تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه خرفه بر غلظت سرمی استروژن، پروژسترون، پرولاکتین و گنادوتروپین‌ها در موش‌های صحرایی ماده بالغ

دکتر سید ابراهیم حسینی*، دکتر محسن فروزان‌فر، آرش پایه‌دار

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، فارس، شیراز، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۱۲ اصلاح نهایی: ۹۲/۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱/۲۵

چکیده:

زمینه و هدف: **گیاه خرفه اثرات مثبتی در کاهش کلسترول تام دارد و دارای تاثیرات مختلفی بر روی سیستم عصبی است؛ بنابراین ممکن است بر محور هیپوفیز-گناد تاثیرگذار باشد. در مطالعه‌ی حاضر، تاثیرات احتمالی عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*) بر هورمون‌های گنادوتروپین، استرادیول، پروژسترون و پرولاکتین مورد ارزیابی قرار گرفته است.**

روش بررسی: **در این پژوهش تجربی ٤٠ سر موش صحرایی ماده بالغ و باکره از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲±۱۸۹ گرم در ۵ گروه ۸ تایی مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه کنترل بدون تیمار دارویی، گروه شاهد که روزانه ۰/۲ میلی‌لیتر آب مقطر به عنوان حلال دریافت نمود و گروه‌های تجربی ۱ تا ۳ به ترتیب، مقادیر ۲۰۰، ٤٠٠ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه خرفه به صورت خوراکی به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. در پایان روز ۲۱ از همه‌ی گروه‌ها خونگیری شد و میزان هورمون‌ها اندازه‌گیری گردید. داده ها با کمک آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه، مورد ارزیابی قرار گرفتند.**

یافته‌ها: **نتایج نشان داد که میزان هورمون استرادیول در گروه تجربی ۳ و وزن بدن در گروه تجربی ۲، کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) را نسبت به گروه شاهد و کنترل دارد. اختلاف معنی‌داری در میزان هورمون‌های گنادوتروپین (FSH, LH)، پروژسترون و پرولاکتین مشاهده نشد (P>۰/۰۵).**

نتیجه‌گیری: **نتایج این مطالعه بیانگر تاثیر وابسته به دوز عصاره گیاه خرفه در کاهش وزن بدن در مدت ۲۱ روز است. همچنین این گیاه با دارا بودن ترکیبات آنتی‌استروژنیک و آنتی‌آروماتازی، غلظت استرادیول را در دوز حداکثر کاهش می‌دهد؛ بنابراین مصرف طولانی مدت آن می‌تواند باعث اختلالات هورمونی و کاهش قدرت باروری گردد.**

واژه های کلیدی: گیاه خرفه، استروژن، پروژسترون، پرولاکتین، گنادوتروپین، موش صحرایی.

مقدمه:

خرفه با نام لاتین Purslane و نام علمی *Portulaca oleracea* L. گیاهی چهار کربنه و یک ساله از خانواده Portulacaceae می‌باشد. این گیاه علفی، ساقه‌ای گوشت دار، برگ‌های ضخیم متقابل، گل‌های زرد یا سفید و بذرهای سیاه ریز دارد. گیاه خرفه در اغلب نقاط کره زمین می روید و امروزه هم به صورت خودرو و هم به صورت کشت شده در اغلب کشورها وجود دارد (۲،۱). این گیاه به عنوان آنتی سپتیک، ضداسکوربوت، دیورتیک، ضد کرم، ضد تب، شل کننده عضلانی، آنتی اکسیدان، تصفیه کننده خون، رفع تشنگی، جلوگیری از حملات قلبی و تقویت کننده سیستم ایمنی کاربرد دارد (۴،۳).

آنالیز برگ و ساقه گیاه خرفه حضور آب، مواد لعابی، پکتین، پروتئین (۴۴/۲۵ گرم در ۱۰۰ گرم برگ خشک)، کربوهیدرات ها، کلسیم، منیزیم، آهن، مس، پتاسیم، فسفر، سلنیوم، اسیدهای ارگانیک (اگزالیک، سینامیک، کافئیک، مالیک، سیتریک)، تیامین، فرولیک اسید، ریبوفلاوین، نیکوتینیک اسید، ویتامین C (۲۹mg/۱۰۰g)،

***نویسنده مسئول:** فارس، مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس، گروه زیست شناسی، تلفن: ۰۹۱۷۱۱۸٤٤۹۵، E-mail:ebrahim.hossini@yahoo.com*

B1 و کاروتن (به عنوان ویتامین A (۳۸۲۰I.U/۱۰۰g) را نشان می‌دهد و به میزان قابل توجهی حاوی ویتامین E و اسیدهای چرب امگا۳ می‌باشد. گیاه خرفه دارای مواد بیولوژیکی فعالی مانند نورآدرنالین، دوپامین و دوپا در کنار دیگر کاتکول‌های ناشناخته می‌باشد. احتمالاً غلظت نورآدرنالین در گیاه تازه (۲/۵mg/g)، بیشتر از نورآدرنالین استخراج شده از غدد فوق کلیوی پستانداران می‌باشد. همچنین ترکیبات شناخته شده‌ای مانند پی کوماریک اسید (p-coumaric acid) و آدنوزین در گیاه خرفه یافت می‌شود (۵) و اسیدهای آمینه گیاه خرفه شامل ایزولوسین، لوسین، لیزین، متیونین، سیستئین، فنیل آلالین، تیروزین، ترئونین و آلانین می‌باشد (۶).

