

## Comparison of the Effects of Aqueous Aloe vera Extract and Theophylline on the Histological Changes of Kidney and Renal Factors in Female Rats with Asthma

Nahid Gholizade<sup>1\*</sup>, Farah Farokhi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Histology & Embryology, Faculty of Sciences, University of Nazloo, Urmia, Iran.

\*Corresponding Author:  
Nahid Gholizade,  
Department of Histology & Embryology, Faculty of Sciences, University of Nazloo, Urmia, Iran.

Email:  
rooz.gholizadeh@yahoo.com

Received: 4 Jul, 2015

Accepted: 22 Nov, 2015

### Abstract

**Background and Objectives:** Asthma is a kind of respiratory disease for which different chemical and herbal drugs are used. This study investigated the side effects of theophylline (TEO) and *Aloe vera* extract (AVE) on kidney tissue in rats with asthma.

**Methods:** Thirty six female rats were divided into six groups of six each. Asthma was induced in the rats using acetic acid spray for 12 weeks. At completion of this period, heart blood samples were collected to conduct biochemical tests. Kidney tissue was fixed in formalin 10% and stained with hematoxylin and eosin for microscopic examinations. The data were analyzed by variance and Tukey's test.

**Results:** Inflammatory cells were seen in connective tissue and around renal tubules. In TEO-treated group, mild change in density of mesenchymal stem cells, atrophy of glomerular capillaries, and increase in Bowman space were seen, but in AVE (100mg/kg)-treated group, kidney improved. The mean creatinine and urea concentrations increased in rats with asthma and TEO and AVE (200mg/kg)-treated rats compared to the controls ( $p<0.05$ ) but significantly decreased in AVE (100mg/kg)-treated rats ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** AVE (100mg/kg) is effective in reducing inflammation of the kidney and concentrations of urea and creatinine.

**Keywords:** Asthma; *Aloe Vera*; Theophylline; Kidney; Rats.

## مقایسه اثر تئوفیلین و عصاره آبی آلوئه‌ورا بر تغییرات بافتی کلیه و فاکتورهای کلیوی در موش‌های رت ماده آسمی

ناهد قلی‌زاده<sup>۱\*</sup>، فرح فرخی<sup>۱</sup>

### چکیده

اگرچه بافت و جنین‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه نازلو، ارومیه، ایران.

**زمینه و هدف:** آسم نوعی بیماری تنفسی است که از داروهای شیمیایی و گیاهی مختلفی برای درمان آن استفاده می‌شود. در این مطالعه اثرات جانبی تئوفیلین و عصاره آلوئه‌ورا بر بافت کلیه موش‌های آسمی بررسی گردید.

**روش بررسی:** در این تحقیق تجربی، ۳۶ عدد موش رت ماده در ۶ گروه ۶ تایی شامل: (۱) کنترل سالم؛ (۲) کنترل آسمی؛ (۳) دو گروه تجربی آسمی تیمار شده با تئوفیلین (دوز ۲۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۸ هفته به صورت خوراکی؛ (۴) دو گروه آسمی تیمار شده با عصاره آبی آلوئه‌ورا (دوز ۲۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۸ هفته به صورت خوراکی، تقسیم شدند.

با اسید استیک به مدت ۱۲ هفته (به صورت اسپری)، آسم در موش‌ها القا گردید. همه گروه‌ها، رژیم غذایی طبیعی دریافت کردند. در پایان دوره تیمار، خونگیری از بطن، به منظور انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی به عمل آمد. بافت کلیه در فرمالین ۱۰٪ تثبیت و رنگ‌آمیزی H&E جهت مطالعات میکروسکوپی انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری واریانس و تست توکی آنالیز شدند.

**یافته‌ها:** نتایج، وجود سلول‌های التهابی در بافت همبند و اطراف توپول‌های کلیه در گروه آسمی را نشان داد. در گروه تحت درمان با تئوفیلین، تغییر خفیف در تراکم مزانشیم و آتروفی مویرگ گلومرولی و افزایش فضای بومن دیده شد. اما کلیه در گروه تحت درمان با آلوئه‌ورا (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بهبود یافت. میانگین غلظت کراتینین و اوره در موش‌های آسمی، گروه تحت درمان با تئوفیلین و آلوئه‌ورا (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه شاهد، افزایش نشان داد ( $p < 0.05$ )، اما این میزان در گروه تحت درمان با عصاره آلوئه‌ورا (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، به میزان قابل توجهی کاهش یافت ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** عصاره آلوئه‌ورا (دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در کاهش التهاب بافت کلیه، کاهش سطح اوره و کراتینین مؤثر است.

**کلیدواژه‌ها:** آسم؛ آلوئه‌ورا؛ تئوفیلین؛ کلیه؛ رت.

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Gholizade N, Farokhi F. Comparison of the effects of aqueous *Aloe vera* extract and theophylline on the histological changes of kidney and renal factors in female rats with asthma.

