تحقیقی

اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی ژل آلوئه‌ورا برآنزیم‌ها و ساختار بافتی کبد موش‌های صحرایی دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب

نوشین یزدانی[۱]، دکتر سیدابراهیم حسینی*[۲]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی جانوری گرایش فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

۲- دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

چکیده

زمینه و هدف : *آلوئه ورا گیاهی است که با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی باعث اصلاح شاخص‌های اکسیداتیو می‌شود. استفاده از رژیم‌های غذایی پرچرب باعث شیوع اختلالات کبدی می‌شوند. این مطالعه به منظور تعیین اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی ژل آلوئه‌ورا برآنزیم‌ها و ساختار بافتی کبد موش‌های صحرایی دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه تجربی از ٤٠ سر موش صحرایی نر بالغ در گروه‌های کنترل (فاقدتیمار)، شاهد (تیمار با رژیم پرچرب ۱۰ml/kg) و سه دسته گروه تجربی دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب (۱۰ml/kg) به همراه دوزهای ۱۵۰ mg/kg، ۳۰۰ و ٦۰۰ عصاره ژل آلوئه ورا استفاده گردید. تجویزها ٦۰ روزه و به صورت گاواژ انجام گردید. در پایان پس از بیهوش نمودن حیوانات و خونگیری از قلب آنها برای اندازه‌گیری آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و آسپارتات ترانس آمیناز (AST) کبد آنها خارج و پس از تهیه مقاطع بافتی سلول‌های کبدی شمارش و نتایج حاصل از مطالعات بافتی، شمارش سلولی و آنزیم‌های کبدی ارزیابی گردید.*

یافته ها : *رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش آماری معنی‌دار آنزیم‌های ALP و ALT و افزایش آماری معنی‌دار تعداد سلول‌های کوپفر و کاهش آماری معنی‌دار تعداد هپاتوسیت‌ها نسبت به گروه کنترل گردید (P<۰/۰۵). در ساختار بافتی کبد تغییراتی نظیر پرخونی، تورم سلولی، تحلیل واکوئلر، آپوپتوز و بالونی شدن هپاتوسیت‌ها مشاهده شد. در حالی که در گروه‌های دریافت کننده آلوئه ورا با رژیم پرچرب تغییرات ایجاد شده اصلاح گردید.*

نتیجه‌گیری : *رژیم‌های غذایی پرچرب با ایجاد آسیب‌های بافتی در کبد باعث افزایش میزان سرمی آنزیم‌های ALP و ALT می‌شود و عصاره آلوئه ورا مانع اثرات مخرب رژیم غذایی پرچرب بر ساختار بافتی کبد شده و از این طریق به‌صورت غیروابسته به دوز باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی ALT و ALP می‌گردد.*

کلید واژه‌ها : *آلوئه‌ورا ، کوپفر ،هپاتوسیت، آنزیم‌های کبدی ، کبد چرب ، رژیم غذایی*

* نویسنده مسؤول : دکتر سیدابراهیم حسینی ، پست الکترونیکی **ebrahim.hossini@yahoo.com**

نشانی : شیراز، کیلومتر ۵ جاده شهرک صدرا پردیس دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، تلفن ٤۳۱۱۱٤۸-۰۷۱، نمابر ٤۳۱۱۱۷۲

وصول مقاله : ۱۳۹٦/۷/۱ ، اصلاح نهایی : ۱۳۹٦/۱۱/۱۸ ، پذیرش مقاله : ۱۳۹٦/۱۱/۲۳

نوشین یزدانی https://orcid.org/0000-0001-9837-3064، دکتر سیدابراهیم حسینی https://orcid.org/0000-0003-0548-0114

مقدمه

بیماری کبدچرب غیرالکلی که با تجمع تری‌گلیسریدها (Triglyceride: TG) در هپاتوسیت‌های کبدی در اثر استریفیکاسیون اسیدهای چرب آزاد و گلیسرول شکل می‌گیرند؛ در نتیجه تغذیه با جیره غذایی پرکالری و یا پرچرب ایجاد می شود و به عنوان یکی از بیماری‌های شایع کبدی است که معمولاً با چاقی مفرط، هیپرلیپیدمی و دیابت نوع ۲ همراه است و منجر به استئاتوزیس ساده تا استئوهپاتیت غیرالکلی وآسیب به کبد می‌گردد (۱). بیماری کبدچرب، نوعی تجمع چربی در سلول‌های کبدی است که در صورت عدم کنترل، روندی بدخیم به سمت فیبروز شدن بافت کبد و تخریب سلولی آن را طی می‌کند (۲). در مطالعه‌ای رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش وزن و در میزان سرمی، کلسترول، TG و لیپوپروتئین با چگالی پایین (Low Density Lipoprotein: LDL) شد و در میزان سرمی لیپوپروتئین با چگالی بالا (High Density Lipoprotein: HDL) اثر معنی داری نداشت (۳). اختلال کبدچرب غیرالکلی شامل تجمع ذرات چربی در سلول‌های کبدی است و با یکسری تغییرات هیستوپاتولوژیک (متفاوت از استئاتوز تا سیروز و حتی سرطان سلول‌های کبدی) همراه است (۴). محدود ساختن رژیم غذایی روزانه به میزان ۱۴۰۰ کیلوکالری در بیماران مبتلا به بیماری