ترکیبات آنتی‌اکسیدان گیاه خرفه فراوان و شامل آلفا توکوفرول، اسید آسکوربیک و گلوتاتیون است. همچنین منبع خوبی برای کوآنزیم Q_{10} می‌باشد و کومارین و گلیکوزیدهای قلبی آنتراکینونی از دیگر ترکیبات آن می‌باشد (۷،۲). غلظت ملاتونین در گیاه خرفه بیش از هر سبزی و میوه دیگری گزارش شده است (۸). گیاه خرفه دارای هفت نوع فلاونوئید شامل کوئرستین (quercetin)، کامفرول (kaempferol)، میرستین (myricetin)، اپی ژنین (apigenin)، لوتئولین (luteolin)، ژنیستئین (genistein) و ژنیستین (genistin) می‌باشد (۹). مطالعات بر روی این گیاه نشان می‌دهد که گیاه خرفه همچنین حاوی آلکالویید های فنولیک می‌باشد (۱۰). استروئیدها، ساپونین ها و بیوفلاونوئید لیکوئیریتین (liquiritin) از دیگر ترکیبات گیاه خرفه می‌باشد (۱۱). هیچ نشانه‌ای از سمیت خرفه تاکنون گزارش نشده است با این حال گلیکوزیدهای قلبی و اگزالیک اسید می‌توانند سمی باشد (۱۳،۱۲).

مطالعات اخیر در مورد این گیاه نشان می‌دهد که خرفه به عنوان یک گیاه دارویی دارای تأثیرات بسیار زیادی بر سیستم بیولوژیک بدن می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهند که این گیاه توانایی کاهش کلسترول تام را دارا می‌باشد. از طرفی کلسترول به عنوان پیش‌ساز مهم مسیر سنتز هورمون‌های استروئیدی به کار می‌رود (۱۴).

نتایج برخی مطالعات نشان داده است که عصاره الکلی و آبی این گیاه دارای اثرات مختلفی بر روی سیستم عصبی از قبیل کاهش فعالیت لوکوموتور، فعالیت ضدتشنجی، مهار انقباضات عصبی عضلانی به دنبال تحریک الکتریکی و فعالیت شل کنندگی عضلانی در موش‌های هوشیار می‌باشد (۴). در مطالعه‌ای دیگر تأثیر گیاه خرفه بر میزان بارداری موش‌های ماده نشان می دهد که عصاره اتانولی گیاه ۴۰ تا ۵۰ درصد کاهش لانه گزینی را دارا می باشد و باعث سقط جنین می‌شود. به نظر می‌رسد فعالیت استروژنیک گیاه خرفه باعث عدم تعادل نسبت پروژسترون و استروژن می‌شود که این می‌تواند مسئول کاهش لانه گزینی و سقط جنین باشد (۱۵). همچنین این گیاه قادر است بیسفنول A (bisphenol A) که به عنوان یک ترکیب استروژنیک مختل کننده‌ی آندوکرین است را به سرعت از آب برداشت کند (۱۶).

فراوانی و سهولت در دسترس بودن گیاه خرفه در برخی از کشورها و بعضی از مناطق کشور ما، مصرف آن را به صورت سبزی تازه و گیاهی دارویی رایج کرده است. از طرفی با فراوانی بیماری‌هایی در زمینه‌ی ناباروری در میان جوامع، آگاهی از اثرات و محدودیت‌های استفاده از گیاهان دارویی ضروری است. هر چند تحقیقات زیادی بر روی گیاه خرفه انجام شده است؛ ولی در زمینه‌ی تولید مثل و از نقطه‌نظر آندوکرینی مطالعه‌ای صورت نگرفته است. با توجه به ترکیبات موجود در گیاه خرفه تأثیرات آن بر تخمدان، محور هیپوفیز-گناد و پرولاکتین می تواند حایز اهمیت باشد، لذا نتایج به دست آمده می تواند راه کارهای مناسب را جهت استفاده این گیاه در اختیار مراکز آندوکرینی و تولید مثلی قرار دهد. بنابراین این مطالعه با هدف بررسی تأثیرات احتمالی عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه خرفه بر غلظت سرمی استرادیول، پروژسترون،

(Luteinizing hormone= LH)، هورمون محرک فولیکولی(FSH) و پرولاکتین صورت گرفته است.

روش بررسی:

پژوهش حاضر یک مطالعه‌ی تجربی است که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس انجام شد. در این پژوهش از ۴۰ سر موش صحرایی ماده بالغ و باکره از نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲ ± ۱۸۹ گرم و سن ۷۵ تا ۸۰ روز مورد استفاده شد. در طول دوره تجویز، همه حیوانات از آب و غذای یکسان و بدون محدودیت برخوردار بوده و در یک اتاق مخصوص در دمای ۲ ± ۲۲ درجه سلسیوس که در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند و آب و غذا به میزان کافی در اختیار آن‌ها قرار می‌گرفت.