Qom Univ Med Sci J 2016;10(7):20-28. [Full Text in Persian]

\* نویسنده مسئول مکاتبات:

ناهد قلی‌زاده، گروه بافت و جنین‌شناسی، دانشگاه نازلو، ارومیه، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:  
rooz.gholizadeh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۱۳

تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۱

## مقدمه

آسم نوعی انسداد تنفسی بوده که با پُر‌هوایی ریه همراه است. تحقیقات نشان می‌دهد آسم ممکن است با افزایش تعداد نوتروفیل‌های راه‌های هوایی در ارتباط باشد. هیپرتروفی عضلات صاف مجاری تنفسی و افزایش ترشح موکوس به‌درون مجاری (اغلب نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها) در آسم دیده شده است (۱). برای درمان آسم، از داروهای گیاهی مانند آلوئه‌ورا استفاده می‌شود. تنوفیلین نیز به‌عنوان داروی شیمیایی اگر به مدت طولانی و منظم استفاده گردد در درمان آسم مؤثر خواهد بود.

اینترلوکین - ۱۷ به‌عنوان یکی از اعضای خانواده سایتوکینین‌ها، موجب افزایش التهاب توسط فراخوان نوتروفیل‌ها به بافت‌های محیطی از جمله بافت کلیه و کبد می‌شود (۲،۳). مواد شیمیایی با اشکال فعال متابولیکی ممکن است از پلازما به توبول‌های کلیوی، منتقل و تا چند برابر سطحی که در دیگر بافت‌ها یافت می‌شود تغلیظ شده و با وارد کردن صدمه به لوله‌های کلیوی و ایجاد مسمومیت کلیوی سبب افزایش میزان سموم دفعی در خون شوند. میزان اوره، کراتینین و آنزیم‌های کلیوی به‌عنوان شاخصی معتبر جهت سنجش میزان عملکرد کلیه به‌کار می‌روند. اختلالات کلیوی می‌تواند به‌علت اشکال در حجم خون عروق، دهیدراسیون (۴)، نارسایی قلبی، کاهش برون‌ده قلبی و تعرق زیاد باشد. گیاهان دارویی و مشتقات آنها اگرچه از دیرباز در درمان مشکلات کلیوی مطرح بوده‌اند، ولی در مورد اثربخشی قطعی بسیاری از آنها، تاکنون شواهد تحقیقاتی و معتبری منتشر نشده است (۵).

گیاه آلوئه‌ورا (*Aloe vera*)، گیاهی پایا با برگ‌های نیزه‌ای افراشته و برگ‌های کاملاً گوشتی است. خواص ضدالتهابی و ضد میکروبی این گیاه به دلیل وجود ترکیبات مهم شامل: آنتراکینون‌ها (آلوئین، آلوئه امودین، کوماریک اسید) پلی‌ساکاریدها، گلیکوپروتئین‌ها، امودین، رسیستانول، پلی‌ماناز، لوپتول، سیتوسترول و باربالوئین می‌باشد. خواص ضد میکروبی و ضدسرطانی گیاه آلوئه‌ورا آن را از جایگاه ویژه‌ای برخوردار کرده است. طبق گزارشها، خوردن آلوئه‌ورا (آلوورا) می‌تواند سنگ کلیه را دفع یا اندازه سنگ را کوچکتر کند. آنتراکونین موجود در شیره آلوئه‌ورا نیز به‌عنوان مسهل مؤثر عمل می‌کند. این مواد شیمیایی در مقادیر کم می‌توانند از تشکیل سنگ کلیه جلوگیری کنند، ولی مصرف

طولانی مدت این ماده سبب وابستگی به آن می‌شود یا تعادل الکترولیتی را مختل می‌سازد (۸-۶). همچنین گزارش شده مصرف دوزهای بالای عصاره آلوئه‌ورا موجب آسیب‌های جدی به بافت کلیه می‌شود (۹).

در این پژوهش از اسید استیک به‌عنوان آلرژن القاکننده آسم استفاده گردید. اسید استیک ( $\text{COOH}_3\text{CH}$ ) اکسیده شده و باعث راه‌اندازی استرس اکسیداتیو و شروع پراکسیداسیون چربی‌ها می‌شود که به‌عنوان یک واکنش زنجیری، منبع پایداری از رادیکال‌های آزاد است. رادیکال‌های آزاد تولیدشده به‌واسطه اسید استیک، عامل مهمی در تخریب سلول‌ها، تخریب غشاهای سلولی و اکسیداسیون پروتئین‌های بافت‌های مختلف بدن بوده و التهاب را باعث می‌شوند (۱۰،۱۱). تنوفیلین نیز داروی شیمیایی ضد آسم از گروه متیل‌گراتینین‌ها می‌باشد. بعضی از مطالعات، اثر محافظتی تنوفیلین بر مشکلات کلیوی را ذکر کرده‌اند و بعضی دیگر، آن را بی‌اثر دانسته‌اند (۱۴-۱۲). گیاهان دارویی به دلیل داشتن ترکیبات فنی، فلاونوئیدها و دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، امتیاز و برتری قابل‌ملاحظه‌ای نسبت به گیاهان شیمیایی دارند، اما استفاده طولانی مدت و مصرف بیش از حد گیاهان دارویی نیز ممکن است مضر باشد (۱۵،۱۶). این تحقیق با هدف بررسی مقایسه تأثیر عصاره آلوئه‌ورا و تنوفیلین بر تغییرات بافتی و فاکتورهای کلیوی در موش‌های رت ماده آسمی شده با اسید استیک انجام شد.

