

تأثیر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا بر پارامترهای اسپرما توژنز و تغییرات هیستولوژیک بیضه موش‌های صحرایی تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب

نوشین یزدانی^۱، سیدابراهیم حسینی^{۲*}، محمدامین عدالت‌منش^۳

تاریخ دریافت 1400/07/09 تاریخ پذیرش 1400/12/22

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: بیماری‌های ناشی از رژیم پرچرب و چاقی امروزه به‌عنوان معضلی برای سلامتی شناخته شده‌اند. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا بر پارامترهای اسپرما توژنز و ساختار بافتی بیضه موش‌های صحرایی تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب بود.

مواد و روش کار: در این مطالعه تجربی مداخله‌ای ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار به‌طور تصادفی در ۵ گروه کنترل، گروه شاهد تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب (H.F.D) و گروه‌های تجربی ۱ تا ۳ (گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب +۱۵۰ میلی‌گرم آلوئه‌ورا، گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب +۳۰۰ میلی‌گرم آلوئه‌ورا، گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب +۶۰۰ میلی‌گرم آلوئه‌ورا) تقسیم شدند. آمولسیون پرچرب و سه دوز آلوئه‌ورا به‌صورت خوراکی و به مدت ۶۰ روز تجویز گردید. در پایان پس از تشریح و آماده‌سازی، بافت بیضه‌ها مورد بررسی هیستوپاتولوژیک قرار گرفت و تعداد سلول‌های اسپرما توگون، اسپرما توست، اسپرما تید، سرتولی و سلول‌های لایدیگ شمارش شد. داده‌های به‌دست‌آمده توسط نرم‌افزار SPSS-20 آنالیز و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون پارامتری ANOVA و Post hoc توکی در سطح ($P \leq 0.05$) انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در گروه‌های رژیم غذایی پرچرب نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری در تعداد سلول‌های اسپرما توگون، اسپرما توست، اسپرما تید و سلول‌های لیدیگ مشاهده شد. درحالی‌که عصاره ژل آلوئه‌ورا باعث افزایش معنی‌داری در تعداد سلول‌های فوق گردید. افزایش دوز آلوئه‌ورا به mg/kg ۶۰۰ باعث بهبود بیشتر آسیب‌های بافتی در نمونه‌های هیستوپاتولوژیک شد.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که عصاره آلوئه‌ورا در موش‌هایی که از رژیم غذایی پرچرب استفاده می‌کنند، به‌طور قابل‌توجهی خطر آسیب بافتی پاتولوژیک در بیضه‌ها را کاهش و با افزایش تعداد سلول‌های جنسی، باروری را افزایش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: آلوئه‌ورا، عصاره هیدروالکلی، رژیم غذایی پرچرب، اسپرما توژنز، بیضه

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره دهم، ص ۷۳۶-۷۲۳، دی ۱۴۰۰

آدرس مکاتبه: شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست‌شناسی، تلفن: ۰۹۱۷۱۱۸۴۴۹۵

Email: ebrahim.hossini@yahoo.com

مقدمه

می‌شود که از آن جمله فشارخون بالا، دیس‌لیپیدمی و مقاومت به انسولین، کبد چرب غیرالکلی، آسیب به بیضه‌ها و ایجاد اختلال در تولیدمثل مردان و زنان است (۱). بافت چربی احشایی نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی چاقی و در اثرات بالینی آن دارد. داروهای شیمیایی که در درمان چاقی و بیماری‌های ناشی از آن استفاده می‌شود که بسیار و پرهزینه و دارای عوارض طولانی‌مدت بر دیگر ارگان‌های بدن هستند (۱). درمان‌های تهاجمی مانند جراحی نیز علاوه بر هزینه

چاقی که عموماً با افزایش چربی خون از انواع افزایش لیپید خون (Hyperlipidemia) و افزایش کلسترول خون (Hypercholesterolaemia) و افزایش تری‌گلیسیرید خون (Hypertriglyceridemia) همراه است افراد زیادی را در جوامع مختلف درگیر خود کرده است (۱). به دنبال چاقی که عموماً حاصل رژیم غذایی پرچرب و پرکالری است، بسیاری بیماری‌های دیگر ایجاد

^۱ دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

^۲ دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران (نویسنده مسئول)

^۳ دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، موسسه آموزش عالی زند شیراز، شیراز، ایران، (نویسنده مسئول)

^۴ دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

هدف این مطالعه بررسی تأثیر عصاره الکی ژل آلوئه‌ورا بر تعداد و فعالیت سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید، سرتولی و لایدیگ و ساختار بافتی بیضه موش صحرایی تغذیه‌شده در موش‌های صحرایی تغذیه‌شده با رژیم پرچرب می‌باشد.

مواد و روش کار

برای تهیه عصاره الکی گیاه آلوئه‌ورا ابتدا تعدادی از برگ‌های تازه گیاه (تهیه و به‌وسیله کارشناسان بخش گیاه‌شناسی دانشگاه شیراز نوع و گونه آلوئه‌ورا مشخص گردید. سپس برگ‌ها شسته و ژل آن‌ها خارج شد. در اتانول ۹۵٪ به ۴ برابر حجم (سه حجم اتانول یک حجم آب) رساندیم. ظرف حاوی ژل به مدت ۴ روز بر روی شیکر قرار گرفت. سپس توسط فیلتر صاف و با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخشی در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد غلیظ گردید و سرانجام در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک و پودر شد (۶،۷،۸).

حیوانات مورد آزمایش در این تحقیق تجربی شامل ۴۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار با وزن ۱۰ ± ۲۱۰ گرم بود که از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه، و مورد آزمایش قرار گرفتند. جهت تغذیه حیوانات از غذای فشرده (پلت)، تهیه‌شده از شرکت سهامی خوراک دام و طیور استفاده گردید. آب مصرفی رت‌ها، آب‌لوله‌کشی شهر شیراز بوده که در ظروف پلاستیکی مخصوص آب‌خوری موش-های صحرایی در اختیار آن‌ها قرار داده می‌شد. حیوانات مورد استفاده در قفس‌هایی از جنس ماکرولون شفاف به ابعاد ۲۰×۳۰×۵۵ سانتی‌متر با سقف مشبک از جنس استیل نگهداری شده و کف قفس‌ها توسط خاکاره و تراشه چوب پوشیده شدند. قابل‌ذکر است که تراشه‌های چوب موجود در قفس‌ها هر دو روز، یک‌بار تعویض شده و قفس‌ها با الکل و ساوون شستشو و ضدعفونی می‌شدند. درجه حرارت محیط ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۵±۳ درصد بود و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و دوره تاریکی ۱۲ ساعت فراهم شد. کف اتاق و تجهیزات موجود در آن توسط ساوون ضدعفونی می‌شد.

در این تحقیق مجموعاً از ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار استفاده که به‌طور تصادفی در ۵ گروه هشت‌تایی به‌صورت زیر تقسیم‌بندی شدند:

روش تصادفی سازی به این صورت بود که از بین ۴۰ حیوان که به‌صورت تصادفی از یک جامعه بزرگ‌تر حیوانات پرورش‌یافته در مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز

بالا عوارض و خطرات زیادی دارند. از میان اندام‌های مختلفی که تحت تأثیر این شرایط قرار می‌گیرند و آسیب می‌بینند سیستم اداری تناسلی می‌باشد که به دلیل ارتباط تنگاتنگ این دو دستگاه بخصوص در جنس نر معمولاً آسیب‌های ایجادشده هم‌زمان مطالعه می‌گردد (۳،۲).

