงขนาด $2 \times 2 \times 2 \text{ cm}^3$ ที่ใช้ในการจำลองและการทดลองในห้องปฏิบัติการ

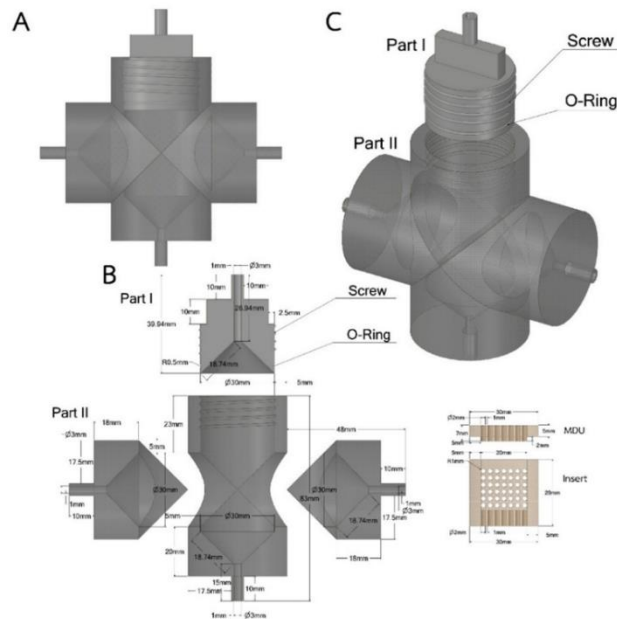


ภาพที่ 16 รูปแบบการจำลองการไหลของของไหลในระบบถังปฏิกรณ์แบบ perfusion 1 ทิศทางการไหลทั้งหมดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ (ทรงกลม กรวย และกระบอก)

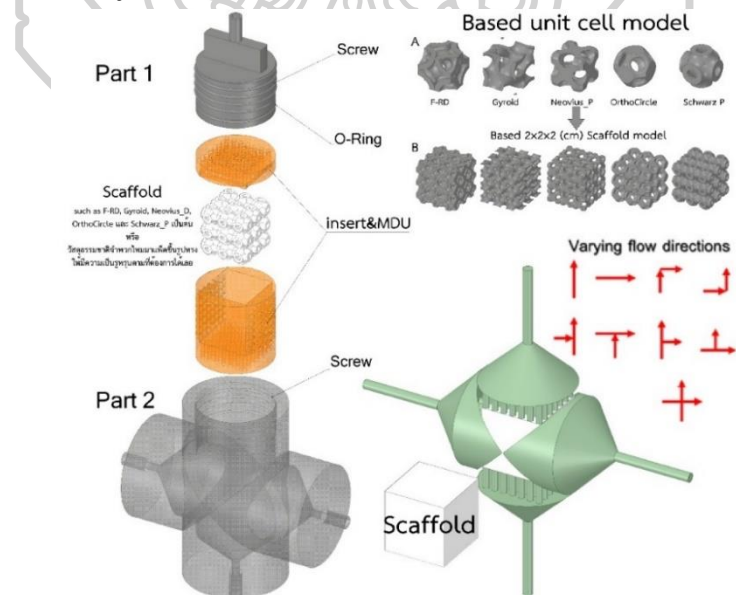
3.6 ศึกษาผลกระทบของทิศทางการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทาง

การจำลองการไหลในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหลที่จำลองไว้ โดยตัวถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่จำลองให้มีการไหลเข้า 2 ทาง ออก 2 ทาง เป็นรูปทรงกรวย ดังในภาพที่ 17A แสดงถึงภาพ 2 มิติ ภาพที่ 17B แสดงถึงลักษณะขนาดและสัดส่วนของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ซึ่งมีส่วนประกอบเหมือนกับระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 1 ทิศทางการไหล แต่ลักษณะส่วนของตัวห้องเครื่อง จะเชื่อมต่อกับท่อสายขาเข้าของสารละลายด้านข้างและด้านข้างและถูกปล่อยออกในส่วนด้านข้าง และไหลออกในส่วนท่อด้านบนในส่วนของ piston ที่มีรูปทรงเป็นรูปทรงกรวยทุกทิศทางการไหลเข้าออก โดยหน่วยที่ใช้เป็น mm และภาพที่ 17C เป็นภาพ 3 มิติถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหลายทิศทางการไหล ที่จำลองขึ้นในโปรแกรม ANSYS® ที่สามารถจำลองการไหลได้หลายรูปแบบของการไหลเข้า-ออกในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ซึ่งรูปแบบที่นำมาใช้ในการจำลองมีทั้งหมด 9 รูปแบบที่แสดงในภาพที่ 18 Varying flow directions ร่วมกับโครงเลี้ยงเซลล์ที่ออกแบบไว้ในหัวข้อ 3.5 ทั้ง 5 แบบ ที่บรรจุใน MDU ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูบน MDU 2 mm และติดตั้งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ เช่นเดียวกับการจำลองการไหลในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทางการไหล ดังในภาพ

ที่ 18 และกำหนดความเร็วในการไหลเข้าคงที่ที่ 17.212 mm/s เพื่อประเมินผลกระทบของความเร็วที่เกิดขึ้น ณ ตำแหน่งโครงสร้างรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ ก่อนนำความเร็วที่ได้มาคำนวณหาความเค้นเฉือนของการไหลผ่านโครงสร้างรูพรุน ในสมการที่ 11 ก่อนนำผลลัพธ์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับการทดลองต่อไปในหัวข้อที่ 3.7.2 ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหลายทิศทางการไหล



ภาพที่ 17 การออกแบบระบบถังปฏิกรณ์แบบ perfusion หลายทิศทางการไหลเพื่อศึกษาผลกระทบของรูปทรงของระบบต่อการไหล ความดันและความเค้นเฉือน



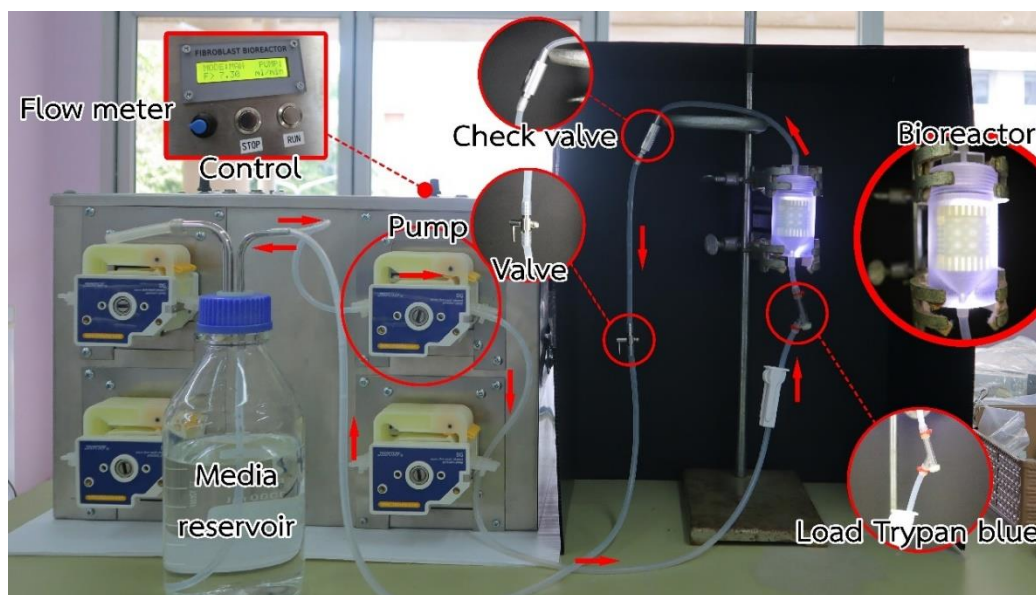
ภาพที่ 18 การทดลองและแบบจำลองการไหลของของไหลในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหลที่มีรูปทรงเป็นรูปทรงกรวยทุกทิศทางการไหลเข้าออก

3.7 การทดลองผลกระทบของโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

การทดลองการไหลในห้องปฏิบัติการ เริ่มจากติดตั้งระบบที่อ้างอิงมาจากระบบที่ออกแบบไว้ในหัวข้อที่ผ่านมา โดยที่รูปแบบของตัวถังปฏิกรณ์ชีวภาพทั้ง 2 แบบ คือ แบบการไหล 1 ทิศทางกับหลายทิศทาง ได้ขึ้นรูปด้วยการกลึงจากแท่งอะคริลิกและเชื่อมติดด้วยกาวอีพ็อกซี (epoxy glues) ระหว่างชิ้นส่วนของตัวห้องเครื่องดังในภาพที่ 19 และ 20 ของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ โครงเลี้ยงเซลล์ที่สร้างขึ้นจากพอลิคาร์บอเนตด้วยเทคนิคการพิมพ์ภาพสามมิติทั้ง 5 แบบดังภาพที่ 21A และตัวของ MDU ที่ขึ้นรูปด้วยเรซินดังภาพที่ 21B ที่ใช้ในการทดลองการไหลที่มืองค์ประกอบของระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ คือ ตัวถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขวดเก็บสารละลาย บีม และตัวควบคุมอัตราการไหล สิ่งที่จะเพิ่มมาจะเป็น เซ็ควาล์ว วาล์วและตำแหน่งในการฉีดสารสี Trypan blue มาใช้ในการทดสอบและควบคุมการไหลของของไหลในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion เนื่องจากการที่เลือกสาร Trypan blue เพราะ สาร Trypan blue เป็นสีน้ำเงินและยังมีคุณสมบัติความหนาแน่นใกล้เคียงกับน้ำมาก [48] จึงทำให้ไม่มีผลกระทบต่อการไหลของของไหล เพื่อตรวจสอบลักษณะการกระจายและวัดความเร็วในการไหล

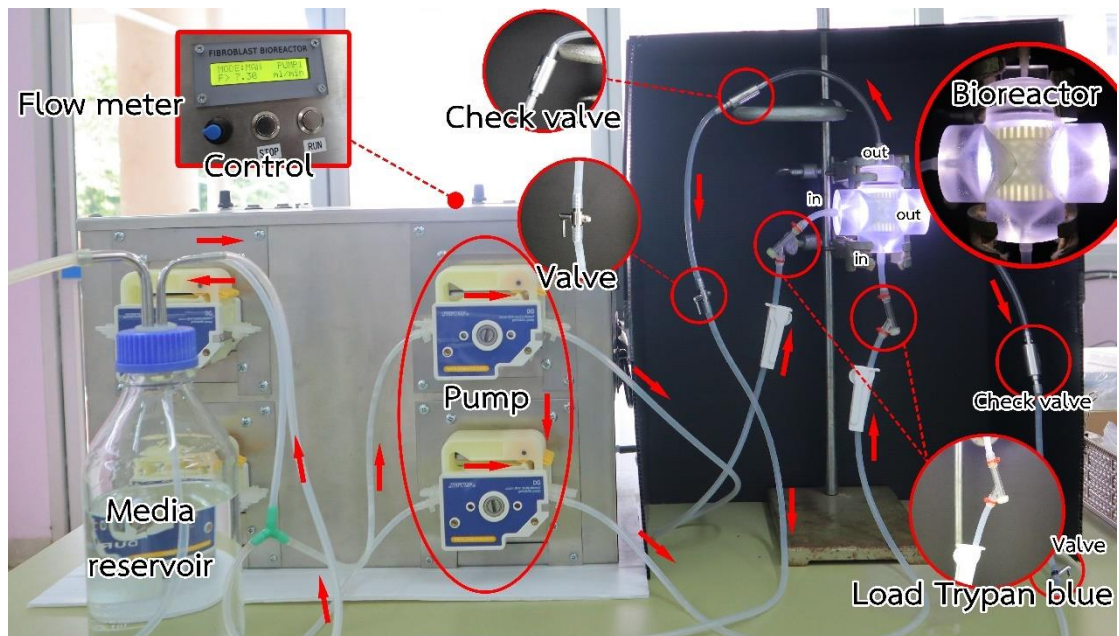
3.7.1 ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทางการไหล

การทดลองการไหลในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทางการไหล ดังในภาพที่ 19 เริ่มจากการวัดอัตราการไหลเข้าให้เท่ากับการจำลองที่ 1.179, 6.602, 11.789 และ 17.212 mm/s ด้วยดวงปริมาตรการไหลออกและจับเวลา เพื่อหาปริมาณของของไหลที่ไหลออกมาใน 1 นาที ที่ 0.5, 2.8, 5.0 และ 7.3 ml/min ของการไหลของของเหลว จากนั้นเมื่อระบบการไหลคงที่แล้วทำการฉีดสารสีที่ผสม Trypan blue 10% ในน้ำและบันทึกวิดีโอ ก่อนนำมาคำนวณหาความเร็วในถังปฏิกรณ์ชีวภาพโดยการวัดจากระยะทางที่สีเคลื่อนที่ต่อเวลา ณ ตำแหน่งภายในโครงสร้างรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ทั้ง 5 แบบ ที่บรรจุใน MDU ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูบน MDU 2 mm และติดตั้งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ จากนั้นนำความเร็วที่ได้มาคำนวณหาความเค้นเฉือนที่เกิดจากไหลผ่านโครงสร้างรูพรุน ในสมการที่ 11

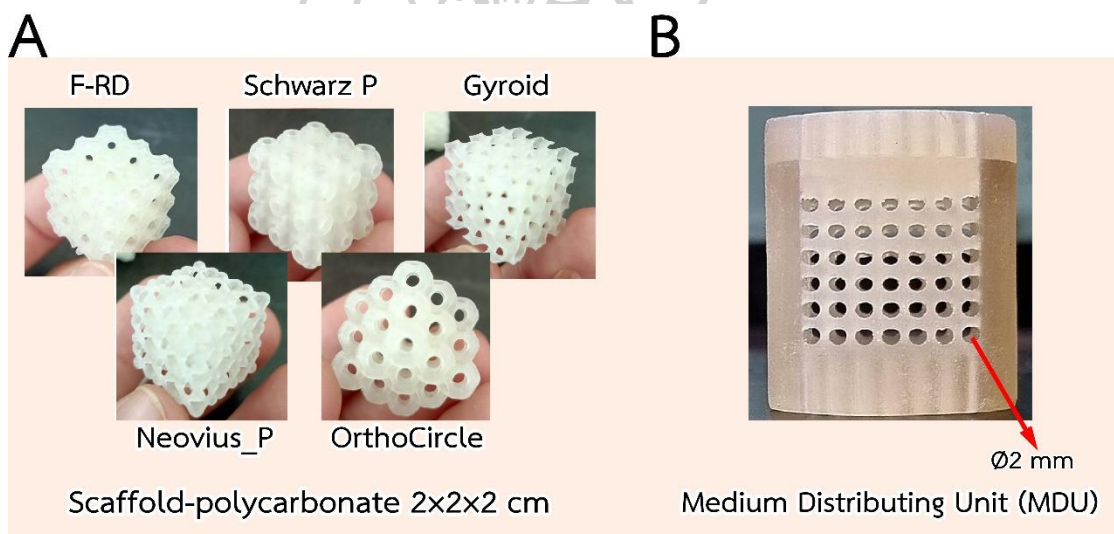


ภาพที่ 19 แผนผังกระบวนการทดลองการไหลของระบบระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทางการไหล

การทดลองการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหล ดังในภาพที่ 20 โดยใช้อัตราการไหลคงที่ที่ 7.3 ml/min หรือเทียบเท่ากับการจำลองการไหลด้วยความเร็วในการไหลเข้าคงที่ที่ 17.212 mm/s และเปลี่ยนแปลงทิศทางการไหลทั้งหมด 9 รูปแบบ ร่วมกับโครงเลี้ยงเซลล์ทั้ง 5 แบบ เช่นเดียวการจำลอง โดยที่การออกแบบตัวควบคุมปั๊มในการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพสามารถควบคุมปั๊มให้ทำงานแยกกันได้ 2 ตัว ที่สามารถให้การไหลได้ 3 โหมด ได้แก่ โหมด (SELECT MODE) คือ SWITCH PUMP เป็นโหมดที่ทำงานโดยการปรับอัตราการไหลไปที่ต้องการแล้วทำการตั้งเวลาในการทำงานที่จะเปลี่ยนการสลับจ่ายจากปั๊มที่ 1 (PUMP1) ไปเป็นปั๊มที่ 2 (PUMP2) ตามเวลาที่ปรับไว้ ต่อไปเป็นโหมด MANUAL เป็นโหมดที่ทำงานโดยการเลือกปั๊มที่จะทำงานแล้วทำการปรับอัตราการไหลก่อนหรือปรับระหว่างดำเนินการได้ตามที่ต้องการ และส่วนโหมด SWITCH PUMP เป็นโหมดที่ทำงานโดยการปรับเลือกปั๊มที่จะทำงานแล้วทำการตั้งเวลา เพื่อให้ปรับเปลี่ยนทิศทางการไหลให้ได้ตามที่ต้องการในหัวข้อที่ 3.6 ของการจำลอง เพื่อศึกษาผลกระทบของทิศทางการไหลผ่านโครงสร้างรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ทั้ง 5 แบบ ที่บรรจุใน MDU ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรูพรุน MDU 2 mm และติดตั้งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ และประเมินผลกระทบของความเร็วที่เกิดขึ้น ณ ตำแหน่งโครงสร้างรูพรุนในโครงเลี้ยงเซลล์ ก่อนนำความเร็วที่ได้มาคำนวณหาความเค้นเฉือนที่เกิดจากไหลผ่านโครงสร้างรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ ในสมการที่ 11 เช่นเดียวกันกับการจำลอง



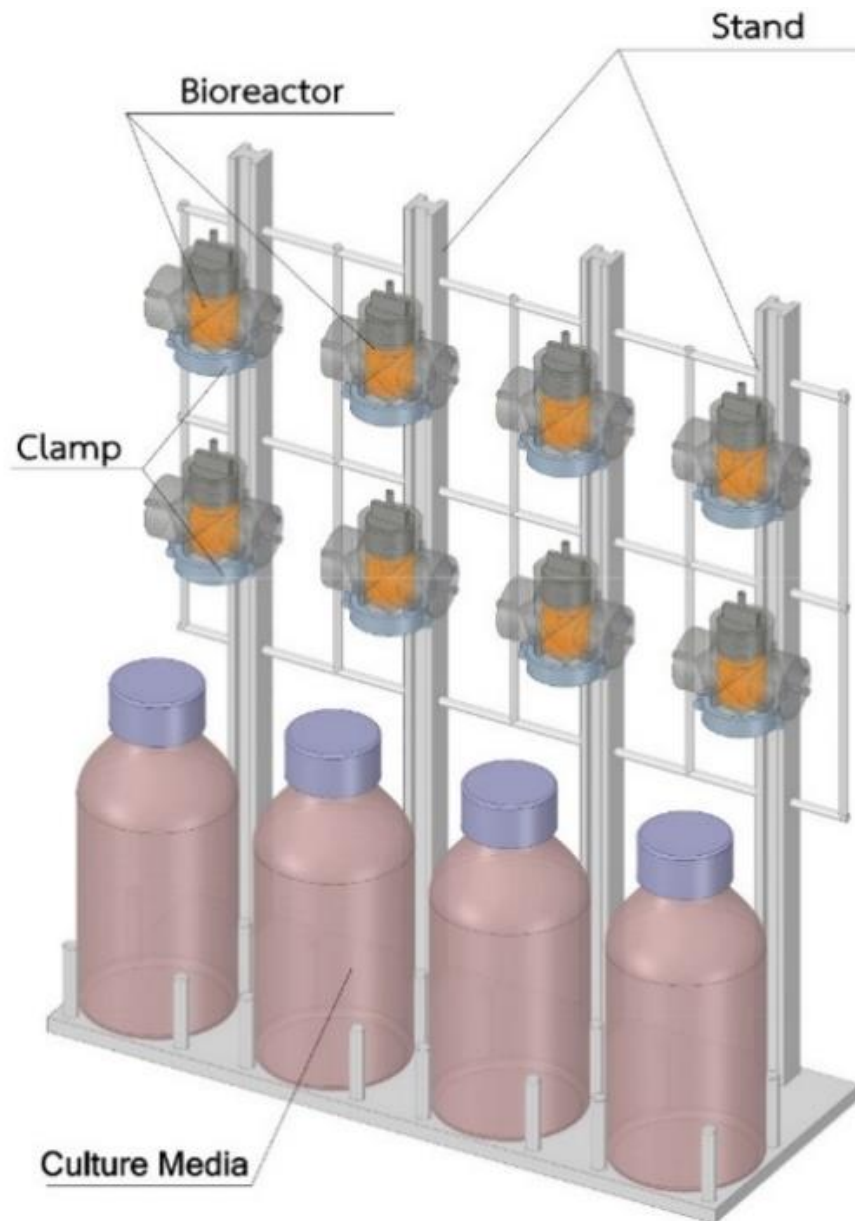
ภาพที่ 20 แผนผังกระบวนการทดลองการไหลของระบบระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหล



ภาพที่ 21 (A) โครงเลี้ยงเซลล์ที่สร้างขึ้นจากพอลิคาร์บอนेटด้วยเทคนิคการพิมพ์ภาพสามมิติ 5 แบบ และ (B) MDU ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูที่ 2 mm

ระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion แบบหลายทิศทางการไหล ที่สมบูรณ์ในอนาคตจะมีตัวถังปฏิกรณ์ชีวภาพจำนวน 8 ตัวถังที่ติดตั้งบนขาตั้งตัวถังปฏิกรณ์ชีวภาพ มีลักษณะเป็นเสา 4 เสา ตั้งอยู่บนฐานสี่เหลี่ยมที่มีล๊อคที่ออกแบบไว้สำหรับการจับวางขวดของสารอาหารได้ 4 ขวด โดยที่แต่ละขวดจะให้การไหลของของไหลแก่ถังปฏิกรณ์จำนวน 2 ตัวถังโดยที่แต่ละเสาสามารถติดตั้งตัวถัง

ปฏิกรณ์ได้ 2 ตัวถึงต่อเสาดด้วย Clamp ที่ออกแบบไว้ ซึ่งเสาแต่ละเสาจะเชื่อมกันด้วยราวเหล็กสำหรับยึดจับท่อซิลิโคนในการไหลเข้า-ออกของระบบที่ทำการออกแบบไว้ ดังแสดงในภาพที่ 22



ภาพที่ 22 ภาพรวมระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ได้ทำการออกแบบไว้คร่าว ๆ จำนวน 8 ระบบ

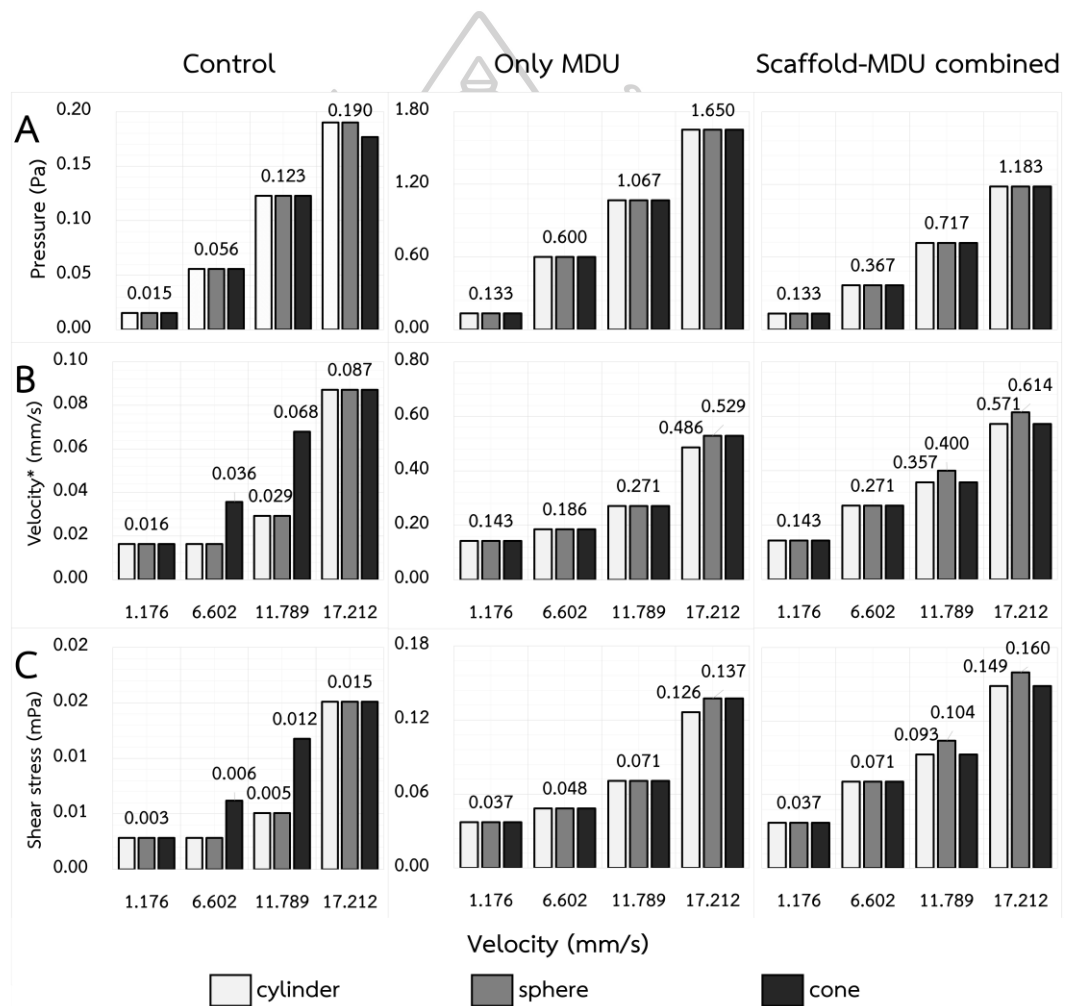
บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลกระทบของรูปทรงการไหลภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทางการไหล

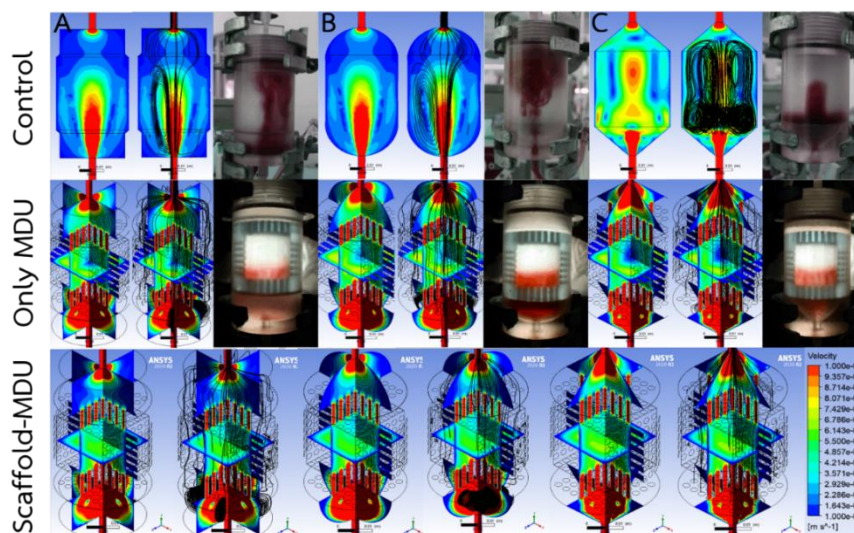
ในส่วนการศึกษารูปทรงการไหลภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทาง ต่อสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ ณ บริเวณที่บรรจุโครงเลี้ยงเซลล์ โดยถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่จำลองไว้ 3 รูปทรง ได้แก่ ทรงกระบอก ทรงกลมและทรงกรวย ซึ่งทั้ง 3 รูปทรงมีการกำหนดเงื่อนไขรูปแบบการไหลของของไหลแบบไหลในเครื่องเป่าๆ (Control) มีติดตั้งแค่ MDU ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Only MDU) และมีการบรรจุโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ 80% ใน MDU ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูบน MDU 2 mm ก่อนติดตั้งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (scaffold-MDU combined unit) ที่กำหนดความเร็วในการไหลเข้าตั้งแต่ 1.179, 6.602, 11.789 และ 17.212 mm/s ของทุกรูปแบบการไหล พบว่าการไหลโดยทั่วไปแล้วเมื่อความเร็วในการไหลเข้าเพิ่มขึ้นระดับของความดัน ความเร็วและความเค้นเฉือนในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 3 รูปทรง ณ ตำแหน่งโครงเลี้ยงเซลล์มีค่าเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน โดยที่ผลกระทบของความดันจากการไหล ดังแสดงในภาพที่ 23A ซึ่งให้เห็นว่าระดับความดันมีค่าที่ใกล้เคียงกันในทั้ง 3 รูปทรง เนื่องจากความดันที่เกิดขึ้นในระบบเป็นความดันที่เกิดขึ้น ณ ตำแหน่งโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งหมดทำให้รูปทรงในการไหลไม่มีผลกับความดัน จากนั้นเมื่อติดตั้ง MDU ทำให้ระดับความดันในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพทุกรูปทรงมีค่าสูงขึ้นในทุกความเร็วการไหลเข้า อย่างไรก็ตาม เมื่อมีการบรรจุโครงเลี้ยงเซลล์ในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ พบว่าความดันมีค่าลดลงเล็กน้อย แต่เมื่อสังเกตถึงความเร็วที่เกิดขึ้น ณ ตำแหน่งเดียวกันของของไหลในโครงเลี้ยงเซลล์ มีค่าสูงขึ้นซึ่งเป็นเช่นเดียวกับความเค้นเฉือนที่เกิดขึ้นจากการไหลในโครงเลี้ยงเซลล์ที่บรรจุใน MDU และติดตั้งในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ เป็นเพราะการไหลผ่านรูบน MDU ที่เล็กลงทำให้ความเร็วในการไหล ณ บริเวณเดียวกันมีค่าสูงขึ้นและลดลงเมื่อความเป็นรูพรุนที่ลดลง เนื่องจากความเป็นรูพรุนแสดงถึงการซึมผ่านของการไหลของของเหลวที่มีค่าลดลงเมื่อมีการบรรจุโครงเลี้ยงเซลล์ ดังในภาพที่ 23A และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างรูปทรงถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้ในการจำลอง พบว่ารูปทรงการไหลภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพรูปทรงกลมให้ความเร็วและความเค้นเฉือนที่สูงถึง 0.614 mm/s และ 0.160 mPa ตามลำดับ (ภาพที่ 23B-C) ที่ความเร็วในการไหลเข้าสูงสุดที่มีการบรรจุโครงเลี้ยงเซลล์ ใน MDU และติดตั้งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ในความเค้นเฉือนที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 0.1-10 mPa [10] ถึงแม้ความเร็วในการไหลเข้าที่ใช้ในการจำลองจะสูงกว่าที่ศึกษามาในช่วงเหมาะสมที่ 0.166-1.66 mm/s [9] ก็ตาม แม้ว่ารูปทรงกลมภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

จะให้ความเร็วและความเค้นเฉือนเหมาะสมและที่สูงสุด แต่รูปทรงอื่นยังสามารถให้ความเค้นเฉือนอยู่ในช่วงที่เหมาะสมไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 24 ซึ่งแสดงถึงลักษณะการกระจายตัวของความเร็วและความเค้นเฉือนในการจำลองและการทดลอง รูปทรงกรวยน่าจะทำให้การกระจายตัวของความเร็วที่ต่ำกว่าการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพรูปทรงอื่น ๆ ของการไหลที่ไม่มีการติดตั้ง MDU แต่เมื่อมีการติดตั้ง MDU และมีการบรรจุโครงเลี้ยงใน MDU การไหลของของไหลจะมีลักษณะการไหลที่คล้ายกันในทุกความเร็วการไหลเข้า เนื่องจากการไหลผ่าน MDU มีลักษณะที่รูปแบบการไหลที่ไม่แตกต่างกันทั้งการบรรจุโครงเลี้ยงใน MDU และติดตั้งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ



ภาพที่ 23 ผลกระทบของรูปทรงการไหลภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทาง โดย (A) ความดัน (B) ความเร็ว และ (C) ความเค้นเฉือน ณ บริเวณจุดศูนย์กลางและภายในโครงเลี้ยงเซลล์ ที่กำหนดการจำลองการไหลเป็น Control (เครื่องเปล่า ๆ) Only MDU (ติดตั้งแค่ MDU) และสุดท้ายมีการบรรจุโครงเลี้ยงใส่ MDU ที่ติดตั้งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ความเร็วในการไหลเข้าต่างกัน

ดังนั้น รูปทรงของระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้ในจำลองจะเป็นรูปทรงกระบอก ทรงกลมหรือ ทรงกรวย สามารถที่จะใช้ในการจำลองต่อไปได้ แต่ในงานวิจัยนี้ทางผู้วิจัยได้เลือกถังปฏิกรณ์ชีวภาพ รูปทรงกรวยมาใช้ในการศึกษาผลกระทบของส่วนต่อไป เนื่องจากเป็นรูปทรงนี้นิยมนำมาใช้ในการ จำลองและพัฒนาการสร้างระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion

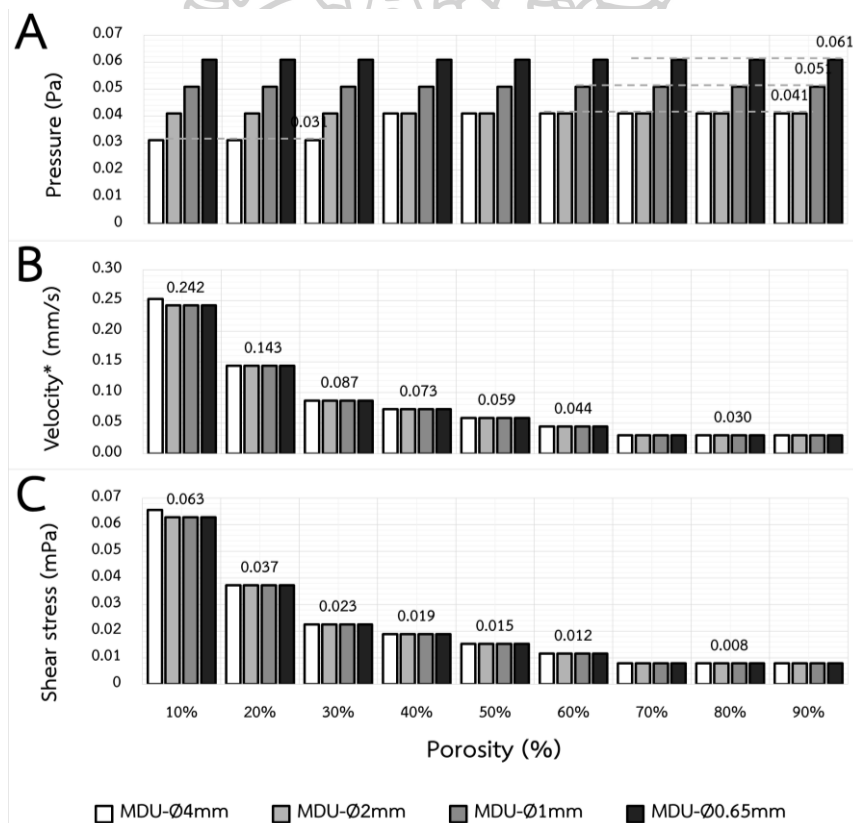


ภาพที่ 24 ลักษณะการกระจายตัวของความเร็วของการจำลองและการทดลอง ที่ความเร็วและอัตราการไหลเข้าระบบถังปฏิกรณ์เดียวกัน โดยที่ (A) ทรงกระบอก (B) ทรงกลมและ (C) ทรงกรวย ที่มีการกำหนดรูปแบบการไหลที่แตกต่างกับ 2 รูปแบบ

4.2 ผลกระทบของความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

ในขั้นตอนการศึกษาผลกระทบของความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูบน MDU ต่อการไหลทางอุทกพลศาสตร์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทางการไหลที่มีรูปทรงกรวย ซึ่งประกอบด้วยการบรรจุโครงเลี้ยงเซลล์ที่กำหนดความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ตั้งแต่ 10-90% ใน MDU ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูบน MDU ตั้งแต่ 0.65-4.0 mm ดังภาพที่ 14 และกำหนดความเร็วในการไหลขาเข้าคงที่ที่ 0.747 mm/s ซึ่งผลลัพธ์ของระดับความดันที่แสดงออกมาจากการจำลองที่เปลี่ยนแปลงความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ ดังในภาพที่ 25A ส่วนใหญ่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งแสดงว่าความเป็นรูพรุนไม่ได้ส่งผลกระทบต่อความดันในการไหลผ่านรูพรุนทั้งหมดของโครงเลี้ยงเซลล์ อย่างไรก็ตามเมื่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรูบน MDU เพิ่มขึ้น ระดับของความดันในโครงเลี้ยงเซลล์มีค่าลดลงเล็กน้อยจาก 0.06 ถึง 0.035 Pa แต่ความเร็วที่ได้จากการจำลองไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรูบน MDU ที่เพิ่มขึ้น อาจเป็นเพราะขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูบน MDU เปลี่ยนแปลงไปช่วยเพิ่มการกระจายตัวของความเร็วใน

การไหลไม่แตกต่างกัน ดังภาพที่ 25B แต่ความเร็วที่เกิดขึ้นกับมีผลต่อความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ลดลง ทำให้ความเร็วในการไหลผ่านโครงเลี้ยงเซลล์มีค่าสูงขึ้นจาก 0.03 mm/s ของ 90% เป็น 0.242 mm/s ของ 10% ซึ่งมีแนวโน้มที่คล้ายกันกับความเค้นเฉือนดังภาพที่ 25C ที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของความเค้นเฉือนเมื่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูบน MDU ที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ความเค้นเฉือนที่เพิ่มขึ้นเมื่อความเป็นรูพรุนที่ลดลงจาก 0.008 mPa ที่ 90% เป็น 0.063 mPa ที่ 10% คิดเป็น 12.5% ของความเป็นรูพรุนที่เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นจำนวนของเซลล์เนื้อเยื่อกระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์ทำให้ความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์มีปริมาณของการซึมผ่านที่ลดลง จึงทำให้มีผลกระทบต่อความเร็วและความเค้นเฉือนเพิ่มขึ้น [7] อย่างไรก็ตาม การผลิตหรือสร้างโครงสร้างโครงเลี้ยงที่มีความเป็นรูพรุนต่ำๆ อาจไม่เหมาะสมกับการให้ความเร็วในการไหลเข้าที่สูงๆ ในบางกรณีที่ศึกษาความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ต่ำและใช้ความเร็วในการไหลเข้าสูงๆ กับโครงเลี้ยงเซลล์



ภาพที่ 25 ผลกระทบของความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทาง ซึ่งกำหนดขนาดรูบน MDU เป็น 0.65-4 mm และความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงที่เปลี่ยนแปลงไปจาก 90 เป็น 10% และ ด้วยความเร็วในการไหลเข้าที่ 0.747 mm/s โดยที่ (A) ความดัน (B) ความเร็ว และ (C) ความเค้นเฉือน ณ ภายในโครงเลี้ยงเซลล์ที่กำหนด

