ว ทันต จุฬาฯ 2545;25:61-70

# ผลของสารสกัดจากส่วนวุ้นและส่วนยางจากว่านหางจระเข้ต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเหงือกและเซลล์สร้างเคอราตินในห้องปฏิบัติการ

**พสุธา ธัญญะกิจไพศาล ท.บ., Ph.D.** [1]
**ดำรง ตำรงค์ศรี ท.บ., Ph.D.** [1]
**นฤมล เจริญเวชธรรม** [2]
**สุภีพันธุ์ บุณยรัตนสุนทร** [2]
**สุรีรัตน์ อุดมกิจธนสาร** [2]

[1]ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[2]นิสิตคณะทันตแพทย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทคัดย่อ

***วัตถุประสงค์*** เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากว่านหางจระเข้ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยและเซลล์สร้างเคอราติน CCL-25

***วัสดุและวิธีการ*** เซลล์ถูกทดสอบด้วยสารสกัดจากส่วนวุ้นและส่วนยางที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจำนวนเซลล์จะถูกคำนวณโดยวิธีการย้อมเซลล์ด้วยสีเมทิลีนบลู และผลการทดลองจะถูกวิเคราะห์ทางสถิติแบบ One-way Analysis of Variance

***ผลการศึกษา*** สารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนตั้งแต่ 1-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ไม่มีผลต่อเซลล์สร้างเคอราติน ส่วนสารสกัดจากส่วนยางที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 20-400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์สร้างเส้นใย ในขณะที่ความเข้มข้นของโปรตีนในสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเคอราติน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

***สรุป*** สารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 1-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากยางที่ระดับความเข้มข้น 20-400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใย

(ว ทันต จุฬาฯ 2545;25: 61-70)

## บทนำ

แผลในช่องปากนับเป็นสาเหตุสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้ผู้ป่วยต้องมาพบและปรึกษาทันตแพทย์ แผลในช่องปากอาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น แผลที่เกิดจากความคมของขอบฟันปลอม การเสียดสีของฟันปลอมที่ไม่พอดี การกัดกระแทกที่เยื่อบุภายในช่องปาก ซึ่งถ้าปล่อยไว้ให้เป็นแผลเรื้อรังและมีปัจจัยอย่างอื่นร่วมด้วย เช่น การสูบบุหรี่และการดื่มสุราก็อาจทำให้เกิดการพัฒนากลายเป็นเนื้อร้ายได้[1,2]

โดยทั่วไปกลไกการหายของบาดแผล[3-5] แบ่งได้เป็น 3 ระยะ คือระยะอักเสบ (inflammatory phase) ระยะงอกเงย (proliferative phase) และระยะปรับแต่งบาดแผล (remodeling phase) โดยย่อคือในระยะอักเสบจะเกิดการแข็งตัวของเลือดบริเวณปากแผล เพื่อที่จะหยุดการไหลของเลือดที่บาดแผล เมื่อลิ่มเลือดแข็งตัวและแห้งจะกลายเป็นสะเก็ดเลือดปิดบาดแผลในขณะเดียวกันเซลล์เม็ดเลือดขาวจะเคลื่อนตัวผ่านผนังเส้นเลือดฝอยออกมายังบริเวณบาดแผลเพื่อกำจัดเนื้อเยื่อที่ตายและสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ โดยขบวนการฟาโกไซโตซิส (phagocytosis) ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 3-4 วัน จากนั้นการหายของแผลจะเข้าสู่ระยะงอกเงย ซึ่งเป็นระยะที่มีการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ (granulation tissue) ประกอบด้วยเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblast) ซึ่งมีหน้าที่สร้างเมทริกซ์ภายนอกเซลล์ ตัวอย่างเช่น เส้นใยคอลลาเจน (collagen fiber) และเส้นใยอีลาสติก (elastic fiber) และมีการสร้างขึ้นมาใหม่ของเส้นเลือดฝอย เซลล์สร้างเคอราติน (keratinocyte) ซึ่งเป็นเซลล์ในชั้นเยื่อบุผิว (epithelium) จะเจริญจากขอบของบาดแผล โดยเคลื่อนตัวผ่านใต้สะเก็ดเลือดไปบนผิวของเนื้อเยื่อใหม่และมาเชื่อมต่อกันจนเกิดเป็นชั้นบาง ๆ ของเยื่อบุผิว (reepithelium) ขบวนการสร้างเนื้อเยื่อใหม่นี้เกิดขึ้นในวันที่ 3 ถึงวันที่ 20 หลังเกิดบาดแผล ส่วนระยะสุดท้ายเป็นระยะปรับแต่งบาดแผล ในระยะนี้จะมีเส้นใยคอลลาเจนเพิ่มมากขึ้นภายในบาดแผล แผลจะเริ่มหดตัวและเกิดเป็นแผลเป็น (scar) แต่การหายของบาดแผลในช่องปากจะไม่มีแผลเป็นเกิดขึ้น

