

การศึกษาเปรียบเทียบผลของว่านหางจระเข้กับยาซูครัลเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบ

ไพลเวียนเลือดขนาดเล็ก ระดับของทีเอ็นเอฟ-แอลฟาและไอแอล-10 และ

การหายของแผลกระเพาะอาหารในหนูขาว



นางสาว กัญญาณ์ เอี่ยมล้ำน้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสตรีวิทยา (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2547

ISBN 974-53-1091-3

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE COMPARATIVE STUDY BETWEEN EFFECTS OF *ALOE VERA*  
AND SUCRALFATE ON GASTRIC MICROCIRCULATORY  
CHANGES, TNF- $\alpha$  AND IL-10 LEVELS, AND  
GASTRIC ULCER HEALING IN RATS



Miss Kallaya Eamlamnam

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Physiology (Inter-Department)

Graduate School

Chulalongkorn University

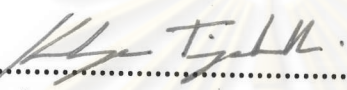
Academic Year 2004

ISBN 974-53-1091-3

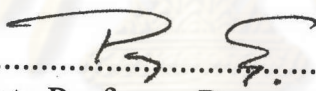
Thesis Title THE COMPARATIVE STUDY BETWEEN  
EFFECTS OF *ALOE VERA* AND SUCRALFATE  
ON GASTRIC MICROCIRCULATORY  
CHANGES, TNF- $\alpha$  AND IL-10 LEVELS, AND  
GASTRIC ULCER HEALING IN RATS  
By Miss Kallaya Eamlamnam  
Field of study Physiology  
Thesis Advisor Associate Professor Suthiluk Patumraj, Ph.D.  
Thesis Co-advisor Associate Professor Duangporn Thong-Ngam, M.D.

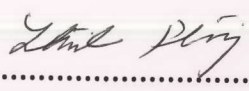
---


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


  
.....Dean of the Graduate School  
(Assistant Professor M.R. Kalaya Tingsabadh, Ph.D.)

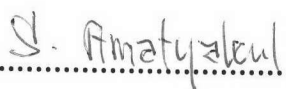
#### THESIS COMMITTEE

  
.....Chairman  
(Associate Professor Prasong Siriviriyakul, M.D.)

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

  
.....Thesis Co-advisor  
(Associate Professor Duangporn Thong-Ngam, M.D.)

  
.....Member  
(Assistant Professor Naruemon Wisedopas, M.D.)

  
.....Member  
(Assistant Professor Supathra Amatyakul, Ph.D.)

กัลยาน์ เอี่ยมล้ำน้ำ: การศึกษาเปรียบเทียบผลของว่านหางจระเข้และยาซูครัลเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบไหลเวียนเลือดขนาดเล็ก ระดับของทีเอ็นเอฟ-แอลฟา และ ไอแอล-10 และการหายของแผลกระเพาะอาหารในหนูขาว (THE COMPARATIVE STUDY BETWEEN EFFECTS OF *ALOE VERA* AND SUCRALFATE ON GASTRIC MICROCIRCULATORY CHANGES, TNF- $\alpha$  AND IL-10 LEVELS, AND GASTRIC ULCER HEALING IN RATS) อ. ที่ปรึกษา: รศ. ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช,  
อ. ที่ปรึกษาร่วม: รศ. พญ. ดวงพร ทองงาม; 122 หน้า ISBN 974-53-1091-3

แผลกระเพาะอาหารเกิดจากความไม่สมดุลระหว่างสารที่ทำให้ระคายเคืองต่อกระเพาะอาหารและกลไกในการป้องกัน ว่านหางจระเข้เป็นสมุนไพรไทยพื้นบ้านที่มีฤทธิ์ในการรักษาแผลกระเพาะอาหาร ดังนั้น การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาถึงผลของว่านหางจระเข้ต่อการเปลี่ยนแปลงระบบไหลเวียนเลือดขนาดเล็กในกระเพาะอาหาร ระดับของไซโตไคน์ และการหายของแผลกระเพาะอาหารเปรียบเทียบกับยาซูครัลเฟต ในการทดลองนำหนูพันธุ์ Sprague Dawley จำนวน 48 ตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 12 ตัว คือ กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ทำให้เกิดแผลกระเพาะอาหาร กลุ่มที่ทำให้เกิดแผลกระเพาะอาหารด้วยกรดแอสซิติคความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์และไม่ได้รับการรักษา กลุ่มที่ทำให้เกิดแผลกระเพาะอาหารและรักษาด้วยยาซูครัลเฟต และกลุ่มที่ทำให้เกิดแผลกระเพาะอาหารและรักษาด้วยว่านหางจระเข้ หลังจากนั้นหนูแต่ละกลุ่มจะถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย และนำมาศึกษาในวันที่ 1 และวันที่ 8 ภายหลังทำให้เกิดแผลกระเพาะอาหาร โดยศึกษาถึงการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวที่ผนังของหลอดเลือดดำ การเปลี่ยนแปลงระดับของ TNF- $\alpha$  และ IL-10 และ การหายของแผลกระเพาะอาหาร

จากผลการทดลอง ในวันที่ 1 ภายหลังทำให้เกิดแผลกระเพาะอาหาร กลุ่มที่ทำให้เกิดแผลกระเพาะอาหารที่ไม่ได้รับการรักษา มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ของการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวที่ผนังของหลอดเลือดดำ และมีการสูงขึ้นของระดับของ TNF- $\alpha$  แต่มีการลดลงของระดับของ IL-10 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ทำให้เกิดแผลกระเพาะอาหารและรักษาด้วยยาซูครัลเฟต และ ว่านหางจระเข้ พบว่า มีการลดลงของการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวที่ผนังของหลอดเลือดดำ และ มีการสูงขึ้นของระดับของ IL-10 แต่ระดับของ TNF- $\alpha$  ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา ในวันที่ 8 ภายหลังทำให้เกิดแผลกระเพาะอาหาร กลุ่มที่ทำให้เกิดแผลกระเพาะอาหารที่ไม่ได้รับการรักษายังคงมีการเพิ่มขึ้นของการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวที่ผนังของหลอดเลือดดำ มีการสูงขึ้นของระดับของ TNF- $\alpha$  และ มีการลดลงของระดับของ IL-10 กลุ่มที่ทำให้เกิดแผลกระเพาะอาหารที่ได้รับการรักษาด้วยยาซูครัลเฟต และ ว่านหางจระเข้ พบว่า มีการลดลงของการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวที่หลอดเลือดดำ และระดับของ TNF- $\alpha$  แต่ระดับของ IL-10 ยังคงสูง เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา

นอกจากนั้น ในการตรวจทางพยาธิวิทยา ในวันที่ 1 และวันที่ 8 ภายหลังทำให้เกิดแผลกระเพาะอาหารด้วยกรดแอสซิติคความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารถูกทำลายและมีการอักเสบ แต่ในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยยาซูครัลเฟต และ ว่านหางจระเข้ ทั้งในวันที่ 1 และ วันที่ 8 พบว่า เนื้อเยื่อของกระเพาะอาหารมีการอักเสบลดลง มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ซีพีทีทีเสียม มีการยืดขยายของต่อมต่าง ๆ และมีการลดลงของขนาดของแผลกระเพาะอาหาร เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา

ในการศึกษานี้สรุปได้ว่า ในการทำให้เกิดแผลกระเพาะอาหารด้วยกรดแอสซิติคความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มีการอักเสบของกระเพาะอาหารโดยมีการเพิ่มขึ้นของการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวที่หลอดเลือดดำและระดับของ TNF- $\alpha$  แต่มีการลดลงของระดับ IL-10 ว่านหางจระเข้มีผลลดการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวที่หลอดเลือดดำและระดับของ TNF- $\alpha$  เพิ่มระดับของ IL-10 และรักษาแผลกระเพาะอาหาร ซึ่งว่านหางจระเข้ให้ผลเทียบเท่ากับยาซูครัลเฟต ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าว่านหางจระเข้มีผลการลดการอักเสบและรักษาแผลกระเพาะอาหาร

สาขาวิชา..... สรีรวิทยา..... ลายมือชื่อนิสิต..... กัลยาน์ เอี่ยมล้ำน้ำ  
ปีการศึกษา..... 2547..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... ศ.ดร.ดร. ปทุมราช  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

## 4589062220 : MAJOR PHYSIOLOGY

KEYWORD: *ALOE VERA*/GASTRIC MICROCIRCULATION/GASTRIC ULCER/TNF- $\alpha$ /IL-10  
 KALLAYA EAMLAMNAM : THE COMPARATIVE STUDY BETWEEN EFFECTS  
 OF *ALOE VERA* AND SUCRALFATE ON GASTRIC MICROCIRCULATORY  
 CHANGES, TNF- $\alpha$  AND IL-10 LEVELS, AND GASTRIC ULCER HEALING IN  
 RATS

THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUTHILUK PATUMRAJ, Ph. D.

THESIS CO-ADVISOR : ASSOC. PROF. DUANGPORN THONG-NGAM, M.D.

122 pp. ISBN 974 -53-1091-3

Gastric ulceration is resulted from the imbalance between gastrototoxic agents and protective mechanism. *Aloe vera* is a house plant which has anti-ulcer properties. The purpose of this study was to compare the effects between *Aloe vera* and sucralfate on gastric microcirculatory changes, cytokine levels and gastric ulcer healing. Male Sprague-Dawley rats (n=48) were divided into four groups. Group1, serve as control group. Group 2, the administration of 20% acetic acid induced gastric ulcer group. Group3 and 4, the administration of 20% acetic acid induced gastric ulcer treated with sucralfate and *Aloe vera*, respectively. The rats from each group were divided into 2 subgroup for study of leukocyte adherence, TNF- $\alpha$  and IL-10 levels, and gastric ulcer healing on day 1 and day 8 after induced gastric ulcer.

The results of this study showed that, on day 1 after induced gastric ulcer, the leukocyte adherence in postcapillary venule was significantly (p<0.05) increased in the ulcer groups when compared to the control group. The level of TNF- $\alpha$  was elevated and the level of IL-10 was reduced in this group. In both the ulcer treated with sucralfate and *Aloe vera* group could reduce leukocyte adherence in postcapillary venule. The level of IL-10 was elevated in those groups. But the level of TNF- $\alpha$  was not significant difference from the ulcer group. On days 8, the leukocyte adherence in postcapillary venule and the level of TNF- $\alpha$  were still increased and the level of IL-10 was reduced in the ulcer group. The ulcer treated with sucralfate and *Aloe vera* group could reduce leukocyte adherence in postcapillary venule and TNF- $\alpha$  level. The level of IL-10 was still elevated in those groups compared to the ulcer group.

Furthermore, the histopathological examination of stomach both on day 1 and day 8 after the 20% acetic acid induced gastric ulcer showed that the gastric tissue was damaged and inflammation. In the ulcer treated with sucralfate group and the ulcer treated with *Aloe vera* group both on day 1 and day 8 found that sucralfate and *Aloe vera* treatment reduced gastric inflammation, stimulated epithelial cells proliferation, elongation of gastric glands. The ulcer sizes were also reduced in those groups when compared to the ulcer group.

In this study, we concluded that the administration of 20% acetic acid induced gastric ulcer produced gastric inflammation, increased leukocyte adherence in postcapillary venule, elevated TNF- $\alpha$  level and reduced IL-10 level. *Aloe vera* treatment could reduce leukocyte adherence and TNF- $\alpha$  level, elevated IL-10 level and promoted gastric ulcer healing. *Aloe vera* treatment has similar effect to sucralfate treatment. Therefore, we concluded that, *Aloe vera* has antiinflammation effect and promote gastric ulcer healing.

Field of study..... Physiology.....Student's signature... Kallaya Eamlamnam .....  
 Academic year .....2004.....Advisor's signature..... Suthiluk Patumraj .....  
 Co-advisor's signature..... Duangporn Thong-ngam .....

## ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my sincere appreciation to my advisor, Assoc. Prof. Dr. Suthiluk Patumraj and my co-advisor, Assoc. Prof. Duangporn Thong-Ngam for their valuable guidance and suggestion, encouragement, and kindness throughout my study.

I would like to thank Assis. Prof. Naruemon Wisedopas for her kindness and valuable suggestion about histopathology. I would like to thank Assis. Prof. Dr. Somjit Eiam-Ong for valuable suggestion and training for spectrophotometry. I also would like to thank the members of thesis committee for their good comments and the correction of this thesis.

I would like to thank senior of the Physiology Department for their good counseling and training me every thing. I also would like to thank my friends to their sincerity, good friendship and their encouragement.

Finally, I would like to thank my family for their love, care and encouragement throughout my study.

This study has been supported by Rajadapiseksompoj Research Fund by Faculty of Medicine and Research Fund by Graduate School, Chulalongkorn University.

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## TABLE OF CONTENTS

	<b>Page</b>
ABSTRACT (THAI).....	iv
ABSTRACT (ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
TABLE OF CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST OF FIGURES.....	xi
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xiv
<b>CHAPTER</b>	
I INTRODUCTION.....	1
II LITERATURE REVEIWS.....	4
III MATERIALS AND METHODS.....	38
IV RESULTS.....	53
V DISCUSSION.....	85
VI CONCLUSION.....	96
REFERENCES.....	97
APPENDIX.....	120
BIOGRAPHY.....	122

ศูนย์วิทยุทัพยากร  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## LIST OF TABLES

Table	Page
1. Constituents of <i>Aloe vera</i> .....	25
2. Means $\pm$ S.E of body weight (grams.) of the control, ulcer, ulcer treated with sucralfate, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> groups on day1.....	61
3. Means $\pm$ S.E of body weight (grams.) of the control, ulcer, ulcer treated with sucralfate, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> groups on day 8.....	62
4. Means $\pm$ S.E of systolic blood pressure, diastolic blood pressure and mean arterial blood pressure (mmHg) of the control, ulcer, ulcer treated with sucralfate, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> groups on day 1.....	63
5. Means $\pm$ S.E of systolic blood pressure, diastolic blood pressure and mean arterial blood pressure (mmHg) of the control, ulcer, ulcer treated with sucralfate, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> groups on day 8.....	64
6. Means $\pm$ S.E of the numbers of leukocyte adherence (cells/field) of the control, ulcer, ulcer treated with sucralfate, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> groups.....	65



<b>Table</b>	<b>Page</b>
7. Means $\pm$ S.E of TNF- $\alpha$ level (pg/ml) of the control, ulcer, ulcer treated with sucralfate, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> groups.....	69
8. Means $\pm$ S.E of IL-10 level (pg/ml) of the control, ulcer, ulcer treated with sucralfate, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> groups.....	71
9. Histopathological changes of the control group, the ulcer group on day 1 after induced gastric ulcer.....	75
10. Histopathological changes of the ulcer treated with sucralfate group on day 1 after induced gastric ulcer .....	76
11. Histopathological changes of the ulcer treated with <i>Aloe vera</i> group on day 1 after induced gastric ulcer .....	77
12. Histopathological changes of the control group, the ulcer group on day 8 after induced gastric ulcer.....	78
13. Histopathological changes of the ulcer treated with sucralfate group and the ulcer treated with <i>Aloe vera</i> group on day 8 after induced gastric ulcer .....	79
14. Means $\pm$ S.E of the maximum length of gastric ulcer (cms.) of the control, ulcer, ulcer treated with sucralfate, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> groups.....	82

## Table

## Page

15. The percent curation of gastric ulcer in the ulcer treated with *Aloe vera* group compared to the ulcer treated with sucralfate group on day 1 and day 8 after induced gastric ulcer.....84



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. The structure of stomach.....	5
2. The histopathology of normal stomach.....	8
3. The oxyntic gland of stomach.....	9
4. The vessel supplies of stomach.....	10
5. Schematic diagram of the vascular organization in oxyntic mucosa and the mechanism of $\text{HCO}_3^-$ .....	11
6. Microvasculature in gastric wall.....	12
7. The sequence model of leukocyte-endothelium interaction in blood vessel.....	21
8. The sandwich ELISA technique.....	37
9. The tracheostomy was performed. Carotid artery and jugular vein were cannulated for measuring blood pressure and for infused fluorescent marker.....	40
10. The abdomen was incised and opened. The stomach was extended and fixed on plastic state for intravital fluorescence microscopic study.....	41
11. The picture demonstrated the set of intravital fluorescence microscope study.....	43
12. The rat was observed leukocyte adherence on postcapillary venule at the body area of stomach.....	43
13. The calculation of mean number of leukocyte adherence.....	44
14. The calculation of $\text{TNF-}\alpha$ concentration.....	48
15. The standard curve of IL-10 levels.....	50

Figure	Page
16. The maximum length of gastric ulcer was determined by using scale in light microscope.....	51
17. Means $\pm$ SE of leukocyte adherence on postcapillary venule in gastric of the control, ulcer, ulcer treated with sucralfate, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> groups on day 1 and day 8.....	66
18. The intravital microscopic images of leukocyte adherence on vascular endothelium of postcapillary venule in control group, ulcer group, ulcer treated with sucralfate group, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> group on day 1.....	67
19. The intravital microscopic images of leukocyte adherence on vascular endothelium of postcapillary venule in control group, ulcer group, ulcer treated with sucralfate group, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> group on day 8.....	68
20. Means $\pm$ SE of TNF- $\alpha$ level of the control, ulcer, ulcer treated with sucralfate, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> groups on day 1 and day 8.....	70
21. Means $\pm$ SE of IL-10 level of the control, ulcer, ulcer treated with sucralfate, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> group on day 1 and day 8.....	72

Figure	Page
22. The gross pathology of stomach of control group, ulcer group, ulcer treated with sucralfate group, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> group on day 1.....	73
23. The gross pathology of stomach of control group, ulcer group, ulcer treated with sucralfate group, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> group on day 8.....	74
24. Histopathology images of control group, ulcer group, ulcer treated with sucralfate group, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> group on day 1.....	80
24. Histopathology images of control group, ulcer group, ulcer treated with sucralfate group, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> group on day 8.....	81
25. Means $\pm$ SE of maximum length of gastric ulcer of the control, ulcer, ulcer treated with sucralfate, and ulcer treated with <i>Aloe vera</i> groups on day 1 and day 8.....	83
26. The proposed mechanism of <i>Aloe vera</i> as antiinflammation and gastric ulcer healing.....	95

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## LIST OF ABBREVIATIONS

ANGII	=	angiotensin II
cms.	=	centimeters
CV	=	collecting venule
°C	=	degree celsius
D	=	day
DBP	=	diastolic blood pressure
DU	=	deuodenum ulcer
GAGases	=	glycosaminoglycans
GU	=	gastric ulcer
g.	=	gram
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	=	bicarbonate anion
H <sup>+</sup>	=	hydrogen ion
HCl	=	hydrochloric acid
H&E	=	hematoxylin and eosin
ICAM-1	=	intercellular adhesion molecule-1
IFN-γ	=	interferon-gamma
IL	=	interleukin
kDa	=	kilo Dalton
Kg.	=	kilogram
L.	=	liter
LT	=	leukotrienes
LFA	=	lymphocyte function associated antigen
MA	=	muscle arteriole
MAP	=	mean arterial blood pressure
MAX.	=	maximum
MC	=	muscle capillary

mEq.	=	milli Eguivalent
mg.	=	milligram
min.	=	minute
ml.	=	milliliter
mRNA	=	messenger ribonucleic acid
MV	=	muscle venule
µm.	=	micrometer
µl.	=	microliter
nm.	=	nanometer
NSAIDs	=	nonsteroidal antiinflammatory drugs
O.D.	=	Optical density
PGs	=	prostaglandins
PMNs	=	polymorphonuclear leukocytes
SA	=	small artery
SBP	=	systolic blood pressure
SMA	=	submucosal arteriole
SMV	=	submucosal venules
SV	=	submucosal small vein
Th	=	T helper cell
TNF-α	=	tumor necrosis factor-alpha
VCAM-1	=	vascular cell adhesion molecule-1