

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 Babaei¹, Samad Zare¹, Maryam Ebadollahi²

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

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

***Corresponding Author:**
Sahar Ebadollahi,
Department of Biology,
Faculty of Sciences, Urmia
University, Urmia, Iran.

Email:
sahar.ebadollahi1220@gmail.com

Received: 3 Nov, 2016

Accepted: 1 Jan, 2017

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.

ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی خرفه (*Portulaca oleracea*) و اثر محافظتی آن بر آسیب کبدی ناشی از سم ۶- هیدروکسی دوپامین در موش صحرایی مبتلا به پارکینسون

سحر عباداللهی^{۱*}، فرین بابائی^۱، صمد زارع^۱، مریم عباداللهی^۲

چکیده

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

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ به طور تصادفی به ۶ گروه کنترل، شم، پارکینسونی، ۲ گروه پارکینسونی تحت درمان با غلظت های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره خرفه (۱۴ روز قبل و بعد جراحی) و گروه پارکینسونی تحت درمان با ۱۵ میلی گرم بر کیلو گرم لوودوپا تقسیم شدند. با تزریق ۲۵۰ میکروگرم 6-OHDA به بطن راست، مدل اولیه بیماری پارکینسون ایجاد گردید. بعد از پایان دوره آزمایش، نمونه های خونی از تمامی گروه ها تهیه و آنزیم های کبدی شامل: آلانین آمینو ترانسفراز، آسپاراتات آمینو ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز در سرم و آنزیم های کاتالاز و مالون دی آلدئید در هموژنات بافت کبد سنجیده شد. داده ها با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: در این مطالعه، میزان آنزیم های ALT، ALP، و AST گروه پارکینسونی افزایش یافت، در حالی که در گروه های دریافت کننده عصاره و گروه دریافت کننده لوودوپا، میزان آنها کاهش نشان داد. همچنین عصاره خرفه باعث افزایش معنی داری فعالیت آنزیم CAT و کاهش معنی دار MAD نسبت به گروه بیمار گردید.

نتیجه گیری: به نظر می رسد می توان از خرفه به علت دارا بودن میزان بالایی از ترکیبات آنتی اکسیدانی به عنوان یک محصول طبیعی برای پیشگیری از آسیب و بیماری های ناشی از استرس اکسیداتیو استفاده کرد.

کلید واژه ها: بیماری پارکینسون؛ لوودوپا؛ آنزیم های کبدی؛ بیماری های کبدی.

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۲گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

سحر عباداللهی، گروه زیست شناسی، 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 به صورت 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]

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*)، ریژیدیت (*Rigidity*)، وضعیت غیرطبیعی قامت و اختلال در راه رفتن مشخص می‌گردد (۱). پارکینسون به تدریج 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 به وسیله آنتی اکسیدان‌های 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 ستاره‌ای شکل کبد که کلاژن را سنتز می‌کنند، سبب ایجاد فیروز کبدی شوند؛ در نتیجه، فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (*ALT*)، آسپاراتات 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 (۴، ۵). مطالعات نشان می‌دهد در سطح مولکولی، فنل‌های گیاهی از قبیل فلاونوئیدها، فلاونولیگنان‌ها و اسیدهای فنلیک می‌توانند به عنوان آنتی اکسیدان‌های 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 به عنوان سبزی خوردن کاشته می‌شود (۹-۶). این گیاه به علت داشتن خواصی همچون آنتی سبتیک، ضد اسپاسمودیک، دیورتیک، ضد تب، شل‌کننده عضلانی، آنتی اکسیدان، تقویت سیستم ایمنی، تصفیه کننده خون و رفع

تشنگی، کاربرد درمانی دارد (۱۱-۷). قابل ذکر است هیچ نشانه سمی قابل توجهی 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، آلفا توکوفرول، اسید اسکوربیک، بتاکاروتن، گلوتاتیون و اسید آلفا لینولنیک، 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 (۷، ۸) (۱۱-۱۳).

رایج‌ترین داروی به کاررفته 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 طولانی مدت با آن نیز از فعالیت سیستم پروتئازوم‌ها می‌کاهد (۱۴). در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد لوودوپا با ناتوان کردن 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، از جمله هیدروکسیل می‌گردد (۱۶).

با توجه به اینکه متابولیسم و سم‌زدایی داروها در کبد انجام می‌شود، همچنین به علت 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.

