ว ทันต จุฬาฯ 2547;27:47-57

สารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน

พสุธา ธัญญะกิจไพศาล ทบ. Ph.D.[1]

กนกนัดดา ตะเวทีกุล[2]

กุลวดี เหมกุญชร[2]

[1] ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

[2] นิสิตทันตแพทย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของสารสกัดส่วนวุ้นและส่วนยางของว่านหางจระเข้ ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ เซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟันและเนื้อเยื่อเหงือก

วัสดุและวิธีการ เซลล์จะถูกทดสอบด้วยสารสกัดส่วนวุ้นและส่วนยางของว่านหางจระเข้ และสารสกัดส่วนวุ้นที่ถูกทำให้แห้ง ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ปราศจากซีรัม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดจำนวนเซลล์ด้วยสารเอ็มทีทีและวิเคราะห์ทางสถิติแบบ One way ANOVA ($\alpha < 0.05$)

ผลการศึกษา สารสกัดส่วนวุ้นที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 5, 10, 20 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัดส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 400 และ 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลลดจำนวนเซลล์ของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง ที่ความเข้มข้นของโปรตีน 50, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน และสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็งที่ความเข้มข้นของโปรตีน 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยที่แยกจากเนื้อเยื่อเหงือก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุป สารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 5-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง ความเข้มข้นของโปรตีน 50-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ เซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง ความเข้มข้นของโปรตีน 50-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์สร้างเส้นใยที่แยกจากเนื้อเยื่อเหงือก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่สารสกัดส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 400 และ 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลลดจำนวนเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์สร้างเส้นใยที่แยกจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(ว ทันต จุฬาฯ 2547;27:47-57)

คำสำคัญ: *ว่านหางจระเข้ การเพิ่มจำนวนเซลล์ เซลล์เอ็นยึดปริทันต์ เซลล์สร้างเส้นใยจากเนื้อเยื่อโพรงฟันและเนื้อเยื่อเหงือก*

บทนำ

ปัญหาโรคปริทันต์และฟันผุ จัดเป็นปัญหาหลักทางด้านสุขภาพช่องปากของประเทศไทย[1] ซึ่งก่อให้เกิดการทำลายของอวัยวะปริทันต์และตัวฟัน ถึงแม้โรคปริทันต์จะรักษาด้วยการกำจัดแผ่นคราบจุลินทรีย์ หินน้ำลาย รวมกับการเกลารากฟัน ส่วนโรคฟันผุจะรักษาด้วยการกำจัดเนื้อฟันส่วนที่ผุ และการใช้วัสดุในการรักษาประสาทฟัน (pulp capping) โดยคาดหวังให้มีการสร้างขึ้นมาใหม่ของเนื้อเยื่อปริทันต์และเนื้อฟันภายหลังการรักษาตามลำดับ แต่อย่างไรก็ดีอัตราการสร้างขึ้นมาใหม่ของเนื้อเยื่อเหล่านี้เกิดขึ้นช้าหรือน้อยมาก และบางครั้งก็ไม่แน่นอน[2-4] ดังนั้นการค้นหาสารที่มีความสามารถในการกระตุ้นการสร้างเอ็นยึดปริทันต์และเนื้อฟันขึ้นมาใหม่ เพื่อนำมาใช้ร่วมกับการรักษาโรคปริทันต์และฟันผุ จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการศึกษาค้นคว้า

โดยทั่วไปขั้นตอนของการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาทดแทนประกอบด้วย 3 ขั้นตอนที่ต่อเนื่องกัน คือ การเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation) การพัฒนาเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ทำงานสมบูรณ์ (cell differentiation and maturation) และการสร้างสารเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix synthesis)[5-6] โดยเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ เซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อโพรงฟัน และเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อเหงือก เป็นเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญต่อการสร้างขึ้นมาทดแทนของเอ็นยึดปริทันต์ (periodontal ligament) เนื้อฟันซ่อมแซม (reparative dentin) และเนื้อเยื่อเหงือกตามลำดับ ดังนั้นสารที่มีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยเหล่านี้ ย่อมมีส่วนช่วยในการสร้างขึ้นมาทดแทนของเนื้อเยื่อเร็วขึ้น

โดยทั่วไปสารสกัดจากว่านหางจระเข้สามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วนคือ สารสกัดส่วนวุ้น (aloe vera gel) มีลักษณะเป็นของเหลวใส และสารสกัดส่วนยาง (aloe vera exudate) ซึ่งมีสีเหลือง[7] Chithra และคณะ ได้รายงานถึงผลของสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ มีส่วนช่วยในการหายของบาดแผลในหนูทดลอง โดยพบมีการสร้างคอลลาเจนจากเซลล์สร้างเส้นใยของผิวหนัง (skin fibroblast) และการเพิ่มจำนวนของเซลล์บุผิวหนัง[8-9] นอกจากนี้สารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ยังมีผลลดการอักเสบ โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase ซึ่งมีหน้าที่ควบคุมสร้างสาร prostaglandin E_2 ซึ่งเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอาการปวดและอักเสบ[10] และช่วยยับยั้งการระคายเคืองของผิวหนังที่ได้รับแสงอุลตร้าไวโอเล็ตชนิดบี (UV-B)[11] จากงานวิจัยนำร่องของคณะผู้วิจัย พบว่าสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ มีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์สร้างเส้นใยที่แยกมาจากเนื้อเยื่อเหงือก แต่ไม่มีผลต่อเซลล์ไลน์เยื่อบุผิว CCL-25 เมื่อตรวจวัดโดยการย้อมเซลล์ด้วยสีเมทิลีนบูล[12] แต่อย่างไรก็ดียังไม่เคยมีการศึกษาผลของสารสกัดส่วนวุ้นและส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อโพรงฟัน