## روش بررسی

در این تحقیق تجربی از ۳۶ سر موش رت ماده بالغ از نژاد ویستار (با وزن متوسط  $160 \pm 20$  گرم و سن حدوداً ۳-۴ ماهه) تهیه شده از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه استفاده شد. موش‌ها در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد با رطوبت نسبی ۳۰-۲۵٪) نگهداری شدند و طی دوره تیمار از غذای استاندارد فشرده شده (Pellet) استفاده کردند. در طی انجام این تحقیق، تمامی اصول اخلاقی کار با حیوانات براساس قانون حمایت از حیوانات که در سال ۲۰۰۶ در آمریکا به تصویب رسیده (SPCA)، مدنظر قرار گرفت.

دستگاه تغلیظ در خلأ (دمای ۴۵ درجه) گرفته شد. مایع صاف‌شده، تغلیظ و در نهایت، عصاره باقوام عسلی به دست آمد که با نرمال‌سالین، غلظت‌های متفاوت موردنیاز (برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان) تهیه گردید. در این روش به‌ازای هر ۱۰۰ گرم پودر خشک‌شده، ۸ گرم عصاره با قوام عسلی به دست آمد. بعد از اتمام دوره تیمار، همه حیوانات با اتر بیهوش شدند و خونگیری از بطن قلب با سرنگ ۵ میلی‌لیتر آغشته به هپارین انجام گرفت. به‌منظور جداسازی سرم، نمونه‌های خونی در لوله آزمایش داخل سانتریفیوژ (به مدت ۱۰ دقیقه و سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه) قرار گرفتند. سرم‌ها جدا شده و تا زمان سنجش آنزیمی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد به‌صورت فریز نگهداری شدند. بافت کلیه همه موش‌ها، جداسازی و داخل فرمالین ۱۰٪، به‌منظور تثبیت نگهداری شد. پس از آبگیری با الکل، به‌وسیله گرینل، باقیمانده الکل خارج و به‌وسیله دستگاه آماده‌ساز، بلوک پارافینی تهیه گردید. با میکروتوم از بلوک‌ها، برش‌هایی به ضخامت ۴-۵ میکرون، تهیه و به روش معمولی H&E رنگ‌آمیزی شدند و سپس با میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین عکاسی، بررسی هیستوپاتولوژی انجام گرفت. قطر گلومرول‌ها از هر لام در ۴ میدان دید و به تعداد ۴۰ گلومرول با عدسی مدرج اندازه‌گیری شد. در کل، ۱۸ بلوک پارافینی و از هر بلوک ۱۰ عدد برش و از هر اسلاید، ۴۰ گلومرول در ناحیه قشری، بررسی و با عدسی مدرج اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است در این تحقیق هدف مطالعه مقایسه عصاره آلوئه‌ورا و تئوفیلین در دوزهای ذکرشده به‌صورت مقایسه‌ای و جداگانه روی فاکتورهای مذکور در موش‌های تجربی بوده است، لذا روی گروهی که تماماً تئوفیلین و آلوئه‌ورا را دریافت کرده باشند مطالعه صورت نگرفت.

میزان اوره و کراتینین خون به‌عنوان معیاری جهت تعیین آسیب کلیوی است. میزان کراتینین با روش Jaffe/FixedRate or Kinetic و میزان اوره با روش Berthelot/Endpoint اندازه‌گیری شد.

نتایج حاصل از این تحقیق به کمک نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ و آزمون واریانس یک‌طرفه و تست توکی مورد تحلیل قرار گرفت و به‌صورت SEM±Mean بیان گردید. سطح معنی‌داری،  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد.

به‌منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایشها بعد از گذشت حداقل ۱۰ روز پس از استقرار حیوانات در لانه به انجام رسید. تیمار به‌صورت خوراکی از طریق لوله Intra-gastric انجام شد. کل طول دوره تیمار نزدیک به ۵ ماه بود که ۳ ماه (۱۲ هفته)، آسمی کردن همه گروه‌های تجربی (به غیر از گروه کنترل سالم) طول کشید. بعد از آن، تیمار با تئوفیلین و عصاره آبی آلوئه‌ورا شروع شد که این مرحله نیز به مدت ۸ هفته به‌طول انجامید.

حیوانات به‌طور تصادفی به ۶ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل سالم که آب و غذای معمولی و نرمال‌سالین دریافت کردند.

۲- گروه کنترل آسمی: در این گروه قفس موش‌های گروه تجربی داخل اتاق دربسته و در ظرف‌های بزرگ که از جنس کاغذ فشرده و دارای شکاف تهویه هوا بود، قرار داده شد و موش‌ها طی ۱۲ هفته هر روز اسید استیک را به مقدار ۰/۱ میلی‌گرم به مدت ۴ ساعت (به‌صورت اسپری) دریافت کردند. خونگیری دمی و لانسیت زدن مستقیم دمی به‌وسیله دستگاه گلوکومتر، به‌منظور تهیه اسمیرهای خونی جهت اطمینان از آسمی شدن موش‌ها انجام شد.

۳- دو گروه آسمی تجربی تیمار شده با تئوفیلین که تئوفیلین را با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۸ هفته به‌صورت گاوژ دریافت کردند.