برای انجام این آزمایش موش ها به ۵ گروه ۸ تایی شامل گروه‌های شاهد، شم و تجربی ۱ تا ۳ تقسیم شدند. در این تحقیق گروه شاهد تحت هیچ تیماری قرار نگرفت و گروه شم نیز روزانه ۰/۲ میلی‌لیتر آب مقطر را به عنوان حلال دریافت نمود. سه گروه تجربی نیز همزمان، در هر روز به ترتیب مقادیر ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه خرفه را به صورت خوراکی دریافت داشتند (۱۷). کلیه تجویزها برای مدت ۲۱ روز انجام گرفت (۱۸). پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید.

برای تهیه‌ی عصاره هیدروالکلی گیاه خرفه، گیاه تازه و جوان از مزارع شهرستان برازجان تهیه شد و قسمت‌های هوایی گیاه شامل ساقه و برگ گیاه پس از پاک شدن در سایه با باد پنکه خشک و توسط آسیاب برقی پودر شدند. به ازای هر ۱۰۰ گرم پودر یک لیتر آب و اتانول به نسبت ۳ به ۷ به ترتیب اضافه گردید و مخلوط به مدت ۷۲ ساعت خیس خورد. هر ۱۰ ساعت یک بار ظرف شیشه‌ای تکان داده می‌شد تا مخلوط مورد نظر خوب خیس بخورد. بعد از این مدت مخلوط از کاغذ صافی عبور داده شد و این عمل به منظور جداسازی ذرات درشت تر دو بار تکرار شد. عصاره به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ گردید تا عصاره خالص‌تری به دست آید. سپس این عصاره در حمام آب گرم قرار گرفت تا الکل آن تبخیر شود. پس از تبخیر الکل به علت وجود آب، عصاره حالت سیال داشت. به منظور تبخیر آب، عصاره ابتدا به مدت ۱۰ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در فور و سپس در مجاورت کلرید کلسیم قرار گرفت. با اتمام این مرحله عصاره آماده گردید. به علت وجود ترکیبات کاروتنوییدی و روغنی در گیاه، عصاره به صورت خشک و پودر نمی‌گردد و دارای حالت عسلی می‌باشد. عصاره به دست آمده در مقادیر مختلف آب مقطر حل شد تا غلظت‌های مورد نظر به دست آید.

در این پژوهش جهت هم سیکل نمودن موش‌ها از یک روش تجربی استفاده گردید. بدین منظور ابتدا ۱۰۰ میکروگرم استرادیول والرات در ۰/۲ میلی‌لیتر روغن زیتون حل و به صورت عضلانی با سرنگ انسولین تزریق شد. پس از گذشت ۴۲ ساعت ۵۰ میکروگرم پروژسترون به صورت عضلانی تزریق گردید. ۶ ساعت بعد از تزریق، از موش‌ها اسمیر واژنی تهیه شد. در دو لوله‌ی آزمایش یکی آب مقطر و دیگری سرم فیزیولوژی ریخته شد. در ادامه پیپت پاستور از سرم فیزیولوژی پر و وارد واژن موش گردید و سپس با چند بار پر و خالی کردن یک تا دو قطره از این مایع بر روی لام ریخته شد. پیپت پاستور را درون لوله‌ی آزمایش حاوی آب مقطر کرده و شستشو داده شد و برای موش بعدی همین مراحل تکرار گردید. لام به مدت ۳ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار گرفت تا اسمیر خشک شود. سپس به مدت ۲ دقیقه با اتانول تثبیت شد و بعد از آن با استفاده از رنگ گیمسا (BBDHE, England) که با نسبت ۱ به ۲۰ رقیق شده بود به مدت ۱۵ دقیقه رنگ آمیزی شد. لام‌ها با استفاده از آب مقطر شسته شدند و پس از خشک شدن با استفاده از میکروسکوپ

نوری Nikon مورد بررسی قرار گرفتند. جهت تشخیص مراحل سیکل استروس از روش Marcondes و همکاران استفاده شد. در این روش هر مرحله از سیکل استروس بر اساس نسبت میان سه نوع جمعیت سلولی (سلول‌های اپی تلیال، سلول‌های شاخی و لکوسیت‌ها) مشاهده شده در اسمیر واژنی تشخیص داده می‌شود. مشاهدات میکروسکوپی نشان دهنده‌ی این مسأله بود که همه‌ی موش‌ها در مرحله‌ی استروس هم سیکل شدند.