ในปัจจุบันได้มีการศึกษาค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับการนำสมุนไพรท้องถิ่นมาใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ มากขึ้น[6-10] ว่านหางจระเข้ (Aloe vera) ก็เป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่น่าสนใจเป็นอย่างมาก โดยจากภูมิปัญญาชาวบ้านพบว่าว่านหางจระเข้ช่วยในการรักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก อีกทั้งยังเป็นสมุนไพรที่พบมากในประเทศไทย สามารถปลูกและดูแลรักษาได้ง่าย สารสกัดจากว่านจระเข้สามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วนคือสารสกัดจากส่วนวุ้น (aloe vera gel) มีลักษณะเป็นของเหลวใส และสารสกัดจากส่วนยาง (exudate) จะมีสีเหลืองขุ่น Chithra และคณะ ได้รายงานถึงผลของสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ มีผลช่วยในการหายของบาดแผลในหนูทดลอง โดยพบมีการสร้างคอลลาเจนจากเซลล์สร้างเส้นใยของผิวหนัง (skin fibroblast) และการเพิ่มจำนวนของเซลล์บุผิวหนัง[11-12] นอกจากนี้สารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ยังมีผลลดการอักเสบ โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase ซึ่งมีหน้าที่ควบคุมสร้างสาร prostaglandin E-2 ซึ่งเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอาการปวดและอักเสบ[13] นอกจากนี้สารสกัดจากว่านหางจระเข้ยังมีผลช่วยยับยั้งการระคายเคืองของผิวหนังที่ได้รับแสงอุลตร้าไวโอเล็ตชนิดบี (UV-B)[14] อย่างไรก็ดียังไม่เคยมีการรายงานผลของสารสกัดจากส่วนวุ้นและส่วนยางของว่านหางจระเข้ ที่มีต่อเซลล์สร้างเส้นใยและเซลล์สร้างเคอราตินที่แยกมาจากเนื้อเยื่อเหงือก

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงทำการวิจัยนำร่องในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากส่วนวุ้นและส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยที่แยกจากเนื้อเยื่อเหงือกของมนุษย์และเซลล์สร้างเคอราติน ตลอดจนศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากส่วนวุ้นและส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่มีต่อเซลล์สร้างเส้นใยและเซลล์สร้างเคอราติน โดยความรู้พื้นฐานเบื้องต้นที่ได้ อาจจะนำไปสู่การพัฒนานำสารสกัดจากว่านหางจระเข้ มาเป็นส่วนประกอบของยาที่ใช้ในการรักษาบาดแผลในช่องปากในอนาคต

## วัสดและวิธีการ

**การเตรียมสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ (aloe vera gel)**

ใบว่านหางจระเข้ พันธุ์ *Aloe barbadensis* ถูกนำมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นและนำมาปอก ส่วนผิวที่เป็นสีเขียวออกให้หมด จนเหลือแต่ส่วนวุ้นใส จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อกำจัดส่วนยางที่อาจปนเปื้อน ส่วนวุ้นใสจะถูกทำให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 2×2×2 มิลลิเมตร แล้วทำให้ละเอียดด้วยเครื่อง homogenizer (WHEATON, NJ, USA) และกรองผ่านผ้าขาวบางตามลำดับ ส่วนการเตรียมสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ (exudate) เมื่อตัดใบว่านหางจระเข้ ส่วนยางจะไหลออกมาจากใบว่านหางจระเข้ตรงบริเวณรอยตัด รอประมาณ 1

ชั่วโมง จากนั้นส่วนยางจากใบว่านหางจระเข้จะถูกทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:20

ต่อจากนั้นสารสกัดที่ได้ทั้งสองชนิด จะถูกกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และทำให้ปราศจากเชื้อด้วยกระดาษไนโตรเซลลูโลส ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.22 ไมโครเมตร ความเข้มข้นของโปรตีนในสารสกัดจากว่านหางจระเข้ จะถูกคำนวณด้วยชุดวัดปริมาณโปรตีนของ Bio-Rad® (CA, USA) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของโปรตีนอัลบูลมิน (bovine serum albumin, fraction V) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยทำตามคำแนะนำในเอกสารจากบริษัทผู้ผลิต

**การเตรียมเซลล์สร้างเส้นใยที่แยกจากเนื้อเยื่อเหงือก(primary cultured gingival fibroblast cells)**

เซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงมาจากเนื้อเยื่อเหงือกและเอ็นยึดปริทันต์ ถูกเพาะเลี้ยงขึ้นตามวิธีที่ได้เคยรายงานไว้แล้ว[15-16] กล่าวโดยย่อคือ ล้างฟันและเหงือกที่ติดมากับฟันที่ได้ ด้วยฟอสเฟต บัฟเฟอร์เซลายน์ (phosphate buffer saline) ที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นชิ้นเนื้อของเหงือกจะถูกตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 1×1×1 มิลลิเมตร และนำเนื้อเยื่อที่ได้ไปเลี้ยงบนจานเพาะเลี้ยง (35 mm culture dish, Nunc, Denmark) ที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็ม (DMEM; Dulbecco Modified Eagle's Medium) ที่ประกอบด้วยสารประกอบต่างๆ คือ ซีรัม (fetal bovine serum) ความเข้มข้นร้อยละ 10, แอล-กลูตามีน (L-glutamine) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์, เพนนิซิลิน-จี (penicillin-G) ความเข้มข้น 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร, สเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต (streptomycin sulfate) ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และแอมโฟเทอริซิน บี (amphotericin B) ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อาหารเลี้ยงเซลล์และสารประกอบทั้งหมดได้จากบริษัท GIBCO BRL (USA) จากนั้นเนื้อเยื่อจะถูกเลี้ยงในตู้อบคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสและมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เมื่อเซลล์คลานออกจากชิ้นเนื้อและเจริญเติบโตจนเต็มจานเพาะเลี้ยงแล้ว ก็จะถูกนำไปหว่าน (subculture) ในจานเพาะเลี้ยงใหม่ (60 mm culture dish, Nunc, Denmark) และนับเซลล์ที่หว่านนี้เป็นเซลล์รุ่นที่ 1 เซลล์จะถูกหว่านใหม่สัปดาห์ละ 1 ครั้ง และเซลล์ที่ใช้ในการทดลองจะเป็นเซลล์รุ่นที่ 3-5

