Archive of SID

Original Article

Evaluation of Antioxidant Properties of Hydroalcoholic Extract of Purslane (Portulaca oleracea) and Its Protective Effect on 6-Hydroxydopamine Induced Hepatic Damage in Parkinsonian Male Rats

Sahar Ebadollahi[1]*, Farrin Babaei[1], Samad Zare[1], Maryam Ebadollahi[2]

[1]Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

[2]Department of Laboratory Sciences, Faculty of Paramedicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.

[*]Corresponding Author:
Sahar Ebadollhi,
Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

Email:
sahar.ebadollahi1220@gmail.com

Received: 3 Nov, 2016

Accepted: 1 Jan, 2017

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 11:00 IRDT on Monday April 9th 2018

Abstract

***Background and Objectives*:** Parkinson is the most common degenerative disorder of central nervous system. Liver plays an important role in the metabolism of chemical drugs; synthesis of plasma proteins, and extensive use of levodopa in the treatment of Parkinson disease. This study aimed to find the effect of levodopa and hydroalcoholic extract of purslane on the concentration of liver enzymes.

Methods: In this experimental study, 36 mature male rats were randomly divided into 6 groups of control, sham, parkinsonian, 2 groups of parkinsonian under treatment with purslane extract at the doses of 200 and 400mg/kg (14 days before and after surgery), and parkinsonian group treated with 15mg/kg of levodopa. The primary model of Parkinson's disease was created with the injection of 250 µg of 6-OHDA into the right ventricle. At the end of the experimental period, blood samples were taken from all subjects and liver enzymes, including alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and alkaline phosphatase (ALP), were assessed in serum and catalase (CAT) and malondialdehyde (MDA) enzymes, were assessed in liver tissue homogenate. Data were analyzed using one-way analysis of variance and Tukey's tests. Statistical significance level was considered to be $p<0.05$.

Results: In this study, the levels of ALT, ALP, and AST enzymes increased in the Parkinsonian group, while their level decreased in the groups received the extract and the levodopa groups. Also the extract of purslane significantly increased CAT activity and significantly decreased MDA as compared to the parkinsonian group.

Conclusion: It seems that purslane due to high level of antioxidant compounds can be used as a natural product for the prevention of damages and diseases caused by oxidative stress.

Keywords: Parkinson disease; Levodopa; Hepatic enzymes; Liver diseases.

www.SID.ir

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره دوازدهم، شماره اول، فروردین ۹۷
صفحه ۱۵ الی ۲۵
Archive of SID

مقاله پژوهشی
(Original Article)

ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی خرفه *(Portulaca oleracea)* و اثر محافظتی آن بر آسیب کبدی ناشی از سم ٦- هیدروکسی دوپامین در موش صحرایی مبتلا به پارکینسون

سحر عبادالهی[1]*، فرین بابائی[1]، صمد زارع[1]، مریم عبادالهی[2]

چکیده

زمینه و هدف: پارکینسون، شایع‌ترین بیماری مخرب سیستم عصبی مرکزی است. در ارتباط با متابولیسم داروهای شیمیایی، سنتز پروتئین‌های پلاسما و استفاده زیاد از داروی لوودوپا در درمان بیماری پارکینسون؛ کبد نقشی اساسی ایفا می‌کند. این مطالعه با هدف بررسی اثر داروی لوودوپا و عصاره هیدروالکلی خرفه بر غلظت آنزیم‌های کبدی انجام گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ به‌طور تصادفی به ۶ گروه کنترل، شم، پارکینسونی، ۲ گروه پارکینسونی تحت درمان با غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم عصاره خرفه (۱۴ روز قبل و بعد جراحی) و گروه پارکینسونی تحت درمان با ۱۵ میلی‌گرم برکیلوگرم لوودوپا تقسیم شدند. با تزریق ۲۵۰ میکروگرم 6-OHDA به بطن راست، مدل اولیه بیماری پارکینسون ایجاد گردید. بعد از پایان دوره آزمایش، نمونه‌های خونی از تمامی گروه‌ها تهیه و آنزیم‌های کبدی شامل: آلانین آمینو ترانسفراز، آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز در سرم و آنزیم‌های کاتالاز و مالون‌دی‌آلدئید در هموژنات بافت کبد سنجیده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه، میزان آنزیم‌های ALP, ALT وAST گروه پارکینسونی افزایش یافت، درحالی‌که در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره و گروه دریافت‌کننده لوودوپا، میزان آنها کاهش نشان داد. همچنین عصاره خرفه باعث افزایش معنی‌داری فعالیت آنزیم CAT و کاهش معنی‌دار MAD نسبت به گروه بیمار گردید.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد می‌توان از خرفه به‌علت دارا بودن میزان بالایی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان یک محصول طبیعی برای پیشگیری از آسیب و بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو استفاده کرد.

کلید واژه‌ها: بیماری پارکینسون؛ لوودوپا؛ آنزیم‌های کبدی؛ بیماری‌های کبدی.

[1]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

[2]گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:
سحر عبادالهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
sahar.ebadollahi1220@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۱۲

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۱۱

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

**Ebadollahi S, Babaei F, Zare S, Ebadollahi M. Evaluation of antioxidant properties of hydroalcoholic extract of purslane *(Portulaca oleracea)* and Its protective effect on 6-hydroxydopamine induced hepatic damage in parkinsonian male rats.
Qom Univ Med Sci J 2018;12(1):15-25. [Full Text in Persian]**

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 11:00 IRDT on Monday April 9th 2018

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 11:00 IRDT on Monday April 9th 2018