در حین اجرای پژوهش نشانه ای از مسمومیت با گیاه خرفه در مدت ۲۱ روز در بین حیوانات مورد آزمایش مشاهده نشد. در پایان روز ۲۱ ام همه حیوانات با ترازوی دیجیتال با دقت ۰۰۱/ گرم وزن کشی و سپس تحت تأثیر اتر بیهوش شدند و از قلب آن‌ها خون‌گیری شد. نمونه‌های خونی به مدت ۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ و تا قبل از سنجش میزان هورمون ها در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. میزان هورمون‌های LH، FSH، استرادیول و پرولاکتین به روش الیزا (ELISA) و پروژسترون به روش رادیوایمونواسی (RIA) با استفاده از دستگاه الیزا ریدر مدل Eliza Reader Hiperion NP4 plus اندازه گیری شد. کیت‌های مورد استفاده برای هورمون‌های LH، FSH و پرولاکتین از نوع Cusabio ساخت آمریکا و برای هورمون‌های استرادیول و پروژسترون از نوع IBL, GmbH ساخت آلمان بودند.

پس از جمع آوری اطلاعات، داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و از طریق آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و تعقیبی توکی در سطح معناداری P<۰/۰۵، مورد تحلیل آماری قرار گرفتند.

یافته‌ها:

نتایج حاصل از تحلیل داده‌های این مطالعه نشان داد که تیمار ۲۱ روزه‌ی حیوانات با عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه خرفه، وزن بدن را تنها در گروه تجربی دریافت کننده‌ی دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه شاهد و شم کاهش معنی‌داری داده است (جدول شماره ۱) (P<۰/۰۵).

جدول شماره ۱: مقایسه میانگین وزن بدن و غلظت سرمی LH، FSH، استرادیول، پروژسترون و پرولاکتین در گروه‌های مورد پژوهش

متغیر / گروه‌های آزمایش	وزن بدن (gr)	FSH (mIu/ml)	LH (mU/ml)	استرادیول (pg/ml)	پروژسترون (ng/ml)	پرولاکتین (ng/ml)
شاهد	۱۹۱/۵ ± ٤/۸۸	٥/۲٦ ± ۱/۲۱	٥/۳٥ ± ۱/۳۷	۲۱/۳۲ ± ۳/٦	٥/٤۸ ± ۱/۰۷	٦/۰٦ ± ۱/٦۲
شم	۱۹٦/۸۷ ± ٥/۹۳	٦/۱۹ ± ۱/۲٥	٥/۲۸ ± ۱/۳۷	۲۰/۸۸ ± ۱/۸٦	٥/۲۲ ± ۰/۸۱	٥/٤۲ ± ۱/۳٥
تجربی۱ (دوز: ۲۰۰mg/kg) وزن بدن	۱۹۷/۳۷ ± ۷/۳٤	٥/٦۱ ±۱/۲٦	۳/۱٥ ± ۰/۷۷	۲۰/۰۸ ± ۳/۲٦	۳/۲٦ ± ۰/۷۲	۸/۳٤ ± ۲/۲۲
تجربی۲ (دوز: ٤۰۰mg/kg) وزن بدن	۱۷۰ ± ۷/۱۲*	٤/۹۱ ± ۱/۰۸	۳/۷۹ ± ۰/۷۳	۱٦/۲۸ ± ۲/۷۳	٤/۳۲ ± ۰/۸٤	٦/۰٦ ± ۱/۲۹
تجربی۳ (دوز: ۸۰۰mg/kg) وزن بدن	۱۹٤/۱۲ ± ۸/۳۳	٦/۸۳ ± ۱/٥۲	۳/۸٦ ± ۰/۹۲	۹/٤۸ ± ۱/٤۹*	۳/۱۳ ± ۰/٥٥	٥/۱۸ ± ۱/۱۹

*گروه شاهد بدون تیمار دارویی و گروه شم روزانه ۰/۲ میلی لیتر آب مقطر به عنوان حلال دریافت نمودند. تعداد نمونه های هر گروه شامل ۸ سر موش بود. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می باشند. *نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ با گروه‌های شاهد و شم است. FSH: هورمون محرک فولیکولی و LH (معادل لاتین) می باشند. واحدهای ارائه شده در جدول gr:گرم، mIu/ml: میلی واحد بین المللی بر میلی‌لیتر، mU/ml: میلی واحد بر میلی‌لیتر، pg/ml: پیکوگرم بر میلی‌لیتر و ng/ml: نانوگرم بر میلی‌لیتر هستند.*

نتایج حاصل از سنجش غلظت سرمی هورمون استرادیول در گروه‌های تجربی دریافت کننده ی مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه خرفه و گروه شم و شاهد نشان می‌دهد که فقط در گروه تجربی ۳، یعنی گروه دریافت کننده‌ی دوز حداکثر ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) با گروه شاهد و شم وجود داشته است. در گروه تجربی ۱ و ۲ نیز نسبت به گروه شاهد و شم این کاهش مشاهده شده است، ولی این کاهش معنی‌دار نبوده است. همچنین نتایج حاصل از سنجش غلظت سرمی هورمون های LH، FSH، پروژسترون و پرولاکتین در گروه‌های تجربی دریافتی کننده مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه خرفه ،گروه شاهد و شم نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تجربی با گروه شاهد و شم وجود نداشته است (جدول شماره ۱) (P>۰/۰۵).