قرن‌هاست که برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا یا صبر زرد به‌طور گسترده‌ای در کشورهای مختلف به‌عنوان دارو مصرف می‌شود. اثرات درمانی مختلفی که برای این گیاه عنوان‌شده غالباً بر اساس سابقه طب سنتی و مواد فنی و فلاونوئیدی موجود در آن می‌باشد (۴). ترکیبات موجود در آلوئه‌ورا در درجه اول گلیکوپروتئین، آنتراکینون و مواد با وزن مولکولی کم، پلی‌ساکاریدها و از بین آن‌ها تا حد زیادی گلوکومانان می‌باشند. گالاکتوز و اسید گالاکتورونیک نیز غالباً یافت می‌شوند. آنتراکینون‌های خاص آلوئه‌ورا شامل آلوین^۱، آلوئه-امودین، باربالوین^۲، ایزو باربالوین^۳، و غیره هستند. علاوه بر این، مواد با وزن مولکولی پایین مانند آلوئوسین^۴، بتاسیتوسترول^۵، دی اتیل هگزیل فتالیت^۶، ویتامین‌های B2, B1, A, C, B12, B6 و E، بتا کاروتن نیز در آن وجود دارند (۴). تاکنون تحقیقات زیادی در ارتباط با اثر آنتی‌اکسیدانی و بهبود بخشی آلوئه‌ورا در نقاط مختلف دنیا انجام شده‌است که همگی به مفید بودن این گیاه اشاره دارند. بنابراین، با توجه به مسائل ذکرشده و خواص مفید آلوئه‌ورا لازم است تا تحقیقات در زمینه اثر این گیاه دارویی بر درمان آسیب‌های ایجادشده در دستگاه تناسلی افرادی که از رژیم غذایی پرچرب دارند و یا چاق هستند انجام شود تا راهگشایی جهت کاهش عوارض داروهای شیمیایی در این بیماران و همچنین بهبود علائم بیماری در آنان باشد.

در مطالعه، واگنر و همکاران در سال ۲۰۱۶ مشخص شد که شروع زودرس چاقی تأثیر منفی بر استروئیدوزن بیضه در موش صحرایی دارد. افزایش سطح سرمی استرادیول و لپتین در هر دو گروه چاقی کوتاه‌مدت و طولانی‌مدت دیده شد و مهار بیان STAR و Cyp11a1 با سطح کم تستوسترون داخل عضلانی در موش‌های صحرایی با چاقی طولانی دیده شد. علاوه بر این، چاقی طولانی‌مدت باعث کاهش تعداد سلول‌های لیدیگ، افزایش سطح آدیپوسیتوکین پیش التهابی TNFα و تعداد ماکروفاژهای بیضه شد. چاقی طولانی‌مدت همچنین ممکن است باعث التهاب مزمن در بیضه شود و بر تولید استروئیدها (Steroidogenesis) در سلول لیدیگ تأثیر منفی بگذارد (۵).

⁴ Aloesin

⁵ β sitosterol

⁶ Diethyl hexyl phthalate

¹ Aloin

² Barbaloin

³ Isobarbaloin

به صورت تصادفی انتخاب شده‌اند، توسط یک شخص دیگر غیر از محقق اصلی (روش کور سازی) ۴۰ سر موش صحرایی در ۵ گروه ۸ تایی قرار گرفتند. به این ترتیب که به هر حیوان از ۴۰ حیوانی که خریداری شده است و بر اساس معیارهای ورود به مطالعه انتخاب شده‌اند یک شماره اختصاص داده شده است و سپس بر اساس جدول اعداد تصادفی، حیوانات در گروه‌های مختلف قرار داده شدند.

۱- گروه کنترل: بدون دریافت هیچ ماده اضافی در شرایط معمولی به مدت ۶۰ روز نگهداری شدند.

۲- گروه شاهد دریافت‌کننده پروتکل امولسیون پرچرب ((HFD): که در این گروه حیوانات هم‌حجم محلول داده شده به گروه‌های تجربی، حلال عصاره یعنی (سرم فیزیولوژی) + پروتکل امولسیون پرچرب (HFD) را به صورت گاوژ دریافت کردند.

۳- گروه تجربی ۱: تحت تیمار با غذای معمولی و پروتکل امولسیون پرچرب به مدت ۶۰ روز قرار گرفتند و هم‌زمان دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره آلوئه‌ورا به صورت (گاوژ) دریافت کردند.

۴- گروه تجربی ۲: تحت تیمار با غذای معمولی و پروتکل امولسیون پرچرب به مدت ۶۰ روز قرار گرفتند و هم‌زمان دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره آلوئه‌ورا به صورت (گاوژ) دریافت کردند.

۵- گروه تجربی ۳: تحت تیمار با غذای معمولی و پروتکل امولسیون پرچرب به مدت ۶۰ روز قرار گرفتند و هم‌زمان دوز ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره آلوئه‌ورا به صورت (گاوژ) دریافت کردند.

چگونگی تهیه و تجویز رژیم غذایی پرچرب:

پروتکل امولسیون پرچرب جهت گاوژ به موش‌های صحرایی با توجه به مطالعه‌ی و مطالعه‌ی مهردوست و همکاران در سال ۲۰۲۱ انتخاب گردید (۹).

مدت‌زمان تجویز و تیمار در گروه‌های مختلف ۶۰ روز بود. تجویز امولسیون پرچرب به وسیله گاوژ و به میزان هر بار یک سی‌سی در دو نوبت صبح و عصر انجام گرفت. جدول (۱) ترکیبات موجود در امولسیون پرچرب را نشان می‌دهد.

جدول (۱): ترکیبات امولسیون پرچرب (۹)

| | |
|---------------|--------------------|
| ۱۰ گرم | سدیم دی اکسی کولات |
| ۱۰۰ گرم | کلسترول |
| ۸۰ گرم | پودر کامل شیر |
| ۲۰۰ گرم | کربوهیدرات |
| ۴۰۰ گرم | روغن ذرت |
| ۱۵۰ گرم | ساکاروز |
| ۳۶/۴ گرم | توئین ۸۰ |
| ۳۱/۱ گرم | پروپیلن گلیکول |
| ۲/۵ گرم | مولتی‌ویتامین |
| ۱۰ گرم | نمک |
| ۱/۵ گرم | مواد معدنی مخلوط |
| ۳۰۰ میلی‌لیتر | آب مقطر |

کلیه حیوانات را با تزریق ماده کتامین بی‌هوش و بیضه‌ها خارج گردید. بعد از جداسازی اندام بیضه و ثابت نمودن آن با فرمالین ۱۰ درصد به مدت یک هفته با کمک دستگاه تیشیوپروسور (مدل meditel TBS88 ساخت کشور آلمان) و میکروتوم تمام اتوماتیک (مدل Sakura ساخت کشور هلند)، مقاطع بافتی تهیه گردید. مقاطع بافتی تهیه شده پس از رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین- اتوزین رنگ‌آمیزی و مورد ارزیابی قرار گرفتند.

از بافت بیضه تثبیت‌شده در فرمالین ۱۰ درصد با استفاده از شیوه‌های رایج، پاساژ بافت با استفاده از دستگاه Tissue Processor و تهیه مقاطع آسیب‌شناسی، برش‌های پی‌درپی با ضخامت ۵ میکرون آماده‌شده و از هر ۱۰ برش یک مقطع و در مجموع از هر نمونه ۳ مقطع با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- اتوزین تهیه گردید. سپس بررسی‌های میکروسکوپی انجام گرفت.

