

تاثیر پودر پسته وحشی (بنه) بر فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز کبد و میزان چربی ها و لیپوپروتئین های سرم موش صحرایی

اسفندیار حیدریان^{1*}، رضا حاجی حسینی²، عصمت جعفری دهکردی³، حسن امیدی⁴

- (1) استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام
- (2) استادیار، گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور واحد تهران
- (3) پزشک عمومی، مرکز بهداشت شهرستان شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
- (4) کارشناس ارشد زیست شناسی با گرایش بیوشیمی، دانشگاه پیام نور واحد تهران

تاریخ پذیرش: 86/12/10

تاریخ دریافت: 86/10/4

چکیده

مقدمه: هر چند مصرف داروهای شیمیایی ضد چربی مثل ژمفیروزیل، کلوفیبرات و استاتین ها باعث کاهش چربی خون می شوند ولی اینگونه داروها معمولاً عوارض جانبی به همراه دارند. نتایج مطالعات اثبات کرده که مصرف محصول درختان خانواده آنارکاردیاسه دارای اثرات کاهنده چربی خون می باشند ولی مکانیسم دقیق اثرات کاهندگی آنها بر چربی های خون مشخص نشده است. با توجه به این که آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز آنزیمی کلیدی در متابولیسم گلیسرولیدها است، هدف از این پروژه بررسی تاثیر مصرف پسته وحشی بر فعالیت آنزیم مذکور، میزان تری گلیسرید کبد و چربیهای سرم موش صحرایی بوده است.

مواد و روش ها: این آزمایش تجربی در یک دوره 15 و 60 روزه بر روی موشهای صحرایی انجام گرفت. گروههای شاهد (n=6) تحت رژیم معمولی استاندارد ولی گروه های تست (n=6) تحت رژیم معمولی بعلاوه 10 درصد پودر پسته قرار گرفتند. پس از اتمام هر دوره فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز کبدی، تری گلیسرید، توتال کلسترول، HDL کلسترول، LDL کلسترول، VLDL کلسترول سرم و میزان تری گلیسرید کبدی اندازه گیری شد.

یافته های پژوهش: پسته وحشی در دوره 15 روزه باعث افزایش میزان کلسترول در کلیه فراکسیون های لیپوپروتئینی و کاهش میزان تری گلیسرید کبدی شد ($P < 0.005$) و فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز را به میزان 11 درصد نسبت به گروه کنترل کاهش داد. در دوره بلند مدت 60 روزه تفاوت معنی داری در میزان کلسترول فراکسیون های لیپوپروتئینی و تری گلیسرید سرم با گروه کنترل مشاهده نشد ($P < 0.005$)، ولی فعالیت آنزیم مذکور به میزان 16 درصد نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود و میزان تری گلیسرید کبدی نیز به طور معنی داری در گروه تست نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود ($P < 0.005$).

بحث و نتیجه گیری: نتایج پژوهش حاکی از وجود یک یا چند ماده موثر در پسته وحشی است به طوری که در کوتاه مدت باعث افزایش کلسترول در کلیه فراکسیونهای لیپوپروتئینی می شود. برای درک بهتر مکانیسم اثر آن بایستی از پسته وحشی عصاره الکلی و آبی تهیه و بر روی متابولیسم چربیها آزمایش نمود. از طرف دیگر در دراز مدت این اثر افزایشی بر متابولیسم کلسترول مشاهده نمی شود. این پدیده احتمالاً ناشی از وجود فراوان اسیدهای چرب ضروری لینولئیک و لینولنیک در پسته می باشد که در دراز مدت باعث کاهش کلسترول می شود. با توجه به اینکه آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز در تشکیل کبد چرب نقش مهم دارد و پسته وحشی می تواند باعث کاهش فعالیت آن و در نتیجه کاهش میزان سنتز تری گلیسرید کبدی در کوتاه مدت و بلند مدت گردد، می توان از پسته وحشی در درمان کبد چرب از طریق جدا سازی و تخلیص اجزاء موثر آن استفاده کرد.

