

ผลของว่านหางจระเข้ (ALOE VERA) ต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบไหลเวียนเลือดขนาดเล็ก
และระดับของทีเอ็นเอฟ - แอลฟา และ ไอแอล - 6 ในแบบจำลองแผลไหม้

นางสาว ดารณี เดือนศักดิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสรีรวิทยา สหสาขาวิชาสรีรวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-1270-7

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF ALOE VERA ON CHANGES OF MICROCIRCULATION
AND OF TNF- α AND IL-6 LEVELS IN BURN-INDUCED MODEL

Miss Daranee Duansak

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Physiology
Inter-Department of Physiology
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 2002
ISBN 974-17-1270-7

Thesis Title EFFECTS OF ALOE VERA ON CHANGES OF
MICROCIRCULATION AND OF TNF- α AND
IL-6 LEVELS IN BURN-INDUCED MODEL

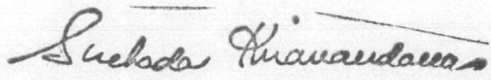
By Miss Daranee Duansak

Field of study Physiology

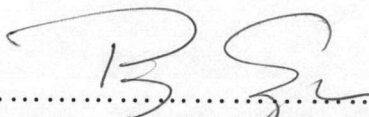
Thesis Advisor Associate Professor Suthiluk Patumraj, Ph.D.

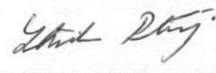
Thesis Co-advisor Assistant Professor Juraiporn Somboonwong, M.D.,M.Sc.

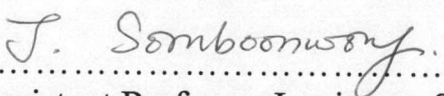
Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in
Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

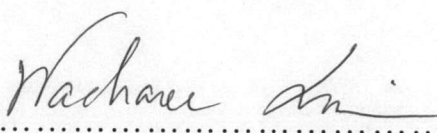

.....Dean of Graduate School
(Professor Suchada Kiranandana, Ph.D.)


THESIS COMMITTEE


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


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


.....Thesis Co-advisor
(Assistant Professor Juraiporn Somboonwong, M.D., M.Sc.,
Dip in Dermatology)


.....Member
(Assistant Professor Wacharee Limpanasithikul, Ph.D.)


.....Member
(Chitralada Vibhagool, M.D., Dip Amer Board of Dermatology)

ดรามณี เดือนศักดิ์: ผลของว่านหางจระเข้ (ALOE VERA) ต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบไหลเวียนเลือดขนาดเล็ก และระดับของ ทีเอ็นเอฟ-แอลฟา และ ไอแอล-6 ในแบบจำลองแผลไหม้ (EFFECTS OF ALOE VERA ON CHANGES OF MICROCIRCULATION AND OF TNF- α AND IL-6 LEVELS IN BURN-WOUNDED MODEL.) อ. ที่ปรึกษา: รศ. ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช, อ. ที่ปรึกษาร่วม: ผศ.พญ. จุไรพร สมบุญวงศ์; 113 หน้า ISBN 974-17-1270-7.

เพื่อศึกษาผลของว่านหางจระเข้ต่อระบบไหลเวียนเลือดขนาดเล็กและระดับของทีเอ็นเอฟ-แอลฟา และ ไอแอล-6 ในสัตว์ทดลองที่ทำให้เกิดแผลไหม้ หนูตัวเต็มวัยเพศผู้ จำนวน 72 ตัว น้ำหนัก 200-250 กรัม ได้ถูกแบ่งแบบสุ่มเป็นสี่กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มควบคุม (CON) กลุ่มแผลไหม้ที่ไม่ได้รับการรักษา (BURN) กลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับการทาด้วยสารละลายน้ำเกลือวันละครั้ง (BURN-NSS) และกลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับการทาด้วยเจลว่านหางจระเข้ปริมาณ 300 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวกิโลกรัม ในน้ำกลั่น วันละครั้ง (BURN-ALOE) สัตว์ทดลองในแต่ละกลุ่มถูกแบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อย เพื่อศึกษาผลในวันที่ 3, 7 และ 14 ใช้เครื่องเลเซอร์ดอปเพลอร์โฟลมิเตอร์ วัดการกำซาบเลือดในเนื้อเยื่อ ใช้เทคนิคคอร์ซอล สกิน โพลด์ แชมเบอร์ และ เทคนิคทาง อินทราไวทล ฟลูออเรสเซนซ์ ไมโครสโคปี เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงรอง และการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวบนหลอดเลือดดำฝอย และใช้เทคนิค อีไอซา เพื่อหาระดับของ ทีเอ็นเอฟ-แอลฟา และ ไอแอล-6 ในซีรัม นอกจากนี้เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ได้เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อบริเวณแผลไหม้เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาโดยการย้อมด้วย ฮีมาทอกซิลินและ อีโอซิน (เฮซแอนอี)

