

بررسی ریزبینی عصاره آلوئه ورا روی لایه گیرنده نور بعد از مسمومیت با متانول

محمد رضا بهرامیان^۱، علی امیری^۲، علی زارع نژاد^۱، مهدی مردخوشنود^۱، الهام زارع نژاد^۱، آرش اسفندیاری^{۳*}

^۱ مرکز تحقیقات بیماری‌های غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران، ^۲ گروه دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران، ^۳ گروه علوم پایه دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۵/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: لایه گیرنده نور قسمت مهمی از شبکیه چشم است. آلوئه ورا دارای اثرات آنتی اکسیدانی، آنتی باکتریالی و ضد دیابتی است. هدف از این مطالعه، بررسی ریزبینی لایه گیرنده نور در موش‌های صحرایی نر تحت تأثیر مسمومیت با متانول و اثرات جلوگیری کننده عصاره آلوئه ورا بر مسمومیت با متانول بود.

روش بررسی: این مطالعه تجربی بر روی ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در سه گروه ۱۰ تایی؛ کنترل، مسمومیت با متانول و مسمومیت با متانول و دریافت کننده دهانی عصاره آلوئه ورا به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۳۰ روز، انجام شد. مسمومیت با متانول به وسیله تزریق داخل صفاقی متانول به میزان ۴ گرم بر کیلوگرم به مدت ۳۰ روز انجام گرفت. در پایان آزمایش، چشم‌ها خارج شده و شبکیه چشم نزدیک به دیسک بینایی جدا شده و در گلوتر آلدئید ۴ درصد غوطه ور شد. بافت شبکیه با بافر شستشو و در اسمیوم تتراکسید ۱ درصد ثابت شده و در درجات مختلف الکل آبیگری شدند. سپس، بافتها در مخلوط پروپیلن اکساید و رزین قرار گرفته و در رزین خالص قالب‌گیری شدند. بعد، از قالب‌ها برش‌های نیمه نازک و نازک تهیه و به وسیله میکروسکوپ‌های الکترونی ترانس میشن و نوری مطالعه شدند. داده‌ها با آزمون‌های آماری آنوای یک طرفه و توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج، کاهش آشکار اثرات پاتولوژیک در گروه آلوئه ورا - متانول در مقایسه با گروه مسمومیت با متانول را نشان داد. فقدان قطعه خارجی، واکوئله شدن زیاد در قطعه داخلی و هسته‌های تیره و پیکنوز در گروه مسمومیت با متانول دیده شدند. اما، فقدان محدود قطعه خارجی، واکوئله شدن کم در قطعه داخلی و هسته‌های تیره در گروه آلوئه ورا - متانول مشاهده گردید. مشاهدات مورفومتریک نشان داد که ضخامت لایه گیرنده نور در گروه مسمومیت با متانول کاهش داشته و در گروه آلوئه ورا - متانول کاهش خیلی کمی داشته است. کاهش ضخامت این لایه در گروه مصرف کننده متانول دارای اختلاف معنی دار با گروه کنترل بود، اما در گروه آلوئه ورا - متانول کاهش ضخامت لایه گیرنده نور نسبت به گروه کنترل فاقد اختلاف معنی دار بود.

نتیجه‌گیری: این مشاهدات نشان داد که متانول باعث آسیب به لایه گیرنده نور شده و آلوئه ورا می‌تواند آسیب به لایه گیرنده نور را بهبود دهد.

واژه‌های کلیدی: لایه گیرنده نور، متانول، آلوئه ورا

* نویسنده مسئول: آرش اسفندیاری، کازرون، گروه علوم پایه دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

Email: esfandiari.arash@gmail.com

مقدمه

متانول الکلی است بی‌رنگ با بوی خاص که به نام الکل چوب شناخته می‌شود. این الکل در ترکیب‌های حلال رنگ، ورنی، مایع ضد یخ و پاک‌کننده حفاظ‌های شیشه‌ای و ده‌ها ترکیب دیگر مورد استفاده دارد. متانول در مقدار کم، ولی قابل توجهی در مشروبات الکلی یافت می‌شود که بعد از مصرف زیاد این مواد، سطح خونی قابل تشخیصی از متانول به دست می‌آید. خطر مسمومیت با متانول از طریق خوراکی، استنشاقی و پوستی وجود دارد. چشم یکی از اعضای مهم بدن می‌باشد، که عمل دیدن به عهده این عضو بوده و شبکه‌ی نقش مهمی در سیستم بینایی دارد. شبکه‌ی شامل چندین لایه از جمله؛ لایه رنگدانه‌ای شبکه‌ی، لایه سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی، غشای محدود کننده خارجی، لایه هسته‌ای خارجی، لایه شبکه‌ای خارجی، لایه هسته‌ای داخلی، لایه شبکه‌ای داخلی، لایه سلولی گانگلیونی، لایه الیاف عصبی بینایی و غشای محدود کننده داخلی است. در این میان بخش بینایی شبکه‌ی، دو نوع سلول گیرنده نور به نام سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی دارد. آلوئه ورا گیاهی از خانواده لیلیاسه و دارای ۴۰۰ گونه است (۱). ژل این گیاه حاوی آمینو اسیدها، آنتراکینون‌ها^(۱)، آنزیم‌ها، هورمون‌ها، لیگنین‌ها^(۲)، اسیدهای چرب، ساپونین‌ها، استرون‌ها، پلی‌ساکاریدها، انواع ویتامین‌ها و پروتئین‌ها است. همچنین تحقیق‌های متعددی در مورد کاربرد آن در درمان انواع بیماری‌ها انجام شده است (۲-۷). از