واژه های کلیدی: پسته وحشی، فسفاتیدات فسفوهیدرولاز، تری گلیسرید، کلسترول

* نویسنده مسئول: استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

مقدمه

عادات غذایی یکی از عوامل موثر بر روی ریسک فاکتورهای کرونری و هیپرلیپیدمی است. هر چند مصرف داروهای شیمیایی ضد چربی مثل ژمفیروزیل، کلوفیرات و استاتین ها باعث کاهش چربی خون و عوارض قلبی عروقی می شوند ولی اینگونه داروها معمولاً دارای عوارض جانبی نیز هستند. در جستجو برای ترکیبات فعال زیستی غذاها، که به شکلی موثر ریسک بیماری قلبی-عروقی و هیپرلیپیدمی را تحت تاثیر قرار دهند بیشتر به مصرف زیاد آجیل ها (Nuts) توجه شده است (1). اخیراً در نتایج مطالعات انجام شده، اثرات مفید آجیلها، خصوصاً بادام و گردو بر سطح لیپیدهای سرمی و متعاقب آن عوارض سرخرگ کرونری گزارش شده است. مکانیسم اختصاصی و یا مکانیسمهای تعیین کننده این بهبودی بر پروفیل لیپیدی و یا کاهش ریسک بیماری سرخرگ کرونری ناشناخته است، اما ممکن است با محتوای چربی غیراشباع آجیل ارتباط داشته باشد. همه آجیلها دارای سطح بالایی از چربیهای غیراشباع مونو یا پلی و سطح پایینی از چربیهای اشباع هستند. ترکیب اسید چرب هر نوع آجیل با بقیه انواع آن متفاوت است. بعلاوه آجیلها از نظر فیبر، ویتامین E و ترکیبات دیگر غنی هستند (2).

پسته وحشی (*Pistachia*) متعلق به خانواده آناکاردیاسه (*Anacardiaceae*) می باشد. گونه های خنجوک (*Pistachia khinjuk*) و آتلانتیک (*Pistachia atlantica*) دو گونه مهم هستند که با درختان مختلف در منطقه زاگرس ایران رشد می کنند (3). با توجه به وجود میزان زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع در پسته (4,5)، می توان به تأثیر این آجیل بر پروفایل لیپیدی و آنزیمهای درگیر در متابولیسم چربیها اشاره نمود. یکی از مهمترین آنزیمهای کلیدی درگیر در متابولیسم چربیها فسفاتیدات فسفوهیدرولاز (*Phosphatidate phosphohydrolase, PAP*) می باشد. آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز (*PAP, EC ۳,۱,۳,۴*) اسید فسفاتیدیک را به دی آسید گلیسرول و فسفات معدنی تبدیل می کند. این واکنش در نقطه ابتدایی متابولیسم گلیسرولیپیدها واقع شده است. تعدیل فعالیت

آنزیم در بیوسنتز فسفولیپیدهای غشایی اثر می گذارد (6). در سلول پستانداران دو نوع آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز شناسایی شده است؛ 1) *PAP₁* که بین سیتوزول و شبکه آندپلاسمی توزیع شده است و در تنظیم سنتز گلیسرولیپیدها دخالت می کند، 2) فرم دیگر آنزیم که *PAP₂* نامیده می شود غالباً در غشاء پلاسمایی یافت می شود و در انتقال سیگنال سلولی (*Signal transduction*) دخالت دارد (7).

با توجه به اینکه درخت پسته وحشی به شکلی گسترده در کشور ایران رشد می کند، هدف از این تحقیق بررسی تاثیر پسته وحشی بر فعالیت آنزیم کلیدی مسیر بیوسنتز چربیها یعنی فسفاتیدات فسفوهیدرولاز، چربیها و لیوپروتئینهای سرم موش صحرایی (رت) بوده است.

مواد و روش ها

این مطالعه به صورت تجربی در سال 1386 در گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایلام انجام گرفت.

1) مواد

اسید فسفاتیدیک و دی تیوتریتول از شرکت Sigma (آمریکا)، سدیم تترابورات، سرم آلبومین گاوی و تریس هیدروکلراید، اتانول، کلروفورم، دی اتیل اتر، سدیم پیروسولفیت، هیدروکینون، اسید آسکوربیک، سدیم کربنات، سدیم سولفیت، اسید تری کلرواستیک، EDTA، EGTA، PMSF از شرکت Merck (آلمان) خریداری و تهیه گردید.

2) حیوانات مورد آزمایش

در این تحقیق از موشهای صحرایی نر سفید از نژاد Wistar با میانگین وزنی 20 ± 160 گرم استفاده گردید. موشها از انستیتو پاستور تهران خریداری و در اتاق حیوانات در دمای $5 \pm 20^\circ\text{C}$ در گروه های 6 تایی در قفس های جداگانه قرار گرفته و تحت شرایط 12 ساعت تاریکی و 12 ساعت روشنایی نگهداری شدند.

