รายงานผลการทดสอบฤทธิ์เสริมกระดูก

1. การทดสอบความสามารถในการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast)

1.1 สารทดสอบ

1.1.1 Kurra

1.1.2 Zaminzyme

1.1.3 Vitalplus

1.1.4 Bonax

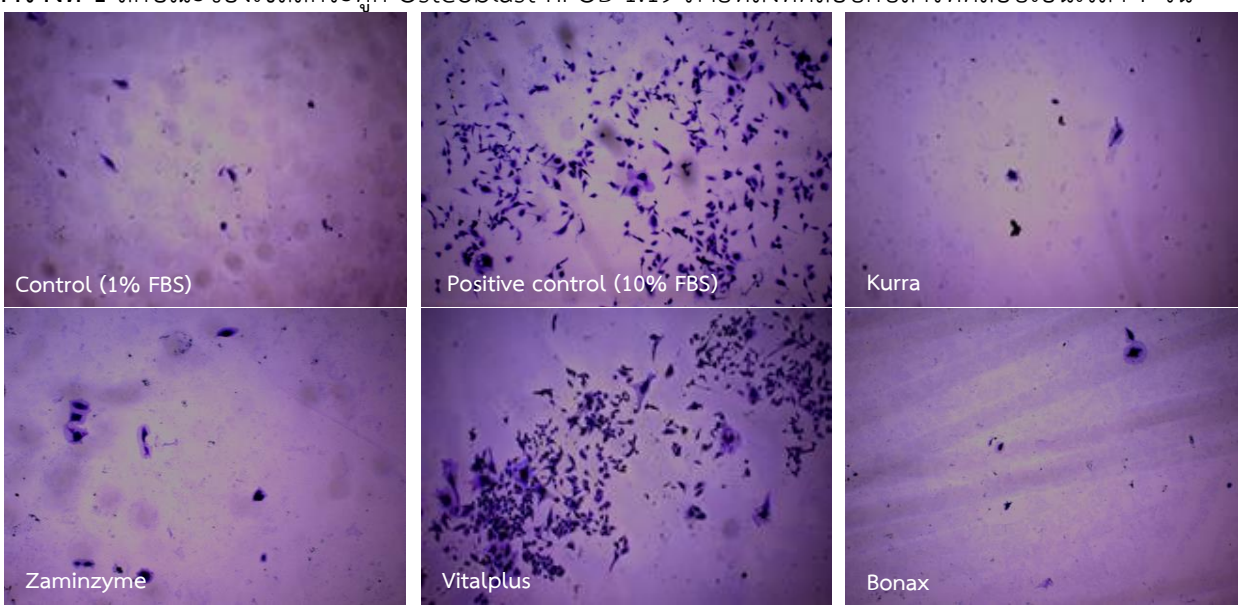
1.2 วิธีการทดลอง

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ hFOB 1.19 ในอาหาร DMEM/F12 1:1 เมื่อได้จำนวนที่เพียงพอทำการบ่มกับสารทดสอบที่ความเข้มข้น 250 μg/mL เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการตรึงเซลล์ด้วย 4% paraformaldehyde และย้อมเซลล์ด้วย crystal violet จากนั้นนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อดูการเพิ่มจำนวนของเซลล์ โดยเทียบกับเซลล์ที่ทดสอบด้วยอาหารที่มี 1%FBS เป็นกลุ่ม control ในขณะที่เซลล์ที่ทดสอบด้วยอาหารที่มี 10% FBS เป็นกลุ่ม Positive control

1.3 ผลการทดลอง

จากการทดสอบเซลล์กระดูก Osteoblast hFOB 1.19 ด้วย Kurra, Zaminzyme, Vitalplus และ Bonax ที่ความเข้มข้น 250 μg/mL เป็นเวลา 7 วัน ภายหลังจากย้อมสีรูปร่างเซลล์ด้วย crystal violet พบว่าเซลล์ที่ทดสอบด้วย Vitalplus สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) ได้ดีเทียบเท่ากลุ่ม Positive control ในขณะที่เซลล์ที่ทดสอบด้วย Kurra, Zaminzyme และ Bonax ไม่พบการเพิ่มจำนวนของเซลล์เมื่อเทียบกับกลุ่ม Control (ดังแสดงในตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ลักษณะของเซลล์กระดูก Osteoblast hFOB 1.19 ภายหลังทดสอบกับสารทดสอบเป็นเวลา 7 วัน