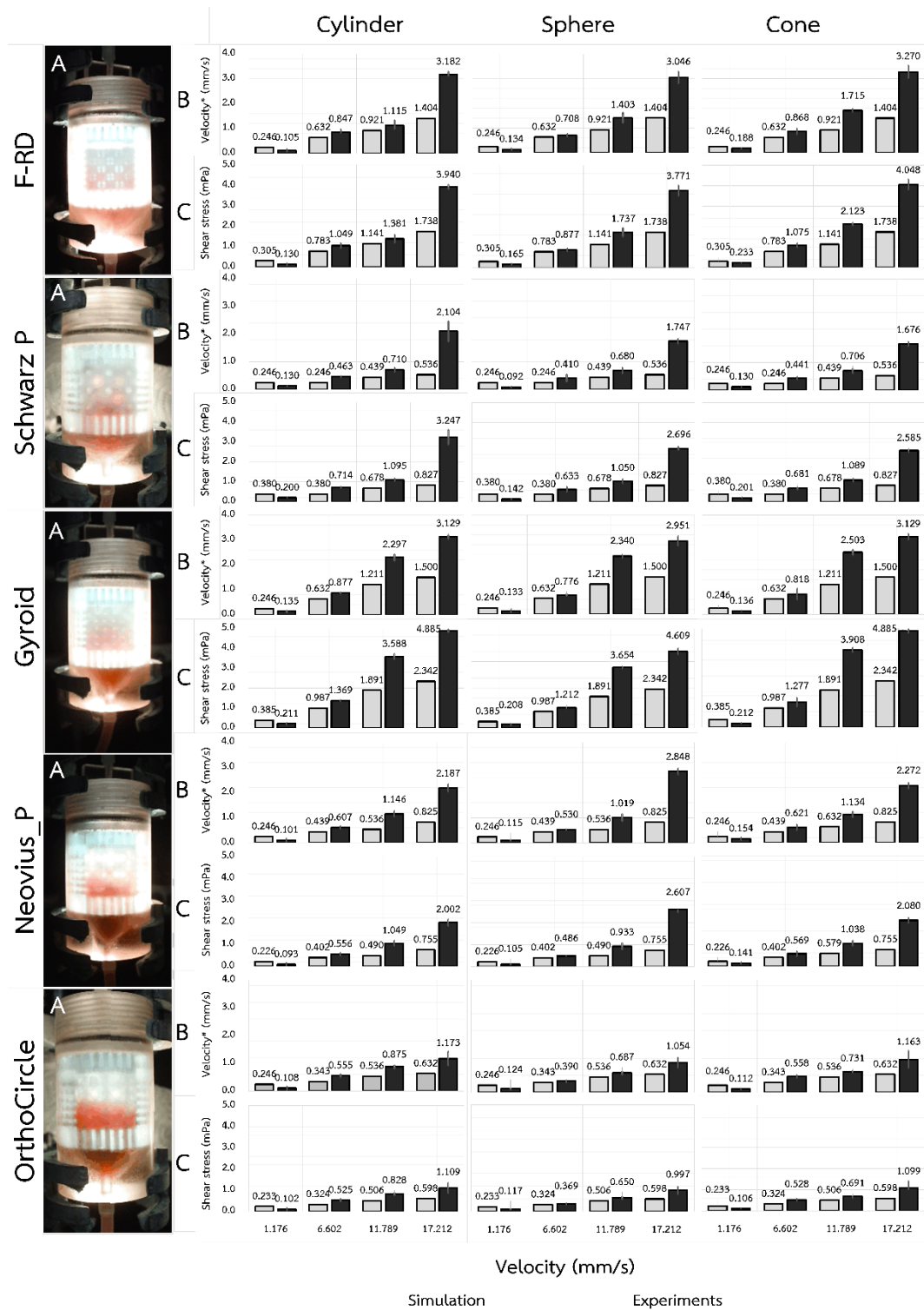
ดังนั้น ในการจำลองโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์โดยใช้โครงสร้างของสมการ triply-periodic minimal surface: TPMS เป็นต้นแบบจึงมีความเหมาะสมสำหรับการจำลองโครงเลี้ยงเซลล์ ที่สามารถใช้เป็นต้นแบบในการจำลองโครงเลี้ยงเซลล์ให้มีโครงสร้างความเป็นรูพรุนได้ถึง 50-80% ได้อย่างเหมาะสมในการนำมาใช้งาน เพื่อใช้เป็นโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์เบื้องต้น ก่อนนำข้อมูลที่ได้ออกไปใช้ในการผลิตโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์จากวัสดุทางชีวภาพต่อไปได้อย่างเหมาะสมและรวดเร็วในการใช้กับร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพ

4.3 ผลกระทบของโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทางการไหล

การศึกษาผลกระทบในการจำลองโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทางการไหลต่อสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ ณ บริเวณโครงสร้างรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ โดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่จำลอง 3 รูปทรง คือ ทรงกระบอก ทรงกลมและทรงกรวย ซึ่งทั้ง 3 รูปแบบ จะกำหนดเงื่อนไขและชนิดของโครงเลี้ยงเซลล์ 5 แบบ ได้แก่ F-RD (53.40%), Schwarz_P (67.67%), Gyroid (67.89%), Neovius_P (70.64%) และ OrthoCircle (76.73%) ดังภาพที่ 16 เช่นเดียวกับในทางการทดลองในภาพที่ 19 เพื่อเปรียบเทียบผลกระทบของความเร็วและความเค้นเฉือนที่เกิดขึ้นจากการไหลของของไหล ที่กำหนดรูปแบบการไหลและความเร็วในการไหลเข้าตั้งแต่ 1.179-17.212 mm/s ในทุกรูปทรงและชนิดของโครงเลี้ยงเซลล์เช่นเดียวกัน ดังในภาพที่ 26 ซึ่งเมื่อความเร็วในการไหลเข้าเพิ่มขึ้นระดับของความเร็วและความเค้นเฉือนมีค่าสูงขึ้นทั้งรูปแบบการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 3 รูปทรงและมีการบรรจุโครงเลี้ยงเซลล์ทั้ง 5 แบบ ซึ่งจะเห็นได้ว่าในช่วงความเร็วในการไหลเข้าต่ำ ๆ ที่ 1.179 และ 6.602 mm/s ของการจำลอง (อัตราการไหล 0.5 และ 2.8 ml/min ที่ใช้ในการทดลอง) ระดับความเร็วและความเค้นเฉือนที่เกิดในโครงสร้างรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์มีความสอดคล้องกันระหว่างการจำลองและการทดลอง แต่เมื่อเพิ่มความเร็วในการไหลเข้าเพิ่มขึ้นเป็น 11.789 และ 17.212 mm/s ของการจำลอง (อัตราการไหล 5.0 และ 7.3 ml/min ที่ใช้ในการทดลอง) ผลที่ได้จากการทดลองมีค่าที่สูงกว่าการจำลอง 2-3 เท่า อาจเป็นเพราะเกิดการไหลแบบ turbulent flow จึงทำให้ผลที่ได้มีค่ามากกว่าการจำลอง ทำให้ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงต่อผลการจำลองการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพทางการทดลองมีมากขึ้น เช่น พื้นผิวของวัสดุ (Surface Roughness) ที่ใช้เป็นพอลิคาร์บอเนต [49, 50] เป็นต้น และเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างแบบของโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้ทั้ง 5 แบบ พบว่าเมื่อกำหนดความเร็วที่ใช้ในการไหลเข้าที่ 11.789 เป็น 17.212 mm/s ในการไหลผ่านรูพรุนโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่ทำให้ความเค้นเฉือนสูงสุด เป็นแบบ Gyroid ที่มีความเป็นรูพรุนที่ 67.89% และมีขนาดรูพรุนโครงสร้างที่เล็กที่สุดอีกด้วย ที่แสดงในภาพ

ที่ 26Gyroid-C ที่บรรจุในถังปฏิกรณ์ชีวภาพทุกรูปทรงที่ให้ความเร็วและความเค้นเฉือนที่ใกล้เคียงกัน โดยที่โครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์แบบ Gyroid น่าจะให้ความเค้นเฉือนที่สูงที่สุด และแบบที่รองลงมาเป็นแบบ F-RD ที่มีความเป็นรูพรุน 53.40% แสดงในภาพที่ 26F-RD-C ในขณะที่โครงสร้างแบบ Neovius_P และ OrthoCircle ให้ความเค้นเฉือนที่น้อยสุด ซึ่งมีความเป็นรูพรุนของโครงสร้างที่ 70.64% และ 76.73% ตามลำดับ ในภาพที่ 26Neovius_P&OrthoCircle-C เนื่องจากโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่จำลองและสร้างขึ้นมีความเป็นรูพรุนของโครงสร้างที่มาก จึงทำให้ความเร็วและความเค้นเฉือนที่เกิดจากการไหลผ่านโครงสร้างรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์มีค่าที่น้อยลง ที่แสดงภาพในภาคผนวก ข ภาพที่ ข-1 บางส่วนที่ใช้ในการพิจารณาผล อย่างไรก็ตาม โครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้ในการจำลองการไหลทุกแบบสามารถให้ความเค้นเฉือนในทุกการกำหนดความเร็วการไหลเข้ายังสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ในความเค้นเฉือนที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดไปสู่เซลล์สร้างกระดูกอยู่ในช่วงที่ 0.1-10 mPa [10] ถึงแม้ว่าความเร็วในการไหลเข้าจะสูงกว่าที่ได้ศึกษามาที่ 0.166-1.66 mm/s [9] ก็ตาม

ดังนั้น ข้อจำกัดในการศึกษาผลกระทบของโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ต่อการไหลในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทางการไหลต่อสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดไปสู่เซลล์กระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์ ได้เพียงการไหลผ่านโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ 1 ทิศทางการไหลที่ให้แก่โครงเลี้ยงเซลล์ อย่างไรก็ตาม การนำโครงเลี้ยงเซลล์ทั้ง 5 แบบที่จำลองขึ้นมาใช้งานร่วมกับระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางไหล เพื่อศึกษาผลกระทบของทิศทางการไหลผ่านโครงสร้างโครงเลี้ยงที่จำลองในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ที่หลากหลายกว่าตลอดจนนำไปสู่คุณสมบัติที่ดีขึ้นในการสร้างเซลล์กระดูกต่อไป



ภาพที่ 26 ผลกระทบของโครงเลี้ยงเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ 1 ทิศทางการไหลทั้ง 3 รูปทรง และโครงเลี้ยงเซลล์ 5 แบบ ที่กำหนดความเร็วการไหลเข้าตั้งแต่ 1.179-17.212 mm/s โดยที่ (A) ลักษณะการไหลในการทดลอง (B) เป็นความเร็ว และ (C) ความเค้นเฉือน ณ บริเวณโครงสร้างรูพรุน ของโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งหมด

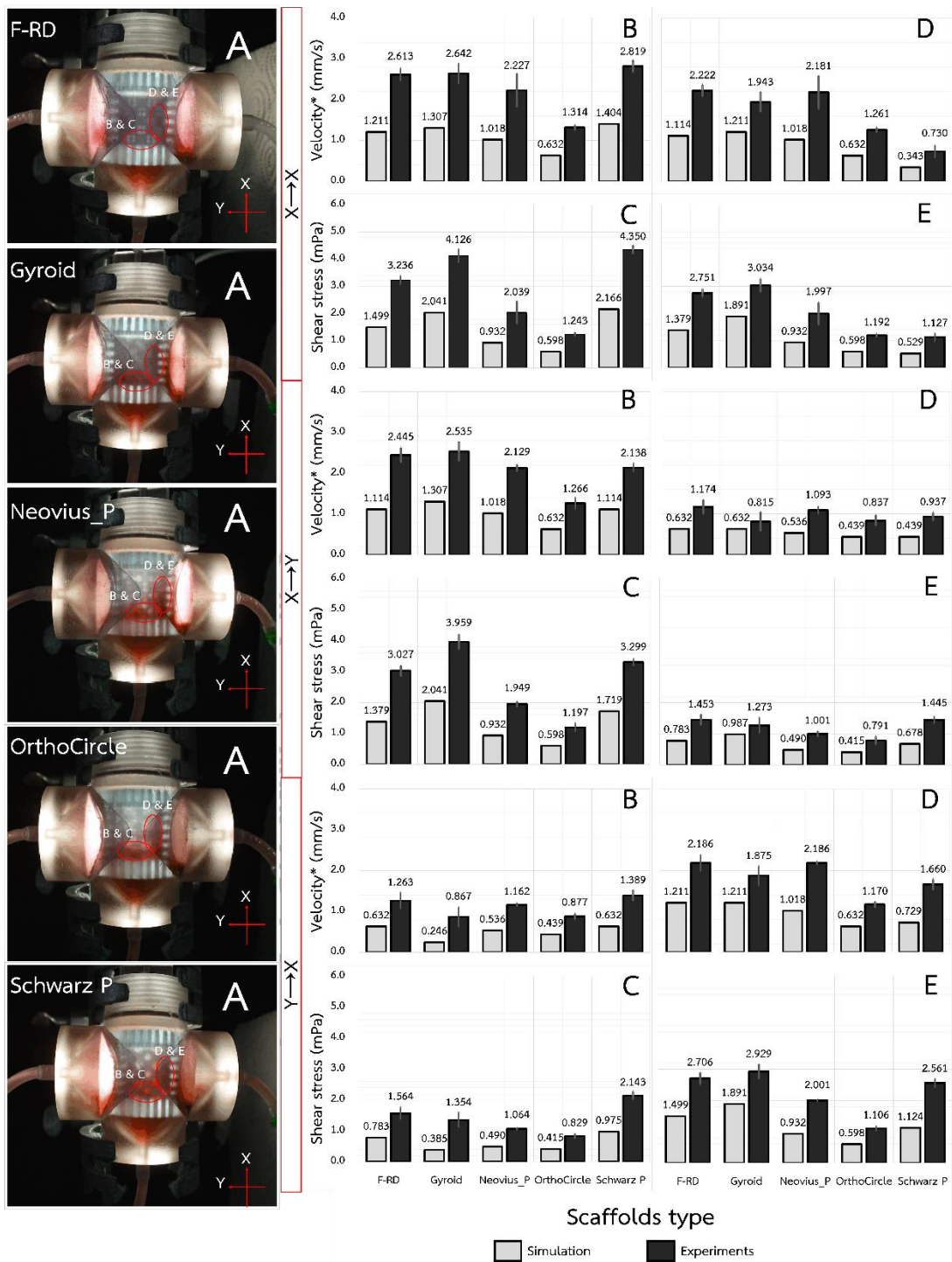
4.4 ผลกระทบของทิศทางการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหล

การจำลองการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหล สามารถทำได้หลายรูปแบบในการไหลเข้า-ออกกระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ซึ่งรูปแบบการไหลที่ใช้ในการจำลองและการทดลองมีทั้งหมด 9 รูปแบบ ดังที่แสดงในภาพที่ 18 ร่วมกับการใช้โครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่ออกแบบไว้ 5 แบบต่อสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ ณ บริเวณโครงสร้างรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ โดยที่กำหนดความเร็วในการไหลเข้าคงที่ที่ 17.212 mm/s ซึ่งให้เห็นว่าการใช้ความเร็วในการไหลเข้าที่สูงผลที่ได้จากการทดลองมีค่าที่สูงกว่าการจำลอง 2-3 เท่า เช่นเดียวกับการใช้ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทางการไหล จากนั้นเมื่อสังเกตรูปแบบการไหลที่ให้ความเร็วและความเค้นเฉือนในโครงสร้างรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์สูงสุด เป็นรูปแบบการไหลที่มีการไหลเข้า 2 ทางและออก 1 ทาง (XY-X และ XY-Y) กับการไหลเข้า 2 ทางออก 2 ทางพร้อมกัน (XY-XY) ดังที่แสดงในภาพที่ 29 และรูปแบบการไหลที่รองลงมาเป็น การไหลทิศทางเดียว (เข้า 1 ทาง และออก 1 ทาง) ในภาพที่ 27-28 (X-X, X-Y, Y-X และ Y-Y) ณ บริเวณตำแหน่งการไหลเข้าโครงเลี้ยงเซลล์ที่กำหนด และรูปแบบการไหลที่ให้ความเร็วและความเค้นเฉือนน้อยสุด น่าจะเป็นการไหลเข้า 1 ทางและออก 2 ทาง ในภาพที่ 28 (X-XY และ Y-XY) อาจเป็นเพราะความเร็วของการไหลที่สะสมในระบบการไหลของรูปแบบนี้มีค่าน้อย จึงทำให้ความเร็วและความเค้นเฉือนเกิดได้น้อย อย่างไรก็ตาม เมื่อสังเกตชนิดของโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์แบบ Schwarz_P และ Gyroid เป็นโครงสร้างที่ให้ความเค้นเฉือนที่สูงที่สุดในบางรูปแบบการไหล ยกเว้นรูปแบบการไหลเข้าด้านข้างของตัวถังปฏิกรณ์ชีวภาพและออก 2 ทาง ดังภาพที่ 28 (Y-XY) กับการเข้าด้านข้างและออกด้านบน ภาพที่ 27 (Y-X) อาจเป็นเพราะโครงสร้างแบบ Schwarz_P และ Gyroid ให้ความเค้นเฉือนที่น้อยในรูปแบบการไหลแนวระนาบที่ไม่ต่อเนื่องหรือเป็นเส้นตรงจึงมีผลให้เกิดการไหลของของไหลไม่ต่อเนื่อง และโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่ให้ความเค้นเฉือนน้อยที่สุดในทุกรูปแบบการไหล เป็นโครงสร้างแบบ OrthoCircle เนื่องจากโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่ที่จำลองและสร้างขึ้นมีความเป็นรูพรุนของโครงสร้างที่มาก จึงทำให้ความเร็วและความเค้นเฉือนที่เกิดจากการไหลผ่านโครงสร้างรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์มีค่าน้อยลง ที่แสดงภาพในภาคผนวก ข ภาพที่ ข-2 บางส่วนที่ใช้ในการพิจารณา อย่างไรก็ตาม รูปแบบทิศทางการไหลที่กำหนดที่ส่งผลให้เกิดการไหลของของเหลวไหลผ่านโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้ในการจำลองผลการทดลองการไหลในทุกแบบสามารถให้ความเค้นเฉือน ของการกำหนดความเร็วในการไหลเข้าสูงกว่าที่ศึกษาที่ 0.166-1.66 mm/s [9] ยังสามารถสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ในความเค้น

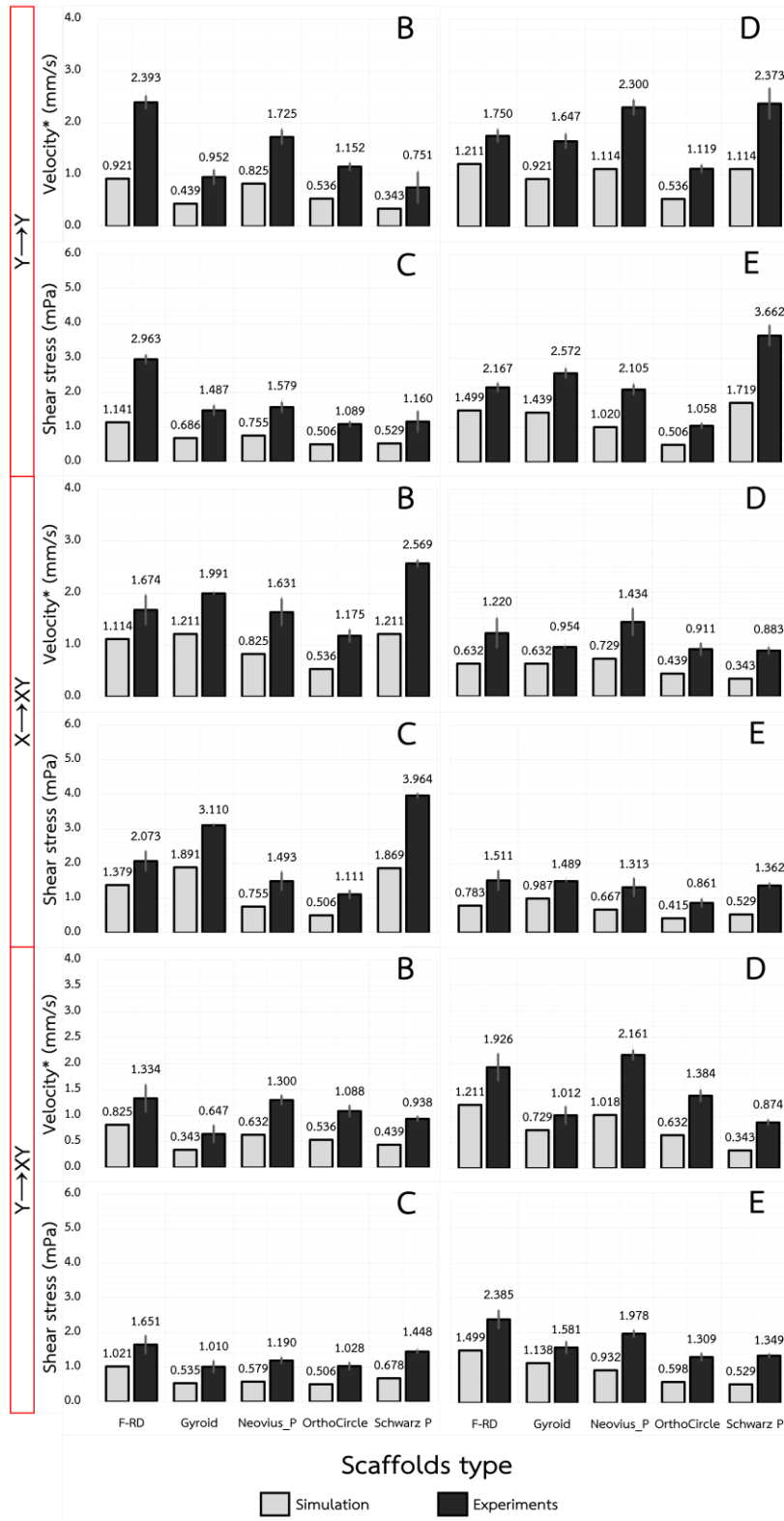
เดือนที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลล์กระดูกในช่วง 0.1-10 mPa [10] ถึงแม้ว่าความเร็วในการไหลเข้าจะสูงกว่าที่ได้ศึกษามากก็ตาม