ดังนั้นคณะผู้วิจัยได้ทำการวิจัย เพื่อศึกษาผลของสารสกัดส่วนวุ้นและส่วนยางของว่านหางจระเข้ รวมทั้งสารสกัดส่วนวุ้นที่ถูกทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง (freeze-drying / lyophilization) ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ เซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเหงือก ตลอดจนศึกษาความเป็นพิษของของว่านหางจระเข้ที่มีต่อเซลล์เหล่านี้ ด้วยการวิเคราะห์ด้วยสารเอ็มทีที โดยความรู้พื้นฐานเบื้องต้นที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ จะนำไปสู่การพัฒนาสารสกัดของว่านหางจระเข้มาใช้ในทางทันตกรรมต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสารสกัดส่วนวุ้นและส่วนยางของว่านหางจระเข้ (aloe vera gel and exudate)

การเตรียมสารสกัดของว่านหางจระเข้ ทำตามวิธีที่ผู้วิจัยเคยรายงานมาก่อน[12] โดยย่อคือ ใบว่านหางจระเข้ พันธุ์ *Aloe barbadensis* ที่มีความกว้างบริเวณโคนใบ 6-10 เซนติเมตร จะถูกนำมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น และลอกส่วนผิวที่เป็นสีเขียวออก เหลือแต่ส่วนวุ้นใส ล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อกำจัดส่วนยางที่อาจปนเปื้อนกับส่วนวุ้น จากนั้นหั่นส่วนวุ้นใสเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 2x2x2 มิลลิเมตร แล้วทำให้ละเอียดด้วยเครื่อง homogenizer (Wheaton, NJ, USA) กรองผ่านผ้าขาวบางตามลำดับ ส่วนการเตรียมสารสกัดส่วนยางของว่านหางจระเข้ เมื่อตัดใบว่านหางจระเข้ ส่วนยางจะไหลออกมาจากส่วนเปลือกด้านในของว่านหางจระเข้ตรงบริเวณรอยตัด รอประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางส่วนยางจากใบว่านหางจระเข้ด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1: 50

สารสกัดที่ได้ทั้งสองชนิด จะถูกแยกกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการผ่านกระดาษไนโตรเซลลูโลส ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.22 ไมโครเมตร และเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของโปรตีนในสารสกัดส่วนวุ้นและส่วนยางของว่านหางจระเข้ จะถูกคำนวณด้วยชุดวัดปริมาณโปรตีนของ Bio-Rad (CA, USA) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของโปรตีนอัลบูลมิน (bovine serum albumin, fraction V) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน โดยทำตามคำแนะนำในเอกสารของบริษัทผู้ผลิต ส่วนสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้จะถูกคำนวนความเข้มข้นของสารโพลีแซค-คาไรด์ ด้วยวิธีของ Nelson-Somogyi โดยเปรียบเทียบกับค่ากราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ตามหนังสือคู่มือปฏิบัติการชีวเคมี ภาควิชาชีวเคมี คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย[13]

การเตรียมสารสกัดส่วนวุ้นที่ถูกทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง (Freeze-drying/ lyophilization technique)

สารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ จะถูกทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง ตามคำแนะนำของบริษัท กล่าวโดยย่อคือ สารสกัดส่วนวุ้นที่ได้ จะถูกนำมาวัดน้ำหนักและปริมาตร และทำให้เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสเป็นเวลาอย่างน้อย 6 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปเข้าเครื่อง Flexi-Dry(tm) (FTS Systems, Inc., USA) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดส่วนวุ้นที่ถูกทำให้แห้ง มาชั่งน้ำหนัก ละลายด้วยน้ำกลั่นในปริมาตรที่กำหนด และผ่านกระดาษไนโตรเซลลูโลส ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.22 ไมโครเมตร เพื่อทำให้ปราศจากเชื้อ โดยความเข้มข้นของโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ในสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ถูกทำให้แห้งด้วยวิธีที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

การเตรียมเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงมาจากเนื้อเยื่อโพรงฟันและเนื้อเยื่อเหงือก

เซลล์เอ็นยึดปริทันต์ และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงมาจากเนื้อเยื่อเหงือก จะถูกเพาะเลี้ยงขึ้นตามวิธีที่ได้เคยรายงานไว้แล้ว[14] โดยเซลล์จะเตรียมจากเนื้อเยื่อของฟันกรามซี่ที่ 3 ของผู้ป่วยที่มารับการบริการถอนฟัน จากภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาฯ เนื่องจากการจัดฟันหรือผ่าฟันคุด โดยไม่มีการผุหรืออักเสบของเหงือก กล่าวโดยย่อคือ ฟันและเหงือกที่ติดมากับฟันที่ได้ จะถูกล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์-เซลายน์ (phosphate buffer saline) ที่ปราศจากเชื้อ ขูดเอ็นยึดปริทันต์จากบริเวณตอนกลางของรากฟันด้วยมีดผ่าตัด ส่วนชิ้นเนื้อของเนื้อเยื่อโพรงฟันและเหงือกจะถูกตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 1 x 1 x 1 มิลลิเมตร จากนั้นนำเนื้อเยื่อที่ได้แต่ละชนิดไปเลี้ยงแยกบนจานเพาะเลี้ยง (35 mm culture dish, Nunc, Denmark) ที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็ม (DMEM; Dulbecco Modified Eagle's Medium) ซึ่งประกอบด้วยสารต่าง ๆ คือ ซีรัม (fetal bovine serum) ความเข้มข้นร้อยละ 10, แอล-กลูตามีน (L-glutamine) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์, เพนนิซิลิน-จี (penicillin-G) ความเข้มข้น 100 ยูนิต/มิลลิลิตร, สเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต (streptomycin sulfate) ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และแอมโฟเทอริซิน บี (amphotericin B) ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร อาหารเลี้ยงเซลล์และสารประกอบทั้งหมดได้จาก GIBCO BRL (USA) จากนั้นเนื้อเยื่อจะถูกเลี้ยงในตู้อบคาร์บอนไดออกไซด์ (carbondioxide incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เมื่อเซลล์เริ่มเจริญออกจากชิ้นเนื้อจนเต็มจานเพาะเลี้ยงแล้ว ก็จะถูกนำไปหว่าน (subculture) ในจานเพาะเลี้ยงใหม่ (60 mm culture dish, Nunc, Denmark) และนับเซลล์ที่หว่านนี้เป็นเซลล์รุ่นที่ 1 เซลล์จะถูกหว่านใหม่สัปดาห์ละ 1 ครั้ง และเซลล์ที่ใช้ในการทดลองจะเป็นเซลล์รุ่นที่ 3-7 โดยจะใช้เซลล์ที่เพาะเลี้ยงจากผู้ป่วยอย่างน้อย 3 คน