اعداد خام به‌دست‌آمده از شمارش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید، سرتولی، و میانگین سلول‌های لایدیگ توسط نرم‌افزار SPSS-20 به‌صورت میانگین و انحراف معیار نمایش داده شدند و پس از تأیید نرمال بودن توزیع داده‌ها با کمک آزمون کولموگراف-اسمیرنوف از طریق آنالیز

واریانس یک‌طرفه و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. معنی‌داری اختلاف داده‌ها در سطح ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. همچنین میزان بلوغ اسپرماتوژنز بر اساس اسکوربندی جانسون و بر اساس جدول زیر انجام گردید.

جدول (۲): نحوه ارزیابی بلوغ اسپرماتوژنز بر اساس اسکوربندی جانسون (۱۰)

| |
|---|
| ۱۰- اسپرم زایی کامل و توبول کامل |
| ۹- تعداد زیادی اسپرماتید دیررس ولی اپیتلیوم لوله‌ای نامرتب |
| ۸- فقط چند اسپرماتید دیررس |
| ۷- بدون اسپرماتیدهای دیررس، اما بسیاری از اسپرماتیدهای اولیه |
| ۶- چند اسپرماتید زودرس، توقف اسپرماتوژنز در مرحله اسپرماتید، اختلال در انتشار اسپرماتید |
| ۵- بدون اسپرماتید بسیاری از اسپرماتوسیت‌ها |
| ۴- تعداد کمی اسپرماتوسیت، توقف اسپرماتوژنز در مرحله اسپرماتوسیت اولیه |
| ۳- فقط اسپرم زایی |
| ۲-۲- بدون سلول زاینده، فقط سلول‌های سرتولی |
| ۱- عدم سلول زاینده یا سلول سرتولی، اسکروز توبولار |

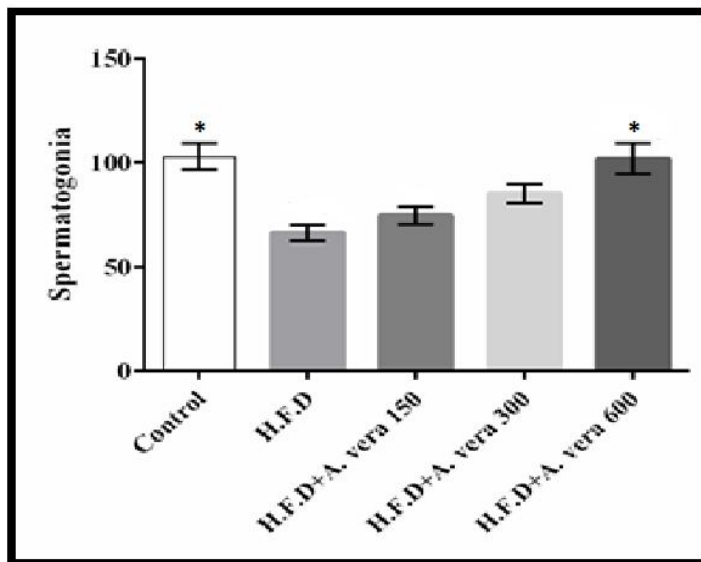
یافته‌ها

نتایج مربوط به میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی

در گروه‌های مورد بررسی:

با استفاده از آزمون پارامتری ANOVA و Post hoc توکی اختلاف معنی‌دار مربوط به میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی

در گروه‌های مختلف بررسی شد. با توجه به نمودار ۱- اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب نسبت به گروه کنترل و گروه آلوئه‌ورا با دوز (600mg/kg) در سطح ($P < 0.05$) مشاهده شد.



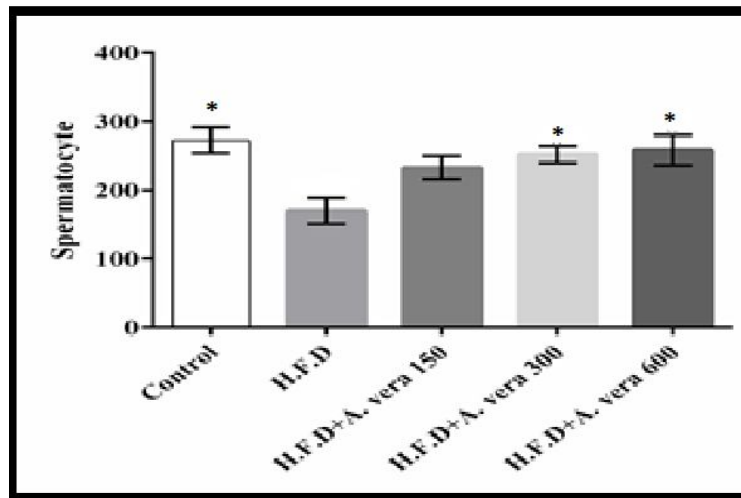
نمودار (۱): میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه‌های مورد بررسی

نتایج مربوط به میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت

در گروه‌های مورد بررسی:

با استفاده از آزمون پارامتری ANOVA و Post hoc توکی اختلاف معنی‌دار مربوط به میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت

در گروه‌های مختلف بررسی شد. اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب نسبت به گروه کنترل و گروه آلوئه‌ورا با دوز ۳۰۰ mg/kg و ۶۰۰ (P<0.05) مشاهده شد.



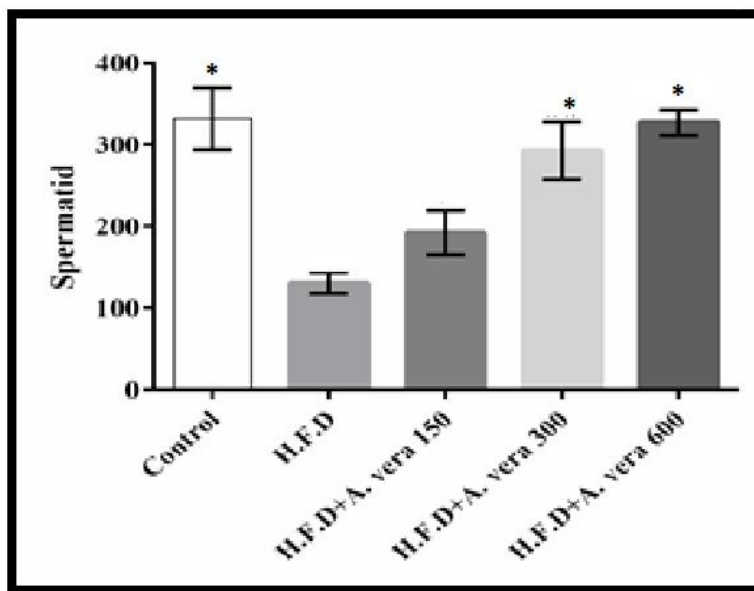
نمودار (۲): میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه‌های مورد بررسی

نتایج مربوط به میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید در

گروه‌های مورد بررسی:

با استفاده از آزمون پارامتری ANOVA و Post hoc توکی اختلاف معنی‌دار مربوط به میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید در

گروه‌های مختلف بررسی شد. اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب نسبت به گروه کنترل و گروه آلوئه‌ورا با دوز ۳۰۰ mg/kg و ۶۰۰ (P<0.05) مشاهده شد.