ดังนั้น เมื่อเปรียบเทียบระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหลกับ 1 ทิศทางการไหล จะเห็นได้ความเค้นเฉือนที่เกิดสูงสุด ณ การกำหนดความเร็วในการไหลเข้าเดียวกัน ในโครงสร้างรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์แบบ Gyroid มีค่าที่ใกล้เคียงกัน ของรูปแบบการไหลที่ให้ความเค้นเฉือนสูงสุดทั้งการจำลองและการทดลอง อาจเป็นเพราะตำแหน่งที่นำมาพิจารณาเป็นตำแหน่งเดียวกันที่เกิดการเปลี่ยนแปลงความเร็วของการไหลผ่านโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ อย่างไรก็ตาม ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ หลายทิศทางการไหลกับ 1 ทิศทางการไหลจะให้ความเค้นเฉือนที่ไม่แตกต่างกัน แต่ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพหลายทิศทางการไหลสามารถให้ความเค้นเฉือนในการไหลผ่านโครงสร้างรูพรุนที่จำลองและสร้างขึ้นได้หลากหลายมากกว่าระบบ 1 ทิศทางการไหล จึงสามารถนำข้อมูลที่ได้จากการจำลองและการทดลองการไหลในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหลและโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์เบื้องต้น ไปใช้งานร่วมกับโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตจากวัสดุทางชีวภาพที่เข้ากับร่างกายได้ดีและยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเซลล์กระดูกที่ดีขึ้นบนโครงเลี้ยงเซลล์ในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหล

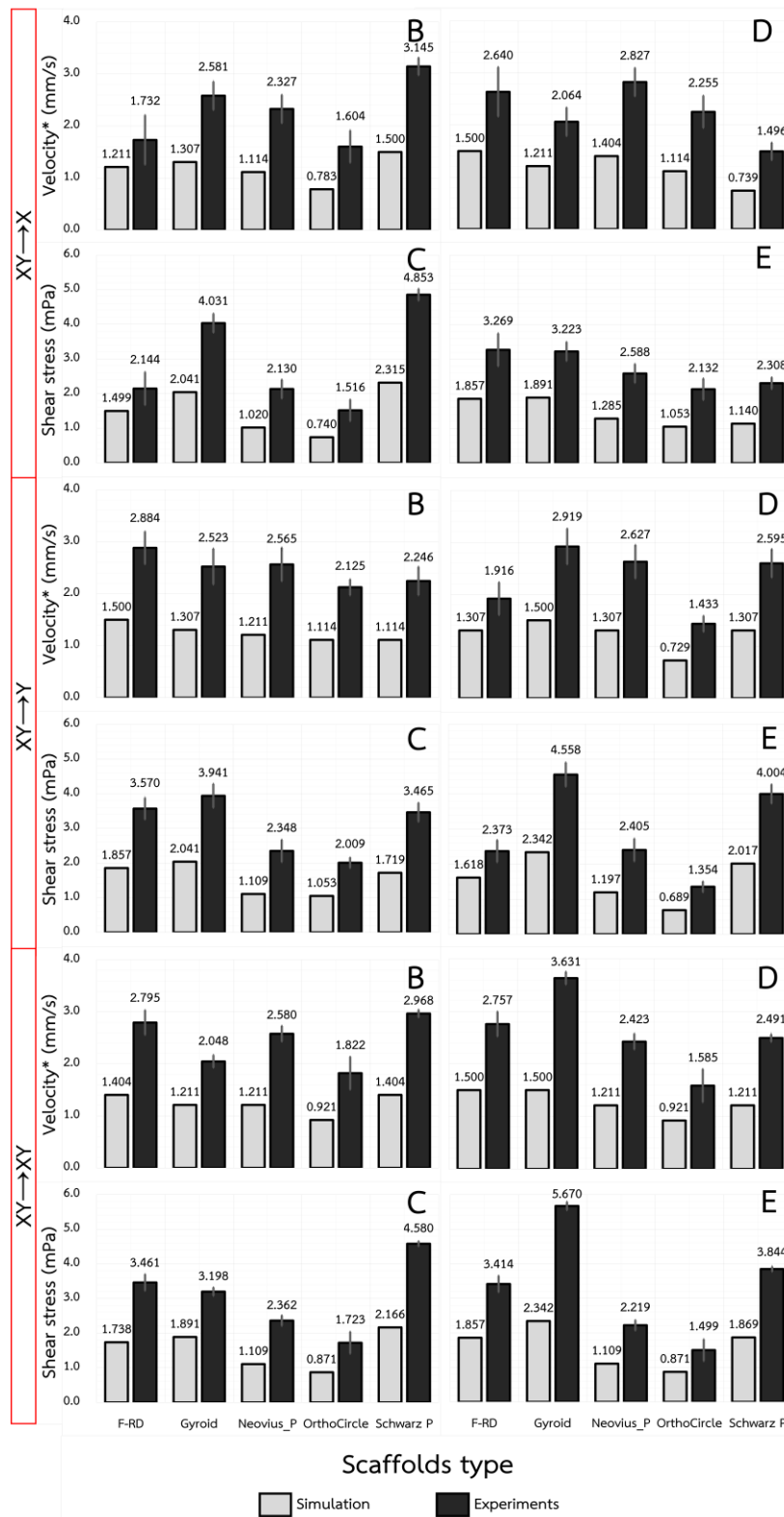




ภาพที่ 27 ผลกระทบของทิศทางการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหลายทิศทางการไหลที่ประกอบด้วยโครงเลี้ยงเซลล์ 5 แบบ และกำหนดความเร็วในการไหลเข้าคังที่ 17.212 mm/s ในรูปแบบ X→X, X→Y และ Y→X โดยที่ (A) ลักษณะการไหลในการทดลอง ส่วนความเร็วและความเค้นเฉือน ณ บริเวณรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งหมด (B & C) ไหลเข้าทาง X และ (D & E) ไหลเข้าทาง Y แก่ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ



ภาพที่ 28 (ต่อ) ในรูปแบบ Y→Y, X→XY และ Y→XY โดยที่ความเร็วและความเค้นเฉือน ณ บริเวณรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งหมด (B & C) ไหลเข้าทาง X และ (D & E) ไหลเข้าทาง Y แก่ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ



ภาพที่ 29 (ต่อ) ในรูปแบบ XY→X, XY→Y และ XY→XY โดยที่ความเร็วและความเค้นเฉือน ณ บริเวณรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งหมด (B & C) ไหลเข้าทาง X และ (D & E) ไหลเข้าทาง Y แก่ระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

บทที่ 5

สรุปและการอภิปรายผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

ในการศึกษาผลกระทบของรูปทรงการไหลในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทางการไหล 3 รูปทรง (ทรงกระบอก ทรงกลมและทรงกรวย) ต่อสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ ซึ่งกำหนดรูปแบบการไหลออกมา 3 แบบ ที่สามารถให้ความเร็วและความเค้นเฉือน ณ ตำแหน่งโครงเลี้ยงเซลล์มีค่าไม่แตกต่างกันเมื่อรูปทรงการไหลเปลี่ยนแปลงไปของทุกความเร็วในการไหลเข้าที่เพิ่มขึ้น แต่การกระจายตัวของความเร็วในการจำลองและการทดลองแบบทรงกรวยให้ผลดีที่สุด จากนั้นเมื่อติดตั้ง MDU ทำให้ระดับความดันในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพทุกรูปทรงมีค่าสูงขึ้นในทุกความเร็วการไหลเข้าและมีลักษณะการไหลที่คล้ายกันในทุกรูปทรงการไหล เช่นเดียวกับการบรรจุโครงเลี้ยงเซลล์ใน MDU และติดตั้งในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพทำให้ความเค้นเฉือนอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการสร้างกระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์ที่ 0.1-10 mPa [10] ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion

โดยปกติโครงสร้างความเป็นรูพรุนของกระดูกอยู่ที่ประมาณ 70-90% [51] ดังนั้น ในการศึกษาผลกระทบความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ต่อสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ ที่จำลองการเปลี่ยนแปลงขนาดของรูบน MDU และความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ลดลงที่แสดงถึงการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ต้นไปสู่การสร้างเซลล์กระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์ไม่ได้ส่งผลกระทบต่อความดัน แต่มีผลกระทบในเชิงบวกของความเร็วในการไหลผ่านโครงเลี้ยงเซลล์ที่รวมไปถึงความเค้นเฉือนที่เกิดขึ้นในโครงเลี้ยงเซลล์ อาจเป็นข้อเท็จจริงที่ว่าความเป็นรูพรุนที่ลดลงความเร็วในการสร้างเซลล์กระดูกบนโครงเลี้ยงเซลล์ที่สูง อย่างไรก็ตาม การผลิตโครงเลี้ยงที่มีความเป็นรูพรุนต่ำ อาจไม่เหมาะสมกับการให้ความเร็วในการไหลเข้าสูง ๆ ในบางกรณีที่ศึกษา

ดังนั้นการนำโครงสร้างของสมการ triply-periodic minimal surface: TPMS มาเป็นต้นแบบในการจำลองและสร้างชิ้นโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ทั้ง 5 แบบ ให้มีความเป็นรูพรุนตั้งแต่ 50-80% มาใช้ในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion 1 ทิศทางการไหลในการจำลองและการทดลอง 3 รูปทรง มีความสอดคล้องกันแต่ในช่วงความเร็วในการไหลเข้าต่ำ ๆ แต่เมื่อเพิ่มความเร็วในการไหลเข้าเพิ่มขึ้นผลที่ได้จากการทดลองมีค่าที่สูงกว่าการจำลอง 2-3 เท่า เป็นการไหลแบบ turbulent flow จึงทำให้ผลที่ได้มีค่ามากกว่าการจำลอง และโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่ให้ความเค้น

เดือนที่สูงที่สุดในทุกรูปทรงการไหล เป็นแบบ Gyroid และที่ให้ความเค้นเดือนน้อยที่สุดเป็นโครงเลี้ยงเซลล์แบบ OrthoCircle อาจเป็นเพราะความเป็นรูปทรงที่มาก ทำให้ความเค้นเดือนจากการไหลผ่านโครงสร้างรูปทรงเกิดขึ้นได้น้อยลง อย่างไรก็ตาม โครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้ทั้ง 5 แบบ จะให้ความเค้นเดือนที่แตกต่างกัน และความเร็วในการไหลเข้าเพิ่มขึ้นสูงกว่าที่ศึกษามา ความเค้นเดือนที่เกิดจากการไหลยังสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา ในความเค้นเดือนที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 0.1-10 mPa [10] ดังนั้น ข้อจำกัดในการใช้ระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพ 1 ทิศทางการไหล ในเรื่องทิศการไหลที่ให้แก่ระบบโครงสร้างรูปทรงโครงเลี้ยงเซลล์ได้เพียงทิศทางเดียว จึงได้มีการพัฒนาระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหล มาทำงานร่วมกับโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้ทั้ง 5 แบบ ที่อาจทำให้เกิดสภาวะทางอุทกพลศาสตร์ที่หลากหลายมากกว่า

ในการศึกษาผลกระทบของทิศทางการไหลผ่านโครงสร้างรูปทรงโครงเลี้ยงเซลล์ทั้ง 5 แบบในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหล มีผลจากการกำหนดความเร็วในการไหลเข้าที่สูงทำให้ผลที่ได้จากการทดลองมีค่าที่สูงกว่าการจำลอง 2-3 เท่าเช่นเดียวกับระบบ 1 ทิศทางการไหล และเมื่อกำหนดรูปแบบการไหลเข้า 2 ทาง และออก 1 ทาง กับ ไหลเข้า 2 ทาง และออก 2 ทาง ให้ความเร็วและความเค้นเดือนที่สูงสุดของการไหลผ่านโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ทั้ง 5 แบบ และโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่ให้ความเค้นเดือนสูงสุดเป็นแบบ Schwarz_P และ Gyroid เช่นเดียวกันกับการจำลองและการทดลอง อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบกับระบบ 1 ทิศทางการไหล ผลกระทบของความเค้นเดือนที่เกิดความเร็วในการไหลเข้าเดียวกันมีค่าใกล้เคียงกัน แต่ในระบบถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion หลายทิศทางการไหลสามารถให้ความเค้นเดือนบนโครงสร้างรูปทรงที่หลากหลายมากกว่า จึงนำไปสู่การจำลองสภาวะการไหลในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ perfusion และโครงสร้างโครงเลี้ยงเซลล์เบื้องต้นได้อย่างเหมาะสมในการสร้างเซลล์กระดูก ก่อนนำข้อมูลมาใช้เพื่อการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์จากวัสดุทางชีวภาพต่อการใช้งานกับร่างกาย (*in vivo*) ได้ดีต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในขั้นตอนของการสร้างรูปแบบการไหลในระบบด้วย CFD จะต้องสร้างรูปทรงที่เชื่อมกันด้วยพื้นผิวให้น้อยที่สุด เพื่อให้สะดวกในการสร้างโครงข่าย (mesh)
2. การสร้างจำลองการไหล ต้องคำนึงถึงจำนวนของ mesh ให้มากพอต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของความดันและความเร็วที่เกิดขึ้นน้อยที่สุด

3. ในการออกแบบและขึ้นรูปทางเทคโนโลยีพิมพ์วัสดุ 3 มิติ จากพลาสติกหรือพอลิเมอร์ต่าง ๆ ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้พอลิคาร์บอเนตนั้น โดยที่ตัวชิ้นงานจะต้องมีความหนาอย่างน้อย 1 mm ถึงจะถือว่าโครงสร้างนั้นมีความแข็งแรงพอที่นำมาใช้งานในด้านต่าง ๆ
4. ในขั้นตอนของการทดลองการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพนั้น ต้องเปิดการเดินระบบการไหลให้อยู่ในสถานะคงที่ก่อนทำการให้สาร Types Blue เพื่อดูลักษณะและความเร็วของการไหลในระบบนั้น ๆ
5. การทดลองการไหลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพประเภทหลายทิศทางการไหล จะต้องระวังในการปรับทิศทางการไหลของพร้อมกันสอง เนื่องจากระดับความดันขาออกในตำแหน่งไหลออกดีสซานข้างมีค่าน้อยกว่าจึงให้ทำปริมาตรของไหลจะออกในตำแหน่งนี้มากกว่าด้านบน ดังนั้นจึงต้องติดเซ็นเซอร์และวาล์วในส่วนขาออกทุกทาง และปรับวาล์วด้านข้างให้ไหลเข้าเท่ากันด้านบน
6. ในขั้นตอนของการทดลองการไหลสามารถควบคุมให้ไหลจากล่างขึ้นบน และขวาไปซ้าย และยังสามารถทำได้ทั้งสองอย่างพร้อมกัน (simultaneously) ได้แล้ว และยังสามารถการไหลให้ไหลเป็นระยะไม่ต่อเนื่อง (intermittently) กลับไปกลับมาได้ด้วย ซึ่งการพัฒนาที่ต่อยอดในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพหลายทิศทางการไหลเพิ่มเติมต่อไปได้
7. ในการติดตั้ง MDU ในระบบหลายทิศทางการไหล จะต้องระวังตำแหน่งไหลที่รูจะไม่ตรงกับแนวการไหลที่ได้กำหนดไว้
8. ในการศึกษาระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพและเครื่องเลี้ยงเซลล์ที่นำเสนอสามารถจำลองสถานะที่เกิดในเครื่องเลี้ยงเบื้องต้น เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการผลิตเครื่องเลี้ยงเซลล์จากวัสดุทางชีวภาพก่อนนำไปใช้งานต่อไป
9. ในงานวิจัยนี้ยังขาดการศึกษาในเรื่องของการทดลองการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดจริงในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาผลกระทบต่อสถานะการไหลภายในเครื่องเลี้ยงที่สร้างขึ้น

รายการอ้างอิง

1. พญาไท. สูญวัยก็กระดูกแข็งแรงได้... แค่ทำสิ่งเหล่านี้. 2563; Available from: https://www.phyathai.com/article_detail.
2. Throckmorton, T.W. *Fractures (Broken Bones)*. 2021; Available from: <https://orthoinfo.aaos.org/en/diseases--conditions/fractures-broken-bones/>.
3. Gorter, E.A., et al., *The effect of osteoporosis and its treatment on fracture healing a systematic review of animal and clinical studies*. Bone Reports, 2021. 15: p. 101117.
4. Weyand, B., et al., *Three-Dimensional Modelling inside a Differential Pressure Laminar Flow Bioreactor Filled with Porous Media*. BioMed Research International, 2015. 2015: p. 320280.
5. King, J.A. and W.M. Miller, *Bioreactor development for stem cell expansion and controlled differentiation*. Current opinion in chemical biology, 2007. 11(4): p. 394-398.
6. Bhaskar, B., et al., *Design and assessment of a dynamic perfusion bioreactor for large bone tissue engineering scaffolds*. Applied biochemistry and biotechnology, 2018. 185(2): p. 555-563.
7. Guyot, Y., et al., *A three-dimensional computational fluid dynamics model of shear stress distribution during neotissue growth in a perfusion bioreactor*. Biotechnol Bioeng, 2015. 112(12): p. 2591-2600.
8. Lu, Y., et al., *The anisotropic elastic behavior of the widely-used triply-periodic minimal surface based scaffolds*. Journal of the mechanical behavior of biomedical materials, 2019. 99: p. 56-65.
9. Zhao, F., et al., *Flow rates in perfusion bioreactors to maximise mineralisation in bone tissue engineering in vitro*. Journal of Biomechanics, 2018. 79: p. 232-237.
10. McCoy, R.J. and F.J. O'Brien, *Influence of Shear Stress in Perfusion Bioreactor Cultures for the Development of Three-Dimensional Bone Tissue Constructs: A Review*. Tissue Engineering Part B: Reviews, 2010. 16(6): p. 587-601.

11. Egger, D., et al., *Development and characterization of a parallelizable perfusion bioreactor for 3D cell culture*. Bioengineering, 2017. 4(2): p. 51.
12. Mohamed, A.M., *An overview of bone cells and their regulating factors of differentiation*. The Malaysian journal of medical sciences: MJMS, 2008. 15(1): p. 4.
13. กายวิภาคศาสตร์. ลักษณะและองค์ประกอบของกระดูกแข็งยาวในระดับมหากายวิภาค. Available from: <http://www.cai.md.chula.ac.th/lesson/histology/unit04/html/pic04.html>.
14. Oftadeh, R., et al., *Biomechanics and mechanobiology of trabecular bone: a review*. Journal of biomechanical engineering, 2015. 137(1).
15. Samanthi. *Difference Between Endochondral Ossification and Intramembranous Ossification*. 2017; Available from: <https://www.differencebetween.com/difference-between-endochondral-ossification-and-vs-intramembranous-ossification/>.
16. Medecine. *Histogenesis of Bone, Repair of Bone fractures, Steps of Bone Growth*. 2021; Available from: <https://www.online-sciences.com/tag/intramembranous-ossification/>.
17. Burr, D.B., et al., *In vivo measurement of human tibial strains during vigorous activity*. Bone, 1996. 18(5): p. 405-410.
18. Boltshauser, E. and K.P. Weber, *Chapter 17 - Laboratory investigations*, in *Handbook of Clinical Neurology*, M. Manto and T.A.G.M. Huisman, Editors. 2018, Elsevier. p. 287-298.
19. admin. *Connective Tissue*. 2020; Available from: <https://www.w3schools.blog/connective-tissue>.
20. Batchelor, G.K., *An introduction to fluid dynamics*. 2000: Cambridge university press.
21. Fernandez-Yague, M.A., et al., *Biomimetic approaches in bone tissue engineering: Integrating biological and physicommechanical strategies*. Advanced drug delivery reviews, 2015. 84: p. 1-29.
22. Rauh, J., et al., *Bioreactor systems for bone tissue engineering*. Tissue Engineering Part B: Reviews, 2011. 17(4): p. 263-280.