ส่วนเซลล์สร้างเคอราติน (Keratinocyte cell lines, ATCC Number: CCL-25) ได้รับความเอื้อเฟื้อจาก Professor Jack Windsor (Dental school, Indiana University, USA) เซลล์จะถูกเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว และมีการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 2-3 วัน

**การทดสอบเซลล์ที่เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดจากว่านหางจระเข้**

เซลล์จะถูกหว่านลงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 24 หลุม (NUNCLON™, Denmark) ที่ความหนาแน่น 50,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นอาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนเป็นชนิดที่ปราศจากซีรัม 2 ครั้ง ครั้งละ 3 ชั่วโมงเพื่อล้างซีรัมออก แล้วจึงเปลี่ยนเป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีซีรัมและเติมสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ หรือสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ตามความเข้มข้นของโปรตีนที่กำหนด เซลล์จะถูกเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงทำการวัดอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยวิธีการย้อมเซลล์ด้วยสีเมทิลีนบลู

**การวิเคราะห์ปริมาณเซลล์โดยการย้อมเซลล์ด้วยสีเมทิลีนบลู (Methylene blue assay)**

การย้อมเซลล์ด้วยสีเมทิลีนบลู ดัดแปลงจากวิธีของ Oliver และคณะ[17] โดยย่อคือ อาหารเลี้ยงเซลล์ในแต่ละหลุมจะถูกดูดออก แล้วล้างด้วยฟอสเฟตบบบัฟเฟอร์เซลายน์ 2 ครั้ง จากนั้นเซลล์จะถูกตรึง (fixation) ด้วยสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ (formaldehyde) ความเข้มข้นร้อยละ 4 เป็นเวลา 30 นาที แล้วล้างด้วยสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.5 (borate buffer pH 8.5) อีก 2 ครั้ง ก่อนที่จะวัดจำนวนเซลล์โดยการย้อมด้วยสีเมทิลีนบลู ความเข้มข้นร้อยละ 1 ในสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นจะล้างสีส่วนเกินออกด้วยสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์อย่างน้อย 4 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที แล้วจึงใช้สารละลายผสมของเอทิลแอลกอฮอล์ (ethanol) และกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) อัตราส่วน 1:1 ละลายสีที่ย้อมติดบนผิวเซลล์ สารละลายสีที่ได้จะถูกนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่นแสง 667 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้ไปเทียบหาจำนวนเซลล์กับกราฟมาตรฐาน

กราฟมาตรฐานทำขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ทราบจำนวนลงในจานเพาะเลี้ยงแบบเดียวกันเป็นเวลา 16 ชั่วโมง แล้วย้อมด้วยสีเมทิลีนบลูเช่นเดียวกับข้างต้น ค่าที่ได้จะนำมาใช้เปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์กับค่าการดูดกลืนแสง