موشها آزادانه به آب، غذای مخصوص موش (*Standard pelleted food*) یا غذای مخلوط شده با پودر پسته وحشی به نسبت مشخص دسترسی داشتند. موشها 12 ساعت قبل از کشته شدن از آب و غذا منع شدند. به منظور حصول سازش با محیط، تمامی

آزمایشها پس از گذشت یک هفته از استقرار حیوانات در لانه حیوانات انجام گردید.

3) روش تهیه ی غذای حاوی پسته وحشی

پس از خریداری پسته وحشی دانه های سالم و مغز دار جدا و تمیز شده و در درجه حرارت اطاق و در سایه خشک گردید. پس از آسیاب نمودن، پودر بدست آمده با نسبت 10 درصد با غذای پودر شده استاندارد موش مخلوط و مجدداً غذای مخصوص موش (حاوی 10 درصد پسته وحشی) تولید گردید.

4) گروه بندی و دوره های غذایی

این تحقیق در یک دوره کوتاه مدت 15 و یک دوره بلند مدت 60 روزه انجام گردید. 24 سر موش به طور تصادفی به 4 گروه شامل شاهد 15 روزه، تست 15 روزه ، شاهد 60 روزه و تست 60 روزه تقسیم شدند. گروه شاهد از غذای معمولی پلست شده و گروه تست از غذای معمولی حاوی 10 درصد پسته وحشی تغذیه شدند.

5) اندازه گیری فعالیت آنزیم PAP، چربیها و لیپوپروتئین ها

فعالیت آنزیم PAP در حجمی معادل $250 \mu\text{L}$ از 100 mM بافر تریس هیدروکلراید با $\text{pH}=7/4$ و شامل 2 میلی مولار MgCl_2 ، 1 میلی مولار دی تیوتیتول، 1 میلی مولاراز EDTA و EGTA، 1 میلی مولار فسفاتیدات اندازه گیری شد(8). یک واحد آنزیمی نیز مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که بتواند 1 میکرومول فسفات معدنی را تحت شرایط استاندارد سنجش در مدت یک دقیقه آزاد کند(8). مقدار پروتئین به روش برادفورد(9) و با استفاده از سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد اندازه گیری گردید.

نمونه خون مورد نیاز جهت اندازه گیری پارامترهای بیوشیمیایی سرم از شبکه رترو ارییتال چشم موش با استفاده از لوله های موبینه تهیه و بعد از لخته شدن خون سرم با سانتریفوژ در سرعت 3500 دور در دقیقه به مدت 10 دقیقه جداسازی گردید. میزان کلسترول و تری گلیسرید سرمی با استفاده از کیت شرکت درمان کاو (ایران) از طریق کالری متریک تعیین گردید. سنجش لیپوپروتئینها بر اساس ترکیبی از روش رسوبی و اولتراسانتریفوژ(10) و با استفاده از کیت های شرکت

درمان کاو(ایران) انجام شد. HDL-کلسترول با روش رسوبی HDL اندازه گیری شد. در مرحله اول، معرف رسوب دهنده به سرم افزوده شد تا ترکیبات غیر لیپوپروتئینی HDL مجتمع شوند. سپس این ترکیبات با استفاده از سانتریفوژ به مدت 10 دقیقه رسوب داده شدند. آنگاه HDL-کلسترول با روش آنزیمی اندازه گیری شد(10). LDL-کلسترول بر اساس فرمول فرید والد (Fridewald)(11) محاسبه گردید و VLDL-کلسترول از تقسیم تری گلیسرید بر عدد 5 محاسبه گردید(11). تخلیص تری گلیسرید از بافت کبد براساس روش تغییر یافته فولچ که توسط نورمن (Norman) ابداع گردید، انجام شد(12)، سپس میزان تری گلیسرید موجود در آن مطابق با روش تعیین تری گلیسرید نمونه های پلاسما اندازه گیری شد.

6) تحلیل آماری

نتایج به دست آمده با نرم افزار SPSS مورد آنالیز آماری قرار گرفت. با بدست آوردن میانگین، میانگین خطای استاندارد متغیر دو گروه (رژیم غذایی حاوی 10 درصد پسته وحشی و شاهد)، با استفاده از روش مقایسه ای T-test معنی دار بودن اختلاف بین دو متغیر در دو گروه در سطح 5 درصد مورد بررسی قرار گرفت.