23. Sync-innovation. *Engineering Plastic*. 2019; Available from: <https://www.sync-innovation.com/3d-printing-materials/engineering-plastic-3d-printer/>.
24. Kumbhar, S. and S. Pawar, *Selffunctionalized, oppositely charged chitosanalgininate scaffolds for biomedical applications*. *BioTechnology: An Indian Journal*, 2017. 13(2): p. 1-15.
25. Zhang, X., et al., *Biomimetic scaffold design for functional and integrative tendon repair*. *Journal of shoulder and elbow surgery*, 2012. 21(2): p. 266-277.
26. Alam, S., et al., *Expression of bone morphogenetic protein 2 and fibroblast growth factor 2 during bone regeneration using different implant materials as an onlay bone graft in rabbit mandibles*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2007. 103(1): p. 16-26.
27. Devescovi, V., et al., *Growth factors in bone repair*. *La Chirurgia degli organi di movimento*, 2008. 92(3): p. 161-168.
28. Evans, N.D., E. Gentleman, and J.M. Polak, *Scaffolds for stem cells*. *Materials Today*, 2006. 9(12): p. 26-33.
29. Jain, D. and D. Bar-Shalom, *Alginate drug delivery systems: application in context of pharmaceutical and biomedical research*. *Drug development and industrial pharmacy*, 2014. 40(12): p. 1576-1584.
30. Lovecchio, J., et al., *A standalone bioreactor system to deliver compressive load under perfusion flow to hBMSC-seeded 3D chitosan-graphene templates*. *Scientific Reports*, 2019. 9(1): p. 16854.
31. Martin, I., D. Wendt, and M. Heberer, *The role of bioreactors in tissue engineering*. *TRENDS in Biotechnology*, 2004. 22(2): p. 80-86.
32. Hoffmann, W., et al., *Novel Perfused Compression Bioreactor System as an in vitro Model to Investigate Fracture Healing*. *Front Bioeng Biotechnol*, 2015. 3: p. 10.
33. ศรีชมภู, ก., ภ. สูงรุ่ง, and ณ. สุกศักดิ์, อิทธิพลของตัวเลขเรย์โนลด์ต่อการเกิดการหมุนวนสำหรับวัสดุสองมิติ. 2558.
34. Weyand, B., et al., *Three-Dimensional Modelling inside a Differential Pressure Laminar Flow Bioreactor Filled with Porous Media*. *Biomed Res Int*, 2015. 2015: p. 320280.

35. Chai, Z., et al., *Lattice Boltzmann model for high-order nonlinear partial differential equations*. Phys Rev E, 2018. 97(1-1): p. 013304.
36. ออภาชะลา, ธ., *Fluid Mechanics*. 2553.
37. Werayoot, L., *Application of K-epsilon and K-omega Turbulence Model for Rotation Analysis of Vertical Axis Water Turbine Generator for Community*. UBU Engineering Journal, 2018.
38. Menter, F.R., *Two-equation eddy-viscosity turbulence models for engineering applications*. AIAA Journal, 1994. 32(8): p. 1598-1605.
39. Roberts, I.A., et al., *A three-dimensional finite element analysis of the temperature field during laser melting of metal powders in additive layer manufacturing*. International Journal of Machine Tools and Manufacture, 2009. 49(12): p. 916-923.
40. Malan, P., K. Suluksna, and E. Juntasaro, *Calibrating the Gamma-Re_theta Transition Model for Commercial CFD*, in *47th AIAA Aerospace Sciences Meeting including The New Horizons Forum and Aerospace Exposition*. 2009, American Institute of Aeronautics and Astronautics.
41. Ma, C.Y.J., et al., *A combined fluid dynamics, mass transport and cell growth model for a three-dimensional perfused bioreactor for tissue engineering of haematopoietic cells*. Biochemical Engineering Journal, 2007. 35(1): p. 1-11.
42. Reichardt, A., et al., *Large scale expansion of human umbilical cord cells in a rotating bed system bioreactor for cardiovascular tissue engineering applications*. Open Biomed Eng J, 2013. 14: p. 50-61.
43. Lambrechts, T., et al., *Evaluation of a monitored multiplate bioreactor for large-scale expansion of human periosteum derived stem cells for bone tissue engineering applications*. Biochemical Engineering Journal, 2016. 108: p. 58-68.
44. Schmid, J., et al., *A perfusion bioreactor system for cell seeding and oxygen-controlled cultivation of three-dimensional cell cultures*. Tissue Engineering Part C: Methods, 2018. 24(10): p. 585-595.
45. Khayyeri, H., et al., *Tissue differentiation in an in vivo bioreactor: in silico investigations of scaffold stiffness*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2010. 21(8): p. 2331-2336.

46. Zohar, B., et al., *Multi-flow channel bioreactor enables real-time monitoring of cellular dynamics in 3D engineered tissue*. *Communications Biology*, 2019. 2(1): p. 158.
47. Refai, K., et al., *An experimental and numerical study of the high cycle multiaxial fatigue strength of titanium lattice structures produced by Selective Laser Melting (SLM)*. *International Journal of Fatigue*, 2020. 138: p. 105623.
48. PubChem, *Compound Summary for CID 9 5 6 2 0 6 1* . National Center for Biotechnology Information, 2022.
49. Adeniji, D., et al., *Characterization and Modeling of Surface Roughness and Burr Formation in Slot Milling of Polycarbonate*. *Journal of Manufacturing and Materials Processing*, 2020. 4(2): p. 59.
50. Jeong, S.-W. and S.-S. Park, *Effect of the Surface Roughness on the Shear Strength of Granular Materials in Ring Shear Tests*. *Applied Sciences*, 2019. 9(15): p. 2977.
51. Ghose, S., et al., *The design and in vivo testing of a locally stiffness-matched porous scaffold*. *Applied Materials Today*, 2019. 15: p. 377-388.





ภาคผนวก



ภาคผนวก ก

การสร้างแบบจำลองพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (Computational Fluid Dynamics: CFD)

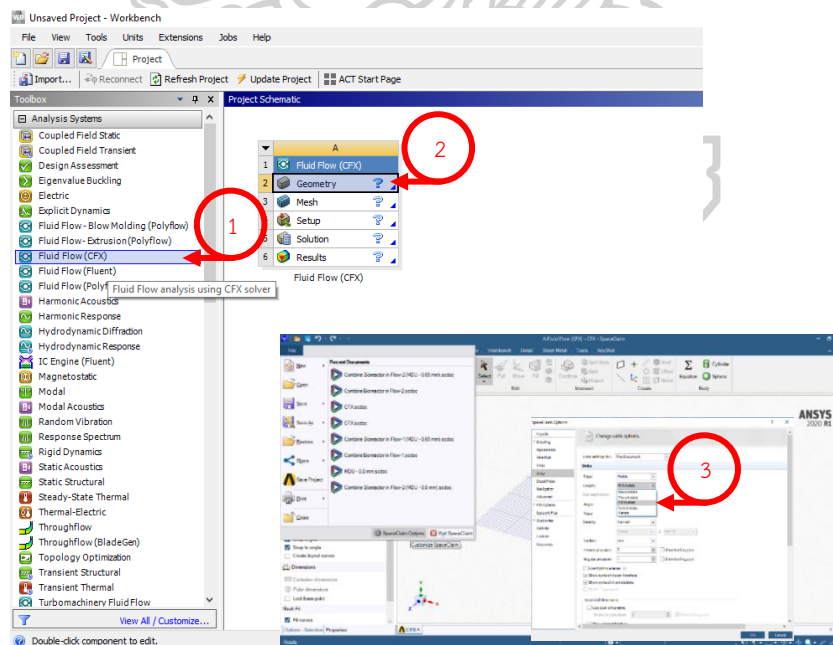
แบบจำลองพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (Computational Fluid Dynamics: CFD)

การใช้แบบจำลองพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (CFD) เป็นการใช้คอมพิวเตอร์สำหรับการวิเคราะห์ปัญหาทางด้านพลศาสตร์ของไหล (Fluid Dynamics) โดยมีพื้นฐานในการพิจารณาของไหลที่มีความต่อเนื่องให้อยู่ในรูปของลักษณะเป็นช่วงโดยอาศัยคอมพิวเตอร์ เพื่อตรวจสอบและประเมินปรากฏการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการไหลต่างๆ การถ่ายเทความร้อน และความดันที่เกิดขึ้น รวมถึงการแพร่กระจายของอนุภาคในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพ โดยการใช้ซอฟต์แวร์ Ansys Workbench ในการออกแบบและการใช้แบบจำลองการไหล ดังต่อไปนี้

1. การสร้างรูปทรงโดยใช้ DM (Design Modeller)

1.1 เปิดโปรแกรม Ansys® Workbench และดำเนินการตามลำดับดังนี้

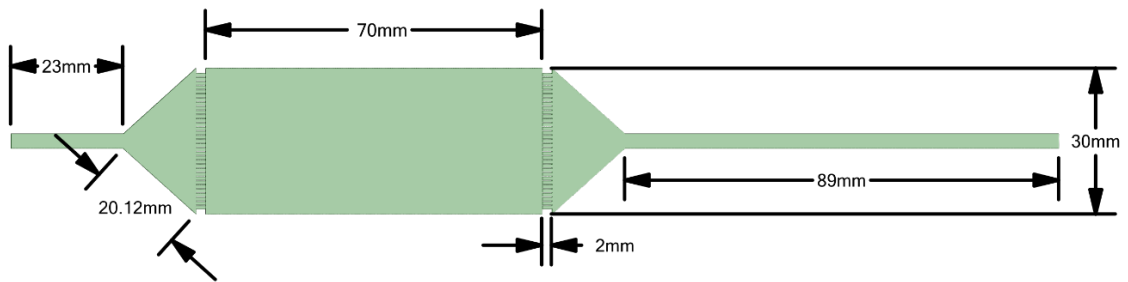
- คลิกเลือก Fluid Flow (CFX) (หมายเลข 1) เพื่อเข้าสู่โหมดการคำนวณพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณของของไหลต่างๆ (CFD ซึ่งย่อมาจาก Computational Fluid Dynamics)
- ดับเบิลคลิก Geometry (หมายเลข 2) เพื่อเข้าสู่โหมดการสร้างรูปทรงของระบบ
- คลิกเลือก File เลือกไปที่ SpaceClaim Options และเลือก Units เป็นหน่วย Millimeter (หมายเลข 3) คลิกเลือก OK เพื่อกำหนดหน่วยการวัดขนาดที่จะใช้ในโปรแกรม



ภาพที่ ก-1 เปิดโปรแกรม Ansys® Workbench

1.2 การสร้างรูปทรงของปัญหาในการไหล

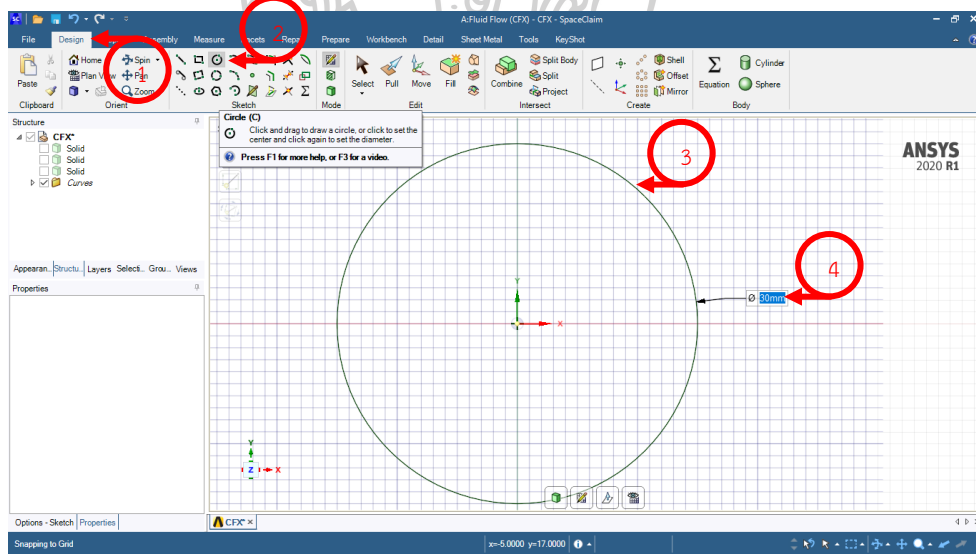
ลักษณะของปัญหาที่วิเคราะห์เป็นแท่งของเหลวทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 mm ยาว 70 mm เป็นลักษณะของของเหลวที่ไหลภายในระบบ ดังรูป ก-2



ภาพที่ ก-2 ภาพตัดขวางลักษณะของปัญหาที่วิเคราะห์เป็นแท่งของเหลวทรงกระบอก ภายในถังปฏิกรณ์

1.2.1 ขั้นตอนการวาดโครง 2 มิติ มีขั้นตอนการสร้างดังนี้

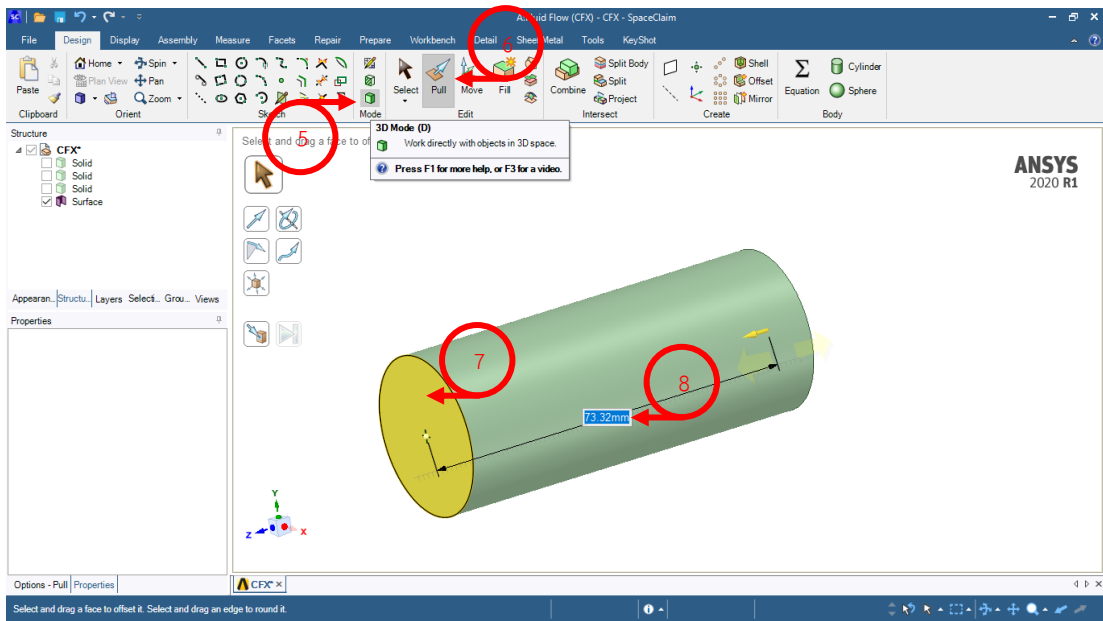
- คลิกเลือก Design (หมายเลข 1) เพื่อเข้าสู่โหมดการวาดรูป
- คลิกเลือก Circle (หมายเลข 2) เพื่อเข้าสู่โหมดการวาดรูปวงกลม
- วงเมาส์ที่จุดตัดแกนแนวลากออกด้านนอกจะได้วงกลมดังแสดงในหมายเลข 3
- คลิกเลือกที่ \varnothing (หมายเลข 4) จากนั้นกำหนดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตามที่ต้องการ



ภาพที่ ก-3 ขั้นตอนการวาดโครง 2 มิติ

1.2.2 ขั้นตอนการขึ้นรูปทรง 3 มิติ มีขั้นตอนการสร้างดังนี้

- คลิกเลือก 3D Mode (หมายเลข 5) เพื่อเข้าสู่โหมดการขึ้นรูปทรง 3 มิติ
- คลิกเลือก Pull (หมายเลข 6) เพื่อขึ้นรูปทรงจากภาพวาดวงกลมเป็นรูปทรงกระบอก 3 มิติ
- คลิกค้างไปที่พื้นที่ที่ต้องการจะสร้างเป็นรูปทรงแนวลากออกด้านนอกจะได้รูปทรงกระบอก 3 มิติ ดังแสดงในหมายเลข 7
- ป้อนค่า 70 (หมายเลข 8) เพื่อกำหนดความยาวของทรงกระบอก 3 มิติที่จะขึ้นรูป



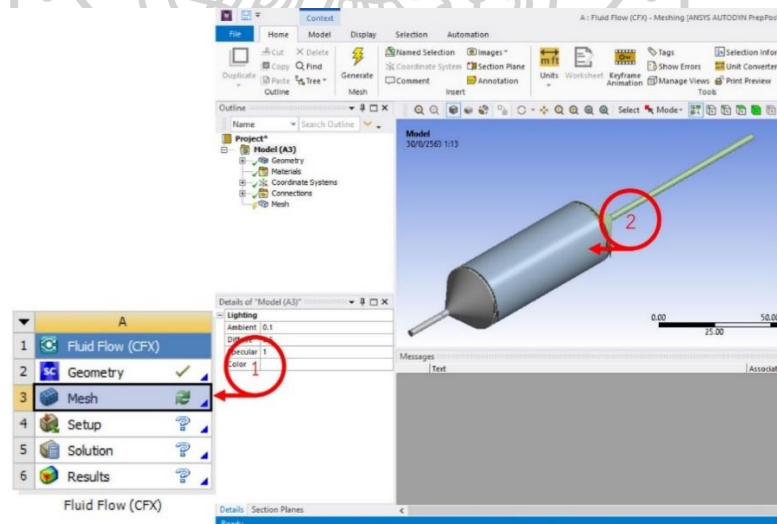
ภาพที่ ก-4 ขั้นตอนการขึ้นรูปทรง 3 มิติ

2. การสร้าง Mesh โดยใช้โปรแกรม Ansys® Workbench

บนหน้าจอ Ansys® Workbench ให้ดำเนินการตามลำดับดังนี้

2.1 การกำหนดสมบัติของรูปทรง

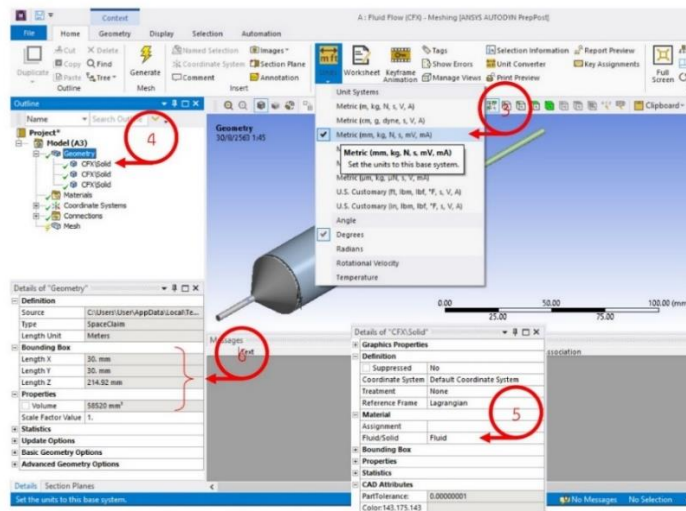
- ดับเบิลคลิก Mesh (หมายเลข 1) เพื่อโหลดรูปทรงที่สร้างจาก DM มาไว้บนหน้าจอหลักของ Ansys® จะได้รูปดังแสดงในหมายเลข 2



