مقاله پژوهشی

تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه صبر زرد (آلوئه ورا) بر روند تکوین مخچه در جنین رت‌های دیابتی شده نوع یک با استرپتوزوتوسین

نویسندگان:

محمد پوراحمدی[۱و۲]، احیان راستگو[۳]، شکوفه آتش پور[۱و۲و۴]، آرش حسن نژاد[۳]، محمدعارف باقرزاده[۳]، حسین کارگر جهرمی[۱و۲*]

۱- مرکز تحقیقات بیماری های غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

۲-مرکز تحقیقات ژئونوز، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

۳- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم ایران

۴- گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.21, No.2, Summer 2023

چکیده:

مقدمه: دیابت قندی اثرات مخربی بر روند تکوین مغز جنین دارد. عصاره گیاه صبر زرد (آلوئه ورا) حاوی آنتی اکسیدان‌های قوی است که می تواند در درمان دیابت مؤثر باشد. هدف این مطالعه بررسی اثر عصاره آبی الکلی گیاه صبر زرد بر بافت مخچه جنین در رت‌های دیابتی بود.

روش کار: تعداد ۴۸ سر موش صحرایی ماده بالغ باردار از نژاد ویستار به شش گروه هشت تایی شامل گروه کنترل(C)، گروه دریافت کننده عصاره گیاه صبر زرد ۴۰۰ mg/kg (A) ، دیابتی با تزریق استرپتوزوتوسین ۵۰mg/kg (D)، دیابتی دریافت کننده انسولین ۲۰ IU/kg(DI)، دیابتی دریافت کننده صبر زرد ۴۰۰ mg/kg (DA) و دیابتی دریافت کننده انسولین ۲۰ IU/kg و صبرزرد ۴۰۰ mg/kg (DIA) تقسیم شدند. موش‌ها انسولین را به صورت زیر پوستی و عصاره گیاه صبر زرد را به صورت گاواژ دریافت کردند. قندخون و وزن بدن در روزهای ۱، ۷، ۱۴و ۱۸ حاملگی اندازه گیری شد. در هجدهمین روز، وزن هر موش، جنسیت و تعداد جنین‌های هر کدام ثبت شد. سپس مغز جنین‌ها خارج و از مخچه آن ها مقاطع بافتی تهیه شد. داده‌ها با آزمون آماری تحلیل واریانس در سطح معناداری $p \leq ۰/۰۵$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: قندخون گروه‌های دیابتی شده به صورت معناداری از گروه های C و A بیشتر بود. وزن موش‌های مادر در روز ۷، ۱۴ و ۱۸ در گروه های D و DI و DAI در مقایسه با گروه های C و A به صورت معناداری کاهش داشت. در تمام گروه‌های دیابتی نسبت به گروه‌های C و A به طور معناداری تعداد نوزادان کاهش و وزن نوزادان افزایش داشت. در گروه D نسبت به گروه C ضخامت و تعداد سلول‌های ماده خاکستری و سفید، ضخامت و تعداد سلول‌های لایه مولکولار، پورکینژ و گرانولار به صورت معناداری با کاهش همراه بود. همچنین در گروه های DI و DAI در مقایسه با گروه D ضخامت ماده خاکستری و سفید، ضخامت و تعداد سلول‌های لایه مولکولار و تعداد سلول‌های ماده سفید تغییر معناداری را نشان داد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد گیاه صبر زرد با کاهش قندخون و جلوگیری از افزایش اکسیدان‌های مضر باعث جلوگیری از تخریب بافت مغز جنین رت‌های دیابتی شده می‌شود.

واژگان کلیدی: دیابت قندی، صبر زرد، موش صحرایی، جنین، مخچه

Pars J Med Sci 2023;21(2):18-25

مقدمه:

بیماری دیابت یا دیابت قندی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های اندوکرینی رایج در جوامع بشری است. این بیماری به دلیل عدم جذب سلولی قندخون به علت کاهش ترشح انسولین و یا مقاومت سلول‌های بدن در برابر انسولین ایجاد می‌شود [۱، ۲]. رشد و نمو جنین به خصوص در مراحل اولیه تحت تأثیر تغییرات هورمونی و متابولیکی بدن مادر قرار دارد و این تغییرات می‌توانند اثرات قابل

* نویسنده مسئول، نشانی: مرکز تحقیقات بیماری های غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران.

تلفن تماس: کد پستی: ۷۴۱۴۸۴۶۱۹۲، تلفن: ۹۸۷۱۵۴۳۳۶۰۸۵ + پست الکترونیک:Hossein.kargarjahromy@yahoo.com

دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۲۳ اصلاح: ۱۴۰۲/۰۵/۱۵ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۸

توجهی روی رشد و نمو اندام های مختلف جنین داشته باشند. با وجود پیشرفت‌های زیاد در کنترل عوارض دیابت در زنان باردار، مطالعات آزمایشگاهی تایید کرده است که ریسک تولد نوزادان ناهنجار در آن ها همچنان به طور معناداری بیش از جمعیت سالم است [۳–۵]. در بررسی های انجام شده مشخص شد که به طور کلی ۲۸۵ میلیون نفر تا سال ۲۰۱۰ در سراسر جهان مبتلا به دیابت بوده اند. همچنین در مطالعه ای که در انگلیس انجام شد، از هر ۲۵۰ زن باردار یک نفر به دیابت بارداری مبتلا بوده است. میزان شیوع نواقص مادرزادی در نوزادان مادران دیابتی ۲–۴ برابر نوزادان مادران غیر دیابتی است [۶]. مطالعات نشان می دهد که بین دیابت و ناهنجاری‌های مهم مادرزادی از جمله آناسفالی، مننگوسل و کاردیومیوپاتی هایپرتروفیک رابطه وجود دارد [۷]. حالات غیرطبیعی در CNS، نخاع، مهره‌ها و مجاری ادراری در نوزادان متولد شده از مادران دیابتی نیز گزارش شده است [۸–۱۰].