การทดสอบเซลล์ที่เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดของว่านหางจระเข้

เซลล์จะถูกหว่านลงในจานเพาะเลี้ยงแบบ 24 หลุม (Nunc, Denmark) ที่ความหนาแน่น 100,000 เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นอาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนเป็นชนิดที่ปราศจากซีรัม 2 ครั้ง ครั้งละ 3 ชั่งโมง เพื่อล้างซีรัมออก แล้วจึงเปลี่ยนเป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีซีรัมและเติมสารสกัดของว่านหางจระเข้ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่กำหนด เซลล์จะถูกเลี้ยงต่อไปอีก 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการวัดอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ด้วยสารเอ็มเอ็มที

ในการทดลองครั้งนี้ จะใช้เซลล์จำนวน 4 หลุมในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ และสารสกัดส่วนวุ้นที่ถูกทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง และใช้เซลล์จำนวน 3 หลุมในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดส่วนยางของว่านหางจระเข้ การทดลองจะถูกทำซ้ำอย่างน้อยสามครั้ง

การวิเคราะห์การเพิ่มจำนวนเซลล์และความเป็นพิษของสารทดสอบด้วยสารเอ็มทีที (MTT assay)

วิธีการวิเคราะห์นี้ ดัดแปลงมาจากวิธีของ Freshney[15] โดยย่อคือ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ทำการทดลอง ในสภาวะที่มีสารสกัดจากว่านหางจระเข้ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนเป็นดีเอ็มอีเอ็มชนิดที่ปราศจากฟีนอลเรด (DMEM without phenol red) ที่มีสารละลายเอ็มทีที (MTT) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และนำเข้าตู้อบเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นอาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกดูดออกและใส่สารละลายไดเม็ททิลซัลฟอกไซด์ (dimethylsulfoxide) ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสง 570 นาโนเมตร จากนั้นนำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นจากการวัดความสามารถในการเปลี่ยนสารเอ็มทีทีเป็นผลึกฟอร์มาแซน (formazan) ของเซลล์ที่ทราบจำนวน เพื่อคำนวณหาจำนวนเซลล์

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จะถูกวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) หาค่าเฉลี่ย (mean) และความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) และวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนเซลล์ในกลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากว่านหางจระเข้กับกลุ่มควบคุม โดยใช้สถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบแจงทางเดียว (One-way Analysis of Variance) และแบบทดสอบของเชฟเฟ (Scheff' Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้ในการวัดผลจะให้ค่าเฉลี่ยของปริมาณเซลล์ในกลุ่มควบคุมเป็นร้อยละ 100

ผลการศึกษา

สารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ประกอบด้วยโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์

จากการวิเคราะห์พบว่า สารสกัดส่วนวุ้น สารสกัดส่วนยางและสารสกัดส่วนวุ้นที่ถูกทำให้แห้ง มีส่วนประกอบของโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์

สารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้มีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน

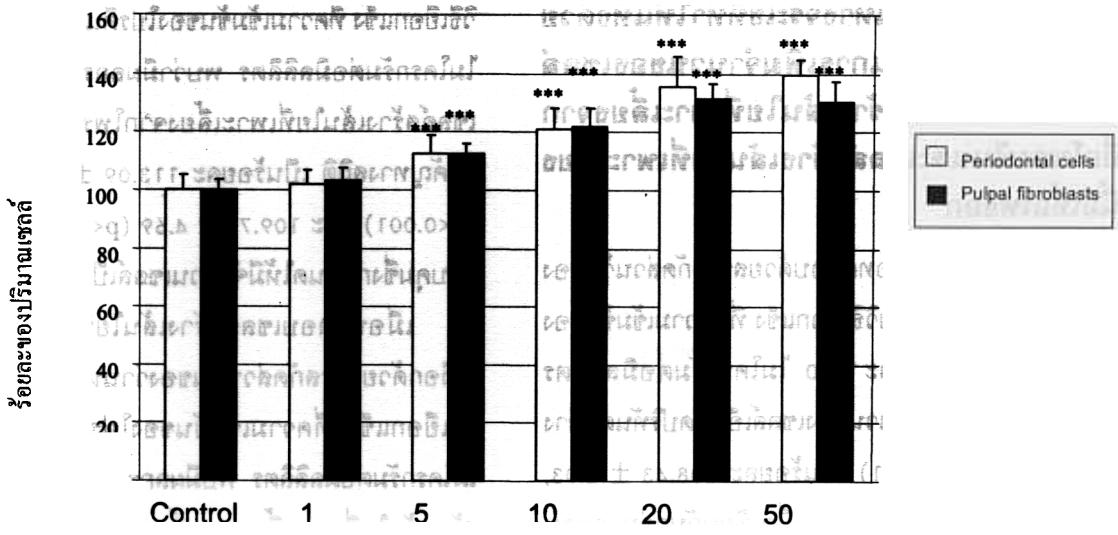
เซลล์เอ็นยึดปริทันต์เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 5, 10, 20 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีการเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) โดยเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 112.58 ± 6.22, 121.07 ± 7.00, 135.46 ± 10.37 และ 139.37 ± 5.39 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งกำหนดให้มีจำนวนเซลล์เป็นร้อยละ 100 (รูปที่ 1)