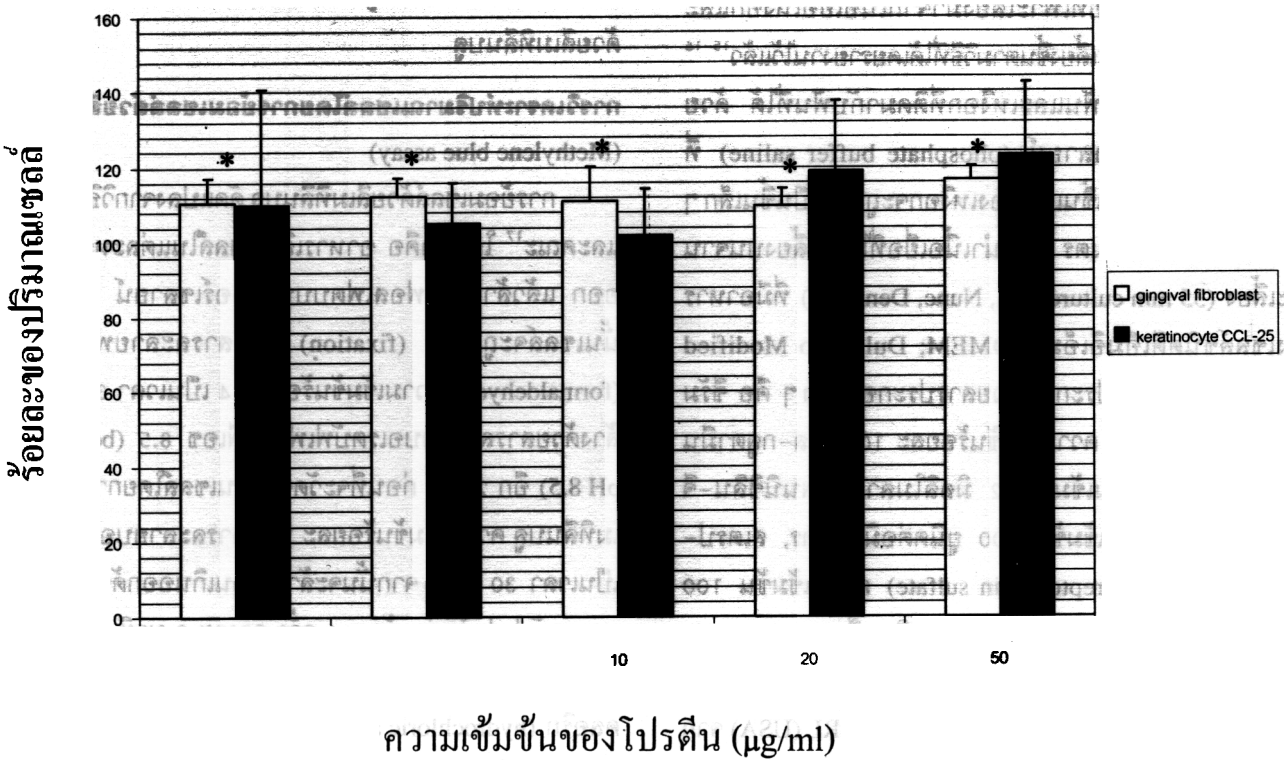
**การวิเคราะห์ทางสถิติ**

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

## ผลการศึกษา

**สารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยจากเนื้อเยื่อเหงือก แต่ไม่มีผลต่อเซลล์สร้างเคอราติน CCL-25**

เมื่อทดสอบเซลล์สร้างเส้นใยจากเนื้อเยื่อเหงือกด้วยสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 1, 5, 10, 20 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าเซลล์สร้างเส้นใยมีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 1) ในขณะที่เซลล์สร้างเคอราติน CCL-25 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม($p > 0.05$) (รปที่ 1)




**รูปที่ 1** ผลของสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ต่อเซลล์สร้างเส้นใยที่แยกจากเนื้อเยื่อเหงือกและเซลล์สร้างเคอราติน เมื่อวิเคราะห์ด้วยการย้อมเซลล์ด้วยสีเมทิลีนบูล เซลล์ถูกทดสอบด้วยสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ความเข้มข้นของโปรตีน 1, 5, 10, 20, 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ค่าในแกนตั้งแสดงปริมาณของเซลล์เป็นร้อยละเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนแกนนอนแสดงความเข้มข้นของโปรตีนในสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ $\alpha = 0.05$ ผลการทดลองแสดงไว้ในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=6)

**Fig. 1** The effect of aloe vera gel on the proliferation of primary cultured human gingival fibroblast and keratinocyte cell line (CCL-25) via the methylene blue staining assay. Cells were treated with aloe vera gel at the protein concentration of 1, 5, 10, 20, and 50 µp/ml for 24 hours.

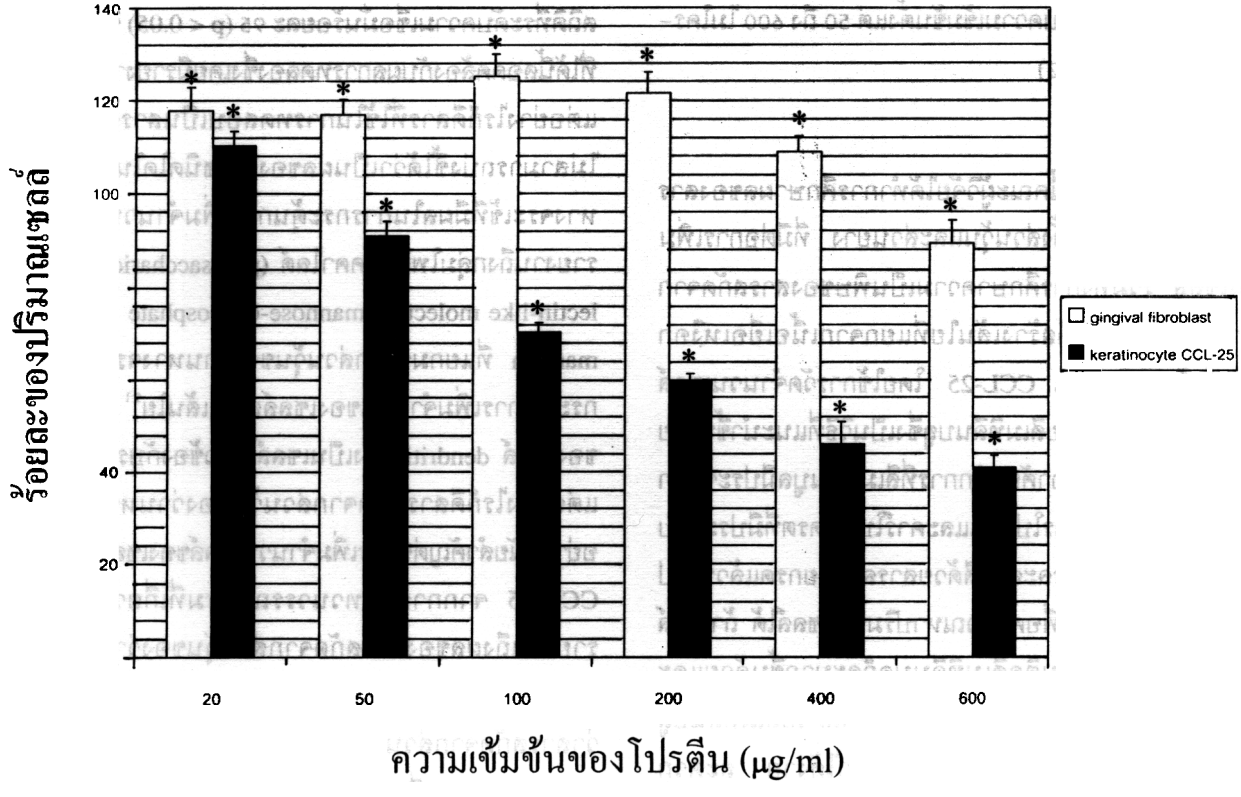
Y-axis shows the percentage of cell number compared with the control group, while X-axis shows the final protein concentration of aloe vera gel.