ผลการทดลองพบว่าหลังจากทำให้เกิดแผลไหม้ ค่าเฉลี่ยร้อยละของการกำซาบเลือดในเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยว่านหางจระเข้ทั้ง 3 ช่วงเวลา ในวันที่ 3 การขยายตัวของหลอดเลือดซึ่งเกิดในกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา นั้นพบว่ามีผลกระทบลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่ได้รับว่านหางจระเข้ ที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.01 (เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงรองขนาด 15-40 ไมโครเมตร ในกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา และในกลุ่มที่ได้รับว่านหางจระเข้มีค่าเท่ากับ 38.38 ± 0.66 และ 29.06 ± 3.59 ไมโครเมตร ตามลำดับ) การเกาะติดของเม็ดเลือดขาวไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา กลุ่มที่ได้รับสารละลายน้ำเกลือ และกลุ่มที่ได้รับว่านหางจระเข้ ระดับของทีเอ็นเอฟ-แอลฟา และ ไอแอล-6 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.05 (ระดับทีเอ็นเอฟ-แอลฟา ในกลุ่มแผลไหม้ที่ไม่ได้รับการรักษาและในกลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับว่านหางจระเข้ มีค่าเท่ากับ 139.0 ± 19.0 และ 113.0 ± 6.0 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ระดับของไอแอล-6 ในกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษาและกลุ่มที่ได้รับว่านหางจระเข้มีค่าเท่ากับ 97.4 ± 10.5 และ 80.2 ± 17.2 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ)

มีการหดตัวของหลอดเลือดในกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษาในวันที่ 7 และ 14 หลังจากทำให้เกิดแผลไหม้ ในกลุ่มที่ได้รับว่านหางจระเข้เท่านั้นที่มีการเพิ่มขนาดหลอดเลือดจนเป็นปกติ ในวันที่ 14 (เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงรองขนาด 40-70 ไมโครเมตร ในกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษาและกลุ่มที่ได้รับว่านหางจระเข้มีค่าเท่ากับ 37.78 ± 6.23 และ 48.37 ± 7.79 ไมโครเมตร ตามลำดับ ที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.05 เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงรองขนาด 15-40 ไมโครเมตร ในกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษาและกลุ่มที่ได้รับว่านหางจระเข้มีค่าเท่ากับ 24.11 ± 2.04 และ 34.16 ± 3.82 ไมโครเมตร ตามลำดับ ที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.01) จำนวนการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา ในวันที่ 14 ในกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษาและ กลุ่มที่ได้รับว่านหางจระเข้ มีค่าเท่ากับ 22.12 ± 1.75 และ 15.40 ± 2.75 เปอร์เซ็นต์ต่อ 100 ไมโครเมตร ตามลำดับที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.05) ระดับของทีเอ็นเอฟ-แอลฟา และ ไอแอล-6 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา (ในวันที่ 14 ระดับ ทีเอ็นเอฟ-แอลฟาในกลุ่มแผลไหม้ที่ไม่ได้รับการรักษา และกลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับว่านหางจระเข้มีค่าเท่ากับ 117.0 ± 21.0 และ 90.0 ± 2.0 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.05 ระดับ ไอแอล-6 ในกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา และกลุ่มที่ได้รับว่านหางจระเข้มีค่าเท่ากับ 85.0 ± 11.5 และ 61.0 ± 4.8 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.01)

นอกจากนี้ การสมานแผลในกลุ่มที่ได้รับว่านหางจระเข้ดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา (ในวันที่ 14 ค่าร้อยละของการสมานแผล หลังทำให้เกิดแผลไหม้ และกลุ่มที่ได้รับการทาด้วยว่านหางจระเข้ มีค่าเท่ากับ 34.14 ± 4.19 และ 84.57 ± 0.94 ตามลำดับที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.01) การย้อมด้วย เฮซแอนอี พบว่ามีเกร็ดเลือดติดของเยื่อผิวที่ขึ้นปกคลุมอย่างสมบูรณ์ ในวันที่ 14 ในกลุ่มที่ได้รับว่านหางจระเข้

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการได้รับว่านหางจระเข้สามารถยับยั้งกระบวนการอักเสบซึ่งรวมถึงความสามารถในการลดการเปลี่ยนแปลงขนาดของหลอดเลือด ลดการเกาะติดของเม็ดเลือดขาว ลดระดับของทีเอ็นเอฟ-แอลฟา และ ไอแอล-6 ยิ่งไปกว่ายังสามารถเร่งการสมานแผลได้

หลักสูตร..... สาขาวิชา.....
สาขาวิชา.....
ปีการศึกษา.....