مهم‌ترین خواص آلوئه‌ورا می‌توان به خاصیت ضد‌تومور (۸)، ضد‌قارچ (۹)، ضد‌التهاب (۱۰)، ضد‌زخم (۱۱)، ضد‌دیابت (۱۲)، خاصیت تحریک‌کنندگی (۱۳)، خاصیت آنتی‌باکتریال (۱۴)، آنتی‌اکسیدان (۱۵) و تقویت‌کننده سیستم دفاعی بدن (۱۶)، اشاره کرد. آلوئه‌ورا سبب کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بدن می‌شود (۱۷). همچنین دفاع طبیعی بدن را در برابر استرس‌های اکسیداتیو به وسیله افزایش در مقدار و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی طبیعی بدن مثل کاتالاز کبیدی، سوپراکسید دیسموتاز^(۳) و گلوکز ۶ فسفات دی‌هیدروژناز بالا می‌برد (۱۸). اثرات تخریبی متانول در چشم ایجاد دوبینی، ترس از نور، احساس دیدن طوفان برفی، تاری دید، کاهش میدان بینایی و کوری می‌باشد (۱۹). همچنین محققان اعلام کردند که متانول باعث افزایش اسید فرمیک شده و این ماده به نوبه خود از فعالیت میتوکندریها جلوگیری کرده و ایجاد اکسیداتیو استرس می‌کند (۲۰). به علاوه موری و همکاران با مطالعه ریزبینی شبکه‌ی چشم تحت تأثیر متانول بیان کردند که تخریب و تورم میتوکندری‌ها در لایه گیرنده نور اتفاق افتاده و سبب ایجاد اکسیداتیو استرس می‌شود (۲۱). از طرفی اسفندیاری و همکاران اظهار داشتند که لایه گیرنده نور، در اثر مصرف متانول دارای آسیب‌های متعدد به قطعه خارجی، پخش

1-Anthraquinone
2-Lignin
3-Super oxide dismutase

شدن و نامنظم شدن قطعه داخلی و هسته‌های پیکنوزه و کاندنس در لایه هسته‌ای خارجی بوده است (۲۲). با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی آلوئه‌ورا و ایجاد اکسیداتیو استرس به وسیله متانول، اثر محافظتی و درمانی این گیاه بر مسمویت ناشی از متانول در شبکیه چشم رت به وسیله میکروسکوپ الکترونی ترانس میشن و نوری بود.

روش بررسی

در این مطالعه از ۳۰ سرموش آزمایشگاهی نر نژاد ویستار در محدوده ی وزنی 2 ± 200 گرم و سن ۸ هفته استفاده شد. حیوانات از مرکز تحقیقات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی فسا تهیه شد. موش‌ها در درجه حرارت 2 ± 23 درجه سانتی‌گراد با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با در نظر گرفتن شروع دوره نوری از ساعت ۸ صبح در شرایط طبیعی و رژیم غذایی نرمال در اتاق مخصوص حیوانات نگهداری شدند. آب و غذا به صورت نامحدود در اختیار حیوانات قرار گرفت. خوراک آماده موش از کارخانه دام پارس تهیه شد. موش‌ها به مدت یک هفته پیش از آغاز مطالعه به این شرایط عادت داده شدند. در تمام مراحل آزمایش اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی بر پایه قانون مراقبت و کار کردن با حیوانات آزمایشگاهی از کمیته اخلاق کار پژوهش از دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون رعایت شد.

جهت تهیه عصاره آلوئه‌ورا، برگ‌های رسیده گیاه از گلخانه

خانه سبز شهرستان فسا خریداری شدند. گیاه مورد نظر به وسیله کارشناس گیاهان دارویی تأیید شد. بعد از شستشو و خارج کردن پوست سبز روی آن، پارانشیم بی رنگ گیاه خارج شد و درون مخلوط کن به یک مخلوط همگنی تبدیل شد. سپس در سانتریفوژ (۳۵۰۰ دور در دقیقه) قرار داده شد تا فیبرها جدا شوند. پس از سانتریفوژ، لایه رویی جدا شده با آب مقطر رقیق شده و یک محلول ۲۰ درصد به دست آمد. محلول به دست آمده تا زمان مصرف در دمای ۴ درجه در محیط یخچال نگهداری شد (۲۳). قابل ذکر است که از هر کیلوگرم گیاه آلوئه‌ورا ۴۰۰ میلی‌لیتر محلول (حاوی ۴۰ گرم پودر خشک آلوئه‌ورا) به دست آمد.