یافته های پژوهش

تاثیر پودر پسته وحشی

نتایج بدست آمده از سنجش فعالیت آنزیم در دوره 15 روزه در جدول 1 و نمودار شماره 1 نشان داده شده است. یافته ها نشان می دهد که فعالیت آنزیم در این دوره حدوداً 11 درصد کاهش یافته است. هر چند این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نیست ($P>0,05$).

نتایج نشان می دهد که غلظت کلسترول توتال، تری گلیسرید سرم، HDL-کلسترول، LDL-کلسترول و VLDL-کلسترول در دوره 15 روزه نسبت به شاهد به ترتیب 24/02، 1/39، 22/31، 10/2 و 30/54 درصد افزایش داشته است(جدول شماره 2). به طوری که افزایش کلسترول توتال، HDL-کلسترول و LDL-کلسترول معنی دار بود ($P<0,05$). اما افزایش تری گلیسرید سرم و VLDL-کلسترول در این دوره معنی دار نبود ($P>0,05$). تری گلیسرید کبدی در این

توتال، HDL-کلسترول، LDL-کلسترول و VLDL-کلسترول به ترتیب 13/69، 9/81، 12/67 و 25/30 درصد نسبت به گروه شاهد افزایش داشته، ولی مقدار تری گلیسرید سرمی در این دوره کاهش 2/62 درصدی داشت. با این وجود پارامترهای خونی مذکور اختلاف معنی داری را در گروه شاهد و تست نشان ندادند ($P > 0.05$). از طرف دیگر تری گلیسرید کبدی در این دوره 20/2 درصد کاهش یافته بود (نمودار شماره 2) که این کاهش از نظر آماری معنی دار بود ($P < 0.05$).

دوره 19/59 درصد کاهش یافته (نمودار شماره 2) که این کاهش از نظر آماری معنی دار بود ($P < 0.05$).

یافته های بدست آمده از اندازه گیری فعالیت آنزیم در دوره 60 روزه در جدول 1 و نمودار شماره 1 نشان داده شده است. فعالیت آنزیم در این دوره از کاهش 16 درصدی نسبت به گروه شاهد برخوردار بود اما معنی دار نبود ($P > 0.05$).

نتایج سنجش میزان چربیها و لیپوپروتئینها پس از مصرف جیره حاوی پودر پسته وحشی در دوره 60 روزه در جدول 3 ارائه شده است. این یافته ها نشان می دهد که غلظت کلسترول

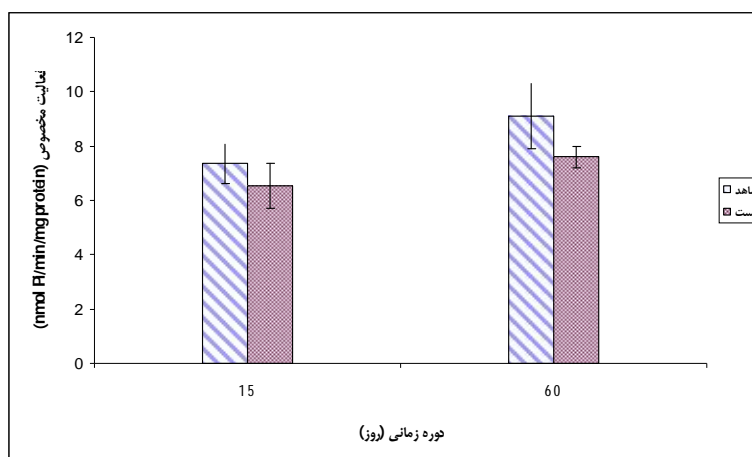
جدول 1. فعالیت مخصوص آنزیم PAP بر حسب (nmol Pi/min/mg protein) در دوره های 15 و 60 روزه

تغییرات (درصد)	گروه تست	گروه شاهد	
11 % -	6/55 ± 0/82	7/36 ± 0/72	فعالیت آنزیم در دوره 15 روزه
16/57 % -	7/60 ± 0/40	9/11 ± 1/19	فعالیت آنزیم در دوره 60 روزه

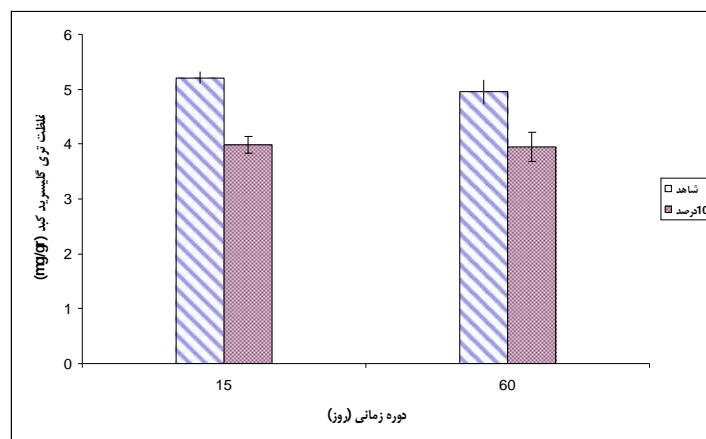
اعداد به صورت Mean ± SEM نشان داده شده اند.