ภาพที่ ก-5 การโหลดรูปทรงที่สร้างจาก DM มาไว้บนหน้าจอหลักของ Ansys®

- คลิกเลือก Units เป็นหน่วย Metric (mm, kg, N, mV, mA) เพื่อให้กำหนดหน่วยการวัดขนาดที่จะใช้ในโปรแกรม (หมายเลข 3)

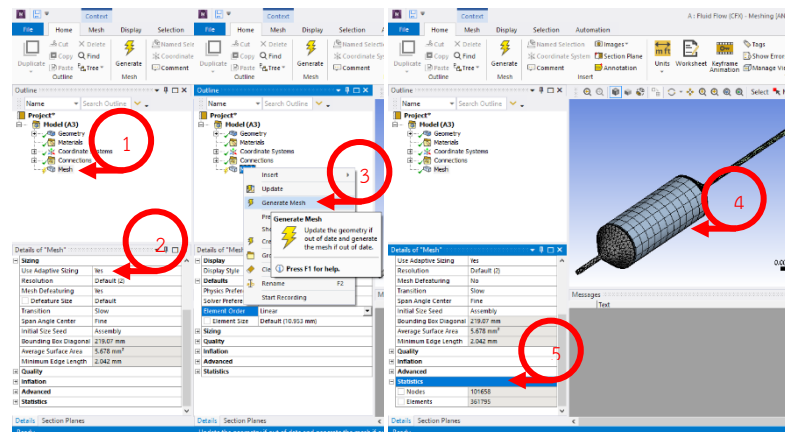
- คลิกเครื่องหมาย + หน้า Geometry (หมายเลข 4) และคลิกที่ CFX/Solid
- คลิกเครื่องหมาย + หน้า Material (หมายเลข 5) และเลือกชนิดของวัสดุเป็น Fluid
- คลิกเครื่องหมาย + หน้า Bounding Box และ Properties (หมายเลข 5) เพื่อตรวจสอบขอมูลต่างๆ และปริมาตรของรูปทรงที่สร้างขึ้น



ภาพที่ ก-6 การกำหนดหน่วยการวัดขนาดที่จะใช้ในโปรแกรม

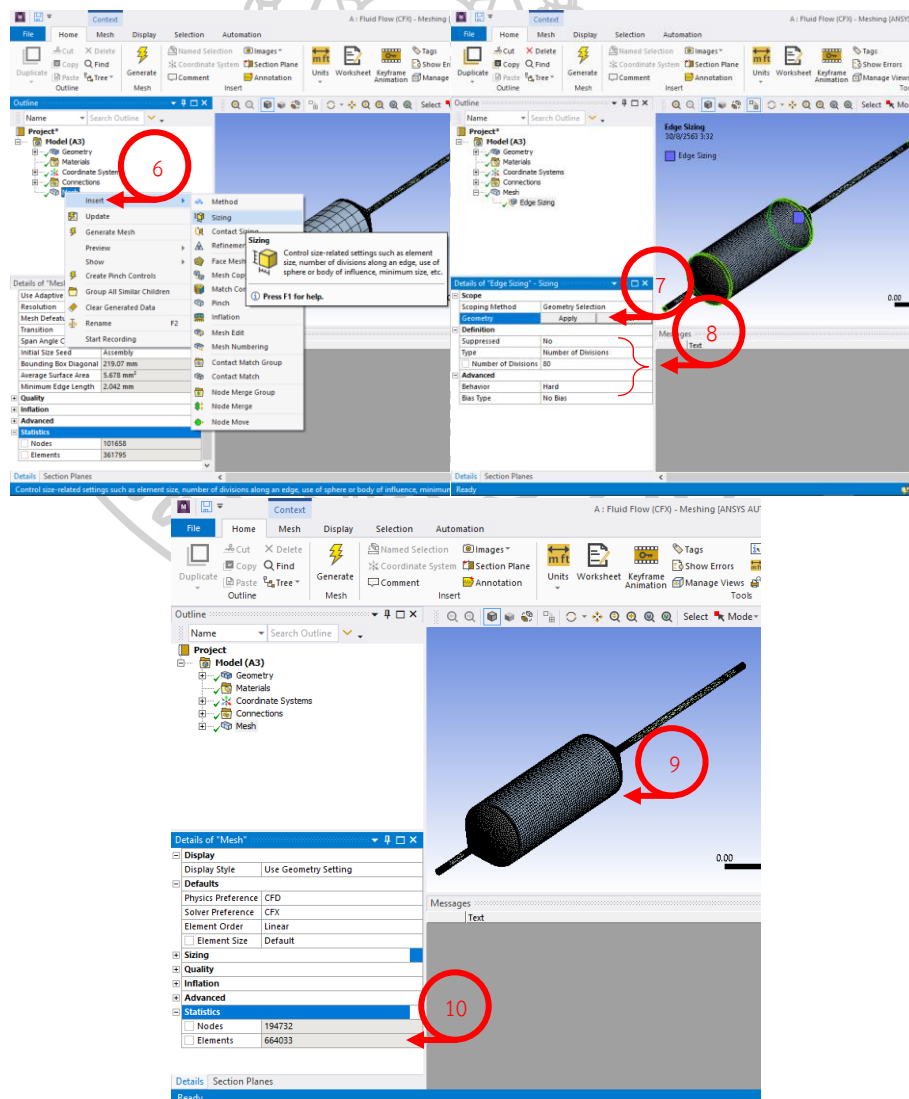
2.2 การสร้างเมช

- คลิกที่ Mesh (หมายเลข 1) จะได้หน้าต่าง Detail of "Mesh"
- คลิกเครื่องหมาย + หน้า Sizing คลิกที่ Use Adaptive Sizing เลือก Yes (หมายเลข 2) เพื่อกำหนดให้สร้างเมชแบบหยาบๆ
- คลิกเมาส์ปุ่มขวาที่ Mesh และเลือก Generate Mesh (หมายเลข 3) เพื่อสร้างเมชจะได้เมชที่มีลักษณะดังแสดงในหมายเลข 4
- คลิกที่ Statistics (หมายเลข 5) เพื่อตรวจสอบข้อมูลของเมชที่สร้างได้



ภาพที่ ก-7 การกำหนดให้สร้างเมชแบบหยาบๆ

- คลิกเมาสปุ่มขวาที่ Mesh และเลือก Insert (หมายเลข 6) เลือก Sizing เพื่อสร้างเมชให้มีความละเอียดมากขึ้น
- คลิกเลือก Sizing จากนั้นคลิก Geometry แล้ว Apply (หมายเลข 7) เพื่อต้องการเพิ่มความละเอียดของเหลี่ยมนั้น
- คลิกที่ Type เลือก Number of Divisions แล้วป้อนค่า 80 จากนั้นคลิก Behavior แล้วเลือก Hard ดังแสดงในหมายเลข 8
- คลิกเมาสปุ่มขวาที่ Mesh และเลือก Generate Mesh เพื่อสร้างเมชจะได้เมชที่มีลักษณะดังแสดงในหมายเลข 9
- คลิกที่ Mesh คลิกเครื่องหมาย + หน้า Statistics (หมายเลข 10) เพื่อตรวจสอบข้อมูลของเมชที่สร้างได้



ภาพที่ ก-8 การกำหนดให้สร้างเมชแบบละเอียด

2.3 การกำหนดชนิดของเงื่อนไขขอบสำหรับการไหล

เงื่อนไขขอบสำหรับการไหลมี 3 ส่วนหลัก ได้แก่

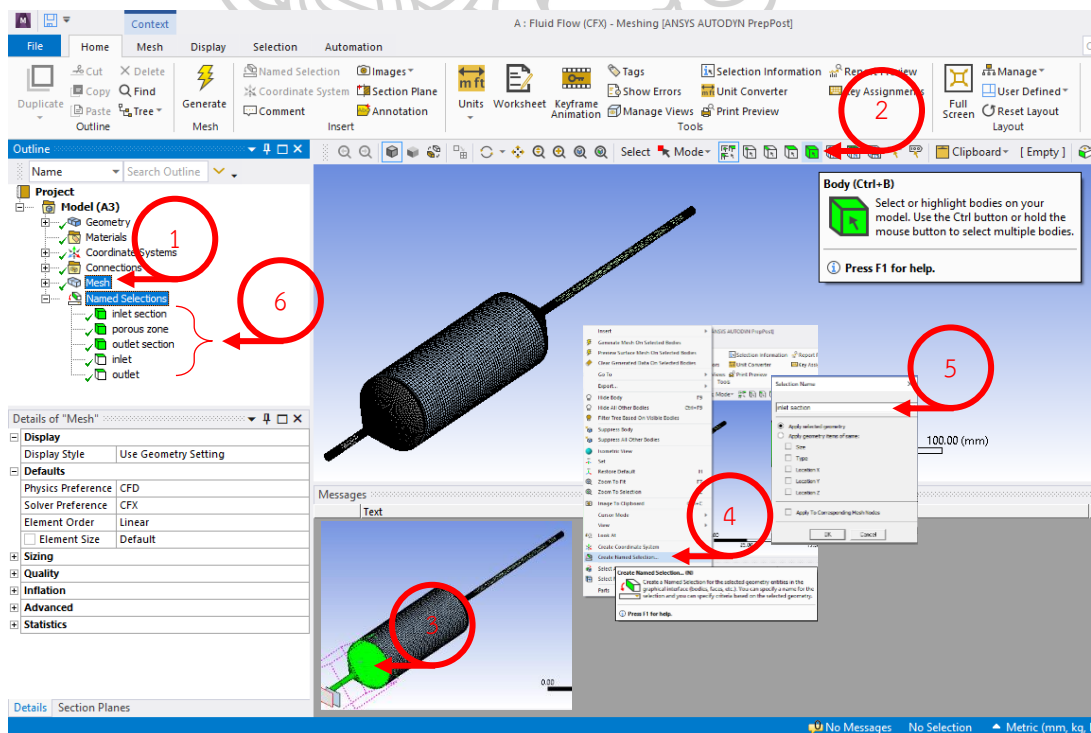
- Inlet section เป็นการกำหนดส่วนขาเข้าให้กับวัตถุที่วิเคราะห์
- Porous zone เป็นการกำหนดส่วนโครงสร้างรูพรุนของโครงสร้างเซลล์ที่มีค่าการซึมผ่านของของไหลให้กับวัตถุที่วิเคราะห์
- outlet section เป็นการกำหนดส่วนขาออกให้กับวัตถุที่วิเคราะห์

เงื่อนไขขอบย่อยๆ สำหรับการไหลมี 2 ส่วน ได้แก่

- Inlet กำหนดส่วนขาเข้าให้กับวัตถุที่วิเคราะห์
- outlet กำหนดส่วนขาออกให้กับวัตถุที่วิเคราะห์

การกำหนดเงื่อนไขแต่ละรูปแบบทำได้ในลักษณะเดียวกัน ดังนี้

- คลิกที่ Mesh (หมายเลข 1) แล้วคลิกเลือก Body (หมายเลข 2) เพื่อกำหนดส่วนหลักต่างๆ ที่ต้องการ
- คลิกเมาสปุ่มขวาที่ส่วนที่ต้องการ (หมายเลข 3) คลิกเลือก Create Named Selections... แล้วพิมพ์ Inlet section (หมายเลข 4-5)
- คลิกเครื่องหมาย + หน้า Named Selections เพื่อตรวจสอบข้อมูลของส่วนต่างๆ ที่สร้างขึ้น



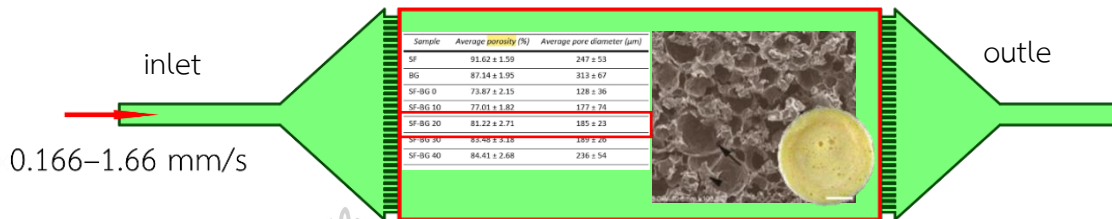
ภาพที่ ก-9 กำหนดส่วนหลักต่างๆ ของรูปแบบการไหล

3. การกำหนดและตั้งค่าโดยใช้โปรแกรม Ansys® Workbench

บนหน้าจอ Ansys® Workbench ให้ดำเนินการตามลำดับดังนี้

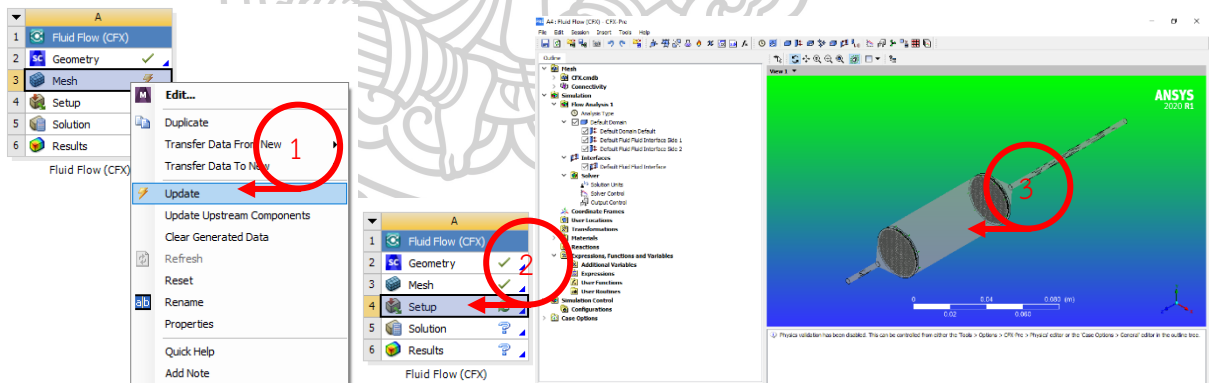
3.1 การกำหนดสมบัติและปัญหาของการไหล

โดยที่ลักษณะของการไหลที่วิเคราะห์มีอัตราการไหลที่แปรผันตั้งแต่ 0.5-5 mL/min (0.166–1.66 mm/s) ที่ 37°C และความเป็นรูพรุนที่ $81.22 \pm 2.71\%$ ดังรูป ก-10



ภาพที่ ก-10 ภาพตัดขวางลักษณะของปัญหาที่วิเคราะห์เป็นแท่งของเหลวทรงกระบอก ภายในถังปฏิกรณ์ และ ณ ตำแหน่งที่มีการติดตั้งหรือบรรจุโครงเลี้ยงเซลล์ (กรอบสีแดง)

- คลิกเมาสปุ่มขวาที่ Mesh และเลือก Update เพื่อไหลรูปทรงที่สร้างจาก Mesh แล้วดำเนินการในระบบ Setup ลำดับต่อไป ดังแสดงในหมายเลข 1
- ดับเบิลคลิก Setup (หมายเลข 2) เพื่อตั้งค่าการไหลตข้อมูลจากที่กล่าวมาข้างต้น บนหน้าจอหลักของ Ansys จะได้รูปดังแสดงในหมายเลข 3

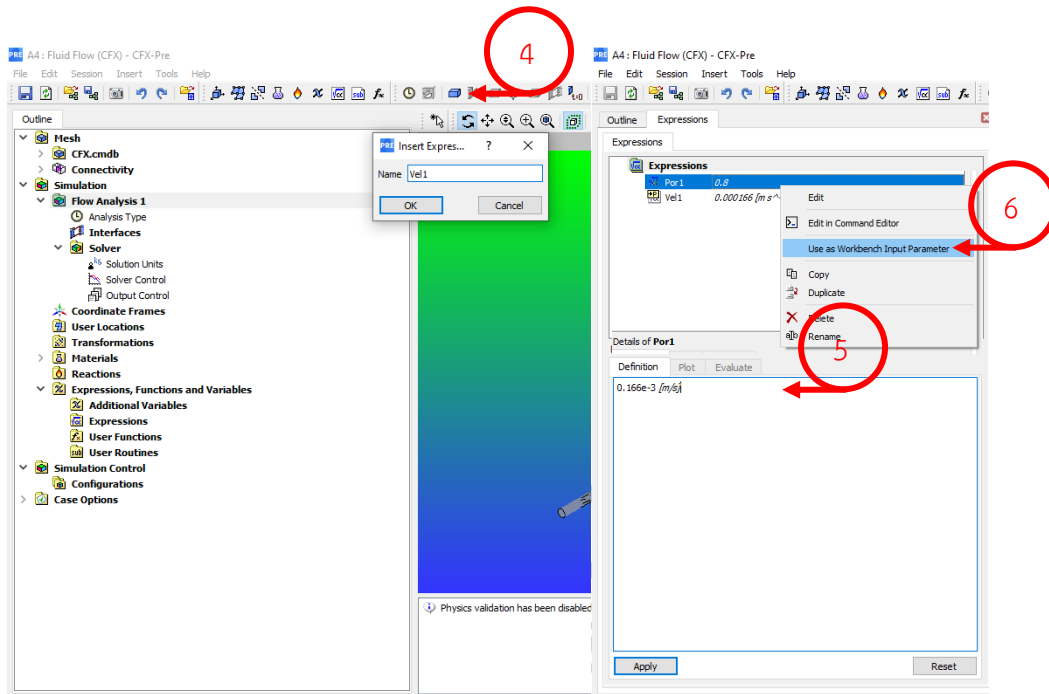


ภาพที่ ก-11 การไหลตข้อมูลจากที่กล่าวมาข้างต้น บนหน้าจอหลักของ Ansys

การกำหนดเงื่อนไขแต่ละรูปแบบทำได้ในลักษณะเดียวกัน ดังนี้

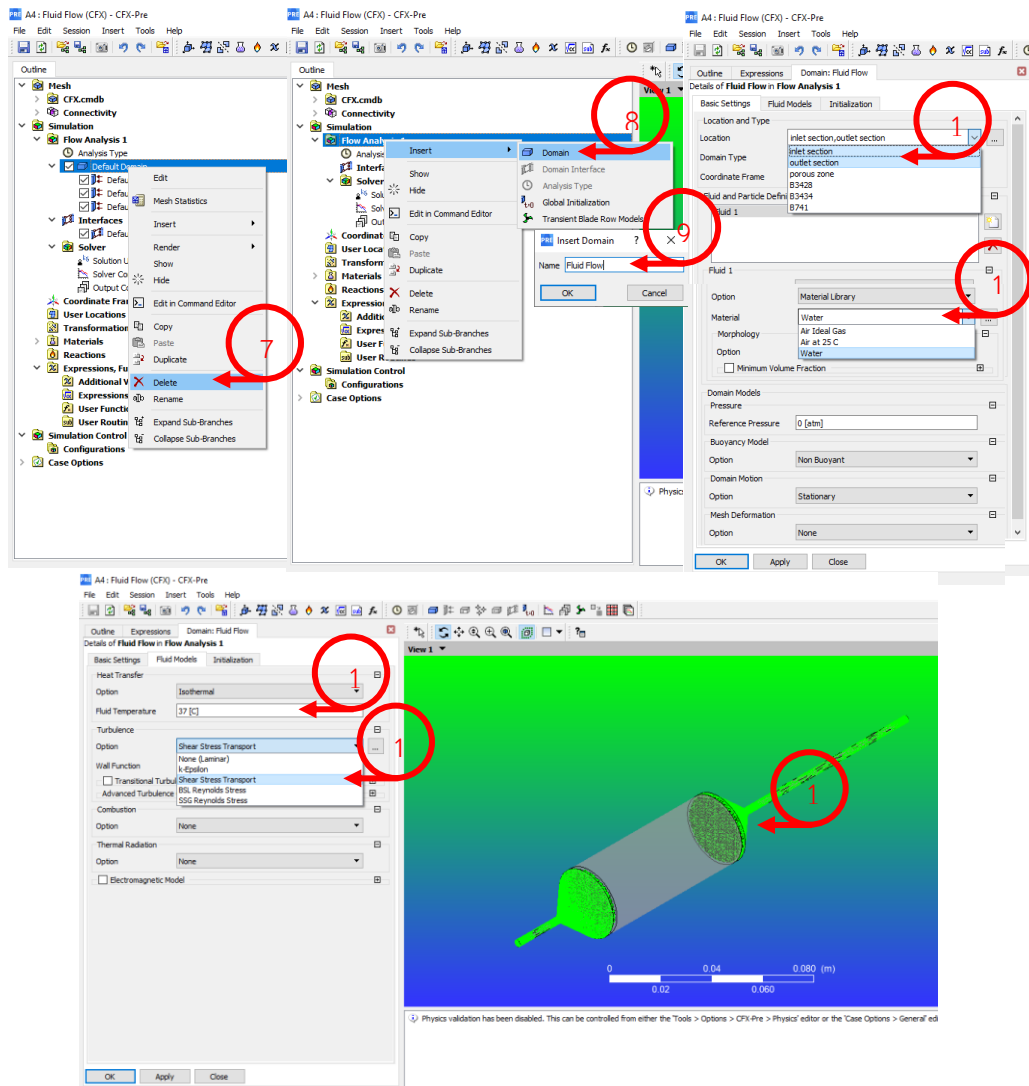
- คลิกเลือกที่ Expressions แล้วพิมพ์ Vel1 เพื่อสร้างตัวแปรของอัตราการไหลเริ่มต้น แล้ว OK ดังแสดงในหมายเลข 4
- คลิกที่ช่องว่าง Definition พิมพ์ $0.166e-3$ [m/s] แล้วคลิก Apply (หมายเลข 5) เพื่อกำหนดค่าตัวแปรของอัตราการไหลเริ่มต้น