حیوانات به صورت تصادفی به ۳ گروه (۱۰ تایی) تقسیم شدند؛ گروه کنترل که بدون تزریق متانول و عصاره آبی گیاه آلوئه‌ورا بود، گروه آزمایشی که تحت تأثیر متانول داخل صفاقی با دوز ۴ گرم بر کیلوگرم به مدت ۳۰ روز قرار گرفتند (۲۲)، گروه آزمایشی که تحت تأثیر متانول داخل صفاقی با دوز ۴ گرم در کیلوگرم به مدت ۳۰ روز قرار گرفته و با عصاره آبی گیاه آلوئه‌ورا با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هم‌زمان درمان شدند (۲۴ و ۲۲).

در پایان دوره آزمایش، بعد از بیهوش شدن رت‌ها با تزریق کتامین هیدروکلراید به میزان ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلوزین به میزان ۱۰ میلی‌گرم

ترتیب ۲۵/۲۲±۸۰ میکرومتر، ۶۳/۷۸±۶/۳۱ میکرومتر و ۱۰۷/۰۲±۷/۹ میکرومتر می‌باشد. کاهش میانگین ضخامت لایه گیرنده نور در گروه مصرف کننده متانول، دارای اختلاف معنی‌دار در حد $p \leq 0.05$ ، با گروه‌های کنترل و مصرف کننده آلوئه‌ورا متانول بود، اما افزایش میانگین ضخامت لایه گیرنده نور در گروه مصرف کننده آلوئه ورا متانول نسبت به گروه مصرف کننده متانول دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) و نسبت به گروه کنترل، فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($p > 0.05$) (نمودار ۱). مشاهدات میکروسکوپی در لایه گیرنده نور در شبکه چشم موش‌ها نشان داد که قطعه خارجی، حاوی قطعه‌های خارجی سلول‌های مخروطی و استوانه‌ای بوده و دارای تراکم نرمال می‌باشد (تصویر ۱). قطعه داخلی، در اصل سیتوپلاسم سلول بوده و حاوی ارگان‌های مختلف، از جمله میتوکندری می‌باشد (تصاویر ۱ و ۲). میتوکندری‌ها، در این لایه حاوی کریستا و به شکل‌های گرد تا بیضی دیده شدند (تصویر ۳). غشای محدودکننده خارجی نیز همانند یک خط تیره در میکروسکوپ دیده شد، که درحقیقت یک سری اتصالات چسبیده نواری است. همچنین، لایه هسته‌ای خارجی، حاوی هسته سلول‌های مخروطی و استوانه‌ای بوده، که دارای هتروکروماتین به صورت پراکنده می‌باشد (تصویر ۲)، اما لایه گیرنده نور در گروه مصرف کننده متانول، بی‌نظمی‌ها و موارد

بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی چشم‌ها به صورت کامل خارج و با سرم فیزیولوژی شستشو داده شدند، سپس قرنیه، عدسی و مایع زجاجیه خارج شد و چشم‌ها در ثابت کننده گلو تار آلدئید ۴ درصد قرار گرفتند. آنگاه شبکه چشم نزدیک به دیسک بینایی جدا شده و با سدیم کاکودیلایت^(۱) شستشو داده شد. سپس در اسمیوم تتراکساید ۱ درصد قرار گرفته و با درجات مختلف الکل آگیری شد و نمونه‌ها ابتدا در محلول پروپیلین اکسید^(۲) و سپس در مخلوط پروپیلین اکسید و رزین و سپس در رزین خالص قرار گرفته و قالب‌گیری شدند. از قالب‌ها برش‌های نیمه نازک تهیه و با رنگ آمیزی تلوئیدین بلو رنگ شده و برش‌های نازک با یورانیل استات و سیترات سرب رنگ شدند. برش‌های نیمه نازک با میکروسکوپ نوری و برش‌های نازک با میکروسکوپ الکترونی ترانس میشن فیلیپس ساخت کشور هلند مورد بررسی بافت شناسی قرار گرفتند.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تکمیلی توکی تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

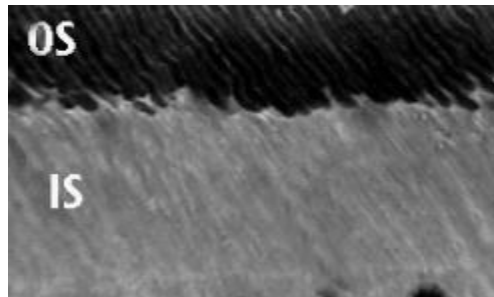
یافته‌ها

مطالعه‌های مورفومتریک لایه گیرنده نور در گروه‌های مختلف نشان داد که، میانگین ضخامت لایه گیرنده نور در گروه کنترل، گروه مصرف کننده متانول و گروه مصرف کننده آلوئه‌ورا متانول به

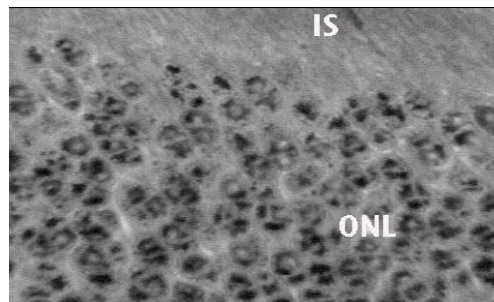
1-Sodium cocodylate
2-Propylen oxide

اما در بعضی قسمت‌ها، از بین رفتن قطعات خارجی مشهود بود(تصویر ۶). قطعه داخلی در این گروه دارای واکوئل بوده، اما تورم سلول و از بین رفتن کریستا در میتوکندری‌ها دیده نشد(تصاویر ۶ و ۸). غشای محدودکننده خارجی حالت نرمال داشت. در لایه هسته‌ای خارجی نیز تعداد کمی هسته‌های تیره و کاندنس مشاهده گردید، اما هسته‌های پیکنوزه دیده نشد(تصویر ۷). در مجموع مشاهدات پاتولوژیک در گروه مصرف کننده آلوئه ورا متانول نسبت به گروه مصرف کننده متانول کمتر بود.