افزایش و کاهش تغییرات بصورت درصد نسبت به گروه شاهد است. تعداد رتهای هر گروه 6 سر بود.

نمودار شماره 1. نمودار تأثیر پسته وحشی بر میزان فعالیت آنزیم PAP در دوره زمانی 15 و 60 روزه



نمودار شماره 2. نمودار تاثیر بسته وحشی بر غلظت تری گلیسرید کبدی رتها در دوره زمانی 15 و 60 روزه



جدول 2. غلظت چربیها و لیوپروتئین ها در گروه شاهد و تست تحت تاثیر بسته وحشی در دوره 15 روزه

تغییرات (درصد)	گروه تست	گروه شاهد	پارامتر
+ % 24/02	81/52 ± 2/26 *	65/73 ± 4/35	کلسترول توتال (mg/dl)
+ % 1/39	74/80 ± 2/07	73/77 ± 10/42	تری گلیسرید سرم (mg/dl)
+ % 22/31	50/20 ± 2/21 *	41/04 ± 2/93	HDL-کلسترول (mg/dl)
+ % 100/2	16/94 ± 3/47 *	8/46 ± 1/57	LDL-کلسترول (mg/dl)
+ % 30/54	14/96 ± 0/41	11/46 ± 1/01	VLDL-کلسترول (mg/dl)
- % 19/59	3/98 ± 0/15 *	4/95 ± 0/14	تری گلیسرید کبد (mg/g r)

اعداد به صورت Mean ± SEM نشان داده شده اند. افزایش و کاهش تغییرات بصورت درصد نسبت به گروه شاهد است. ستاره ها معنی دار بودن اعداد را نسبت به گروه شاهد نشان می دهد ($P < 0,05$). تعداد رتهای هر گروه 6 سر بود.

جدول 3. غلظت چربیها و لیوپروتئین ها در گروه شاهد و تست تحت تاثیر پسته وحشی در دوره 60 روزه

پارامتر	گروه شاهد	گروه تست	تغییرات (درصد)
کلسترول توتال (mg/dl)	65/58 ± 4/44	74/56 ± 4/92	+ % 13/69
تری گلیسرید سرم (mg/dl)	73/77 ± 10/42	71/83 ± 5/98	- % 2/62
HDL-کلسترول (mg/dl)	41/76 ± 3/03	45/86 ± 1/34	+ % 9/81
LDL-کلسترول (mg/dl)	8/60 ± 1/91	9/69 ± 1/73	+ % 12/67
VLDL-کلسترول (mg/dl)	11/46 ± 1/01	14/36 ± 1/19	+ % 25/30
تری گلیسرید کبد (mg/gr)	4/95 ± 0/22	3/95 ± 0/27 *	- % 20/20

اعداد به صورت Mean ± SEM نشان داده شده اند. افزایش و کاهش تغییرات بصورت درصد نسبت به گروه شاهد است. ستاره معنی دار بودن اعداد را نسبت به گروه شاهد نشان می دهد (P<0,05). تعداد رتهای هر گروه 6 سر بود.

بحث و نتیجه گیری

انجام شده توسط ما، تاکنون هیچ مطالعه ای بر روی مکانیسم اثر پسته وحشی بر کاهش چربیهای خون انجام نشده است. ولی مطالعات پراکنده ای بر روی برخی از خواص پسته وحشی انجام گرفته است. مثلاً کوماراسینگ و همکارانش آثار روغن پسته وحشی را بر روی پوست و نقش لاروکشی آن بررسی کردند و یا مورائی و همکاران در سال 1993 اثرات روغن پسته وحشی را بر پارامترهای فارماکوکینتیک مسدود کننده های بتا در موش بررسی کردند (17). تنها در یک مطالعه نشان داده شد که مصرف پودر پسته وحشی (به صورت 10 درصد و 100 درصد) باعث کاهش چشمگیر غلظت تری گلیسرید، کلسترول، VLDL-کلسترول و LDL-کلسترول در خرگوشهای نر می شود، در حالیکه غلظت HDL-کلسترول سرم به طور معنی داری افزایش یافته بود (5)، ولی در این تحقیق مکانیسم اثر پسته وحشی بررسی نشده است.

