

Effect of Alcoholic Extract of Aloe Vera Gel (*Aloe barbadensis*) on Serum Urea, Uric Acid and Creatinine Levels and Tissue Structure of Kidney in Adult Mature Mice Treated with Ethidium Bromide

Sedigheh Tanomand¹, Seyed Ebrahim Hosseini², Mohamad Amin Edalatmanesh¹

Background and Aim: Aloe Vera gel, with strong antioxidant properties, is used in the treatment of many renal disorders. This study aimed to evaluate the effect of Aloe Vera gel (JA) on urea, uric acid and creatinine levels of serum, and tissue structure of kidneys of rats diagnosed with MS through Ethidium Bromide (EB).

Materials and Methods: This experimental study was performed on 48 female rats, which were divided into 6 groups of 8 samples, including control, sham (intraventricular treatment with saline), experimental treated with 14 µl of EB solution to the lateral ventricles with normal saline as a Gavage and receivers of 300, 600 and 1200 mg/ kg alcoholic extracts (JA), as gavage with EB intraventricular meditation. In this study, prescriptions were taken for 35 days. In the end, after blood sampling from animal's heart, some amount of urea, uric acid, and creatinine are extracted, and with providing different cross -sections, the tissue structure of their kidneys was studied based on histologic measurements. Finally, the data were analyzed using SPSS software (Version 20) using ANOVA and Duncan tests at the level of $P < 0.05$.

Results: The results showed that EB increased serum urea, uric acid, and creatinine levels, decreased the diameter of the medulla, glomerulus, renal corpuscle sections, and increased the diameter of the near and further curved tubes at the level of $P \leq 0.05$. Furthermore, the treatment with high-dose JA significantly reduced the serum urea, uric acid and creatinine levels, increased the diameter of medulla sections, glomerulus, renal corpuscle, and reduced the near and further curved tubes alone in comparison with the EB group at $P \leq 0.05$.

Conclusion: Aloe Vera gel, in dose-dependent forms, can reduce urea, uric acid, creatinine, and tissue modification of kidneys in animals with MS.

Key Words: Urea; Uric Acid; Creatinine; Multiple Sclerosis; Aloe Vera.

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2018; 25 (3): 193-202.

Received: January 22, 2018

Accepted: August 18, 2018

¹ Department of Biology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.

² **Corresponding Author;** Department of Biology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.
Tel: +989171183917 Fax: +987143311172 Email: ebrahim.hosseini@yahoo.com

اثر عصاره اتانولی ژل گیاه آلوئه‌ورا (*Aloe barabardensis*) بر میزان سرمی اوره، اسید اوریک و کراتینین و ساختار بافتی کلیه موش‌های صحرایی ماده بالغ مبتلا شده به بیماری مولتیپل اسکروزیس با اتیدیوم بروماید

صدیقه تنومند¹، سید ابراهیم حسینی²، محمد امین عدالت‌منش¹

چکیده

زمینه و هدف: ژل گیاه آلوئه‌ورا با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی قوی، در درمان بسیاری از اختلالات کلیوی استفاده می‌گردد. این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره الکلی ژل آلوئه‌ورا بر میزان سرمی اوره، اسید اوریک، کراتینین و ساختار بافتی کلیه موش‌های صحرایی که به وسیله اتیدیوم بروماید (EB) به بیماری مولتیپل اسکروزیس (MS) مبتلا شدند، انجام گردید. **روش تحقیق:** این مطالعه تجربی بر روی 48 سر موش صحرایی ماده انجام گرفت که به 6 گروه 8 تایی شامل: گروه‌های کنترل، شاهد (تیمار درون‌بطنی با سالین)، یک گروه تجربی تحت تیمار با 14 میکرولیتر محلول EB به ناحیه بطن‌های جانبی به همراه نرمال سالین به صورت گاوژ و 3 گروه تجربی دریافت‌کننده دوزهای 300، 600 و 1200 میلی گرم/کیلوگرم عصاره الکلی ژل آلوئه‌ورا (JA) به صورت گاوژ به همراه داروی EB به صورت درون‌بطنی، تقسیم شدند، انجام گرفت. در این مطالعه، تجویز JA برای مدت 35 روز انجام گرفت، در پایان پس از خون‌گیری از قلب حیوانات میزان سرمی اوره، اسید اوریک و کراتینین اندازه‌گیری شد و با تهیه مقاطع، ساختار بافتی کلیه‌های موش‌ها بر اساس اندازه‌گیری‌های هیستولوژیک مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش 20) و با کمک آزمون‌های ANOVA و دانکن، در سطح $P < 0/05$ تجزیه و تحلیل شد. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد که EB باعث افزایش معنی‌دار میزان سرمی اوره، اسید اوریک، کراتینین و کاهش قطر بخش‌های مدولا، گلومرول، جسمک کلیوی و افزایش قطر لوله‌های خمیده دور و نزدیک شد ($P \leq 0/05$). همچنین تیمار با دوز حداکثر JA باعث کاهش معنی‌دار میزان سرمی اوره، اسید اوریک و کراتینین و افزایش قطر بخش‌های مدولا، گلومرول، جسمک کلیوی و کاهش قطر لوله‌های خمیده دور و نزدیک نسبت به گروه EB به تنهایی گردید ($P \leq 0/05$). **نتیجه‌گیری:** ژل آلوئه‌ورا به صورت وابسته به دوز می‌تواند باعث کاهش میزان اوره، اسید اوریک، کراتینین و اصلاح ساختار بافتی کلیه‌ها در حیوانات مبتلا به بیماری MS می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اوره؛ اسید اوریک؛ کراتینین؛ مولتیپل اسکروزیس؛ آلوئه‌ورا

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. 1397؛ 25 (3): 193-202.