* demonstrates significant difference from the control group at p=0.05. Data are showed in mean ± standard deviation (n=6).

**สารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยจากเนื้อเยื่อเหงือกและเซลล์สร้างเคอราติน** CCL-25

เซลล์สร้างเส้นใยที่แยกจากเนื้อเยื่อเหงือก มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 20, 50, 100, 200 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 2)

ส่วนเซลล์สร้างเคอราติน CCL-25 พบมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($p < 0.05$) (รูปที่ 2)




**รูปที่ 2** ผลของสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ต่อเซลล์สร้างเส้นใยที่แยกจากเนื้อเยื่อเหงือกและเซลล์สร้างเคอราติน เมื่อวิเคราะห์ด้วยการย้อมเซลล์ด้วยสีเมทิลีนบูล เซลล์ถูกทดสอบด้วยสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่ความเข้มข้นของโปรตีน 20, 50, 100, 200, 400 และ 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ค่าในแกนตั้งแสดงปริมาณของเซลล์เป็นร้อยละเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนแกนนอนแสดงความเข้มข้นของโปรตีนในสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ $\alpha = 0.05$ ผลการทดลองแสดงไว้ในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=6)

**Fig. 2** The effect of aloe vera exudate on the proliferation of primary cultured human gingival fibroblast and keratinocyte cell line (CCL-25) via the methylene blue staining assay. Cells were treated with aloe vera exudate at the protein concentration of 20, 50, 100, 200, 400 and 600 µp/ml for 24 hours.

Y-axis shows the percentage of cell number compared with the control group, while X-axis shows the final protein concentration of aloe vera exudate.

* demonstrates significant difference from the control group at p=0.05. Data are showed in mean ± standard deviation (n=6).

**ความเป็นพิษของสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่มีต่อเซลล์สร้างเส้นใยและเซลล์สร้างเคอราติน CCL-25**

จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ ที่ระดับความเข้มข้น 0-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเส้นใยและเซลล์สร้างเคอราติน CCL-25 (รูปที่ 1) ในขณะที่สารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ ที่ระดับความเข้มข้น 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเส้นใย (รูปที่ 2) ส่วนระดับความเป็นพิษของสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่มีต่อเซลล์สร้างเคอราติน อยู่ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 50 ถึง 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 2)

## วิจารณ์

ในการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดจากว่านหางจระเข้ทั้งส่วนวุ้นและส่วนยาง ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ รวมทั้งการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากว่านหางจระเข้ต่อเซลล์สร้างเส้นใยที่แยกจากเนื้อเยื่อเหงือกและเซลล์สร้างเคอราติน CCL-25 โดยใช้การวัดจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมเซลล์ด้วยสีเมทิลีนบลูซึ่งเป็นวิธีที่แนะนำขึ้นโดย Finlay และคณะ[18] โดยอาศัยหลักการที่สีเมทิลีนบลูมีประจุบวก ทำให้สามารถย้อมติดสารโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตที่มีประจุลบบนผิวเซลล์ จากนั้นการละลายสีด้วยสารละลายกรดแล้วนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงเพื่อคำนวณหาปริมาณเซลล์ได้ ถ้าเซลล์มีจำนวนมาก การย้อมติดสีเมทิลีนบลูก็จะมากขึ้นด้วยและทำให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงมาก การย้อมเซลล์ด้วยสีเมทิลีนบลูนี้มีข้อดีหลายประการเนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว มีค่าใช้จ่ายน้อย และยังสามารถนำมาใช้ในการเปรียบเทียบอิทธิพลของสารหรือยาแต่ละชนิดที่มีต่อการเจริญของเซลล์ได้[15-18] อย่างไรก็ตามวิธีนี้อาจมีข้อจำกัดบางประการในแง่ของปริมาณเซลล์ที่ใช้ในการวัด โดยพบว่าการย้อมเซลล์ด้วยสีเมทิลีนบลูจะให้ผลแสดงปริมาณเซลล์ที่มีอยู่ในปริมาณน้อยได้ไม่ชัดเจน และที่สำคัญคือสีเมทิลีนบลูอาจจะย้อมติดเซลล์ที่ได้รับอันตรายจากสารที่ทดสอบ แต่ยังไม่สูญเสียคุณสมบัติในการยึดเกาะกับจานเพาะเลี้ยงหรืออาจย้อมติดโปรตีนบางชนิดที่เซลล์สร้างขึ้นทำให้การแปลผลคลาดเคลื่อนได้

เซลล์สร้างเส้นใยและเซลล์สร้างเคอราติน เป็นเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญต่อการหายของบาดแผล ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้วางแผนที่จะทดสอบผลของสารสกัดจากส่วนวุ้นและสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่มีต่อเซลล์ เซลล์สร้างเส้นใยและเซลล์สร้างเคอราตินที่แยกจากเนื้อเยื่อเหงือกและเยื่อเมือกช่องปาก (oral mucosa) แต่เนื่องจากเทคนิคการแยกเซลล์สร้างเคอราตินจากเนื้อเยื่อเหงือกและเยื่อเมือกช่องปาก กำลังอยู่ในขั้นตอนของการพัฒนาทำให้ผู้วิจัยต้องใช้เซลล์สร้างเคอราติน CCL-25 ซึ่งเป็นเซลล์มะเร็งแต่ยังคงมีลักษณะบางอย่างคล้ายเซลล์สร้างเคอราตินปกติ ในการทำการวิจัยครั้งนี้

สารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้ม 1, 5, 10, 20 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์สร้างเส้นใยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับผลการทดลองซึ่งเคยมีรายงานมาก่อน[11,19-22] แต่อย่างไรก็ดีสารที่ใช้ในการทดสอบเป็นสารสกัดรวม ทำให้ไม่สามารถบ่งชี้ได้ว่าเป็นผลของสารชนิดใดในส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่มีผลในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ แต่ได้มีรายงานถึงกลุ่มโพลีแซคคาไลด์ (polysaccharide) ตัวอย่างเช่น lectin-like molecule, mannose-6-phosphate และ acetylated mannan ที่แยกมาจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ถึงผลในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใย[21] และการพัฒนาของเซลล์ dendritic ซึ่งเป็นเซลล์เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน[23] แต่อย่างไรก็ดีสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์สร้างเคอราติน CCL-25 จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง พบมีการรายงานถึงผลของสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ต่อเซลล์สร้างเคอราตินที่ไม่สอดคล้องกัน โดย Lawrence[24] พบว่าสารสกัดจากส่วนวุ้นสามารถเร่งการหายของชั้น corneal epithelium ขณะที่ Watcher และ Wheeland[25] จาก University of California สหรัฐอเมริกา และ Reynold และคณะ[26] จากประเทศอังกฤษ ได้รายงานว่าสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ไม่มีผลต่อการเร่งการเจริญเติบโตของชั้น epithelium (re-epithelization) ในสัตว์ทดลองที่ถูกทำให้เป็นแผล และการหายของเนื้อเยื่อกระจกตา (corneal epithelium) ของสัตว์ทดลองที่ถูกทำให้เป็นแผลตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้ จึงอาจมีความเป็นไปได้ว่า สารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ อาจจะมีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์สร้างเส้นใย แต่ไม่มีผลต่อเซลล์สร้างเคอราติน

สารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้มีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์สร้างเส้นใย โดยพบว่าสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 20, 50,

100, 200 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อความเข้มข้นของโปรตีนเพิ่มขึ้นเป็น 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า จำนวนเซลล์สร้างเส้นใยลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าเกิดเนื่องจากส่วนประกอบของส่วนสกัดจากส่วนยางในว่านหางจระเข้ที่ความเข้มข้นระดับหนึ่ง มีผลกระตุ้นการเจริญเติบโต แต่เมื่อระดับความเข้มข้นหรือจำนวนโปรตีนเพิ่มมากขึ้น สารดังกล่าวอาจจะก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ได้ หรืออาจเกิดจากสารอื่นๆ ในสารสกัดส่วนยางที่เพิ่มปริมาณมากขึ้นจนทำให้เกิดความเป็นพิษก็ได้ สำหรับผลของสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่มีต่อเซลล์สร้างเคอราติน CCL-25 พบว่าผลการทดลองที่ได้ตรงข้ามกับผลของสารที่มีต่อเซลล์สร้างเส้นใย โดยพบการลดลงของจำนวนเซลล์เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 50, 100, 200, 400 และ 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ CCL-25 ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าเกิดเนื่องจากสารที่เป็นส่วนประกอบในส่วนยางของว่านหางจระเข้ ที่ระดับความเข้มข้น 50-600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีความเป็นพิษต่อเซลล์ CCL-25 จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องได้มีรายงานถึงสาร aloe-emodin และ emodin ที่แยกสกัดจากส่วนยางในว่านหางจระเข้ ซึ่งมีผลในการยับยั้งการแบ่งตัวและกระตุ้นให้เกิด apoptosis ในเซลล์มะเร็ง ตัวอย่างเช่น L 5178Y lymphoma และ neuroblastoma แต่สารนี้ไม่พบว่ามีผลต่อเซลล์สร้างเส้นใย[27] โดยคาดว่าสารเหล่านี้ อาจมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ topoisomerase II[28]

ในการทดลองครั้งนี้มีข้อจำกัดอยู่หลายประการ เช่น สารสกัดที่ใช้ในการทดลองเป็นสารสกัดรวม เซลล์สร้างเคอราตินที่ใช้ก็ได้มาจากเซลล์มะเร็ง ทำให้ไม่สามารถสรุปผลของสารสกัดจากส่วนวุ้นหรือส่วนยางต่อเซลล์บุผิวได้ชัดเจน ดังนั้นการทดสอบเซลล์สร้างเส้นใยและเซลล์สร้างเคอราตินที่แยกจากเนื้อเยื่อเหงือกกับสารสกัดบริสุทธิ์ที่แยกจากส่วนวุ้นหรือส่วนยางจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นต่อการบ่งชี้ถึงความสำคัญของสารเหล่านี้ต่อการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใย และเซลล์สร้างเคอราตินที่แยกจากเนื้อเยื่อเหงือกในการศึกษาครั้งต่อไป อีกประการหนึ่งผู้วิจัยใช้โปรตีนเป็นตัวแทนของความเข้มข้นของสารสกัดจากว่านหางจระเข้ แทนการใช้โพลีแซคคาไรด์ ซึ่งเป็นสารที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ ซึ่งเป็นข้อที่ต้องมีการแก้ไขปรับปรุงในการทดลองครั้งต่อไป แต่อย่างไรก็ดี ผู้วิจัยเชื่อว่าที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนหนึ่ง ก็จะมีปริมาณของโพลีแซคคาไรด์ค่าหนึ่ง เมื่อเราเพิ่มจำนวนโปรตีนก็จะเพิ่มขึ้น ปริมาณของโพลีแซคคาไรด์ก็ควรจะเพิ่มขึ้นในอัตราส่วนที่สอดคล้องกัน