از عوامل موثر در تاثیر پسته بر متابولیسم چربیها مدت زمان تغذیه رژیمی می باشد به طوری که دوره غذایی 10 روزه (کوتاه مدت) زمان کافی برای درک کلی اثرات رژیم غذایی بر روی متابولیسم کلسترول نیست (18). به نظر می رسد عواملی که باعث افزایش

از عوامل مهم مرگ و میر در جوامع انسانی، بیماریهای قلبی-عروقی از جمله آترواسکلروز است. در آترواسکلروز ناشی از هیپرلیپیدمی، تولید ایکوزانوئیدها (پروستاگلاندین ها، پروستاگلین ها و ...) تغییر می کند. از آنجا که پیش ساز این ترکیبات، اسیدهای چرب ضروری است، لازم است به نقش و اهمیت اسیدهای چرب خوراکی توجه شود (10). نقش گیاهان مختلف در کاهش چربیهای خون و در نتیجه کاهش بیماریهای قلبی-عروقی شناخته شده است. در این زمینه می توان به شنبلیله، شوید و برگ درخت گردو اشاره نمود (13،14). مطالعات صورت گرفته، احتمال کاهش خطر بیماریهای قلبی-عروقی را با مصرف منظم گردو نشان داده است. علت احتمالی این کاهش آن است که گردو سرشار از اسیدهای چرب غیر اشباع با پیوند دوگانه است که حضور این ترکیبات سبب کاهش غلظت کلسترول تام و LDL-کلسترول سرم می شود (15،16). پسته نیز مانند گردو دارای میزان فراوانی اسید چرب غیر اشباع است، در نتیجه می توان مصرف آن را همچون گردو برای کاهش چربیهای خون و جلوگیری از خطر بیماری آترواسکلروز توصیه کرد. بر اساس بررسی های

که این عوامل می توانند سبب کاهش فعالیت آنزیم PAP (7) شوند. در این تحقیق، همچنین کاهش فعالیت PAP در هر دو دوره زمانی 15 و 60 روزه و در نتیجه کاهش مقدار تری گلیسرید موجود در کبد مشاهده شد. احتمالاً بخشی از کاهش فعالیت آنزیم به واسطه وجود اسیدهای اولئیک و لینولئیک در پسته است که باعث کاهش فعالیت آنزیم PAP و در نهایت کاهش میزان تری گلیسرید کبدی می شوند. بنابراین، با توجه به اینکه آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز در تشکیل کبد چرب نقشی مهم دارد و پسته وحشی می تواند باعث کاهش فعالیت آن و در نتیجه کاهش میزان سنتز تری گلیسرید کبدی در کوتاه مدت و بلند مدت گردد، می توان از پسته وحشی در درمان کبد چرب از طریق جدا سازی و تخلیص اجزاء موثر آن استفاده کرد.

کلسترول در فراکسیونهای لیپوپروتئینی سرم در دوره 15 روزه می شوند عواملی مثل مقادیر زیاد صمغ (19)، رزین (20)، اسیدهای چرب ترانس (21)، اسیدهای چرب غیراشباع پلی (18)، اسیدهای چرب اشباع (22)، کمبود مس (23، 24) و اثر مهاری عنصر روی در متابولیسم مس (23) باشد، اما در دوره بلند مدت تحت تاثیر ترکیبات پکتینی و استرولهای گیاهی (25)، نوع فیبر غذایی (15)، اسید چرب غیراشباع مونو (26-28) خصوصاً اسید اولئیک، اسید لینولئیک، اسید لینولئیک (15، 29)، آمینو اسید آرژنین (30)، نسبت خیلی پایین Lys/Arg (15) و محصولات ترپنوئیدی (31) این رویه برعکس می شود، یعنی پارامترهای مذکور کاهش می یابند. علاوه بر این موارد، پسته وحشی حاوی مقادیر بالایی اسید اولئیک و اسید لینولئیک (5) و عناصر معدنی (18) می باشد و در این رابطه اثبات شده