دریافت: 1396/11/02 پذیرش: 1397/05/27

¹ گروه آموزشی زیست‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

² نویسنده مسئول؛ گروه آموزشی زیست‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

آدرس: شیراز - کیلومتر 5 جاده صدرا - پردیس دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز

تلفن: 09171183917 نامبر: 07143311172 پست الکترونیکی: ebrahim.hossini@yahoo.com

مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس (MS)، یک بیماری التهابی است که در شرایط معمول با علتی نامشخص موجب فعالیت سیستم ایمنی بر ضد پروتئین‌های مشخصی مانند: پروتئین‌های غلاف میلین، پروتئولیپوپروتئین و الیگودندروسیت پروتئین شده و باعث تخریب میلین و اختلال در سیستم عصبی مرکزی می‌گردد (1). در بیماری MS علاوه بر دمیالیناسیون سلول‌های عصبی میلین‌دار در سیستم عصبی مرکزی، لنفوسیت‌های نوع T نیز باعث بروز التهاب می‌گردند (2). بر اساس نتایج حاصل از مطالعات، بیان شده است که بیماری MS سبب بروز اشکالاتی در عملکرد کلیه و همچنین فاکتورهای کلیوی می‌شود (3). نتایج یک مطالعه نشان داد که بیماری MS یکی از اختلالات خودایمنی است که در آن سلول‌های T و سایر فاکتورهای مربوط به سیستم ایمنی، وارد مغز شده و با حمله به سلول‌های عصبی، غلاف میلین آنها و گاهی آکسون‌ها و تمام ساختار باقیمانده سلول‌های عصبی را تخریب می‌کنند (4). در بیماری MS، انفجار اکسیداتیو مربوط به التهاب در میکروگلیاها و ماکروفاژهای فعال شده به واسطه افزایش شدید رادیکال‌های آزاد، نقش مهمی در دمیالیناسیون و آسیب بافتی، در بیماری‌زایی این بیماری بازی می‌کند. محیط التهابی در ضایعات دمیالینه، منجر به تولید رادیکال‌های اکسیژن و نیتروژن و سایتوکین‌های پیش‌التهابی می‌شود که در نهایت موجب پیشرفت بیماری خواهد شد؛ بنابراین، استرس اکسیداتیو و التهاب سبب تداوم چرخه آسیب بیشتر می‌شوند (5).

یکی از گیاهان مورد استفاده در طب گیاهی، گیاه آلوئه‌ورا (صبر زرد) با نام علمی *Aloespp* از تیره *Liliaceae* می‌باشد (6). از ترکیبات مهم موجود در ژل آلوئه‌ورا علاوه بر آب، مواد مختلفی از جمله: چربی‌های ضروری، آمینو اسیدها، ویتامین‌های مختلف، املاح معدنی، آنزیم و گلیکوپروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها، آنتراکینون‌ها، پروستاگلاندین‌ها و فیتواستروژن‌هایی مانند: بتاسیتوسترول، کلسترول و اسیدهای

چرب از جمله کامپسترول می‌باشند که قادر به کاهش و ترمیم التهابات هستند (7).

نشان داده شده است که گیاه آلوئه‌ورا باعث بهبود بافت کلیه و همچنین کاهش اوره و کراتینین سرم به واسطه خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود (8). بیان شده است که عصاره ژل آلوئه‌ورا باعث کاهش لیپید پراکسیداسیون و گونه‌های فعال اکسیژن در موش‌های دیابتی می‌شود و در نتیجه استفاده از آن باعث بهبود و درمان عوارض بیماری‌های کلیوی در افراد دیابتی می‌شود (9). در بررسی تأثیر گیاه آلوئه‌ورا بر تغییرات برخی سایتوکاین‌های التهابی، بیان نموده‌اند که عصاره گیاه آلوئه‌ورا به واسطه خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و همچنین فیتواستروژنی که دارد، سبب بهبود و همچنین کاهش برخی فاکتورهای التهابی و مهار واکنش‌های التهابی می‌شود (2). نشان داده شده است که ژل آلوئه‌ورا دارای فعالیت ضد التهابی است و این عملکرد را به وسیله کاهش تولید نیتریک اکساید و در نتیجه جلوگیری از تولید مدیاتورهای التهابی انجام می‌دهد (10). ترکیبات موجود در ژل آلوئه‌ورا از جمله: پلی‌ساکاریدها، پلی‌فل‌ها، ویتامین‌های A، C و E دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی می‌باشند که به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولیک می‌توانند رادیکال‌های آزاد را به صورت مستقیم به دام انداخته و یا رادیکال‌های آزاد را از طریق مجموعه‌هایی از واکنش‌های پیوندی همراه با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان حذف نمایند و بنابراین این گیاه در انسان و حیوانات دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قوی است (11).

