

ผลของว่านหางจระเข้ต่อการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด
ในแบบจำลองแผลไหม้ในหนูแรท :

นางสาวศรัญญา ธนมิตรามณี



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสารีรวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2540

ISBN 974-639-149-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

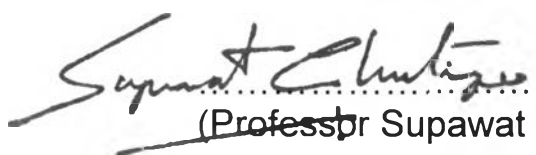
**EFFECTS OF ALOE VERA (Linn.) ON VASCULAR CHANGES
IN BURN MODEL IN RATS**

Miss Sarunya Thanamittramane

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Physiology
Interdepartment of Physiology
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic year 1997
ISBN 974-639-149-6**

Thesis Title: EFFECTS OF ALOE VERA (Linn.) ON VASCULAR
CHANGES IN BURN MODEL IN RATS.
By Miss Sarunya Thanamittramane
Department Interdepartment of Physiology
Thesis Advisor Assistant Professor Suthiluk Patumraj, Ph.D.
Thesis Co-advisor Dr. Juraiporn Somboonwong, M.D., M.Sc., Dip.
In Dermatol

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in
Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

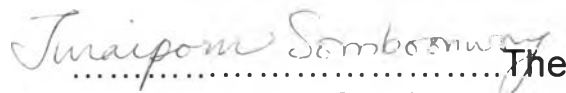
.....Dean of Graduate School
(Professor Supawat Chutivongse, M.D.)

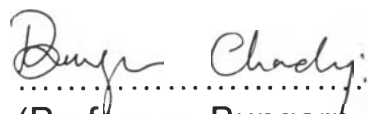
Thesis Committee

.....Chairman
(Professor Ratre Sudsuang, Ph.D.)

.....Thesis Advisor
(Assistant Professor Suthiluk Patumraj, Ph.D.)

.....Thesis Advisor
(Assistant Professor Suthiluk Patumraj, Ph.D.)

.....Thesis Co-advisor
(Dr. Juraiporn Somboonwong, M.D., M.Sc., Dip
in Dermatol)

.....Member
(Professor Bungorn Chomdej, M.D., Ph.D.)

.....Member
(Associate Professor Pornthip Hyuprasert, M.D.)

ศรัญญา ธนนิคมธรรม : ผลของว่านหางจระเข้ต่อการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดในแบบจำลองแผลไหม้ในหนูแรท (EFFECTS OF ALOE VERA (Linn.) ON VASCULAR CHANGES IN BURN MODEL IN RATS) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศศ.ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช, อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : อ.พญ. จุไรพร สมบุญวงศ์, 78 หน้า, ISBN 974-639-149-6.

ว่านหางจระเข้ได้รู้จักกันอย่างแพร่หลายสำหรับใช้เป็นยารักษามาตั้งแต่อดีต โดยเฉพาะคุณสมบัติของว่านต่อการต้านการอักเสบและการสมานแผล จุดประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของว่านหางจระเข้ต่อการสมานแผลและการตอบสนองของหลอดเลือดในหนู หลังจากการเป็นแผลไหม้ที่ 7 และ 14 วัน การทดลองได้ใช้เทคนิค Dorsal skinfold chamber ร่วมกับกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์