ลายมือชื่อนิติ.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4289662520 : MAJOR PHYSIOLOGY

KEYWORD: ALOE VERA/ BURN WOUNDED MODEL/ INTRAVITAL FLUORESCENCE

MICROSCOPIC STUDY / TNF- α / IL-6

DARANEE DUANSAK: EFFECTS OF ALOE VERA ON CHANGES OF MICROCIRCULATION AND OF TNF- α AND IL-6 LEVELS IN BURN-WOUNDED MODEL.

THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SUTHILUK PATUMRAJ, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: ASSIST. PROF. JURAIPORN SOMBOOMWONG, M.D.,M.Sc. 113 pp. ISBN 974-17-1270-7.

This study was conducted to investigate the effect of Aloe vera on microcirculation and TNF- α and IL-6 levels in rats after inducing burn.

A total of 72 male Wistar Furth rats weighing 200-250 g were divided randomly into four major groups as follows: Controls (CON), untreated burn-wound rats(BURN), those treated with once-daily application of normal saline(BURN-NSS) and those treated daily with Aloe vera gel (300 mg/kg BW) (BURN-ALOE). The animals in each group were equally subdivided into three subgroups for the study on day 3,7 and 14 postburn . Laser Doppler Flowmetry was performed to measure tissue perfusion. Dorsal skinfold chamber preparation and intravital fluorescence microscopic techniques were performed to examine arteriolar diameter changes and leukocyte adhesion on postcapillary venules and ELISA techniques were performed to examine serum TNF- α and IL-6 levels. Moreover, at the end of each experiment the specimen from the burn area were collected for further histological examination using Hematoxylin – Eosin technique (H&E).

The experimental results revealed that after burning the percentage of average of tissue perfusion was increased significantly in aloe-treated group at all three time points (p<0.05). On day 3, the vasodilation as encountered in the untreated burn was found to be reduced significantly in aloe- treated group (arteriolar diameter (15-40 μ m):BURN=38.38 \pm 0.66 μ m, BURN-ALOE=29.06 \pm 3.59 μ m; p<0.01). Leukocyte adhesion was not different among the untreated, NSS-and the aloe-treated groups. TNF- α and IL-6 levels were reduced significantly in aloe-treated group (levels of TNF- α : BURN=139 \pm 19 pg/ml, BURN-ALOE=113 \pm 6 pg/ml; p<0.01; levels of IL-6: BURN=97.4 \pm 10.5 pg/ml, BURN-ALOE=80.2 \pm 17.2 pg/ml ; p<0.05).

Vasoconstriction occurred after wound had been left untreated on 7 and 14 day postburn. Only in the aloe-treated groups, the arteriolar diameter increased up to normal condition on day 14; (arteriolar diameter (40-70 μ m); BURN=37.78 \pm 6.23 μ m, BURN-ALOE= 48.37 \pm 7.79 μ m; p<0.05, arteriolar diameter (15-40 μ m); BURN=24.11 \pm 2.04 μ m; BURN-ALOE= 34.16 \pm 3.82 μ m; p<0.01). The amount of leukocyte adhesion was reduced compared to the untreated group (on day 14; BURN=22.12 \pm 1.75 per cent/100 μ m; BURN-ALOE= 15.40 \pm 2.75 per cent/ 100 μ m; p<0.05) Levels of TNF- α and IL-6 were also decreased significantly compared to the untreated group (levels of TNF- α : BURN=117.0 \pm 21.0 pg/ml ; BURN-ALOE=90.2 \pm 2.0 pg/ml ; p<0.05, levels of IL-6; BURN=85.0 \pm 11.5 pg/ml; BURN-ALOE=61.0 \pm 4.8 pg/ml; p<0.01).

Besides, the healing area of aloe-treated burn wound was better than of untreated group on day 14; percentage of healing: BURN=34.31 \pm 4.19%; BURN-ALOE=84 \pm 0.94%; p<0.01). Furthermore, the H&E examination demonstrated that epithelialization was fully developed on day 14 in aloe-treated group.