مقدمه

بیماری پارکینسون، شایع‌ترین بیماری تخریب سیستم عصبی مرکزی است. سن شروع این بیماری بین ۶۰-۳۵ سال بوده و در مردان بیشتر از زنان دیده می‌شود. این بیماری با ترمور هیپوکینزی (Hypokinesia tremor)، ریژیدیته (Rigidity)، وضعیت غیرطبیعی قامت و اختلال در راه رفتن مشخص می‌گردد (۱). پارکینسون به‌تدریج شروع شده و مشخصه نوروپاتولوژیکی آن، تخریب نورون‌های دوپامینرژیک موجود در جسم سیاه مغز میانی است. علائم بالینی این بیماری تقریباً در پی از بین رفتن حدود ۸۰-۶۰٪ از نورون‌های دوپامینرژیک جسم سیاه بروز می‌کند (۲). استرس اکسیداتیو یکی از دلایل اصلی تحلیل نورون‌های دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون می‌باشد (۳). در شرایط طبیعی، سوخت‌وساز هوازی کبد با تولید ثابت پراکسیدان‌هایی مانند گونه‌های فعال اکسیژن همراه است و تعادل را از طریق حذف آن‌ها به‌وسیله آنتی‌اکسیدان‌های خود که از مهم‌ترین آن‌ها کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز و آنزیمی‌های اکسید و احیای گلوتاتیون می‌باشد، حفظ می‌کند. در شرایط ایجاد استرس اکسیداتیو، گونه‌های فعال اکسیژن موجب پروکسیداسیون لیپیدها و تولید مالون‌دی‌آلدئید می‌شوند و می‌توانند با فعال‌سازی سلول‌های ستاره‌ای‌شکل کبد که کلاژن را سنتز می‌کنند، سبب ایجاد فیبروز کبدی شوند؛ در نتیجه، فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) افزایش می‌یابد و این حالت سبب آزادسازی آنزیم‌هایی که در حالت طبیعی درون سیتوزول سلولی هستند به جریان خون می‌شود (۵،۴). مطالعات نشان می‌دهد در سطح مولکولی، فنل‌های گیاهی از قبیل فلاونوئیدها، فلاونولیگنان‌ها و اسیدهای فنلیک می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های مؤثر عمل کنند (۶).

خرفه با نام علمی *Portulaca oleracea*، گیاهی علفی و گوشت‌دار است که تقریباً در تمام نقاط ایران پراکندگی دارد و در مناطق جنوبی ایران به‌عنوان سبزی خوردن کاشته می‌شود (۹-۶). این گیاه به‌علت داشتن خواصی همچون آنتی‌سپتیک، ضداسپاسمودیک، دیورتیک، ضدتب، شل‌کننده عضلانی، آنتی‌اکسیدان، تقویت سیستم ایمنی، تصفیه‌کننده خون و رفع تشنگی، کاربرد درمانی دارد (۱۱-۷). قابل‌ذکر است هیچ نشانه سمی قابل‌توجهی هنوز در ارتباط با این گیاه گزارش نشده است (۱۰). آزمایش‌های فیتوشیمیایی عصاره خرفه نشان داده است این گیاه یک منبع غنی از اسیدهای چرب امگا-۳، آلفاتوکوفرول، اسید اسکوربیک، بتاکاروتن، گلوتاتیون و اسید آلفالینولنیک، پروتئین، کربوهیدرات، پکتین، موسیلاژ، ویتامین A و B1 نورآدرنالین، دوپامین، مواد معدنی (کلسیم، پتاسیم، آهن، فسفر، منگنز، مس)، اسیدهای ارگانیک (سینامیک، کافئیک، مالیک، اگزالیک، سیتریک)، همچنین کومارین‌ها، گلیکوزیدهای آنتراکینونی،Cardiac، فلاونوئیدها و آلکالوئید می‌باشد (۸،۷) (۱۳-۱۱).

رایج‌ترین داروی به‌کاررفته در کاهش علائم این بیماری، لوودوپا (L-DOPA) است که همچنان مؤثرترین دارو به شمار می‌رود. این دارو توانایی عبور از سد خونی - مغزی را دارد و باعث افزایش سنتز، آزاد شدن دوپامین و تسکین علائم بیماری می‌شود. در مطالعات مشاهده شده است لوودوپا، کمپلکس یک میتوکندری را مهار می‌کند و درمان طولانی‌مدت با آن نیز از فعالیت سیستم پروتئازوم‌ها می‌کاهد (۱۴). در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد لوودوپا با ناتوان‌کردن سیستم‌های تیوردوکسین و گلوتاردوکسین که هر دو در بقای سلولی نقش دارند باعث مرگ نورونی می‌شوند (۱۵). همچنین مشخص شده است لوودوپا دچار اتواکسیداسیون شده و سبب افزایش رادیکال‌های آزاد، ازجمله هیدروکسیل می‌گردد (۱۶).

با توجه به اینکه متابولیسم و سم‌زدایی داروها در کبد انجام می‌شود، همچنین به‌علت اهمیت نقش کبد در ارتباط با متابولیسم داروهای شیمیایی، سنتز پروتئین‌های پلاسما و استفاده روزافزون از داروی لوودوپا در درمان بیماری پارکینسون، این تحقیق با هدف بررسی اثرات مقادیر مختلف عصاره خرفه و داروی لوودوپا بر غلظت آنزیم‌های کبدی انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، از ۳۶ موش صحرایی نر نژاد ویستار (وزن تقریبی ۲۵۰-۱۵۰ گرم) استفاده شد. حیوان‌ها به حیوانخانه تحقیقاتی دانشکده علوم منتقل شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

در طول آزمایش، آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها گذاشته شد. دمای حیوانخانه بین ۳±۲۲ درجه سانتیگراد متغیر بود. قبل از شروع دوره درمان به مدت یک‌هفته به موش‌ها اجازه داده شد خود را با شرایط محیط تطبیق دهند.

موش‌های صحرایی به ۶ گروه ۶ تایی شامل: کنترل، شم، بیمار، بیمار تیمارشده (با غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ خرفه)، بیمار تیمارشده با خرفه ۲۰۰ میلی‌گرم و لوودوپا تقسیم شدند.