References

- 1-Peterson JM, et al. *A Systematic review of the effects of nuts on blood lipid profiles in humans*. J Nutr, 2005; 135: 2082-89.
- 2-Edwards K, Kwaw I, Matud J, Kurtz I. *Effect of Pistachio nuts on serum lipid levels in patients with moderate hypercholesterolemia*. Am J. College of Nutrition, 1999; 18(3):229-33.
- 3-Saffarzadeh A, et al. *Determination of the chemical composition of acorn (Quercus branti), Pistacia atlantica and Pistacia Khinj seeds as non-conventional feedstuffs*. Acta Agr Kapos, 1999; 3: 59-69.
- 4- خلاصه مقالات اولین سمینار ملی بنه، ایلام، انتشارات مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان ایلام. 1374. ص 21-381.
- 5- نظیفی سعید، صائب مهدی، یآوری مرتضی، جلالی جعفر. بررسی تاثیر پودر پسته وحشی (بنه) بر چربی ها و لیپو پروتئین های سرم خون خرگوش های نر. مجله غدد درون ریز و متابولیسم ایران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، 1384: سال هفتم شماره 1. ص 8-73.
- 6-Walton PA, Possmayer F. *The effects of triton X-100 and cholormpromazin on the Mg+ -dependent and Mg+ -independent phosphatidate Phosphohydrolase activities of rat lung*. Biochem J, 1989; 261:673-8.
- 7-Elabbadi N, Day CP, Gamouh A, Zyad A, Yeaman SJ. *Relationship between the inhibition of phosphatidic acid phosphohydrolase-1 by oleate and oleoyl-CoA ester and its apparent translocation*. Biochimie, 2005; 87:437-43.
- 8-Haghighi B, Heidarian E. *Evidence for an essential lysine residue on cytosolic phosphatidate phosphohydrolase from rat liver*. Iranian J Sci Thech, 2001; 25:175-82
- 9-Bradford M, Anal Biochem. 1976; 72: 248-54.
- 10-Burtis CA, Ashwood ER, Tietz. *Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia, WB Saunders Co. 1994; 1002-93.
- 11-Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. *Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge*. Clin Chem, 1972; 18(6):499-502.

- 12-Norman SR. *Preparation of lipid extract*. In Johan M.L. Ed *Methods in enzymology*. London, Academic press, **1969**; **14**: 245.
- 13- جلودار غلامعلی، نظیفی سعید. بررسی اثر پیاز، سیر و شنبلیله بر روی برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون موش های صحرایی دیابتی. *مجله علمی دانشکده دامپزشکی شهید چمران اهواز*، 1377: سال 1؛ شماره 1، ص 71-81.
- 14- جلودار غلامعلی، نظیفی سعید. بررسی اثر گیشنیز، انار و برگ درخت گردو بر روی برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون موش های صحرایی دیابتی. *مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد*، 1378: سال 7، شماره 1؛ ص 77-82.
- 15-Sabate J, Fraser GE, Burke k, Knutsen SF, Bennett H, Lindsted KD. *Effects of walnuts on serum lipid levels and blood pressure in normal men*. *N Engl J Med*, **1993**; **328**(9):603-7.
- 16-Zambón D, Sabaté J, Muñoz S, Campero B, Casals E, Merlos M, Laguna JC, and Ros E. *Substituting walnuts for monounsaturated fat improves the serum lipid profile of hypercholesterolemic men and women*. *PubMed*, **2000**; **132**(7): 538-46.
- 17-Kumarasinghe SP, Karunaweera ND, Ihalamulla RL, Arambewela LS, Dissanayake RD, Larvicidal. *Effects of mineral turpentine, low aromatic white spirits, aqueous extracts and essential oil of betel leaf (piper betel) on Chrysomya megacephala*. *Int J Dermatol*, **2002**, **41**(12): 877-80.
- 18-Howell TJ, MacDougall DE, and Jones PJH. *Phytosterols partially explain differences in cholesterol metabolism caused by corn or olive oil feeding*. *J. Lipid Res*, **1998**; **39**:892-900.
- 19-Kang JS, Wanibuchi H, Salim EI, Kinoshita A, Fukushima S. *Evaluation of the toxicity of mastic gum with 13 weeks dietary administration to F344 rats*. *Food and Chemical Toxicology*, **2007**; **45**: 494-501.
- 20-Robins SJ, Fasulo JM, Lessard PD, and Patton GM. *Hepatic cholesterol synthesis and the secretion of newly synthesized cholesterol in bile*. *Biochem J*, **1993**; **289**: 41-44.
- 21-Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Rimm EB, Colditz GA, Rosner BA, Speizer F E, Hennekens CH, Willett WC. *Frequent nut consumption and risk of coronary heart disease in women; a prospective cohort study*. *BMJ*, **1998**; **317**:1341-5.
- 22-Etherton PK, Yu-Poth S, Sabaté J, Ratcliffe HE, Zhao G, and Etherton TD. *Nuts and their bioactive constituents; effects on serum lipids and other factors that affect disease risk* 1, 2. *Am J Clin Nutr*, **1999**; **70**:504-11.
- 23-Klevay LM, and Combs GFJr. *Mineral elements related to cardiovascular health*. World Health Organization. Geneva, **2004**.
- 24- Valsala P., and Kurup PA. *Investigations on the mechanism of hypercholesterolemia observed in copper deficiency in rats*. *J Biosci*, **1987**; **12**:137-142.
- 25-O'brien BC, and Reiser R. *Comparative effects of purified and human-type diets on cholesterol metabolism in the rat*. *J Nutr*, **1979**; **109**: 98-104.
- 26-Kocyigit A, Koylu AA, Keles H. *Effects of pistachio nuts consumption on plasma lipid profile and oxidative status in healthy volunteers*. *Nutr Meta & Cardio Dis*, **2006**; **16**:202-9.
- 27-Garg ML, Blake RJ, and Wills RBH. *Macadamia nut consumption lowers plasma total and LDL cholesterol levels in hypercholesterolemic men*. *J Nutr*, **2003**; **133**:1060-63.
- 28-Kris-Etherton PM, Pearson TA, Wan Y, Hargrove RL, Moriarty K, Fishell V, and Etherton TD. *High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations*. *Am J Clin Nutr*, **1999**; **70**:1009-15.
- 29-Grundy SM. *Monounsaturated fatty acids and cholesterol metabolism; implications for dietary recommendations*. *J Nutr*, **1989**; **119**: 529-33.
- 30-Anonymous "Source naturals cholestrex." Printed on recycled paper. Source Naturals, Inc. **1995**.
- 31-Elson CE, and Yu SG. *The chemoprevention of cancer by mevalonate-derived constituents of fruits and vegetables*. *J Nutr*, **1994**; **124**: 607-14.



Effects of Pistachio Nut Powder on Rat Liver Phosphatidate Phosphohydrolase and Serum Lipids and Lipoproteins Profile

Heidarian E.^{*1}, Hajihossaini R.², Jafari Dehkordy E.³, Omidi H.⁴

Abstract

Introduction: Although the consumption of chemical drugs such as clofibrate and statins reduce serum lipids, they have undesirable side effects. So, at the present time the use of medicinal plants are preferred, because they are cheap, beneficially effective and of low undesirable side effects. The nuts of Anacardiace family have hypolipidemic effects on serum lipid profile by unknown mechanisms.

Phosphatidate phosphohydrolase (PAP) is a key regulator enzyme in lipid metabolism. Therefore, the aim of this study is to determine effects of Pistacia khinjuk nut on PAP, serum lipid profile and liver content triglyceride in rats.

Materials and Methods: Four groups of rats (n=6/group) were fed with normal diet (control) or normal diet plus 10% pistachio nut powder for 15 and 60 days . Then, PAP activity, triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, VLDL- cholesterol, and liver content triglyceride were measured.

Findings: Feeding rats with pistachio nut for 15 days had significant elevated

cholesterol in all lipoprotein fractions and reduced liver content triglyceride ($P < 0,05$). Although, PAP activity reduced approximately 11%, it was not significant in control group ($P > 0,05$). On the other hand, rats fed with pistachio nut for 60 days had no significant differences with control group in all lipoprotein fractions ($P > 0,05$), whereas the liver content triglyceride significantly decreased ($P < 0,05$). In addition, PAP activity also decreased nearly 16% with respect to control group.

Conclusion: The data shows that in pistachio nut, there is one or some substances able to elevate cholesterol metabolism. Hence, for understanding the effect of pistachio nut on lipid metabolism, it is necessary to prepare alcohol and water extraction of pistachio nut and examine them. On the other hand, in long time, no significant affection was seen. This may be due to the effect of essential fatty acids of nut, linoleic and linolenic, that can reduce serum lipids. Considering the fact that PAP is involved in the formation of fatty

liver and also pistachio nut can result in reduction of liver content triglyceride by decreasing PAP activity in short and long courses, the pistachio nut can be used for the treatment of fatty liver

through isolation and purification of effective components of it.

Key words: pistachio nut, phosphatidate phosphohydrolase, triglyceride, cholesterol

1. Assist Prof., Biochemistry Dept, Ilam University of Medical Sciences (Corresponding author)

2. Payam e Nour University, Tehran Branch

3. Health Center of Shahre-kord , University of Medical Sciences