نمودار (۳): میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه‌های مورد بررسی

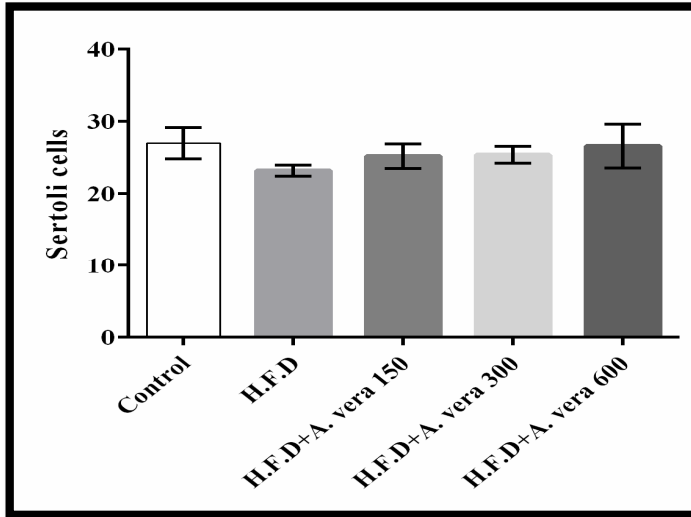
نتایج مربوط به میانگین تعداد سلول‌های سرتولی در

گروه‌های مورد بررسی:

با استفاده از آزمون پارامتری ANOVA و Post hoc توکی

اختلاف معنی‌دار مربوط به میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید در

گروه‌های مختلف بررسی شد. با توجه به نمودار ۴ تغییر معنی‌داری در میانگین سلول‌های سرتولی در گروه‌های مورد بررسی مشاهده نشد.



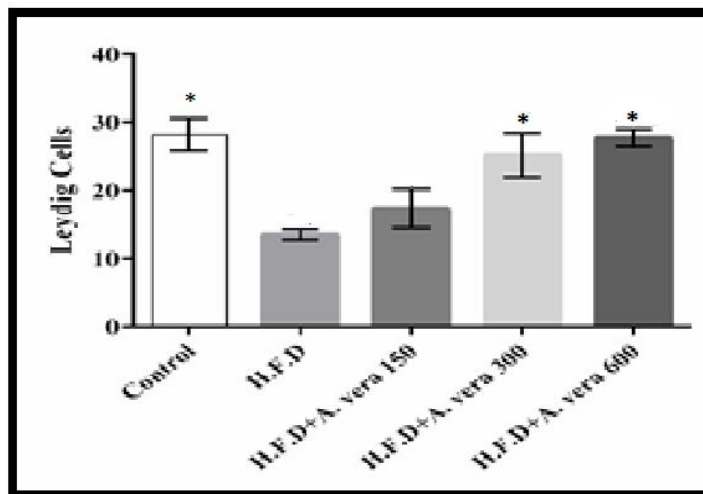
نمودار (۴): میانگین تعداد سلول‌های سرتولی در گروه‌های مورد بررسی

نتایج مربوط به میانگین سلول‌های لیدیگ در گروه‌های

مورد بررسی:

با استفاده از آزمون پارامتری ANOVA و Post hoc توکی اختلاف معنی‌دار مربوط به میانگین سلول‌های لیدیگ در گروه‌های مختلف بررسی شد. اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب نسبت به گروه کنترل و گروه آلوئه‌ورا با دوز غذایی (۳۰۰ و ۶۰۰ mg/kg) در سطح ($P < 0.05$) مشاهده شد.

در گروه‌های مورد بررسی موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار. داده‌ها به صورت "انحراف معیار \pm میانگین" رسم شده است. داده‌ها با استفاده از آزمون پارامتری ANOVA و Post hoc توکی تجزیه و تحلیل شده است. اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل دیده نشد.



نمودار (۵): میانگین تعداد سلول‌های لیدیگ در گروه‌های مورد بررسی

نتایج مربوط به ارزیابی بلوغ اسپرماتوژنز بر اساس

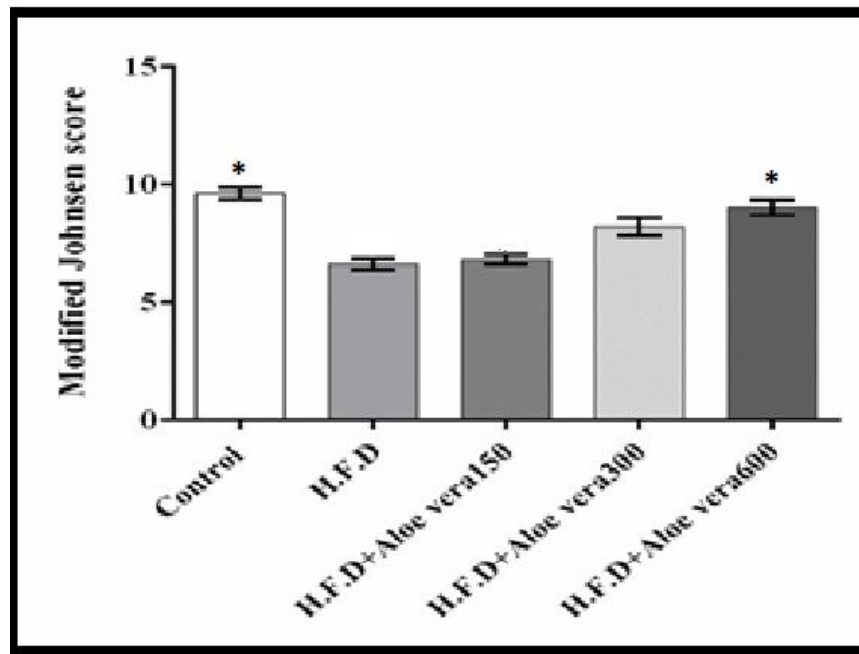
اسکوربندی جانسون در گروه‌های مورد بررسی:

با استفاده از آزمون ناپارامتری کروسکال والیس اختلاف

معنی‌دار مربوط به میانگین نمره جانسون در گروه‌های مختلف

بررسی شد. با توجه به نمودار ۶- اختلاف معنی‌دار بین گروه

دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب نسبت به گروه کنترل و گروه

آلوئه‌ورا با دوز (۶۰۰ mg/kg) در سطح ($P < 0.05$) مشاهده شد.

نمودار (۶): نتایج مربوط به ارزیابی بلوغ اسپرماتوژنز بر اساس اسکوربندی جانسون در گروه‌های مورد بررسی

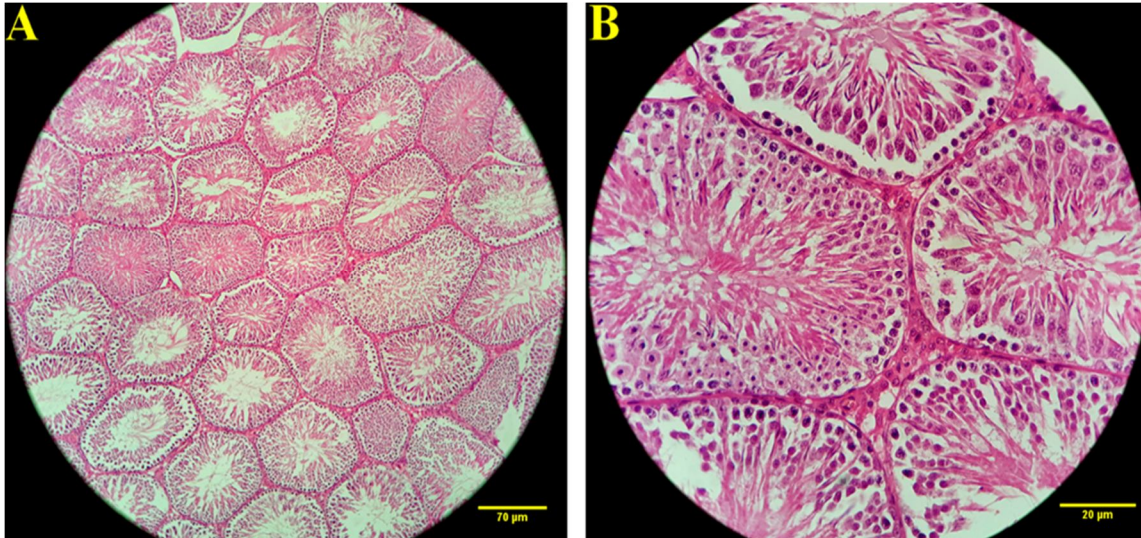
جدول (۱): نتایج مربوط به میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید، سرتولی و لایدیگ در گروه‌های مورد