به گروه‌های شم و بیمار، حلال عصاره همراه با داروها و به گروه‌های بیمار تیمارشده؛ عصاره هیدروالکلی برگ خرفه روزانه (در بازه زمانی ۱۲-۱۰ صبح با غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) داده شد. ۲ هفته پس از تیمار، همه گروه‌ها بجز گروه کنترل، با تزریق درون صفاقی کتامین و زایلازین به نسبت ۶۰ به ۴۰ بیهوش شده، سپس به‌وسیله دستگاه استریوتاکس جراحی شدند. کانول‌گذاری براساس اطلس واتسون و پاکسینوس (با مختصات قدامی خلفی: ۰/۸ میلی‌متر، خط جانبی ۱/۶ میلی‌متر و عمقی نسبت به برگما ۳/۵ میلی‌متر) به‌صورت یک‌طرفه به داخل بطن راست مغز انجام شد. درادامه، به گروه‌ها بجز گروه کنترل و شم؛ سم ۶- هیدروکسی دوپامین به میزان ۲۵۰ میکروگرم به‌ازای هر حیوان، ۵ میکرولیتر نرمال‌سالین و به همراه آن ۰/۰۲٪ اسیداسکوربیک به کمک سرنگ هامیلتون تزریق شد (۱۷). با اتمام عمل تزریق، سر حیوانات با استفاده از سیمان دندانپزشکی بسته شد. برای تأیید القای پارکینسون، آزمون‌های پیچش و چرخش القاشده با آپومورفین انجام گرفت. در پایان، تمام حیوانات با دی‌اتیل‌اتر، داخل دسیکاتور بیهوش شده و کالبدشکافی روی آنها انجام گرفت، سپس از قلب آنها به‌وسیله سرنگ‌های هپارینه خونگیری به عمل آمد. نمونه‌ها پس از مکث ۳۰ دقیقه‌ای، به‌منظور لخته شدن خون، در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شده و سرم سریعاً جدا و در دمای ۳۰- درجه سانتیگراد برای سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی نگهداری شدند.

اندازه‌گیری تغییرات آلانین ترانس آمیناز، آسپارتات ترانس آمیناز و آلکالین فسفاتاز به روش آنزیماتیک و با استفاده از کیت‌های شرکت پارس‌آزمون و با کمک دستگاه اتوآنالایزور (RA-1000 ساخت شرکت Technicom کشور آمریکا) انجام شد.

فعالیت کاتالاز براساس توانایی آن در تجزیه H_2O_2 در بافت هموژنیزه‌شده بیضه به روش Aebi تعیین گردید (۱۸). تجزیه H_2O_2 با کاهش جذب در طیف جذبی ۲۴۰ نانومتر قابل بررسی می‌باشد.

سطح پراکسیداسیون لیپیدها با استفاده از روش Cheeseman و Esterbauer اندازه‌گیری شد (۱۹). مالون‌دی‌آلدئید، محصول نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب بوده که با تیوباربیتوییک اسید (TBA) وارد واکنش شده و کمپلکس رنگی ایجاد می‌کند. رنگ صورتی ناشی از واکنش TBA-MDA، به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۵ نانومتر ارزیابی شد.

داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶، آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند، سطح معنی‌داری، $p<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

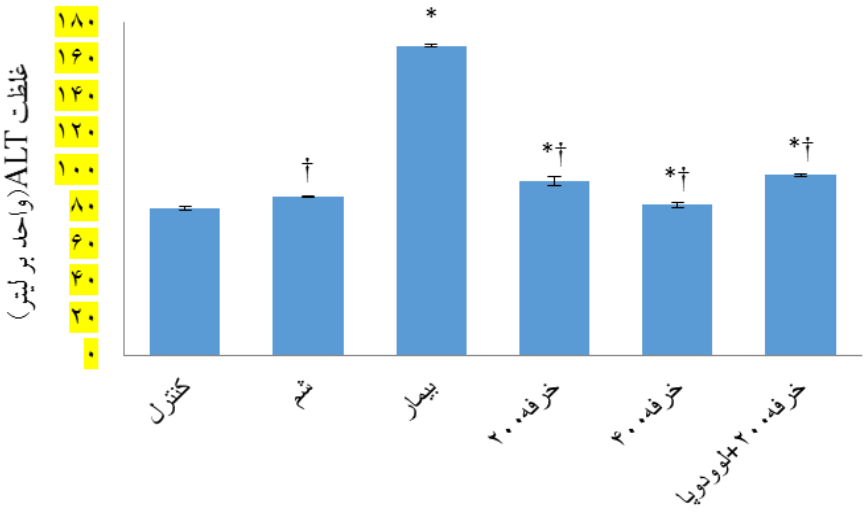
در نمودار شماره ۱ سطح سرمی آنزیم ALT، نشان‌دهنده آسیب کبدی در بیماری پارکینسون القاشده با ۶- هیدروکسی دوپامین می‌باشد. همچنین اثر محافظتی دوزهای مختلف عصاره بر سطح سرمی آنزیم‌های مذکور مشاهده می‌شود.

در این مطالعه، آنزیم ALT گروه بیمار نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌داری داشت. همچنین دریافت ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان و گروه ترکیب درمانی لوودوپا باعث کاهش ALT نسبت به گروه بیمار شد و نسبت به گروه کنترل باعث افزایش معنی‌دار آنزیم ALT گردید. گروه ترکیبی لوودوپا نسبت به گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره، افزایش معنی‌دار و نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره ۲۰۰ میلی‌گرم، کاهش غیرمعنی‌داری نشان داد. دریافت غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره باعث کاهش حداکثری میزان آنزیم ALT نسبت به گروه بیمار و گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره شد و نسبت به گروه کنترل باعث افزایش ALT گردید، ولی این افزایش اختلاف معنی‌داری نشان نداد. در گروه‌های بیمار (دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره و عصاره + لوودوپا) نسبت به گروه شم، افزایش معنی‌داری مشاهده شد (نمودار شماره ۱).