مخچه به عنوان عضو مهمی از سیستم اعصاب مرکزی، یکی از ارگان‌هایی است که رشد و تکوین آن در نوزادن تحت تاثیر دیابت مادران است. مخچه برای کنترل فعالیت‌های عضلانی بسیار سریع از قبیل دویدن، ماشین نویسی، نواختن پیانو و حتی صحبت کردن اهمیت حیاتی دارد. نبود این ناحیه از مغز موجب ناهماهنگ شدن تقریباً کامل این فعالیت‌ها می‌شود. مخچه به برنامه‌ریزی متوالی (حرکت پشت سر هم) فعالیت‌های حرکتی کمک کرده و هم‌چنین فعالیت‌های حرکتی بدن را به طور مرتب کنترل کرده و آن‌ها را تصحیح می‌کند تا این حرکات با پیام‌هایی که از طرف مغز دیکته می‌شود، مطابقت داشته باشد. از نشانه‌های آسیب مخچه می‌توان به اختلال در تکلم، تلوتلو خوردن هنگام راه رفتن و لرزش در جریان انجام حرکات دقیق اشاره کرد. هم چنین صدمه به مخچه باعث می‌شود که شخص توانایی انجام حرکات دقیق برای مثال رسم خط راست یا کوبیدن میخ با چکش را نداشته باشد [۱۱].

استرپتوزوتوسین یکی از ماده‌های القا کننده دیابت در موش‌ها در مطالعات آزمایشگاهی است. استرپتوزوتوسین به وسیله ناقل گلوکز یا همان ترانسپورتر گلوکز (GLUT 2) وارد سلول بتا پانکراسی می‌شود. این ماده در داخل سلول باعث آلکیلاسیون DNA می‌شود. آسیب DNA به دلیل متیلاسیون القایی توسط استرپتوزوتوسین، باعث فعال سازی فرآیند ترمیمی پلیADP ریبوزیلاسیون شده که در عمل دیابت زایی استرپتوزوتوسین نقش مهمی ایفا می‌کند. این فرآیند باعث تخلیه سلول از ATP و +NAD شده که افزایش فعالیت آنزیم گزانتین اکسیداز را به همراه دارد. در پی فعالیت این آنزیم، رادیکال‌های آزادی تولید می شوند که باعث تخریب بافتی پانکراس می‌شوند. در نهایت، استرپتوزوتوسین، دیابت را با تخریب سلول‌های بتا پانکراسی در حیوانات آزمایشگاهی القا می کند و بدین ترتیب، هیپرگلایسمی و عدم ترشح انسولین در پلاسمای آن ها مشاهده می‌شود [۱۲].

از میان راه کارهای درمانی، درمان‌های گیاهی در مقایسه با درمان‌های شیمیایی دارای عوارض کمتری هستند. بنابر این پژوهشگران به دنبال یافتن ترکیب‌های گیاهی مناسب برای درمان و یا پیشگیری از این بیماری هستند [۱۳]. گیاهان بسیار زیادی در طب سنتی ملل مختلف برای درمان دیابت مورد استفاده قرار گرفته است که تأثیر هیپوگلیسمیک بسیاری از آن‌ها بررسی و تأیید شده است [۱، ۱۴]. یکی از این گیاهان، گیاه صبر زرد متعلق به خانواده Liliaceae است. این گیاه برگ‌های سبز مایل به خاکستری به شکل نیزه دارد که حاوی ژل روشن در یک بافت لعابدار مرکزی است. ارزیابی‌های کلینیکی نشان داده‌اند که مواد متشکله فعال فارماکولوژیکی در ژل و پوست برگ‌های صبر زرد متمرکز شده‌اند [۱۵]. یک آنترانوئید به نام باربالوئین (Barbaloin) از صبر زرد گرفته می‌شود که سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس را از آسیب ایجاد شده توسط رادیکال های آزاد محافظت می کند. مصرف این گیاه باعث افزایش ویتامین ها و آنزیم ها در بدن نیز می‌شود. این گیاه همچنین سرشار از ویتامین E و C است که مقاومت بدن را در مقابل رادیکال های آزاد تقویت می کند و به همین دلیل اثر ضد سمی دارد [۱۶]. سه آنتروئید Isobarbaloin، Barbaloin و Aloenin از صبر زرد جداسازی شده است که از بین آن‌ها باربالوئین خاصیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می دهد و باعث محافظت از سلول‌های لانگرهانس پانکراس در مقابل رادیکال‌های آزاد می‌شود. همچنین سه گلوکان maloyl به نام‌های وراسیل گلوکان A، B و C از صبر زرد جدا شده اند که همگی خاصیت ضد التهابی دارند [۱۶]. پژوهش‌های انجام شده روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه [۱۷]، تاثیر روی قطع مورفین و نیز روی کاهش میزان سرمی قندخون، چربی و کلسترول را تایید کرده است [۱۶].

به دلیل این که لایه‌های سلولی ناحیه قشر مخچه از حیث تغییرات تکوینی یکی از پیچیده ترین رده‌های نورونی محسوب می شوند، در این پژوهش سعی شده است تا روند تمایز لایه های قشری مخچه با تاکید بر وضعیت سلول‌های مختلف تشکیل‌دهنده و تغییرات تکوینی آن تحت تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه صبر زرد در جنین رت‌های دیابتی شده نوع یک با استرپتوزوتوسین مورد مطالعه و ارزیابی قرار گیرد.