۴- دو گروه آسمی تجربی تیمار شده با عصاره آبی آلوئه‌ورا که این عصاره را با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۸ هفته به‌صورت گاوژ دریافت کردند، در این گروه به همه موش‌ها رژیم غذایی یکسانی داده شد.

بعد از تهیه گیاه آلوئه‌ورا از گلخانه دانشگاه ارومیه و تأیید آن توسط کارشناس گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی (به شماره هرباریوم ۹۵۸۹) برگ‌های آن برش داده شد و در ۵۰ درجه سانتیگراد داخل دستگاه اوون طی ۳ روز خشک گردید، سپس با دستگاه خردکن پودر شده و ۵۰۰ گرم آن به نسبت ۱ به ۳ در الکل اتانول ۹۶٪ به همراه ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر، مخلوط و به مدت ۷۲ ساعت روی شیکر در دمای آزمایشگاه جهت هم‌زدن مواد گذاشته شد. در ادامه، به‌وسیله کاغذهای صافی بزرگ و کوچک، فیلتراسیون دقیق مخلوط انجام گرفت و سپس حلال اضافی با

## یافته‌ها

همچنین میزان اوره و کراتینین در موش‌های تیمار شده با تنوفیلین (دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، افزایش معنی‌داری با سایر گروه‌ها نشان داد ( $p < 0.05$ )، در حالی که در این مقادیر در گروه تیمار شده با آلئوئورا (دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل سالم (C)، تغییر معنی‌داری مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ).

در گروه‌های کنترل آسمی (CA) و آسمی تیمار شده با تنوفیلین (دوز ۲۰۰-۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و موش‌های تیمار شده با آلئوئورا (۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، میزان کراتینین و اوره نسبت به گروه کنترل سالم، افزایش معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) نشان داد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: بررسی میزان تغییرات اوره و کراتینین در موش‌های تجربی مورد آزمایش (SEM±Mean)

گروه‌ها	کنترل	کنترل آسمی	تنوفیلین (۱۰۰)	تنوفیلین (۲۰۰)	آلئوئورا (۱۰۰)	آلئوئورا (۲۰۰)
کراتینین (میلی گرم بردسی لیتر)	۰/۴۵±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۵۲±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۰/۵۷±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۶۳±۰/۰۵ <sup>c</sup>	۰/۶۴±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۵۴±۰/۰۵ <sup>b</sup>
اوره (میلی گرم بردسی لیتر)	۴۳±۴/۷۲ <sup>a</sup>	۵۲/۶۶±۲/۴ <sup>b</sup>	۵۸±۷/۳۵ <sup>b</sup>	۷۴/۳۳±۶/۴۸ <sup>c</sup>	۴۴/۶۶±۴/۴ <sup>a</sup>	۵۵/۳۳±۰/۵۵ <sup>b</sup>

به سایر گروه‌ها دیده شد. فضای ادراری در این گروه نسبت به گروه‌های دیگر کمتر بود. قطر گلومرول و اندازه فضای ادراری در گروه تیمار شده با عصاره آلئوئورا (دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) شبیه کنترل سالم بود (جدول شماره ۲). فضای ادراری در گروه کنترل آسمی و گروه تیمار شده با تنوفیلین (دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به کنترل سالم، افزایش معنی‌داری یافت و در گروه آسمی تیمار شده با تنوفیلین (دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه آسمی این افزایش معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). در موش‌های تیمار شده با آلئوئورا (دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، کاهش معنی‌داری فضای ادراری نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد و در موش‌های تیمار شده با آلئوئورا (دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، مشابه گروه کنترل سالم بود.

در همه گروه‌های آسمی و آسمی تیمار شده با تنوفیلین (دوز ۲۰۰-۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، کاهش معنی‌دار قطر گلومرول نسبت به گروه کنترل سالم دیده شد، همچنین در گروه تیمار شده با تنوفیلین (دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، قطر گلومرول نسبت به گروه کنترل آسمی، کاهش نشان داد که این کاهش معنی‌دار نبود، ولی در گروه تیمار شده با تنوفیلین (دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، این کاهش قطر گلومرول نسبت به گروه کنترل آسمی، معنی‌دار بود و در موش‌های تیمار شده با آلئوئورا (دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) ( $p < 0.05$ )، قطر گلومرول نسبت به گروه آسمی و کنترل سالم، افزایش معنی‌داری داشت (جدول شماره ۲). در موش‌های تیمار شده با ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آلئوئورا، افزایش معنی‌دار قطر کلافه گلومرول

جدول شماره ۲: بررسی تغییرات قطر کلافه گلومرول و فضای ادراری در موش‌های تجربی مورد آزمایش (SEM±Mean)