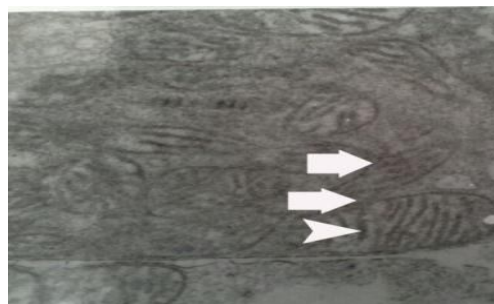
پاتولوژیک متعددی را نشان داد. قطعه خارجی در این گروه دارای تراکم بسیار کم بود که نشان دهنده از بین رفتن قطعات خارجی است(تصویر ۴). در قطعه داخلی واکوئل‌های متعدد، تورم سلولی و از بین رفتن کریستاها در میتوکندری‌ها دیده شد(تصاویر ۴ و ۵)، اما غشای محدودکننده خارجی نرمال مشاهده شد. لایه هسته‌ای خارجی در این گروه، تغییراتی از مرگ سلولی از جمله هسته‌های تیره، کاندنس و پیکنوزه را نشان داد(تصویر ۴)، اما در گروه مصرف کننده آلوئه ورا متانول تغییرات پاتولوژیک به حداقل رسید، به طوری که، قطعه خارجی دارای تراکم نرمال شده،



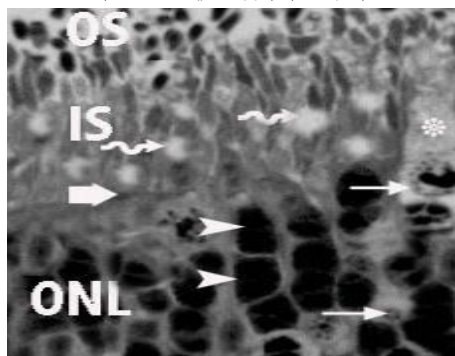
تصویر ۱: الکترومیکروگراف از قطعه خارجی (OS)، قطعه داخلی (IS) لایه گیرنده نور در گروه کنترل. (بزرگنمایی ۲۲۰۰×)



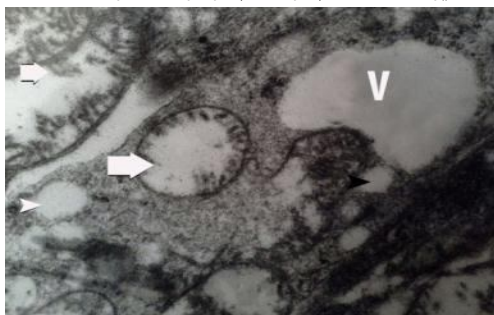
تصویر ۲: الکترومیکروگراف از قطعه داخلی (IS)، لایه هسته‌ای خارجی (ONL) لایه گیرنده نور در گروه کنترل. (بزرگنمایی ۲۲۰۰×)



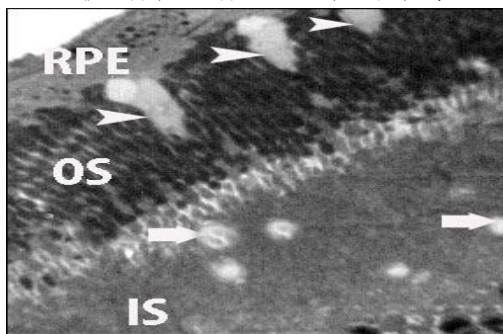
تصویر ۳: الکترومیکروگراف از قطعه داخلی لایه گیرنده نور در گروه کنترل. میتوکندریهای نرمال (فلش ضخیم) و کریستا در میتوکندری (سرفلش). (بزرگنمایی $\times 15500$)



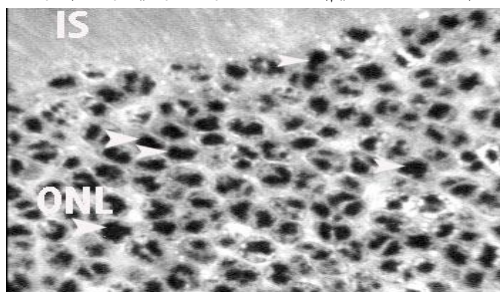
تصویر ۴: الکترومیکروگراف از قطعه خارجی با تراکم کم (OS)، قطعه داخلی (IS)، لایه هسته ای خارجی (ONL) لایه گیرنده نور در گروه مصرف کننده متانول. غشای محدودکننده خارجی (فلش ضخیم)، واکوئل ها (فلشهای موج دار)، تورم سلولی (ستاره)، هسته های پیکنوزه (فلشها) و هسته های تیره و کاندنس (سرفلشها) در گروه مصرف کننده متانول. (بزرگنمایی $\times 2200$)



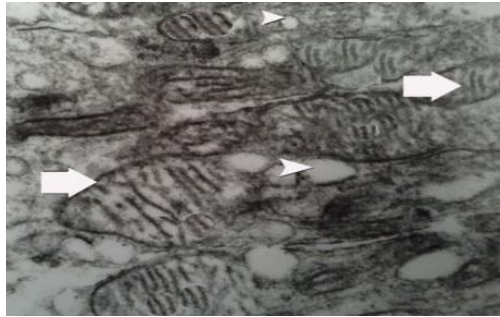
تصویر ۵: الکترومیکروگراف از قطعه داخلی لایه گیرنده نور در گروه مصرف کننده متانول. میتوکندریهای فاقد کریستا (فلشهای ضخیم)، واکوئل کوچک (سرفلش) و واکوئل بزرگ (V). (بزرگنمایی $\times 15500$)



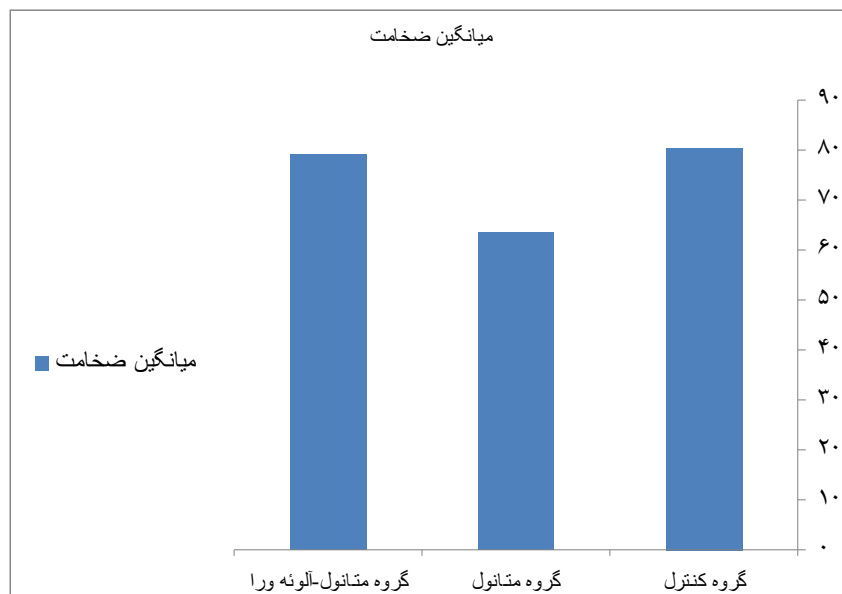
تصویر ۶: الکترومیکروگراف از لایه رنگدانه ای شبکیه (RPE)، قطعه خارجی (OS)، قطعه داخلی (IS) لایه گیرنده نور در گروه مصرف کننده متانول و آلوئه ورا. واکوئل ها (فلش های ضخیم)، قطعات خارجی از بین رفته (سر فلش ها). (بزرگنمایی $\times 2200$)



تصویر ۷: الکترومیکروگراف از قطعه داخلی (IS)، لایه هسته ای خارجی (ONL) لایه گیرنده نور در گروه مصرف کننده متانول-آلوئه ورا. هسته های تیره و کاندنس (سر فلش ها). (بزرگنمایی $\times 2200$)



تصویر ۸: الکترومیکروگراف از قطعه داخلی لایه گیرنده نور در گروه مصرف کننده متانول و آلوئه ورا. میتوکندریهای نرمال (فلشهای ضخیم)، واکوئل های کوچک (سرفلش ها). (بزرگنمایی $\times 15500$)



نمودار ۱: میانگین ضخامت لایه گیرنده نور در گروه های کنترل مصرف کننده متانول و مصرف کننده متانول-آلوئه ورا

بحث

قسمت‌های محدودی از بین رفته نشد و فقط هسته‌های تیره و کاندنس به صورت محدود دیده شد. متانول می‌تواند اثرات تخریبی فراوانی بر روی سیستم‌های بدن داشته باشد (۲۵)، که مهم‌ترین عامل آسیب‌ها در مسمومیت بامتانول، استرس اکسیداتیو بیان شده است (۲۶). به علاوه مطالعه‌های گذشته نشان می‌دهد که متانول سبب کاهش معنی‌دار اثر آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود (۲۷). نتایج تحقیق حاضر، با نتایج محققان دیگر در آسیب به بافت‌های بدن در اثر مسمومیت با

با بررسی هیستوپاتولوژی لایه گیرنده نور، مشاهده گردید که، این لایه در گروه مصرف کننده متانول دارای آسیب‌های عمده‌ای از جمله: از بین رفتن قطعات خارجی، واکوئل‌های بزرگ و کوچک، از بین رفتن کریستا میتوکندری‌ها و هسته‌های کاندنس و پیکنوزه بوده است، اما، با مصرف هم‌زمان آلوئه‌ورا کاهش آسیب‌های پاتولوژیک مشاهده شد، به طوری که، قطعات خارجی دارای تراکم شده و فقط در

می‌شود (۳۲). به علاوه، مشاهده هسته‌های تیره و پیکنوزه نشان دهنده، آسیب سلولی در اثر استرس اکسیداتیو ناشی از مصرف متانول است که نتایج تحقیق حاضر با نتایج محققان دیگر همخوانی دارد (۲۴ و ۲۳). از طرف دیگر، با مصرف آلوئه‌ورا هم‌زمان با مصرف متانول دیده شد که، اثرات استرس اکسیداتیو در قسمت‌های مختلف لایه گیرنده نور به طور قابل توجهی کاهش داشته است. آلوئه‌ورا می‌تواند به دلیل داشتن ترکیب‌های فنولی و ویتامین C و E رادیکال‌های آزاد را به طور مستقیم یا بوسیله واکنش‌های پیوندی با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از بین ببرد (۳۵-۳۳). به علاوه، آلوئه‌ورا دارای آنزیم‌های اکسیداز و کاتالاز بوده، که می‌تواند جلوی اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد را بگیرد (۳۶). هم چنین، باربالوئین^(۳) موجود در این گیاه، می‌تواند سلول‌ها را در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت کند (۳۷). با توجه به گزارش‌های گذشته در مورد خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه آلوئه‌ورا، نتایج حاصل از تحقیق حاضر قابل توجهی می‌باشد (۳۶-۳۳). البته چن و همکاران بیان کردند که مقدار مصرف متانول می‌تواند در بروز اثرات پاتولوژیک مؤثر باشد، به طوری که در مصرف کم متانول آسیب‌ها گذرا و خفیف بوده، اما در مصرف زیاد ادم سلولی، خراب شدن میتوکندری‌ها و نامنظم شدن قسمت‌های مختلف شبکیه چشم مشاهده می‌گردد (۳۸). این نتایج

متانول همخوانی دارد (۲۷-۲۲). از بین رفتن قطعات خارجی می‌تواند در اثر استرس اکسیداتیو ناشی از متانول باشد. احتمالاً، این فرایند با یک واکنش نوری-شیمیایی (ایزومری شدن سیس - ترانس در شبکیه چشم) همراه است. این واکنش باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد شده، که در حقیقت می‌توانند سبب پروکسیدپروتئین‌ها شوند (۲۸). تغییرات در ساختار پروتئین‌ها می‌تواند باعث از بین رفتن قطعه‌های خارجی شود. وجود واکنش‌ها و تورم سلولی در قطعه داخلی گروه مصرف کننده متانول نشان دهنده یک آسیب سلولی می‌باشد. همچنین میتوکندری‌ها در قطعه داخلی کریستاهای خود را از دست داده‌اند. میتوکندری‌ها در اصل جایگاه اصلی سنتز رادیکال‌های آزاد بوده که تجمع آنها ایجاد استرس اکسیداتیو می‌کند (۳۰ و ۲۹). احتمالاً تجمع رادیکال‌های آزاد در اثر مصرف متانول، سبب حمله رادیکال‌های آزاد به غشای لیپیدی شده و آن را اکسید کرده و مالون دی‌آلدئید^(۱)، لیپیدهای روکسی پراکسیدها و تیوباربیتوریک^(۲) اسیدباز فعال را تولید می‌کند (۳۱). این گزارش با تخریب کریستا در میتوکندری‌ها، که در حقیقت از جنس غشاء می‌باشند، هم‌خوانی دارد. با از بین رفتن ساختار میتوکندری‌ها متابولیسم اکسیداتیو کاهش یافته و سبب آسیب به سلول در اثر رادیکال‌های آزاد می‌شود. به طور کلی با تخریب کریستا در میتوکندری، زنجیره انتقال الکترون از بین رفته و تولید رادیکال آزاد القا شده و به دنبال آن کاهش سنتز آدنوزین تری فسفات اتفاق افتاده و نهایتاً سبب تخریب سلول

1-Malon di aldehyde
2-Thiobarbituric
3- Barbaloin

با تحقیق حاضر مطابقت داشته و ثابت می کند که دوز متانول در این تحقیق زیاد بوده و آسیب‌های جدی به لایه گیرنده نور وارد کرده است.

نتیجه‌گیری

با در نظر گرفتن نتایج به دست آمده، می‌توان چنین اظهار داشت که آلوئه‌ورا می‌تواند اثرات ناشی از آسیب‌های وارد شده به لایه گیرنده نور در اثر متانول را تا حد قابل قبولی بهبود بخشد. البته جهت تأیید قطعی اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاه مربوطه اندازه‌گیری آنزیم‌های مربوطه در مطالعه‌های بعدی پیشنهاد می‌شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مشترک دانشگاه علوم پزشکی فسا و دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون می‌باشد که با تامین مالی شخصی انجام شد .

REFERENCES

1. Feily A, Namazi MR. Aloe Vera in dermatology: a brief review. *G Ital Dermatol Venereol* 2009; 144(1): 85-91.
2. Demura R, Suzuki T, Nakamura S, Koomatsu H, Demura H. Effect of immobilization stress on testosterone and inhibin in male rats. *J Androl* 1989; 10(3): 210-3.
3. King G, Yates K, Greenlee P, Pierce KR, Ford CR, McAnalley BH, et al. The effect of Acemannan Immunostimulant in combination with surgery and radiation therapy on spontaneous canine and feline fibrosarcomas. *J Am Anim Hosp Assoc* 1995; 31(5): 439-47.
4. Vogler BK, Ernst E. Aloe vera: a systematic review of its clinical effectiveness. *Br J Gen Pract* 1999; 49(447): 823-8.
5. Boudreau MD, Beland FA. An evaluation of the biological and toxicological properties of Aloe barbadensis (miller) Aloe vera. *J environ sci Health c Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2006; 24(1): 103-54.
6. Tanaka M, Misawa E, Ito Y, Habara N, Nomaguchi K, Yamada M, et al. Identification of five phytosterols from Aloe Vera gel as antidiabetic compounds. *Biol & Pharm Bull* 2006; 29(7): 1418-22.
7. Langmead L, Makins RJ, Rampton DS. Antiinflammatory effects of Aloe Vera gel in human colorectal mucosa in vitro. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19(5): 521-7.
8. Lee HZ, Hsu SL, Liu MC, Wu CH. Effects and mechanisms of aloe-emodin on cell death in human lung squamous cell carcinoma. *Eur J Pharmacol* 2001; 431(3): 287-95.
9. Rosca-Casian O, Parvu M, Vlase L, Tamas M. Antifungal activity of Aloe vera leaves. *Fitoterapia* 2007; 78(3): 219-22.
10. Sosa S, Morelli CF, Tubaro A, Cairolì P, Speranza G, Manitto P. Anti-inflammatory activity of Maytenus senegalensis root extracts and of maytenoic acid. *Phytomedicine* 2007; 14(2-3): 109-14.
11. Koo MWL. Aloe vera: Antiulcer and antidiabetic effects. *Phytotother Res* 1994; 8(8): 461-4.
12. Rajasekaran S, Sivagnanam K, Ravi K, Subramanian S. Hypoglycemic effect of Aloe vera gel on streptozotocin-induced diabetes in experimental rats. *J Med Food* 2004; 7(1): 61-6.
13. Akao T, Che QM, Kobashi K, Hattori M, Namba T. A purgative action of barbaloin is induced by Eubacterium sp. strain BAR, a human intestinal anaerobe, capable of transforming barbaloin to aloe-emodin anthrone. *Biol Pharm Bull* 1996; 19(1): 136-8.
14. Wang HH, Chung JG, Ho CC, Wu LT, Chang SH. Aloeemodin effects on arylamine N-acetyltransferase activity in the bacterium Helicobacter pylori. *Planta Med* 1998; 64(2): 176-8.
15. Wu JH, Xu C, Shan CY, Tan RX. Antioxidant properties and PC12 cell protective effects of APS-1, a polysaccharide from Aloe vera var. Chinensis. *Life Sci* 2006; 78(6): 622-30.
16. Qiu Z, Jones K, Wylie M, Jia Q, Orndorff S. Modified Aloe barbadensis polysaccharide with immunoregulatory activity. *Planta Med* 2000; 66(2): 152-6.
17. Nikravesh M, Jalali M, Mohammadi SH. Effect of onion extract on rat testes. *J Reprod Infertil* 2009; 10(4): 239-44.
18. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia* 2001; 44: 129-46.
19. Eells JT, Henry MM, Summerfelt P, Wong-Riley MT, Buchmann EV, Kane M, et al. Therapeutic Photobiomodulation for methanol-induced retinal toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 3439-44.
20. Seme MT, Summerfelt P, Neitz J, Eells JT, Henry MM. Differential recovery of retinal function after mitochondrial inhibition by methanol intoxication. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 834-41.
21. Murray TG, Burton TC, Rajani C, Lewandowski MF, Burke JM, Eells JT. Methanol poisoning. A rodent model with structural and functional evidence for retinal involvement. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 1012-6.
22. Zarenezhad A, Esfandiari A, Aliabadi A. Preventive effects of silymarin in retinal intoxication with methanol in rat: Transmission electron microscope study. *Afr J Pharm Pharmacol* 2013; 7(25): 1757-61.
23. Chitra P, Sajithlal G, Chandrakasan G. Influence of aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 1998; 59: 195 - 201.
24. Saberi M, Gholami S. An investigation on the effects of the Aloe Vera extract on the thickness of the retina in male diabetic rats. *Iran J Vet Res* 2012; 13(4): 296-302.
25. Patra M, Salonen E, Terama E, Vattulainen I, Faller R, Lee BW, et al. Under the Influence of Alcohol: The Effect of Ethanol and Methanol on Lipid Bilayers. *Biophys J* 2006; 90: 1121-35.
26. Paula EM, Mathangi DC, Namasivayam A. Free radical changes in methanol toxicity. *Indian J Physiol Pharmacol* 2003; 47: 207-11.
27. Alaa El-Din A, Gawad E, Amal EI. Effect of Methanol intoxication on the Function of Retina of Rabbit. *J Am Sci* 2011; 7: 491-6.
28. Williams DL. Oxidative stress and the eye. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2008; 38: 179-92.
29. Dumont M, Beal MF. Neuroprotective strategies involving ROS in Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med* 2011; 5: 1014-26.
30. Müller M, Cheung KH, Foskett JK. Enhanced ROS generation mediated by Alzheimers disease presenilin regulation of InsP3R Ca²⁺ signaling. *Antioxid Redox Signal* 2011; 7: 1225-35.
31. Agil A, Durán R, Barrero F, Morales B, Araúzo M, Alba F, et al. Plasma lipid peroxidation in sporadic Parkinson's. Role of the L-dopa. *J Neurol Sci* 2006; 240: 31-6.

32. Pratico D. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: areappraisal. *Trends Pharmacol Sci* 2008; 29: 609-15.
33. Anilakumar KR, Sudarshana Krishna KR, Chandramohan G, Ilaiyaraja N, Khanum F, Bawa AS. Effect of Aloe vera gel extract on antioxidant enzymes and azoxymethane induced oxidative stress in rats. *Exp Biol* 2010; 48: 837-42.
34. Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian S. Modulatory effects of Aloe vera leaf gel extract on oxidative stress in rats treated with streptozotocin. *J Pharm Pharmacol* 2005; 57(2): 241-46.
35. Benedi J, Arroyo R, Romero C, Martin- Aragon S, Villar AM. Antioxidant properties and protective effects of a standardized extract of *Hypericum Perforatum* on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in PC12 cells. *Life Sci* 2004; 75(10): 1263-1276.
36. Kuzuya H, Tamai I, Beppu H, Shimpo K, Chihara T. Determination of aloenin, barbaloin and iso-barbaloin in aloe species by micellar electrokinetic chromatography. *J Chromatogr Biomed Sci Appl* 2001; 752: 91-7.
37. Can A, Akev N, Ozsoy N, Bolkent S, Arda BP, Yanardag R, et al. Effect of Aloe vera leaf gel and pulp extracts on the liver in type-II diabetic rat models. *Biol Pharm Bull* 2004; 27(5): 694-8.
38. Chen JM, Zhu GY, Zhao ZQ, Xia WT. Electroretinogram and histopathologic changes of the retina after methanol intoxication. *Fa Yi Xue Za Zhi* 2013; 29(1): 5-11.

The Ultra-structural Survey of Aloe Vera Extract on Photoreceptor Layer after Methanol Intoxication

Bahramian MR¹, Amiri A², Zarenezhad A¹, Mardkhoshnood M¹, Zarenezhad E¹, Esfandiari A^{3*}

¹Noncommunicable Disease Research Center, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran, ² Department of Veterinary Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran, ³ Department of Basic Sciences of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

Received: 9 Aug 2015

Accepted: 13 Oct 2015

Abstract

Background & aim: The photoreceptor layer is a main part of the retina. The Aloe Vera has antioxidant, antibacterial and antidiabetic effects. The aim of this study was to investigate the ultra-structure of the photoreceptor layer of male rats under the effect of methanol intoxication and protective effects of Aloe Vera extract against the methanol toxicity.

Methods: The present experimental study was conducted on 30 adult male Wistar rats in three groups of ten: as control, methanol intoxication, methanol intoxication receiving 400 mg/kg Aloe Vera extract for 30 days. Methanol intoxication was induced by intraperitoneal injection of 4gr/kg of methanol for 30 days. At the end of experiment, the eyes were removed and retina was separated near the optic disc and immersed in gluteraldehyde 4%. The retinal tissue was rinsed with buffer and fixed in osmium tetroxide 1% and dehydrated through a graded alcohol series. Additionally, the tissues were placed in a mixture of propylene oxide and resin and embedded in pure resin. Semi thin and ultrathin sections prepared and studied by transmission electron and light microscopes. Using One Way ANOVA and Tukey test data were analyzed.

Result: The obtained results exposed the decrement of the pathological sign in Aloe Vera-methanol group in comparison to methanol intoxication group. The outer segment loss, high vacuolization in inner segment and condense and pyknotic nuclei were seen in the methanol intoxication group. However, the moderate outer segment loss, light vacuolization in inner segment and condense nuclei were observed in the Aloe Vera-methanol group. Morphometric observations indicated that the thickness of photoreceptor layer decreased in the methanol intoxication group and little reduction in the Aloe Vera-methanol group was observed. The decrement of thickness in this group had significant difference with the control group. But the decrement of thickness of photoreceptor layer in the Aloe Vera-methanol group had no significant difference with the control group.

Conclusion: These observations revealed that methanol caused injury in the photoreceptor layer and that Aloe Vera could improve the damage to the photoreceptor layer.

Keywords: Photoreceptor layer, Methanol, Aloe Vera

Corresponding author: Esfandiari A, Department of Basic Sciences of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

Email: Esfandiari.arash@gmail.com

Please cite this article as follows:

Bahramian MR, Amiri A, Zarenezhad A, Mardkhoshnood M, Zarenezhad E, Esfandiari A. The Ultra-structural Survey of Aloe Vera Extract on Photoreceptor Layer after Methanol Intoxication. *Armaghane-danesh* 2015; 20 (9): 768-779.