روش کار:

برای انجام این مطالعه که یک مطالعه تجربی- آزمایشگاهی است، ۴۸ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار انتخاب شد. معیار

ورود به مطالعه موش‌های صحرایی ماده سالم نژاد ویستار در محدوده وزنی ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم و معیار خروج از مطالعه مرگ حیوانات دیابتی شده و عدم بارداری حیوان تعیین شد. برای تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه صبر زرد تعدادی برگ ۷۰ تا ۹۰ سانتی متری گیاه با آب شسته و ۱۰۰۰ گرم از ژل داخل آن ها را خارج و وزن کرده، درون ۲ لیتر مخلوط مساوی از آب مقطر و اتانول ۹۶ درصد به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد. سپس به کمک کاغذ صافی، محلول صاف شده و با دستگاه اواپراتور و لئوفیلایزر تغلیظ و خشک شد. عصاره به دست آمده در شیشه های جداگانه در دمای یخچال نگهداری و روزانه دوز مورد نیاز برای پژوهش از آن تهیه شد [۱۸].

موش‌های مورد مطالعه به شش گروه هشت تایی تقسیم شدند. برای دیابتی کردن موش‌های ماده از داروی استرپتوزوتوسین با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده شد. پس از تثبیت دیابت با بررسی افزایش قندخون به میزان بالای ۴۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و افزایش حجم ادرار [۱۸]، موش‌ها برای ایجاد باروری در کنار موش‌های نر قرار داده شدند. سپس موش‌های ماده از نظر تشکیل پلاک واژینال بررسی شدند و در صورت مثبت بودن، روز صفر حاملگی برای حیوان در نظر گرفته شد.

گروه بندی موش‌ها به صورت زیر انجام شد:

گروه اول (C) هیچ دارو یا عصاره ای به جز غذای معمولی و آب دریافت نکردند.

گروه دوم (A) دیابتی نشدند و علاوه بر غذای معمولی و آب، عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد را به مقدار ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم حل شده در آب مقطر توسط سرنگ روزانه در یک نوبت ساعت ۱۰صبح دریافت کردند.

گروه سوم (D) دیابتی شدند و همانند گروه اول فقط غذای معمولی و آب دریافت کردند.

گروه چهارم (DI) دیابتی شدند و علاوه بر غذای معمولی و آب، داروی انسولین به مقدار 20 IU/kg (۳۵) روزانه در یک نوبت ساعت ۱۰ صبح به صورت زیر پوستی به آن ها تزریق شد.

گروه پنجم (DA) دیابتی شدند و علاوه بر غذای معمولی و آب، عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد را به مقدار ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم حل شده در آب مقطر به روش گاواژ در یک نوبت ساعت ۱۰صبح دریافت کردند.

گروه ششم (DIA) دیابتی شدند و علاوه بر غذای معمولی و آب، روزانه داروی انسولین به مقدار 20 IU/kg (۳۵) روزانه در یک نوبت ساعت ۱۰ صبح به صورت تزریق زیر پوستی و عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد به مقدار ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در آب مقطر به روش گاواژ دریافت کردند.

در نهایت از هر گروه به طورکاملاً تصادفی ۱۶ سر جنین (۸ ماده و ۸ نر = از هر والد ۱ جنین ماده و ۱ جنین نر) انتخاب و مخچه آن ها خارج شد. برای مطالعه هیستومورفومتریک بافت مخچه تعداد پنج فیلد از هر برش مورد بررسی و اندازه گیری قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و برای داده ها با توزیع غیرنرمال از آزمون آماری ناپارامتریک کروسکال والیس استفاده شد. محاسبات آماری توسط نرم افزار SPSS نسخه۲۴ در سطح معناداری P< ۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها:

کاهش معناداری در تعداد نوزادان گروه های D، DI و DIA نسبت به گروه های C و DA در هر دو جنسیت مشاهده شد. در رابطه با تعداد نوزادان نر و ماده نسبت به هم در هیچ یک از گروه ها تفاوت معناداری مشاهده نشد (جدول ۱).

در رابطه با وزن نوزادان در گروه های D، DI و DIA افزایش معناداری نسبت به گروه های C و DA مشاهده شد. همچنین در گروه D نسبت به DI و DIA افزایش معناداری وجود داشت (جدول ۱). وزن مادران در گروه‌های D، DI و DIA در مقایسه با گروه‌های C و A کاهش معناداری را نشان داد (جدول۲).

قندخون موش‌های مادر چهار بار در روزهای ۱،۷،۱۴و ۱۸ اندازه گیری شد. در روز اول، گروه های دیابتی نسبت به گروه های C و A و در روز هفتم گروه های D، DI، DA و DIA در مقایسه با گروه C افزایش معناداری در میزان قندخون از خود نشان دادند، ولی گروه های DI، DA و DIA در مقایسه با گروه D کاهش معناداری داشتند. در روز ۱۴و ۱۸، گروه های DI، DA و DIA در مقایسه با گروه D کاهش معناداری را در میزان سرم قندخون نشان دادند (جدول ۲).

تمامی موش‌های متولد شده از موش‌های دیابتی از نظر ضخامت ماده خاکستری، لایه مولکولار، لایه گرانولار و ماده سفید مورد بررسی قرار گرفتند. مشخص شد که در تمام این موارد گروه های DA، DI و DIA نسبت به گروه D افزایش معناداری دارند. تعداد سلول‌های لایه ماده خاکستری در گروه‌های دیابتی DI و DIA نسبت به گروه D افزایش معناداری را نشان داد ضخامت لایه پورکینژ، فقط در گروه دیابتی DIA افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه D نشان داد (جدول ۳).