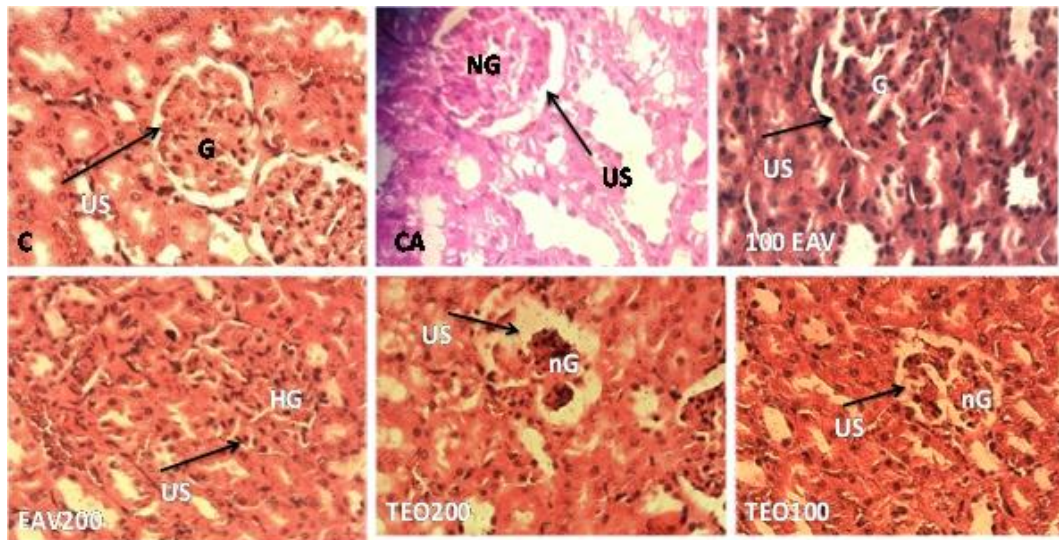
گروه‌ها	کنترل	کنترل آسمی	تنوفیلین (۱۰۰)	تنوفیلین (۲۰۰)	آلئوئورا (۱۰۰)	آلئوئورا (۲۰۰)
قطر گلومرول (میکرون)	۷۰/۱±۶ <sup>a</sup>	۶۲/۳±۷ <sup>b</sup>	۶۰±۸ <sup>b</sup>	۵۰/۱±۴ <sup>c</sup>	۷۲/۹±۹ <sup>a</sup>	۷۸±۴ <sup>d</sup>
فضای ادراری (میکرون)	۵/۷±۱ <sup>a</sup>	۶/۹±۰/۴ <sup>b</sup>	۷/۱±۰/۳۱ <sup>b</sup>	۹/۱±۱/۲۸ <sup>c</sup>	۵/۳±۱/۲۵ <sup>a</sup>	۳/۸±۱/۸۱ <sup>d</sup>

فضای بومن مشاهده گردید (شکل، جدول شماره ۲). در نمای هیستولوژی لام‌های بافتی گروه دریافت‌کننده آلئوئورا (دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، کاهش قطر کلافه گلومرول نسبت به آلئوئورا (دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) دیده شد. میانگین قطر کلافه گلومرول و تغییرات فضای ادراری این گروه شبیه گروه کنترل سالم بود. در نمای هیستولوژی بافت کلیه گروه تیمار شده با تنوفیلین (دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، تحلیل خفیف گلومرول

تجمع سلول‌های لنفاوی بین لوله‌های کلیوی، تحلیل گلومرول و افزایش فضای ادراری، در گروه آسمی دیده شد (شکل). هیپرتروفی کلافه گلومرول و کاهش معنی‌دار فضای ادراری در گروه تیمار شده با آلئوئورا (دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) مشاهده گردید. در گروه تیمار شده با تنوفیلین (دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، تحلیل معنی‌دار کلافه گلومرول همراه با تغییر خفیف در تراکم مزانشیم، آتروفی مویرگ گلومرولی با افزایش معنی‌دار

آسم می‌شود، ولی در دوزهای بالاتر در ایجاد مشکلات کلیوی، افزایش میزان اوره و کراتینین سرم نقش دارد.

و افزایش فضای ادراری قابل رؤیت بود. براساس این تحقیق، آلوئه‌ورا (دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) باعث کاهش کراتینین، اوره سرم و کاهش اختلال ایجادشده بافت کلیه ناشی از بیماری



شکل: مقطع عرضی از بافت کلیه در گروه‌های مختلف آزمایش با رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین و بزرگنمایی 400X.

(C) گروه کنترل سالم؛ اندازه فضای ادراری و قطر کلافه گلومرول، طبیعی و نرمال است. (CA) گروه کنترل آسمی؛ تحلیل گلومرول (NG) و افزایش فضای ادراری (US) نسبت به گروه کنترل سالم دیده می‌شود. (EAV100) گروه دریافت‌کننده آلوئه‌ورا (دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) که اندازه قطر گلومرول و فضای ادراری شبیه گروه کنترل سالم است. (EAV200)، گروه دریافت‌کننده آلوئه‌ورا (دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) که هیپرتروفی معنی‌دار قطر گلومرول (HG)، افزایش غشای پایه و کاهش معنی‌دار فضای ادراری (گلومرولواسکلروزیس) در این گروه دیده می‌شود. (TEO200)، گروه دریافت‌کننده تنوفیلین (دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) که تکروز و تحلیل شدید گلومرول (NG) و افزایش معنی‌دار فضای ادراری (US) مشاهده می‌شود. (TEO100)، گروه دریافت‌کننده تنوفیلین (دوز ۲۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) که تکروز خفیف گلومرول و افزایش خفیف فضای ادراری قابل مشاهده است.

