



اثر عصاره هیدروالکلی بذر خرفه و تمرین هوازی بر نشانگران بیوژنز میتوکندری و تخریب DNA بافت کبد در رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن

فروغ فولادی: گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

محمد علی آذربایجانی: گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، (* نویسنده مسئول) m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

مقصود پیری: گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

فرشاد غزالیان: گروه تربیت بدنی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

کلیدواژه‌ها

تمرین هوازی،

خرفه،

بیوژنز میتوکندری،

بافت کبد،

رت‌های صحرایی

زمینه و هدف: آنتی اکسیدان‌ها و فعالیت ورزشی در شرایط پاتولوژیک حاصل از آسیب‌های اکسایشی می‌توانند در محدود کردن بیماری‌های کبدی نقش ایفا کنند. هدف از این تحقیق، بررسی اثر بذر خرفه و تمرین هوازی بر نشانگران بیوژنز میتوکندری و تخریب DNA بافت کبد در رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن بود.

روش کار: در یک کارآزمایی تجربی، ۵۴ سر رت نر ویستار به طور تصادفی در ۹ گروه قرار گرفتند. تمامی گروه‌ها ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن پراکسید هیدروژن (H_2O_2) را به مدت ۱۴ روز و به صورت درون صفاقی دریافت کردند. رت‌ها در گروه‌های مکمل، عصاره هیدروالکلی خرفه با دوزهای ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در روز به روش گاواژ دریافت کردند. تمرین هوازی روی تردمیل با سرعت ۲۳ متر در دقیقه، ۳۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته و به مدت هشت هفته اجرا گردید. داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: بذر خرفه و مداخله ترکیبی بذر خرفه با تمرین هوازی منجر به افزایش معنی‌دار سطوح U - 6 -متیل گوانین-DNA-متیل ترانسفراز و تعادل اکسیدان-پرواکسیدان (PAB)، همچنین کاهش معنی‌دار مقادیر آدنوزین تری فسفات (ATP) و مالون دی آلدهید (MDA) بافت کبد رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن شد ($P < 0.05$). میزان اثر تعاملی تمرین هوازی و بذر خرفه بیشتر از مکمل و تمرین به تنهایی بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها، مداخله توأمان تمرینات منظم هوازی و مصرف دوزهای مختلف مکمل خرفه عامل تعدیل کننده در بیوژنز میتوکندری و اثرگذار در کاهش تخریب DNA بافت کبد می‌باشد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Foladi F, Azarbayjani M.A, Peeri M, Ghazaliyan F. the Effect of Purslane (Portulaca Oleracea) Seed Hydroalcoholic Extract and Aerobic Training on Mitochondrial Biogenesis Markers and DNA Damage in Liver Tissues in Rats Toxicated by Hydrogen Peroxide. Razi J Med Sci. 2020;27(10): 167-177.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با 3.0 CC BY-NC-SA صورت گرفته است.

the Effect of Purslane (*Portulaca Oleracea*) Seed Hydroalcoholic Extract and Aerobic Training on Mitochondrial Biogenesis Markers and DNA Damage in Liver Tissues in Rats Toxicated by Hydrogen Peroxide

Forogh Foladi: Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Mohammad Ali Azarbayjani: Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. (* Corresponding author) Dr.m.esmaeili@gmail.com

Maghsoud Peeri: Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Farshad Ghazaliyan: Department of Physical Education and Sport Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Background & Aims: Under normal conditions, the aerobic metabolism of the liver takes place with the constant production of pro-oxidants such as reactive oxygen species, which maintain the balance through their consumption at a similar rate by antioxidants. Slow imbalance in the ratio of prooxidants-antioxidants suggests the hypothesis of oxidative stress in body tissues. Oxidative stress is a condition during which the prooxidant-antioxidant balance (PAB) is disrupted and the redox state (oxidation-regeneration) leads to the disruption of this balance. During this process, free radicals are created on the surface of the cell membrane and cause damage to the cell membrane and the membrane of the organelles inside the cell, especially mitochondria. On the other hand, the abnormal increase in lipid peroxidation leads to damage to cell membranes and organelles. Malondialdehyde (MDA) is the final product of fatty acid oxidation, and measuring the level of malondialdehyde as an index of lipid peroxidation is of special clinical importance in determining the amount of free radicals. An increase in the tissue level of malondialdehyde is a sensitive and specific criterion related to lipid autooxidation. In the conditions of increasing or decreasing inhibition of free radicals, an imbalance in prooxidant expression is created, which is the basis and principle of the pathogenesis of acute and chronic diseases. Hepatic is mentioned. It has been found that regular physical exercises increase the antioxidant status in many tissues, including the liver. Some studies have shown the positive effects of physical exercise on improving the ratio of prooxidants and factors involved in mitochondrial biogenesis and DNA degradation. On the other hand, the evidence shows that in various physiological and pathological conditions, endogenous antioxidants cannot completely prevent oxidative damage. Purslane, with the scientific name *Portulaca Oleracea*, belongs to the genus *Portulaca* and is a widely used plant among medicinal plants, it is a strong source of omega-3 fatty acids, beta-carotene, ballotins, kaempferol, quercetin, apigenin, glutathione, noradrenaline, and dopamine. As mentioned, the imbalance between prooxidant and antioxidant factors will increase oxidative stress markers, which will ultimately affect the mitochondrial function of the cell. The beneficial effects of moderate-intensity aerobic exercise on preventing the progression of mitochondrial disorders have been shown, but the mechanisms involved are not well understood. Studies show that the increase in the amount of reactive oxygen species in both chronic and acute forms, under pathophysiological conditions, is essential for the development of liver diseases. Antioxidants that are effective against ROS can play a major role in limiting liver diseases and their clinical disorders such as diabetes, and fatty liver disease. Therefore, despite these problems and disorders, it is necessary to investigate the ratio of prooxidants and antioxidants and the balance between them, and gaining a correct view of this situation can help people who are

Keywords

Aerobic Exercise,
The Profession,
Mitochondrial
Biogenesis,
Liver Tissue,
Desert Rats

Received: 31/10/2019

Published: 31/12/2020

prone to liver diseases and follow-up treatment with Antioxidant supplements are of great help. Considering the potential role of purslane seeds and regular physical exercises to deal with oxidative damage, this research aims to investigate the effect of purslane seeds and aerobic exercise on mitochondrial biogenesis markers and liver tissue DNA damage in female rats poisoned with hydrogen peroxide.

Methods: In an experimental trial, 54 male Wistar rats were randomly divided into 9 groups. All groups received 100 mg/kg body weight of hydrogen peroxide (H₂O₂) intraperitoneally for 14 days. Rats in the supplemented groups received purslane hydroalcoholic extract with doses of 50, 200, and 400 mg per day by gavage method. Aerobic exercise was performed on a treadmill at a speed of 23 meters per minute, 30 minutes per day, 5 days per week, and for eight weeks. The data were analyzed using a two-way analysis of variance and the Bonferroni post hoc test at a significance level of $P < 0.05$.

Purslane seeds and the combined intervention of purslane seeds with aerobic training led to a significant increase in the levels of O-6-methylguanine-DNA-methyltransferase and oxidant-prooxidant balance (PAB), as well as a significant decrease in adenosine triphosphate (ATP levels) and malondialdehyde (MDA) in the liver tissue of female rats poisoned with hydrogen peroxide ($P < 0.05$). The interactive effect of aerobic exercise and purslane seeds was higher than supplementation and exercise alone.

Conclusion: According to the findings, the combined intervention of regular aerobic exercises and consumption of different doses of purslane supplement is a modulating factor in mitochondrial biogenesis and effective in reducing liver tissue DNA damage. In summary, the results of the present research showed that purslane seeds and the combined intervention of purslane seeds with aerobic exercise are modulating factors in mitochondrial biogenesis and are effective in reducing liver tissue DNA damage. Therefore, it is recommended to use the combined intervention of aerobic exercise and purslane seeds as a preventive method for liver damage. In the future, it is suggested to conduct a study on different protocols of aerobic exercise and purslane seeds on the structure and function of liver tissue. The results of the present study showed that aerobic exercise led to the improvement of PAB, MDA, ATP, and 6-methylguanine levels in the liver tissue of female rats poisoned with hydrogen peroxide. About the effect of exercise on mitochondrial biogenesis and DNA damage in liver tissue, there have been few studies that have expressed different mechanisms in the interpretation of the results. Several studies have tried to find effective mechanisms in improving mitochondrial biogenesis and DNA damage following exercise; The body has sufficient antioxidant reserves to deal with ROS production under physiological conditions, but when ROS production increases, as occurs during exercise, the imbalance between prooxidants and antioxidants favors prooxidants may occur and may lead to disruption of redox control and signaling or molecular damage.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Foladi F, Azarbayjani M.A, Peeri M, Ghazaliyan F. the Effect of Purslane (*Portulaca Oleracea*) Seed Hydroalcoholic Extract and Aerobic Training on Mitochondrial Biogenesis Markers and DNA Damage in Liver Tissues in Rats Toxicated by Hydrogen Peroxide. *Razi J Med Sci.* 2020;27(10): 167-177.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

مقدمه

در شرایط طبیعی سوخت و ساز هوازی کبد با تولید ثابت پرواکسیدان‌هایی مانند گونه‌های فعال اکسیژن صورت می‌گیرد که تعادل را از راه مصرف آن‌ها با سرعت مشابه‌ای توسط آنتی اکسیدان‌ها برقرار می‌کند. عدم تعادل در نسبت پرواکسیدان‌ها-آنتی اکسیدان‌ها فر ضیه استرس اکسیداتیو را در بافت‌های بدن مطرح می‌نماید (۱). استرس اکسایشی شرایطی است که طی آن تعادل پرواکسیدانت-آنتی اکسیدانت (PAB) مختل می‌شود و وضعیت رودکس (اکسیداسیون-احیا) به سمت برهم خوردن این تعادل سوق می‌یابد. طی این فرایند رادیکال‌های آزاد در سطح غشای سلول ایجاد شده و سبب آسیب به غشای سلول و غشای اندامک‌های داخل سلول به خصوص میتوکندری می‌شود (۲). از سوی دیگر افزایش غیرطبیعی پراکسیداسیون لیپیدی منجر به آسیب غشا و اندامک‌های سلولی می‌شود. مالون دی آلدئید (MDA) محصول نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب است و سنجش میزان مالون دی آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در تعیین میزان رادیکال‌های آزاد از اهمیت بالینی ویژه‌ای برخوردار است (۳). افزایش سطح بافتی مالون دی آلدئید معیاری حساس و اختصاصی در ارتباط با اتواکسیداسیون لیپیدی است و در شرایط افزایش یا کاهش مهار رادیکال‌های آزاد حالت عدم تعادل در بیان پرواکسیدانی ایجاد می‌شود که به عنوان اساس و اصل پاتوژنز بیماری‌های حاد و مزمن کبدی مطرح می‌باشد (۴).

مشخص شده است که تمرینات بدنی منظم وضعیت آنتی اکسیدانی در بسیاری از بافت‌ها از جمله کبد را افزایش می‌دهند (۵). برخی مطالعات اثرات مثبت تمرین بدنی بر بهبود نسبت پرواکسیدان‌ها-آنتی اکسیدان‌ها و عوامل درگیر در بیوژنز میتوکندریایی و تخریب DNA را نشان داده‌اند (۶). در همین راستا، محققان نشان دادند سطح MDA در آزمودنی‌های غیرفعال نسبت به آزمودنی‌های تمرین کرده بالاتر بود (۷). سیو (Siu) و همکاران نیز نشان دادند که آسیب DNA ناشی از اکسیدانت پس از ۸ و ۲۰ هفته تمرین اختیاری در عضلات قلبی و اسکلتی رت‌های صحرایی کاهش یافت. همچنین افزایش بیان O-6

methyguanine-DNA متیل ترانسفراز در گروه تمرین ۲۰ هفته نسبت به گروه کنترل مشاهد شد (۸). مالکارجون (Mallikarjuna) و همکاران نیز نشان دادند تمرینات هوازی آسیب اکسیدایشی ناشی از اتانول در کبد رت‌های مسن و جوان به دنبال مصرف اتانول را بهبود بخشید (۹).

از طرفی شواهد نشان می‌دهد که در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک گوناگون مواد ضد اکسایشی درون‌زا نمی‌توانند به طور کامل از آسیب‌های اکسایشی جلوگیری کنند در چنین مواقعی این مواد باید به صورت مواد مغذی و مکمل‌های خوراکی وارد بدن شوند (۱۰). خرفه یا پرپین با نام علمی *Portulaca Oleracea* از تیره پرتولاسه بوده و یک گیاه پر کاربرد در بین گیاهان دارویی است که منبع قوی از اسیدهای چرب امگا-۳، بتاکاروتن، گالوتانین‌ها، کامپفرول، کوارستین، اپیگنین، گلوتاتیون، نورآدرنالین و دوپامین می‌باشد (۱۱). همچنین این گیاه سرشار از ترکیبات فنلی، پلی فنلی و مواد آنتی اکسیدان است (۱۲). فنولیک آلکالوئید این گیاه دارای فعالیت پاک‌سازی رادیکال ۱-دیفنیل-۲-پیکریل هیدروزیل (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Radical*) می‌باشد و اثر بازداری بر هیدروژن پراکسید دارد که باعث افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها می‌شود (۱۳). در مطالعات متعدد، اثرات آنتی اکسیدانی خرفه گزارش شده است (۱۴). با این حال تاکنون اثرات این گیاه بر آسیب DNA بافت‌های مختلف بدن به ویژه کبد مورد بررسی قرار نگرفته است.

همانطور که ذکر شد، عدم تعادل بین عوامل پرواکسیدانت و آنتی اکسیدانت باعث افزایش مارکرهای استرس اکسیداتیو خواهد شد که در نهایت عملکرد میتوکندری سلول را تحت تاثیر قرار می‌دهد. اثرات مفید تمرینات هوازی با شدت متوسط بر جلوگیری از پیشرفت اختلال میتوکندری نشان داده شده است اما سازوکارهای درگیر به خوبی شناخته نشده‌اند. بررسی‌ها نشان می‌دهند که افزایش میزان گونه‌های اکسیژن واکنشگر به دو صورت مزمن و حاد، تحت شرایط پاتوفیزیولوژیک برای گسترش بیماری‌های کبدی مهم و اساسی می‌باشند. آنتی اکسیدان‌هایی که بر ضد ROS مؤثر هستند می‌توانند نقش اصلی در محدود کردن بیماری‌های کبدی و اختلالات بالینی آن

اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی برابر پروتکل هلیسنکی ۲۰۰۶ و مطالعات انسانی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت. جهت القای فشار اکسیداتیو تمامی گروه‌ها ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ساخت شرکت سیگما آلدیج را به مدت ۱۴ روز و به صورت درون صفاقی بر اساس مطالعه کومار و همکاران (۲۰۱۱) دریافت کردند (۱۵).

در راستای آماده سازی عصاره، دوز خرفه بر اساس مطالعات قبلی انتخاب گردید (۱۶). پس از تهیه بذر گیاه خرفه، ابتدا دانه‌های گیاه خرفه در هوای آزاد، دور از نور خورشید و در سایه، خشک شده و سپس به وسیله آسیاب برقی به پودر بسیار ریز تبدیل شد. جهت تهیه عصاره هیدروالکلی عصاره گیری در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه، از روش خیساندن استفاده شد. به این ترتیب که ۵۰ گرم از گیاه خرفه پودر گردید و سپس آن‌ها را داخل ظروف شیشه‌ای تیره ریخته و به آن ۱۰۰ میلی لیتر الکل اتلیک اضافه شد. بعد از ۴۸ ساعت با کاغذ صافی محلول صاف شده و بعد از خروج تمامی مواد به دست آمده در آن با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد و بعد از گذشت ۴۸ ساعت عصاره خشک شده جمع‌آوری گردید. به این عصاره خشک ۱۴۵ سی سی، سرم فیزیولوژی تزریقی اضافه و از آن محلول‌های ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ تهیه گردید. رت‌ها در گروه‌های مکمل، عصاره هیدروالکلی خرفه با دوزهای ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در روز به روش گاواژ دریافت کردند.

گروه‌های تمرین پس از آشناسازی ۵ روزه، تمرینات هوازی روی تردمیل با سرعت ۲۳ متر در دقیقه، ۳۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته و به مدت هشت هفته انجام دادند. پروتکل تمرین ورزشی حاضر بین ساعت ۶،۰۰ و ۸،۰۰ صبح اجرا شد (۱۷).

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها بوسیله تزریق درون صفاقی کتامین ۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زایلازین ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم بی‌هوش شده، سپس نمونه بافت کبد رت‌ها جمع‌آوری شد. بافت کبد رت‌ها جدا شده و بعد از شستن با محلول

مانند دیابت، بیماری کبد چرب ایفا کنند. بنابراین با وجود این مشکلات و اختلالات، لازم است وضعیت نسبت پرواکسیدان‌ها آنتی اکسیدان‌ها و تعادل میان آنها بررسی شده و کسب دیدگاهی صحیح از این وضعیت می‌تواند به درمان افراد در معرض ابتلا به بیماری‌های کبدی و پیگیری درمان با مکمل‌های آنتی اکسیدانی کمک شایان توجهی نماید. با توجه به نقش بالقوه بذر خرفه و تمرینات منظم بدنی برای مقابله با آسیب اکسیداتیو هدف تحقیق حاضر بررسی تاثیر بذر خرفه و تمرین هوازی بر نشانگران بیوژنز میتوکندریایی و تخریب DNA بافت کبد در رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن می‌باشد.

روش کار

در یک کارآزمایی تجربی ۵۴ رت نر نژاد ویستار از موسسه انستیتو پاستور تهران شدند. پس از انتقال رت‌ها به حیوان خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، رت‌ها به مدت یک هفته جهت تطابق با محیط جدید، بدون دریافت هیچ نوع مداخله‌ای در قفس‌های ویژه نگهداری شدند. پس از یک هفته آشنایی با محیط جدید، رت‌ها به صورت تصادفی به ۹ گروه شامل (۱) کنترل (مسموم شده با پراکسید هیدروژن بدون دریافت خرفه)، (۲) تمرین هوازی، (۳) تمرین هوازی - ۵۰ میلی گرم خرفه به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، (۴) تمرین هوازی - ۲۰۰ میلی گرم خرفه به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، (۵) تمرین هوازی - ۴۰۰ میلی گرم خرفه به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، (۶) خرفه ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، (۷) خرفه ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، (۸) خرفه ۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، (۹) کنترل سالم تقسیم شدند. گروه‌های مورد مطالعه در قفسه‌های مخصوص چوندگان از جنس PVC با درپوش توری فلزی که کف آن‌ها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود، تقسیم شدند. دمای اتاق ۲۵-۲۳ درجه سانتیگراد؛ رطوبت معادل ۵۰-۴۰ درصد، سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ بود و همگی به شکل آزادانه به غذای استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب دسترسی داشتند. کلیه

PBS بلافاصله در نیتروژن مایع (۱۹۶- درجه سانتی گراد) منجمد شده و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد ذخیره شد. میزان غلظت 6-methylguanine با استفاده از کیت الایزا شرکت DLdevelop کشور کانادا با دامنه تشخیص ۵۰۰۰-۱۲۵ پیکوگرم بر میلی لیتر، حساسیت ۲۷ پیکوگرم بر میلی لیتر و ضریب تغییرات ۱۰-۱۲٪، MDA با استفاده از کیت الایزا شرکت CUSABIO کشور آمریکا با دامنه تشخیص ۲۵-۲۰۰۰ پیکومول بر میلی لیتر، حساسیت ۷/۸۱ پیکومول بر میلی لیتر و ضریب تغییرات ۱۰-۸٪، ATP با استفاده از کیت الایزا شرکت abnova کشور تایوان با حساسیت ۰/۰۲ میکرومولار و PAB بافت کبد با استفاده از روش ایمنونسنجی اندازه گیری شد.

برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. بعد از این که طبیعی بودن توزیع داده ها مشخص گردید، جهت بررسی مقایسه میانگین تغییرات عوامل مورد بررسی در گروه ها از آزمون تحلیل واریانس دو طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معنی داری در همه موارد $p \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با نرم افزارهای SPSS با نسخه ۲۳ به اجرا درآمد.

یافته‌ها

پس از انجام مباحثه ها، کدهای اولیه شناسایی در جدول ۱ میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه های مختلف نشان داده شده است. مصرف بذر خرفه به تنهایی (P=0/004) و مداخله ترکیبی بذر

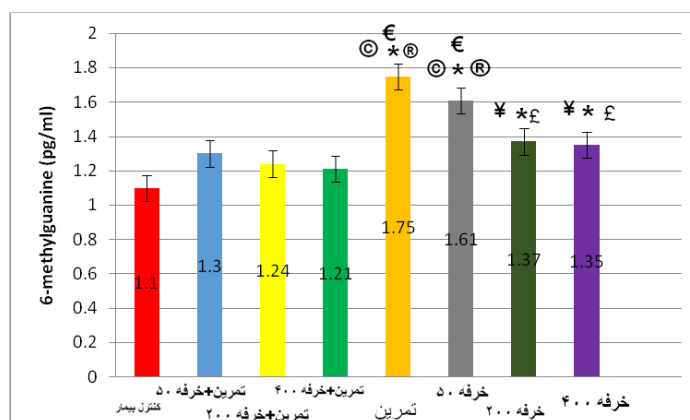
خرفه و تمرین هوازی (P=0/000) بر فاکتور 6-methylguanine بافت کبد رت های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن تاثیر معنی داری دارند. اما تمرین هوازی به تنهایی تاثیر معنی داری ندارد (P=0/557). همچنین میزان اثر تعاملی تمرین هوازی و بذر خرفه (0/888) بر فاکتور 6-methylguanine بافت کبد بیشتر از تمرین (0/022) و مکمل (0/559) بوده است (شکل ۱). بذر خرفه (P=0/000)، تمرین (P=0/000) و مداخله ترکیبی بذر خرفه با تمرین هوازی (P=0/000) بر فاکتور ATP بافت کبد رت های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن تاثیر معنی داری دارند. همچنین نتایج نشان می دهد که میزان اثر تعاملی تمرین هوازی و بذر خرفه (0/946) بر فاکتور ATP بافت کبد بیشتر از مکمل (0/875) و تمرین (0/659) بوده است (شکل ۲). نتایج نشان داد بذر خرفه (P=0/000)، تمرین (P=0/006) و مداخله ترکیبی بذر خرفه با تمرین هوازی (P=0/000) بر فاکتور MDA بافت کبد رت های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن تاثیر معنی داری دارند همچنین نتایج نشان می دهد که میزان اثر تعاملی تمرین هوازی و بذر خرفه (0/940) بر فاکتور MDA بافت کبد بیشتر از مکمل (0/900) و تمرین (0/382) بوده است (شکل ۳).

نتایج نشان داد بذر خرفه (P=0/000) و مداخله ترکیبی بذر خرفه با تمرین هوازی (P=0/000) بر فاکتور PAB بافت کبد رت های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن تاثیر معنی داری دارند اما تمرین به تنهایی تاثیر معنی داری ندارد (P=0/054). همچنین

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در بافت کبد گروه های مختلف

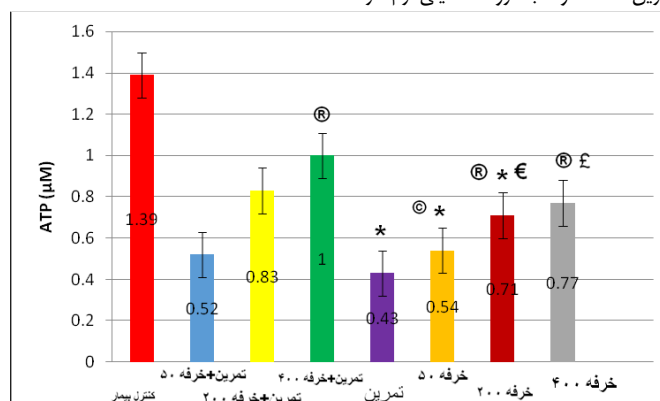
گروه	متغیر	MDA	ATP	6-methylguanine	PAB
کنترل بیمار		۲/۰۸±۰/۱۱	۱/۳۹±۰/۰۵	۱/۱۰±۰/۰۷	۰/۵۷±۰/۰۸
تمرین ۵۰ میلی گرم خرفه		۱/۲۴±۰/۰۲	۰/۵۲±۰/۰۳	۱/۳۰±۰/۰۴	۱/۳۴±۰/۰۴
تمرین ۲۰۰ میلی گرم خرفه		۱/۶۱±۰/۰۶	۰/۸۳±۰/۱۰	۱/۲۴±۰/۰۴	۱/۲۵±۰/۰۴
تمرین ۴۰۰ میلی گرم خرفه		۱/۷۵±۰/۰۶	۱±۰/۱۱	۱/۲۱±۰/۰۶	۱/۱۴±۰/۰۳
تمرین		۱/۲۲±۰/۰۳	۰/۴۳±۰/۰۴	۱/۷۵±۰/۱۲	۱/۳۷±۰/۰۶
۵۰ میلی گرم خرفه		۱/۱۹±۰/۰۷	۰/۵۴±۰/۰۵	۱/۶۱±۰/۰۹	۱/۵۹±۰/۰۴
۲۰۰ میلی گرم خرفه		۱/۴۰±۰/۰۵	۰/۷۱±۰/۰۶	۱/۳۷±۰/۰۸	۱/۴۸±۰/۰۳
۴۰۰ میلی گرم خرفه		۱/۵۰±۰/۰۸	۰/۷۷±۰/۰۳	۱/۳۵±۰/۰۷	۱/۲۹±۰/۰۱
کنترل سالم		۱/۲۸±۰/۰۲	۰/۳۸±۰/۰۳	۱/۹۰±۰/۰۳	۱/۵۸±۰/۰۷

نتایج نشان می‌دهد که میزان اثر تعاملی تمرین هوازی و بذر خرفه (۰/۹۶۸) بر فاکتور PAB بافت کبد بیشتر از مکمل (۰/۹۵۵) و تمرین (۰/۲۱۳) بوده است (شکل ۴).



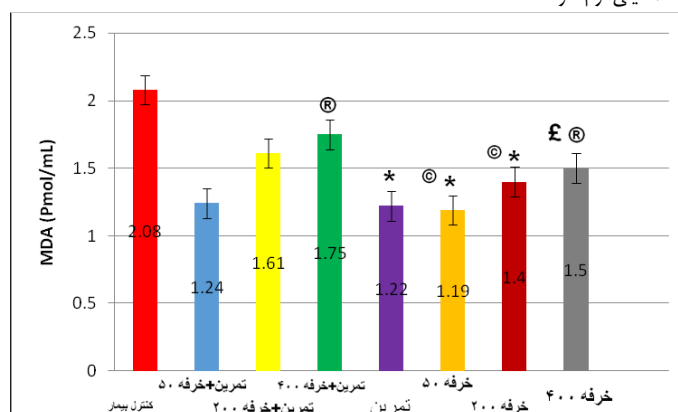
شکل ۱- مقایسه تغییرات 6-methylguanine بافت کبد بین گروه‌های مختلف

* = تفاوت با گروه کنترل بیمار؛ ® = تفاوت با گروه تمرین + ۵۰ میلی گرم خرفه؛ © = تفاوت با گروه تمرین + ۲۰۰ میلی گرم خرفه؛ £ = تفاوت با گروه تمرین + ۴۰۰ میلی گرم خرفه؛ ¥ = تفاوت با گروه تمرین؛ ¥ = تفاوت با گروه ۵۰ میلی گرم خرفه



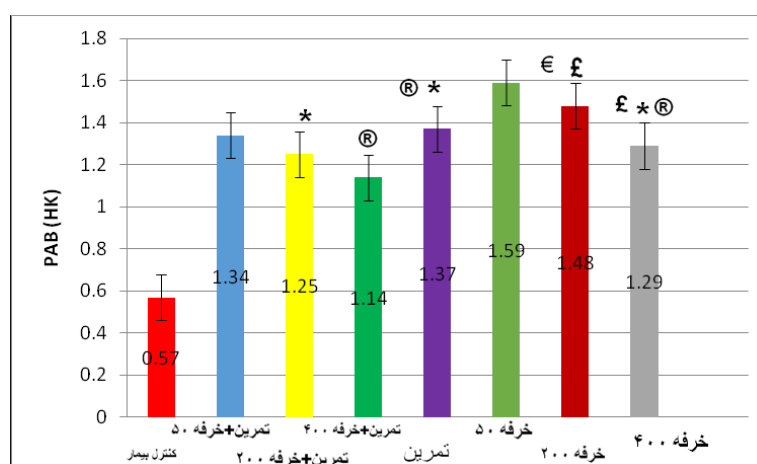
شکل ۲- مقایسه تغییرات ATP بافت کبد بین گروه‌های مختلف

* = عدم تفاوت با گروه تمرین + ۵۰ میلی گرم خرفه؛ ® = تفاوت با گروه تمرین + ۲۰۰ میلی گرم خرفه؛ © = عدم تفاوت با گروه تمرین؛ £ = تفاوت با گروه تمرین + ۴۰۰ میلی گرم خرفه؛ £ = تفاوت با گروه تمرین؛ £ = تفاوت با گروه ۲۰۰ میلی گرم خرفه



شکل ۳- مقایسه تغییرات MDA بافت کبد بین گروه‌های مختلف

* = عدم تفاوت با گروه تمرین + ۵۰ میلی گرم خرفه؛ ® = تفاوت با گروه تمرین + ۲۰۰ میلی گرم خرفه؛ © = تفاوت با گروه تمرین؛ £ = تفاوت با گروه تمرین + ۴۰۰ میلی گرم خرفه؛ £ = تفاوت با گروه تمرین؛ £ = تفاوت با گروه ۲۰۰ میلی گرم خرفه



شکل ۴- مقایسه تغییرات PAB بافت کبد بین گروه‌های مختلف

* = عدم تفاوت با گروه تمرین + ۵۰ میلی گرم خرفه؛ © = عدم تفاوت با گروه تمرین + ۲۰۰ میلی گرم خرفه؛ £ = عدم تفاوت با گروه ۵۰ میلی گرم خرفه

بحث

سم زدایی ROS را با افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی سلولی یا تحریک بیان ژن‌هایی مانند Mn-SOD امکان پذیر سازد (۱۱). مطالعات روی رت نشان داده که تمرینات استقامتی سطوح آنتی اکسیدان‌ها و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در عضلات اسکلتی و قلبی را افزایش می‌دهد در نتیجه در مقابل استرس اکسیداتیو حفاظت ایجاد می‌کند (۱۲).

بنابراین به نظر می‌رسد تمرین هوازی در تحقیق حاضر، می‌تواند راهکار مناسبی برای درمان اختلال متابولیک و کاهش آسیب DNA در بافت کبد به دنبال سمیت با پراکسید هیدروژن باشد. با این حال، تحقیقات گزارش کرده‌اند که تمرینات کوتاه مدت هوازی به ویژه زمانی که با شدت بالا اجرا شوند، به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد منجر شده و با سرکوب سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، موجب ایجاد استرس اکسایشی می‌شوند (۱۳). تفاوت نتایج فوق با یافته این تحقیق را می‌توان ناشی از تفاوت بین نوع پروتکل تمرینی، محل اندازه‌گیری و نوع نمونه‌ها دانست. در تحقیق فوق نمونه‌های سالم مورد بررسی قرار گرفتند در حالی که در تحقیق حاضر نشانگران بیوزن میتوکندریایی و تخریب DNA بافت کبد در رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن مورد بررسی قرار گرفت. تناقض در نتایج مطالعات مختلف به نوع آزمودنی‌ها، مدت تمرین و نوع فعالیت ورزشی بستگی داشته باشد. با توجه به

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین هوازی منجر به بهبود سطوح PAB، MDA، ATP و 6-methylguanine بافت کبد رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن شد. در رابطه با اثر تمرین بر بیوزن میتوکندریایی و تخریب DNA بافت کبد پژوهش‌های کمی صورت گرفته است که در تفسیر نتایج سازوکارهای متفاوتی را بیان کرده‌اند. مطالعات متعددی تلاش کرده‌اند که مکانیسم‌های موثر در بهبود بیوزن میتوکندریایی و تخریب DNA به دنبال فعالیت ورزشی را دریابند؛ بدن دارای ذخایر آنتی اکسیدان کافی برای مقابله با تولید ROS تحت شرایط فیزیولوژیکی می‌باشد اما زمانی که تولید ROS افزایش می‌یابد، همانطور که طی ورزش رخ می‌دهد، عدم تعادل بین پرواکسیدان‌ها و آنتی اکسیدان‌ها به نفع پرواکسیدان‌ها ممکن است رخ دهد و ممکن است منجر به اختلال در کنترل و سیگنال دهی ردوکس و یا آسیب مولکولی شود (۱۰). تأثیر تمرین روی شرایط ردوکس بستگی به بسیاری از عوامل، مانند نوع تمرین، بار تمرین، و همچنین سن، جنس و عوامل همسو با خطر و شرایط بدنی دارد. تمرینات کوتاه مدت ممکن است باعث افزایش استرس اکسایشی و عدم تعادل بین تولید ROS و عوامل آنتی اکسیدان شده و نهایتاً منجر به اختلال در میتوکندری می‌شوند با این حال ورزش طولانی مدت ممکن است

اینکه اکسیژن رسانی زیاد بافتی یکی از مهم‌ترین دلایل افزایش عوامل استرس اکسیداتیو می‌باشد و پاسخ استرس اکسیداتیو به ورزش تحت تاثیر عواملی از قبیل وضعیت سلامتی فرد، سن، جنس، نژاد، ژنتیک، میزان آمادگی جسمانی، تفاوت‌های فردی، پاسخ‌های متفاوت بافتی، تارهای عضلانی و انواع آن، شدت و مدت ورزش انجام شده و کاهش دریافت مواد غذایی ضد استرس اکسیداتیو در تغذیه روزانه افراد قرار می‌گیرد (۹)، می‌توان نتایج به دست آمده در تحقیقات مختلف را توجیه نمود. از همه مهم‌تر اینکه گوناگونی شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی و شیوه‌های اندازه‌گیری و حساسیت آن‌ها در پژوهش‌های مختلف نیز می‌تواند نتایج متفاوتی به دنبال داشته باشد.

بر اساس یافته‌های مداخلات ورزشی، پیشنهاد شده است که مداخلات ترکیب غذایی با تمرینات ورزشی ممکن است برای کاهش استرس اکسایشی موثر باشد. در تحقیق حاضر نیز مکمل خرفه و ترکیب بذر خرفه با تمرین هوازی طی دوره مداخله موجب بهبود سطوح PAB، MDA، ATP و 6-methylguanine بافت کبد رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن شد. یافته‌های تحقیق حاضر با برخی نتایج مطالعات قبلی (۱۴، ۸) همخوان می‌باشد. با این حال، برخی دیگر از تحقیقات گزارش نموده‌اند که شاخص‌های بیوژنز میتوکندریایی و تخریب DNA پس از مصرف مکمل خرفه تغییر نمی‌کند (۱۵) که با نتایج تحقیق حاضر ناهمخوان می‌باشد. در تحقیق حاضر سطوح PAB، MDA، ATP و 6-methylguanine بافت کبد رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن تغییر معنی‌داری نشان داد. به نظر می‌رسد تناقض در نتایج مطالعات مختلف به نوع بافت مورد بررسی، دوز مکمل مصرفی، ترکیبات متفاوت در مکمل‌ها و مدت استفاده از آن‌ها نوع بستگی داشته باشد. گونه‌های اکسیژن واکندشگر مانند آنیون سوپراکسید در طی اعمال طبیعی سلول تولید و خاصیت واکندشگری بالای این گونه‌ها به اکسیداسیون لیپیدها و دیگر مولکول‌های حیاتی منجر می‌گردد. تعادل بین تولید گونه‌های اکسیژن واکندشگر و فعالیت آنتی اکسیدانی در پاتوژنز بیماری‌های مربوط

به استرس اکسیداتیو لازم و ضروری می‌باشد. آسیب‌های ناشی از واکنش‌های اکسیداتیو به DNA پروتئین‌ها و همچنین پراکسیداسیون لیپیدی با اختلال در عمل و ساختمان غشاهای بیولوژیکی؛ آسیب‌های سلولی و بافتی مختلفی را ایجاد و دارای نقش بسیار مؤثری در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها می‌باشد (۱۶). آنتی اکسیدان‌ها، مولکول‌ها یا ترکیباتی هستند که به عنوان از بین برنده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند. این رادیکال‌ها می‌توانند به سایر مولکول‌های حیاتی آسیب رسانده و باعث از دست رفتن عملکرد آنها شوند. نشان داده شده است که پراکسیداسیون لیپیدی در حضور غلظت‌های مختلف گیاه خرفه به خوبی مهار می‌شود، لذا استفاده از این گیاه در درمان برخی از بیماری‌ها از جمله دیابت، آترواسکلروز و بیماری‌های کبدی می‌تواند مفید باشد (۱۵). خرفه دارای خواص آنتی اکسیدانی با اثرات محافظتی در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد است. ترکیبات آنتی اکسیدانی در خرفه به وفور یافت می‌شود بنابراین احتمال می‌رود که با توجه به ترکیبات موجود در عصاره گیاه خرفه مثل آلفا توکوفرول، اسید اسکوربیک و گلوکاتیون بر بافت کبد موجب محافظت در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد شود. پلی ساکاریدهای موجود در این گیاه قادر به پاکسازی آنیون سوپراکساید نیتریک اکساید و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌باشند، لذا دارای خاصیت حفاظت در مقابل رادیکال‌های آزاد است (۱۲). همچنین احتمال دارد که کاهش در آنزیم‌های آسیب کبدی بواسطه ترکیبات آنتی اکسیدانت گیاهی مانند ترکیبات فنولی باشد. ترکیبات فلاونوئیدی نظیر کوئرستین موجود در خرفه واجد فعالیت هیپوگلیسمی می‌باشند. ترکیبات پلی فنلی و فلاونوئیدها می‌توانند سلول‌ها را در برابر تخلیه گلوکاتیون احیاء و با افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی محافظت نمایند (۱۶).

این مکمل به عنوان یک ماده ضد اکسایشی محلول در چربی غشاهای بافتی، می‌تواند در جهت جلوگیری از اثرات رادیکال‌های آزاد یک راهبرد با اهمیت قلمداد شود که با تاثیر بر مستقیم بر فرایندهای زنجیره‌ای

خرفه و مداخله ترکیبی بذر خرفه با تمرین هوازی عامل تعدیل کننده در بیوژنز میتوکندری و اثرگذار در کاهش تخریب DNA بافت کبد می باشد. بنابراین توصیه می شود از مداخله ترکیبی تمرین هوازی و بذر خرفه به عنوان یک روش پیشگیرانه جهت آسیب کبدی استفاده شود. پیشنهاد می شود در آینده مطالعه ای در زمینه پروتکل های مختلف تمرین هوازی و بذر خرفه بر ساختار و عملکرد بافت کبد انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دوره دکتری گرایش فیزیولوژی ورزشی است که با تایید کمیته اخلاق با شماره IR.SSRC.REC.1398.069 در پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی تأیید و در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز اجرا گردید. بدین وسیله از کلیه افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری داشته اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می شود

References

1. Barth E, Stammler G, Speiser B, Schaper J. Ultrastructural quantitation of mitochondria and myofilaments in cardiac muscle from 10 different animal species including man. *J Mol Cell Cardiol* 1992; 24: 669-681.
2. Russell AP, Foletta VC, Snow RJ, Wadley GD. mitochondria: a major player in exercise, health and disease. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1840(4):1276-84.
3. Aquilina G, Biondo R, Dogliotti E, Meuth M, Bignami M. Expression of the endogenous O6-methylguanine-DNA methyltransferase protects Chinese hamster ovary cells from spontaneous G:C to A: T transitions. *Cancer Res* 1992; 52:6471-55.
4. Cho D, Post J, Kim SK. Comparison of passive and active leisure activities and life satisfaction with aging. *Geriatr Gerontol Int*. 2018;18(3):380-386.
5. Cohen G, Riahi Y, Sunda V, Deplano S, Chatgililoglu CH, Ferreri C, et al. Signaling properties of 4- hydroxyalkenals formed by lipid peroxidation in diabetes. *Free Radic Biol Med*. 2013; 65:978-987.
6. Okudan N, Belviranli M. Effects of exercise training on hepatic oxidative stress and antioxidant status in aged rats. *Arch Physiol Biochem*. 2016;122(4):180-185.
7. Holahan CK, Holahan CJ, Chen YT, Li X.

تشکیل رادیکال های آزاد از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کند. ماده بتا سیانین خرفه اثرات مفیدی روی کاهش استرس اکسایشی دارد. بخش های مختلف این گیاه حاوی مواد آنتی اکسیدانی و عناصر معدنی متعددی می باشد مصرف این مکمل به عنوان آنتی اکسیدان قوی می تواند باعث تقویت سیستم آنتی اکسیدانی درون زای بدن شده و از پراکسیداسیون چربی و آسیب پذیری غشاء به طور معنی داری جلوگیری کند. همچنین ماده بتالاین این گیاه دارای اثرات آنتی اکسیدانی است و با مهار رادیکال های آزاد مانع از بروز بیماری های مختلف می شود (۱۷). یافته های پژوهش حاضر نشان داد که عصاره بذر خرفه در دوزهای پایین تر اثرات بیشتر و مفیدتری در تعدیل بیوژنز میتوکندری و کاهش تخریب DNA بافت کبد دارد. همچنین مصرف دانه خرفه تأثیر مثبتی روی این فاکتورها داشت، اما با توجه به یافته های تحقیق مشخص شد که تأثیر همزمان فعالیت ورزشی و مصرف دانه خرفه می تواند سطوح فاکتورهای PAB، MDA، ATP و ۶-متیل گوانین بافت کبد رت های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن را به میزان بیشتری تحت تأثیر قرار داده سبب بهبود آنها شود که این نشان دهنده بازده بالاتر استفاده هم زمان مکمل و تمرینات ورزشی است. بنابراین، می توان چنین گفت که مکمل خرفه و تمرین هوازی احتمالاً از طریق کاهش بیوژنز میتوکندری هپاتوسیت های کبدی و در پی آن کاهش تخریب DNA بافت کبد به بهبود عملکرد کبد کمک می کند. تمرین هوازی با شدت متوسط از نقاط قوت تحقیق حاضر بود؛ چراکه این نوع تمرین، پاسخ ها و سازگاری های متفاوتی نسبت به برنامه های تمرینی دیگر می تواند به همراه داشته باشد. از جمله محدودیت های تحقیق حاضر می توان به عدم اندازه گیری دیگر فاکتورهای اکسیدانت و همچنین آنتی اکسیدانت اشاره کرد. به هرحال تحقیقات بیشتری در این زمینه مورد نیاز می باشد.

نتیجه گیری

به طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد بذر

Leisure-time physical activity and affective experience in middle-aged and older women. *J Women Aging*. 2020;32(6):672-683.

8. Siu PM, Pei XM, Teng BT, Benzie IF, Ying M, Wong SH. Habitual exercise increases resistance of lymphocytes to oxidant-induced DNA damage by upregulating expression of antioxidant and DNA repairing enzymes. *Exp Physiol*. 2011;96(9):889-906.

9. Mallikarjuna K, Shanmugam KR, Nishanth K, Wu MC, Hou CW, Kuo CH, et al. Alcohol-induced deterioration in primary antioxidant and glutathione family enzymes reversed by exercise training in the liver of old rats. *Alcohol*. 2010;44(6):523-9.

10. Scarpulla RC. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function. *Physiol Rev* 2008; 88(2):611-638.

11. Usefpor M, Ghasemnian AA, Rahmani A. The Effect of a period of high intensive interval training on total antioxidant capacity and level of liver tissue malondialdehyde in male Wistar rats. *SJKU*. 2017; 22 (5) :103-110.

12. Miladi-Gorgi H, Vafaei AA, Taherian AA, Vaezi T. The effects of aqueous extracts of *Portulaca oleracea* on withdrawal syndrome in mice. *J Med Plants* 2009; 8: 51-7.

13. Zhou YX, Xin HL, Rahman K, Wang SJ, Peng C5, Zhang H. *Portulaca oleracea* L.: a review of phytochemistry and pharmacological effects. *Biomed Res Int*. 2015; 2015:925631.

14. Yang Z, Liu C, Xiang L, ZhengY. Phenolic alkaloids as a new class of antioxidant inputulacaoleracea. *Phytother Res*. 2009; 23(7); 1032-5.

15. Kumar S, Srivastava N, Gomes J. The effect of lovastatin on oxidative stress and antioxidant enzymes in hydrogen peroxide intoxicated rat. *Food Chem Toxicol*. 2011;49(4):898-902.

16. Powers SK, Nelson BW, Hudson MB. Exercise-induced oxidative stress in humans: Cause and consequences. *Free Rad Biol Med* 2011; 51(5): 942–50.

17. Fatemi Tabatabaei SR, Askaripour M, Hosseini F, NajafzadehVarzi H. The effect of Aqueous Purslane (*Portulaca Oleracea*) Extract on Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rat. *Iran South Med J*. 2015; 18 (3) :486-496.