در طول آزمایش، آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها گذاشته شد. دمای حیوانخانه بین 22 ± 3 درجه سانتیگراد متغیر بود. قبل از شروع دوره درمان به مدت یک هفته به موش‌ها اجازه داده شد خود را با شرایط محیط تطبیق دهند.

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

به گروه‌های شم و بیمار، حلال عصاره همراه با داروها و به گروه‌های بیمار تیمار شده؛ عصاره هیدروالکلی برگ خرفه روزانه (در بازه زمانی ۱۲-۱۰ صبح با غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) 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 به وسیله دستگاه استریوتاگس جراحی شدند. کانول گذاری براساس اطلس واتسون و پاکسینوس (با مختصات قدامی خلفی: $0/8$ میلی متر، خط جانبی $1/6$ میلی متر و عمقی نسبت به برگما $3/5$ میلی متر) به صورت یک طرفه به داخل بطن راست مغز انجام شد. در ادامه، به گروه‌ها بجز گروه کنترل و شم؛ سم ۶- هیدروکسی دوپامین به میزان ۲۵۰ میکروگرم به ازای هر حیوان، ۵ میکرولیتر نرمال سالین و به همراه آن $0/2\%$ اسیداسکوربیک به کمک سرنگ هامیلتون تزریق شد (۱۷). با اتمام عمل تزریق، سر حیوانات با استفاده از سیمان دندان پزشکی بسته شد. برای تأیید القای پارکینسون، آزمون‌های پیچش و چرخش القاشده با آپومورفین انجام گرفت. در پایان، تمام حیوانات با دی‌اتیل‌تر، داخل دسیکاتور بیهوش شده و کالبدشکافی روی آنها انجام گرفت، سپس از قلب آنها به وسیله سرنگ‌های هیپارینه خونگیری به عمل آمد. نمونه‌ها پس از مکث ۳۰ دقیقه‌ای، به منظور لخته شدن خون، در دمای 37 درجه سانتیگراد سانتریفوژ شده و سرم سریعاً جدا و در دمای -30 درجه سانتیگراد برای سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی نگهداری شدند.

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

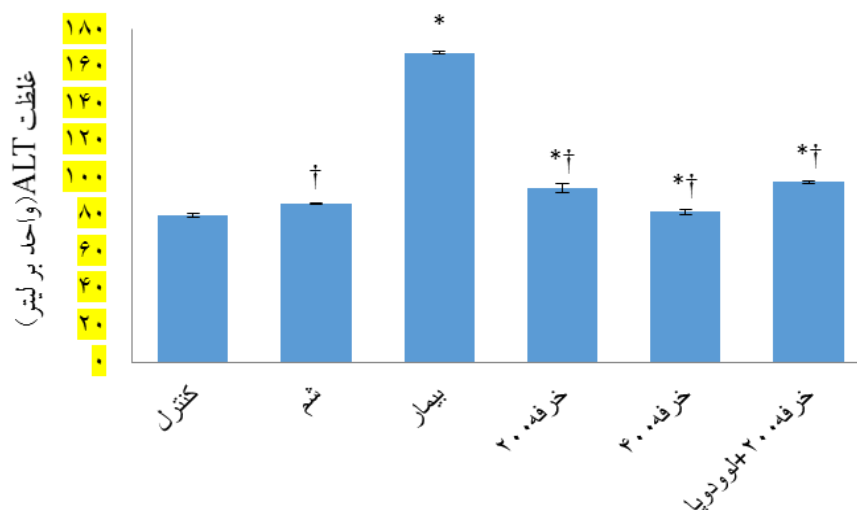
فعالیت کاتالاز براساس توانایی آن در تجزیه H_2O_2 در بافت هموژنیزه شده بیضه به روش Aebi تعیین گردید (۱۸). تجزیه H_2O_2 با کاهش جذب در طیف جذبی ۲۴۰ نانومتر قابل بررسی می‌باشد.

سطح پراکسیداسیون لیپیدها با استفاده از روش Cheeseman و Esterbauer اندازه‌گیری شد (۱۹). مالون‌دی‌آلدئید، محصول نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب بوده که با تیوباربتویک 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 نرم افزار SPSS نسخه ۱۶، آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند، سطح معنی داری، $p < 0/05$ 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.