بحث:

نتایج بررسی نشان داد وزن بدن در گروه تجربی ۲ کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد و شم داشته است. مطالعات نشان می‌دهند عصاره‌ی گیاه خرفه در موش‌های صحرایی اثرات ضد چاقی دارد. این گیاه به طور چشمگیری افزایش تری‌گلیسرید، کلسترول تام و LDL-C (Low-density lipoprotein cholesterol) را در کبد سرکوب می‌کند. در حالی‌که باعث افزایش HDL-C (High-density lipoprotein cholesterol) می‌شود. همچنین نشان داده شده است که ملاتونین موجود در گیاه خرفه افزایش کلسترول تام و LDL-C ناشی از رژیم غذایی پر چرب را کاهش می‌دهد. مطالعات پیشنهاد می‌کنند که پلی فنول‌ها و اسیدهای چرب امگا۳ موجود در عصاره‌ی گیاه خرفه مصرف انرژی در کبد چرب را افزایش می‌دهند. عصاره گیاه خرفه ممکن است بیان mRNA ی استیل کوآنزیم A کربوکسیلاز (ACC) و FAS (Fatty acid syntheses)، آنزیم‌های محدود کننده‌ی سرعت سنتز اسید چرب در کبد و بیان mRNA ی پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیم کننده‌ی استرول (SREBP)-1c را که بیان این آنزیم‌ها را کنترل می‌کند، کاهش دهد (۱۹،۲۰). از سویی فیتواستروژن های موجود در گیاه خرفه از طریق افزایش اسیدهای چرب غیراشباع باعث کاهش کلسترول و LDL-C می‌شوند. افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع می‌توانند باعث افزایش لپتین که یک عامل ضد اشتها است شوند (۲۱). همچنین فیتواستروژن‌ها می‌توانند موجب مهار گیرنده‌های فاکتور رشد گردند (۲۲). تحقیقات بر روی موش‌های صحرایی نشان داده که استرادیول میزان ترجمه‌ی ژن لپتین و ترشح هورمون آن را افزایش داده، به طوری که عقیم کردن موش‌ها باعث کاهش بیان ژن لپتین و غلظت آن در سرم خون می‌شود (۲۳).

نتایج حاصل از این پژوهش همچنین نشان داد که در گروه‌های تجربی علارغم کاهش هورمون های FSH و LH، اختلاف معنی‌داری با گروه‌های شاهد و شم مشاهده نشد. گیاه خرفه دارای مواد بیولوژیکی فعالی مانند نورآدرنالین، ملاتونین و دوپامین می‌باشد (۸،۱۱). نورآدرنالین در آزادسازی GnRH (Gonadotropin-releasing hormone) موثر است (۲۴). افزایش ملاتونین موجب کاهش GnRH هیپوتالاموسی می‌شود (۲۵). اما به نظر نمی‌رسد ملاتونین نقشی در کاهش FSH داشته باشد (۲۶). همچنین مطالعات زیادی پیشنهاد می‌کنند که دوپامین نقش مهاری در آزادسازی GnRH دارد (۲۷). در مورد FSH مکانیسم فیدبک تنظیمی فقط توسط استروئیدهای تخمدان اعمال نمی‌شود، بلکه اینهیبین، اکتیوین و فولیستاتین هم با تأثیر مرکزی بر تولید GnRH، در تنظیم غلظت FSH نقش دارند. عدم تغییر معنی‌دار این دو هورمون می‌تواند ناشی از اثرات تعدیلی فاکتورهای ذکر شده باشد.

پروژسترون در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شاهد و کنترل کاهش یافته است ولی این کاهش معنی دار نبوده است. هر چند تحقیقات بیانگر این مسأله است که خرفه می‌تواند میزان کلسترول تام، LDL و تری‌گلیسرید را کاهش دهد، اما به جز لیپوپروتئین‌های

پلاسما، کلسترول دوباره سنتز شده درون تخمدان و ذخایر درون سلولی کلسترول از استرهای کلسترول درون قطرات لیپید، به عنوان منبع مهمی در استروئیدسازی محسوب می‌شوند (۲۸). مطالعات اخیر نشان می‌دهند که ملاتونین می‌تواند تولید پروژسترون و آندروژن را در فولیکول‌های پری آنترال (Preantral follicular) موش افزایش دهد (۲۶). ملاتونین همچنین می‌تواند استروئیدوژنز را با تغییر سطوح cAMPاز طریق عملکرد مستقیم بر روی سلول‌های گرانولوزا (Granulose cells) و تکا (Theca cells) مهار کند و از طریق گیرنده‌ی Melatonin receptor type MT1 (1A) جفت شونده با G-protein آدنیلات سیکلاز را مهار و در نتیجه سطح cAMP را کاهش دهد. این کاهش می‌تواند موجب کاهش استرادیول بدون تغییر در غلظت FSH شود. به علاوه می‌تواند فعالیت نسخه‌برداری از ER-α القا شده توسط استرادیول را کاهش دهد و بیان و فعالیت آروماتاز را تنظیم و به عنوان یک تعدیل کننده‌ی انتخابی آنزیم استروژن عمل نماید و باعث کاهش سطوح استرادیول شد (۲۶).