| گروه | سلول‌های اسپرماتوگونی | سلول‌های اسپرماتوسیت | سلول‌های اسپرماتید | سلول‌های سرتولی | سلول‌های لایدیگ |
|-----------------|-----------------------|----------------------|--------------------|-----------------|-----------------|
| کنترل | ۱۰۲/۸±۶/۲۲* | ۲۷۲/۶±۱۹/۱۴* | ۳۳۲/۰±۳۸/۱۳* | ۲۷/۰±۲/۱۷ | ۲۸/۲±۲/۳۷* |
| H.F.D | ۶۶/۰±۳/۸۴ | ۱۶۹/۸±۱۹/۰۱ | ۱۳۰/۶±۱۲/۲۸ | ۲۳/۲±۰/۷۳ | ۱۳/۶±۰/۷۴ |
| H.F.D+A.VERA150 | ۷۴/۴±۴/۱۶ | ۲۳۲/۸±۱۶/۹۲ | ۱۹۲/۴±۲۷/۳۷ | ۲۵/۲±۱/۶۸ | ۱۷/۴±۲/۸۳ |
| H.F.D+A.VERA300 | ۸۵/۰±۴/۵۹ | ۲۵۲/۰±۱۲/۲۷* | ۲۹۲/۸±۳۴/۸۸* | ۲۵/۴±۱/۱۶ | ۲۵/۲±۳/۲۰* |
| H.FD+A.VERA600 | ۱۰۱/۸±۷/۴۲* | ۲۵۸/۴±۲۲/۲۱* | ۳۲۷/۴±۱۵/۸۱* | ۲۶/۶±۳/۰۰ | ۲۷/۸±۱/۲۴* |

داده‌ها به صورت Mean±SEM نشان داده شده است. علامت × نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب نسبت به سایر گروه‌ها در سطح ($P < 0.05$) می‌باشد.

نتایج مربوط به هیستولوژی بافت بیضه:

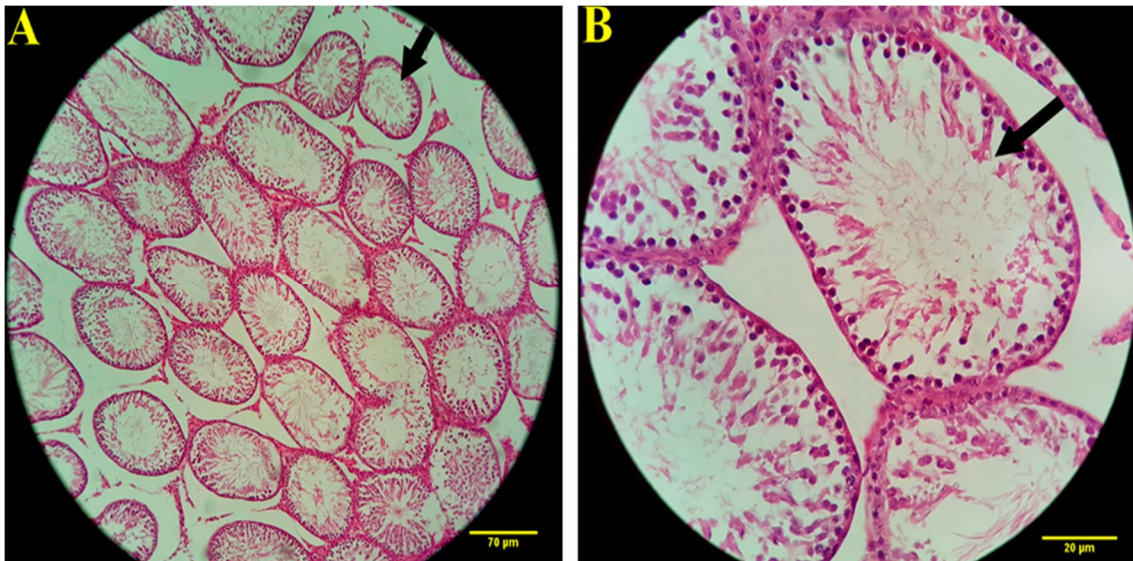
فتومیکروگراف بافت بیضه گروه کنترل:



شکل (۱): فتومیکروگراف بافت بیضه در گروه کنترل رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین - ائوزین تصاویر A، B و C به ترتیب با بزرگنمایی ۱۰۰، و ۴۰۰×

در تصویر ۱- توبول‌ها و سلول‌های زاینده طبیعی و هیچ‌گونه تغییر پاتولوژیکی مشاهده نمی‌شود و توبول‌ها مملو از سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرم می‌باشند.

فتومیکروگراف بافت بیضه گروه (HFD):

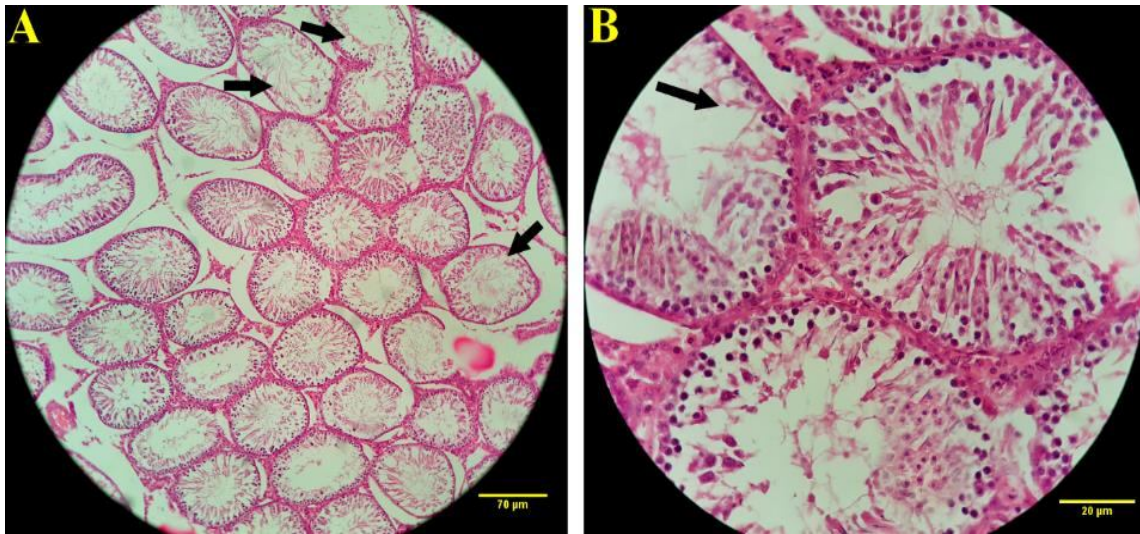


شکل (۲): فتومیکروگراف بافت بیضه در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب (H.F.D) رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین - ائوزین تصاویر A، B و C به ترتیب با بزرگنمایی ۱۰۰، و ۴۰۰×

و اسپرمیوژنز می‌باشد همچنین در فضای بینابینی کاهش تعداد سلول‌های لیدیک به‌وضوح مشخص می‌باشد.