## بحث

داروهای گیاهی و شیمیایی در مقادیر و غلظت‌های متفاوت می‌توانند اثرات مختلفی را بر بافت‌های مختلف بدن بگذارند. گیاه آلوئه‌ورا با وجود داشتن آثار درمانی زیاد می‌تواند در غلظت‌های بالا، آسیب‌های جدی بر بافت‌های مختلف وارد کند (۱۷، ۱۸). بافت کلیه به‌عنوان محل اصلی فیلتراسیون و یکی از مکان‌های سم‌زدایی در بدن مستقیماً تحت تأثیر داروهای مختلف قرار می‌گیرد. همچنین متابولیت‌های حاصل از سموم موجب آسیب به سلول‌های کلیوی می‌شود. طبق مطالعات انجام‌شده در آسیب پارانیشیم بافت کلیه؛ اوره و کراتینین که از فرآورده‌های نهایی متابولیسم پروتئین‌ها هستند، افزایش می‌یابد (۱۹). در مطالعه حاضر مشاهده گردید میزان اوره و کراتینین سرم در گروه‌های کنترل آسمی و گروه تیمارشده با آلوئه‌ورا (دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و تنوفیلین (دوز ۲۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) افزایش یافته است.

میزان این فاکتورها در گروه دریافت‌کننده آلوئه‌ورا (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل آسمی نیز افزایش نشان داد. همچنین قطر گلومرول در این گروه نسبت به کنترل آسمی و سایر گروه‌ها، افزایش معنی‌داری داشت و فضای ادراری این گروه نسبت به دیگر گروه‌های آزمایش، کاهش معنی‌داری نشان داد، ولی در گروه تحت درمان آلوئه‌ورا (با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، میزان این فاکتورها و نمای هیستولوژی بافت کلیه، شبیه گروه کنترل سالم بود و در این گروه، کاهش اختلالات کلیوی نسبت به گروه کنترل آسمی و سایر گروه‌ها دیده شد. طبق یافته‌ها (دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) عصاره این گیاه در پایین‌آوردن اوره، کراتینین و کاهش اختلال ناشی از آسم مؤثر است. کاهش اختلال و محافظت بافت در مقابل رادیکال‌های آزاد ایجادشده، با اسید استیک به‌واسطه باربالوئین و B-سیسترون و سایر ترکیبات ضدالتهاب موجود در شیره گیاه صورت می‌گیرد (۲۰)، ولی دوزهای بالاتر عصاره آلوئه‌ورا

موجب افزایش فاکتورهای مذکور و اختلال در بافت کلیه می‌شوند. طبق گزارشها مصرف اندازه و بیش از حد مجاز آلوئه‌ورا سبب آسیب به بافت کلیه می‌شود. دوزهای سمی و بالای این گیاه (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نیز باعث دهیدراسیون (از دست دادن آب) و اختلال آب و الکترولیت‌ها می‌شوند. مکانیسم تخریب بافت کلیه با آلوئه‌ورا به واسطه ایجاد دهیدراسیون، اختلال در پرفیوژن بافت کلیه و سقوط فیلتراسیون گلومرولی (GFR) بوده که متعاقباً منجر به احتباس فرآورده‌های زاید متابولیک (کراتینین - اوره) در سرم می‌گردد. در اثر دهیدراسیون بیش از حد، پمپ سدیم - پتاسیم از کار می‌افتد و سدیم نمی‌تواند از سلول خارج شود که در نتیجه داخل سلول مانده و آب هم به دنبال آن می‌رود و سلول متورم می‌شود. همچنین پتاسیم بالای گیاه آلوئه‌ورا باعث اختلالات ریتم قلبی و به طبع آن اختلال در عملکرد کلیه می‌شود که کم شدن آب بدن نیز یکی از علل سطح کراتینین بالا در خون است (۱۷، ۱۸). مطالعات پاتوفیزیولوژی، ایجاد هیپرتروفی در گلومرول‌ها را در گروه دریافت‌کننده آلوئه‌ورا (دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تأیید کرده است. ترکیبات قلبی، فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی گیاه (با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در کاهش التهاب مؤثر است، ولی احتمال می‌رود در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب سرکوب پاسخ ایمنی گردد. یک مکانیسم احتمالی دیگر، تخریب بافت به وسیله عصاره (با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) است که می‌تواند به علت افزایش سنتز پروتئین‌های داخل سلولی، کاهش کاتابولیسم پروتئین‌ها، افزایش در طول سلول‌ها و افزایش حجم پروتئین‌های سلولی باشد که نتیجه این اعمال، هیپرتروفی گلومرول‌ها و ایجاد گلومرولواسکلروزیس است. همچنین میزان فعالیت و تولید پروتئین‌های داخل سلولی همانند کاتپسین در اثر افزایش تولید فاکتورهای نظیر  $TNF-\alpha$  و آنژیوتانسین II، کاهش قابل ملاحظه‌ای یافته و باعث هیپرتروفی گلومرول‌ها و بافت کلیه می‌شود (۲۱). کاهش عملکرد تعدادی از نفرون‌ها نیز موجب هیپرتروفی سایر نفرون‌های باقیمانده می‌گردد. در واقع غلظت‌های بالا، نوعی استرس و اثر تخریبی را باعث می‌شوند. Heid و همکاران، تجویز لیپوپلی‌ساکارید آلوئه‌ورا را که یک محرک ایمنی است در غلظت بالا باعث سرکوب پاسخ ایمنی و ایجاد استرس دانستند.