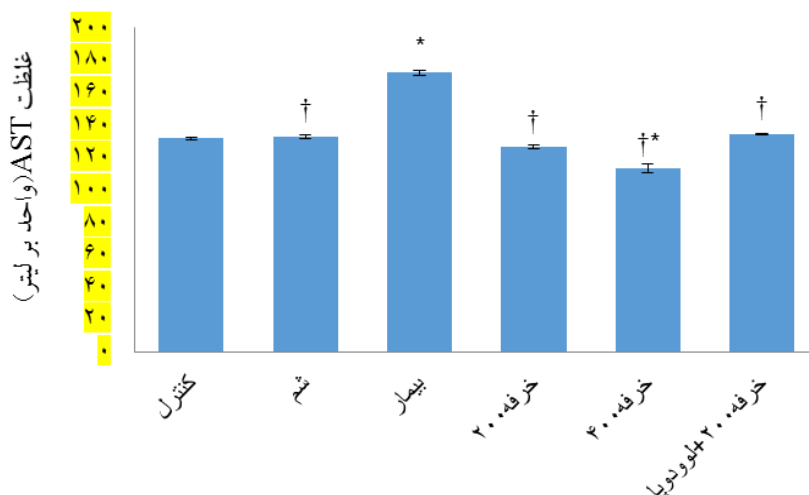
در این مطالعه، آنزیم ALT گروه بیمار نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی داری داشت. همچنین دریافت ۲۰۰ میلی گرم عصاره به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان و گروه ترکیب درمانی لوودوپا باعث کاهش ALT نسبت به گروه بیمار شد و نسبت به گروه کنترل باعث افزایش معنی دار آنزیم ALT گردید. گروه ترکیبی لوودوپا نسبت به گروه دریافت کننده ۴۰۰ میلی گرم عصاره، افزایش معنی دار و نسبت به گروه دریافت کننده عصاره ۲۰۰ میلی گرم، کاهش غیرمعنی داری نشان داد. دریافت غلظت ۴۰۰ میلی گرم عصاره باعث کاهش حداکثری میزان آنزیم ALT نسبت به گروه بیمار و گروه دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم عصاره شد و نسبت به گروه کنترل باعث افزایش ALT گردید، ولی این افزایش اختلاف معنی داری نشان نداد. در گروه‌های بیمار (دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم عصاره و عصاره + لوودوپا) نسبت به گروه شم، افزایش معنی داری مشاهده شد (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: مقایسه میزان فعالیت آنزیم ALT سرم در گروه‌های مورد مطالعه. تعداد موش‌ها در هر گروه (n=6) و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار می‌باشد. علامت * و † به ترتیب مقایسه گروه کنترل و بیمار را در سطح $p < 0.05$ نشان می‌دهد.

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

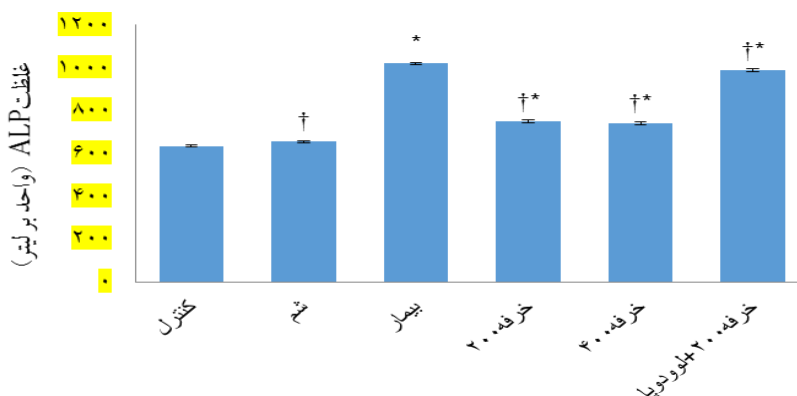
در نمودار شماره ۲، نتیجه اثر خرفه و لوودوپا بر آنزیم AST کبدی سرم سطح سرمی آنزیم AST، نشان‌دهنده آسیب کبدی در بیماری پارکینسون القا شده با ۶- هیدروکسی دوپامین می‌باشد، همچنین اثر محافظتی غلظت‌های مختلف عصاره بر سطح سرمی آنزیم AST در گروه بیمار، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. تمامی گروه‌های 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.



نمودار شماره ۲: مقایسه میزان فعالیت آنزیم AST سرم در گروه‌های مورد مطالعه. تعداد موش‌ها در هر گروه (n=6) و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار می‌باشد. علامت * و † به ترتیب در مقایسه گروه کنترل و بیمار را در سطح $p < 0.05$ نشان می‌دهد.