کبدچرب غیرالکلی، باعث بهبودی در ویژگی‌های هیستولوژی کبدی در این بیماران می شود (۵). امروزه مشخص شده کبدچرب به عواملی همچون استرس‌های اکسیداتیو آسیب‌پذیر بوده و می‌تواند به استئاتوهپاتیت که با نکروز، آماس، فیبروز و سیروز مشخص می‌شود؛ منجر گردد (۶). اگرچه سطح آلانین آمینوترانسفرازها می‌تواند در بیشتر از ۷۰ درصد بیماران طبیعی باشد؛ اما طیف کامل هیستوپاتولوژیکی در بیماران با سطح طبیعی آنزیم‌های کبدی نیز می‌تواند دیده شود (۷). استفاده از گیاهان دارویی در اختلالات کبدی از دیرباز مورد توجه محققین بوده است. به‌طوری که به عنوان مثال استفاده از عصاره گیاه پنیرک که دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئیدی است؛ باعث کاهش اثرات سمی تتراکلریدکربن در بافت‌های کبدی شده است (۸).

آلوئه‌ورا یا صبر زرد طبی با نام علمی *Aloe barabadensis* بومی مناطق افریقا بوده که قرن‌ها است به‌خاطر اثر ضدالتهابی، ضدمیکروبی، التیام زخم، تحریک کننده سیستم ایمنی، ضدتوموری، ضد ورم مفاصل، ضد روماتوئید، ضد سرطان، پایین آوردن قندخون، درمان یبوست، اختلالات گوارشی، نقص سیستم ایمنی بدن و در رشد و ترمیم بافت های آسیب دیده و نیز در مهندسی بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد (۹و۱۰). آلوئه ورا می‌تواند یک منبع بالقوه از ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی باشد (۱۱). در عصاره گیاه آلوئه ورا ترکیباتی نظیر گلیکوپروتئین، آنتراکینون، ساکارید گلوکوماناس، گالاکتوز و اسید گالاکتورونیک، آلوین، آنتی‌اکسیدان بسیار قوی آلوئه-امودین، باربالوئین، ایزوباربالوئین، آلوئسین، بتاسیتوسترول، دای اتیل هگزیل فتالیت، ویتامین‌های B۶، B۱۲، C، A، B ۱، B۲، E و بتاکاروتن یافت می‌شود (۱۲). پلی‌ساکاریدهای موجود در آلوئه ورا می‌توانند باعث جلوگیری از القا سمیت کبدی مزمن توسط سم آفلاتوکسین B1 شده و به‌طور موثر مانع از دست دادن اشتها، کوتاه قدی و اختلال اندام‌های ایمنی گردند (۱۳). با توجه به آن که تغییر سبک زندگی و کم‌تحرکی و همچنین گرایش بسیاری از مردم در سراسر دنیا به غذاهای پرچرب و فست فود، باعث شده است تا عده فراوانی از انسان‌ها با مازاد کالری که یکی از دلایل بیماری کبدچرب غیرالکلی محسوب می شود؛ روبرو باشند و حتی تا بیش از نیمی از کودکان چاق از بیماری کبدچرب رنج می‌برند (۱۴). به‌علاوه با عنایت به عوارض جانبی بسیاری از داروهای شیمیایی که در درمان این اختلال مورد استفاده قرار می‌گیرند و نیز با توجه به موارد استفاده فراوان گیاه آلوئه ورا در جوامع مختلف بشری و همچنین باتوجه به افزایش بروز چاقی و شیوع فزاینده کبدچرب در ایران و جهان، مطالعه در ارتباط با اثرات و ترکیبات فعال و اثربخشی بالینی این گیاه از اهمیت خاصی برخودار است (۱۰). این مطالعه به منظور تعیین اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی ژل آلوئه ورا برآنزیم ها و ساختار بافتی کبد موش‌های صحرایی دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۱۰ تا ۲۰۰ گرم و سن ۱۱۰ تا ۱۰۰ روزه در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز طی سال ۱۳۹۶ انجام شد.

حیوانات از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شدند. در طول دوره آزمایش، همه حیوانات از آب و غذای فشرده ساخت شرکت خوراک دام پارس تهران و بدون محدودیت برخوردار بودند و در یک اتاق مخصوص در دمای ۲±۲۰ درجه سانتی گراد و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی مورد حمایت از حیوانات آزمایشگاهی تنظیم و در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت (شماره IR.miau13951016) به‌تصویب رسید.