از طرفی، احتمال می‌رود ایجاد گلومرول، اسکروزیس و افزایش ضخامت غشای پایه گلومرول در غلظت‌های بالای عصاره، به دلیل غلظت پلی‌ساکارید بالای گیاه و پیشبرد سنتز اجزای غشای پایه مانند فیبرونکتین، کلاژن و لامینین باشد (۲۱)، که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت. علت بالا رفتن اوره و کراتینین در گروه آسمی را نیز می‌توان چنین توجیح کرد که فضاهای مویرگی با تجمع سلول‌های التهابی، مسدود و رگ بسته شده و ادرار تولید نمی‌شود. بنابراین، انسداد ناشی از رسوب مواد حاجب در لوله‌ها، عملکرد گلومرول‌ها را مختل کرده که در نتیجه توانایی تولید ادرار غلیظ از دست می‌رود و اورمی ایجاد می‌شود، و در نهایت، ادرار دفعی رقیق بوده و هیچ ماده دفعی یا الکترولیتی نخواهد داشت و غلظت موادی که به وسیله کلیه دفع می‌شود (اوره - کراتینین)، کاهش یافته و برعکس، مقدارشان در سرم افزایش می‌یابد. همچنین استرس اکسیداتیو ایجاد شده با اسید استیک موجب آزادسازی رادیکال‌های آزاد می‌شود. رادیکال آزاد سوپراکسید از طریق پراکسیداسیون لیپیدی، فعال کردن فاکتور هسته‌ای کاپا-بتا، تولید پراکسی نیتريت و فعال کردن پروتئین کیناز C موجب آسیب کلیوی، تحلیل گلومرول و نکروز آن می‌شود (۲۲). اسید استیک باعث کاهش سطوح آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز (CAT)، گلوکاتایون پراکسیداز (GSH-Px) و سوپراکسید دسموتاز (SOD) می‌شود که منجر به افزایش آسیب اکسیداتیو می‌گردد. قابل ذکر است که بالا رفتن اوره، دلیل مطلق تخریب بافت کلیه نیست؛ زیرا مقدار اوره به دلایل مختلفی مثل افزایش کاتابولیسم، افزایش مصرف پروتئین و نارسایی قلبی نیز بالا می‌رود، ولی چون اسیداستیک موجب تخریب بافتی، آزادسازی رادیکال آزاد و تحلیل گلومرول می‌شود؛ این خود در بالا بردن اوره نقش به‌سزایی دارد. اسید استیک از طریق تولید ROS نیز می‌تواند باعث انقباض سلول‌های مزانشیال گلومرولی گردد و با تغییر دادن سطح تصفیه گلومرولی باعث کاهش ضریب تصفیه گلومرولی (Kf) و در نهایت، کاهش GFR شود. متعاقب کاهش GFR، کلیرنس کراتینین نیز کاهش یافته که باعث تجمع کراتینین و اوره در خون می‌شود. در مورد تأثیر تنوفیلین بر تغییرات بافتی کلیه و لوله‌های کلیوی، مطالعات کمی انجام گرفته، اما در بررسی که اخیراً توسط Cosio و

با توجه به متفاوت بودن متابولیسم در افراد مختلف ممکن است میزان مؤثر در افراد، متفاوت بوده و در برخی افراد نیز ممکن است آلئوئه‌ورا (با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) توکسیک باشد. در نتیجه، باید مطالعات گسترده‌ای در این زمینه جهت پی بردن و مقایسه تأثیرات گیاه آلئوئه‌ورا بر تغییرات بافتی کلیه و میزان فاکتورهای کلیوی صورت گیرد.

### نتیجه‌گیری

طبق نتایج این مطالعه، آلئوئه‌ورا (دوز ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم)، تنوفیلین (در هر دو دوز ذکر شده) و اسید استیک باعث ایجاد و بالا رفتن میزان اختلالات کلیوی می‌شوند، ولی آلئوئه‌ورا (دوز ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) در کاهش اختلالات ایجاد شده کلیوی در آسم مؤثر است.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی، کارشناس آزمایشگاه بیوشیمی و کارکنان مرکز پرورش و نگهداری حیوانات دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه که صمیمانه ما را در انجام این پروژه یاری نمودند نهایت تشکر را داریم.

همکاران انجام شد مشخص گردید تنوفیلین تأثیر مثبتی بر عملکرد کلیه و لوله‌های کلیوی ندارد (۲۳، ۲۴). همچنین در مطالعه اخیر، تحلیل گلوامرولی در گروه تحت تیمار با تنوفیلین مشاهده گردید. تحلیل و دژنره شدن گلوامرول منجر به افزایش فضای ادراری در نتیجه اختلال در فرآیند فیلتراسیون و افزایش حجم ادرار می‌شود. تنوفیلین در مقادیر بالا نیز موجب ایجاد ضایعات گلوامرولی و پارانشیمال کلیوی می‌شود (۲۵). مقادیر بالای تنوفیلین (دوز ۲۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) در بافت کلیه، ذخیره و موجب آزادسازی رادیکال آزاد و نکرز گلوامرول‌ها می‌شود. در واقع در این تحقیق، هم دوز ۱۰۰ و هم دوز ۲۰۰ تنوفیلین، توکسیک بوده و موجب ضایعه گلوامرولی شده است. نتایج این تحقیق نشان داد میزان تنوفیلین (دوز ۲۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) و بیماری آسم (۲۶) و دوز بالای آلئوئه‌ورا (دوز ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) هر سه باعث افزایش فاکتورهای کلیوی در سرم، ایجاد و بالا رفتن اختلالات کلیوی می‌شوند. طبق نتایج، آلئوئه‌ورا (با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) مؤثر بوده و باعث کاهش میزان کراتینین، اوره سرم و نکرز ایجاد شده در بیماری آسم می‌شود.