همچنین این شاخص در گروه دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم عصاره نسبت به گروه دریافت کننده ۴۰۰ میلی گرم عصاره، افزایش غیرمعنی داری نشان داد. میزان ALP در گروه دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم عصاره نسبت به گروه ترکیبی عصاره + لوودوپا، کاهش معنی داری یافت و در گروه های بیمار، گروه دریافت کننده ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم عصاره و گروه ترکیبی عصاره + لوودوپا نسبت به گروه شم، افزایش معنی داری نشان داد (نمودار شماره ۳).

میزان ALP در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل به صورت معنی داری افزایش یافت. میزان ALP در گروه های دریافت کننده ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم عصاره نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی داری نشان داد و نسبت به گروه بیمار، کاهش معنی دار بود. این میزان در گروه ترکیبی لوودوپا نسبت به گروه های کنترل، شم، و گروه دریافت کننده ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم عصاره، به صورت معنی داری افزایش یافت و نسبت به گروه بیمار، کاهش معنی دار بود.



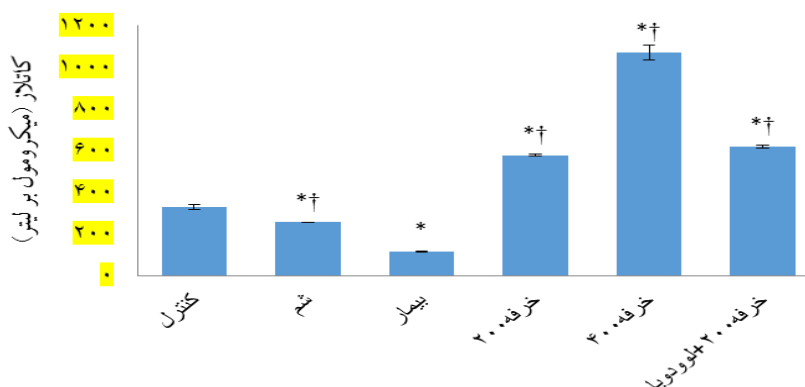
نمودار شماره ۳: مقایسه میزان فعالیت آلکالین فسفات سرم خون در گروه های مورد مطالعه.

تعداد موش ها در هر گروه. $n=6$ و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار می باشد.

علامت * و † به ترتیب مقایسه با گروه کنترل و بیمار را در سطح $p < 0.05$ نشان می دهد.

این مقدار در گروه ترکیبی لوودوپا نسبت به گروه دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم عصاره با اختلاف معنی دار، افزایش نشان داد و در گروه شم نسبت به گروه بیمار، افزایش معنی دار بود و نسبت به گروه های کنترل، گروه دریافت کننده ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم عصاره و گروه ترکیبی عصاره + لوودوپا، به صورت معنی داری کاهش یافت (نمودار شماره ۴).

میزان آنزیم کاتالاز بافت کبد در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی داری نشان داد. میزان این آنزیم در همه گروه های درمانی دریافت کننده عصاره نسبت به گروه کنترل و بیمار با اختلاف معنی داری افزایش یافت. بیشترین افزایش میزان آنزیم کاتالاز مربوط به گروه دریافت کننده ۴۰۰ میلی گرم عصاره بود که نسبت به سایر گروه ها، اختلاف معنی داری داشت.



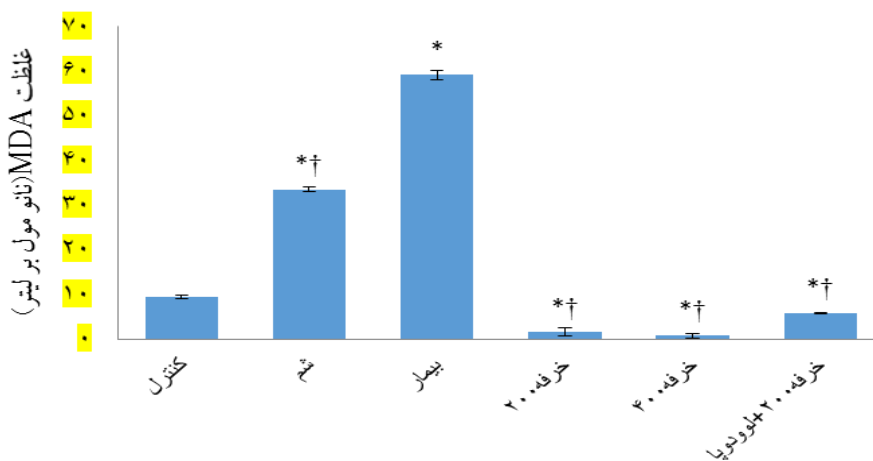
نمودار شماره ۴: مقایسه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بافت کبد در گروه های مورد مطالعه.