برای تهیه عصاره هیدروالکلی ژل آلوئه‌ورا ابتدا تعدادی از برگ‌های تازه آلوئه‌ورا تهیه گردید و پس از تایید توسط متخصصین بخش گیاه‌شناسی دانشگاه شیراز (کد هرباریوم ۸۴۹۱۷)، برگ‌ها شسته شد و ژل آن خارج گردید. سپس ژل حاصله در اتانول ۹۵ درصد به میزان چهار برابر حجم قرار داده شد. ظرف حاوی ژل به مدت ۴ روز بر روی شیکر قرار داده شد. آنگاه توسط فیلتر صاف شد و با استفاده از دستگاه Rotary evaporator در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گردید و در دمای ۴۰ درجه کاملاً خشک و به صورت پودر درآمد.

برای ایجاد اختلال کبدچرب غیرالکلی از پروتکل گاواژ امولسیون پرچرب استفاده شد. براساس این پروتکل، حیوانات علاوه بر رژیم غذایی معمولی که بدون هیچ محدودیتی در اختیار آنان قرار داشت؛ به مدت ۶۰ روز نیز تحت گاواژ روزانه ۲ میلی‌لیتر امولسیون پرچرب قرار گرفتند. با توجه به مطالعات Machado و همکاران پروتکل امولسیون پرچرب برای موش‌های صحرایی شامل سدیم دی اکسی کولات (۱۰gr)، کلسترول (۱۰۰gr)، پودر کامل شیر (۸۰gr)، کربوهیدرات (۲۰۰gr)، روغن ذرت (۴۰۰gr)، ساکاروز (۱۵۰gr)، توئین ۸۰ (۳۶/۴gr)، پروپیلن گلیکول ۸۰ (۳۱/۱gr)، مولتی‌ویتامین (۲/۵gr)، نمک (۱۰gr)، مواد معدنی مخلوط (۱/۵gr) و آب مقطر (۳۰۰میلی‌لیتر) بود(۱۵).

حیوانات به ۵ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شدند (۱۶).

گروه کنترل: فاقد تیمار؛ گروه شاهد: تحت تیمار با رژیم غذایی پرچرب؛ گروه تجربی اول: علاوه بر رژیم غذایی معمولی، دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب به همراه عصاره هیدروالکلی آلوئه ورا به میزان ۱۵۰mg/kg؛ گروه تجربی دوم: علاوه بر رژیم غذایی معمولی، دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب به همراه عصاره هیدروالکلی آلوئه ورا به میزان ۳۰۰mg/kg و گروه تجربی سوم:

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و آسپارتات ترانس آمیناز (AST)، تعداد سلول‌های هپاتوسیت و کوپفر

گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار			
	AST (IU/L)	ALP (IU/L)	ALT (IU/L)	تعداد سلول‌های هپاتوسیت در سطحی معادل با µm2۵۰۰۰	تعداد سلول‌های کوپفر در سطحی معادل با µm2۵۰۰۰
کنترل	۱۳۷/۰۰±۱۰/۳۷	۲۹۱/۶۷±۲۱/۷۵	۷۰/۵۰±۳/۵	۶/۸±۰/۷۵	۲/۴۰±۰/۷۵
شاهد	۱۴۷/۴۰±۱۶/۲۲	۹۱۴/۱۴±۸۵/۳۱ **	۸۵/۰۰±۲/۰۴ *	۳/۴۰±۰/۱۷ *	۶/۸۰±۱/۶۶ *
تجربی اول	۱۴۲/۰۰±۵/۹	۲۵۸/۱۳±۱۶/۸۹ ǂǂ	۶۸/۰۰±۱/۶۵ ǂ	۴/۳۵±۰/۵۵	۵/۸۰±۱/۳۶
تجربی دوم	۱۴۰/۰۰±۶/۶۲	۲۷۸/۲۵±۲۵/۱۷ ǂǂ	۷۱/۳۸±۴/۱۷ ǂ	۴/۵۵±۰/۱۵	۳/۶۰±۰/۶۰
تجربی سوم	۱۲۴/۸۹±۷/۹۴	۳۷۲/۳۳±۱۷/۱۶ ǂǂ	۶۸/۳۳±۱/۹۶ ǂ	۵/۸۵±۰/۵۵ ǂ	۳/۰۰±۰/۸۹ ǂ

گروه کنترل (فاقد تیمار)، گروه شاهد (تحت تیمار با رژیم غذایی پرچرب)؛ گروه تجربی اول تحت تیمار با رژیم غذایی پرچرب به همراه عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا به میزان ۱۵۰mg/kg؛ گروه تجربی دوم تحت تیمار با رژیم غذایی پرچرب به همراه عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا به میزان ۳۰۰mg/kg؛ گروه تجربی سوم تحت تیمار با رژیم غذایی پرچرب به همراه عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا به میزان ۶۰۰mg/kg

* $P<0/001$ ** $P<0/05$ نسبت به حیوانات گروه کنترل؛ ǂ $P<0/001$ ǂǂ $P<0/05$ نسبت به حیوانات تحت تیمار با رژیم غذایی پرچرب

علاوه بر رژیم غذایی معمولی، دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب به همراه عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا به میزان ۶۰۰mg/kg.