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 11:00 IRDT on Monday April 9th 2018

www.SID.ir

Archive of SID

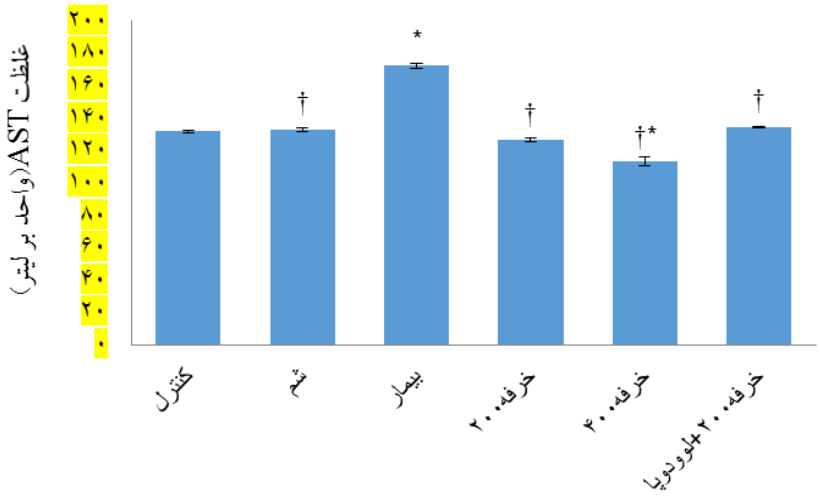


نمودار شماره ۱: مقایسه میزان فعالیت آنزیم ALT سرم در گروه‌های مورد مطالعه.
تعداد موش‌ها در هرگروه (n=6) و نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار می‌باشد.
علامت * و † به ترتیب مقایسه گروه کنترل و بیمار را در سطح p<۰/۰۵ نشان می‌دهد.

در نمودار شماره ۲، نتیجه اثر خرفه و لوودوپا بر آنزیم AST کبدی سرم سطح سرمی آنزیم AST، نشان‌دهنده آسیب کبدی در بیماری پارکینسون القاشده با ۶- هیدروکسی دوپامین می‌باشد، همچنین اثر محافظتی غلظت‌های مختلف عصاره بر سطح سرمی آنزیم‌های مذکور مشاهده می‌شود.

آنزیم AST در گروه بیمار، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. تمامی گروه‌های درمانی دریافت‌کننده عصاره نسبت به گروه بیمار، کاهش معنی‌دار آنزیم AST را نشان دادند. در گروه ترکیبی لوودوپا، افزایش AST نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید، ولی این افزایش معنی‌دار نبود.

گروه‌های درمانی دریافت‌کننده ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم عصاره نسبت به گروه کنترل، کاهش AST را نشان دادند، ولی این کاهش فقط در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره معنی‌دار بود. گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره، بیشترین کاهش را داشت که این کاهش نسبت به گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره، همچنین گروه شم، اختلاف معنی‌داری داشت و گروه ترکیبی دریافت‌کننده عصاره + لوودوپا نیز نسبت به گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره، افزایش معنی‌داری نشان داد (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲: مقایسه میزان فعالیت آنزیم AST سرم در گروه‌های مورد مطالعه.
تعداد موش‌ها در هرگروه n=6 و نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار می‌باشد.
علامت * و † به ترتیب در مقایسه گروه کنترل و بیمار را در سطح p<۰/۰۵ نشان می‌دهد.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 11:00 IRDT on Monday April 9th 2018

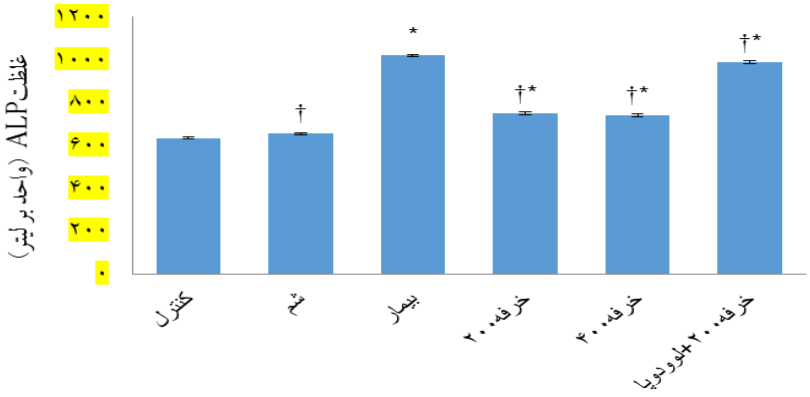
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 11:00 IRDT on Monday April 9th 2018

میزان ALP در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت. میزان ALP در گروه‌های دریافت‌کننده ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌داری نشان داد و نسبت به گروه بیمار، کاهش معنی‌دار بود. این میزان در گروه ترکیبی لوودوپا نسبت به گروه‌های کنترل، شم، و گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره، به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت و نسبت به گروه بیمار، کاهش معنی‌دار بود.