تعداد موش ها در هر گروه $n=6$ و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار می باشد.

علامت * و † به ترتیب مقایسه گروه کنترل با گروه بیمار را در سطح $p < 0.05$ نشان می دهد.

در گروه دریافت کننده عصاره ۲۰۰ میلی گرم، میزان MDA نسبت به گروه های کنترل، بیمار، شم و لوودوپا به صورت معنی داری کاهش یافت. بیشترین کاهش میزان MDA کبد مربوط به عصاره با غلظت ۴۰۰ میلی گرم بود که نسبت به گروه های لوودوپا، کنترل، شم و بیمار، معنی دار بود و نسبت به گروه دریافت کننده عصاره ۲۰۰ میلی گرم، معنی دار نبود (نمودار شماره ۵).

طبق نتایج مطالعات، سطوح پایین یا فقدان پراکسیداسیون لیپیدی، منعکس کننده اثرات محافظتی آنزیم های آنتی اکسیدان است. در این مطالعه براساس آزمایش های بیوشیمیایی بافت کبد، افزایش چشمگیری در میزان MDA کبد گروه بیمار مشاهده گردید که این افزایش نسبت به گروه کنترل و سایر گروه ها معنی دار بود.



نمودار شماره ۵: مقایسه میزان غلظت MDA (نانومول بر لیتر) بافت کبد در گروه های مورد مطالعه. تعداد موش ها در هر گروه n=6 و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار می باشد. علامت * و $\dagger$ به ترتیب در مقایسه با گروه کنترل و بیمار را در سطح $p < 0.05$ نشان می دهد.

جدول: میانگین غلظت سرمی آنزیم های کبدی در پی دریافت مقادیر مختلف خرفه و لوودوپا در موش های مبتلا به پارکینسون

گروه ها	متغیرها	کاتالاز (میکرومول بر لیتر)	مالون دی آلدئید (نانومول بر لیتر)	ALT (میکرو لیتر)	AST (U/L)	ALP (U/L)
کنترل		328 ± 11/2	9/5 ± 0/4	79/3 ± 1/2	131/8 ± 0/9	635 ± 4
شم		255/5 ± 1/4	33/5 ± 0/5	85/6 ± 0/3	133/1 ± 1/1	655 ± 5/5
بیمار		113/7 ± 2/7	59/1 ± 0/9	167/4 ± 0/6	172/2 ± 1/2	102/3 ± 5/2
خرفه (۲۰۰ میلی گرم)		577/8 ± 5/2	1/5 ± 0/9	94/3 ± 2/3	126/3 ± 1/2	750 ± 6/4
خرفه (۴۰۰ میلی گرم)		1071/2 ± 35/1	0/8 ± 0/4	81/3 ± 1/6	113/3 ± 2/8	742 ± 6/9
خرفه (۲۰۰ میلی گرم) و لوودوپا (۱۵ میلی گرم)		619/4 ± 6/6	5/8 ± 0/1	97/4 ± 0/5	134/6 ± 0/3	988 ± 6/4

*مقادیر به دست آمده هر یک از متغیرها براساس انحراف معیار $\pm$ میانگین می باشد.

بحث

با خرفه افزایش داشت. در شرایط فیزیولوژیک سیستم آنتی اکسیدانی با ایجاد تعادل بین میزان تولید اکسیدان ها و برداشت آن ها، مانع از پروکسیداسیون زیانبار لیپیدهای غشایی و در نتیجه تولید مالون دی آلدئید می شود. لذا از آنجایی که خرفه سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدانی است، مصرف آن می تواند موجب تقویت سیستم آنتی اکسیدانی شود. کاتالاز آنزیم آنتی اکسیدانی است که در بافت های حیوانی به طور گسترده ای منتشر بوده و دارای بیشترین فعالیت در کبد و گلبول های قرمز است.

نتایج این مطالعه نشان داد تیمار با عصاره خرفه، کاهش معنی داری را در مقادیر ALP، ALT، AST سرم در مقایسه با گروه بیمار ایجاد می کند. با توجه به اینکه این فاکتورها (به عنوان شاخص آسیب های کبدی)، در گروه های آسیب های کبدی و دریافت کننده عصاره، به طور معنی داری کاهش یافت، اما فعالیت آنزیم کاتالاز در کبد گروه های بیمار نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد و فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه های پیشگیری

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 فیروزه، 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 آنتی اکسیدانی 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 آنتی اکسیدانی را به صورت افزایشی تنظیم کند (۲۵،۲۳). در برخی تحقیقات نیز اشاره شده، ملاتونین آنتی اکسیدانی قوی است (۲۳) و می‌تواند به طور مستقیم رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنشی را تجزیه کند (۲۶). همچنین، ملاتونین انواع آنزیم‌های آنتی اکسیدانی 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 آنتی اکسیدانی آن مربوط باشد.

مطالعات آزمایشگاهی نشان داده‌اند ویتامین‌های آنتی اکسیدان می‌توانند از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری کرده و ویتامین‌های C و E، اثرات تشدیدکننده دارند. درضمن، اخیراً محققان دریافته‌اند آلفا توکوفرول، استرس اکسیداتیو و التهاب، از طریق کاهش آزادسازی سیتوکین‌های پیش التهابی، کاهش چسبندگی مونوسیت به آندوتلیوم، کاهش میزان CRP پلاسما (C-reactive Protein) و کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید پلاسما نقش مهمی در پیشگیری از آترواسکروز دارند (۲۸). در مطالعه Wang در پی 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 به عنوان یکی از مکانیسم‌های احتمالی، مطرح و قابل بحث است. از طرفی، گیاه خرفه دارای مقادیر زیادی آلفا لینولئیک اسید، بتاکاروتن، فلاونوئید، کومارین‌ها، گلیکوزیدهای مونوترپنی و آلکالوئید، مواد آنتی اکسیدان 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 P450 و خنثی سازی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۳۲)؛ لذا اثرات ایجادشده می‌تواند به این ترکیبات گیاه، به ویژه امگا-۳ و لینولئیک اسید مرتبط باشد.

ترکیبات فلاونوئیدی نظیر کوئرستین موجود در خرفه، واجد فعالیت هیپوگلیسمی هستند. ترکیبات پلی فنلی گیاهی درون سلول‌ها می‌توانند به عنوان دهنده‌های الکترون عمل کرده و به دو روش آنزیمی و غیر آنزیمی اثر آنتی اکسیدانی و آنتی پراکسیدانی 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 آنتی اکسیدانی، 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 بیمارانی که دچار مسمومیت کبدی می‌شوند نیز متابولیت‌های فعال تشکیل شده از راه سیتوکروم P450 افزایش یافته و سبب نکرور کبدی می‌شود که مقادیر توکسیک بستگی به سطح گلوتاتیون دارد (۳۶). گلوتاتیون دارای نقش فیزیولوژیکی در حفظ هومئوستاز و متابولیسم بدن، حفاظت سلول‌ها در مقابل عوامل آنتی اکسیدان و عفونت‌ها می‌باشد (۳۷،۳۸). گلوتاتیون با افزایش سن، همچنین ابتلا به بیماری‌های آلزایمر و پارکینسون کاهش می‌یابد.

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 به دلیل وجود سطح بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در این گیاه می‌باشد. به نظر 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.

تحقیقات اخیر نشان داده است تأمین سوبسترای لازم جهت سنتز گلوکاتایون با رژیم غذایی، میزان سلولی آن را به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌دهد (۳۹). مطالعات در مورد گیاه خرفه نشان داده است این گیاه حاوی گلوکاتایون بوده که باعث تغییر فعالیت آنزیم گلوکاتایون 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 (۴۱، ۴۲).

References:

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Craig WJ. Health-promoting properties of common herbs. *Am J Clin Nutr* 1999;70(3 Suppl):491S-499S.
- Zargari A. Medical plants. Tehran: Tehran University Press; 2001. p. 451-53. [Text in Persian]
- Akhonzadeh SH. Encyclopedia of Iranian medicinal plants. Tehran: Arjmand Press; 2000. p. 115. [Text in Persian]
- 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.
- 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]
- Simopoulos AP, Norman HA, Gillaspie JE, Duke JA. Common Purslane a souree of omega 3- fattyaads and antioxidants. *J Am Coll Nutr* 1992;11(4):374-82.
- Mohamed AI, Hussein AS. Chemical composition of purslaune (*Portulaca Oleracea*). *Plant Foods Hum Nutr* 1994;45(1):1-9.

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.

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 fatigue 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 prevention 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.