เมื่อทดสอบเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟันด้วยสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ ที่ความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 5, 10, 20 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน พบมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) โดยเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 112.25 ± 3.63, 121.66 ± 6.48, 131.273 ± 5.29 และ 129.99 ± 7.61 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งกำหนดให้มีจำนวนเซลล์เป็นร้อยละ 100 (รูปที่ 1)

สารสกัดส่วนยางของว่านหางจระเข้มีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน

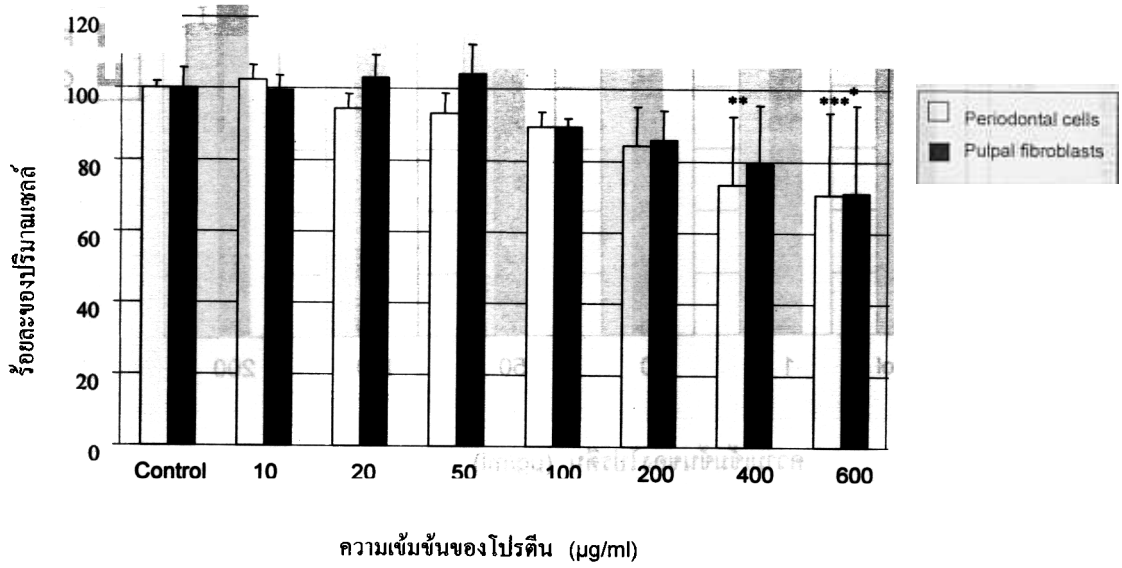
เซลล์เอ็นยึดปริทันต์เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดส่วนยางของว่านหางจระเข้ตามความเข้มข้นของโปรตีนที่กำหนด พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 400 และ 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เซลล์เอ็นยึดปริทันต์มีจำนวนเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเป็นร้อยละ 73.55 ± 18.94 ($p<0.005$) และ 70.50 ± 23.02 ($p<0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งกำหนดให้จำนวนเซลล์เป็นร้อยละ 100 (รูปที่2)

เมื่อทดสอบเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟันด้วยสารสกัดส่วนยางของว่านหางจระเข้ ที่ความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟันมีจำนวนเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คิดเป็นร้อยละ 71.06 ± 24.51 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งกำหนดให้จำนวนเซลล์เป็นร้อยละ 100 (รูปที่ 2)



รูปที่ 1 แสดงผลของสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีการเอ็มทีที เซลล์ถูกทดสอบด้วยสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ความเข้มข้นของโปรตีนที่กำหนด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงอยู่ในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (***แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ที่ $p<0.001$, n=16)

Figure 1 Shows the effect of aloe vera gel extract on the proliferation of primary periodontal cells and pulpal fibroblasts via the MTT assay. Cells were treated with aloe vera gel extract at different protein concentrations for 24 hours. Data showed in mean ± S.D. (*** demonstrates significance from the control group at $p<0.001$, n=16)



รูปที่ 2 แสดงผลของสารสกัดส่วนยางของว่านหางจระเข้ต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีการเอ็มทีที เซลล์ถูกทดสอบด้วยสารสกัดส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่ความเข้มข้นของโปรตีนที่กำหนด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงอยู่ในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (*, **, *** แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ที่ $p<0.05$, 0.005 และ 0.001 ตามลำดับ, n=9)