کلیه تجویزها به صورت گاواژ و برای مدت ۶۰ روز انجام گردید. سپس در پایان دوره آزمایش بعد از بیهوش نمودن موش‌ها به‌وسیله کتامین ابتدا برای تهیه سرم به منظور اندازه‌گیری میزان سرمی آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و آسپارتات ترانس آمیناز (AST) اقدام به خونگیری از قلب آنها گردید. سپس با جداسازی اندام کبد و پس از ثابت نمودن آن با فرمالین ۱۰ درصد با کمک دستگاه‌های تیشیو پروسسور مدل meditel TBS88 ساخت کشور آلمان و میکروتوم تمام اتوماتیک مدل Sakura ساخت کشور هلند اقدام به تهیه مقاطع بافتی گردید. با توجه به آن که وجود قطرات چربی در سلول‌های کبدی مؤید ابتلای حیوانات به بیماری کبدچرب است (۳)؛ مقاطع بافتی تهیه شده پس از رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین – ائوزین مورد ارزیابی قرار گرفتند. تعداد سلول‌های کوپفر و هپاتوسیت‌ها در جایگاهی یکسان برای تمام نمونه‌ها و در سطحی معادل ۵۰۰۰ μm^2 و در هر نمونه در ۱۰ برش ۵ میکرونی شمارش شدند. همچنین تغییرات هیستولوژیک پاتولوژیک کبد نیز توسط متخصصین آسیب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه از طریق روش‌های معمول آزمایشگاهی و با استفاده از کیت‌های ساخت شرکت آزمون میزان سرمی ترانس آمینازهای AST، ALT و ALP اندازه‌گیری گردید.

پس از تایید نرمال بودن توزیع داده‌ها از طریق آزمون کولموگروف – اسمیرونوف، نتایج حاصله با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-20 و با استفاده از آزمون‌های آماری ANOVA و دانکن در سطح کمتر از ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش آماری معنی‌دار تعداد سلول‌های کوپفر و کاهش آماری معنی‌دار تعداد سلول‌های کوپفر و هپاتوسیت گروه شاهد نسبت به گروه کنترل گردید ($P<0/05$). در حالی که در حیوانات تحت تیمار با رژیم غذایی پرچرب به همراه عصاره آلوئه ورا تنها در گروه تجربی سوم نسبت به گروه شاهد، در تعداد سلول‌های کوپفر کاهش آماری معنی‌داری مشاهده شد ($P<0/05$) (جدول یک).

رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش آماری معنی‌دار میزان سرمی آنزیم‌های ALP ($P<0/001$) و ALT ($P<0/05$) گروه شاهد نسبت به گروه کنترل گردید. در حالی که بر میزان سرمی آنزیم AST اثر معنی داری نداشت. در حیوانات تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا با رژیم غذایی پرچرب در میزان سرمی آنزیم ALP ($P<0/001$) و ALT ($P<0/05$) کاهش آماری معنی‌داری نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (جدول یک).

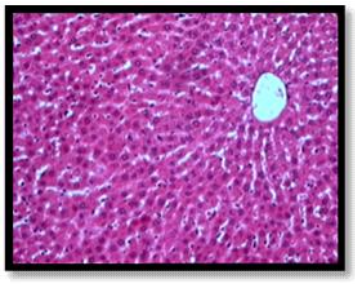
نتایج حاصل از مطالعات هیستوپاتولوژیک نشان‌دهنده عدم وجود آسیب پاتولوژیک در گروه کنترل بود. در حالی که در حیوانات گروه شاهد افزایش ماکروویزیکول‌های انباشته از چربی در برخی از نواحی به‌ویژه نواحی مرکز لوبولی سلول‌های چربی و واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها، ارتشاح لنفوسیتی و آپوپتوز مشاهده گردید؛ اما در گروه‌های تحت تیمار با عصاره آلوئه ورا با افزایش دوز عصاره از شدت آسیب‌ها جلوگیری شده بود (شکل‌های ۵-۱).

با توجه به شکل یک، هیچگونه تغییر پاتولوژیکی در گروه کنترل مشاهده نمی شود. به‌طوری که تمام هپاتوسیت‌ها به‌طور منظم و بدون هیچگونه آسیبی در کنار هم قرار دارند.

