

**THE DEGREE OF DEACETYLATION AND
THE MOLECULAR WEIGHT OF CHITOSAN
AFFECTING OSTEOBLASTIC (MC3T3-E1) PHENOTYPES**

WIROJ SUPHASIROJ

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (PERIODONTICS)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2007**

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

ผลของระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลและน้ำหนักโมเลกุลของสารไคโตซานต่อการแสดงออกของ
เซลล์สร้างกระดูกหนู (THE DEGREE OF DEACETYLATION AND THE
MOLECULAR WEIGHT OF CHITOSAN AFFECTING OSTEOBLASTIC
(MC3T3-E1) PHENOTYPES)

วิโรจน์ ศุภสิริโรจน์ 4836241 DTPE/M

วท.ม. (ปริทัศน์วิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ผุสดี ยศเนื่องนิศย์, อ.ท.(ปริทัศน์วิทยา), ฤดี สุราฤทธิ, Ph.D.
(Oral biology), รัฐ พิษญากร, Ph.D.(Biochemistry)

บทคัดย่อ

ไคโตซานเป็นวัสดุชีวภาพที่มีศักยภาพเหมาะสมสำหรับใช้ในการส่งเสริมให้เกิดการงอกใหม่
ของเนื้อเยื่อปริทัศน์ แต่ระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลและน้ำหนักโมเลกุลของสารไคโตซานต่อสมบัติ
ทางชีวภาพมีรายงานที่ไม่ชัดเจน การศึกษาวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาผลของระดับการกำจัดหมู่อะ
เซทิลและน้ำหนักโมเลกุลของสารไคโตซานต่อการแสดงออกของเซลล์สร้างกระดูกหนู โดยโครง
เลี้ยงเซลล์ชนิดไคโตซาน คอลลาเจน และ ไคโตซาน-คอลลาเจนสร้างขึ้นจากวิธีทำแห้งด้วยความ
เย็น ศึกษาลักษณะโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์และการเจริญเติบโตของเซลล์สร้างกระดูกบนโครง
เลี้ยงเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด วิเคราะห์ภาพที่ได้ด้วยโปรแกรม
ImagePro® Plus เพื่อศึกษาขนาดรูพรุนและสัดส่วนพื้นที่ของเนื้อสารที่มีอยู่ในโครงเลี้ยงเซลล์
ศึกษาการยึดติด การงอกขยาย การแสดงค่าเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเตสและการสะสมก้อนแร่
ธาตุของเซลล์สร้างกระดูกต่อระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลและน้ำหนักโมเลกุลของสารไคโตซานที่
แตกต่างกัน ผลการศึกษาพบว่าลักษณะโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์มีความเป็นรูพรุนและมีขนาดรู
พรุน 0-50 ไมครอน สำหรับการยึดติดของเซลล์ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่
พบว่าระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลที่ต่ำของสารไคโตซานมีผลต่อการงอกขยายและการแสดงค่า
เอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเตสสูงกว่าระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลที่สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($p < 0.05$) โดยไม่มีผลจากน้ำหนักโมเลกุล และไม่พบการสะสมก้อนแร่ธาตุบนโครงเลี้ยงเซลล์ที่
ทดสอบ สรุปได้ว่าระดับการกำจัดหมู่อะเซทิลของสารไคโตซานเป็นปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติทาง
ชีวภาพ ดังนั้นควรคำนึงถึงปัจจัยดังกล่าวเมื่อนำสารไคโตซานไปประยุกต์ใช้ในการส่งเสริมให้เกิด
การงอกใหม่ของเนื้อเยื่อปริทัศน์

THE DEGREE OF DEACETYLATION AND THE MOLECULAR WEIGHT OF CHITOSAN AFFECTING OSTEOBLASTIC (MC3T3-E1) PHENOTYPES

WIROJ SUPHASIROJ 4836241 DTPE/M

M.Sc. (PERIODONTICS)

THESIS ADVISORS : PUSADEE YOTNUENGNIT, DIP. THAI BOARD OF PERIODONTOLOGY, RUDEE SURARIT, Ph.D.(ORAL BIOLOGY), RATH PICHYANGKURA, Ph.D.(BIOCHEMISTRY)

ABSTRACT

Chitosan, a versatile biopolymer, has good potential for utilization in periodontal tissue regeneration. However, the degree of deacetylation (DD) and the molecular weight (MW) of chitosan relating to biological properties have not previously been clearly elucidated. The aim of this study was to investigate the effects of the degree of deacetylation and molecular weight of chitosan on osteoblastic (MC3T3-E1) phenotypes. The chitosan, collagen and chitosan-collagen composite scaffolds were fabricated by freeze drying technique. Microstructure of scaffolds and growth of osteoblasts on the scaffolds were examined using scanning electron microscopes. Scanning electron images were analyzed using ImagePro[®] Plus software program to determine the pore size and area fraction of scaffolds. The studies on cell attachment, cell proliferation, alkaline phosphatase (ALP) activity and mineralized nodule formation of osteoblasts were determined according to the different degree of deacetylation and molecular weight of chitosan. The results showed that the microstructure of scaffolds had porosity and pore size ranging from 0 to 50 microns. No statistically significant difference was found on cell attachment but the low DD of chitosan had a statistically significantly ($p < 0.05$) higher proliferative effect and ALP activity than the high DD of chitosan, regardless of molecular weight. Mineralized nodule formation was not found on all test scaffolds. In conclusion, the degree of deacetylation of chitosan is a crucial factor for biological properties so it should be considered in further applications for periodontal tissue regeneration.

KEY WORDS: CHITOSAN / COLLAGEN / SCAFFOLD / DEGREE OF DEACETYLATION / MOLECULAR WEIGHT

111 pp.