### References:

- Brightling CE, Symon FA, Birring SS, Bradding P, Pavord ID, Wardlaw AJ. TH2 cytokine expression in bronchoalveolar lavage fluid T lymphocytes and bronchial submucosa is a feature of asthma and eosinophilic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110(6):899-905.
- Hellings PW, Kasran A, Liu Z, Vandekerckhove P, Wuyts A, Overbergh L, et al. Interleukin-17 Orchestrates the granulocyte influx into airways after allergen inhalation in a mouse model of allergic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;28(1):42-50.
- Wagelie AL, Kavanaugh AF, Wasserman I. Biologic therapies for the treatment of asthma. *Clin Chest Med* 2006;27(1):133-47.
- Liu N, Huo G, Zhang L, Zhang X. Effect of Zingiber Officinale Rosc on lipid peroxidation in hyperlipidemia rats. *Wei Sheng Yan Jiu* 2003;32(1):22-3.
- Kuhn MA, Winston D. Herbal therapy and supplements: A scientific and traditional approach. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: LWW;2007. p. 45-89.
- Botes L, van der Westhuizen FH, Loots T. Phytochemical contents and antioxidant capacities of two Aloe greatheadii var. davyana extracts. *Molecules* 2008;13(9):2169-80.



7. Baby J, Raj SJ. Pharmacognostic and phytochemical properties of *Ficus carica* Linn – an overview. *Int J Pharm Tech Res* 2011;3(1):1-4.
8. Pinghuai L, Deli C, Jie SH. Chemical constituents, biological activity and agricultural cultivation of *Aloe Vera*. *Asian J Chem* 2013;25(12):6477-85.
9. Hamman JH. Composition and applications of *Aloe Vera* leaf gel. *Molecules* 2008;13(8):1599-616.
10. Holt MP, JU C. Mechanisms of drug-induced liver injury. *AAPS J* 2006;8(1):E48-E54.
11. Pascoe GA, Olafsdottir K, Reed DJ. Vitamin E protection against chemical-induced cell injury maintenance of cellular protein thiols as a cytoprotective mechanism. *Arch Biochem Biophys* 1987;256(1):150-8.
12. Massry SG, Glasscock RJ. Massry and Glasscock's textbook of nephrology. 4<sup>th</sup> ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 234-35.
13. Murphy SW, Barrett BJ, Parfrey PS. Contrast nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2000;11(1):177-82.
14. Erley CM, Duda SH, Rehfuss D, Scholtes B, Bock J, Müller C, et al. Prevention of radiocontrast-media-induced nephropathy in patients with pre-existing renal insufficiency by hydration in combination with the adenosine antagonist theophylline. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14(5):1146-9.
15. Adlercreutz H, Mazur W. Phyto-oestrogens and western diseases. *Ann Med* 1997;29(2):95-120.
16. Morgan DP, Roberts RJ, Walter AW, Stockdale EM. Anemia associated with exposure to lindane. *Arch Environ Health* 1980;35(5):307-10.
17. Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *J Ethnopharmacol* 2000;71(1-2):1-21.
18. Galvez M, Martín-Cordero C, López-Lázaro M, Cortes F, Ayuso MJ. Cytotoxic effect of *Plantago* spp. On cancer cell lines. *J Ethnopharmacol* 2003;88(2-3):125-30.
19. Erdem A, Gondogan NU, Usubatan A, Kilinc K, Erdem SR, Kara A, et al. The Protective effect of taurine against gentamicine-induced acute tubular necrosis in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(8):1175-82.
20. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993;57(5 Suppl):715S-724S.
21. Huttenhuis HBT, Ribeiro ASP, Bowden TJ, Bavel CV, Taverne-Thiele AJ, Rombout JHWM. The effect of oral immuno-stimulation in juvenile carp (*Cyprinus carpio* L). *Fish Shellfish Immunol* 2006;21(3):261-71.
22. Porter GA, Kremer D. Contrast-associated Nephropathy. *Clin Nephrotoxins* 1989;64:22E-26E.
23. Cosio BG, Soriano JB. Theophylline again? Reasons for believing. *Eur Respir J* 2009;34:5-6.
24. Ito K, Lim S, Caramori G, Cosio B, Chung KF, Adcock IM, et al. A molecular mechanism of action of theophylline: Induction of histone deacetylase activity to decrease inflammatory gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(13):8921-26.
25. Trachman H, Wilson D, Rao PS. The role of oxygen free radicals in the development of chronic renal failure. *Life Sci* 1992;50(24): 1877-83.
26. Ajayi OB, Odutuga A. Effect of low-zinc status and essential fatty acids deficiency on the activities of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in liver and serum of albino rats. *Nahrung* 2004;48(2):88-90.