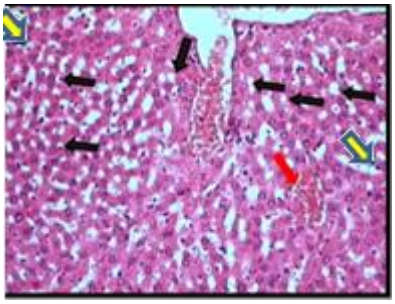
با توجه به شکل ۲، افزایش ماکروویزیکول‌های انباشته از چربی در برخی از نواحی به‌ویژه نواحی مرکز لوبولی سلول‌های چربی و واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها (فلش سیاه) در گروه شاهد به وضوح قابل مشاهده است. به‌عبارتی در این گروه القاء کبدچرب به خوبی انجام شده است. همچنین در برخی از نقاط آپوپتوز (فلش زرد)، احتقان و پرخونی (فلش قرمز) مشاهده گردید.

با توجه به شکل ۳، از ضایعات میکروسکوپی (پرخونی، ارتشاح لنفوسیتی و بالونی شدن هپاتوسیت‌ها) گروه تجربی اول کاسته شده بود. همچنین کاهش آماری معنی‌داری در تعداد سلول‌ها،

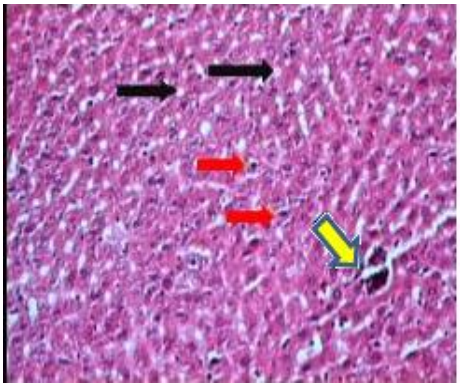
میکروووزیکول‌ها و ماکروووزیکول‌های چربی مشاهده شد؛ اما هنوز در برخی نقاط آسیب خفیف (ارتشاح لنفوسیتی (فلش زرد) و آپوپتوز (فلش قرمز) و قطرات ریز چربی (فلش سیاه) به‌صورت پراکنده قابل مشاهده است.



شکل ۱ : فتومیکروگراف بافت کبد در گروه کنترل رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین، بزرگ‌نمایی ×۴۰



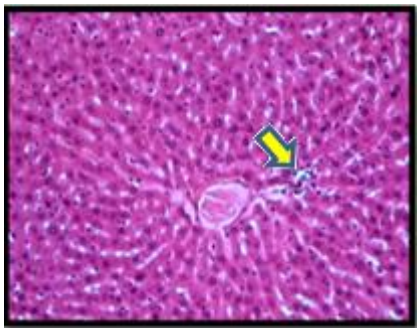
شکل ۲ : فتومیکروگراف بافت کبد در گروه دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب؛ رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین، بزرگ‌نمایی ×۴۰



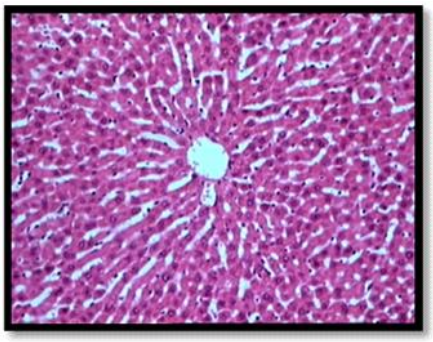
شکل ۳ : فتومیکروگراف بافت کبد در گروه دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب + عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا با دوز mg/kg ۱۵۰؛ رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین، بزرگ‌نمایی ×۴۰

با توجه به شکل ۴، از ضایعات میکروسکوپی گروه تجربی دوم کاسته شده بود و تغییر پاتولوژیک محسوسی مشاهده نشد. فقط در برخی نواحی به صورت پراکنده ارتشاح لنفوسیتی (فلش زرد) دیده شد.

با توجه به شکل ۵، آسیب پاتولوژیک محسوسی در گروه تجربی سوم مشاهده نشد و هپاتوسیت‌ها به‌صورت منظم دارای ساختاری طبیعی بودند.



شکل ٤ : فتومیکروگراف بافت کبد در گروه دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب + عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا با دوز mg/kg ۳۰۰ رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین، بزرگ‌نمایی ×۴۰



شکل ۵ : فتومیکروگراف بافت کبد در گروه دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب + عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا با دوز mg/kg ٦۰۰ رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین، بزرگ‌نمایی ×۴۰