ผลการทดลองหนูที่เป็นแผลไหม้ที่ 7 วัน จะมีค่าเปอร์เซ็นต์การสมานแผล, การเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงรองลำดับที่ 2 และ 3 และความซึมซาบผ่านได้ของหลอดเลือดค้ำฝอย ซึ่งค่าเหล่านี้แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (กลุ่มควบคุม เท่ากับ 100 ตารางมิลลิเมตร, เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงรองลำดับที่ 2 และ 3 เท่ากับ 77.40 ± 2.82 , 66.47 ± 2.18 ไมครอน, ความซึมซาบผ่านได้ของหลอดเลือดค้ำฝอย เท่ากับ 0, กลุ่มแผลไหม้เปอร์เซ็นต์การสมานแผลเท่ากับ 20.49 ± 2.53 ตารางมิลลิเมตร, เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงรองลำดับที่ 2 และ 3 เท่ากับ 129.35 ± 15.62 และ 105.47 ± 4.2 ไมครอนและความซึมซาบผ่านได้ของหลอดเลือดค้ำฝอยเท่ากับ 1.06) ส่วนในกลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับสารละลายน้ำเกลือพบว่าเปอร์เซ็นต์การสมานแผลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มแผลไหม้ เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงรองลำดับที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดแดงรองลำดับที่ 3 แตกต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มแผลไหม้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ความซึมซาบผ่านได้ของหลอดเลือดค้ำฝอยแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (กลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับสารละลายน้ำเกลือมีเปอร์เซ็นต์การสมานแผลเท่ากับ 26.15 ± 2.94 ตารางมิลลิเมตร, เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงรองลำดับที่ 2 และ 3 เท่ากับ 90.84 ± 4.84 และ 85.80 ± 3.19 ไมครอน ความซึมซาบผ่านได้ของหลอดเลือดค้ำฝอยเท่ากับ 0.52) หนูกลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับว่านหางจระเข้ พบว่าเปอร์เซ็นต์การสมานแผลแตกต่างจากกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้และกลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับสารละลายน้ำเกลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดแดงรองลำดับที่ 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุมแต่จะแตกต่างจากกลุ่มแผลไหม้และกลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับสารละลายน้ำเกลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ความซึมซาบผ่านได้ของหลอดเลือดค้ำฝอยแตกต่างจากกลุ่มควบคุม แตกต่างกับกลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับสารละลายน้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (กลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับว่านหางจระเข้มีเปอร์เซ็นต์การสมานแผลเท่ากับ 53.45 ± 3.24 ตารางมิลลิเมตร, เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงรองลำดับที่ 2 และ 3 เท่ากับ 68.78 ± 3.28 และ 56.58 ± 2.79 ไมครอน และความซึมซาบผ่านได้ของหลอดเลือดค้ำฝอย เท่ากับ 0.24)

หนูกลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับว่านหางจระเข้แล้ว 14 วัน หนูกลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับว่านหางจระเข้เท่านั้นพบว่าเปอร์เซ็นต์การสมานแผล การเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงรองลำดับที่ 2 และ 3 และความซึมซาบผ่านได้ของหลอดเลือดค้ำฝอยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม

ผลการทดลองยังพบว่า การเกาะติดของเม็ดเลือดขาวบนเอ็นโดทีเลียลของหลอดเลือดฝอยในวันที่ 7 หลังเกิดแผลไฟไหม้พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างหนูกลุ่มที่มีแผลไหม้ หนูกลุ่มที่มีแผลไหม้แล้วได้รับสารละลายน้ำเกลือ และหนูกลุ่มที่มีแผลไหม้แล้วได้รับว่านหางจระเข้ แต่ทั้ง 3 กลุ่มมีความแตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม ในหนูกลุ่มที่มีแผลไหม้ที่ได้รับว่านหางจระเข้ในวันที่ 14 เท่านั้น มีการลดลงของการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวบนเอ็นโดทีเลียลของหลอดเลือดค้ำฝอย

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการให้ว่านหางจระเข้สามารถยับยั้งขบวนการอักเสบซึ่งรวมไปถึงสามารถลดการเปลี่ยนแปลงขนาดของหลอดเลือด ลดการเพิ่มขึ้นของความซึมซาบผ่านได้ของหลอดเลือดค้ำฝอย และลดการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวบนเอ็นโดทีเลียล ซึ่งไปกวนั้นว่านหางจระเข้สามารถเร่งการสมานแผลได้