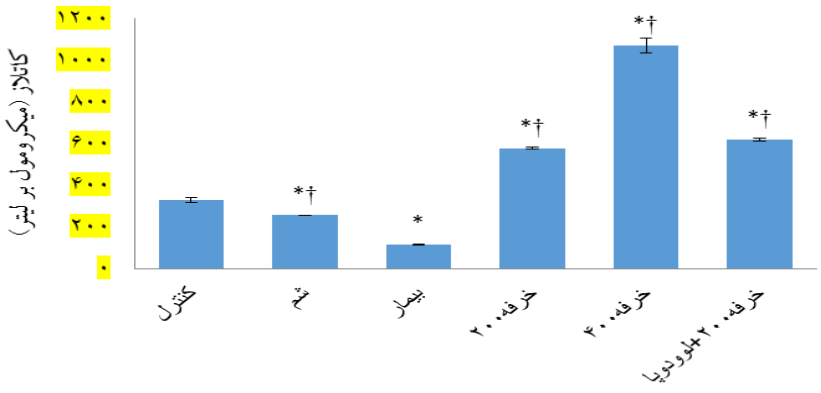
همچنین این شاخص در گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره نسبت به گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره، افزایش غیرمعنی‌داری نشان داد. میزان ALP در گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره نسبت به گروه ترکیبی عصاره + لوودوپا، کاهش معنی‌داری یافت و در گروه‌های بیمار، گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره و گروه ترکیبی عصاره + لوودوپا نسبت به گروه شم، افزایش معنی‌داری نشان داد (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳: مقایسه میزان فعالیت آلکالین فسفات سرم خون در گروه‌های مورد مطالعه.
تعداد موش‌ها در هر گروه. n=6 و نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار می‌باشد.
علامت * و† به ترتیب مقایسه با گروه کنترل و بیمار را در سطح p<۰/۰۵ نشان می‌دهد.

میزان آنزیم کاتالاز بافت کبد در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری نشان داد. میزان این آنزیم در همه گروه‌های درمانی دریافت‌کننده عصاره نسبت به گروه کنترل و بیمار با اختلاف معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین افزایش میزان آنزیم کاتالاز مربوط به گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره بود که نسبت به سایر گروه‌ها، اختلاف معنی‌داری داشت.

این مقدار در گروه ترکیبی لوودوپا نسبت به گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره با اختلاف معنی‌دار، افزایش نشان داد و در گروه شم نسبت به گروه بیمار، افزایش معنی‌دار بود و نسبت به گروه‌های کنترل، گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره و گروه ترکیبی عصاره + لوودوپا، به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت (نمودار شماره ۴).



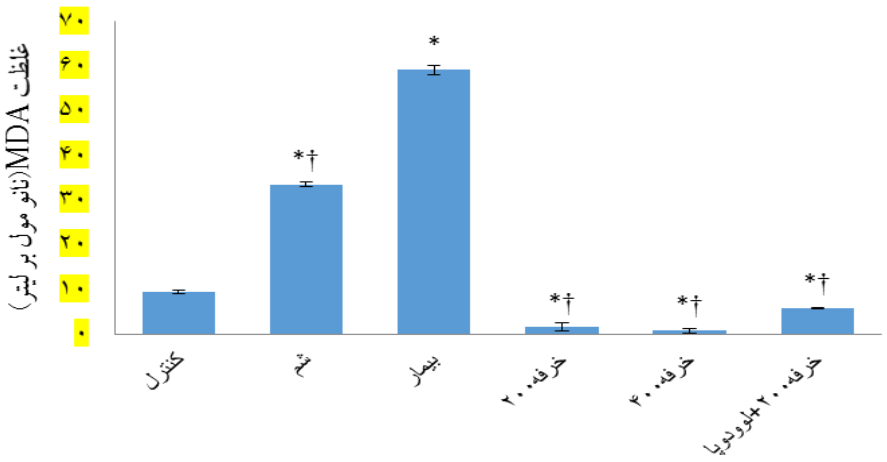
نمودار شماره ٤: مقایسه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بافت کبد در گروه‌های مورد مطالعه.
تعداد موش‌ها در هر گروه n=6 و نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.
علامت * و† به ترتیب مقایسه گروه کنترل با گروه بیمار را در سطح p<۰/۰۵ نشان می‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

طبق نتایج مطالعات، سطوح پایین یا فقدان پراکسیداسیون لیپیدی، منعکس‌کننده اثرات محافظتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است. در این مطالعه براساس آزمایش‌های بیوشیمیایی بافت کبد، افزایش چشمگیری در میزان MDA کبد گروه بیمار مشاهده گردید که این افزایش نسبت به گروه کنترل و سایر گروه‌ها معنی‌دار بود.

در گروه دریافت‌کننده عصاره ۲۰۰ میلی‌گرم، میزان MDA نسبت به گروه‌های کنترل، بیمار، شم و لوودوپا به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. بیشترین کاهش میزان MDA کبد مربوط به عصاره با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بود که نسبت به گروه‌های لوودوپا، کنترل، شم و بیمار، معنی‌دار بود و نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره ۲۰۰ میلی‌گرم، معنی‌دار نبود (نمودار شماره ۵).



نمودار شماره ۵: مقایسه میزان غلظت MDA (نانومول برلیتر) بافت کبد در گروه‌های مورد مطالعه.
تعداد موش‌ها در هر گروه n=6 و نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار می‌باشد.
علامت * و† به ترتیب در مقایسه با گروه کنترل و بیمار را در سطح p<۰/۰۵ نشان می‌دهد.

جدول: میانگین غلظت سرمی آنزیم‌های کبدی در پی دریافت مقادیر مختلف خرفه و لوودوپا در موش‌های مبتلا به پارکینسون

گروه‌ها / متغیرها	کاتالاز (میکرومول برلیتر)	مالون‌دی‌آلدئید (نانومول برلیتر)	ALT (میکرولیتر)	AST (U/L)	ALP (U/L)
کنترل	۳۲۸±۱۱/۲	۹/۵±۰/۴	۷۹/۳±۱/۲	۱۳۱/۸±۰/۹	۶۳۵±۴
شم	۲۵۵/۵±۱/۴	۳۳/۵±۰/۵	۸۵/۶±۰/۳	۱۳۳/۱±۱/۱	۶۵۵±۵/۵
بیمار	۱۱۳/۷±۲/۷	۵۹/۱±۰/۹	۱۶۷/۴±۰/۶	۱۷۲/۲±۱/۲	۱۰۲/۳±۵/۲
خرفه (۲۰۰ میلی‌گرم)	۵۷۷/۸±۵/۲	۱/۵±۰/۹	۹۴/۳±۲/۳	۱۲۶/۳±۱/۲	۷۵۰±۶/۴
خرفه (۴۰۰ میلی‌گرم)	۱۰۷۱/۲±۳۵/۱	۰/۸±۰/۴	۸۱/۳±۱/۶	۱۱۳/۳±۲/۸	۷۴۲±۶/۹
خرفه (۲۰۰ میلی‌گرم) و لوودوپا (۱۵میلی‌گرم)	۶۱۹/۴±۶/۶	۵/۸±۰/۱	۹۷/۴±۰/۵	۱۳۴/۶±۰/۳	۹۸۸±۶/۴