بحث

با توجه به نتایج هیستوپاتولوژیک این مطالعه، رژیم غذایی پرچرب باعث بروز ضایعات میکروسکوپی در ساختار بافتی کبد گردید. این ضایعات شامل پرخونی، تورم سلولی و نکروزه شدن ساختار بافتی کبد همراه با کاهش تعداد سلول‌های هپاتوسیت و افزایش تعداد سلول‌های کوپفر و میزان سرمی آنزیم‌های ALT و ALP بود که نشان‌دهنده اثر تخریبی رژیم غذایی پرچرب بر بافت کبد است. در حالی که استفاده از عصاره هیدروالکلی آلوئه ورا باعث بهبود ساختار بافتی کبد و کاهش میزان سرمی آنزیم‌های فوق در حیوانات تحت تیمار با رژیم غذایی پرچرب گردید. هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر در مطالعه ای دیگر نشان داده شد که استفاده از رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش آنزیم‌های AST و ALT و بروز تغییرات هیستوپاتولوژیک نظیر وجود واکوئل‌های چربی و تورم هپاتوسیت‌ها در کبد می‌گردد (۱۷). با توجه به نتایج حاصل از مطالعات در رابطه با پاتوژنز استئاتوهپاتیت غیرالکلی فرض بر این است که تجمع TG در کبد یا استئاتوز باعث افزایش حساسیت کبد به آسیب‌های ناشی از سیتوکائین‌ها یا لیپوکائین‌های آماسی، اختلالات عملکردی میتوکندری‌ها و استرس اکسیداتیو خواهد شد

که خود منجر به استئاتوهپاتیت و یا فیبروز می‌شود (۱۸). همچنین در مطالعه ای نشان داده شد که استرس اکسیداتیو در تبدیل استئاتوز به استئاتوهپاتیت موثر است (۱۹) . همچنین در مطالعه حاضر افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های شاخص عملکردی کبد (ALT و ALP) در سرم گروه‌های دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب مشاهده شد که نشانگر آسیب به بافت کبد است. احتمالاً رژیم غذایی پرچرب از طریق استرس اکسیداتیو و با ایجاد تغییر در ساختار بافتی کبد باعث افزایش فعالیت ترانس‌آمینازهای فوق شده و عصاره آلوئه‌ورا با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی قوی (۱۰) و با بهبود ساختار بافتی کبد باعث کاهش میزان سرمی فعالیت آنزیم‌های ALT و ALPشده است. تا حدودی همسو با نتایج این مطالعه، در یک مطالعه دیگر نشان داده شد که جیره پرچرب منجر به کاهش فعالیت سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود و با بروز اختلال در پتانسیل آنتی‌اکسیدانی آنزیماتیک باعث می شود که موش‌های تغذیه شده با جیره پرچرب قادر به مهار تشکیل رادیکال‌های آزاد که منجر به آسیب بافتی می‌شوند؛ نباشند (۴). لذا در مطالعه حاضر نیز آسیب بافتی کبد را می‌توان به افزایش میزان رادیکال‌های آزاد در نتیجه مصرف جیره غذایی پرچرب نسبت داد و افزایش آنزیم‌های ALT و ALP نیز می‌تواند به دلیل اثر تخریبی رژیم غذایی پرچرب بر ساختار بافتی کبد باشد. رژیم‌های غذایی پرچرب از طریق افزایش بیان ژن فاکتور هسته‌ای کاپا-ب(NFκB) و کاهش تولید تولید اکسید نیتریک در کبد آسیب اکسیداتیو ایجاد می‌کنند (۲۰). ژل آلوئه ورا با داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدان قوی نظیر ویتامین E دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی است (۱۱). لذا در مطالعه حاضر نیز با عنایت به وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدان فراوان از جمله ویتامین‌های E و C در عصاره گیاه آلوئه‌ورا و احتمالاً از طریق کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید، عصاره این گیاه باعث بهبود ساختار بافتی کبد و کاهش میزان سرمی آنزیم‌های ALT و ALP شده است و از آنجا که با افزایش دوز مصرفی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره نیز افزایش می‌یابد؛ لذا بهبود بیشتر ساختار بافتی و کاهش نمایان‌تر میزان آسیب‌های پاتولوژیک در بافت کبد به‌دنبال مصرف دوزهای بالاتر عصاره را احتمالاً می‌توان به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در دوزهای بالاتر نسبت داد. برخلاف نتایج مطالعه حاضر در مطالعه ای نشان داده شد که مصرف عصاره آلوئه ورا باعث آسیب حاد کبدی می‌گردد و پس از قطع مصرف خوراکی آلوئه‌ورا، تست‌های عملکرد کبدی نشان از بهبود ساختار بافتی کبد داشت (۲۱). همسو با نتایج این مطالعه در مطالعه‌ای نشان داده شد که یکی از مواد موجود در عصاره آلوئه ورا ترکیب آلوئه-امودین است که با قدرت مانع تولید ترکیبات اکسیدان و رادیکال‌های آزاد می‌شود و از واکنش‌های التهابی نیز جلوگیری نموده و قادر است از آسیب کبدی حاد ناشی از تتراکلرید کربن در برابر مرگ سلول‌های کبدی و التهاب حفاظت کند و مانع پراکسیداسیون چربی‌ها گردد. همچنین درمان با آلوئه امودین باعث کاهش نفوذ التهابی لنفوسیت‌ها و سلول‌های کوپفر گردد (۲۲). لذا در مطالعه حاضر می‌توان اثر عصاره آلوئه ورا را در بهبود ساختار بافتی کبد و نیز اصلاح میزان سرمی آنزیم‌های ALT و AST را در حیوانات تحت تیمار با رژیم غذایی پرچرب و عصاره آلوئه‌ورا به وجود این ماده نسبت داد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که احتمالاً رژیم غذایی پرچرب از طریق فعالیت اکسیدانی و تخریب ساختار بافتی کبد باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های ALT و ALP شده است. عصاره هیدروالکلی گیاه آلوئه ورا با داشتن توان آنتی‌اکسیدانی بالا و به‌صورت وابسته به دوز باعث بهبود ساختار بافتی کبد و از این طریق به‌صورت غیروابسته به دوز باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های ALT و ALP گردید. لذا با انجام تحقیقات تکمیلی می‌توان از عصاره ژل آلوئه‌ورا در درمان بیماری کبدچرب استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (شماره۱۲۳۵۴۳۶۷۷۹) خانم نوشین یزدانی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی جانوری گرایش فیزیولوژی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز بود. بدین‌وسیله از زحمات و همکاری‌های حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه به لحاظ حمایت‌های فراوان در جهت انجام این مطالعه تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

References

1. Pais R, Giral P, Khan JF, Rosenbaum D, Housset C, Poynard T, et al. Fatty liver is an independent predictor of early carotid atherosclerosis. J Hepatol. 2016 Jul; 65(1): 95-102. doi:10.1016/j.jhep.2016.02.023

2. Davoodi M, Moosavi H, Nikbakht M. [The effect of eight weeks selected aerobic exercise on liver parenchyma and liver enzymes (AST, ALT) of fat liver patients]. J Shahrekord Univ Med Sci. 2012; 14(1): 84-90. [Article in Persian]

3. Yazdani N, Hosseini S E. [Hypolipidemic effects of Aloe-Vera gel extract on adult male rats under high-fat diet]. J Ardabil Univ Med Sci. 2017; 17(3): 375-82. [Article in Persian]

4. Yeh MM, Belt P, Brunt EM, Kowdley KV, Wilson LA, Ferrell L. Acidophil bodies in nonalcoholic steatohepatitis. Hum Pathol. 2016 Jun; 52: 28-37. doi:10.1016/j.humpath.2016.01.001

5. Lewis JR, Mohanty SR. Nonalcoholic fatty liver disease: a review and update. Dig Dis Sci. 2010 Mar; 55(3): 560-78. doi:10.1007/s10620-009-1081-0

6. Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: Pros and Cons of Histologic Systems of Evaluation. Int J Mol Sci. 2016 Jan; 17(1): E97. doi:10.3390/ijms17010097

7. Cheung O, Sanyal AJ. Recent advances in nonalcoholic fatty liver disease. Curr Opin Gastroenterol. 2009 May; 25(3): 230-37.

8. Terohid SF, Mirazi M, Sarihi A. [Study of hepatoprotective effect of Malva neglecta L. Hydroethanolic Leaf extract in male

rat induced with Carbon tetrachloride]. Cell and Tissue Journal. 2015; 6(1): 31-42. [Article in Persian]

9. Rahman S, Carter P, Bhattarai N. Aloe Vera for tissue engineering applications. J Funct Biomater. 2017; 8(1): 6. doi:10.3390/jfb8010006

10. Baruah A, Bordoloi M, Deka Baruah HP. Aloe vera: A multipurpose industrial crop. Industrial Crops and Products. 2016; 94: 951-63. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.034

11. Kumar S, Yadav M, Yadav A, Yadav JP. Impact of spatial and climatic conditions on phytochemical diversity and in vitro antioxidant activity of Indian Aloe vera (L.) Burm.f. S Afr J Bot. 2017 Jul; 111: 50-59. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.03.012

12. Furkan M, Alam MT, Rizvi A, Khan K, Ali A, Shamsuzzaman, et al. Aloe emodin, an anthroquinone from Aloe vera acts as an anti aggregatory agent to the thermally aggregated hemoglobin. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2017 May; 179: 188-93. doi:10.1016/j.saa.2017.02.014

13. Cui Y, Cheng Y, Guo Y, Xie Y, Yao W, Zhang W, et al. Evaluating the hepatoprotective efficacy of Aloe vera polysaccharides against subchronic exposure of aflatoxins B1. J Taiwan Inst Chem Eng. 2017 Jul; 76: 10-17. https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.03.040

14. Shiasi-Arani K, Haghshenas M, Talari HR, Akbari H, Hami K, Taghavi-Ardakani A, et al. [Prevalence of fatty liver disease in obese children and adolescents who referred to pediatric clinic of Kashan university of medical sciences, Iran (2012-2013)]. J Babol Univ Med Sci. 2013; 15(5): 77-83. [Article in Persian]

15. Machado MV, Michelotti GA, Xie G, Almeida Pereira T, Boursier J, Bohnic B, et al. Mouse models of diet-induced nonalcoholic steatohepatitis reproduce the heterogeneity of the human disease. PLoS One. 2015 May; 10(5): e0127991. doi:10.1371/journal.pone.0127991

16. Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian S. Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. Pharmacol Rep. 2005 Jan-Feb; 57(1): 90-96.