جدول ۱: وزن و تعداد نوزادان به تفکیک جنسیت در گروه‌های مختلف

گروه	تعداد کل نوزادان	تعداد نوزاد نر	تعداد نوزاد ماده	میانگین وزن نوزادان ± انحراف معیار
C	۹۱	۴۶	۴۵	۳٫۹۰± ۰٫۰۳
A	۹۵	۴۸	۴۷	۳٫۹۸± ۰٫۰۲
D	۵۱	۲۸	۲۳	۴٫۹۵± ۰٫۰۷
DI	۶۳	۳۴	۲۹	۴٫۱۵± ۰٫۰۹
DA	۵۳	۳۱	۲۲	۴٫۸۵± ۰٫۰۷
DIA	۶۰	۳۲	۲۸	۴٫۰۳± ۰٫۰۶

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار و انحراف استاندارد سطوح سرمی قندخون (BS) و وزن بدن مادر در گروه‌های مختلف

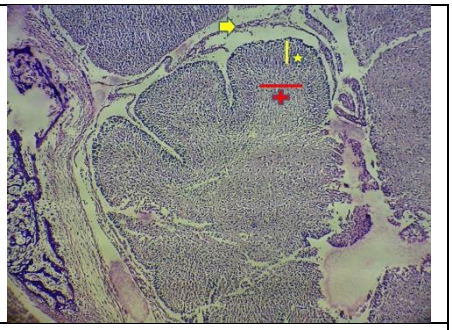
گروه / متغیر	C	A	D	DI	DA	DIA
قندخون روز ۱ (میلی گرم/دسی لیتر)	۹۹٫۲۵±۱٫۸۰ #	۹۹٫۸۸±۱٫۷۸ #	۴۹۷٫۲۵±۱۸٫۵۷ *	۴۸۶٫۸۸±۱۲٫۰۱ *	۴۸۳٫۱۳±۹٫۷۴ *	۵۰۳٫۶۳±۱۸٫۴۳ *
وزن بدن روز ۱ (گرم)	۲۳۴±۳٫۹۳	۲۳۲٫۶۷±۲٫۲۹	۲۳۲٫۷۵±۱٫۳۹	۲۳۵٫۱۳±۳٫۳۹	۲۲۹٫۷۵±۲٫۷۲	۲۲۹٫۱۳±۲٫۳۱
قندخون روز۷ (میلی گرم/دسی لیتر)	۹۵٫۲۵±۱٫۸۳ #	۹۳٫۲۵±۱٫۹۷ #	۴۷۸٫۷۵±۲۱٫۱۴ *	۱۴۲٫۶۳±۸٫۲۲ #	۴۳۴±۱۳٫۶۳ *	۱۲۳±۵٫۲۴ #
وزن بدن روز ۷ (گرم)	۲۴۵٫۲۴±۳٫۹۷ #	۲۴۶٫۵±۲٫۳۱ #	۲۳۴٫۳۸±۲٫۳۲ *	۲۴۷٫۱۳±۴٫۶۲ #	۲۳۸٫۷۵±۲٫۷۱ *	۲۳۹٫۱۳±۲٫۳۴ *
قندخون روز ۱۴ (میلی گرم/دسی لیتر)	۹۳/۵۰±۱/۸۵ #	۹۴/۸۸±۱/۷۴ #	۴۶۴±۲۱٫۷۵ *	۱۲۳٫۶۳±۵٫۶۹ *#	*# ۳۵۵٫۶۳±۱۰٫۲۰	۱۱۸٫۱۳±۳٫۶۴ *#
وزن روز ۱۴ (گرم)	۲۶۷٫۵±۳٫۸۵ #	۲۶۹٫۱۳±۲٫۶۸ #	۲۵۸٫۵±۲٫۷۶ *	۲۴۶٫۳۸±۴٫۷۲ #	۲۶۰٫۳۸±۲٫۱ *	۲۵۹٫۵±۰٫۹۶ *
قندخون روز ۱۸ (میلی گرم/دسی لیتر)	۹۳٫۳۸±۱٫۷۴ #	۹۵٫۱۳±۱٫۸۵ #	۴۶۶±۲۶٫۱۴ *	۱۲۶٫۷۵±۲٫۵۸ #	*# ۲۷۲٫۲۵±۱۳٫۸۲	۱۱۸٫۸۸±۲٫۶۶ #
وزن بدن روز ۱۸ (گرم)	۲۹۵٫۸۸±۳٫۲۸ #	۲۹۶±۲٫۹۵ #	۲۸۱٫۲۵±۲٫۱۵ *	۲۳۸٫۱۳±۵٫۳۳ *	۲۸۰٫۳۸±۲٫۴۳ *	۲۷۸٫۱۳±۱٫۸۹ *

علامت ستاره (*) بیانگر اختلاف گروه ها با گروه کنترل و علامت مربع (#) بیانگر اختلاف گروه ها با گروه دیابت است.