کاهش شدید تعداد سلول‌های زاینده و وجود توبول‌های خالی از اسپرماتوزوئید (علامت پیکان) بیانگر اختلال در روند اسپرماتوژنز

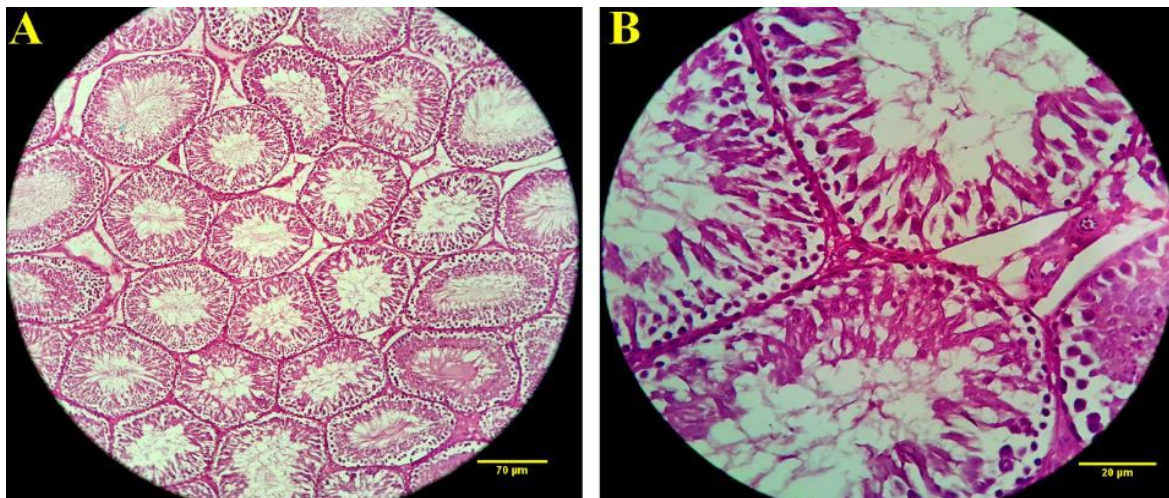
فتومیکروگراف بافت بیضه گروه (HFD) + عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا با دوز ۱۵۰ mg/kg:



شکل (۳): فتومیکروگراف بافت بیضه در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب (H.F.D) + عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا با دوز ۱۵۰ mg/kg رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین - ائوزین تصاویر A، B، و C به ترتیب با بزرگنمایی ۱۰۰ و ۴۰۰×

کاهش تعداد سلول‌های زاینده (علامت پیکان)، وجود نقاط خالی داخل توبول‌ها، نشان‌دهنده عدم تأثیر عصاره هیدروآنانلی آلوورا با دوز mg/kg ۱۵۰ بر بافت بیضه می‌باشد.

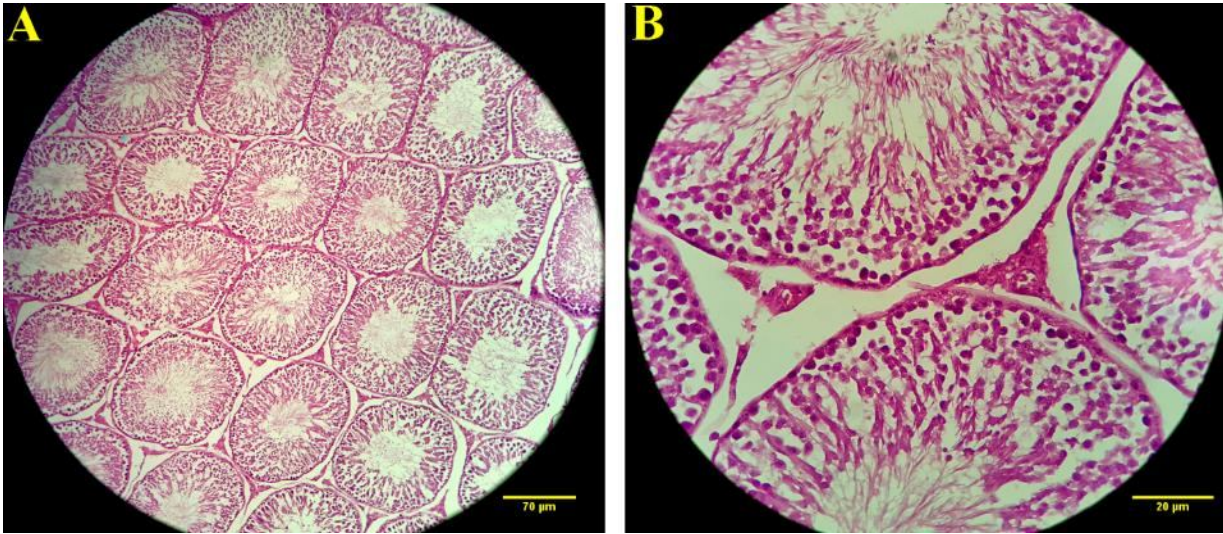
فتومیکروگراف بافت بیضه گروه (HFD) + عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا با دوز 300 mg/kg:



شکل (۴): فتومیکروگراف بافت بیضه در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب (H.F.D) + عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا با دوز mg/kg ۳۰۰ رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین - ائوزین تصاویر A، B، و C به ترتیب با بزرگنمایی ۱۰۰ و ۴۰۰×

در این گروه از ضایعات میکروسکوپی کاسته شده و روند اسپرماتوژنز تا حدودی نرمال به نظر می‌رسد.

فتومیکروگراف بافت بیضه گروه (HFD) + عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا با دوز 600 mg/kg:



شکل (۵): فتومیکروگراف بافت بیضه در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب (H.F.D) + عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا با دوز 600 mg/kg رنگ‌آمیزی شده با همتوکسیلین - اتوزین تصاویر A، B و C به ترتیب با بزرگنمایی ۱۰۰ و ۴۰۰×

در این گروه افزایش تعداد سلول‌های زاینده و نرمال شدن روند اسپرماتوزن و همچنین کاهش چشمگیر چروکیدگی لوله‌های اسپرم‌ساز نسبت به گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب مشاهده می‌شود. بنابراین عصاره هیدروالکلی گیاه آلوئه‌ورا با دوز حداکثر از تخریب سلول‌های زاینده جلوگیری کرده است.

بحث

شدن روند اسپرماتوزن و همچنین کاهش چشمگیر چروکیدگی لوله‌های اسپرم‌ساز نسبت به گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب مشاهده شد. بنابراین عصاره هیدروالکلی گیاه آلوئه‌ورا با دوز حداکثر از تخریب سلول‌های زاینده جلوگیری نموده است. در راستای مطالعاتی که در مورد تأثیر رژیم پرچرب بر دستگاه ادراری و تناسلی انجام در راستای مطالعاتی که در مورد تأثیر رژیم پرچرب بر دستگاه ادراری و تناسلی انجام دادیم در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۲۰ انجام شد مشخص گردید HFD به همراه نانو ذرات سیلیکا می‌تواند باعث کاهش میزان تحرک و غلظت اسپرم و افزایش نرخ اسپرم غیرطبیعی شوند همچنین باعث آسیب به ساختار بیضه، کاهش تعداد اسپرماتوگونوئوم و تعداد اسپرماتوبلاست، کاهش میزان ATP و تأثیر در عوامل تنظیم‌کننده میوز در بیضه شوند که این یافته با مطالعه ما هم‌خوانی دارد (۱۱).