ภาควิชา สุนัขที่ทอดหัวไว้
สาขาวิชา ศัลยกรรม
ปีการศึกษา 2540

ลายมือชื่อ นิสิต ศรัญญา ธนนิคมธรรม
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา สุทธิลักษณ์ ปทุมราช
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม จุไรพร สมบุญวงศ์

C854801 : MAJOR PHYSIOLOGY

KEY WORD: ALOE VERA / VASCULAR CHANGES/BURN MODEL

SARUNYA THANAMITTRAMANEE : EFFECTS OF ALOE VERA (Linn.) ON VASCULAR CHANGES IN BURN MODEL IN RATS. THESIS ADVISOR: ASSIST. PROF. SUTHILUK PATUMRAJ, Ph.D. THESIS COADVISOR: JURAIPORN SOMBOONWONG. M.D., M.Sc., Dip. in Dermatol 78 pp. ISBN974-639-149-6

Aloe vera is widely known for its uses in folk medicine, particularly for its properties of antiinflammation and wound healing. The purpose of this study was to examine the effects of aloe vera on vascular changes and wound healing in rats at 7 and 14 days after induced burn. The experiments were performed using dorsal skinfold chamber model for intravital fluorescence microscopy.

The results demonstrated that on day 7 after burning, percent of healing area (% h), changes of the second and third-order arteriolar diameters (d_{A_2} , d_{A_3}) and postcapillary venular permeability (I-ratio) assessed for burn wound-rats were significantly different from controls ($p < 0.05$) (control: %h = 100 mm², $d_{A_2} = 77.40 \pm 2.82 \mu\text{m}$, $d_{A_3} = 66.47 \pm 2.18 \mu\text{m}$, I=0, burn wound-rats: % h = 20.49 \pm 2.53 mm², $d_{A_2} = 129.35 \pm 15.62 \mu\text{m}$, $d_{A_3} = 105.47 \pm 4.2 \mu\text{m}$, I=1.06). In NSS-treated burn wound rats, percent of healing area was not significantly different from that of burn wound-rats, change of second-order arteriolar diameter was not significantly different from that of control, change of third-order arteriolar diameter was significantly those of control and burn wound-rats ($p < 0.05$), and postcapillary venular permeability was significantly different from that of control ($p < 0.05$) (NSS-treated burn wound-rats: % h = 26.15 \pm 2.94 mm², $d_{A_2} = 90.84 \pm 4.84 \mu\text{m}$, $d_{A_3} = 85.80 \pm 3.19 \mu\text{m}$, I = 0.52). In aloe-treated burn wound-rats, percent of healing area was significantly different from those of burn wound-rats and NSS-treated burn wound-rats ($p < 0.05$), changes of second-and third-order arteriolar diameters were not significantly different from control but were significantly different from those of burn wound-rats and NSS-treated burn wound-rats ($p < 0.05$), postcapillary venular permeability was significantly different from those of control, burn wound-rats and NSS-treated burn wound-rats ($p < 0.05$) (aloe-treated burn wound-rats: % h = 53.45 \pm 3.24 mm², $d_{A_2} = 68.78 \pm 3.28 \mu\text{m}$, $d_{A_3} = 56.58 \pm 2.79 \mu\text{m}$, I = 0.24).

On day 14, It was shown that percentage of healing area, changes of second and third-order arteriolar diameters and postcapillary venular permeability of aloe-treated burn wound-rats were not significantly different as compared to those of controls.

The results also showed that leukocyte adhesion at postcapillary venules was not different among burn wound-rats, NSS-treated burn wound-rats, and aloe-treated burn wound-rats. However, there was a significant decrease of leukocyte adhesion to endothelium at postcapillary venules in aloe-treated burn wound-rats at the fourteenth day after burning.

The results of this study could be concluded that the inflammatory process including vascular diameter changes, increase of vascular permeability and leukocyte adhesion could be inhibited by aloe vera on wound healing acceleration was also observed in our study.

ภาควิชา.....สรีรวิทยา.....
สาขาวิชา.....สรีรวิทยา.....
ปีการศึกษา.....2540.....