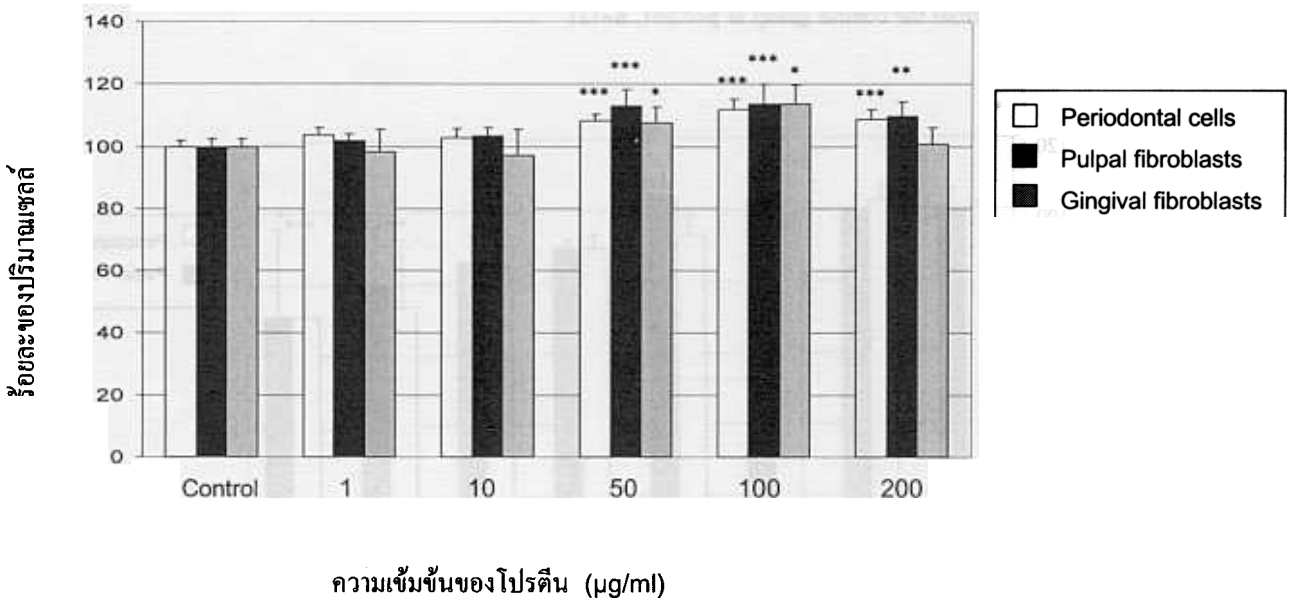
Figure 2 Shows the effect of aloe vera gel exudate on the proliferation of primary periodontal cells and pulpal fibroblasts via the MTT assay. Cells were treated with aloe vera gel exudate at different protein concentrations for 24 hours. Data showed in mean ± S.D. (*, **, *** demonstrates significance from the control group at $p<0.05$, 0.005 and 0.001, respectively, n=9)

สารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็งมีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ เซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟันและเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเหงือก

เซลล์เอ็นยึดปริทันต์เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง ที่มีความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 50, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) เป็นร้อยละ 108.43 ± 2.03, 111.97 ± 3.29 และ 108.97 ± 3.02 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งกำหนดให้มีจำนวนเซลล์เป็นร้อยละ 100 (รูปที่ 3)

เมื่อทดสอบเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟันด้วยสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง ที่ความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 50, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากโพรงประสาทฟันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เป็นร้อยละ 113.09 ± 5.31, 113.90 ± 6.04 ($p<0.001$) และ 109.76 ± 4.69 ($p<0.005$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งกำหนดให้มีจำนวนเซลล์เป็นร้อยละ 100 (รูปที่ 3)

เมื่อทดสอบเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเหงือกด้วยสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง ที่ความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 50 และ100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบมีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเหงือกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 107.60 ± 5.12 และ 113.83 ± 5.97 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งกำหนดให้มีจำนวนเซลล์เป็นร้อยละ 100 (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 แสดงผลของสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง ต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟันและเนื้อเยื่อเหงือก เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีการเอ็มทีที เซลล์ถูกทดสอบด้วยสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง ในความเข้มข้นของโปรตีนที่กำหนด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงอยู่ในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (*, **, *** แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ที่ $p<0.05$, 0.005 และ 0.001 ตามลำดับ, n=12)

Figure 3 Shows the effect of lyophilized aloe vera gel extract on the proliferation of primary periodontal cells, pulpal fibroblasts and gingival fibroblasts via the MTT assay. Cells were treated with lyophilized aloe vera gel extract at different protein concentrations for 24 hours. Data showed in mean ± S.D. (*, **, *** demonstrates significance from the control group at $p<0.05$, 0.005 and 0.001, respectively, n=12)

วิจารณ์

ในการศึกษาครั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดส่วนวุ้นและส่วนยางของว่านหางจระเข้ รวมทั้งสารสกัดส่วนวุ้นที่ทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็งต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์และความเป็นพิษของสารสกัดจากว่านหางจระเข้ที่มีต่อเซลล์เอ็นยึด ปริทันต์ เซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเหงือก โดยการวิเคราะห์ ด้วยสารเอ็มทีที

การวัดจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตด้วยสารเอ็มทีที อาศัยหลักการในการตรวจวัดระดับของเอนไซม์ดีไฮโดรจิเนส ที่พบในไมโทคอนเดรีย (mitochondrial dehydrogenase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจของเซลล์ โดยเอนไซม์นี้จะเปลี่ยนเกลือเตตระโซเลียม (tetrazolium salt) ในสารเอ็มทีทีเป็นผลึกฟอร์มาแซน (formazan) ซึ่งมีสีม่วง เมื่อนำไปละลายด้วยสารละลายที่เหมาะสม จะสามารถนำไปคำนวณหาจำนวนเซลล์ได้ ถ้าเซลล์มีจำนวนมาก สีม่วงของสารละลายของผลึกฟอร์มาแซนก็จะมีความเข้มข้นสูงทำให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงมากขึ้น ซึ่งทำให้วิธีนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้วัดสารทดสอบในแง่ของความเป็นพิษของสารและการเพิ่มจำนวนเซลล์

นอกเหนือจากส่วนประกอบที่เป็นน้ำและโปรตีนแล้ว คณะผู้วิจัยยังพบกลุ่มน้ำตาลโพลีแซคคาไรด์ในสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหาง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของนักวิจัยกลุ่มอื่นที่ค้นพบกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ อาทิ เช่น สาร acetylated mannan, lectin-like molecule และ mannose-6-phosphate ในสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้[7]

สารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 5,10, 20 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานผลของสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยของผิวหนังแท้ เซลล์ของเนื้อเยื่อปอด และเซลล์ dendritic ซึ่งเป็นเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย[9,11,16-18]

สารสกัดส่วนยางของว่านหางจระเข้ ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 10-200 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร พบไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ และเซลล์สร้างเส้นใย ที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน ($p>0.05$) แต่เมื่อระดับความเข้มข้นของโปรตีนสูงขึ้น เป็น 400 และ 600 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร พบเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟัน มีจำนวนเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม, $p < 0.005$ และ $p < 0.05$, ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของคณะผู้วิจัยที่พบว่าสารสกัดส่วนยางที่ความเข้มข้นของโปรตีน 600 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร มีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเหงือก และจากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง พบการรายงานสาร aloe-emodin และ emodin ซึ่งเป็นสารกลุ่มฟีนอล ที่แยกสกัดได้จากส่วนยางของว่านหางจระเข้ มีผลในการยับยั้งการแบ่งตัวและกระตุ้นให้เกิด apoptosis ในเซลล์มะเร็ง เช่น lymphoma, neuroblastoma และ hepatoma cell lines โดยการยับยั้งวงจรการแบ่งตัวของเซลล์ที่ระยะ G1 กระตุ้นการเพิ่มจำนวนนิวเคลียสโปรตีน p53 และ p21 ซึ่งเป็น tumor suppressor gene และกระตุ้นการสร้างโปรตีน Fas/APO 1 receptor และ Bax ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิด apoptosis[19-24]

เนื่องจากสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ได้ มีค่าความเข้มข้นของโปรตีนค่อนข้างต่ำ ทำให้มีข้อจำกัดในเรื่องของปริมาตรสารสกัดจากส่วนวุ้นที่ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ระหว่างการทดสอบ และกลายเป็นอุปสรรคในการศึกษาหาค่าความเข้มข้นของโปรตีนในสารสกัดส่วนวุ้นที่ให้ผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงสุด (optimal concentration) ต่อเซลล์สร้างเส้นใยที่ทำการทดลอง จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง พบว่าสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้มีส่วนผสมของน้ำประมาณร้อยละ 96-98[7] ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงทำการระเหิดส่วนน้ำของสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ ด้วยวิธีการเยือกแข็ง ซึ่งอาศัยหลักการที่น้ำเปลี่ยนสภาพจากของแข็งระเหิดกลายเป็นไอน้ำโดยตรง เพื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ จากนั้นนำสารสกัดส่วนวุ้นที่ทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง มาทดสอบคุณสมบัติในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ ซึ่งผลการทดลองพบว่าสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ถูกทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 50, 100, 150 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์

($p<0.001$) และเนื้อเยื่อโพรงฟัน ($p<0.005$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

การที่สารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ถูกทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สูญเสียคุณสมบัติในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ และที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถในการเพิ่มจำนวนเซลล์ลดลงกว่าสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ อาจอธิบายได้จากการทำสารสกัดส่วนวุ้นที่ทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็งนี้ ผ่านกระบวนการระเหิดซึ่งต้องใช้ระยะเวลานาน จึงอาจทำให้สูญเสียคุณสมบัติบางประการไป ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่ตีพิมพ์[25-28] และภูมิปัญญาท้องถิ่นที่พบว่าส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่สด จะให้ผลในการรักษาแผลได้ดีกว่าส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่เก็บไว้มานาน แต่อย่างไรก็ดีข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้สามารถเก็บอยู่ในรูปของแข็ง โดยการทำให้แห้งด้วยวิธีการระเหิดด้วยวิธีเยือกแข็ง ยังคงคุณสมบัติในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อพิจารณาจากผลการทดลอง (รูปที่ 3) ระดับความเข้มข้นของโปรตีนในสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ ที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เหล่านี้ ควรจะสูงกว่า 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในการทดลองครั้งนี้มีข้อกำจัดบางประการ เช่น สารสกัดส่วนวุ้นและส่วนยางของว่านหางจระเข้ ที่ใช้ในการทดสอบเป็นสารสกัดรวมที่มีส่วนประกอบเป็นโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งทำให้ยากต่อการสรุปผลชี้เฉพาะว่าเป็นผลจากสารใดในสารสกัดได้อย่างชัดเจน ดังนั้นการสกัดแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนวุ้นและส่วนยางของว่านหางจระเข้ เพื่อทดสอบกับเซลล์สร้างเส้นใย จึงอาจเป็นขั้นตอนที่สำคัญต่อการพัฒนานำว่านหางจระเข้มาประยุกต์ใช้ในอนาคต แต่อย่างไรก็ดีผลในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ของสารสกัดส่วนวุ้นอาจเกิดจากส่วนประกอบต่าง ๆ ของส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ทำงานร่วมกัน[7] ดังนั้นการสกัดแยกสารบริสุทธิ์และนำมาทดสอบ อาจทำให้สูญเสียคุณสมบัติในการเพิ่มจำนวนเซลล์ของว่านหางจระเข้ไปก็ได้ อีกประการหนึ่ง ผู้วิจัยใช้โปรตีนเป็นตัวแทนของความเข้มข้นของสารสกัดจากว่านหางจระเข้ แทนการใช้สารโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งคาดว่าจะเป็นสารออกฤทธิ์หลักต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ ซึ่งเป็นข้อที่ต้องได้รับการแก้ไขปรับปรุง แต่คณะผู้วิจัยเชื่อว่าที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนหนึ่งจะมีปริมาณของโพลีแซคคาไรด์ค่าหนึ่ง เมื่อเราเพิ่มจำนวนโปรตีนเพิ่มขึ้น ปริมาณของโพลีแซคคาไรด์ก็ควรจะเพิ่มขึ้นในอัตราส่วนที่สอดคล้อง

นอกเหนือจากผลของสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์, เนื้อเยื่อโพรงฟัน และเนื้อเยื่อเหงือก ได้มีการรายงานผลของสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ ในการต่อต้านการติดเชื้อ ลดการอักเสบของแผล กระตุ้นการทำงานของเซลล์แม็คโครเฟส เร่งการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์ในกลุ่มไกลโคซามิโนไกลเคน (glycosamino glycan) และคอลลาเจน รวมทั้งกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่[29-34] ดังนั้นสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ เพื่อนำมาพัฒนาและประยุกต์ใช้ในงานทางด้านทันตกรรมต่อไป

สรุป

งานวิจัยครั้งนี้ แสดงให้เห็นถึงผลของสารสกัดส่วนวุ้นและส่วนยางจากว่านหางจระเข้ที่มีต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ เซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟันและเนื้อเยื่อเหงือก โดยสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 5, 10, 20 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ และเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อโพรงฟัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.001$) สารสกัดส่วนยางของว่านหางจระเข้มีความเป็นพิษต่อเซลล์ทำให้เซลล์เอ็นยึดปริทันต์ลดจำนวนเซลล์ลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($p<0.005$) และทำให้เซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟันลดจำนวนลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดส่วนวุ้นที่ถูกทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง มีผลในการเพิ่มจำนวนเซลล์เอ็นยึดปริทันต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 50, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($p<0.001$) และมีผลในการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากโพรงประสาทฟันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 50 ($p<0.001$), 100 ($p<0.001$) และ 200 ($p<0.005$) ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีผลในการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเหงือกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผศ. ทพญ. วิสาขะ ลิ่มวงศ์ และ ผศ. ทพญ. ดอลลี่ เมธาธราธิป ที่ให้คำแนะนำในการทำงานวิจัย ขอขอบคุณ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ ภาควิชาเภสัชวิทยา ภาควิชาชีวเคมี ภาควิชาศัลยศาสตร์ ภาควิชาทันตกรรมชุมชน และศูนย์วิจัยชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนและอนุญาตให้ใช้อุปกรณ์และสารเคมีในงานวิจัย และขอขอบคุณ คุณสังเวียน คำตา ที่ให้ความเอื้อเฟื้อว่านหางจระเข้ในงานวิจัยครั้งนี้

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนบางส่วนจากคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปี 2545

เอกสารอ้างอิง

1. คณะกรรมการทันตสุขภาพแห่งชาติ, กองทันตสาธารณสุข. รายงานผลการสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติ ครั้งที่ 5 พ.ศ. 2543-2544. กรุงเทพมหานคร : กองทันตสาธารณสุข กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2545.
2. Quinones CR, Caffesse RG. Current status of guided periodontal tissue regeneration. Periodontol 2000. 1995;9:55-68.
3. Six N, Lasfargues JJ, Goldberg M. Differential repair responses in the coronal and radicular areas of the exposed rat molar pulp induced by recombinant human bone morphogenetic protein 7 (osteogenic protein 1). Arch Oral Biol. 2002;47:177-87.
4. Cvek M, Granath L, Cleaton-Jones P, Austin J. Hard tissue barrier formation in pulpotomized monkey teeth capped with cyanoacrylate or calcium hydroxide for 10 and 60 minutes. J Dent Res. 1987;66:1166-74.
5. Stein GS, Lian JB, Stein JL, van Wijnen AJ, Frenkel B Montecino M. Mechanisms regulating osteoblast proliferation and differentiation. In : Bilezikian JP, Raisz LG, RodanGA, editors. Principle of Bone Biology 1st edition. San Diego : Academic Press,1996:69-88.
6. Aubin JE. Advances in the osteoblast lineage. Biochem Cell Biol. 1998;76:899-910.
7. Reynolds T, Dweck AC. Aloe vera leaf gel : a review update. J Ethnopharmacol. 1999;69:3-37.
8. Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of Aloe vera on collagen characteristics in healing dermal wounds in rats. Mol Cell Biochem.1998;181:71-6.
9. Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. J Ethnopharmacol.1998;59:195-201.
10. Vazquez B, Avila G, Segura D, Escalante B. Antiinflammatory activity of extracts from Aloe vera gel. J Ethnopharmacol. 1996;55:69-75.
11. Strickland FM, Pelley RP, Kripke ML. Prevention of ultraviolet-induced suppression of contact and delayed hypersensitivity by Aloe barbadensis gel extract. Journal of investigative Dermatology.1994;102:197-204.
12. Thunyakitpisal P, Damrongsri D, Charearnwetchatom N, Boonyaratanasoontorn S, Udomkittanasarn S. Effect of aloe vera gel and exudate extracts on the proliferation of primary cultured gingival fibroblasts and keratinocytes, In vitro. CU Dent J 2002;25:61-70.
13. เอมอร เบญจวงศ์กุล. คู่มือปฏิบัติการชีวเคมี 3213-251, ภาควิชาชีวเคมี คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2544:83.
14. Thunyakitpisal P. Effect of simvastatin on the proliferation of osteoblasts, primary cultured gingival fibroblasts and primary cultured periodontal ligament fibroblasts, In vitro. J Dent Assoc Thai 2001;51:179-87.
15. Freshney RI. Culture of animal cells: A manual of basic technique. 3rd edition. New York: Wiley-Liss, Inc.,1994.
16. Yagi A, Egusa T, Arase M, Tanabe M, Tsuji H. Isolation and characterization of the glycoprotein fraction with aproliferation-promoting activity on human and hamster cells in vitro from Aloe vera gel. Planta Med. 1997;63:18-21.
17. Yagi A, Machii K, Nishimura H, Shida T, Nishioka I. Effect of aloe lectin on deoxyribonucleic acid synthesis in baby hamster kidney cells. Experientia. 1985;41:669-
18. Choi SW, Son BW, Son YS, Park YI, Lee SK, Chung MH. The wound-healing effect of a glycoprotein fraction isolated from aloe vera. Br J Dermatol. 2001;145: 535-45.