***مقادیر به‌دست‌آمده هریک از متغیرها براساس انحراف معیار ± میانگین می‌باشد.**

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد تیمار با عصاره خرفه، کاهش معنی‌داری را در مقادیر ALP، ALT، AST سرم در مقایسه با گروه بیمار ایجاد می‌کند. با توجه به اینکه این فاکتورها (به‌عنوان شاخص آسیب‌های کبدی)، در گروه‌های آسیب‌های کبدی و دریافت‌کننده عصاره، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، اما فعالیت آنزیم کاتالاز در کبد گروه‌های بیمار نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد و فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه‌های پیشگیری با خرفه افزایش داشت. در شرایط فیزیولوژیک سیستم آنتی‌اکسیدانی با ایجاد تعادل بین میزان تولید اکسیدان‌ها و برداشت آن‌ها، مانع از پروکسیداسیون زیانبار لیپیدهای غشایی و در نتیجه تولید مالون‌دی‌آلدئید می‌شود. لذا از آن‌جایی‌که خرفه سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است، مصرف آن می‌تواند موجب تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی شود. کاتالاز آنزیم آنتی‌اکسیدانی است که در بافت‌های حیوانی به‌طور گسترده‌ای منتشر بوده و دارای بیشترین فعالیت در کبد و گلبول‌های قرمز است.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 11:00 IRDT on Monday April 9th 2018

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به اینکه کاتالاز مسئول تخریب هیدروژن پروکسید تولیدی توسط آنزیم سوپراکسید دسموتاز و دیگر منابع است؛ بنابراین، با افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز، فعالیت این آنزیم نیز افزایش می‌یابد. علی و همکاران گزارش کردند خرفه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را در رت‌های مبتلا به کبد فیبروزه، افزایش می‌دهد (۲۰)، و احتمال می‌رود در این مطالعه خرفه با احیای آنزیم‌های آسیب‌دیده موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شده باشد. آشتیانی و همکاران نیز عنوان کردند خرفه فعالیت آنزیم کاتالاز را در رت‌های مبتلا به هیپرکلسترولمی افزایش می‌دهد (۲۱). همچنین دخیل و همکاران طی تحقیقی بر روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی خرفه نشان دادند خرفه فعالیت آنزیم کاتالاز را در تمامی اندام‌های رت افزایش می‌دهد (۲۲).

گیاه خرفه حاوی ملاتونین است که نتایج تحقیقات نشان می‌دهد این هورمون در روند پیری و مهار استرس اکسایشی تأثیرگذار است (۲۴،۲۳) و می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را به‌صورت افزایشی تنظیم کند (۲۵،۲۳). در برخی تحقیقات نیز اشاره شده، ملاتونین آنتی‌اکسیدانی قوی است (۲۳) و می‌تواند به‌طور مستقیم رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنشی را تجزیه کند (۲۶). همچنین، ملاتونین انواع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز را فعال کرده که می‌تواند بر مقادیر اکسیدان‌ها تأثیر بگذارد و آنها را کاهش دهد (۲۷). لذا افزایش آنزیم کاتالاز می‌تواند به این ترکیب گیاه و مواد آنتی‌اکسیدانی آن مربوط باشد.

مطالعات آزمایشگاهی نشان داده‌اند ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان می‌توانند از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری کرده و ویتامین‌هایC و E، اثرات تشدیدکننده دارند. درضمن، اخیراً محققان دریافته‌اند آلفا توکوفرول، استرس اکسیداتیو و التهاب، از طریق کاهش آزادسازی سیتوکین‌های پیش‌التهابی، کاهش چسبندگی مونوسیت به آندوتلیوم، کاهش میزان CRP پلاسما (C-reactive Protein) و کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید پلاسما نقش مهمی در پیشگیری از آترواسکلروز دارند (۲۸). در مطالعه Wang درپی مصرف بتاسیانین‌های موجود در گیاه خرفه، سطح MDA کاهش یافت که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت (۲۹). در مطالعه حاضر مصرف خرفه در بیماران موجب کاهش سطح MDA در مقایسه با گروه کنترل شد که این مورد به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های احتمالی، مطرح و قابل‌بحث است. از طرفی، گیاه خرفه دارای مقادیر زیادی آلفا لینولئیک اسید، بتاکاروتن، فلاونوئید، کومارین‌ها، گلیکوزیدهای مونوترپنی و آلکالوئید، مواد آنتی‌اکسیدان و امگا-۳ می‌باشد (۳۱،۳۰). گیاهان با داشتن چربی‌های امگا-۳ و امگا-۶ باعث مهار پراکسیداسیون لیپیدها از طریق شکستن ساختار اکسیدکننده موجود توسط سیتوکروم P۴۵۰ و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۳۲)؛ لذا اثرات ایجادشده می‌تواند به این ترکیبات گیاه، به‌ویژه امگا-۳ و لینولئیک اسید مرتبط باشد.