17. Efati M, Khorrami M, Zarei Mahmmodabadi A, Raouf Sarshoori J. [Induction of an animal model of non-alcoholic fatty liver disease using a formulated high-fat diet]. J Babol Univ Med Sci. 2016; 18(11): 57-62. [Article in Persian]

18. Day CP. From fat to inflammation. Gastroenterology. 2006 Jan; 130(1): 207-10. doi:10.1053/j.gastro.2005.11.017

19. Barbuio R, Milanski M, Bertolo MB, Saad MJ, Velloso LA. Infliximab reverses steatosis and improves insulin signal transduction in liver of rats fed a high-fat diet. J Endocrinol. 2007 Sep; 194(3): 539-50. doi:10.1677/JOE-07-0234

20. Montagner A, Polizzi A, Fouché E, Ducheix S, Lippi Y, Lasserre F, et al. Liver PPARα is crucial for whole-body fatty acid homeostasis and is protective against NAFLD. Gut. 2016 Jul; 65(7): 1202-14. doi:10.1136/gutjnl-2015-310798

21. Parlati L, Voican CS, Perlemuter K, Perlemuter G. Aloe vera-induced acute liver injury: A case report and literature review. Clin Res Hepatol Gas Journal. 2016; 41(4): e39-e42. doi:10.1016/j.clinre.2016.10.002

22. Choi S, Chung MH. A review on the relationship between aloe vera components and their biologic effects. Seminars in Integrative Medicine. 2003 Mar; 1(1): 53-62. doi:10.1016/S1543-1150(03)00005-X

Original Paper

Protective effect of hydro-alcoholic extract of *Aloe Vera* gel on enzymes and liver tissue structure of high-fat diet rats

Noshin Yazdani (M.Sc)[1], Seyyed Ebrahim Hosseini (Ph.D)*[2]

[1]**M.Sc in Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.**
[2]**Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.**

Abstract

Background and Objective: *Aloe Vera* is considered as one of herbs causes oxidative indexes modification due to antioxidant properties. On the other hands, High-fat diets (HFD) cause liver disorders prevalence. This study was done to evaluate the protective effect of hydro-alcoholic extract of *Aloe Vera* gel on enzymes and liver tissue structure of high-fat diet rats.

Methods: In this experimental study, 40 adult male rats were allocated in five groups including control, sham (HFD 10 ml/kg) and three experimental groups receiving HFD with doses of 150, 300 and 600 mg/kg/bw of *Aloe Vera* gel extract. Prescriptions were conducted by gavage and for 60 days. Blood samples were collected to measure AST, ALT and ALP enzymes. Liver removed subsequently and following preparing tissue sections liver cells were counted.

Results: High-fat diet significantly increased ALP and ALT enzymes ($P<0.05$). High-fat diet significantly increased the number of Kupffer cells and reduced of hepatocytes in compared to control group ($P<0.05$). High-fat diet caused liver tissue alterations including blood congestion, inflmation; Vacuole breakdown, apoptosis, and ballooning of hepatocytes. On the other hand, the consumption of *Aloe Vera* with high-fat diet caused reduction in tissue changes and a significant decrease in the serum levels of ALP and ALT enzymes in compared to control group ($P<0.05$).

Conclusion: High-fat diet by damaging the liver tissue increased the serum levels of ALP and ALT enzymes and *Aloe Vera* extract with its anti-oxidant characteristic prevent the effect of a high-fat diet on the liver tissue and reduced the ALP and ALT enzymes.

Keywords: *Aloe Vera*, Kupffer, Hepatocyte, Liver, ALT, AST, ALP, High-fat diet

*** Corresponding Author: Hosseini SE (Ph.D), E-mail: ebrahim.hossini@yahoo.com**

Received 23 Sep 2017 **Revised** 7 Feb 2018 **Accepted** 12 Feb 2018

Noshin Yazdani (https://orcid.org/0000-0001-9837-3064), Seyyed Ebrahim Hosseini (https://orcid.org/0000-0003-0548-0114)

Cite this article as: Yazdani N, Hosseini SE. [Protective effect of hydro-alcoholic extract of *Aloe Vera* gel on enzymes and liver tissue structure of high-fat diet rats]. J Gorgan Univ Med Sci. 2018 Summer; 20(2): 48-54. [Article in Persian]