نشان داده شده است که استفاده از داروهای شیمیایی به خصوص اینترفرون‌ها و ریف (رئیشن) در درمان بیماری MS، دارای عوارض جانبی مخاطره‌آمیز متعددی بر دیگر اندام‌های بدن می‌باشد (12). اگر چه تاکنون مطالعات چندانی در بررسی شیوع اختلالات کلیوی در بیماران مبتلا به MS صورت نگرفته است، اما همین مطالعات اندک نیز نشان‌دهنده شیوع بیماری‌ها و نارسایی‌های کلیوی غیراختصاصی و حتی

کمک سوزن هامیلتون نیدل 30 انجام گردید؛ بدین‌منظور قبل از انجام جراحی، مختصات خط فرضی که از بین دو گوش عبور می‌نماید (Interaural line)، ثبت گردید؛ سپس حیوانات با استفاده از کتامین 10 درصد و زایلازین 2 درصد، با نسبت 100 به 8 بیهوش گردیده و به دستگاه استریوتاکس منتقل شدند. پس از قراردادن حیوانات در دستگاه استریوتاکسی و ثابت‌کردن سر آنها، شکافی به‌اندازه یک سانتی‌متر از ناحیه بین دو چشم به سمت عقب سر حیوانات ایجاد گردید و پس از بازکردن پوست، بافت‌های زیرپوستی و سطح جمجمه کنار زده شد تا نقاط مبنا در خواندن استریوتاکس یعنی برگما (محل تقاطع استخوان‌های آهیانه‌ای و پیشانی) و لامبدا (محل اتصال استخوان آهیانه‌ای به پس‌سری) نمایان شود. پس از خواندن مختصات این دو نقطه، فاصله بین برگما و Interaural line محاسبه شد و با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون، مختصات منطقه بطن (0/96 میلی‌متر خلف برگما، 1/8 میلی‌متر سمت راست یا چپ نسبت به سوچر ساجیتال، 3/5 میلی‌متر ارتفاع از سطح جمجمه) در نظر گرفته شد. آنگاه بر روی سطح جمجمه در محل پارابراکیال با استفاده از مته دندانپزشکی سوراخ‌های کوچکی ایجاد شد و با استفاده از دستگاه استریوتاکس، یک عدد کانول راهنما شماره 23 که توسط نیدل گیج 23 تهیه شده بود، در بطن راست قرار داده شد؛ همچنین برای محکم‌کردن کانولا ابتدا بر روی سطح جمجمه در دو نقطه پیچ‌های ریز عینک پیچ شده و سپس سیمان دندانپزشکی بر روی آن ریخته شد. آنگاه تزریق دارو به درون بطن، از طریق نیدل گیج 30 دندانپزشکی که به‌وسیله لوله پلی‌اتیلنی که به سرنگ هامیلتون متصل شده بود، انجام شد. حجم داروی تزریق‌شده 14 میکرولیتر بود. تزریق دارو به درون بطن مغزی حیوانات به کمک پمپ مخصوص و با سرعتی معادل یک میکرولیتر در دقیقه و در زمانی معادل چهارده دقیقه صورت گرفت و کانول بعد از تزریق برای مدت‌زمانی معادل ده دقیقه در محل باقی ماند تا زمان کافی برای انتشار دارو قبل از اینکه کانول

اختصاصی در بیماران مبتلا به MS می‌باشد (13). با توجه به شیوع بیماری MS در سراسر جهان و همچنین با توجه به عوارض جانبی اکثر داروهای شیمیایی مورد استفاده در درمان این اختلال و اثرات نفروتوکسیتی بیشتر این داروها و نیز با توجه به شیوع 2 تا 3 برابری این بیماری در زنان نسبت به مردان، این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره الکلی ژل آلوئه‌ورا بر عملکرد و ساختار بافتی کلیه موش‌های صحرایی ماده‌ای که با استفاده از داروی اتیدیوم بروماید به بیماری MS مبتلا شده بودند، انجام گردید.

روش تحقیق

پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی است که در سال 1396 در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز انجام شد. در این مطالعه، از 48 سر موش صحرایی ماده بالغ از نژاد ویستار در محدوده وزنی 200-220 گرم و سن 100 تا 105 روز استفاده شد. در طول دوره تجویز، همه حیوانات از آب و غذای یکسان و بدون محدودیت برخوردار بوده و در یک اتاق مخصوص در دمای 22 ± 2 درجه سلسیوس و در شرایط 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی نگهداری شدند. پروتکل این مطالعه بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی، تنظیم شد و در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی مرودشت با شماره IR.miau1396.109622430 به تصویب رسید.

القای MS:

در این مطالعه به‌منظور القای بیماری MS و تخریب غلاف میلین، از 14 میکرولیتر اتیدیوم بروماید (EB)(Merck، آلمان)، به‌صورت محلول در سرم فیزیولوژیک استفاده گردید. تزریق موضعی اتیدیوم بروماید به دستگاه عصبی مرکزی با از بین بردن اختصاصی اولیگودندروسیت‌ها و آستروسیت‌ها و با القای دمیلائسیون، به‌عنوان مدل تجربی ایجاد بیماری MS در حیوانات به حساب می‌آید (14). در این بررسی برای القای MS در موش‌های گروه‌های تجربی، از روش جراحی با استفاده از دستگاه استریوتاکسی (Stoelting, USA) و به

خارج شود، وجود داشته باشد (15، 16).