عصاره‌ی گیاه خرفه حاوی ایزوفلاون‌ها و بیوفلاونوید می‌باشد. ایزوفلاون‌ها آگونیست‌های بسیار ضعیف استروژن بوده که به گیرنده‌ی استروژن با تمایل کمتر از استرادیول باند می‌گردند. در مواقعی که میزان استرادیول در بدن برای رقابت در اتصال به گیرنده کم است، خواص آگونیستی را بیشتر ارائه می‌نمایند. از طرف دیگر، خواص ضد استروژنی آن‌ها به غلظت‌های نسبی فیتواستروژن‌ها و استروژن داخلی بستگی دارد و ممکن است وقتی که استروژن داخلی فراوان است، فیتواستروژن‌ها، استرادیول را از گیرنده‌اش جدا کنند (۲۹). یکی از ترکیبات ایزوفلاون‌ها ژنیستئین است. ژنیستئین می‌تواند باعث جابجایی باند شدن استروژن از پروتئین باند کننده استروئید جنسی انسانی شود. بنابراین ژنیستئین می‌تواند بر روی میزان کلیرانس استروژن‌ها و بنابراین در دسترس بودن هورمون‌ها در سلول‌های هدف تاثیر بگذارد (۳۰). از سویی فلاونوییدهای Kaempferol و Quercetin در هر دو گیرنده آلفا و بتای استروژن در دوز حداکثر اثرات ضد استروژنی دارند و در دوز حداقل، این دو ترکیب اثرات استروژنی ضعیفی از خود نشان می‌دهند (۳۱). فلاونویید Apigenin نیزدر دوز حداکثر با تأثیر بر گیرنده استروژنی آلفا اثرات ضد استروژنی از خود نشان می‌دهد (۳۲). همچنین در جوندگان مشخص شده است که بیوفلاونویید lute Olin اثرات ضد استروژنی دارد (۳۳). به نظر می‌رسد فیتواستروژن‌ها مانند فلاونوییدها و کومارین ها با مهار آنزیم 17β-HSD 5 (17β-hydroxysteroid dehydrogenase type 5) باعث کاهش آندروژن‌ها و در نهایت کاهش سطح استروژن می‌شوند (۳۴). همچنین کومارین های موجود در گیاه خرفه فعالیت ضد آروماتازی از خود نشان می‌دهند که می‌توانند باعث کاهش سطح استروژن شوند (۳۵).

انتظار می‌رفت با توجه به حضور ترکیباتی مانند الدوپا و دوپامین، پرولاکتین کاهش یابد اما اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تجربی با گروه شاهد و شم مشاهده نشد. در بررسی اثر ضد دردی عصاره‌ی گیاه خرفه نشان داده شده است که احتمالاً عصاره با تأثیر بر مولکول‌های گابا اثر ضد دردی خود را اعمال می‌کند (۳۷،۳۶). گابا از جمله انتقال دهنده های عصبی است که در تنظیم و ترشح پرولاکتین نقش دارد (۳۸). همچنین استروژن با کاهش فعالیت تیروزین هیدروکسیلاز غلظت دوپامین را کاهش می‌دهد و مانع از فعالیت مهاری دوپامین بر روی لاکتوتروپ‌های هیپوفیز می‌شود (۳۹،۲۷). مطالعات نشان می‌دهد که فیتواستروژن‌هایی مانند ژنیستئین می‌تواند سطح پلاسمایی پرولاکتین را افزایش دهد. این افزایش می‌تواند ناشی از اثرات استروژنیک ژنیستئین در هیپوتالاموس و هیپوفیز باشد که منجر به سنتز پرولاکتین از هیپوفیز قدامی می‌شود (۳۹). به علاوه مطالعات اخیر نشان می‌دهند که بعد از تیمار با ملاتونین، دوپامین استریاتوم کاهش می‌یابد (۴۰)، شاید اثرات تعدیلی موارد ذکر شده در عدم تغییر

پرولاکتین موثر باشند.

نتیجه‌گیری:

با توجه به نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر، گیاه خرفه تأثیر وابسته به دوزی در کاهش وزن داشته است. همچنین این گیاه باعث کاهش هورمون استرادیول در دوز حداکثر شده است، ولی تأثیری بر هورمون‌های FSH، LH، پروژسترون و پرولاکتین در مدت ۲۱ روز نداشته است. بنابراین این احتمال وجود دارد که با مصرف طولانی مدت این گیاه با تأثیر بر هورمون جنسی استروژن باعث اختلالات هورمونی و ناباروری گردد. هر چند تحقیقات بیشتری در این زمینه لازم است.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله نویسندگان لازم می دانند از کارکنان و مسئولان محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس و کلیه‌ی کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند تشکر و تقدیر را ابراز دارند.

منابع:

1. Chauhan BS, Johnson DE. Seed germination ecology of *Portulaca oleracea* L.: an important weed of rice and upland crops. Ann Appl Biol. 2009; 155(1): 61-9.

