

بررسی اثرات بیولوژیک عصاره‌ی گیاه آلوئه‌ورا (صبر زرد) بر روی

جنین‌های موش نژاد Balb/C

سارا دارابی^۱، دکتر پروین تراب زاده^۲

نویسنده‌ی مسوول: گروه زیست سلولی و تکوین، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج Torabzadeh@kiauo.ac.ir

دریافت: ۹۴/۵/۲۲ پذیرش: ۹۴/۸/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: گیاه آلوئه‌ورا از جمله گیاهانی است که به دلیل دارا بودن خواص بی‌شماری مانند خاصیت رطوبت‌زایی، ضد میکروبی، ضد قارچی، آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها استفاده می‌شود. ولی بر اساس ترکیبات موجود در این گیاه، احتمال دارد که استفاده از آن در دوران بارداری خطر آفرین باشد. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات تراتوژنیک بر روی جنین موش در طی دوران بارداری بود.

روش بررسی: در این مطالعه‌ی تجربی ۴۰ سر موش ماده نژاد Balb/C به‌طور تصادفی به چهار گروه مساوی کنترل، شم، گروه تجربی ۱ و گروه تجربی ۲ تقسیم شدند. میزان ۲/۴ گرم بر کیلوگرم از عصاره‌ی آبی گیاه آلوئه‌ورا به گروه تجربی یک، به‌صورت متوالی در روزهای ۳،۴،۵،۶ بارداری و گروه تجربی دو، به‌صورت متوالی در روزهای ۷،۸،۹،۱۰ بارداری، از طریق درون صفاقی تزریق شد. تمامی موش‌ها در روز ۱۵ بارداری تشریح شدند. بررسی نتایج به روش آماری آنالیز واریانس یک عاملی با تکرار انجام گرفت.

یافته‌ها: در گروه تجربی اول وزن جفت و جنین، CRL (طول فرق سری - نشیمنگاهی) جنین و قطر جفت کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0/001$). در گروه تجربی دوم نیز کاهش معنی‌داری در وزن جفت و جنین ($P < 0/001$) و هم‌مینطور کاهش معنی‌داری در اندازه‌ی قطر جفت وجود داشت ($P < 0/001$). ولی تفاوت معنی‌داری در CRL جنین در مقایسه با گروه کنترل دیده نشد. علاوه بر این ناهنجاری‌هایی مانند خونریزی زیر پوستی، بدن C شکل، سین داکتیلی و پولیپ در هر دو گروه تجربی مشاهده گردید.
نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های به دست آمده در این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً آلوئه‌ورا به‌عنوان یک ماده تراتوژنیک می‌تواند در دوران بارداری خطرآفرین باشد.

واژگان کلیدی: آلوئه‌ورا، بارداری، تراتوژنیک، موش Balb/C

مقدمه

آلوئه‌ورا از گیاهان پایا و متعلق به خانواده لی لی یاسه می‌باشد که در حدود ۳۶۰ گونه از آن وجود دارد و از معدود گیاهان دارویی است که معروفیت خود را برای مدت زمان طولانی حفظ کرده است (۱). گونه‌های مختلفی از آلوئه‌ورا در مناطق مختلفی از شمال آمریکا، اروپا و آسیا رویش می‌کند. معروف‌ترین گونه‌ی آلوئه‌ورا،

۱- کارشناس ارشد زیست سلولی و تکوین، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج

۲- دکترای بیولوژی جانوری، استادیار گروه زیست سلولی و تکوین، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج

تراتوژنیک عصاره‌ی آبی ژل آلوئه ورا بر روی جنین‌های موش نژاد Balb/C در طی دوران بارداری طراحی گردید.