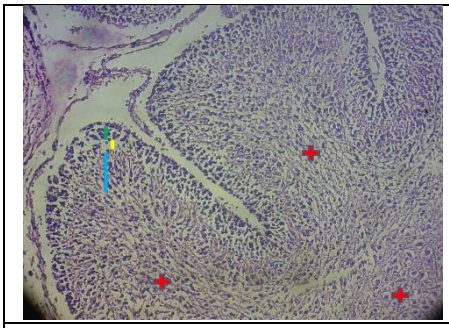
جدول ۳: مقایسه میزان ضخامت و تعداد سلول‌های لایه های مختلف مخچه نوزادان در گروه های مورد مطالعه

گروه / پارامتر	C	A	D	DI	DA	DIA
ضخامت ماده خاکستری (میلی متر)	۱٫۰۱۹±۰٫۲۱ #	۱٫۰۳۰±۰٫۱۸ #	۰٫۵۶۴±۰٫۱۵ *	۰٫۸۷۷±۰٫۱۹ *#	۰٫۸۵۷±۰٫۲۴ *#	۰٫۹۳۲±۰٫۲۵ *#
تعداد سلول‌های لایه خاکستری($\times 4000/mm^2$)	۱۶۳٫۴۸±۸۳٫۵۶ #	۱۶۳٫۳±۹۱٫۹۳ #	۱۰۷٫۸۷±۴۷٫۸۸ *	۱۲۹٫۴۱±۲۹٫۳۴ *#	۱۱۵٫۱۴±۵۰٫۲۶ *	۱۴۶٫۴۸±۶۶٫۲۸ *#
ضخامت لایه مولکولار (میلی متر)	۰٫۴۱۰±۰٫۱۵ #	۰٫۴±۰٫۱۲ #	۰٫۲۲۵±۰٫۰۷ *	۰٫۳۰۶±۰٫۱۱ *#	۰٫۳۱۵±۰٫۱۸ *#	۰٫۳۵۶±۰٫۱۶ *#
تعداد سلول لایه مولکولار ($\times 4000/mm^2$)	۳۴٫۲۸±۹٫۱ #	۳۴٫۷۵±۸٫۱۱ #	۱۱٫۹۴±۶٫۵۵ *	۱۶٫۳۱±۶٫۷۰ *#	۱۷٫۳۵±۶٫۵۴ *#	۲۲٫۱۱±۷٫۶۳ *#
ضخامت لایه پورکینژ (میلی متر)	۰٫۰۹۴±۰٫۰۶ #	۰٫۰۸۶±۰٫۰۳ #	۰٫۰۷۴±۰٫۰۸ *	۰٫۰۸۴±۰٫۰۸	۰٫۰۸۳±۰٫۰۸	۰٫۰۸۶±۰٫۰۲ *#
تعداد سلول لایه پورکینژ ($\times 4000/mm^2$)	۲٫۰۲±۰٫۸۷ #	۲٫۰۴±۰٫۹۷ #	۱٫۷۶±۰٫۷۹ *	۱٫۹۸±۰٫۸۵ #	۱٫۹۸±۰٫۸۴ #	۱٫۹۷±۰٫۸۳ #
ضخامت لایه گرانولار (میلی‌متر)	۰٫۵۲±۰٫۱۵ #	۰٫۵۴۲±۰٫۱ #	۰٫۲۶۲±۰٫۱۲ *	۰٫۴۸۹±۰٫۱۲ *#	۰٫۴۶۲±۰٫۱۳ *#	۰٫۴۹±۰٫۱۹ *#
تعداد سلول لایه گرانولار ($\times 4000/mm^2$)	۱۳۱٫۱۷±۸۶٫۶ #	۱۲۶٫۵±۹۱٫۸۸ #	۹۴٫۱۶±۴۴٫۸۳ *	۱۱۱٫۱۱±۲۸٫۴۸ *#	۹۵٫۸±۴۹٫۷۱ *	۱۲۲٫۳۸±۶۵٫۵۱ #
ضخامت ماده سفید (میلی متر)	۰٫۴۳۶±۰٫۱۱ #	۰٫۴۴±۰٫۱۲ #	۰٫۲۰۴±۰٫۰۶ *	۰٫۳۰۱±۰٫۱ #	۰٫۲۵۳±۰٫۱ #	۰٫۳۴۱±۰٫۱ #
تعداد سلول لایه ماده سفید ($\times 4000/mm^2$)	۳۸٫۳۵±۱۳٫۱۳ #	۳۷٫۷۵±۱۱٫۳۱ #	۱۴٫۱±۱۰٫۲۳ *	۲۱٫۷۷±۸٫۸۲ *#	۱۷٫۱۸±۱۰٫۴۲ *#	۲۱٫۳±۸٫۸۹ *#

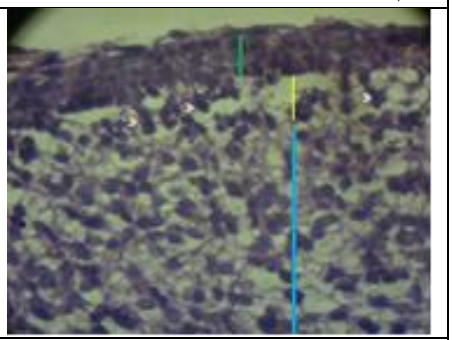
علامت ستاره (*) بیانگر اختلاف گروه ها با گروه کنترل و علامت مربع (#) بیانگر اختلاف گروه ها با گروه دیابت است.