2. Park K. Textbook of preventive and social medicine. 21st ed. Jabalapur: Bhanot Press; 2011.

3. Rashed AN, Afifi FU, Disi AM. Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L. (growing in Jordan) in *Mus musculus* JVI-1. J Ethnopharmacol. 2003; 88(2-3): 131-6.

4. Miladi Gorji H, Vafaei A, RashidiPoor A, Taherian A, Jarahi M, Emami Abarghoei M, et al. Anxiolytic effects of *Portulaca oleracea* aqueous extracts in mice. J Med Plants. 2006; 5(19): 23-28.

5. Mubashir HM, Bahar A, Showkat RM, Bilal AZ. *Portulaca oleracea* L. a review. J Pharm Res. 2011; 4(9): 3044-8.

6. Dkhil MA, Abdel-Moniem AE, Al-Quraishy S, Saleh RA. Antioxidant effect of Purslane (*Portulaca oleracea*) and its mechanism of action. J Med Plant Res. 2011; 5(9): 1563-89.

7. Chen S, Cho M, Karlsberg K, Zhou D, Yuan YC. Biochemical and biological characterization of a novel anti-aromatase coumarin derivative. J Biol Chem. 2004; 279(46): 48071-8.

8. Simopoulos AP, Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ. Purslane: a plant source of omega-3 fatty acids and melatonin. J Pineal Res. 2005; 39(3): 331-2.

9. Xu X, Yu L, Chen G. Determination of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by capillary electrophoresis with electrochemical detection. J Pharm Biomed Anal. 2006; 41(2): 493-9.

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

11. Council of Scientific & Industrial Research (India). Publications & Information Directorate. The wealth of India, a dictionary of raw materials and industrial products, raw materials. New Delhi: National Institute of Science Communication; 2003. 219-20.

12. Su MW, Luo WC, Zhang JY, Chen ZL. Bioactivity of extracts from dried powder of *Portulaca oleracea* L. against Aphis gossypii. J Plant Resour Environ. 2005; 14(2): 10-4.

13. Miladi Gorji H, Vafaei AA, Bageri A. Investigate the effect of *Portulaca oleracea* L. and *Melissa officinalis* L. extract on sleeping time in mice. J Med Plants. 2011; 10(38): 95-101.

14. Kacsoh B. Endocrine physiology. 1st ed. Philadelphia: McGraw-Hill; 2000.

15. Ramesh L, Hanumantappa BN. Evaluation of anti implantation and abortificient properties of *Portulaca oleracea* L. in albino rats. Int J Pharm Bio Sci. 2011; 2(4): 501-8.

16. Imai S, Shiraishi A, Gamo K, Watanabe I, Okuhata H, Miyasaka H, et al. Removal of phenolic endocrine disruptors by *Portulaca oleracea*. J Biosci Bioeng. 2007; 103(5): 420-6.

17. Movahedian A, Ghannadi A, Vashirnia M. Hypocholesterolemic effects of Purslane extract on serum lipids in rabbits fed with high cholesterol levels. Int J Pharmacol. 2007; 3(3): 285-9.

18. Oyedeji KO, Bolarinwa AF. Effects of extracts of *Portulaca oleracea* on reproductive functions in female albino rats. Afr J Biomed Res. 2010; 13(3): 213-8.

19. Abdalla HM, Jr. Purslane extract effects on obesity-induced diabetic rats fed a high-fat diet. Malays J Nutr. 2010; 16(3): 419-29.

20. Gatreh-Samani K, Farrokhi E, Khalili B, Rafieian M, Moradi M. Purslane (*Portulaca oleracea*) effects on serum paraoxanase-1 activity. J Shahrekord Univ Med Sci. 2011; 13(1): 9-14.

21. Tyler VE, Brady LR, Robbers JE. Pharmacognosy. 9th ed. Philodelphia: Lea 8 Febiger; 1988.

22. Zhao E, Mu Q. Phytoestrogen biological actions on mammalian reproductive system and cancer growth. Sci Pharm. 2011; 79(1): 1-20.

23. Gambino YP, Maymo JL, Perez-Perez A, Duenas JL, Sanchez-Margalet V, Calvo JC, et al. 17 Beta-estradiol enhances leptin expression in human placental cells through genomic and nongenomic actions. Biol Reprod. 2010; 83(1): 42-51.

24. Buss SJ, Backs J, Kreusser MM, Hardt SE, Maser-Gluth C, Katus HA, et al. Spironolactone preserves cardiac norepinephrine reuptake in salt-sensitive Dahl rats. Endocrinology. 2006; 147(5): 2526-34.

25. Woo MM, Tai CJ, Kang SK, Nathwani PS, Pang SF, Leung PC. Direct action of melatonin in human granulosa-luteal cells. J Clin Endocrinol Metab. 2001; 86(10): 4789-97.

26. Chuffa LG, Seiva FR, Favaro WJ, Teixeira GR, Amorim JP, Mendes LO, et al. Melatonin reduces LH, 17 beta-estradiol and induces differential regulation of sex steroid receptors in reproductive tissues during rat ovulation. Reprod Biol Endocrinol. 2011; 9: 108.