- คลิกเมาสปุ่มขวาที่ Vel1 ที่สร้างขึ้นมาแล้วเลือก Use as Workbench Input Parameter เพื่อกำหนดตัวแปรเริ่มต้นของระบบ แสดงในหมายเลข 6



ภาพที่ ก-12 การสร้างตัวแปรของอัตราการไหลเริ่มต้น

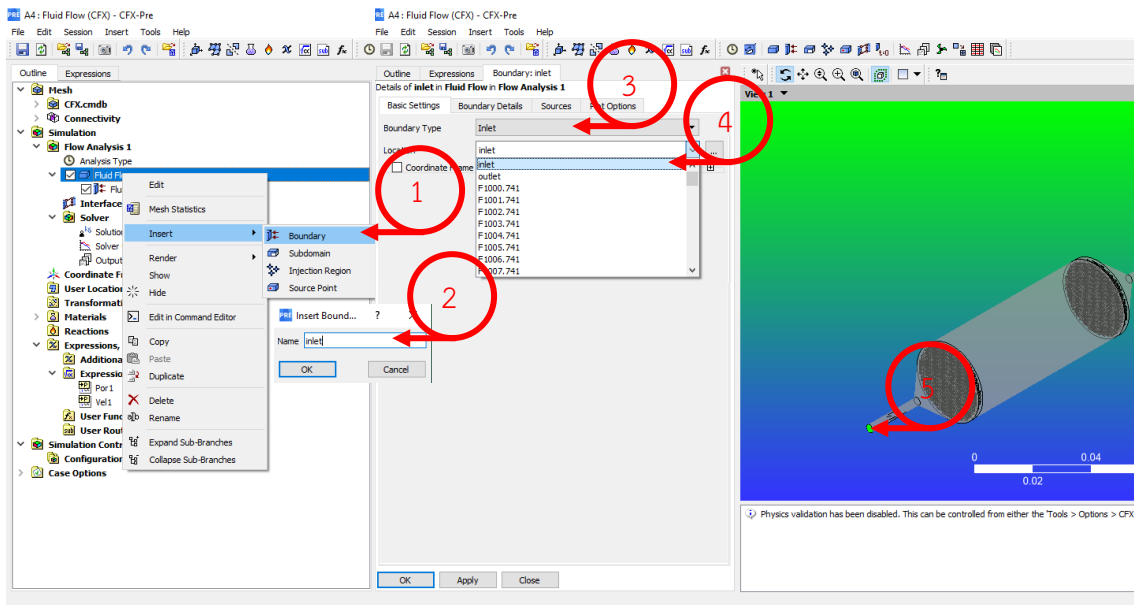
- คลิกเมาสปุ่มขวาที่ Default Domain และเลือก Delete เพื่อลบโดเมนที่โปรแกรมสร้างมาอัตโนมัติออกแล้วสร้างโดเมนใหม่ขึ้นมาตามที่ต้องการ ดังแสดงในหมายเลข 7
- คลิกเมาสปุ่มขวาที่ Flow Analysis 1 เลือก Insert แล้วคลิกที่ Domain (หมายเลข 8) แล้วพิมพ์ Fluid Flow แล้วกด OK เพื่อสร้างและกำหนดโดเมนใหม่ของชนิดวัตถุในการไหลเข้า-ออก ดังแสดงในหมายเลข 9
- อยู่ในโหมด Basic Settings คลิกเครื่องหมาย v ที่ Location แล้ว Inlet section และ outlet section โดยการกด Ctrl+คลิก จะเกิดส่วนสี่เหลี่ยมที่โดเมนวัตถุ (หมายเลข 10) เพื่อเลือกโดเมนหรือส่วนที่ได้กำหนดไว้ตอนการสร้าง Mesh
- คลิกเครื่องหมาย v ที่ Material เลือกเป็น Water ที่ Reference Pressure เป็น 0 [atm] (หมายเลข 11) เพื่อกำหนดวัสดุของโดเมนนั้นๆ ว่าเป็นน้ำที่ไหลอยู่ในระบบ
- คลิกที่โหมด Fluid Models โดย Heat Transfer เป็น Isothermal คลิกเลือกที่ Fluid Temperature เป็น 37 [C] (หมายเลข 12) และ Turbulence ของ Option เป็น Shear Stress Transport แล้วกด OK เพื่อกำหนดอุณหภูมิและสมการของการไหล ดังแสดงในหมายเลข 13



ภาพที่ ก-13 การกำหนดโดเมนใหม่ของชนิดวัตถุในการไหลเข้า-ออก สภาวะอุณหภูมิ และสมการของการไหล

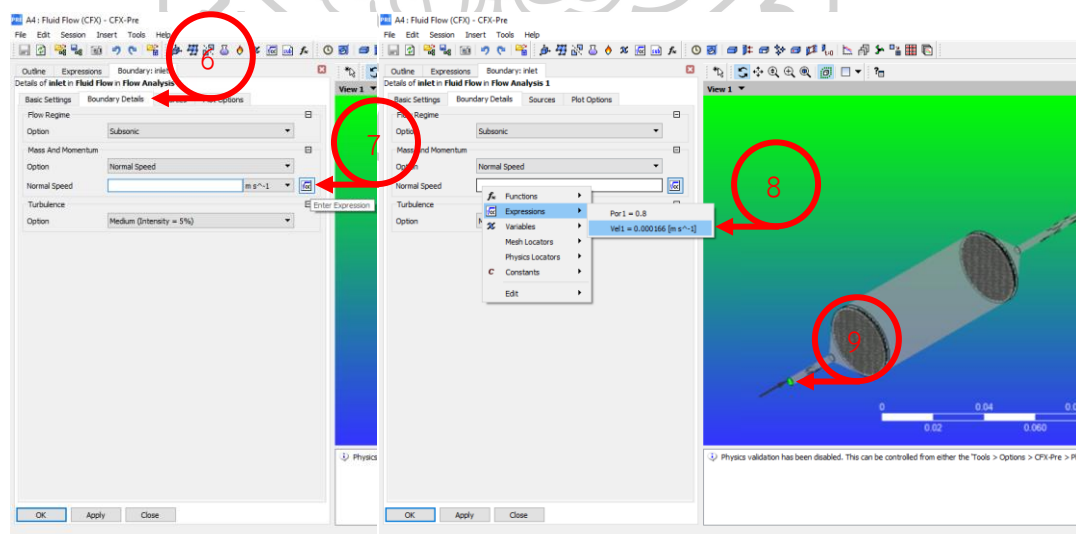
การกำหนดเงื่อนไขการไหลเข้า-ออก

- คลิกเมาสปุ่มขวาที่ Fluid Flow คลิกที่ Insert เลือก Boundary (หมายเลข 1) แล้วพิมพ์ inlet (หมายเลข 2) แล้วกด OK และเลือก Boundary Type เป็น Inlet (หมายเลข 3) เพื่อกำหนดการไหลเข้าของวัตถุ
- คลิกเครื่องหมาย v ที่ Location แล้วเลือกส่วนในการไหลของวัตถุนั้น inlet (หมายเลข 4) จะเกิดส่วนสีเขียวที่โดเมนวัตถุ (หมายเลข 5) ซึ่งอยู่ในโหมด Basic Settings เพื่อกำหนดและตั้งค่าส่วนของระบบในการไหลเข้าของวัตถุ



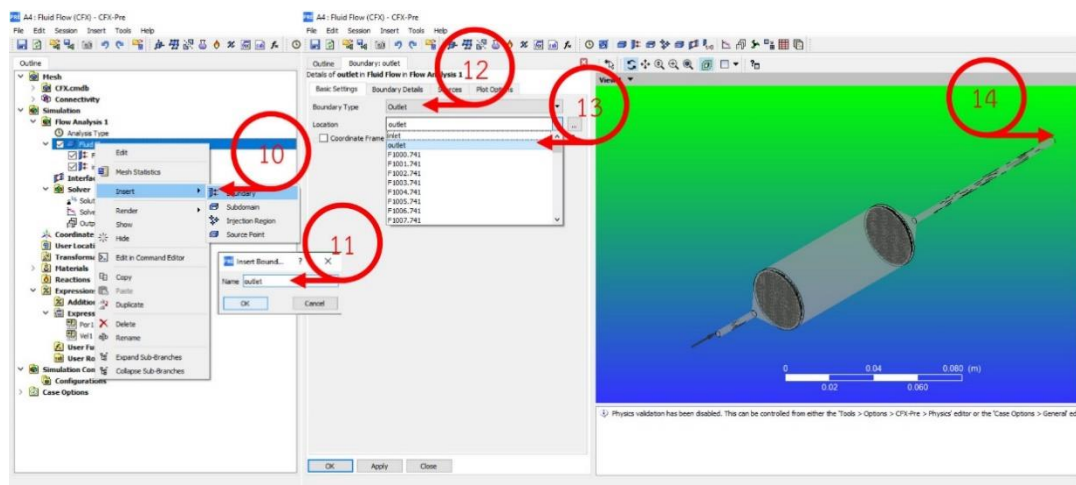
ภาพที่ ก-14 การกำหนดและตั้งค่าส่วนของระบบในการไหลเข้าของวัตถุ

- คลิกที่เมนู Boundary Details (หมายเลข 6) โดย Mass And Momentum ของ Option เป็น Normal Speed แล้วคลิกที่ช่องว่าง จากนั้นคลิกไปที่ Enter Expressions (หมายเลข 7) เพื่อกำหนดค่าของอัตราการไหลเข้าที่เพิ่มไว้ใน Expressions
- คลิกเมาส์ปุ่มขวาที่ ช่องว่าง คลิกที่ Expressions แล้วเลือก Vel1 (หมายเลข 8) แล้วกด OK จะเกิดลูกศรชี้เข้าในตำแหน่งของโดเมนที่กำหนด เพื่อกำหนดค่าของอัตราการไหลเข้าของระบบ ดังแสดงในหมายเลข 9



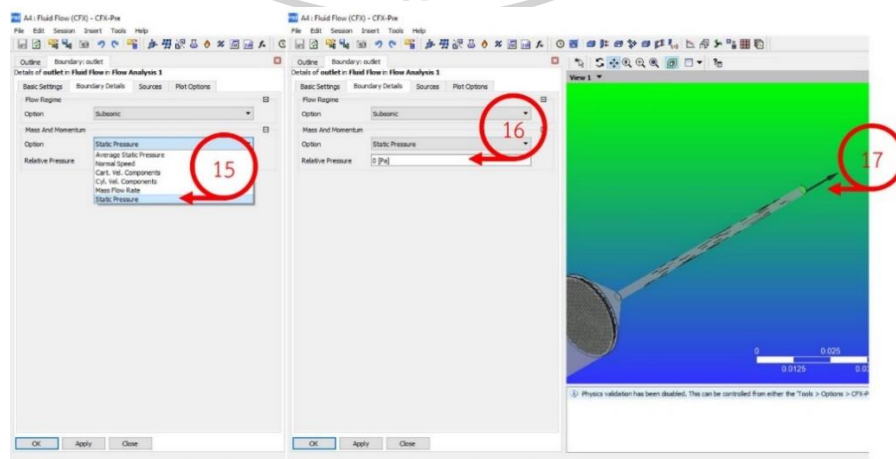
ภาพที่ ก-15 การกำหนดค่าของอัตราการไหลเข้าของระบบ

- คลิกเมาสปุ่มขวาที่ Fluid Flow คลิกที่ Insert เลือก Boundary (หมายเลข 10) แล้วพิมพ์ outlet (หมายเลข 11) แล้วกด OK และเลือก Boundary Type เป็น outlet (หมายเลข 12) เพื่อกำหนดการไหลออกของวัตถุ
- คลิกเครื่องหมาย v ที่ Location แล้วเลือกส่วนในการไหลของวัตถุนั้น outlet (หมายเลข 13) จะเกิดส่วนสีเขียวที่โดเมนวัตถุ (หมายเลข 14) ซึ่งอยู่ในโหมด Basic Settings เพื่อกำหนดและตั้งค่าส่วนของระบบในการไหลออกของวัตถุ



ภาพที่ ก-16 การกำหนดและตั้งค่าส่วนของระบบในการไหลออกของวัตถุ

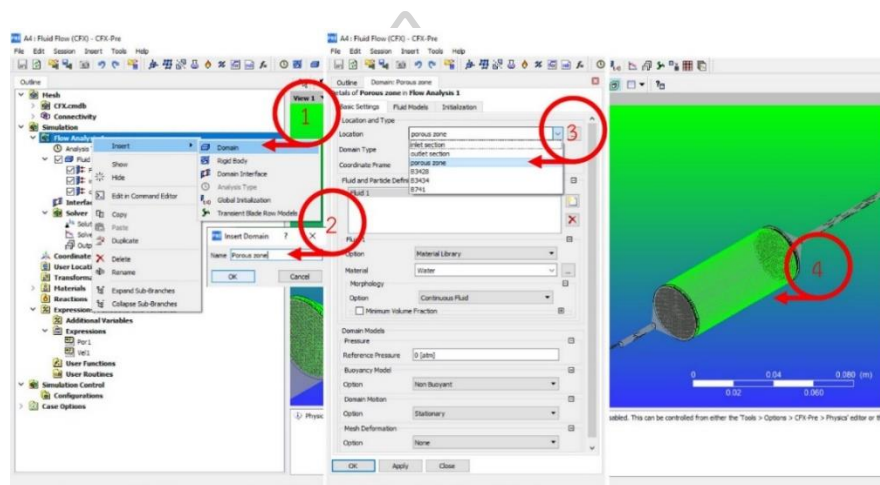
- คลิกที่โหมด Boundary Details (หมายเลข 15) โดย Mass And Momentum ของ Option เป็น Static Pressure แล้วคลิกที่ช่องว่างหลัง Relative Pressure แล้วพิมพ์ 0 (หมายเลข 16) และกด OK จะเกิดลูกศรชี้ออกในตำแหน่งของโดเมนที่กำหนด เพื่อกำหนดการไหลออกของระบบ ดังแสดงในหมายเลข 17



ภาพที่ ก-17 การกำหนดการไหลออกของระบบ

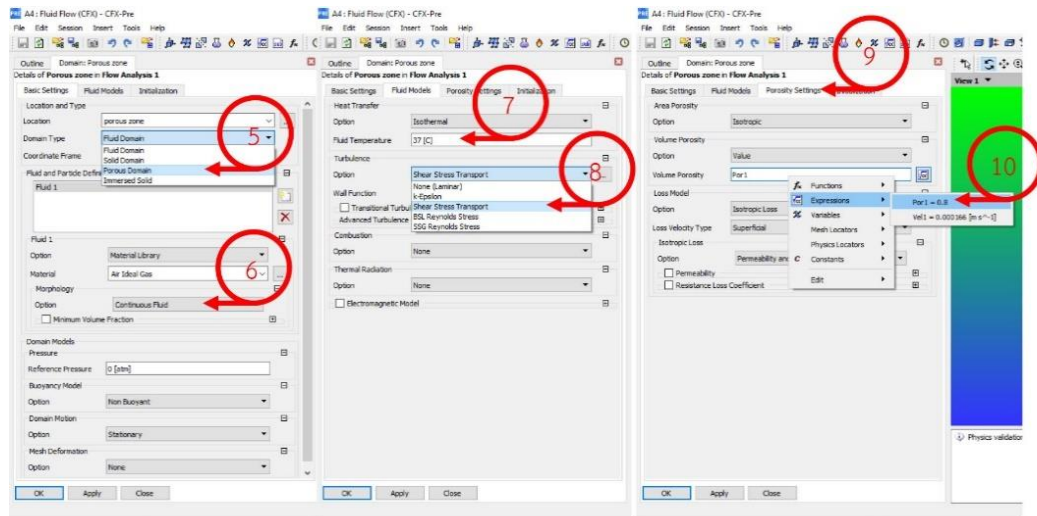
การกำหนดเงื่อนไขการไหลผ่านตัวเครื่องเลี้ยงที่มีความเป็นรูพรุน 80%

- คลิกเมาสปุ่มขวาที่ Flow Analysis 1 เลือก Insert แล้วคลิกที่ Domain (หมายเลข 1) แล้วพิมพ์ Porous zone แล้วกด OK เพื่อสร้างและกำหนดโดเมนใหม่ของชนิดวัตถุในการไหลผ่านตัวเครื่องเลี้ยงที่มีความเป็นรูพรุน 80% ดังแสดงในหมายเลข 2
- อยู่ในโหมด Basic Settings คลิกเครื่องหมาย v ที่ Location แล้ว porous zone (หมายเลข 3) จะเกิดส่วนสีเขียวที่โดเมนวัตถุ เพื่อเลือกโดเมนหรือส่วนที่ได้กำหนดไว้ตอนการสร้าง Mesh ดังแสดงในหมายเลข 4



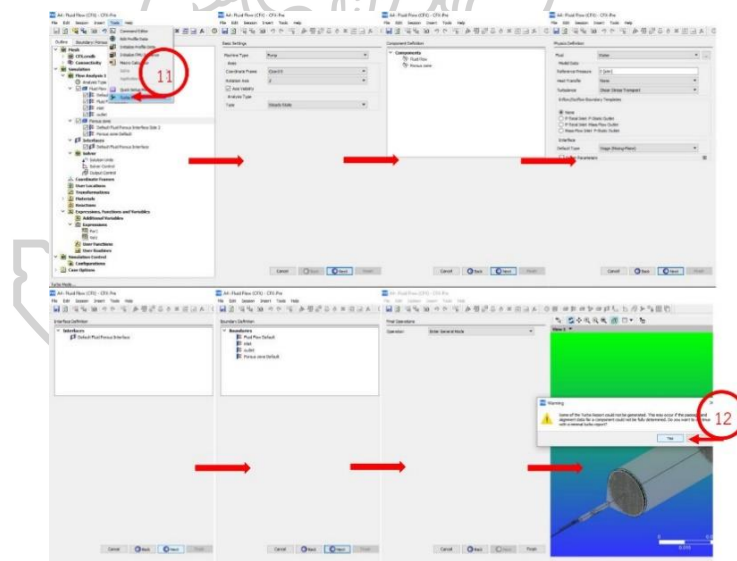
ภาพที่ ก-18 การเลือกโดเมนหรือส่วนที่ได้กำหนดไว้ตอนการสร้าง Mesh