ลายมือชื่อนิสิต.....สรุณี ธรรมานะ.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....สุทธิวัฒน์ วัฒนารักษ์.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....วิมล ธรรมานะ.....

ACKNOWLEDGEMENTS



I would like to express my sincere appreciation to my advisor, Assistant Professor Dr. Suthiluk Patumraj and Dr. Juraiporn Somboonwong, for their kind advice, guidance and encouragement throughout this study.

I also wish to express my special thanks to Miss Amporn Jariyapongskul, Miss Supang Maneesri, Miss Kamonate Pukdeebamroong, Miss Penpan Nuanboonma, Miss Faroong Sukopituk and Mrs. Thiraporn Anuntasethakul for their assistance, sincerity, friendship and encouragement.

I would like to extend my graduate thanks to the Graduate school, Chulalongkorn University and Radchadapisek Sompoch Research Fund.

I would like to thank the Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for their valuable helps and support.

Finally, I would like to express my infinite thanks and gratitude to my parent for their love, kindness and understanding.

CONTENTS

	PAGE
THAI ABSTRACT.....	IV
ENGLISH ABSTRACT.....	V
ACKNOWLEDGEMENTS.....	VI
CONTENTS.....	VII
LIST OF TABLES.....	VIII
LIST OF FIGURES.....	IX
ABBREVIATIONS.....	XII
CHAPTER	
I. INTRODUCTION AND LITERATURE REVIEW.....	1
II. RATIONALE.....	16
III. MATERIALS AND METHODS.....	18
IV. RESULTS.....	31
V. DISCUSSION.....	52
VI. CONCLUSION.....	62
REFERENCES.....	63
BIOGRAPHY.....	78

LIST OF TABLES

TABLE	PAGE
4.1 Percentages of healing area in control rats, burn wound-rats, NSS-treated burn wound-rats, and aloe-treated burn wound-rats on days 7,14 after burn.....	37
4.2 Changes in second-order arteriolar diameter in control rats, burn wound-rats, NSS-treated burn wound-rats, and aloe-treated burn wound-rats on days 7,14 after burn.....	38
4.3 Changes in third-order arteriolar diameter in control rats, burn wound-rats, NSS-treated burn wound-rats, and aloe-treated burn wound-rats on days 7,14 after burn.....	39
4.4 Changes of intensity value of postcapillary venule in control rats, burn wound-rats, NSS-treated burn wound-rats, and aloe-treated burn wound-rats on days 7,14 after burn.....	40

LIST OF FIGURES

FIGURE	PAGE
1.1 A transverse section near the margin of the aloe leaf.....	3
3.1 Photograph of partial thickness burn injury on dorsal skin of rat	26
3.2 Diagram of experimental animal group.....	27
3.3 Photograph of aluminum chamber which inserted into dorsal skin fold.....	28
3.4 Intravital fluorescence microscopy and instruments used for quantitative studies of hemodynamic and morphologic microvasculature.....	29
3.5 Schematic of arteriole showed the reference point (A) and defined point (B,C). The diameter of arteriole was measured as the length of B,C.....	30
3.6 Schematic of postcapillary venule showed the reference point (A) and defined point (B,C). Postcapillary venule macromolecular extravasation was measured as intensity ratio of I in and I out (I in = gray levels of point B, I out = gray levels of point C).....	30
4.1 Means and SEM of percentages of healing area in control rats, burn wound-rats, NSS-treated burn wound-rats, and aloe-treated burn wound-rats on days 7, 14 after burn.....	41