It could be concluded that Aloe vera could inhibit the inflammatory process, inducing decreases in arteriolar diameter changes, leukocyte adhesion, as well as TNF- α and IL-6 levels Wound healing acceleration was also observed in our study.

Department Inter-department (Physiology) Student's signature D. Duansak
 Field of study Physiology Advisor's signature Thit Chai
 Academic year 2002 Co-advisor's signature J. Sombomwong

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my deepest appreciation to my advisors, Associate Professor Dr. Suthiluk Patumraj and Assistant Professor Dr. Juraiporn Somboonwong for their kind suggestion, thoughtful advice, helpful guidance and constant encouragement through this thesis.

I am also very grateful to all of the teaching staffs of the Inter-department of Physiology, Graduate School, Chulalongkorn University for giving me the knowledge in Physiology which have enable me to succeed the study.

I wish to express my sincere thank to Associate Professor Dr. Prasong Siriviriyakul (Chairman of Audio-Visual Unit Committee, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University) for helping me on technique of digital camera.

I would like to express my sincere thank to Assistant Professor Dr. Tanapat Paisuntornsug for advising and discussing in the detail of the histological results.

I wish to express my sincere thank to Associate Professor Dr. Parvapan Bhattarakosol and Mister Somboon Nookhai for helping me on technique of ELISA.

I would like to thank Assistant Professor Dr. Wacharee Limpanasithikul and Dr. Chitralada Vibhagool, my thesis committee, for their useful suggesting to improve my work.

I would like to thank Dr. Amporn Jariyapongskul for training me about dorsal skinfold technique and statistic.

I wish to express my sincere thanks to all of my friends who study in the Ph.D. and M.Sc. program of Inter-department of Physiology at Chulalongkorn University for their help and cheerfulness.

I would like to thank the research grant committee of the Graduate School, Chulalongkorn University to support this study. Finally, I am extremely grateful to my parents for their love, understanding and encouragement.

TABLE OF CONTENTS

	PAGE
ABSTRACT (THAI).....	iv
ABSTRACT (ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
TABLE OF CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST OF FIGURES.....	x
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xiii
CHAPTER	
I. INTRODUCTION.....	1
II. REVIEW LITERATURE.....	5
III. MATERIALS AND METHODS.....	41
IV. RESULTS.....	58
V. DISCUSSION.....	82
VI. CONCLUSION.....	94
REFERENCES.....	95
BIOGRAPHY.....	113

LIST OF TABLES

TABLE

2.1 Chemical Composition of <u>Aloe vera</u>	8
2.2 Major inflammatory mediators, which control blood supply and vascular permeability or modulate cell movement.....	20
4.1 Means \pm SD of burn wound healing area of burn wound-rats (BURN), NSS-treated burn wound-rats (BURN-NSS) and aloe-treated burn wound-rats (BURN-ALOE).....	62
4.2 Means \pm SD of average tissue perfusion of burn wound- rats (BURN), NSS-treated burn wound-rats (BURN-NSS) and aloe-treated burn wound-rats (BURN-ALOE).....	64
4.3 Means \pm SD of arteriolar diameter (40-70 μ m) of control rats (CON), burn wound-rats (BURN), NSS-treated burn wound-rats (BURN-NSS) and aloe-treated burn wound-rats (BURN-ALOE).....	66
4.4 Means \pm SD of arteriolar diameter (15-40 μ m) of control rats (CON),burn wound- rats (BURN), NSS-treated burn wound-rats (BURN-NSS) and aloe- treated burn wound-rats (BURN-ALOE).....	68

LIST OF TABLES (Continued)

- 4.5 Means \pm SD of leukocyte adhesion (percentage/100 μm)
on postcapillary venules of control rats (CON), burn wound-rats
(BURN), NSS-treated burn wound-rats (BURN-NSS)
and aloe-treated burn wound-rats (BURN-ALOE).....70
- 4.6 Means \pm SD of of TNF- α levels of control rats (CON),
burn wound- rats (BURN), NSS-treated burn wound-rats
(BURN-NSS) and aloe-treated burn wound-rats
(BURN-ALOE).....72
- 4.7 Means \pm SD of IL-6 levels of control rats (CON),
burn wound- rats (BURN), NSS-treated burn wound-rats
(BURN-NSS) and aloe-treated burn wound-rats
(BURN-ALOE).....74

LIST OF FIGURES

FIGURE

2.1 A transverse section near the margin of the aloe leaf.....	6
2.2 The normal skin.....	12
2.3 The skin circulation.....	12
2.4 The depth of burn.....	17
2.5 Sequential model of leukocyte-endothelial adhesion.....	23
2.3 Cytokines as communication links within the immune system, and between the immune system and other organs.....	27
3.1 Schematic diagram of laser Doppler probe.....	45
3.2 The method of measuring the tissue perfusion in the burn wound-rats.....	45
3.3 Photograph of aluminum chamber inserted into the dorsal skinfold.....	49
3.4 Intravital fluorescence microscopy and instruments.....	50

LIST OF FIGURES (Continued)

3.5 The method of measuring the arteriolar diameter.....	52
3.6 The standard curves of TNF- α and IL-6.....	54
3.7 Area of burn wound section.....	56
3.8 Diagram of experimental animal groups.....	57
4.1 Bar graph showing the mean \pm SD of percentage of burn wound healing area.....	63
4.2 The percentage of average tissue perfusion.....	65
4.3 Bar graph showing the mean \pm SD of arteriolar diameter (40-70 μm).....	67
4.4 Bar graph showing the mean \pm SD of arteriolar diameter (15-40 μm).....	69
4.5 Bar graph showing the mean \pm SD of leukocyte adhesion.....	71
4.6 Bar graph showing the mean \pm SD of TNF- α levels.....	73
4.7 Bar graph showing the mean \pm SD of IL-6 levels.....	75

LIST OF FIGURES (Continued)

4.8 Intravital microscopic demonstration of leukocyte adhesion on the postcapillary venule (PV) on day 3 postburn.....	76
4.9 Intravital microscopic demonstration of leukocyte adhesion on the postcapillary venule (PV) on day 7 postburn.....	77
4.10 Intravital microscopic demonstration of leukocyte adhesion in the postcapillary venule (PV) on day 14 postburn.....	78
4.11 Hematoxylin and eosin stain. Histological changes of skin section on day 3 postburn.....	79
4.12 Hematoxylin and eosin stain. Histological changes of skin section on day 7 postburn.....	80
4.13 Hematocylin and eosin stain. Histological change of skin section on day 14 postburn.....	81
5.1 The proposed mechanisms of <u>Aloe vera</u> as an antiinflammatory agents and wound healing agent.....	93

LIST OF ABBREVIATIONS

° C	=	Degree celsius
aFGF	=	Acidic fibroblast growth factors
bFGF	=	Basic fibroblast growth factors
cAMP	=	Cyclic adenosine monophosphate
CAT	=	Catalase
cGMP	=	Cyclic guanosine 3', 5' monophosphate
cNOS	=	Constitutive nitric oxide synthase
DAG	=	Diacylglycerol
e.g.	=	Exempli gratia (for example)
FGF	=	Fibroblast growth factors
GAGs	=	Glycosaminoglycans
GSH	=	Glutathione peroxides
H ₂ O ₂	=	Hydrogen peroxide
i.e.	=	id est (that is)
IL-6	=	Interleukin-6
iNOS	=	Inducible nitric oxide synthase
IP ₃	=	Inositol 1,4,5- triphosphate
Keto-PGF ₁ b _α	=	Keto-prostaglandin F ₁ b _α
LTB ₄	=	Leukotriene B ₄
LTC ₄	=	Leukotriene C ₄
LTD ₄	=	Leukotriene D ₄
LTs	=	Leukotrienes
ml	=	Milliliter

LIST OF ABBREVIATIONS (Continued)

μm	=	Micrometer
NO	=	Nitric oxide
NSS	=	Normal saline
O_2^-	=	Superoxide anion
OD	=	Optical density
PAF	=	Platelet activating factor
PGD_2	=	Prostaglandin D ₂
PGE_2	=	Prostaglandin E ₂
$\text{PGF}_{2\alpha}$	=	prostaglandin F _{2α}
PGI_2	=	Prostacyclin I ₂
PGs	=	Proteoglycans
PIP_2	=	Phosphatidylinositol-4, 5-biphosphate
PKC	=	Protein kinase C
PMN	=	Polymorphonuclear leukocyte
ROS	=	Reactive oxygen species
SD	=	Standard deviation
SOD	=	Superoxide dismutase
$\text{TNF-}\alpha$	=	Tumor necrosis factor-alpha
TXA_2	=	Thromboxane A ₂
TXB_2	=	Thromboxane B ₂
VEGF	=	Vascular endothelial growth factor
VSMC	=	Vascular smooth muscle cell