- คลิกเครื่องหมาย ▼ ที่ Location แล้วเลือก Porous Domain (หมายเลข 5) เพื่อกำหนดวัตถุหรือโดเมนนั้นในมีค่าการซึมผ่าน Porosity
- โดยที่ Fluid 1 ของ Material คลิกเป็น Water เพื่อกำหนดวัสดุของโดเมนนั้นๆ ว่าเป็นการไหลของน้ำในระบบดังแสดงในหมายเลข 6
- คลิกที่โหมด Fluid Models โดย Heat Transfer เป็น Isothermal คลิกเลือกที่ Fluid Temperature เป็น 37 [C] (หมายเลข 7) และ Turbulence ของ Option เป็น Shear Stress Transport เพื่อกำหนดอุณหภูมิและสมการของการไหล ดังแสดงในหมายเลข 8
- คลิกที่โหมด Porosity Settings (หมายเลข 9) โดย Volume Porosity ของ Option เป็น Value แล้วคลิกที่ช่องว่างหลัง Volume Porosity จากนั้นคลิกไปที่ Enter Expressions (หมายเลข 10) เพื่อกำหนดค่าของการซึมผ่าน Porosity ที่เพิ่มไว้ใน Expressions
- คลิกเมาสปุ่มขวาที่ ช่องว่าง คลิกที่ Expressions แล้วเลือก Por1 (หมายเลข 10) แล้วกด OK เพื่อดำเนินการที่กำหนดค่าของการซึมผ่าน Porosity ที่ตั้งค่าไว้ในระบบ



ภาพที่ ก-19 การกำหนดค่าของการซึมผ่าน Porosity ที่ตั้งค่าไว้ในระบบ

- คลิกที่ Tools เลือก Turbo Mode... (หมายเลข 11) เพื่อตรวจสอบความถูกต้องทางฟิสิกส์หรือกลศาสตร์การไหลที่ตั้งค่าไว้ จากนั้นคลิก Next แล้วสุดท้ายคลิก Finish และกด Yes ดังแสดงในหมายเลข 12

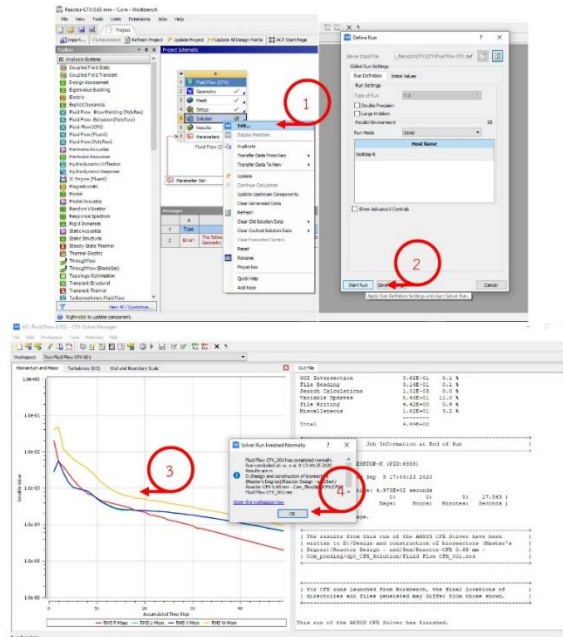


ภาพที่ ก-20 การตรวจสอบความถูกต้องทางฟิสิกส์หรือกลศาสตร์การไหลที่ตั้งค่าไว้

4. การคำนวณโดยโปรแกรม Ansys® Workbench

บนหน้าจอ Ansys Workbench ให้ดำเนินการตามลำดับดังนี้

- คลิกเมาส์ปุ่มขวาที่ Solution และเลือก Edit... (หมายเลข 1) เพื่อคำนวณโดยโปรแกรม Ansys® Workbench จากคลิก Start Run (หมายเลข 2) แล้วรอจะเกิดกราฟของการคำนวณโมเมนตัมและมวลของการไหลขึ้น (หมายเลข 3) และกด OK ดังแสดงในหมายเลข 4

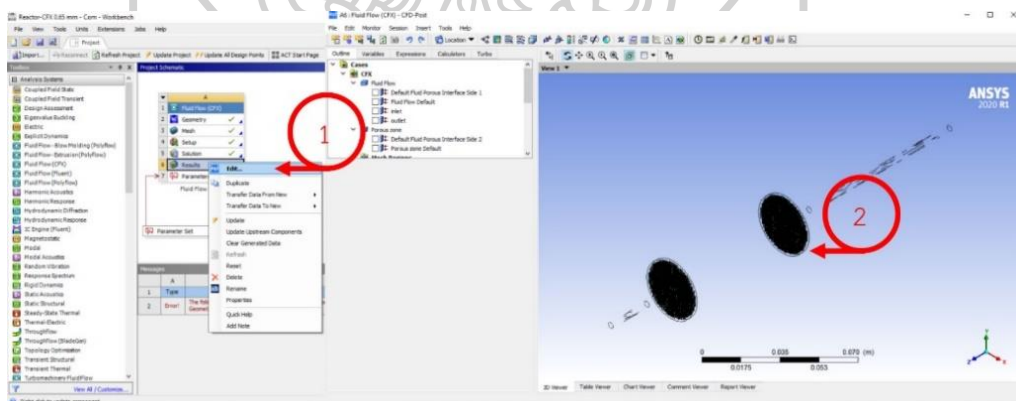


ภาพที่ ก-21 การคำนวณโดยใช้โปรแกรม Ansys® Workbench

5. การแสดงผลพีธของคำนวณโดยใช้โปรแกรม Ansys® Workbench

บนหน้าจอ Ansys® Workbench ให้ดำเนินการตามลำดับดังนี้

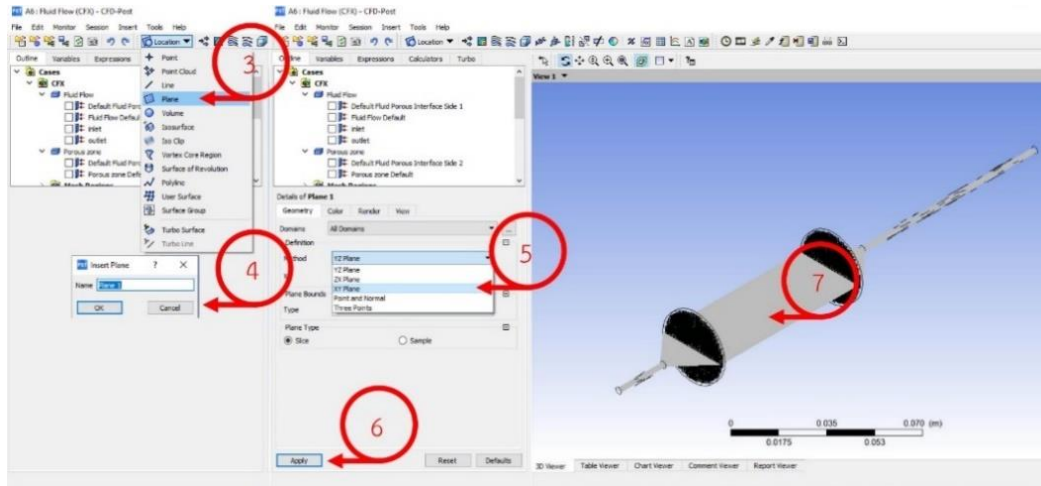
- คลิกเมาสปุ่มขวาที่ Results และเลือก Edit... (หมายเลข 1) เพื่ออัปเดตผลลัพธ์การคำนวณ จาก Solution มาไว้บนหน้าจอหลักของ Ansys จะได้รูปโครงสร้างดังแสดงในหมายเลข 2



ภาพที่ ก-22 การอัปเดตผลลัพธ์การคำนวณ จาก Solution

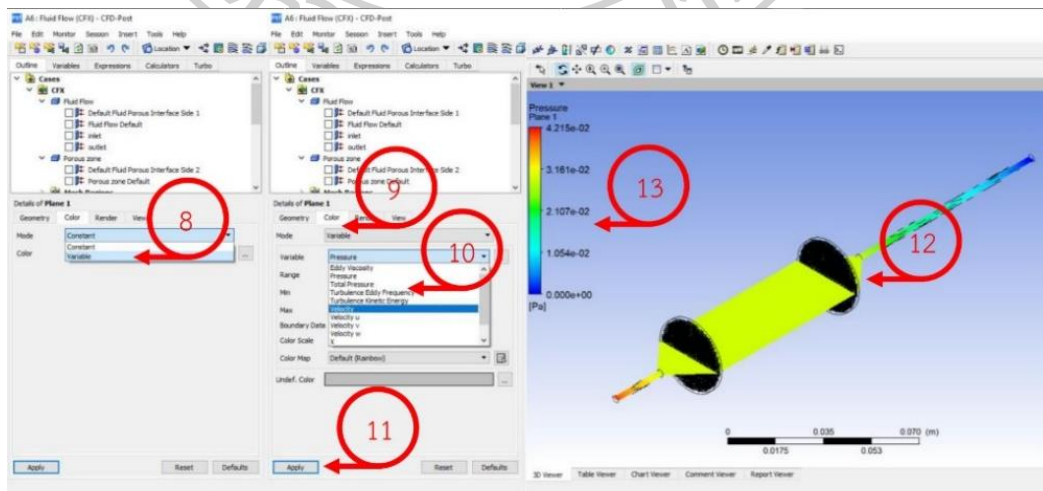
- คลิกที่ Location เลือก Plane (หมายเลข 3) แล้วกด OK (หมายเลข 4) เพื่อทำการสร้างแผ่นระนาบตามแกนที่กำหนดมีไว้แสดงผลพีธต่างๆ

- โดยที่ Definition ของ Method เลือกแกนหรือระนาบ (หมายเลข 5) แล้วกด Apply (หมายเลข 6) จะปรากฏแผ่นหรือระนาบบนวัตถุดังแสดงในหมายเลข 7 เพื่อต้องการให้แสดงผลลัพธ์ที่ต้องการได้



ภาพที่ ก-23 การสร้างแผ่นระนาบตามแกนที่กำหนดไว้แสดงผลลัพธ์ต่างๆ

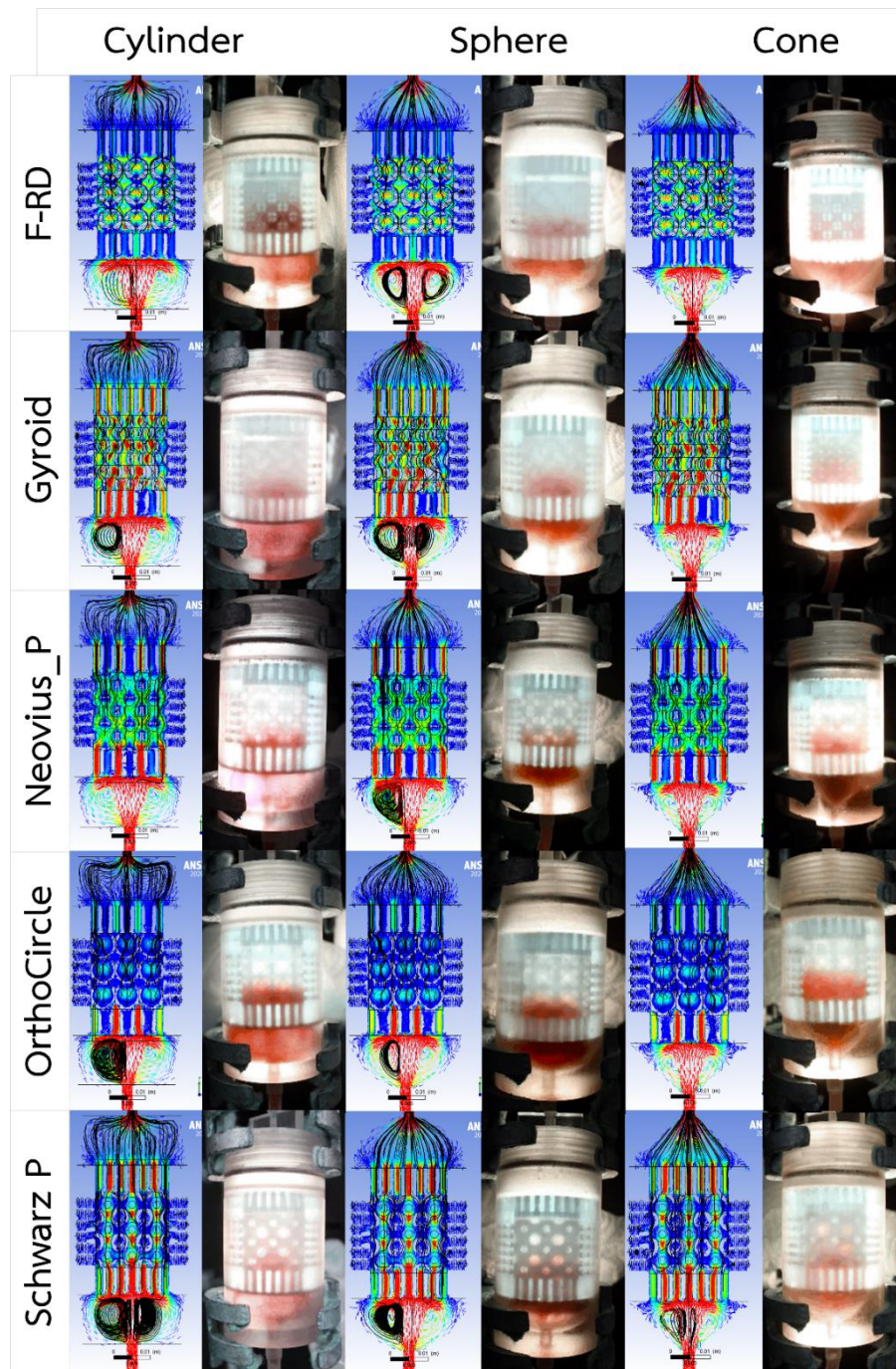
- คลิกจากโหมด Geometry ไปโหมด Color (หมายเลข 8) ของ Mode เป็น Variable (หมายเลข 9) ที่ Location เพื่อให้แสดงผลของการไหลที่เกิดขึ้นว่ามีความดัน อุณหภูมิ และความเร็วในการไหลมีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างไรบ้าง
- โดยคลิกที่เครื่องหมาย ▼ หลัง Pressure (หมายเลข 10) เพื่อกำหนดพารามิเตอร์ที่ต้องการหาว่ามีการเปลี่ยนแปลงไป จากนั้นกด Apply (หมายเลข 11) จะแสดงออกมาเป็นเฉดสีต่างๆ บนระนาบที่กำหนด (หมายเลข 12) และจะแสดงค่าที่รูปดังในหมายเลข 13



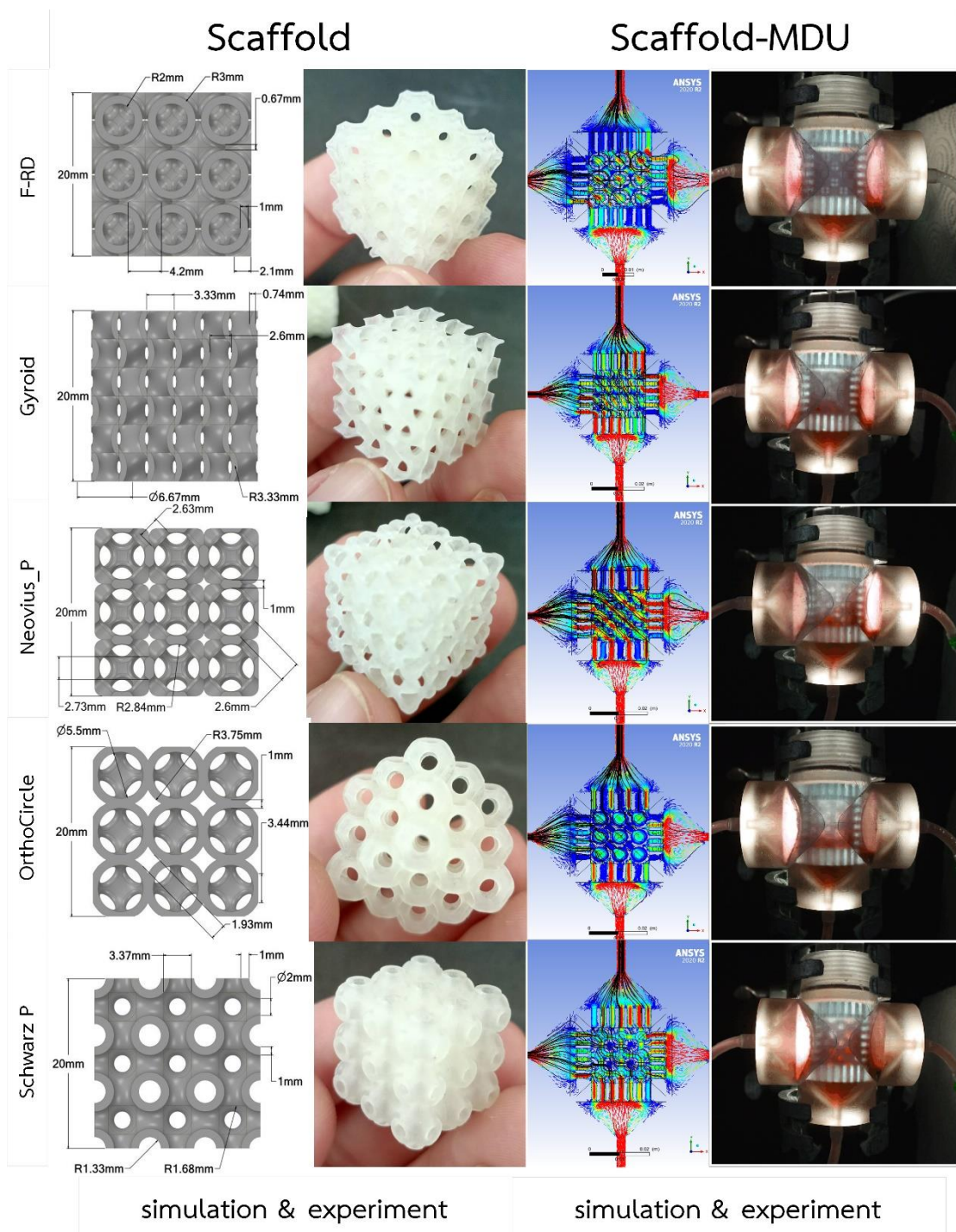
ภาพที่ ก-24 การกำหนดพารามิเตอร์ที่ต้องการหาว่ามีการเปลี่ยนแปลงไป จะแสดงออกมาเป็นเฉดสีต่างๆ บนระนาบที่กำหนด



ภาคผนวก ข
ข้อมูลผลของการจำลองและการทดลองภายในเงื่อนไขต่าง ๆ



ภาพที่ ข-1 ผลของแบบจำลองและการทดลองในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 1 ทิศทางไหลที่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเซลล์ 3 มิติ 5 แบบ ได้แก่ F-RD (53.40%), Gyroid (67.89%), Neovius_P (70.64%), OrthoCircle (76.73%) และ Schwarz_P (67.67%) ซึ่งบรรจุภายใน MDU-Ø2 เป็นผลกระทบของความเร็วการไหลเข้าที่ 17.212 mm/s ของการจำลองและ 7.3 ml/min ที่ใช้ในการทดลองภายในรูปทรงทั้งหมด



ภาพที่ ข-2 ผลของแบบจำลองและการทดลองในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหลายทิศทางอาหารไหลที่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเซลล์ 3 มิติ 5 แบบ ได้แก่ F-RD (53.40%), Gyroid (67.89%), Neovius_P (70.64%), OrthoCircle (76.73%) และ Schwarz_P (67.67%) ซึ่งบรรจุภายใน MDU-Ø2 เป็นผลกระทบของความเร็วการไหลเข้า 2 ทางและออก 2 ทาง ด้วยความเร็วในการไหลเข้าที่ 17.212 mm/s ของการจำลองและ 7.3 ml/min ที่ใช้ในการทดลองในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	พิชญ์ เพิ่มขึ้น
วัน เดือน ปี เกิด	25 ธันวาคม 2539
สถานที่เกิด	พิษณุโลก
วุฒิการศึกษา	พ.ศ.2561 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขา วิศวกรรมกระบวนการชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะ วิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร พ.ศ.2565 สำเร็จการศึกษาระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา เทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร
ที่อยู่ปัจจุบัน	1/5 หมู่ 5 ตำบล เมืองเก่า อำเภอเมือง จังหวัด สุโขทัย 64210