1.4 สรุปผลการทดลอง

เมื่อนำ Kurra, Zaminzyme, Vitalplus และ Bonax ที่ความเข้มข้น 250 μg/mL มาทดสอบกับเซลล์กระดูก Osteoblast hFOB 1.19 พบว่า มีเพียงแค่ Vitalplus ที่สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างกระดูกได้ดีเทียบเท่ากลุ่มที่ทดสอบด้วย 10% FBS ซึ่งเป็นกลุ่ม Positive control ดังนั้นการทดสอบความสามารถในการเพิ่มปริมาณการสะสมของแคลเซียมจึงทำการเลือกสารทดสอบ Vitalplus ในการนำไปใช้ทดสอบต่อไป

2. การทดสอบความสามารถในการเพิ่มปริมาณการสะสมของแคลเซียม

2.1 สารทดสอบ

2.1.1 Vitalplus

2.2 วิธีการทดลอง

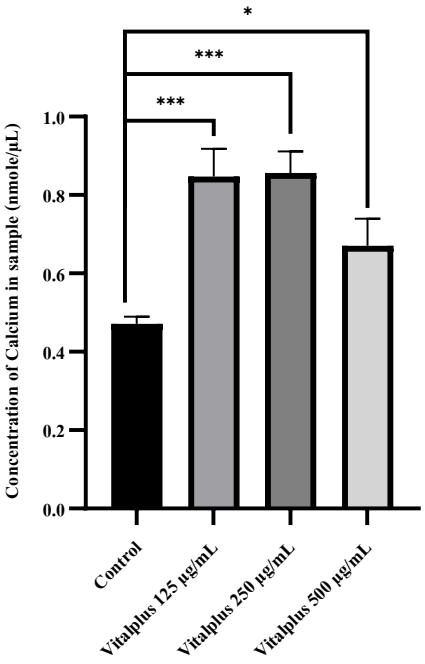
ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ hFOB 1.19 ในอาหาร DMEM/F12 1:1 เมื่อได้จำนวนที่เพียงพอทำการบ่มเซลล์ด้วยอาหารที่มีแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ที่ความเข้มข้น 10 μM และสารทดสอบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 μg/mL เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์มาวัดปริมาณแคลเซียมโดยใช้ชุดน้ำยาตรวจสำเร็จรูปอย่าง Calcium Colorimetric Assay (Sigma) โดยเทียบกับเซลล์ที่ทดสอบด้วยอาหารที่มี 1%FBS เป็นกลุ่ม control ในขณะที่เซลล์ที่ทดสอบด้วยอาหารที่มี 10% FBS เป็นกลุ่ม Positive control

2.3 ผลการทดลอง

จากการทดสอบเซลล์กระดูก Osteoblast hFOB 1.19 ด้วย Vitalplus ที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 μg/mL เป็นเวลา 7 วัน ภายหลังจากวัดปริมาณการสะสมของแคลเซียม พบว่า Vitalplus ที่ความเข้มข้น 250 μg/mL สามารถเพิ่มการสะสมของแคลเซียมได้สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ดังแสดงในตารางที่ 2 และกราฟที่ 1)

ตารางที่ 2 ปริมาณการสะสมแคลเซียมของเซลล์กระดูก Osteoblast hFOB 1.19 เมื่อทดสอบด้วยสารทดสอบ

Group	Concentration of Calcium in sample (nmole/μL)
Cont	0.4709
Vitalplus 125 μg/mL	0.8468
Vitalplus 250 μg/mL	0.8559
Vitalplus 500 μg/mL	0.6701



กราฟที่ 1 ปริมาณการสะสมแคลเซียมของเซลล์กระดูก Osteoblast hFOB 1.19 เมื่อทดสอบด้วยสารทดสอบ

2.4 สรุปผลการทดลอง

สารทดสอบ Vitalplus ที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 μg/mL เมื่อนำมาทดสอบกับเซลล์กระดูก Osteoblast hFOB 1.19 พบว่า สารทดสอบ Vitalplus ทั้งสามความเข้มข้นสามารถเพิ่มปริมาณการสะสมแคลเซียมได้มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสารทดสอบ Vitalplus ที่ความเข้มข้น 500 μg/mL จะมีปริมาณการสะสมแคลเซียมที่ลดลงเมื่อเทียบกับ Vitalplus ที่ความเข้มข้น 125 และ 250 μg/mL ดังนั้นสารทดสอบ Vitalplus ที่ความเข้มข้น 250 μg/mL มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมความแข็งแรงของกระดูกได้ดีผ่านการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างกระดูกอย่าง Osteoblast และเพิ่มการสะสมองค์ประกอบสำคัญของกระดูกอย่างแคลเซียม