เนื่องจากการหายของแผลเกิดจากการทำงานร่วมกันระหว่างเซลล์บุผิวหรือเซลล์สร้างเคอราติน ซึ่งอยู่ในชั้นเยื่อบุผิวหรือชั้นหนังกำพร้า และเซลล์สร้างเส้นใยซึ่งอยู่ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ดังนั้นสารที่จะนำมาใช้ในการรักษาบาดแผลจึงควรมีผลต่อการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ทั้งสองชนิด ถึงแม้ว่าในผลการทดลองครั้งนี้สารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้มีผลในการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยแต่ไม่มีผลต่อเซลล์สร้างเคอราติน CCL-25 แต่ได้มีรายงานถึงคุณสมบัติของสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ในการต่อต้านการติดเชื้อ (antimicrobial activity) ลดการอักเสบของบาดแผล การกระตุ้นการสร้างสารเมทริกต์นอกเซลล์ในกลุ่ม glycosamino glycan และคอลลาเจน รวมทั้งผลต่อการกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่[29-33] ดังนั้นสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้จึงอาจจะนำมาพัฒนาเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการรักษาบาดแผลในช่องปากได้ ส่วนสารสกัดจากส่วนยางผู้วิจัยยังคงเห็นว่าควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลที่จะสามารถนำไปพิจารณาเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ต่อไปในอนาคต ซึ่งในการทดลองครั้งนี้สามารถเสนอแนะได้เพียงว่า ในการเตรียมสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ไม่ควรมีการปนเปื้อนจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนมากกว่า 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เนื่องจากความเข้มข้นของโปรตีนที่สูงกว่านี้อาจจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเคอราติน

## บทสรุป

งานวิจัยครั้งนี้ แสดงให้เห็นถึงผลของสารสกัดจากส่วนเจลและส่วนยางของว่านหางจระเข้ต่อเซลล์สร้างเส้นใย และเซลล์สร้างเคอราติน โดยสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 1-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใย โดยที่สารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเคอราติน สารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้น 20-400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใย

ในขณะที่ความเข้มข้นของสารสกัดจากส่วนยางของว่านหางจระเข้ที่ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเคอราติน

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ทญ.ดร.วิสาขะ ลิ่มวงศ์ และ ผศ.ทญ ดอลลี่ เมธาธราธิป ที่ให้การสนับสนุนในการทำวิจัย ขอขอบคุณ รศ.ทญ.ทัศนีย์ ยงชัยตระกูล และ รศ.ทพ.ดร.ประสิทธิ์ ภวสันต์ ในคำแนะนำและออกแบบการทดลอง รวมทั้งทันตแพทย์หญิงสิริลักษณ์ ตีรณธนากุล ในความช่วยเหลือและแนะนำในการเพาะเลี้ยงเซลล์

งานวิจัยครั้งนี้ ได้รับการสนับสนุนจากคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## เอกสารอ้างอิง

1. Soames JV, Southam JC. Oral Pathology. 3rd ed. New York: Oxford University Press Inc., 1998;165.
2. William G, Maynard K, Barnet M. A Textbook of Oral Pathology. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1983:114.
3. Liptak JM. An overview of the topical management of wounds. Aust Vet J 1997;75:408-13.
4. Martin P. Wound healing-Aiming for perfect skin regeneration. Science 1997;276:75-81.
5. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Basic Pathology. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1992:53-55.
6. Klein AD, Penneys NS. Aloe vera. J Am Acad Dermatol 1988;18: 714-20.
7. Samaranayake MD, Wickramasinghe SM, Angunawela P, Jayasekera S, Iwai S, Fukushima S. Inhibition of chemically induced liver carcinogenesis in Wistar rats by garlic *(Allium sativum)*. Phytother Res 2000;14:564-7.
8. Kalus U, Pindur G, Jung F, Mayer B, Radtke H, Bachmann K, Mrowietz C, Koscielny J, Kiesewetter H. Influence of the onion as an essential ingredient of the Mediterranean diet on arterial blood pressure and blood fluidity. Arzneimittelforschung 2000;50:795-801.
9. Chen X, Liu L, Li Z. Cardiovascular protective effect and NO-mediated cerebrovasorelaxant effects of extract of Ginkgo biloba leaves. Zhonghua Yi Xue Za Zhi 1998;78:692-5.
10. Kitano M, Wanibuchi H, Kikuzaki H, Nakatani N, Imaoka S, Funae Y, Hayashi S, Fukushima S. Chemopreventive effects of coumaperine from pepper on the initiation stage of chemical hepatocarcinogenesis in the rat. Jpn J Cancer Res 2000;91:674-80.
11. Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of Aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. J Ethnophamacol 1998;59:195-201.
12. 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.
13. Vazquez B, Avila G, Segura D, Escalante B. Antiinflammatory activity of extracts from Aloe vera gel. J Ethnophamacol 1996;55:69-75.
14. Byeon SW, Pelley RP, Ullrich SE, Waller TA, Bucana CD, Strickland FM. *Aloe barbadensis* extracts reduce the production of interleukin-10 after exposure to ultratviolet radiation. J Invest Dermatol 1998; 110:811-7.
15. กนกวรรณ จรูญภัทรพงษ์ และ เกษรา ปัทมพันธุ์. การศึกษาเปรียบเทียบผลของการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมทิลีนบลูกับวิธีวิเคราะห์ด้วยสารเอ็มทีที. ว ทันต จุฬาฯ 2543;23: 83-90.
16. พสุธา ธัญญะกิจไพศาล. ผลของสารชิมวาสเตตินต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูก เซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงมาจากเนื้อเยื่อเหงือก และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงมาจากเอ็นยึดปริทันต์ในห้องปฏิบัติการ. ว ทันต 2544;51:179-87.
17. Oliver MH, Harrison NK, Bishop JE, Cole PJ, Laurent GJ. A rapid and convenient assay for counting cells cultured in microwell plates: application for assessment of growth factors. J Cell Sci 1989;92: 513-8.
18. Finlay GJ, Baguley BC, Wilson WR. A semiautomated microculture method for investigating growth inhibitory effects of cytotoxic compounds on exponentially growing carcinoma cells. Anal Biochem 1984;139:272-7.
19. Winters WD, Benavides R, Clouse WJ. Effects of Aloe extracts on human normal and tumor cells in vitro. Economic Botany 1981;35: 89-95.
20. Yagi A, Egusa T, Arase M, Tanabe M, Tsuji H. Isolation and characterization of the glycoprotein fraction with a proliferation-promoting activity on human and hamster cells in vitro from Aloe vera gel. Planta Med 1997;63:18-21.
21. Qiu Z, Jones K, Wylie M, Jia Q, Orndorff S. Modified Aloe barbadensis polysaccharide with immunoregulatory activity. Planta Med 2000; 66:152-6.
22. Lee KY, Park JH, Chung MH, Park YI, Kim KW, Lee YJ, et al. Aloesin up-regulates cyclin E/CDK2 kinase activity via inducing the protein levels of cyclin E, CDK2 and CDC25A in SK-HEP-1 cells. Biochem Mol Biol Int 1997;41:285-92.
23. Lee JK, Lee MK, Yun YP, Kim Y, Kim JS, Kim YS et al. Acemannan purified from Aloe vera induces phenotypic and functional maturation of immature dendritic cells. Int Immunopharmacol 2001;1:1275-84.
24. Lawrence D. Treatment of flash burns of the conjunctiva. N Engl J Med 1984;311:413.
25. Watcher MA, Wheeland RG. The role of topical agents in the healing of full-thickness wounds. J Dermatol Surg Oncol 1989;15:1188-95.
26. Reynolds T, Dweck AC. Aloe vera leaf gel: a review update. J Ethnopharmacol 1999;68:3-37.
27. Pecere T, Gazzola MV, Mucignat C, Parolin C, Vecchia FD, Cavaggioni A, et al. Aloe-emodin is a new type of anticancer agent with selective activity against neuroectodermal tumors. Cancer Res 2000;60:2800-4.
28. Mueller SO, Stopper H. Characterization of the genotoxicity of anthraquinones in mammalian cells. Biochim Biophys Acta 1999; 1428:406-14.
29. Somboonwong J, Thanamittramanee S, Jariyapongskul A, Patumraj S. Therapeutic effects of Aloe vera on cutaneous microcirculation and wound healing in second degree burn model in rats. J Med Assoc Thai 2000;83:417-25.

30. Lee MJ, Lee OH, Yoon SH, Lee SK, Chung MH, Park YI, et al. In vitro angiogenic activity of Aloe vera gel on calf pulmonary artery endothelial (CPAE) cells. Arch Pharm Res 1998;21:260-5.
31. 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.
32. Visuthikosol V, Chowchuen B, Sukwanarat Y, Sriurairatana S, Boonpucknavig V. Effect of aloe vera gel to healing of burn wound: a clinical and histologic study. J Med Assoc Thai 1995;78:403-9.
33. Strickland FM, Darvill A, Albersheim P, Eberhard S, Pauly M, Pelley RP. Inhibition of UV-induced immune suppression and interleukin-10 production by plant oligosaccharides and polysaccharides. Photochem Photobiol 1999;69:141-7.

# Effect of aloe vera gel and exudate extracts on the proliferation of primary cultured gingival fibroblasts and keratinocyte, In vitro

**Pasutha Thunyakitpisal D.D.S., Ph.D.** [1]
**Damrong Damrongsri D.D.S., Ph.D.** [1]
**Narumol Charearnwetchatom**[2]
**Supeepan Boonyaratanasoontorn**[2]
**Sureerut Udomkittanasarn**[2]

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

## Abstract

***Objective*** To study the effect of aloe vera extracts on the proliferation of gingival fibroblasts and ketatinocytes CCL-25

***Material and methods*** Cells were treated with the different protein concentration of aloe vera gel and exudate extracts for 24 hours. After that the number of cells were measured by the methylene blue staining assay. The results were statistically analyzed by using One-way Analysis of Variance.

***Results*** The aloe vera gel extract at protein concentration of 1-50 μg/ml induced the gingival fibroblast proliferation significantly, but not keratinocyte. The exudate extract at protein concentration of 20-400 μg/ml significantly stimulated the proliferation of gingival fibroblasts while only concentration 20 μg/ml of exduate induced keratinocyte proliferation ($p<0.05$).

***Conclusion*** The aloe vera gel extract (1-50 μg/ml) and the exudate extract (20-400 μg/ml) induced the gingival fibroblast proliferation.

(CU Dent J 2002;25: 61-70)

*Key words: Aloe vera; fibroblast; kerationocyte*