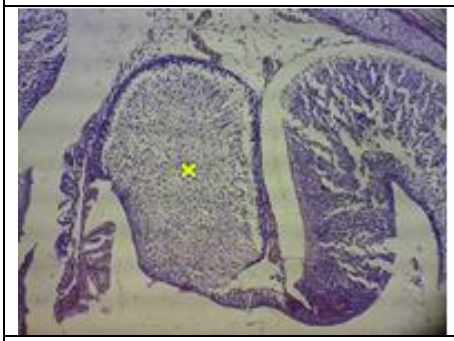
شکل ۱- مخچه جنین ۱۸ روزه (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۴۰×)
فلش: پیامتر، ستاره: جسم خاکستری، خط زرد: ضخامت جسم خاکستری، بعلاوه: جسم سفید، خط قرمز: ضخامت جسم سفید



شکل ۲- مخچه جنین ۱۸ روزه (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۱۰۰×)
خط سبز: ضخامت لایه مولکولار (لایه خارجی)، خط زرد: ضخامت لایه پورکینژ (لایه میانی)، خط آبی: ضخامت لایه گرانولار (لایه داخلی)، بعلاوه: جسم سفید



شکل ۳- مخچه جنین ۱۸ روزه (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۴۰۰×)
خط سبز: ضخامت لایه مولکولار (لایه خارجی)، خط زرد: ضخامت لایه پورکینژ (لایه میانی)، خط آبی: ضخامت لایه گرانولار (لایه داخلی)، نوک فلش: سلول پورکینژ



شکل ۴- برش طولی جسم سفید مخچه جنین ۱۸ روزه (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۴۰۰×)
ضربدر: جسم سفید ناحیه کرمینه

بحث:

در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی گیاه صبر زرد بر میزان رشد مخچه جنین رت مورد بررسی قرار گرفت. در نتایجی که از بررسی های روز ۱۴،۷،۱و ۱۸ به دست آمد مشخص شد که عصاره این گیاه باعث کاهش قندخون موش‌های دیابتی می شود. تعداد نوزادان گروه های دیابتی کاهش معناداری داشتند. همچنین گروه‌های دیابتی افزایش وزن معناداری نسبت به گروه های کنترل و صبر زرد از خود نشان دادند، در حالی که وزن مادران در این گروه‌ها کاهش معناداری داشت. با توجه به نتایج این مطالعه در موش‌هایی که عصاره گیاه صبر زرد دریافت کرده بودند نسبت به گروه دیابت افزایش معناداری در تعداد سلول و ضخامت لایه‌های مختلف مشاهده شد.

مشخص شده است که هیپرگلیسمی باعث فعال سازی مسیرهای متابولیسم گلوکز می شود که بر پیشرفت نوروپاتی تاثیرگذار است. از جمله این مسیرها می‌توان به انباشت سوربیتول و فروکتوز، افزایش مسیر هگزوزامین، تولید اضافی سوپراکسید و کاهش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد که همه این موارد می‌توانند باعث افزایش استرس اکسیداتیو سلول‌های عصبی شوند [۱۹]. اکسیداسیون به معنای انتقال الکترون از یک اتم به اتم دیگر نقش مهمی در زندگی روزمره جانوران دارد. اکسیژن آخرین پذیرنده الکترون در سیستم انتقال الکترون است که انرژی را به فرم ATP تبدیل می‌کند. حال اگر در سیستم انتقال الکترون مشکلی به وجود آید، الکترو های یگانه جفت نشده به عنوان رادیکال آزاد عمل می‌کنند. رادیکال‌های آزاد به خاطر این که می توانند به لیپیدهای موجود در غشاهای سلولی، پروتئین‌های موجود در بافت‌ها و آنزیم‌ها، کربوهیدرات‌ها و DNA حمله کنند بسیار خطرناک هستند. نتیجه این حمله تحریک اکسیداسیون، صدمه به غشا، تغییر شکل پروتئین‌هایی همچون آنزیم‌ها و آسیب به DNA می‌باشد [۱۲]. هنگامی در بافت عصبی استرس اکسیداتیو ایجاد می شود که تولید رادیکال آزاد بیش از نصف ظرفیت آنتیاکسیدانی آن باشد. کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به رادیکال آزاد منجر به بروز

صدمات در پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود. این آسیب‌های سلولی، آپوپتوز را درسلول‌های عصبی فعال می‌کند و منجر به نوروپاتی وابسته به دیابت می‌شود [۲۰]. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که چند سازوکار در ایجاد نوروپاتی دیابتی می‌توانند نقش داشته باشند. از این موارد می‌توان به تشکیل پروتئین‌های گلیکوزیله و محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته، اختلال در متابولیسم لیپیدها، افزایش صدمات اکسیداتیو، هیپرانسولینی و افزایش ویسکوزیته خون اشاره کرد [۲۱]. مشاهده شده است که هیپرگلیسمی در سلول‌های عصبی کشت داده شده نیز منجر به فعال شدن مسیر آپوپتوز می‌شود [۲۲]. یک دلیل احتمالی دیگر برای کاهش تراکم سلولی مناطق مختلف مخچه در گروه دیابتی، افزایش میزان گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش استرس اکسیداتیو سلولی در نتیجه هیپرگلیسمی است. احتمال می‌رود هیپرگلیسمی از طریق افزایش میزان گونه‌های فعال اکسیژن سلولی و سایر رادیکال‌های آزاد در افزایش آپوپتوز نورون‌ها و تخریب آن‌ها نقش داشته باشد[۲۳].

مشخص شده است که باربالوئین به عنوان یکی از آنتروئیدهای موجود در گیاه صبر زرد که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است از طریق کاهش میزان رادیکال‌های آزاد سلولی اثر محافظتی بر سلول‌های عصبی داشته و از تخریب نورونی جلوگیری می‌کند [۱۶]. با توجه به موارد ذکر شده و خصوصیات آنتی اکسیدانی باربالوئین می‌توان آن‌ها را به عنوان مولکول های محافظ نورونی لحاظ کرد. در واقع باربالوئین اثرات محافظتی خود را در برابر رادیکال‌های آزاد توسط خصوصیات آنتی‌اکسیدانی خود القاء می‌کند و اثرات آنتی‌اکسیدانی این ترکیب به باربالوئین توان مقابله با آسیب های اکسیداتیو را می‌دهد [۱۶]. بنابر این احتمال می‌رود یکی از سازوکارهای اصلی ترکیبات گیاه صبر زرد که می‌توان از آن در راستای اعمال حفاظت نورونی بهره‌جست، ویژگی آنتی‌اکسیدانی آن باشد.