در سال ۲۰۱۹ گالارزا و همکاران تأثیر اضافه‌وزن مادر بر بلوغ جنسی فرزندان نر در موش صحرایی بررسی کردند و مشخص شد فرزندان مادران تغذیه‌شده با غذای چرب تعداد اسپرماتوزوئید و سلول‌های لیدیک کمتر و همچنین تعداد کمتری سلول اسپرماتوگونوئوم و سرتولی نسبت به گروه کنترل دارند. علاوه بر این، تعداد کمتری از سلول‌های اسپرم را با مورفولوژی طبیعی و تحرک

نتایج این مطالعه نشان داد که رژیم غذایی پرچرب باعث کاهش معنی‌داری در میانگین سلول‌های اسپرماتوگونوئوم و اسپرماتوسیت و اسپرماتید و سلول‌های لیدیک در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب (H.F.D) نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید. درحالی‌که عصاره ژل آلوئه‌ورا باعث افزایش معنی‌داری در میانگین سلول‌های اسپرماتوگونوئوم و اسپرماتوسیت و سلول‌های لیدیک در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب همراه با آلوئه‌ورا نسبت به گروه رژیم غذایی پرچرب شد. همچنین نتایج هیستوپاتولوژیک در این مطالعه نشان داد که رژیم غذایی پرچرب باعث بروز ضایعات میکروسکوپی در ساختار بافتی بیضه می‌شود. در فتومیکروگراف بافت بیضه در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب کاهش شدید تعداد سلول‌های زاینده و وجود توپول‌های خالی از اسپرماتوزوئید بیانگر اختلال در روند اسپرماتوزن و اسپرمیوزن می‌باشد. بعلاوه چروکیدگی شدن توپول‌ها، احتقان و پرخونی و کاهش تعداد سلول‌های زاینده، وجود نقاط خالی داخل توپول‌ها نشان‌دهنده آسیب به بافت بیضه می‌باشد. درحالی‌که در فتومیکروگراف بافت بیضه در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب + عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا با دوز ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم افزایش تعداد سلول‌های زاینده و نرمال

زخم استفاده می‌شود. سایر اثرات آلوئه‌ورا، اثرات کاهش‌دهنده چربی، فشارخون، ضد دیابت، ضد چاقی و محافظت از قلب است (۱۹). احتمالاً به دلیل همین خصوصیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی است که پس از مصرف دوزهای آلوئه‌ورا کاهش و بهبود آسیب‌های بافتی ناشی از التهاب در نمونه‌های مورد آزمایش دریافت‌کننده عصاره آلوئه‌ورا در مطالعه حاضر مشاهده شد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که رژیم غذایی پرچرب کاهش معنی‌داری در میانگین سلول‌های اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت و اسپرماتید و سلول‌های لایدیگ در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب (H.F.D) نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید. درحالی‌که عصاره ژل آلوئه‌ورا باعث افزایش معنی‌داری در تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت و اسپرماتید و سلول‌های لایدیگ در بیضه ایجاد کرد. و در تعداد سلول‌های سرتولی تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد.

پیشنهادهایی جهت مطالعات آینده:

ما در این مطالعه موفق به ارزیابی همه موارد و اثرات عصاره آلوده‌ورا بر دستگاه تناسلی ادراری نشدیم از این جهت بررسی موارد زیر را به سایر محققین پیشنهاد می‌کنیم.

- بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک عصاره هیدروآتانی آلوئه‌ورا بر فراساختار سلول‌های کلیه در موش‌های صحرایی تحت تیمار با رژیم غذایی پرچرب توسط میکروسکوپ الکترونی
- بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک عصاره هیدروآتانی آلوئه‌ورا بر فراساختار سلول‌های بیضه در موش‌های صحرایی تحت تیمار با رژیم غذایی پرچرب توسط میکروسکوپ الکترونی
- بررسی اثرات عصاره هیدروآتانی آلوئه‌ورا بر بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در موش‌های صحرایی تحت تیمار با رژیم غذایی پرچرب

تشکر و قدردانی

پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حمایت از حیوانات تنظیم و در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی شیراز تحت شماره IR.IAU.SHIRAZ.REC.1399.016 به تصویب رسید. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز به جهت تأمین هزینه‌های مالی طرح تقدیر و تشکر نمایند.

اسپریم به نمایش گذاشتند و تغییراتی در اپیتلیوم اسپرم‌ساز و روند اسپرماتوژنیک دیده شد. این نتایج نشان می‌دهد که اضافه‌وزن مادر به‌شدت بر توانایی تولیدمثل فرزندان پسر تأثیر می‌گذارد، که احتمالاً منجر به شرایط ناباروری و کاهش زودرس دوره تولیدمثل می‌شود بررسی بر نمونه‌های بافتی گروه (HFD) در مطالعه حاضر نیز گویای همین مطلب است (۱۲).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۶ انجام گرفت مشخص شد اسیدهای چرب رژیم غذایی بر کیفیت و عملکرد اسپرم تأثیر می‌گذارند. استفاده از یک رژیم غذایی پرچرب، با اختلال در متابولیسم انرژی گامت، باعث کاهش کیفیت اسپرم می‌شود. اما مکمل اسیدهای چرب مانند روغن زیتون و روغن کرپل^۱ در رژیم غذایی در تعدیل متابولیسم انرژی اسپرم و به‌نوبه خود در بهبود کیفیت اسپرم در موش‌هایی بود که از رژیم غذایی پرچرب استفاده می‌کردند تأثیر مثبت داشت (۱۳).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۸ توسط راهویی و همکاران انجام گردید مشخص شد تجویز ژل آلوئه‌ورا با ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در روز از تجمع بافت چربی جلوگیری کرده و دیس لیپیدی و استرس اکسیداتیو را اصلاح می‌کند. در نتیجه، آلوئه‌ورا از طریق نقش محافظتی در برابر تغییرات متابولیکی مرتبط با چاقی و اثرات آنتی‌اکسیدانی، تجمع چربی را کاهش داد. عصاره ژل آلوئه‌ورا در فعال‌سازی لیپولیز چربی و پیشگیری از تغییرات متابولیکی مرتبط با چاقی، پتانسیل زیادی دارد (۱۴، ۱۹).

در افراد چاق مبتلا به دیابت، کمپلکس آلوئه‌ورا باعث کاهش وزن بدن، کاهش توده چربی بدن و کاهش مقاومت به انسولین می‌شود (۱۸).

این اثرات مفید گیاه آلوئه‌ورا مربوط به ترکیب اسمانان^۲ است که توسط باکتری‌های روده تخریب و به شکل الیگوساکاریدها در می‌آید که مانع جذب گلوکز روده می‌شود (۱۵). علاوه بر این، چند مطالعه نشان داد که گروه‌های استیل از اسمانان عمدتاً نه‌تنها مسئول برای برهمکنش این ترکیب با مولکول‌های دیگر زیستی هستند، بلکه در فعال کردن انتقال از دیگر ترکیبات فعال زیستی در سراسر اپیتلیوم روده و افزایش جذب آب آن‌ها در روده کاربرد دارند (۱۵-۱۷).

برگ‌هایی آلوئه‌ورا حاوی غلظت بالایی از ترکیبات آنتراکینون و ژلی شفاف هستند. این ژل به‌عنوان غذایی با چندین خاصیت مفید از جمله ضدالتهاب، آنتی‌اکسیدان، ضدویروس، ضد باکتری و ترمیم

² Acemannan

¹ - krill oil

۱- کرپل نامی است که به راسته Euphausiace از سخت پوستان اطلاق می‌شود که ظاهری همچون میگو دارند.