27. McNeilly AS. Prolactin and the control of gonadotrophin secretion in the female. J Reprod Fertil. 1980; 58(2): 537-49.

28. Ohara A, Mori T, Taii S, Ban C, Narimoto K. Functional differentiation in steroidogenesis of two types of luteal cells isolated from mature human corpora lutea of menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab. 1987; 65(6): 1192-200.

29. Davis SR, Mukies AL, Wilcox G. Phytoestrogens in clinical practice. Integr Med. 1998; 1(1): 27-34.

30. Dixon RA, Ferreira D. Genistein. Phytochemistry. 2002; 60(3): 205-11.

31. Harris DM, Besselink E, Henning SM, Go VL, Heber D. Phytoestrogens induce differential estrogen receptor alpha- or beta-mediated responses in transfected breast cancer cells. Exp Biol Med (Maywood). 2005; 230(8): 558-68.

32. Long X, Fan M, Bigsby RM, Nephew KP. Apigenin inhibits antiestrogen-resistant breast cancer cell growth through estrogen receptor-alpha-dependent and estrogen receptor-alpha-independent mechanisms. Mol Cancer Ther. 2008; 7(7): 2096-108.

33. Markaverich BM, Shoulars K, Rodriguez MA. Luteolin regulation of estrogen signaling and cell cycle pathway genes in MCF-7 human breast cancer cells. Int J Biomed Sci. 2011; 7(2): 101-11.

34. Krazeisen A, Breitling R, Moller G, Adamski J. Phytoestrogens inhibit human 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 5. Mol Cell Endocrinol. 2001; 171(1-2): 151-62.

35. Chen S, Cho M, Karlsberg K, Zhou D, Yuan YC. Biochemical and biological characterization of a novel anti-aromatase coumarin derivative. J Biol Chem. 2004; 279(46): 48071-8.

36. Enna SJ, Mohler H. The GABA receptors. 3rd ed. New Jersey: Human Press; 2007.

37. Sawynok J. GABAergic mechanisms of analgesia: an update. Pharmacol Biochem Behav. 1987; 26(2): 463-74.

38. Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR. Williams textbook of endocrinology. 11th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008.

39. Santell RC, Chang YC, Nair MG, Helferich WG. Dietary genistein exerts estrogenic effects upon the uterus, mammary gland and the hypothalamic/pituitary axis in rats. J Nutr. 1997; 127(2): 263-9.

40. Sumaya IC, Byers DM, Irwin LN, Del Val S, Moss DE. Circadian-dependent effect of melatonin on dopaminergic D2 antagonist-induced hypokinesia and agonist-induced stereotypies in rats. Pharmacol Biochem Behav. 2004; 78(4): 727-33.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2013 Dec, Jan; 15(5): 12-21. **Original article**

The effect of hydroalcoholic extract of purslane on serum concentration of esterogen, progesterone, prolactin and gonadotropins in mature female rats

Hosseini E (PhD)*, Frozanfar M (PhD), Payehdar A (MA)
Biology Dept., Science and Research Branch, Islamic Azad University, Fars, I.R. Iran.
Received: 2/Dec/2012 Revised: 8/Apr/2013 Accepted: 14/Apr/2013

Background and aim: Purslane (*Portulaca oleracea*) has positive effects on total cholesterol reduction and has different effects on nerves system. Thus it might affect pituitary-gonadal axis. This study aimed to test the probable effects of hydroalcoholic extract of purslane on gonadotropins, estradiol, progesterone and prolactin hormones.
Methods: In this experimental study, 40 adult virgin female Vistar rats strain weighing 189±2gr were divided in five groups of eights. The control group without any drug application, the sham groups received 0.2 ml distilled water as solvent and the experimental groups 1, 2 and 3 orally received 200, 400 and 800 mg/kg BW of hydroalcoholic extract of purslane for 21 days. At the end of the period of 21 days, the blood test was taken and the amount of hormones in their blood was tested. The data were analyzed using one away ANOVA.
Results: The findings of the study indicated a significant reduction ($P<0.05$) in the amount of estradiol in experimental group 3 and a reduction in the body weight in experimental group 2 compare with the both control and sham groups. No significant difference was observed in LH, FSH, progesterone and prolactin.
Conclusion: The results indicate the dose –dependant effect of purslane in weight loss over 21 days. In addition, due to the anti-estrogenic and anti-aromatase compounds in purslane, it reduces the concentration estradiol in the maximum dose. Thus, a prolonged application of purslane may lead to hormone disorders and a reduction in fertility.

Keywords: **Estrogen, Purslane, Progesterone, Prolactin, Gonadotropin, Rat.**

Cite this article as: Hosseini E, Frozanfar M, Payehdar A. The effect of hydroalcoholic extract of purslane on serum concentration of esterogen, progesterone, prolactin and gonadotropins in mature female rats. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013 Dec, Jan; 15(5): 12-21.

***Corresponding author:**
Biology Dept, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Marvdasht, Fars, I.R. Iran, Tel: 00989171184495, E-mail: ebrahim.hossini@yahoo.com