19. Chen YC, Shen SC, Lee WR, Hsu FL, Lin HY, Ko CH, Tseng SW. Emodin induces apoptosis in human promyeloleukemic HL-60 cells accompanied by activation of caspase 3 cascade but independent of reactive oxygen species production. Biochem Pharmacol. 2002;64:1713-24.
20. Jing X, Ueki N, Cheng J, Imanishi H, Hada T. Induction of apoptosis in hepatocellular carcinoma cell lines by emodin. Jpn J Cancer Res. 2002;93:874-82.
21. Mueller SO, Stopper H. Characterization of the genotoxicity of anthraquinones in mammalian cells. Biochim Biophys Acta. 1999;1428:406-14.
22. Mueller SO, Stopper H, Dekant W. Biotransformation of the anthraquinones emodin and chrysophanol by cytochrome P450 enzymes. Bioactivation to genotoxic metabolites. Drug Metab Dispos. 1998;26:540-6.
23. Pecere T, Gazzola MV, Mucignat C, Parolin C, Vecchia FD, Cavaggioni A, Basso G, Diaspro A, Salvato B, Carli M, Palu G. Aloe-emodin is a new type of anticancer agent with selective activity against neuroectodermal tumors. Cancer Res. 2000; 60:2800-4.
24. Kuo PL, Lin TC, Lin CC. The antiproliferative activity of aloe-emodin is through p53-dependent and p21-dependent apoptotic pathway in human hepatoma cell lines. Life Sci. 2002;71:1879-92.
25. Guo Z, Wang Z, Wang X. Studies on the stability of creatine kinase isozymes. Biochem Cell Biol. 2003;81: 9-16.
26. Kluger R, Bouhon W, Freudenberger H, Kroner A, Engel A, Hoffmann O. Removal of the surface layers of human cortical bone allografts restores in vitro osteoclast function reduced by processing and frozen storage. Bone. 2003;32:291-6.
27. Palmer EM, Baum LG, van Seventer GA. Small intestinal submucosa induces loss of mitochondrial integrity and caspase-dependent apoptosis in human T cells. Tissue Eng. 2003;9:307-14.
28. Izutsu K, Kojima S. Excipient crystallinity and its protein-structure-stabilizing effect during freeze-drying. J Pharm Pharmacol. 2002;54:1033-9.
29. Somboonwong J, Thanamittramanee S, Jariyapongskul A, Patumraj S. Therapeutic effects of Aloe vera on cutanous microcirculation and wound healing in second degree burn model in rats. J Med Assoc Thai. 2000; 83:417-25.
30. Yagi A, Kabash A, Mizuno K, Moustafa SM, Khalifa TI, Tsuji H. Radical scavenging glycoprotein inhibiting cyclooxygenase-2 and thromboxane A2 synthase from aloe vera gel. Planta Med. 2003;69:269-71.
31. Djeraba A, Quere P. In vivo macrophage activation in chickens with Acemannan, a complex carbohydrate extracted from Aloe vera. Int J Immunopharmacol. 2000; 22:365-72.
32. Zhang L, Tizard IR. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from Aloe vera gel. Immunopharmacology. 1996;35:119-28.
33. Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of Aloe vera on the glycosaminoglycans in the matrix of healing dermal wounds in rats. J Ethnopharmacol. 1998;59:179-86.
34. Choi S, Kim KW, Choi JS, Han ST, Park YI, Lee SK, Kim JS, Chung MH. Angiogenic activity of beta-sitosterol in the ischaemia/reperfusion-damaged brain of Mongolian gerbil. Planta Med. 2002;68:330-5.

Aloe vera gel extract stimulates the proliferation of primary cultured human periodontal ligament cells and pulpal fibroblasts

Pasutha Thunyakitpisal D.D.S., Ph.D. [1]
Kanoknadda Tavedhikul[2]
Kulwadee Heamkulchon[2]

[1] Department of Anatomy, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
[2] Dental student, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University

Abstract

Objective : To study the effect of aloe vera gel extract and aloe vara exudates on the proliferation of primary cultured periodontal cells, pulpal fibroblasts, and gingival fibroblasts

Materials and methods : Cells were treated with the aloe vera gel extract, aloe vera exduate, and the lyophilized aloe vera gel extract in the serum-free media for 24 hours. The number of cells were measured by MTT technique and analyzed by One way ANOVA ($\alpha < 0.05$).

Results : The aloe vera gel extract, at protein concentration 5, 10, 20 and 50 µg/ml, significantly increased the proliferation of periodontal cells and pulpal fibroblasts compared with the control group. The aloe vera gel exudates, at protein concentration 400 and 600 µg/ml, significantly decreased the proliferation of periodontal cells and pulpal fibroblasts as compared with the control group. The lyophilized aloe vera gel extract, at protein concentration 50, 100 and 200 µg/ml, significantly increased the proliferation of periodontal cells and pulpal fibroblasts. The lyophilized aloe vera gel extract, at protein concentration 50 and 100 µg/ml, significantly increased the proliferation of gingival fibroblasts compared with the control group.

Conclusion : The aloe vera gel extract (5-50 µg/ml) and lyophilized aloe vera gel extract (50-200 µg/ml) significantly induce the proliferation of periodontal cells and pulpal fibroblasts. The lyophilized aloe vera gel extract (50-100 µg/ml) significantly induce the proliferation of gingival fibroblasts. The aloe vera gel exudates (400-600 µg/ml) significantly decreased the cell number of periodontal cells and pulpal fibroblasts.

(CU Dent J 2004; 27:47-57)

Key words : *Aloe vera; Proliferation; Periodontal cell; Pulpal fibroblast and Gingival fibroblast*