تهیه عصاره ژل آلوئه‌ورا:

در این مطالعه برای تهیه عصاره هیدروالکلی ژل آلوئه‌ورا، ابتدا تعدادی از برگ‌های تازه آلوئه‌ورا فراهم گردید؛ سپس برگ‌ها شست و شو داده شد و ژل آن خارج گردید. در مرحله بعد ژل به دست آمده، در اتانول 95 درصد به میزان چهار برابر حجم قرار داده شد و ظرف حاوی ژل به مدت 4 روز بر روی شیکر قرار گرفت؛ سپس توسط فیلتر صاف گردید و با استفاده از دستگاه Rotary evaporator در دمای 45 درجه تغلیظ و در دمای 40 درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک شد و به صورت پودر درآمد.

گروه‌بندی حیوانات:

در این مطالعه بعد از هم‌سیکل نمودن موش‌ها، حیوانات به 6 گروه 8 تایی شامل: گروه‌های کنترل (فاقد تیمار)، شاهد (تحت تیمار با 14 میکرولیتر نرمال سالین به عنوان حلال EB با استفاده از سرنگ هاملتون به ناحیه بطن‌های جانبی)، تجربی یک (تحت تیمار با دوز 14 میکرولیتر محلول EB به ناحیه بطن‌های جانبی به همراه نرمال سالین به صورت گاوژ) و 3 دسته تجربی دریافت‌کننده دوزهای 600، 1200 و 300 میلی‌گرم در هر کیلوگرم عصاره الکلی ژل آلوئه‌ورا به صورت گاوژ به همراه دوز 14 میکرولیتر داروی EB به صورت درون‌بطنی، تقسیم شدند (17). در این مطالعه پس از 14 روز از تزریق درون‌بطنی دوز 14 میکرولیتر داروی EB برای یک‌بار، حیوانات گروه‌های تجربی برای مدت 35 روز تحت تیمار با ژل آلوئه‌ورا به صورت درون‌صفافی قرار گرفتند.

نحوه اندازه‌گیری فاکتورهای مورد مطالعه:

در این مطالعه برای اندازه‌گیری میزان سرمی نیتروژن اوره خون (BUN)، کراتینین و بیلی‌روبین، ابتدا حیوانات به وسیله کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند؛ سپس با استفاده از سرنگ انسولینی از قلب آنها خون‌گیری به عمل آمد. آنگاه خون گرفته‌شده از حیوانات به منظور انعقاد به مدت 15 دقیقه در

دستگاه انکوباتور در دمای 37 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از آن به مدت 15 دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت 5000 دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. در مطالعه حاضر کراتینین با روش اندازه‌گیری Jaffe/Fixed Rate or Kinetic و اوره و اسید اوریک با روش اندازه‌گیری Berthelot/Endpoint، با استفاده از کیت‌های شرکت پارس‌آزمون اندازه‌گیری شدند. همچنین در این مطالعه پس از خونگیری از قلب حیوانات، کلیه‌های چپ و راست هر حیوان خارج و پس از حذف تمام بافت‌های اضافی، در ظرف‌های حاوی تثبیت‌کننده فرمالین 10 درصد قرار داده شد تا برای تهیه مقاطع بافتی و مقطع‌گیری آماده شوند؛ سپس به منظور بررسی ساختار کلیه‌ها و برای تهیه مقاطع بافتی به ترتیب مراحل: آب‌گیری توسط اتانول، شفاف‌سازی با الکل گزلیول و قالب‌گیری انجام گردید. در مرحله بعد، با کمک دستگاه میکروتوم دوار (LEIYZ استرالیا مدل 1512) مقاطع بافتی با ضخامت 5 میکرونی تهیه و بر روی لام آغشته به چسب Eggalbumen منتقل گردید و برای خشک‌شدن، بر روی پلیت داغ با دمای 30 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از طی این مراحل، برای رنگ‌آمیزی مقاطع تهیه‌شده، از روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین استفاده شد. پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی آنها، با کمک میکروسکوپ نیکون (ساخت کشور ژاپن) از هر لام به طور تصادفی 3 میدان دید انتخاب و به وسیله دوربین دیجیتال (Coolpix-4500, Japan) با بزرگنمایی 40 تصاویر تهیه گردید و آنگاه با کمک نرم‌افزار نیکون مدل Digital Sight DS-L2 اقدام به اندازه‌گیری قطر بخش‌های کورتکس، مرکزی، جسمک کلیوی، گلومرول، لوله‌های خمیده نزدیک، دور و هنله و مجاری جمع‌کننده گردید.

در پایان داده‌های به دست آمده از مطالعات سرولوژیک و هیستولوژیک، با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش 20) و با کمک آزمون‌های ANOVA و دانکن، مورد تجزیه و تحلیل