راداها و همکارانش با بررسی قابلیت های کلینیکی گیاه صبر زرد به این نتیجه رسیدند که عصاره این گیاه باعث کاهش آپوپتوز سلول‌های پورکینژ و در نتیجه باعث افزایش ضخامت و تعداد سلول‌های لایه پورکینژ بافت مخچه می‌شود که با نتایج مطالعه حاضر هم سو می‌باشد [۲۴]. همچنین بر اساس نتایج مطالعه وانگ و همکارانش، آلوپلی ساکارید، پلی ساکاریدی در صبر زرد، دارای اثر کاهش دهنده آپوپتوز در مخچه بیماران دیابتی است که می‌تواند یکی از علل اثر عصاره صبر زرد بر افزایش ضخامت و تعداد سلول‌های لایه مولکولار مخچه نوزادان موش‌های دیابتی شود [۲۵]. در مطالعه دیگری که توسط کوسیف و همکارانش انجام شد، با بررسی اثرات تجویز خوراکی صبر زرد روی سیستم عصبی مرکزی موش صحرایی به این نتیجه رسیدند که صبر زرد با کاهش استرس اکسیداتیو مانع آپوپتوز سلول‌های لایه گرانولار شده و در نتیجه باعث افزایش ضخامت و تعداد سلول‌های لایه گرانولار مخچه نوزادان موش‌های دیابتی می‌شود [۲۶].

نتیجه‌گیری:

بر اساس نتایج این مطالعه مشخص شد که احتمالا گیاه صبر زرد با کاهش قندخون و جلوگیری از افزایش اکسیدان های مضر به دلیل داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی می‌تواند از تخریب بافت مغز جلوگیری کند. این گیاه حاوی مواد موثر مختلفی است که احتمالاً تعدادی از آن‌ها مسئول کاهش قندخون هستند و با توجه به مصرف آن‌ها در غالب عصاره گیاهی انتظار نمی رود اثری مانند انسولین داشته باشد. در مطالعات آینده می توان با یافتن سازوکار اثر دقیق این مواد موثر و خالص سازی آن ها، به خواص کاهنده قندی بیشتری دست یافت. در حالت کلی، گیاه صبر زرد تاثیر اندکی بر قندخون داشته و از این طریق به صورت غیرمستقیم عوارض قندخون بالا را در مادر و جنین کاهش می‌دهد.

تعارض منافع:

نویسندگان هیچ گونه تضاد منافعی در خصوص مطالعه حاضر ندارند.

تشکر و قدردانی:

این مطالعه با کد اخلاق IR.JUMS.REC.1395.163 در دانشگاه علوم پزشکی جهرم به تصویب رسیده و در تمام مراحل انجام آن کلیه نکات اخلاقی مد نظر قرار گرفته است.

بدین وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری و کمیته تحقیقات و فناوری دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی جهرم برای حمایت‌های مادی و معنوی از این طرح تشکر و قدردانی می‌شود.

References:

1. Sun J, Ren J, Hu X, Hou Y, Yang Y. Therapeutic effects of Chinese herbal medicines and their extracts on diabetes. Biomed Pharmacother 2021;142:111977.
2. Nakamura U, Iwase M, Uchizono Y, Sonoki K, Sasaki N, Imoto H, Goto D, Iida M. Rapid intracellular acidification and cell death by H2O2 and alloxan in pancreatic β cells. Free Radic Biol Med 2006 1;40(11):2047-55.
3. Bermejo-Alvarez P, Roberts RM, Rosenfeld CS. Effect of glucose concentration during in vitro culture of mouse embryos on development to blastocyst, success of embryo transfer, and litter sex ratio. Mol Reprod Deve. 2012;79(5):329-36.
4. Eriksson UJ, Cederberg J, Wentzel P. Congenital malformations in offspring of diabetic mothers—animal and human studies. Rev Endocr Metab Disord. 2003;4:79-93.
5. Mills JL. Malformations in infants of diabetic mothers. Teratology 25:385-94. 1982. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol. 2010;88(10):769-78.
6. Hall JE, Hall ME. Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book. Elsevier Health Sciences; 2020: 13.
7. Barthell JE, Georgieff MK. Infants of diabetic mothers. InNeonatology: A Practical Approach to Neonatal Diseases. Milano: Springer Milan.–2012: 379-86.
8. Vinceti M, Malagoli C, Rothman KJ, Rodolfi R, Astolfi G, Calzolari E, Puccini A, Bertolotti M, Lunt M, Paterlini L, Martini M. Risk of birth defects associated with maternal pregestational diabetes. Europ J Epidemiol. 2014;29:411-8.
9. Balsells M, García-Patterson A, Gich I, Corcoy R. Major congenital malformations in women with gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. Diabetes Metab Res Rev. 2012;28(3):252-7.
10. Åberg A, Westbom L, Källén B. Congenital malformations among infants whose mothers had gestational diabetes or preexisting diabetes. Early Hum Deve. 2001 1;61(2):85-95.
11. Buckner RL, Krienen FM, Castellanos A, Diaz JC, Yeo BT. The organization of the human cerebellum estimated by intrinsic functional connectivity. J Neurophysiol. 2011;106(5):2322-45.
12. Gülcin I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. Arch Toxicol. 2012;86:345-91.
13. Isah AB, Ibrahim YK, Abdulrahman EM, Ibrahim MA. The hypoglycaemic activity of the aqueous extract of Stachytarpheta angustifolia (Verbanaceae) in normoglycaemic and alloxan-induced diabetic rats. Pakistan J Biological Sci. 2007 1;10(1):137-41.
14. Dhandapani S, Subramanian VR, Rajagopal S, Namasivayam N. Hypolipidemic effect of Cuminum cyminum L. on alloxan-induced diabetic rats. Pharmacol Res. 2002 1;46(3):251-5.
15. Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian S. Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. Pharmacol Rep. 2005 1;57(1):90-6.
16. Jadidoleslami M, Abbas Nejad M, Shahraki MR. The effect of Aloe vera aqueous extract on glucose and lipid levels in diabetic male rats. Iran J Diabet Metab. 2006 10;6(2):143-51.
17. Taricco E, Radaelli T, Rossi G, Nobile de Santis MS, Bulfamante GP, Avagliano L, Cetin I. Effects of gestational diabetes on fetal oxygen and glucose levels in vivo. BJOG: Int J Obstet Gynaeco. 2009 Dec;116(13):1729-35.
18. Bueno A, Sinzato YK, Volpato GT, Gallego FQ, Perecin F, Rodrigues T, Damasceno DC. Severity of prepregnancy diabetes on the fetal malformations and viability associated with early embryos in rats. Biol Reproduct. 2020;103(5):938-50.
19. Majkutewicz I, Kurowska E, Podlacha M, Myślińska D, Grembecka B, Ruciński J, et al. Dimethyl fumarate attenuates intracerebroventricular streptozotocin-induced spatial memory impairment and hippocampal neurodegeneration in rats. Behav Brain Res. 2016 15;308:24-37.
20. Cobb CA, Cole MP. Oxidative and nitrative stress in neurodegeneration. Neurobiology Dis. 2015 1;84:4-21.
21. Tesfaye S. Neuropathy in diabetes. Med. 2015 1;43(1):26-32.
22. Zhao CH, Liu HQ, Cao R, Ji AL, Zhang L, Wang F, Yang RH. Effects of dietary fish oil on learning function and apoptosis of hippocampal pyramidal neurons in streptozotocin-diabetic rats. Brain Res. 2012 ;1457:33-43.
23. Polster BM. AIF, reactive oxygen species, and neurodegeneration: a "complex" problem. Neurochem Int. 2013 Apr 1;62(5):695-702.
24. Radha MH, Laxmipriya NP. Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of Aloeávera: áAásystematic review. J Tradit Complement Med. 2015 1;5(1):21-6.
25. Wang ZW, Zhou JM, Huang ZS, Yang AP, Liu ZC, Xia YF, et al. Aloe polysaccharides mediated radioprotective effect through the inhibition of apoptosis. J Radiat Res. 2004;45(3):447-54.
26. Kosif R, Aktas RG, Oztekin A. The effects of oral administration of Aloe vera [barbadensis] on rat central nervous system: An experimental preliminary study. Neuroanat. 2008;7:22-7.

Original Article

Effect of Hydroalcoholic Extract of Aloe Vera on Fetal Cerebellar Development in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Mohammad Pourahmadi[1,2], Ehsan Rastgoo[3], Shekoufeh Atashpour[1,2,4], Arash Hasannezhad[3], Mohammad Aref Bagherzadeh[3], Hossein Kargar Jahromi[1,2,*]

Received:2023.06.13 Revised:2023.08.06 Accepted:2023.09.19

1. Zoonoses Research center, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran
2. Research Center for Noncommunicable Diseases, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran
3. Student Research Committee, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran
4. Department of Pharmacology, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.21, No.2, Summer 2023

Pars J Med Sci 2023;21(2):18-25

Abstract:

Introduction:
Diabetes mellitus has destructive effects on fetal brain development. Aloe vera extract contains potent antioxidants which can be effective in treating diabetes. The present study investigated the effects of hydroalcoholic extract of Aloe vera on fetal cerebellar tissue in diabetic rats.

Materials and Methods:
Forty eight adult pregnant Wistar rats were divided into 6 groups of 8 including control (C), receiving 400 mg/kg Aloe vera extract (A), diabetic by injecting with 50 mg/kg streptozotocin (D), diabetic group receiving 20 IU/kg insulin (DI), diabetic group receiving 400 mg/kg Aloe vera extract (DA) and diabetic receiving 20 IU/kg insulin and 400 mg/kg Aloe vera extract (DAI). The rats received insulin subcutaneously and the Aloe vera extract through gavage. Blood glucose and body weight were recorded on days 1, 7, 14 and 18 of gestation. On day 18, the weight of each rat and the number and gender of its fetuses were recorded. Fetal brains were removed and tissue sections of their cerebellum were prepared. The results were analyzed through ANOVA and at the significant level of $p \leq 0.05$.

Results:
Blood glucose in diabetic groups was significantly higher than C and A groups. Weight of pregnant rats on days 7, 14, and 18 significantly decreased in the D, DI, and DAI groups compared to the C and A groups. In all diabetic groups compared to the C and A groups, the number of newborns significantly decreased and the neonatal weight increased. In group D, compared to group C, the thickness and number of gray and white matter cells, the thickness and number of molecular, Purkinje, and granular layer cells decreased significantly. Also, In DI and DAI groups compared to group D, the thickness of gray and white matter, the thickness and number of molecular layer cells and the number of white matter cells showed a significant change compared to group D.

Conclusion:
It seems that aloe vera prevents the destruction of the fetus brain tissue of diabetic rats by reducing blood sugar and preventing the increase of harmful oxidants.

Keywords: Diabetes mellitus, Aloe vera, Rat, Fetus, Cerebellum

* Corresponding author Email: Hossein.kargarjahromy@yahoo.com