روش بررسی

در این مطالعه ۴۰ سر موش ماده نژاد Balb/C با محدوده‌ی وزنی 26 ± 2 گرم از موسسه‌ی سرم و واکسن سازی رازی (کرج-ایران) تهیه گردید. حیوانات در شرایط استاندارد با درجه حرارت 22 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد و شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و با دسترسی آزادانه به آب و غذا در قفس‌های مجزا نگهداری شدند. کلیه‌ی اصول اخلاقی در مورد کار با حیوانات رعایت گردید. حیوانات مورد استفاده در این مطالعه به چهار گروه ده تایی (کنترل، شم، گروه تجربی ۱ و گروه تجربی ۲) تقسیم شدند.

جهت تهیه‌ی عصاره‌ی آبی، برگ گوشتی گیاه آلوئه ورا را که از استان بوشهر تهیه گردید با آب کاملاً شستشو داده و غلاف روی آن جدا شد. ژل شفاف داخل آن را خارج کرده و سپس در داخل مخلوط کن ریخته شد تا همگن شود. جهت جداسازی الیاف ماده‌ی مورد نظر در ۳۵۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ کرده و لایه رویی آن از کاغذ صافی وات من عبور داده شد و در آخر در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۵). هر چهار گروه را به مدت ۲۴ ساعت به‌منظور جفت‌گیری در مجاورت موش‌های نر قرار داده و پس از مشاهده‌ی پلاک واژنی روز صفر بارداری برای حیوان در نظر گرفته شد. گروه تجربی ۱ در روزهای ۵ و ۴ و ۳ بارداری و گروه تجربی ۲ در روزهای ۷، ۸، ۹ و ۱۰ بارداری به‌طور متوالی، $2/4$ گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی گیاه آلوئه ورا را به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند. گروه شم به‌همان حجم آب مقطر دریافت کردند و به گروه کنترل ماده‌ای تزریق نشد. تمامی موش‌ها در روز ۱۵ بارداری با کلروفورم کشته شدند و پس از تشریح، جنین‌ها و جفت‌ها خارج و توزین گردیدند. جهت ثبوت بافتی، جنین‌ها در فرمالین ۱۰ درصد

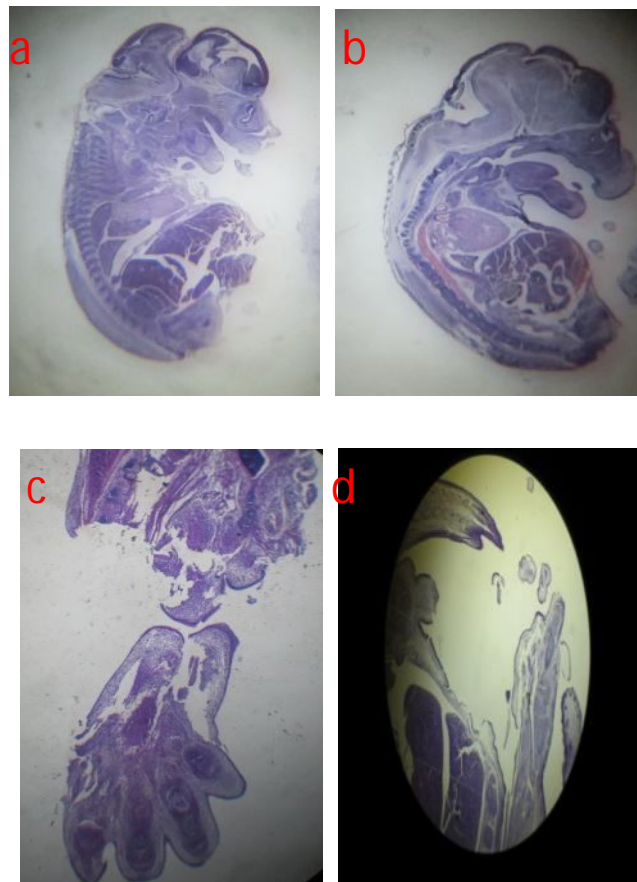
Aloe barbadensis می‌باشد که هم از نظر تجاری و هم از نظر درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲). پلی ساکاریدهای موجود در این گیاه برای بیماری‌های مختلفی مانند التهاب، زخم معده، بهبود زخم و هپاتیت مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳). این گیاه دارای خاصیت ماکروفاژی و ضد ویروسی می‌باشد (۴). در تعدادی از مطالعات خاصیت آنتی‌اکسیداتیو و ضد سمی در آلوئه ورا ثابت شده است (۵). علاوه بر این آلوئه ورا می‌تواند دارای عوارض جانبی نیز باشد. آلوئه ورا در دوزهای بالا می‌تواند باعث کاهش فعالیت دستگاه عصبی مرکزی، کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و آسیب جدی به ساختار اسپرم شود (۶). بر اساس مطالعات حیوانی انجام گرفته مصرف خوراکی آلوئه‌ورا می‌تواند باعث گسترش سرطان روده شود (۷). واکنش‌های آلرژیک، عدم بهبود در زخم‌های عمیق، آسیب به موکوس روده و اسهال در اثر استفاده از آلوئه‌ورا گزارش شده است (۸). در دوران بارداری استفاده‌ی خوراکی از آن می‌تواند باعث سقط جنین، انسداد و التهاب روده شود (۹). استفاده‌ی موضعی آلوئه ورا بر روی پوست و تماس آن با نور UV می‌تواند باعث افزایش سرطان پوست گردد (۱۰). همچنین استفاده از آن می‌تواند باعث نامنظم شدن ضربان قلب و افزایش استروئید شود (۱۱). آلكالوئیدهای موجود در آلوئه ورا ترکیبات ازته‌ای هستند که تاثیر کم و بیش مشخصی بر اعصاب مرکزی دارند و غالباً بر روی اعصاب محیطی نیز اثر می‌گذارند، اغلب دارای خاصیت سمی می‌باشند و با مقادیر بسیار کم اثرات خود را می‌توانند اعمال نمایند (۱۲). ترکیبات موجود در این گیاه باعث نگرانی در خصوص القا یا عدم القای سقط جنین، قاعدگی می‌گردد (۱۳). ساپونین‌های موجود در آلوئه ورا باعث تجزیه‌ی گلبول‌های قرمز خون می‌شوند و ممکن است به علت تجزیه کردن گلبول‌های قرمز، مهلک باشند. برخی از آنها به‌عنوان ماده‌ی اولیه جهت سنتز هورمون‌های استروئیدی و جنسی به کار می‌روند (۱۴). مطالعه‌ی حاضر به‌منظور بررسی اثرات

قرار داده شدند و مقاطع بافتی از آن‌ها برای بررسی انواع ناهنجاری‌ها به روش هماتوکسیلین-ائوزین تهیه گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و روش آماری آنالیز واریانس یک عاملی با تکرار، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

بررسی‌های ماکروسکوپی اولیه مشخص نمود که تمامی

موش‌های گروه کنترل و شم که پلاک واژنی در آن‌ها مشاهده گردیده بود باردار شدند و همه‌ی جنین‌های آن‌ها سالم بودند. اما در جنین‌های گروه تجربی ۱ انواعی از ناهنجاری‌ها مانند بدن C شکل، خونریزی زیر پوستی، سین داکتیلی، اگزوهپاتیک، بیرون‌زدگی مغز عقبی، فتق نافی، پولیپ و عدم تشکیل انگشتان مشاهده شد. در گروه تجربی ۲ تنها ناهنجاری‌هایی مانند بدن C شکل، خونریزی زیر پوستی، سین داکتیلی و پولیپ مشاهده شد (شکل ۱).



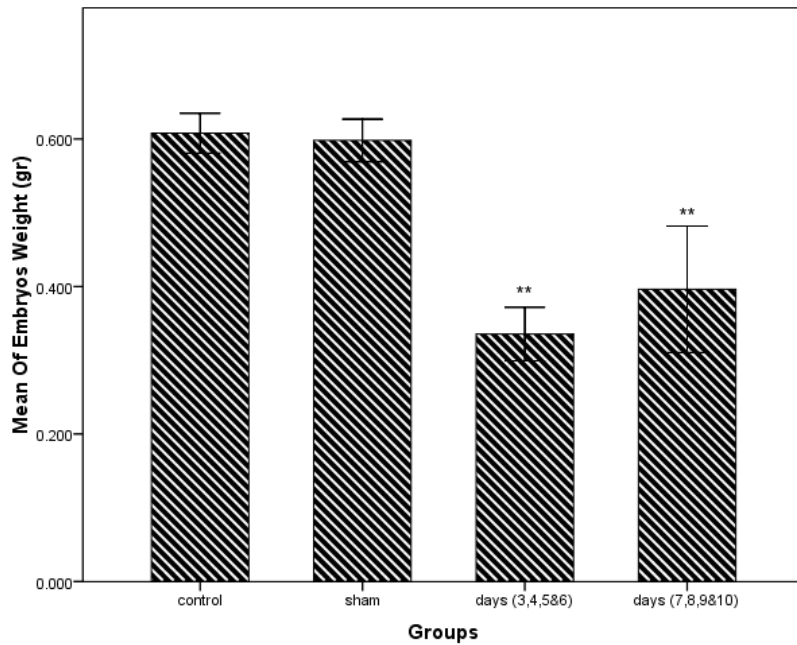
شکل ۱. *a*. اگزوهپاتیک (بیرون‌زدگی کبد) *b*. بدن C شکل *c*. سین داکتیلی (چسبندگی انگشتان) *d*. طبیعی بودن انگشتان در گروه کنترل

گروه تجربی در وزن جنین، وزن جفت و قطر جفت در

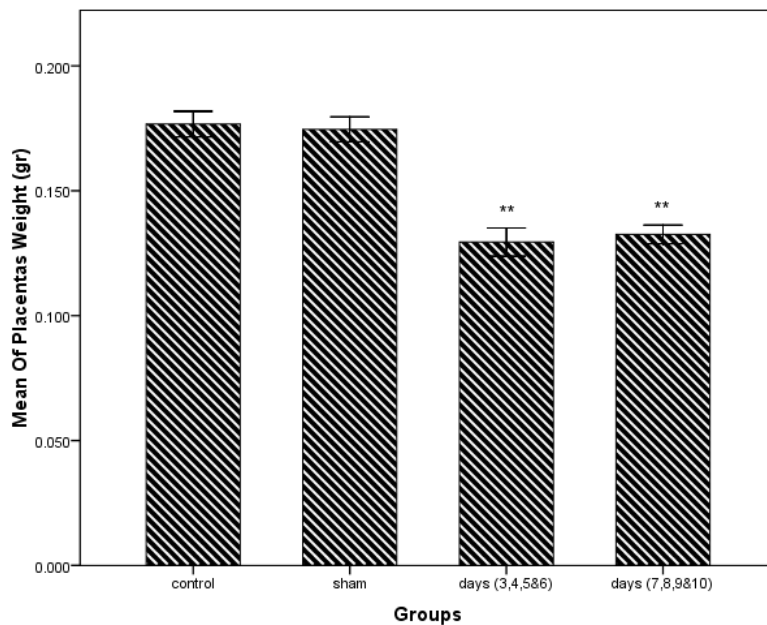
بررسی نتایج مشخص نمود که کاهش معنی‌داری در هر دو

مقایسه با گروه کنترل و شم وجود داشت ($P < 0.001$). اندازه CRL در گروه تجربی دوم تفاوت معنی داری نداشت. (نمودارهای ۴ و ۳ و ۲ و ۱).

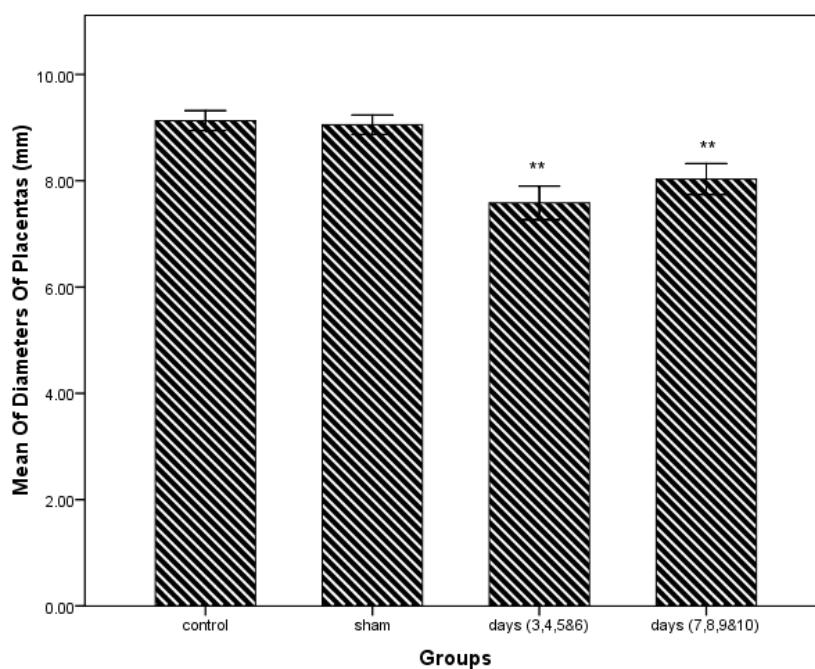
مقایسه با گروه کنترل و شم وجود داشت ($P < 0.001$). اندازه CRL در گروه تجربی اول دارای کاهش معنی دار بود.



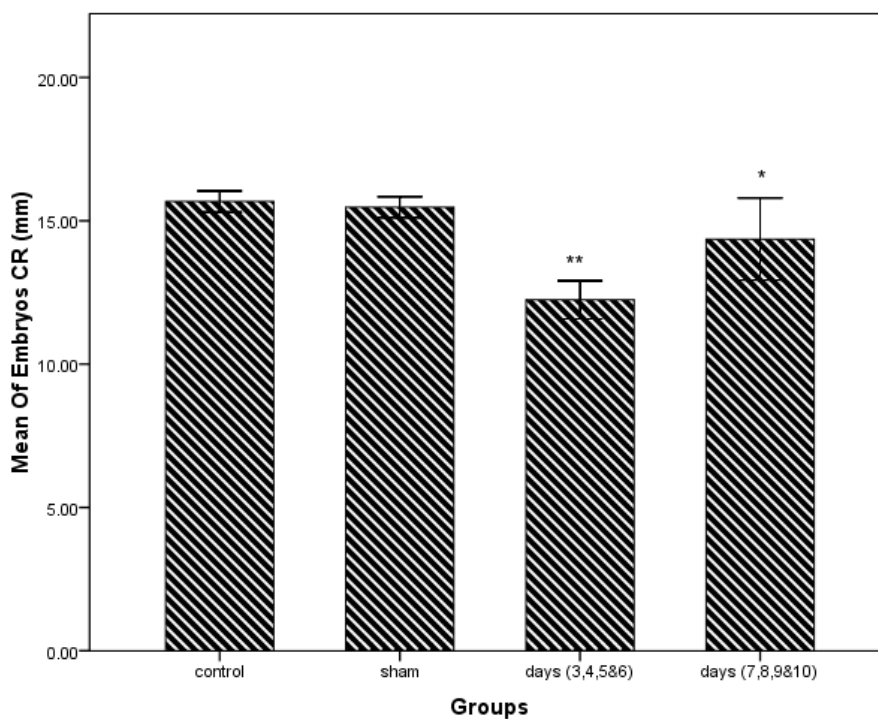
نمودار ۱: مقایسه‌ی وزن جنین‌های گروه‌های تجربی با گروه کنترل و شم



نمودار ۲: مقایسه‌ی وزن جفت‌های گروه‌های تجربی با گروه کنترل و شم



نمودار ۳. مقایسه‌ی قطر جفت‌های گروه‌های تجربی با گروه کنترل و شم



نمودار ۴. مقایسه‌ی اندازه CRL گروه‌های تجربی با گروه کنترل

بحث

بررسی‌های انجام شده نشان داد که عصاره‌ی آلوئه‌ورا می‌تواند بر روی وزن جنین و جفت تاثیر گذار باشد. این تغییرات در مراحل لانه‌گزینی (گروه تجربی ۱) نسبت به مراحل اندام‌زایی (گروه تجربی ۲) بیشتر بود که احتمالا می‌تواند به دلیل بحرانی بودن این دوران در طی بارداری باشد. جعفری و همکارانش در سال ۲۰۱۳ اعلام کردند که آلوئه‌ورا می‌تواند قند خون را کاهش دهد و موجب افزایش سلول‌های بنیادی در جنین مادران دیابتی شود. البته تغییرات وزن جنین‌های گروه کنترل و تجربی در مقایسه با تحقیق حاضر معنی‌دار نبود (۱۶). نظر به این که تاکنون تحقیقاتی پیرامون این گیاه بر روی انواع ناهنجاری‌ها در طی دوران بارداری صورت نگرفته است لذا امکان مقایسه‌ی نتایج حاضر با سایر تحقیقات وجود نداشت. اندازه‌ی CRL (طول فرق سری - نشیمنگاهی) و قطر جفت جنین‌های تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه‌های کنترل کاهش معناداری را نشان دادند. این اختلاف در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه تجربی ۲ بیشتر بود. این کاهش اندازه CRL (طول فرق سری - نشیمنگاهی) جنین‌های تجربی نشان می‌دهد که احتمالا آلوئه‌ورا بر روی هورمون رشد و غده‌ی هیپوفیزی اثر مهاری داشته است. همچنین خونریزی‌های زیر پوستی در جنین‌های تجربی نسبت به گروه‌های کنترل مشاهده شد که احتمالا نشان دهنده‌ی این است که آلوئه‌ورا از تشکیل پلاکت‌ها جلوگیری کرده در نتیجه خونریزی‌های زیر پوستی اتفاق افتاده است. مگاکاریوسیت‌ها سلول‌های مادر پلاکت می‌باشند و تمایز نیافتن آن‌ها باعث کاهش پلاکت و در نتیجه باعث خونریزی‌های زیر پوستی می‌شود. در گروه تجربی ۱ ناهنجاری‌های اگزوپاتیکی و بزرگ شدن کبد دیده شد که به علت تشکیل نشدن پرده‌ی صفافی از سینه تا انتهای ناحیه‌ی شکمی موجب بیرون زدگی کبد گردید. با مشاهده‌ی ناهنجاری در اندام حرکتی از قبیل عدم تشکیل انگشتان، می‌توان آلوئه‌ورا را نوعی تراتوژن بر رشد و

نمو اندام حرکتی معرفی نمود. بعد از این که بخش‌هایی از مزودرم سوماتیک به دلیل حضور فاکتورهای FGF10 و wnt تمایز پیدا کرده و به مزودرم اندام حرکتی تبدیل شد، این مزودرم اکتودرم سطحی را برای تشکیل ساختاری به نام برآمدگی اکتودرم راسی (AER) القا می‌کند. رشد و تمایز محور مبدایی - انتهایی جوانه‌ی اندام حرکتی توسط مجموعه‌ای از برهمکنش‌هایی که بین AER و مزانشیم جوانه اندام حرکتی که مستقیما زیر آن قرار دارد، امکان پذیر می‌گردد (۱۷ و ۱۸). احتمالا آلوئه‌ورا با تاثیر بر این فاکتورها مستقیما بر روی جنین موش در مرحله‌ی اندام‌زایی تاثیر می‌گذارد. و باعث می‌شوند که مزانشیم بین انگشتان تحلیل نرفته در نتیجه انگشتان به هم چسبیده باقی بمانند و آپوپتوزیس صورت نگیرد، چرا که مرگ سلول‌های بافت بین انگشتی در اثر آپوپتوز و به همراه قطعه‌قطعه شدن DNA در آن‌ها رخ می‌دهد (۱۹). احتمالا پیام آپوپتوز در ناحیه‌ی اتوپود توسط پروتئین‌های BMP ایجاد می‌شود. BMP2, BMP4, BMP7 همگی در مزانشیم بین انگشتی بیان می‌گردند، و ممانعت از پیام‌رسانی BMP مانع از آپوپتوز بین انگشتی می‌شود و در نتیجه ناهنجاری سین داکتیلی (چسبندگی انگشتان) اتفاق می‌افتد (۲۰ و ۲۱). ناهنجاری در اندام حرکتی از قبیل برجستگی پوستی (پولیپ) در اندام حرکتی جلویی سمت راست نشان دهنده‌ی اثر احتمالی آلوئه‌ورا بر ساختارهای بافتی این اندام‌ها است که می‌تواند دلیل بر تجمع سلول‌ها در این نواحی باشد.

نتیجه‌گیری

با مد نظر قرار دادن یافته‌های حاصل از این پژوهش در رابطه با آلوئه‌ورا می‌توان این چنین نتیجه‌گیری نمود که احتمالا آلوئه‌ورا به واسطه‌ی تقسیم و تمایز یاخته‌ای می‌تواند بر رشد کمی جنین‌ها و تمایز بعضی از یاخته‌ها تاثیر منفی داشته باشد و مستقیما بر روی جنین موش در مراحل لانه

پیشنهاد می‌شود از مصرف این گیاه در طی دوران بارداری پرهیز شود. همچنین جهت انجام تحقیقات بیشتر در آینده بررسی بر روی اووژنز و اسپرماتوژنز به سایر پژوهشگران پیشنهاد می‌گردد.

گزینی روزهای (۶ و ۴،۵،۳) بارداری و اندام‌زایی روزهای (۱۰ و ۷،۸،۹) بارداری تاثیر گذارد. اگرچه آلوئه‌ورا به‌عنوان یک گیاه دارویی می‌تواند دارای فواید بسیاری باشد اما با توجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، ممکن است باعث ایجاد ناهنجاری جنینی در دوران بارداری شود. بنابراین

References

- 1- Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian S. Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacol Rep*. 2005; 57: 90-6.
- 2- Hu Y, Xu J, Hu Q. Evaluation of antioxidant potential of aloe vera (*Aloe barbadensis Miller*) extracts. *J Agric Food Chem*. 2003; 51: 7788-91.
- 3- Kim H, Kacew S, Lee B. In vitro chemopreventive effects of plant polysaccharides (*Aloe barbadensis Miller*, *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum* and *Coriolus versicolor*). *Carcinogen*. 1999; 20: 1637-40.
- 4- Zhang L, Tizard I. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from Aloe vera gel. *Immunopharmacol*. 1996; 35: 119-28.
- 5- Hu Y, Xu J, HU Q. Evaluation of antioxidant potential of aloe vera (*Aloe barbadensis Miller*) extracts. *J Agriculture*. 2003; 51: 7788 -91.
- 6- Kosif R, Akta G, Atekin A. Microscopic examination of placenta of rats prenatally exposed to Aloe barbadensis: A preliminary study. *Int J Morphol*. 2008; 26: 275-81.
- 7- Shah AH, Qureshi S, Tariq M, Ageel AM. Toxicity studies on six plants used in the traditional Arab system of medicine. *Phytother Rea*. 1989; 3: 25-29.
- 8- Edzard E, Aloe vera. Concerted action for complementary and alternative medicine assessment in the cancer field Available from: (CAM-Cancer) www.cam-cancer.org, 2013
- 9- Yokohira M, Matsuda Y, Suzuki S, et al. Equivocal colonic carcinogenicity of *Aloe arborescens Miller var. natalensis* berger at high-dose level in a Wistar Hannover rat 2-y study. *J Food Sci*. 2009; 74: T24-30.
- 10- National Toxicology Program. Photocarcinogenesis study of Aloe vera [CAS NO. 481-72-1(Aloe-emodin)] in SKH-1 mice (simulated solar light and topical application study). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser*. 2010; 553: 1-206.
- 11- Ulbricht C, Armstrong J, Basch E, et al. An evidence-based systematic review of Aloe vera by the natural standard research collaboration. *J Herb Pharmacother*. 2007; 7: 279-323.
- 12- Saxton JE. The Alkaloids: Specialist Periodical Reports, London: The Chemical Society, 1971.
- 13- Rodriguez L, Reyes J, Burchiel S. Risks and benefits of commonly used herbal medicines in Mexico. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007; 10: 1-16.
- 14- Polosky Z, 21st Century Homestead:

Biological Pest Control, Lulu. com, 2015, p88.

15- Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 1998; 59: 195-201.

16- Jafari B, Khaksar Z, Sharifi A, Mahmoudi R. Effect of Aloe vera extract on ovaries development in during gestational age of 18 day embryo of diabetic rats. *Life Sci J.* 2013; 10: 323-327.

17- Saunders J. The proximo-distal sequence of origin of the parts of the chick wing and the role of the ectoderm. *J Exp Zool.* 1948; 129: 5-44.

18- Saunders JW, Reuss C. Inductive and axial properties of prospective wing-bud mesoderm in the chick embryo. *Dev Biol.* 1974; 38: 41-50.

19- Scott F, Gilbert. *Developmental Biology.* Sunderland, Massachusetts; 2006.

20- Zou H, Niswander L. Requirement for BMP signaling in interdigital apoptosis and a scale information. *Science.* 1996; 272: 738-41.

21- Yokouchi Y, Sakiyama J, Kameda T, et al. BMP-2/-4 mediate programmed cell death in chicken limb buds. *Development.* 1996; 122: 3725-34.

Biologic Effects of Aloe Vera Extract on Balb/C Mice Embryos

Darabi S¹, Torabzadeh P¹

¹Dept. of Biology, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran

Corresponding Author: Torabzadeh P, Dept. of Biology, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran

E-mail: Torabzadeh@kiau.ac.ir

Received: 13 Aug 2015 **Accepted:** 1 Nov 2015

Background and Objective: Aloe Vera plant is used in the treatment of many diseases due to its moisturizing, antimicrobial, antibacterial, antifungal, antiviral, antioxidant, and anti-inflammatory and other effects. However, owing to this plant's various compounds, its consumption over pregnancy may be harmful.

Materials and Methods: 2.4 g/kg of Aloe Vera extract was injected intraperitoneally to 40 mice. The first experimental group received the extract on days 3, 4, 5, 6, of pregnancy while the second experimental group received this extract on days 7, 8, 9, 10 of pregnancy. Simultaneous with these experimental groups, the control and the sham groups were considered for comparison. All mice were dissected on day 15 of pregnancy; fetuses were removed from uterus and the results were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA).

Results: In the first experimental group, the weight of the placenta and fetus, Crown-Rump of fetus and placental diameter showed significant decrease ($p < 0.001$). Likewise, in the second experimental group, there was a significant decrease in the weight of the placenta and fetus ($p < 0.001$) and in placental diameter ($p < 0.001$). There was no significant change in Crown-Rump of fetus compared to the control group. Moreover, abnormalities such as percutaneous bleeding, C-shaped body, syndactyly, and polyp were seen in both experimental groups.

Conclusion: The results of this research elicit that Aloe Vera extract can be teratogen and harmful during pregnancy.

Keywords: Aloe Vera, Pregnancy, Teratogen, Balb / C mice