قرار گرفت. معنی‌دار بودن اختلاف داده‌ها در سطح $P<0/05$ به همراه عصاره ژل آلوئه‌ورا نسبت به گروه EB به‌تنهایی، تغییرات معنی‌داری مشاهده نگردید؛ اما قطر بخش‌های جسمک کلیوی، مدولا و گلومرول در گروه دریافت‌کننده EB نسبت به گروه کنترل کاهش و قطر لوله‌های خمیده نزدیک و دور افزایش معنی‌داری نشان داد ($P\leq 0/05$). همچنین در حیوانات گروه‌های دریافت‌کننده همزمان EB به همراه عصاره ژل آلوئه‌ورا نسبت به گروه EB به‌تنهایی، تغییرات معنی‌داری در قطر بخش‌های کورتکس، مدولا، گلومرول و مجاری جمع‌کننده مشاهده نگردید. به‌علاوه در قطر جسمک کلیوی در حیوانات گروه‌های دریافت‌کننده همزمان EB به همراه دوزهای 300 و 600mg/kg عصاره الکلی ژل آلوئه‌ورا نسبت به گروه EB تغییر معنی‌داری مشاهده نشد؛ اما در قطر جسمک کلیوی در حیوانات گروه دریافت‌کننده همزمان EB به همراه دوز 1200mg/kg عصاره الکلی ژل آلوئه‌ورا نسبت به گروه EB به‌تنهایی افزایش معنی‌داری مشاهده گردید ($P\leq 0/05$)؛ همچنین بر اساس نتایج این مطالعه، در قطر لوله‌های خمیده نزدیک و دور در گروه‌های دریافت‌کننده همزمان EB به همراه عصاره الکلی ژل آلوئه‌ورا نسبت به گروه EB به‌تنهایی، کاهش معنی‌داری نشان داده شد ($P\leq 0/05$) (جدول 2).

یافته‌ها

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، میانگین غلظت سرمی BUN، کراتینین و اسید اوریک در گروه دریافت‌کننده EB نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P\leq 0/05$)؛ همچنین میانگین غلظت سرمی BUN، اسید اوریک و کراتینین در گروه دریافت‌کننده همزمان EB به همراه دوز 1200mg/kg عصاره الکلی ژل آلوئه‌ورا نسبت به گروه EB به‌تنهایی، کاهش معنی‌داری داشت ($P\leq 0/05$)؛ در حالی که در میانگین غلظت سرمی BUN، اسید اوریک و کراتینین در گروه‌های دریافت‌کننده همزمان اتیدیوم EB به همراه دوزهای 300 و 600mg/kg عصاره الکلی ژل آلوئه‌ورا نسبت به گروه EB به‌تنهایی، تغییرات معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول 1).

بر اساس نتایج حاصل از آنالیز داده‌های این مطالعه، قطر بخش‌های کورتکس، قوس هنله و مجاری جمع‌کننده در گروه‌های دریافت‌کننده EB به‌تنهایی نسبت به حیوانات گروه کنترل و در حیوانات گروه‌های دریافت‌کننده همزمان EB

جدول 1- نتایج مربوط به میزان سرمی اسید اوریک، کراتینین و نیتروژن اوره خون در گروه‌های مختلف (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

پارامتر	کنترل (فاقد تیمار)	شاهد (تیمار با حلال دارو)	اتیدیوم بروماید	اتیدیوم بروماید+عصاره الکلی ژل آلوئه‌ورا 300mg/kg	اتیدیوم بروماید+عصاره الکلی ژل آلوئه‌ورا 600mg/kg	اتیدیوم بروماید+عصاره الکلی ژل آلوئه‌ورا 1200mg/kg
نیتروژن اوره خون (mg/dl)	19/2 $\pm$ 0/6	19/4 $\pm$ 0/6	32/7 $\pm$ 0/3 [#]	30/5 $\pm$ 0/6 [#]	30/5 $\pm$ 0/7 [#]	25/4 $\pm$ 0/5 ^{*#}
اسید اوریک (mg/dl)	3/05 $\pm$ 0/15	3/08 $\pm$ 0/11	4/67 $\pm$ 0/32 [#]	4/56 $\pm$ 0/34 [#]	4/48 $\pm$ 0/30 [#]	3/14 $\pm$ 0/27 [*]
کراتینین (mg/dl)	0/56 $\pm$ 0/02	0/6 $\pm$ 0/05	0/99 $\pm$ 0/1 [#]	0/96 $\pm$ 0/08 [#]	0/87 $\pm$ 0/04 [#]	0/63 $\pm$ 0/06 [*]

نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq 0/05$ نسبت به گروه کنترل

* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq 0/05$ نسبت به گروه اتیدیوم بروماید به‌تنهایی

جدول 2- نتایج مربوط به تغییرات قطر بخش‌های مختلف کلیه در گروه‌های مختلف (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

پارامتر	کنترل	شاهد	اتیدیدم بروماید	اتیدیدم بروماید+عصاره الکلی ژل آلونهورا 300mg/kg	اتیدیدم بروماید+عصاره الکلی ژل آلونهورا 600mg/kg	اتیدیدم بروماید+عصاره الکلی ژل آلونهورا 1200mg/kg
قطر کورتکس (میلی‌متر)	5/22 $\pm$ 0/22	4/28 $\pm$ 0/31	4/66 $\pm$ 0/18	4/56 $\pm$ 0/18	4/46 $\pm$ 0/1	4/36 $\pm$ 0/1
قطر مدولا (میلی‌متر)	5/22 $\pm$ 0/22	5/22 $\pm$ 0/14	4/70 $\pm$ 0/15 [#]	5/6 $\pm$ 0/22	5/52 $\pm$ 0/19	5/42 $\pm$ 0/19
قطر گلومرول (میلی‌متر)	0/24 $\pm$ 0/008	0/25 $\pm$ 0/005	0/20 $\pm$ 0/008 [#]	0/21 $\pm$ 0/005 [#]	0/22 $\pm$ 0/007 [#]	0/22 $\pm$ 0/008 [#]
قطر جسمک کلیوی (میلی‌متر)	0/31 $\pm$ 0/01	0/30 $\pm$ 0/01	0/27 $\pm$ 0/01 [#]	0/28 $\pm$ 0/01	0/29 $\pm$ 0/01	0/30 $\pm$ 0/008 [*]
قطر لوله خمیده نزدیک (میلی‌متر)	0/10 $\pm$ 0/008	0/11 $\pm$ 0/01	0/14 $\pm$ 0/008 [#]	0/10 $\pm$ 0/005 [*]	0/10 $\pm$ 0/004 [*]	0/10 $\pm$ 0/007 [*]
قطر قوس هنله (میلی‌متر)	0/045 $\pm$ 0/001	0/045 $\pm$ 0/001	0/046 $\pm$ 0/001	0/045 $\pm$ 0/001	0/044 $\pm$ 0/003	0/044 $\pm$ 0/004
قطر لوله خمیده دور (میلی‌متر)	0/05 $\pm$ 0/015	0/06 $\pm$ 0/014	0/08 $\pm$ 0/008 [#]	0/07 $\pm$ 0/005 [*]	0/07 $\pm$ 0/008 [*]	0/07 $\pm$ 0/001 [*]
قطر مجاری جمع کننده (میلی‌متر)	0/11 $\pm$ 0/005	0/12 $\pm$ 0/001	0/12 $\pm$ 0/007	0/12 $\pm$ 0/008	0/11 $\pm$ 0/008	0/11 $\pm$ 0/005

* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0/05$ نسبت به گروه اتیدیدم بروماید به‌تنهایی# نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0/05$ نسبت به گروه کنترل

بحث

می‌گردد که نتیجه آن افزایش سطوح سرمی کراتینین، اسید اوریک و مالون‌دی‌آلدهید می‌باشد (19). ایران‌منش و همکاران نیز در مطالعه خود بیان کردند که میانگین کراتینین سرم برای بیماران مبتلا به MS بیشتر از مقادیر طبیعی است (20). همچنین افزایش پروتئین در ادرار نیز در این بیماران گزارش شده است که نشان‌دهنده آسیب به کلیه‌ها و تغییر در فیزیولوژی آنها می‌باشد (3).

کلیه به‌عنوان محل اصلی فیلتراسیون و یکی از مکان‌های سم‌زدایی در بدن، به‌طور مستقیم تحت تأثیر داروهای مختلف قرار می‌گیرد؛ همچنین متابولیت‌های حاصل از سموم، موجب آسیب به سلول‌های کلیوی می‌شوند. بر طبق مطالعات انجام‌شده در آسیب پارانشیم کلیه؛ غلظت سرمی نیتروژن، اوره خون (BUN)، کراتینین و اسید اوریک افزایش می‌یابد (21). افزایش میزان اوره و کراتینین خون به‌دلیل ضعف کلیوی، می‌تواند ناشی از آسیب و تخریب پاهای کاذب پودوسیت‌های گلومرولی و در نتیجه کاهش تماس آنها با غشای پایه گلومرولی و کاهش فیلتراسیون گلومرولی باشد (21). محسنی کوچصفهانی و همکاران در مطالعه خود بیان

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، اتیدیدم بروماید که باعث القای بیماری MS در حیوانات می‌شود، باعث افزایش غلظت سرمی BUN، اسید اوریک و کراتینین و قطر لوله‌های خمیده دور و نزدیک و کاهش قطر بخش‌های مدولا، گلومرول و جسمک کلیوی می‌گردد و تیمار با عصاره ژل آلونهورا باعث کاهش غلظت سرمی BUN، اسید اوریک و کراتینین و قطر لوله‌های خمیده دور و نزدیک و افزایش قطر بخش‌های مدولا، گلومرول و جسمک کلیوی می‌شود. بر خلاف نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه Moccia و همکاران نشان داده شد که میزان سرمی اسید اوریک در بیماران مبتلا به MS پایین‌تر از افراد غیر بیمار می‌باشد (18)؛ اما همسو با نتایج این مطالعه، Amorini و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که بیماری MS، باعث افزایش اسید اوریک، کراتینین، نیترات و مالون‌دی‌آلدهید در سرم خون و در مایع مغزی-نخاعی می‌شود؛ بنابراین این محققان نتیجه گرفتند که مولتیپل اسکلروزیس باعث اختلال در متابولیسم انرژی و همچنین برهم‌زدن تعادل سیستم اکسیدان/آنتی‌اکسیدان

می‌گردد که نتیجه آن افزایش سطوح سرمی کراتینین، اسید اوریک و مالون‌دی‌آلدهید می‌باشد (19). از آنجا که عصاره ژل آلوئه‌ورا با کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدها و گونه‌های فعال اکسیژن، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی می‌باشد (9-11)؛ بنابراین در پژوهش حاضر نیز احتمالاً عصاره ژل آلوئه‌ورا از طریق ایجاد تعادل سیستم اکسیدان/آنتی‌اکسیدان و همچنین با داشتن فعالیت ضد التهابی و اصلاح ساختار بافتی و عملکردی کلیه و با کاهش اثرات مخرب EB بر کلیه‌ها باعث کاهش میزان سرمی اسید اوریک، اوره و کراتینین در موش‌های صحرایی تحت تیمار با EB شده است. نتایج مطالعه احمدی و همکاران نیز نشان داد که تجویز عصاره آبی گیاه آلوئه‌ورا در موش‌های صحرایی تحت استرس بی‌حرکتی می‌تواند از افزایش سطح سرمی آنزیم کراتینین جلوگیری نماید (25)؛ بنابراین احتمالاً کاهش میزان کراتینین سرم در حیوانات تحت تیمار با عصاره ژل آلوئه‌ورا را می‌توان به نقش آن در کاهش سطح سرمی آنزیم کراتینین کیناز نسبت داد.

بر اساس نتایج حاصل از مطالعات، بیماری MS باعث آزادسازی فاکتورهای التهابی، ترکیبات اکسیدانی و رادیکال‌های آزاد می‌شود و داروی EB که در ایجاد بیماری MS در مدل‌های حیوانی مورد استفاده قرار می‌گیرد، دارای فعالیت اکسیدانی شدید است (6، 8)؛ بنابراین در پژوهش حاضر آسیب‌های بافتی در کلیه حیوانات تحت تیمار با EB را احتمالاً می‌توان به نقش این دارو و بیماری MS در ایجاد التهاب و تولید رادیکال‌های آزاد نسبت داد. به علاوه با توجه به فعالیت ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی شدید ژل آلوئه‌ورا (11)، بهبود ساختار بافتی کلیه‌ها در حیوانات تحت تیمار با ژل آلوئه‌ورا را احتمالاً می‌توان به اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی آن نسبت داد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این مطالعه نشان داده شد که داروی

کردند، هرگاه کارکرد کلیه‌ها کاهش یابد، میزان کراتینین، اوره و اسید اوریک در خون افزایش می‌یابد (22)؛ از سوی دیگر نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تیمار با EB باعث آسیب به ساختار بافتی کلیه به‌ویژه در گلوبول‌های کلیوی حیوانات می‌گردد؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزایش میزان سرمی اوره، اسید اوریک و کراتینین در این حیوانات نیز احتمالاً به دلیل اثرات مخرب EB بر ساختار بافتی کلیه‌ها می‌باشد.

همسو با نتایج این مطالعه، Anilakumar و همکاران در بررسی اثر گیاه آلوئه‌ورا بر تغییرات بافت‌های کلیه و کبد در موش‌های دیابتی نشان دادند که عصاره ژل آلوئه‌ورا باعث کاهش لیپید پراکسیداسیون و گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین کاهش اوره و کراتینین سرم در موش‌های دیابتی می‌شود (11). یکی از پلی‌ساکاریدهای اصلی گیاه آلوئه‌ورا Acemannan است که مشابه گلوکومانان می‌باشد (23). نشان داده شده است که گلوکومانان باعث کاهش میزان سرمی نیتروژن، اوره خون، اسید اوریک و کراتینین و همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های گزانتین‌اکسیداز (XOD) و آدنوزین‌دآمیناز (ADA) در موش‌های صحرایی هیپراوریسمیک (Hyperuricemia) می‌گردد (24). آنزیم‌های XOD و ADA نقش مهمی در سنتز اسید اوریک به عهده دارند؛ بنابراین گلوکومانان با تحت تأثیر قرار دادن فعالیت آنزیم‌های XOD و ADA در شرایط هیپر اوریسمی، باعث کاهش سطح سرمی نیتروژن اوره خون، اسید اوریک و کراتینین می‌گردد (24).

نتایج مطالعه Amorini و همکاران بر روی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم در بیماران MS نشان داد که میزان سرمی کراتینین، اسید اوریک، نیترات و همچنین مالون‌دی‌آلدهید در این بیماران نسبت به افراد سالم به‌میزان قابل توجهی بالاتر است؛ بنابراین، این محققان نتیجه گرفتند که مولتیپل اسکلروزیس باعث اختلال در متابولیسم انرژی و همچنین برهم‌زدن تعادل سیستم اکسیدان/آنتی‌اکسیدان

اتیدیوم بروماید که در ایجاد مدل حیوانی بیماری MS مورد استفاده قرار می‌گیرد، احتمالاً با داشتن فعالیت اکسیدانی و التهاب‌زایی و با آسیب به ساختار بافتی کلیه‌ها باعث افزایش میزان سرمی اوره، اسید اوریک و کراتینین می‌گردد.

منابع:

- 1- Ramagopalan SV, Ebers GC. Multiple sclerosis: major histocompatibility complexity and antigen presentation. *Genome Med.* 2009; 1(11): 105.
- 2- Eamlamnam K, Patumraj S, Visedopas N, Thong-Ngam D. Effects of Aloe vera and sucralfate on gastric microcirculatory changes, cytokine levels and gastric ulcer healing in rats. *World J Gastroenterol.* 2006; 12(13): 2034-9.
- 3- Sinagra E, Rossi F, Perricone G, Bov? G, Genco C, Zummo L, et al. Hepatic flares induced by disease-modifying treatments in patients with multiple sclerosis. *OA Hepatology.* 2013; 1(1): 2.
- 4- Hajhashemi V, Ghannadi A, Heidari AH. Anti-inflammatory and wound healing activities of Aloe littoralis in rats. *Res Pharm Sci.* 2012;7(2):73-8.
- 5- Ortiz GG, Pacheco-Moisés FP, Bitzer-Quintero OK, Ramírez-Anguiano AC, Flores-Alvarado LJ, Ramírez- Ramírez V, et al. Immunology and oxidative stress in multiple sclerosis: clinical and basic approach. *Clin Dev Immunol.* 2013; 2013: 708659. Epub 2013 Sep 24.
- 6- Telefo PB, Moundipa PF, Tchouanguep FM. Oestrogenicity and effect on hepatic metabolism of the aqueous extract of the leaf mixture of Aloe buettneri, Dicliptera verticillata, Hibiscus macranthus and Justicia insularis. *Fitoterapia.* 2002; 73(6): 472-8.
- 7- Monsefi M, Pahlavan S. Effect of Aqueous Extract of Anethum graveolens (L.) on male Reproductive System of Rats. *J Biol Sci.* 2007; 7(5): 815-8.
- 8- Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian S. Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacol Rep.* 2005; 57(1): 90-6.
- 9- Sarkar D, Dutta A, Das M, Sarkar K, Mandal C, Chatterjee M. Effect of Aloe vera on nitric oxide production by macrophages during inflammation. *Indian J Pharmacol.* 2005; 37(6): 371-5.
- 10- Loots dT, van der Westhuizen FH, Botes L. Aloe ferox leaf gel phytochemical content, antioxidant capacity, and possible health benefits. *J Agric Food Chem.* 2007; 55(17): 6891-6. Epub 2007 Jul 28.
- 11- Anilakumar KR, Saritha V, Khanum F. Antioxidant and antibacterial activity of Aloe vera gel extracts. *Int J Pharm Biol Arch.* 2010; 1(4): 376-84.
- 12- Miller AE. Multiple sclerosis: where will we be in 2020? *Mt Sinai J Med.* 2011; 78(2): 268-79.
- 13- Marrie RA, Reider N, Stuve O, Trojano M, Sorensen PS, Cutter GR, et al. The incidence and prevalence of comorbid gastrointestinal, musculoskeletal, ocular, pulmonary, and renal disorders in multiple sclerosis: A systematic review. *Mult Scler.* 2015; 21(3): 332-41.
- 14- Goudarzvand M, Javan M, Mirnajafi-Zadeh J, Mozafari S, Tiraihi T. Vitamins E and D3 attenuate demyelination and potentiate remyelination processes of hippocampal formation of rats following local injection of ethidium bromide. *Cell Mol Neurobiol.* 2010; 30(2): 289-99. Epub 2009 Sep 19.
- 15- Soleymanzadeh Moghadam S, Khodae Z, Sabokbar A, Godarzvand M. Evaluating the effect of probiotics on serum Fe+2 and vitamin D3 following ethidium bromide - induced demyelination in hippocampus of rat. *Razi J Med Sci.* 2015; 22(131): 25-33. [Persian]
- 16- Rahmanian Koshkaki E, Tajali M, Taherianfard M. Investigating on Protective Effect of Aloe Vera Alcoholic Extract Gel on Changes of Estrogen and Progesterone Hormones in Experimental Model Rat with MS. *Pars J Med Sci.* 2015; 13(3): 46-51. [Persian]

- 17- Jafarzadeh H, Arabi M, Najafi N, Ahadi AM. Effect of Aloe vera gel on TGF- β gene expression in incisional skin wound in BALB/c mice. *J Gorgan Univ Med Sci*. 2014; 16(3): 16-23. [Persian]
- 18- Moccia M, Lanzillo R, Palladino R, Russo C, Carotenuto A, Massarelli M, et al. Uric acid: a potential biomarker of multiple sclerosis and of its disability. *Clin Chem Lab Med*. 2015; 53(5): 753-9.
- 19- Amorini AM, Petzold A, Tavazzi B, Eikelenboom J, Keir G, Belli A, et al. Increase of uric acid and purine compounds in biological fluids of multiple sclerosis patients. *Clin Biochem*. 2009; 42(10-11): 1001-6
- 20- Iranmanesh F, Peyghambari F, Askary N. Serum uric acid level in patients with multiple sclerosis: a case – control study. *J Gorgan Uni Med Sci*. 2012; 14(2): 101-5. [Persian]
- 21- Gad SB, Zaghoul DM. Beneficial effects of green tea extract on liver and kidney function, ultrastructure, lipid profile and hematological parameters in aged male rats. *Glob Vet*. 2013; 11(2): 191-205.
- 22- Mohseni Kouchesfehiani H, Khoshnoud S, Nabiuni M. Evaluation of protective effect of hydro-alcoholic extract of raspberry fruit on the methotrexate-induced nephrotoxicity in male Wistar rats. *Razi J Med Sci*. 2015; 22(138): -78-87. [Persian]
- 23- Devaraj S, Yimam M, Brownell LA, Jialal I, Singh S, Jia Q. Effects of Aloe vera supplementation in subjects with prediabetes/metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord*. 2013; 11(1): 35-40.
- 24- Zhang Y, Wu X, Shuai T, Wu C, Shen J, Zhong G. Effect of Konjac Glucomannan on Hyperuricemic Rats. *RRJFPDT*. 2016;4(2): 8-15.
- 25- Ahmadi R, Akbari Rad S, Moradi Binabaj M. Protective effect of liqued extract of Aloe vera on serum creatine kinase activity in male rats exposed to acute and chronic immobilization stress. *J Gorgan Univ Med Sci*. 2013; 15(2): 29-34. [Persian]