4.2 Means and SEM of changes in second-order arteriolar diameter in control rats, burn wound-rats, NSS-treated burn wound-rats, and aloe-treated burn wound-rats on days 7, 14 after burn.....	42
4.3 Means and SEM of changes in third-order arteriolar diameter in control rats, burn wound-rats, NSS-treated burn wound-rats, and aloe-treated burn wound-rats on days 7, 14 after burn.....	43
4.4 Means and SEM of changes of intensity value of postcapillary venule in control rats, burn wound-rats, NSS-treated burn wound-rats, and aloe-treated burn wound-rats on days 7, 14 after burn.....	44
4.5 Video microscopic image of subcutaneous vessels demonstrated the diameter changes of second (2A)-and third (3A)- order arterioles in control rats (a), burn wound-rats (b), NSS-treated burn wound-rats (c), and aloe-treated burn wound rats (d) on day 7.....	45
4.6 Video microscopic image of subcutaneous vessels demonstrated the diameter changes of second (2A)-and third (3A)- order arterioles in control rats (a), burn wound-rats (b), NSS-treated burn wound-rats (c), and aloe-treated burn wound rats (d) on day 14.....	46
4.7 Video microscopic image of subcutaneous vessels demonstrated the plasma leakage in control rats (A)-and burn wound-rats (B) at time zero (a) and thirty minutes (b) after FITC-dx-150 administration.....	47

4.8 Video microscopic image of subcutaneous vessels demonstrated the tortuosity in burn wound-rats (a), NSS-treated burn wound-rats (b), and aloe-treated burn wound-rats (c) on day 7..... 48

4.9 Video microscopic image of subcutaneous vessels demonstrated leukocyte adhesions at postcapillary venules in control rats (a), burn wound-rats (b), NSS-treated burn wound-rats (c), and aloe-treated burn wound rats (d) on day 7..... 49

4.10 Video microscopic image of subcutaneous vessels demonstrated leukocyte adhesions at postcapillary venules in control rats (a), burn wound-rats (b), NSS-treated burn wound-rats (c), and aloe-treated burn wound rats (d) on day 14..... 50

4.11 Video microscopic image of subcutaneous vessels demonstrated an angiogenesis in burn wound-rats on day 7 and burn wound-rats on day 14..... 51

5.1 The purposed mechanism of aloe vera in antiinflammatory agents and wound healing agents..... 62

LIST OF ABBREVIATIONS

°C	=	Degree celsius
aFGF	=	Acidic fibroblast growth factors
bFGF	=	Basic fibroblast growth factors
cAMP	=	Cyclic adenosine monophosphate
CAP	=	Common carotid arterial pressure
CAT	=	Catalase
cGMP	=	Cyclic guanosine 3', 5' monophosphate
cNOS	=	Constitutive nitric oxide synthase
DAG	=	Diacylglycerol
e.g.	=	Exempli gratia
FGF	=	Fibroblast growth factors
GSH	=	Glutathione peroxides
H ₂ O ₂	=	Hydrogen peroxide
I _{in}	=	Inside intensity
iNOS	=	Inducible nitric oxide synthase
I _{out}	=	Outside intensity
IP ₃	=	Inositol 1,4,5-triphosphate
keto-PGF _{1bα}	=	Keto-prostaglandin F _{1bα}
LTB ₄	=	Leukotriene B ₄
LTC ₄	=	Leukotriene C ₄
LTD ₄	=	Leukotriene D ₄
LT _s	=	Leukotrienes
ml	=	Milliter
NO	=	Nitric oxide
NOS	=	Nitric oxide synthase
NSS	=	Normal saline

O_2^-	=	Superoxide anion
PAF	=	Platelet activating factor
PGD ₂	=	Prostaglandin D ₂
PGE ₂	=	Prostaglandin E ₂
PGF _{2α}	=	Prostaglandin F _{2α}
PGI ₂	=	Prostacyclin I ₂
PIP ₂	=	Phosphatidylinositol -4, 5-biphosphate
PKC	=	Protein kinase C
PMN	=	Polymorphonuclear leukocyte
ROS	=	Reactive oxygen species
SOD	=	Superoxide dismutase
TXA ₂	=	Thromboxane A ₂
TXB ₂	=	Thromboxane B ₂
VEGF	=	Vascular endothelial growth factor
VSMC	=	Vascular smooth muscle cell