ترکیبات فلانوئیدی نظیر کوئرستین موجود در خرفه، واجد فعالیت هیپوگلیسمی هستند. ترکیبات پلی‌فنلی گیاهی درون سلول‌ها می‌توانند به‌عنوان دهنده‌های الکترون عمل کرده و به دو روش آنزیمی و غیرآنزیمی اثرت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌پراکسیدانی از خود نشان دهند (۳۳). YouGuo و همکاران نشان دادند ترکیبات فلاونوئیدی موجود در خرفه دارای خاصیت سوپراکسیدزدایی بوده که این گندزدایی به غلظت ترکیبات فنولی و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل بستگی دارد (۳۴). همچنین Garau و همکاران نشان دادند کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، موجب افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید پلاسما شده و میزان سایر شاخص‌های استرس اکسیداتیو را افزایش می‌دهد (۳۵). مطالعه حاضر در تأیید پژوهش‌های پیشین نشان داد تجویز برگ گیاه خرفه سبب کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید می‌شود که احتمالاً به دلیل وجود ساپونین‌ها و ترکیبات فنولی برگ بوده و از شروع واکنش زنجیره‌ای رادیکال آزاد جلوگیری می‌کند. در بیمارانی‌که دچار مسمومیت کبدی می‌شوند نیز متابولیت‌های فعال تشکیل‌شده از راه سیتوکروم P450 افزایش یافته و سبب نکروز کبدی می‌شود که مقادیر توکسیک بستگی به سطح گلوتاتیون دارد (۳۶). گلوتاتیون دارای نقش فیزیولوژیکی در حفظ هومئوستاز و متابولیسم بدن، حفاظت سلول‌ها درمقابل عوامل آنتی‌اکسیدان و عفونت‌ها می‌باشد (۳۸،۳۷). گلوتاتیون با افزایش سن، همچنین ابتلا به بیماری‌های آلزایمر و پارکینسون کاهش می‌یابد.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 11:00 IRDT on Monday April 9th 2018

www.SID.ir

Archive of SID

تحقیقات اخیر نشان داده است تأمین سوبسترای لازم جهت سنتز گلوتاتیون با رژیم غذایی، میزان سلولی آن را به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌دهد (۳۹). مطالعات در مورد گیاه خرفه نشان داده است این گیاه حاوی گلوتاتیون بوده که باعث تغییر فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و کاهش معنی‌دار در پراکسیداسیون لیپیدهای وابسته به فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌شود (۴۰،۳۸). همچنین مشخص شده، لوودوپا به‌عنوان موثرترین داروی شناخته‌شده در بیماری پارکینسون، دچار اتواکسیداسیون و سبب تولید رادیکال‌های آزاد ازجمله هیدروکسیل می‌شود (۴۲،۴۱).

در مطالعه حاضر به دنبال مصرف همزمان خرفه و داروی لوودوپا، بهبودی معنی‌داری در پایان ایجاد شد که نشان‌دهنده تأثیر مثبت و اثربخشی مصرف همزمان خرفه و لوودوپا بود.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج این مطالعه، عصاره خرفه دارای اثر مثبت بر بهبود آسیب اکسیداتیو ناشی از مدل پارکینسونی در کبد است و این امر احتمالاً به‌دلیل وجود سطح بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در این گیاه می‌باشد. به‌نظر می‌رسد از خرفه می‌توان به‌علت دارا بودن میزان بالایی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان یک محصول طبیعی، برای پیشگیری از آسیب و بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو استفاده کرد.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 11:00 IRDT on Monday April 9th 2018

References:

1. Wirdefeldt K, Adami HO, Cole P, Trichopoulos D, Mandel J. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: A review of the evidence. Eur J Epidemiol 2011;26 Suppl 1:S1-58.
2. Braak H, Braak E, Yilmazer D, Schultz C, de Vos RA, Jansen EN. Nigral and extranigral pathology in Parkinson's disease. J Neural Transm Suppl 1995;46:15-31.
3. Dissanayaka NN, Sellbach A, Matheson S, O'Sullivan JD, Silburn PA, Byrne GJ, et al. Anxiety disorders in Parkinson's disease: prevalence and risk factors. Mov Disord 2010;25(7):838-45.
4. Mitra SK, Venkataranganna MV, Sundaram R, Gopumadhavan S. Protective effect of HD-03, a herbal formulatin, against various hepatotoxic agents in rats. J Ethnopharmacol 1998;63(3):181-6.
5. Ahmad A, Pillai KK, Najmi AK, Ahmad SJ, Pal SN, Balani DK. Evaluation of hepatoprotective potential of jigrine post-treatment against thioacetamide induced hepatic damage. J Ethnopharmacol 2002;79(1):35-41.
6. Craig WJ. Health-promoting properties of common herbs. Am J Clin Nutr 1999;70(3 Suppl):491S-499S.
7. Zargari A. Medical plants. Tehran: Tehran University Press; 2001. p. 451-53. [Text in Persian]
8. Akhonzadeh SH. Encyclopedia of Iranian medicinal plants. Tehran: Arjmand Press; 2000. p. 115. [Text in Persian]
9. Radhakrishnan R, Zakaria MN, Islam MW, Chen HB, Kamil M, Chan K, et al. Neuropharmacological actions of Portulaca oleracea LV. Sativa (Hawk). J Ethnopharmacol 2001;76(2):171-6.
10. Miladi-Gorji H, Vafaei AA, Bageri A. To investigate the effect of Portulaca oleracea L and Melissa officinalis L. Extract on Sleeping Time in Mice. J Med Plants 2011;2(38):95-101. [Full Text in Persian]
11. Simopoulos AP, Norman HA, Gillaspy JE, Duke JA. Common Purslane a souree of omega 3- fattyaads and antioxidants. J Am Coll Nutr 1992;11(4):374-82.
12. Mohamed AI, Hussein AS. Chemical composition of purslaune (Portulaca Oleracea). Plant Foods Hum Nutr 1994;45(1):1-9.

www.SID.ir

Archive of SID

13. Okwusaba F. Ejike C, Parry O. Comparison of the skeletal muscle relaxant properties of portulaca oleracea extracts with dantrolens Sodium and Methoxyverapamil. J Ethnopharmacol 1987;20(2):85-106.

14. Lipski J, Nistico R, Berretta N, Guatteo E, Bernardi G, Mercuri NB. L-DOPA: a scapegoat for accelerated neurodegeneration in Parkinsons disease? Prog Neurobiol 2011;94(4):389-407.

15. Sabens EA, Distler AM, Mieyal JJ. Levodopa deactivates enzymes that rregulates thiol-disulfide homestasis and promote neuronal cell death: implication for therapy of Parkinson's disease. Biochemistry 2010;49(12):2715–24.

16. Ho PI, Ortiz D, Rogers E, Shea TB. Multiple aspects of homocysteine neurotoxicity: Glutamate excitotoxicity, kinase hyperactivation and DNA damage. J Neurosci Res 2002;70(5):694-702.

17. Díaz MR, Abdala P, Barroso-Chinea P, Obeso J, Gonzalez-Hernandez T. Motor behavioural changes after intracerebroventricular injection of 6-hydroxydopamine in the rat: an animal model of Parkinson's disease. Behav Brain Res 2001;122(1):79-92.

18. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol 1984;105:121-6.

19. Kei S. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clin Chim Acta 1978;90(1):37-43.

20. Ali SI, Said MM, Hassan EK. Prophylactic and curative effects of purslane on bile duct ligation-induced hepatic fibrosis in albino rats. Ann Hepatol 2011;10(3):340-6.

21. Changizi-Ashtiyani S, Zarei A, Taheri S, Rasekh F, Ramazani M. The effects of Portulaca oleracea alcoholic extract on induced hypercholesterolemia in rats. Zahedan J Res Med Sci 2013;15(6):34-39. [Full Text in Persian]

22. Dkhil MA, Moniem AE, Al-Quraishy S, Saleh RA. Antioxidant effect of purslane (Portulaca oleracea) and its mechanism of action. J Med Plants Res 2011;5(9):1589-1563.

23. Karasek M. Does melatonin play a role in aging processes? J Physiol Pharmacol 2007;58 Suppl 6:105-13.

24. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. FASEB J 1995;9(7):526-33.

25. Ronnberg L, Kauppila A, Leppaluoto J, Martikainen H, Vakkuri O. Circadian and seasonal variation in human preovulatory follicular fluid melatonin concentration. J Clin Endocrinol Metab 1990;71(2):492-6.

26. Reiter RJ. Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. Endocr Rev 1991;12(2):151-80.

27. Pablos MI, Agapito MT, Gutierrez R, Recio JM, Reiter RJ, Barlow-Walden L, et al. Melatonin stimulates the activity of the detoxifying enzyme glutathione peroxidase in several tissues of chicks. J Pineal Res 1995;19(3):111-5.

28. Mahmoodi MR, Kimiagar M, Mehrabi Y, Rajab A, Hedayati MA. The effects of omega-3 plus vitamin E and vitamin C plus zinc supplementations on plasma lipids and lipoprotein profile in postmenopausal women with type 2 diabetes Ther Adv Endocrinol Metab 2014;5(4):67–76.

29. Wang CQ, Yang GQ. Betacyanins from Portulaca oleracea L. ameliorate cognition deficits and attenuate oxidative damage induced by D-galactose in the brains of senescent mice. Phytomedicine 2010;17(7):527-32.

30. Yang Z, Liu C, Xiang L, Zheng Y. Phenolic alkaloids as a new class of antioxidants in Portulaca oleracea. Phytother Res 2009;23(7):1032-5.

31. Xiang L, Xing D, Wang W, Wang R, Ding Y, Du L. Alkaloids from Portulaca oleracea L. Phytochemistry 2005;66(21):2595-601.

32. Sharma A, Vijayakumar M, Rao CV, Unnikrishnan MK, Reddy GD. Action of portulaca oleracea against streptozotocin-induced oxidative stress in experimental diabetic rats. J Complement Integr Med 2009;6(1):1-10.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 11:00 IRDT on Monday April 9th 2018

www.SID.ir

Archive of SID

33. Sakihama Y, Cohen MF, Grace SC, Yamasaki H. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. Toxicology 2002;177(1):67-80.

34. YouGuo C, ZongJi S, XiaoPing C. Evaluation of free radicals scavenging and immunity-modulatory activities of Purslane polysaccharides. Int J Biol Macromol 2009;45(5):448-452.

35. Oishi Y, Sakamoto T, Udagawa H, Taniguchi H, Kobayashi-Hattori K, Ozawa Y, et al. Inhibition of increases in blood glucose and serum neutral fat by Momordica charantia saponin fraction. Biosci Biotechnol Biochem 2007;71(3):735-40.

36. Chiou TJ, Tzenq WF. The roles of glutathione and antioxidant enzymes in menadione-induced oxidative stress. Toxicology 2000;154(1):75-84.

37. Bounous G, Molson J. Competition for glutathione prequersors between the immune system and the skeletal muscle: pathogenesis of chronic fatuge syndrome. Med Hypotheses 1999;53(4):347-9.

38. Sen CK. Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutrational supplements. Mol Cell Biochem 1999;196(1-2):31-42.

39. Zaree Mahmodabady AB, Saberi M, Pirzad J, Golmanesh L. Investigation of acetaminophen induction effects on gsh concentration by n-acetylcysteine and 2-oxothrazolidin-4- carboxylate (OTC) and its protective effect on sulfure mustard injures in hf2ff cells. Kowsar Med J 2005;10(3):175-82. [Full Text in Persian]

40. Kelly GE, Husband AJ. Flavonoid compounds in the preventation and treatment of prostate cancer. Prostate Cancer Methods Protoc 2003;81:377-94.

41. Muller T, Renger K, Kuhn W. Levodopa-associated increase of homocysteine levels and sural axonal neurodegeneration. Arch Neurol 2004;61(5):657-60.

42. Blandini F, Fancellu R, Martignoni E, Mangiagalli A, Pacchetti C, Samuele A, et al. Plasma homocysteine and l-dopa metabolism in patients with parkinson disease. Clin Chem 2001;47(6):1102-4.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 11:00 IRDT on Monday April 9th 2018

www.SID.ir