References

- Lu YC, Sudirman S, Mao CF, Kong ZL. Glycoprotein from *Mytilus edulis* extract inhibits lipid accumulation and improves male reproductive dysfunction in high-fat diet-induced obese rats. *Biomed Pharmacother* 2019;109:369-76.
- Higuera-H.F, Reyes-C.E, Gutiérrez-M.M, Budde H, Blanco-C.C, Veras A, et al. Blueberry intake included in hypocaloric diet decreases weight, glucose, cholesterol, triglycerides and adenosine levels in obese subjects. *J Funct Foods* 2019; 60: 103-11.
- Hirako S, Wada N, Kageyama H, Takenoya F, Izumida Y, Kim H, et al. Autonomic nervous system-mediated effects of galanin-like peptide on lipid metabolism in liver and adipose tissue. *Sci Rep* 2016; 6: 21-8.
- Arosio B, Gagliano N, Fusaro LM, Parmeggiani L, Tagliabue J, Galetti P, et al. Aloe-Emodin quinone pretreatment reduces acute liver injury induced by carbon tetrachloride. *Pharmacol Toxicol* 2000; 87(5): 229-33.
- Wagner IV, Klötting N, Atanassova N, Savchuk I, Spröte C, Kiess W, et al. Prepubertal onset of obesity negatively impacts on testicular steroidogenesis in rats. *Mol Cell Endocrinol* 2016; 437: 154-62.
- Chahardoli M, Mahmoodi M, Hajizadeh M, Khoramdel Azad H, Khoshdel A, Mirzaei M. Effect of Aloe Vera Hydroalcoholic Extract on Blood Glucose, Serum Insulin and the Key Enzymes in Metabolic Pathways of Glycolysis and Gluconeogenesis in Hepatocytes of Type 1 Diabetic Rats. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2015; 13 (8):669-82
- Tanoomand S, Hosseini E, Edalatmanesh A. Investigating on Protective Effect of Aloe vera Alcoholic Extract Gel on Serum Levels of Interleukin-1, Interferon Gamma and TGF- β in Experimental Rat Models with Multiple Sclerosis. *Electronic Journal of General Medicine* 2019;16(2):em122.
- Yazdani N, Hosseini S E. Protective effect of hydro-alcoholic extract of Aloe Vera gel on enzymes and liver tissue structure of high-fat diet rats. *J Gorgan Univ Med Sci* 2018; 20 (2):48-54.
- Mehrdoost S, Yaghmaei P, Jafary H, Ebrahim-Habibi A. The therapeutic effects of berberine plus sitagliptin in a rat model of fatty liver disease. *Iran J Basic Med Sci* 2021;24(4):451-9.
- Johnsen S G. Testicular biopsy score count—a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1970; 1(1): 2-25.
- Zhang L, Wei J, Duan J, Guo C, Zhang J, Ren L, et al. Silica nanoparticles exacerbates reproductive toxicity development in high-fat diet-treated Wistar rats. *J Hazard Mater* 2020; 384: 121-36.
- Galarza RA, Rhon-Calderón EA, Bizzozero M, Meneghini MA, Cortez AE, Lux-Lantos VA, et al. Impact of maternal overweight on the sexual maturity of male offspring in rats. *J Nutr Biochem* 2019;71: 27-34.
- Ferramosca A, Moscatelli N, Di Giacomo M, Zara V. Dietary fatty acids influence sperm quality and function. *Andrology* 2017; 5(3): 423-30.
- Rahoui W, Merzouk H, El Hacı E, Bettioui R, Azzi R, Benali M. Beneficial effects of Aloe vera gel on lipid profile, lipase activities and oxidant/antioxidant status in obese rats. *J Funct Foods* 2018;48: 525-32.
- Chokboribal J, Tachaboonyakiat W, Sangvanich P, Ruangpornvisuti V, Jettanacheawchankit S, Thunyakitpisal P. Deacetylation affects the physical properties and bioactivity of acemannan, an extracted polysaccharide from Aloe vera. *Carbohydr Polym* 2015; 133: 556-66.
- Sharma K, Mittal A, Chauhan N. Aloe Vera as Penetration Enhancer. *Int J Drug Dev Res* 2015; 7: 31-43.
- Minjares-Fuentes R, Rodríguez-González VM, González-Laredo RF, Eim V, González-Centeno MR, Femenia A. Effect of different drying procedures on the bioactive polysaccharide acemannan from Aloe

- vera (*Aloe barbadensis* Miller). *Carbohydr Polym* 2017; 168: 327–36.
18. Tada A, Misawa E, Tanaka M, Saito M, Nabeshima K, Yamauchi K, et al. Investigating Anti-Obesity Effects by Oral Administration of Aloe vera Gel Extract (AVGE): Possible Involvement in Activation of Brown Adipose Tissue (BAT). *J Nutr Sci Vitaminol* 2020; 66(2): 176–84.
19. Shakib Z, Shahraki N, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Aloe vera as an herbal medicine in the treatment of metabolic syndrome: A review. *Phytother Res* 2019;33(10):2649-60.

THE EFFECT OF ALOE VERA HYDROALCOHOLIC EXTRACT ON SPERMATOGENESIS PARAMETERS AND HISTOLOGICAL CHANGES IN THE TESTIS OF RATS FED WITH A HIGH-FAT DIET

Nooshin Yazdani¹, Seyed Ebrahim Hossini^{2,3*}, Mohammad Amin Edalatmanesh⁴

Received: 01 October, 2021; Accepted: 13 March, 2022

Abstract

Background & Aims: Diseases caused by high-fat diets and obesity are now recognized as a health problem. The aim of this study was to evaluate effect of aloe Vera hydroalcoholic extract on spermatogenesis parameters and tissue structure of testis of rats fed with a high-fat diet.

Materials & Methods: 40 adult male Wistar rats were randomly divided into 5 groups (control group (Con), control group fed with a high-fat diet (HFD), and experimental groups 1 to 3 (HFD +150 mg aloe Vera, HFD +300 mg aloe Vera, and HFD + 600 mg aloe Vera). High-fat emulsion and three doses of aloe Vera were administered orally for 60 days. Finally, after dissection and preparation, testicular tissue was examined histopathologically. The number of spermatogonia, spermatocytes, spermatids, Sertoli, and Leydig cells was counted. Data were analyzed by SPSS software and the means were compared using ANOVA and Post hoc Tukey's test at 0.05%.

Results: The results showed a significant decrease in mean of spermatogonia, spermatocytes, spermatids, and Leydig cells in the group receiving a high-fat diet (HFD) compared to the control group. Aloe Vera extract significantly increased the number of sex cells in the testis. Increasing the dose of aloe Vera to 600 mg/kg further improved histopathological tissue damage.

Conclusion: The results of study showed that the hydroalcoholic extract of aloe Vera in mice fed with a high-fat diet significantly reduces the risk of pathological tissue damage in testes and increases fertility by increasing the number of sex cells.

Keywords: Aloe Vera, hydroalcoholic extract, High fat diet, Spermatogenesis, testis

Address: Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Tel: +987136392346

Email: ebrahim.hossini@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2022; 32(10): 736 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2021 Studies in Medical Sciences

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

¹ PhD candidate, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

² Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran (Corresponding Author)

³ Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Zand Institute of Higher Education, Shiraz, Iran (Corresponding Author)

⁴ Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran