

## بررسی اثر روغن کنجد بر فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز کبد و میزان

### لیپوپروتئینهای سرم خرگوشهای هیپرکلسترولمیک

اسفندیار حیدریان<sup>۱</sup>، بهارک کاشانی<sup>۲</sup>، محمود رفیعیان کوپایی<sup>۳</sup>، رضا حاج حسینی<sup>۴</sup>، رویا انصاری سامانی<sup>۵</sup>

۱. دانشیار بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران (مؤلف مسوول) تلفن ثابت: ۳۳۴۶۷۲۰-۰۳۸۱،

heidarian\_e@skums.ac.ir

۲. کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه پیام نور واحد تهران، تهران، ایران

۳. استاد فارماکولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۴. دانشیار بیوشیمی بالینی، دانشگاه پیام نور واحد تهران، تهران، ایران

۵. کارشناس ارشد بافت شناسی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

### چکیده

**زمینه و هدف:** امروزه نقش گیاهان دارویی در کاهش بیمار بهای قلبی- عروقی از جمله آترواسکلروز اثبات شده است. آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز کبدی آنزیمی کلیدی در متابولیسم گلیسرولیپیدها است. بنابراین، هدف از این تحقیق شناخت اثر روغن کنجد بر فسفاتیدات فسفوهیدرولاز کبدی، میزان کلسترول و تری گلیسرید کبدی و لیپوپروتئین های سرم خرگوش های هیپرکلسترولمیک بود.

**روش بررسی:** در این تحقیق تجربی تعداد ۲۷ خرگوش بطور تصادفی به سه گروه ۹ تایی تقسیم شدند. گروه اول (شاهد) که رژیم معمولی دریافت کردند. گروه دوم (گروه هیپرکلسترولمیک) که رژیم غذایی آنها حاوی کلسترول (یک درصد) بود و تحت درمان قرار نرفتند. گروه سوم که رژیم غذایی آنها حاوی کلسترول (یک درصد) به اضافه روغن کنجد (پنج درصد) بود. گروه ها به مدت ۲ ماه تحت رژیم قرار گرفتند. در پایان دو ماه فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز، کلسترول و تری گلیسرید کبدی، لیپوپروتئین ها، ظرفیت آنتی اکسیدانی و میزان مالون دی آلدئید سرم اندازه گیری شد. از آزمون ANOVA یک طرفه جهت آنالیز میانگین متغیرها در گروه ها استفاده شد. برای مقایسه گروه ها به صورت دو به دو از آزمون Tukey استفاده گردید. **یافته ها:** در خرگوش های دریافت کننده رژیم غذایی پر کلسترول و روغن کنجد میزان فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز نسبت به گروه پر کلسترول و گروه شاهد بطور معنی دار کاهش یافته بود ( $p < 0.05$ ). مصرف غذایی پر کلسترول در گروه دوم بدون درمان، باعث افزایش معنی دار ( $p < 0.05$ ) لیپوپروتئین های سرم نسبت به گروه شاهد شد. همچنین روغن کنجد در گروه سوم بطور معنی دار باعث کاهش لیپوپروتئین های سرم، تری گلیسرید کبدی و کلسترول کبدی در مقایسه با گروه دوم شد. میزان مالون دی آلدئید در خرگوش های دریافت کننده رژیم غذایی حاوی روغن کنجد نسبت به گروه پر کلسترول به طور معنی دار کاهش یافته بود ( $p < 0.05$ ) ولی ظرفیت آنتی اکسیدانی خرگوش هایی که روغن کنجد دریافت نموده اند به طور معنی داری نسبت به گروه پر کلسترول افزایش یافته بود ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه گیری:** روغن کنجد می تواند از طریق ایجاد تغییرات مطلوب بر سطح لیپوپروتئین های خون و کاهش میزان چربی های سرم، در کاهش ریسک فاکتورهای بیماری های قلبی- عروقی موثر باشد. همچنین، روغن کنجد می تواند باعث کاهش فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز و در نتیجه کاهش میزان سنتز تری گلیسرید کبدی شود و متعاقباً "ریسک ابتلا به کبد چرب در رژیم های هیپرکلسترولمیک را کاهش دهد.

**واژگان کلیدی:** روغن کنجد، فسفاتیدات فسفوهیدرولاز، تری گلیسرید کبدی، هیپرکلسترولمی، لیپوپروتئین های سرم

وصول مقاله: ۹۰/۱۱/۵ اصلاحیه نهایی: ۹۱/۲/۲۱ پذیرش: ۹۱/۱۱/۱۷

## مقدمه

آترواسکلروز و مشکلات مربوط به آن سبب اغلب مرگ و میرها در کشورهای توسعه یافته است. علیرغم کوشش‌های فراوان صنایع دارویی، در جهت دستیابی به داروهای موثر در پیشگیری و درمان آترواسکلروز، همچنان تمایل مردم سراسر دنیا به استفاده از داروهای گیاهی در این خصوص رو به افزایش است (۱).

تحقیقات نشان داده است که برخی از گیاهان با خواصی چون کنترل میزان اکسیداسیون، تنظیم چربی‌های خون و کاهش التهاب، قادر به مهار مرحله تشکیل و حتی پیشرفت آترواسکلروز از طریق مکانیزم‌های مختلف مثل کنترل تشکیل رگه‌های چربی (اولین مرحله در شروع آسیب‌های آترواسکلروز) هستند. در واقع تشکیل رگه‌های چربی که پس از تهاجم ماکروفاژها، انتقال لیپوپروتئین‌ها به خصوص ذرات LDL کلسترول و LDL اکسید شده به فضای درونی دیواره رگ‌ها، آغاز می‌شود به نظر پدیده‌ای قابل کنترل می‌رسد (۲-۴).

کنجد (*Sesamum indicum* L.) به خانواده پدالیاسه (Pedaliaceae) تعلق دارد و یکی از گیاهان دیرینه زراعی و با ارزش می‌باشد. بیشترین بخش کاربرد کنجد، دانه آن است که نزدیک به ۷۵ درصد آن از چربی و پروتئین تشکیل شده است. روغن کنجد از روغن‌های با مرغوبیت زیاد است و به موجب کیفیت عالی، بوی مطبوع و مزه خوبی که دارد این دانه را ملکه دانه‌های روغنی می‌نامند (۵). روغن کنجد حاوی لیگنان‌های متنوعی از قبیل سسامین (Sesamin) و سسامینول (Sesaminol) تا حدود ۱/۵ درصد می‌باشد که مسئول بسیاری از خواص فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی منحصر بفرد این روغن مانند خواص آنتی‌اکسیدان، ضد موتازنی و ضدالتهابی آن می‌باشند (۶و۷). علاوه بر این، در مطالعه‌ای که توسط Hirose و همکارانش بر روی موش‌ها انجام شد، نشان داد تغذیه با سسامین کنجد به مدت ۴ هفته سبب کاهش سطح کلسترول سرمی در موش‌ها می‌شود (۸). در مطالعه Trattner و

همکاران مشخص شد که مصرف روغن کنجد در ماهیان پرورشی می‌تواند باعث بهبود و کاهش اسیدهای چرب اشباع در روغن ماهی شود (۹). همچنین مطالعات انجام گرفته نشان داده‌اند که لیگنان سسامین کنجد باعث کاهش فعالیت کبدی و فراوانی mRNA آنزیم‌های لیپوژنیک شامل اسید چرب سنتتاز، پیروات کیناز، گلوکز شش فسفات دهیدروژناز، ATP سترات لیاز می‌شود و آنزیم‌های درگیر در اکسیداسیون اسید چرب کبدی شامل کارنیتین پالمیتویل ترانسفراز، آسیل کوآ دهیدروژناز، آسیل کوآ اکسیداز، سه-هیدروکسی آسیل کوآ دهیدروژناز، انوئیل کوآ هیدراتاز، سه-کتو آسیل کوآ تیولاز را افزایش می‌دهد (۱۱ و ۱۰). آنزیم فسفاتیدات فسفوایدولاز (EC 3.1.3.4 PAP; Phosphatidate phosphohydrolase) آنزیمی در متابولیسم گلیسرولیپیدها در سلول‌های حیوانی می‌باشد. این آنزیم اسید فسفاتیدیک را به دی آسیل گلیسرول و فسفات معدنی تبدیل می‌کند. این واکنش در نقطه ابتدایی متابولیسم گلیسرولیپیدها واقع شده است (۱۲). دی آسیل گلیسرول حاصل از این واکنش آنزیمی به عنوان پیش ساز تری گلیسریدها می‌باشد و خود تری گلیسرید نقش ذخیره انرژی برای موجود را به عهده دارد. علاوه بر این، تنظیم ذخیره تری گلیسرید در بیماری‌های انسانی حائز اهمیت است، چونکه افزایش یا کمبود ذخیره تری گلیسریدی توام با دیس لیپیدی، مقاومت به انسولین و دیابت است (۱۳ و ۱۴). آنزیم فسفاتیدات فسفوایدولاز (PAP) دارای دو فرم می‌باشد که عبارتند از فرم سیتوزولی (PAP<sub>1</sub>) که دی آسیل گلیسرول حاصل از واکنش آنزیمی آن در بیوسنتز تری گلیسرید و فسفولیپیدهای مرکب نقش دارد، برای فعالیت نیازمند یون  $Mg^{2+}$  است و کاملاً بوسیله N-اتیل مالیمید (NEM) مهار می‌شود. فرم دیگر غشایی (PAP<sub>2</sub>) است که برای فعالیت نیازی به یون  $Mg^{2+}$  ندارد، توسط NEM نیز مهار نمی‌شود و در پدیده انتقال پیام سلولی<sup>۱</sup> نقش دارد (۱۵ و ۱۲).

<sup>1</sup> Signal transduction

پایان دوره، خرگوش‌ها توسط کلروفورم بیهوش شدند و از قلب آنها خون جهت تهیه سرم و اندازه‌گیری لیپوپروتئین سرم گرفته شد. همچنین کبد خرگوش‌ها خارج و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی سرد، بخشی از آن جهت اندازه‌گیری میزان کلسترول و تری‌گلیسرید کبد برداشته شد و بخش دیگری در دمای ۷۰- درجه سلسیوس تا زمان اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز کبدی نگهداری شد.

#### - مواد

فسفاتیدیک اسید (ملح دی سدیم)، فنیل متیل سولفونیل فلوراید (PMSF)، تری پیریدیل تری آدین از شرکت سیگما (کشور آمریکا) خریداری شد. تریس هیدروکلراید، آمونیوم مولیبدات، اسید آسکوربیک، EDTA (ملح سدیم)، سرم آلبومین گاوی (Bovine serum albumin) (BSA)، ساکاروز، کوماسی بریلانت بلو-G-250، متانول، اسید سیلیسیک، پتاسیم دی هیدروژن فسفات، کلرید سدیم، کلروفورم، اتانول، سدیم دودسیل سولفات، اسید فسفریک، استاندارد مالون دی آلدئید از شرکت مرک (کشور آلمان) خریداری شد. کیت‌های تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL-کلسترول، LDL-کلسترول، SGPT و SGOT از شرکت درمان کاو (کشور ایران) خریداری شد.

- **اندازه‌گیری فعالیت آنزیم PAP و چربی‌های کبدی**  
فعالیت فسفاتیدات فسفوهیدرولاز کبدی با روش یاناگیتا (Yanagita) اندازه‌گیری شد (۱۸). در این روش برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم از سوسپانسیون آبکی فسفاتیدات استفاده گردید. حجم سنجش فعالیت ۰/۲ml از بافر سنجش فعالیت آنزیم (شامل ۵۰ میلی مولار Tris-HCl با ۷/۵ pH=، ۱/۲۵mM MgCl<sub>2</sub> و اسید فسفاتیدیک ۱mM) و مقدار ۵۰ تا ۱۰۰ میکروگرم از سوسپانسیون آنزیم بود بطوریکه در شرایط سنجش، فعالیت نسبت به غلظت آنزیم خطی بود. لوله بلانک شامل همه اجزاء بجز سوبسترا (اسید فسفاتیدیک) بود و در عین حال بمدت یک دقیقه لوله

اخیراً" تاثیر سیر و کنگر فرنگی بر فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز کبدی در رژیم‌های هیپرلیپیدمیک بررسی شده است (۱۶ و ۱۷). نتایج حاکی از کاهش فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز کبدی و همچنین میزان تری‌گلیسرید کبدی توسط سیر و کنگر فرنگی است. با توجه به اینکه مطالعات قبلی حاکی از اثرات روغن کنجد بر تعدیل هیپرلیپیدمی و کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های دخیل در متابولیسم چربی‌ها می‌باشد و از طرف دیگر تاثیر مصرف روغن کنجد بر فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز کبدی بررسی نشده است، بنابراین هدف از مطالعه حاضر تعیین تاثیر مصرف روغن کنجد بر فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز کبدی، میزان کلسترول و تری‌گلیسرید کبدی و لیپوپروتئین‌های سرم خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک بود.

#### مواد و روش‌ها

##### - حیوانات مورد آزمایش

در این تحقیق تجربی مداخله‌ای از ۲۷ خرگوش نر (نژاد نیوزلندی) که از انسیتیو رازی خریداری گردیدند، استفاده شد. این تحقیق در سال ۱۳۹۰ در دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام گرفت. حیوانات به مدت ۲ هفته به عنوان دوره تطابق، تحت رژیم پایه و تحت شرایط استاندارد (از لحاظ نور و درجه حرارت) قرار گرفتند. این حیوانات آزادانه به آب و غذای مخصوص دسترسی داشته و در پایان مدت ۲ هفته به طور تصادفی به سه گروه ۹ تایی تقسیم شدند. گروه اول (شاهد) که رژیم معمولی دریافت کردند. گروه دوم (گروه هیپرکلسترولمیک) که رژیم غذایی آنها حاوی کلسترول یک درصد بود و تحت درمان قرار نگرفتند. گروه سوم که رژیم غذایی آنها حاوی کلسترول یک درصد به اضافه روغن کنجد (پنج درصد) بود. گروه‌ها به مدت دو ماه تحت رژیم خاص خود قرار گرفتند و در

از روش کالریمتری واکنش اسید تیو بایوتوریک با مالون دی آلدئید که ایجاد ترکیب رنگی با جذب نوری در ۵۳۲ نانومتر (۲۲) می کند، اندازه گیری گردید. ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم نیز با استفاده از ترکیب تری پیریدیل تری آذین اندازه گیری شد (۲۳).

در این مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون ANOVA یک طرفه، میانگین متغیرها در گروه ها بررسی شد. برای مقایسه گروه ها به صورت دو به دو از آزمون Tukey استفاده گردید. مقادیر با  $p < 0.05$ ، در بین گروه ها معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته ها

یافته های بدست آمده از اندازه گیری فعالیت آنزیم PAP، تری گلیسرید و کلسترول کبدی گروه ها در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. فعالیت آنزیم در گروه پرکلسترول نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ). همچنین در گروه سوم (گروه دریافت کننده غذای پرکلسترول و روغن کنجد) فعالیت آنزیم PAP نسبت به گروه دوم (گروه دریافت کننده غذای پرکلسترول بدون درمان) یک کاهش معنی داری نشان داد ( $p < 0.05$ ). میزان تری گلیسرید و کلسترول کبدی نیز در گروه دریافت کننده رژیم پرکلسترول افزایش معنی داری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند ( $p < 0.05$ ) همچنین که در گروه تغذیه شده با رژیم پرکلسترول و روغن کنجد میزان تری گلیسرید و کلسترول کبدی نسبت به گروه پرکلسترول کاهش معنی داری را نشان دادند ( $p < 0.05$ ).

نتایج نشان داد که غلظت تری گلیسرید، کلسترول تام، LDL کلسترول، HDL کلسترول، VLDL کلسترول، GOT و GPT در سرم خرگوش های گروه دوم (گروه دریافت کننده غذای پرکلسترول بدون درمان) نسبت به خرگوش های دریافت کننده رژیم معمولی (گروه شاهد) افزایش معنی داری ( $p < 0.05$ ) را نشان می دهد (جدول شماره ۲). در خرگوش هایی گروه سوم (دریافت کننده

بلانک قبل از انکوباسیون در آب جوش جهت غیر فعال شدن کامل آنزیم قرار داده شد. واکنش آنزیمی با افزایش سوبسترا به لوله تست شروع و به مدت ۱۵ دقیقه در حمام  $37^{\circ}\text{C}$  انکوبه شد. واکنش با افزودن  $0.8\text{ml}$  از محلول متوقف کننده (شامل  $0.13\%$  سدیم دودسیل سولفات،  $0.25\%$  اسید آسکوربیک،  $0.32\%$  آمونیوم مولیدات و  $0.75\%$  مولار از اسید سولفوریک) متوقف گردید. سپس لوله تست و بلانک جهت واکنش فسفات معدنی حاصل از فعالیت آنزیم با مولیدات به مدت ۲۰ دقیقه در دمای  $45^{\circ}\text{C}$  درجه سلسیوس انکوبه شد. در این حالت فسفات معدنی حاصل از فعالیت آنزیم PAP بر سوبسترا، تحت تاثیر آمونیوم مولیدات قرار گرفته و تبدیل به کمپلکس فسفومولیدیک اسید گردید. سپس این ترکیب تحت تاثیر آسکوربات موجود در محیط احیاء و به آبی مولیدنیوم تبدیل شده و رنگ آبی حاصله در  $820$  نانومتر خوانده شد. جهت محاسبه مقدار فسفات معدنی آزاد شده توسط فعالیت آنزیمی از یک منحنی استاندارد فسفات مربوط به غلظت های مختلف  $0.125$ ،  $0.25$ ،  $0.5$ ،  $1.25$  و  $2.5$  میلی مولار پتاسیم دی هیدروژن فسفات مطابق روش سنجش آنزیم استفاده شد. مقدار پروتئین به روش برادفورد (۱۵) و با استفاده از سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد اندازه گیری گردید و سپس فعالیت آنزیم بر حسب فعالیت مخصوص محاسبه شد. میزان تری گلیسرید و کلسترول کبدی با استفاده از روش فولج و به کمک اسید سیلیسیلیک جداسازی و با کیت اندازه گیری شدند (۱۹).

### -اندازه گیری لیپوپروتئین ها و آنزیم های کبدی در سرم

از قلب خرگوش ها، خون جهت تهیه سرم گرفته شد و پارامترهای تری گلیسرید، کلسترول، HDL-C، LDL-C، GOT، C و GPT با استفاده از کیت های تجاری و دستگاه اتو آنالیزور (BT 3000، فرانسه) بر روی سرم اندازه گیری شدند. VLDL با استفاده از فرمول فردوالد (۲۱) تعیین شد. مالون دی آلدئید (MDA) سرم با استفاده

غلظت مالون دی آلدئید در مقایسه با گروه دوم کاهش معنی داری داشت (نمودار ۱). همچنین در گروه دوم ظرفیت آنتی اکسیدانی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ) در صورتی که در گروه سوم (گروه دریافت کننده غذای پر کلسترول و روغن کنجد) ظرفیت آنتی اکسیدانی از افزایش معنی داری ( $p < 0.05$ ) نسبت به گروه دوم برخوردار بود (نمودار ۲).

غذای پر کلسترول و روغن کنجد) کلیه پارامترهای بیوشیمیایی مذکور کاهش معنی داری ( $p < 0.05$ ) نسبت به گروه دوم (گروه دریافت کننده غذای پر کلسترول بدون درمان) نشان دادند (جدول شماره ۲). همچنین غلظت مالون دی آلدئید در خرگوش های گروه دوم (گروه دریافت کننده غذای پر کلسترول بدون درمان) نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری ( $p < 0.05$ ) نشان داد، ولی در گروه سوم (گروه دریافت کننده غذای پر کلسترول و روغن کنجد)

جدول ۱: اثر روغن کنجد بر فعالیت PAP، تری گلیسرید و کلسترول کبدی

| گروه ها | میزان کلسترول کبدی<br>mg/g tissue | میزان تری گلیسرید کبدی<br>mg/g tissue | فعالیت PAP<br>nmol pi/min/mg protein |
|---------|-----------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| ۱       | ۵/۱۹±۰/۶۰                         | ۷/۹۷±۰/۶۲                             | ۸/۳۵±۱/۱۸                            |
| ۲       | ۱۱/۵۰±۰/۶۲*                       | ۱۲/۵۰±۲/۴۹*                           | ۵/۹۰±۰/۵۸*                           |
| ۳       | ۹/۶۳±۰/۱۰*†                       | ۸/۰۲±۰/۷۷†                            | ۴/۷۱±۰/۴۲*†                          |

حجم نمونه در هر گروه ۹ خرگوش. گروه اول شاهد (Control)، گروه دوم هیپرکلسترولمیک بدون درمان و گروه سوم هیپرکلسترولمیک تحت درمان با روغن کنجد پنج درصد.

\*  $p < 0.05$  درمقایسه با مقادیر میانگین گروه اول (گروه کنترل).

†  $p < 0.05$  درمقایسه با مقادیر میانگین گروه دوم.

اعداد به صورت Mean±SEM نشان داده شده اند.

جدول ۲: اثر روغن کنجد بر پروفایل لیپیدی، SGOT و SGPT سرم

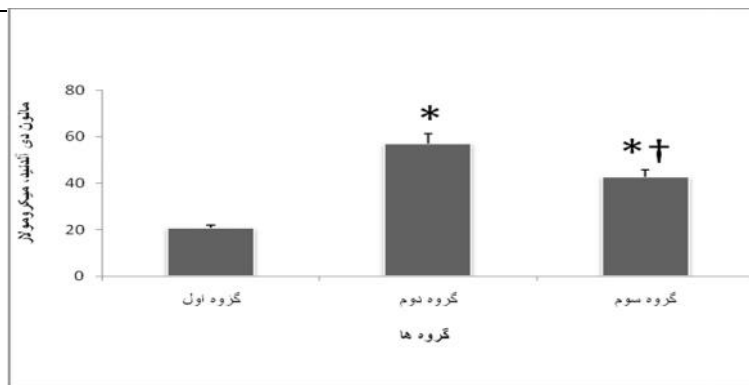
| متغیر                    | گروه ۱     | گروه ۲          | گروه ۳           |
|--------------------------|------------|-----------------|------------------|
| کلسترول تام سرم (mg/dl)  | ۷۵/۶۳±۶/۸۲ | ۲۵۷۴/۲۲±۱۵۶/۶۴* | ۱۱۹۰/۸۹±۱۴۸/۳۹*† |
| تری گلیسرید سرمی (mg/dl) | ۹۲/۷۵±۸/۶۳ | ۸۲۶/۷۸±۹۳/۸۰*   | ۶۲۱/۱۱±۶۸/۳۶*†   |
| HDL کلسترول (mg/dl)      | ۲۱/۱۰±۰/۴۷ | ۲۴/۹۶±۰/۶۷*     | ۲۳/۲۱±۰/۸۰*†     |
| LDL کلسترول (mg/dl)      | ۳۴/۷۱±۶/۷۵ | ۲۳۸۹/۶۵±۱۷۰/۴۶* | ۱۰۴۳/۴۵±۱۴۶/۴۶*† |
| VLDL کلسترول (mg/dl)     | ۱۸/۵۵±۱/۷۲ | ۱۵۹/۶۰±۲۲/۸۷*   | ۱۲۴/۲۲±۱۳/۶۷*†   |
| SGOT(U/l)                | ۳۲/۸۵±۳/۲۴ | ۱۲۳/۱۱±۱۳/۸۲۰۷* | ۵۹/۱۱±۱۰/۴۲*†    |
| SGPT(U/l)                | ۳۹/۰۰±۴/۷۲ | ۹۵/۳۳±۱۲/۹۷*    | ۵۰/۱۱±۱۱/۴۹*†    |

حجم نمونه در هر گروه ۹ خرگوش. گروه اول شاهد (Control)، گروه دوم هیپرکلسترولمیک بدون درمان و گروه سوم هیپرکلسترولمیک تحت درمان با روغن کنجد پنج درصد.

\*  $p < 0.05$  درمقایسه با مقادیر میانگین گروه اول (گروه کنترل).

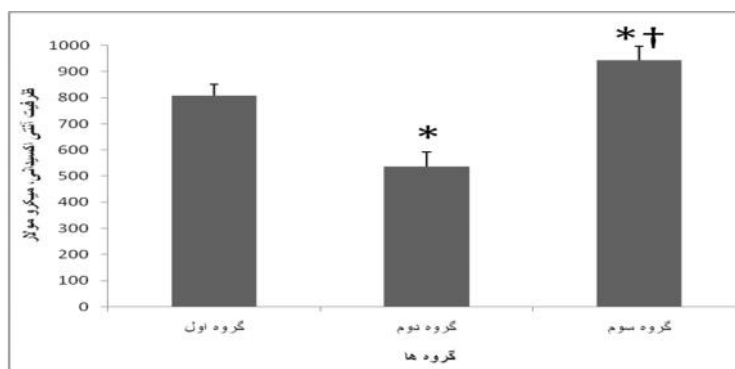
†  $p < 0.05$  درمقایسه با مقادیر میانگین گروه دوم.

اعداد به صورت Mean±SEM نشان داده شده اند.



نمودار شماره ۱: میزان غلظت سرمی مالون دی آلدئید در گروه های تحت مطالعه

حجم نمونه در هر گروه ۹ خرگوش. گروه اول شاهد (Control)، گروه دوم هیپرکلسترولمیک بدون درمان و گروه سوم هیپرکلسترولمیک تحت درمان با روغن کنجد پنج درصد.  $p < 0.05$ \* درمقایسه با مقادیر میانگین گروه اول (گروه کنترل).  $p < 0.05$ † درمقایسه با مقادیر میانگین گروه دوم. اعداد به صورت Mean±SEM نشان داده شده اند.



نمودار شماره ۲: میزان ظرفیت آنتی اکسیدان

حجم نمونه در هر گروه ۹ خرگوش. گروه اول شاهد (Control)، گروه دوم هیپرکلسترولمیک بدون درمان و گروه سوم هیپرکلسترولمیک تحت درمان با روغن کنجد پنج درصد.  $p < 0.05$ \* درمقایسه با مقادیر میانگین گروه اول (گروه کنترل).  $p < 0.05$ † درمقایسه با مقادیر میانگین گروه دوم. اعداد به صورت Mean±SEM نشان داده شده اند.

## بحث

در نتیجه کاهش LDL سرمی می گردند (۲۴ و ۲۵). در مطالعه Tsuruoka و همکارانش (۱۰) نشان داده شد، لیگنان سسامین فعالیت کبدی و فراوانی mRNA آنزیم های لیپوژنیک شامل اسید چرب سنتتاز، پیروات کیناز، گلوکز شش فسفات دهیدروژناز را کاهش می دهد و در مطالعه ما نیز مشخص شد که در خرگوش های دریافت کننده رژیم غذایی پرکلسترول به همراه روغن کنجد (گروه سوم) فعالیت آنزیم PAP کاهش می یابد. در مطالعات انجام گرفته توسط سایر محققین مشخص شد که مصرف روغن کنجد باعث افزایش فعالیت آنزیم های درگیر

در این تحقیق خرگوش های دریافت کننده رژیم غذایی پرکلسترول به همراه روغن کنجد (گروه سوم) یک کاهش در سطح سرمی کلسترول، TG، LDL-C و VLDL-C نسبت به گروه دریافت کننده رژیم غذایی پرکلسترول بدون درمان (گروه دوم) را نشان دادند که با نتایج Hirose و همکارانش همخوانی دارد، بطوریکه آنها نشان دادند، تغذیه با سسامین کنجد به مدت ۴ هفته سبب کاهش سطح کلسترول سرمی در موش ها می شود (۸). روغن کنجد به دلیل دارا بودن لیگنان های متعدد و اسید چرب PUFA از جمله اسید لینولئیک سبب کاهش جذب و سنتز کلسترول و

در اکسیداسیون اسید چرب کبدی شامل کارنیتین پالمیتوئیل ترانسفراز، آسیل کوآ دهیدروژناز، آسیل کوآ اکسیداز، سه- هیدروکسی آسیل کوآ دهیدروژناز، انوئیل کوآ هیدراتاز، سه-کتوآسیل کوآ تیولاز می شود و در نتیجه سبب کاهش میزان سطح چربی های خون می گردد (۲۶ و ۲۷). در یک مطالعه *in vitro* اثر چربی های اولئیک و اولئیل کوآ (Oleoyl-CoA) از طریق انکوآسیون در محیط آزمایشگاه بر روی آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز، مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاکی از اثر مهارى اسید اولئیک و اولئیل کوآ بر فعالیت آنزیم بوده است (۲۸). روغن کنجد حاوی مقادیر بالایی اسید اولئیک و اسید لینولئیک می باشد (۲۹). بنابراین کاهش تری گلیسرید کبد و فعالیت PAP کبدی خرگوش های گروه سوم (دریافت کننده غذای پرکلسترول و روغن کنجد) و خرگوش های گروه دوم (دریافت کننده غذای پرکلسترول بدون درمان) احتمالاً می تواند ناشی از اثر اسیدهای چرب اولئیک و لینولئیک موجود در روغن کنجد باشد. از طرف دیگر کاهش فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز در این دو گروه احتمالاً می تواند نوعی مکانیسم دفاعی کبد در بیوستتر تری گلیسرید آندوزن در کبد و متعاقباً کاهش تری گلیسرید کبدی و سرمی باشد. علاوه بر این، در گروه سوم (گروه دریافت کننده غذای پرکلسترول و روغن کنجد) فعالیت آنزیم PAP نسبت به گروه دوم (گروه دریافت کننده غذای پرکلسترول بدون درمان) یک کاهش معنی داری نشان داد (جدول شماره ۱) که آن نیز ناشی از اثر روغن کنجد است. بنابراین با توجه به این که آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز در تشکیل کبد چرب نقش مهمی دارد و روغن کنجد می تواند باعث کاهش فعالیت این آنزیم و در نتیجه کاهش میزان سنتز تری گلیسرید کبدی گردد، می توان از روغن کنجد در پیشگیری از کبد چرب در رژیم های غذایی چرب استفاده کرد.

میزان مالون دی آلدئید پلاسما در خرگوش هایی که رژیم غذایی پر کلسترول همراه با روغن کنجد مصرف کرده بودند (گروه سوم) نسبت به خرگوش هایی که فقط رژیم غذایی پر کلسترول دریافت کرده بودند (گروه دوم) کاهش معنی داری را نشان داد که این نتیجه می تواند حاکی از اثرات مثبت روغن کنجد در کاهش میزان مالون دی آلدئید پلاسما در رژیم های غنی از کلسترول باشد. رژیم های غنی از کلسترول می توانند باعث ایجاد هیپرلیپیدمی و متعاقباً افزایش پراکسیداسیون چربی ها در خون و افزایش محصولات پراکسیداسیونی مثل مالون دی آلدئید شوند. در رابطه با مکانیسم اثر روغن کنجد در جلوگیری و کاهش روند پراکسیداسیون، مطالعات نشان داده است که روغن کنجد غنی از ترکیبات آنتی اکسیدانی است. روغن کنجد حاوی مقادیر زیاد اسیدهای چرب چند غیر اشباعی (PUFA) است که برای بدن مناسب و علاوه بر آن حاوی لیگنان هایی با خاصیت آنتی اکسیدانی و ویتامین E و مقادیر قابل توجهی از اسیدهای چرب تک غیر اشباعی (MUFA) است که نسبت به اکسیداسیون لیپیدی مقاوم و بعنوان یک آنتی اکسیدان برای دفع رادیکال های هیدروکسی، پرواکسی و در نتیجه کنترل کردن پراکسیداسیون لیپیدی عمل می کنند (۳۰ و ۲۴). بنابراین نتایج مربوط به کاهش میزان مالون دی آلدئید پلاسما مشاهده شده در این پژوهش نیز احتمالاً مربوط به فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات مذکور در روغن کنجد بوده است. همچنین در این تحقیق کاهش معنی داری در میانگین ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما در گروه دارای رژیم غذایی پرکلسترول در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد، در حالیکه در گروه دارای رژیم غذایی پرکلسترول همراه با روغن کنجد (گروه سوم) یک افزایش معنی دار در ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما نسبت به گروه دارای رژیم غذایی پرکلسترول (گروه دوم) مشاهده شد که این نتیجه حاکی از پتانسیل بالای روغن کنجد در افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی

همراه با روغن کنجد مصرف کرده بودند، در مقایسه با گروهی که فقط رژیم غذایی پر کلسترول دریافت کرده بودند، شد. این نتایج حاکی از اثر مثبت مصرف روغن کنجد بر بافت کبدی و تثبیت غشاء سلول‌های کبدی و به دنبال آن کاهش میزان GOT و GPT سرم می‌شود. در مجموع از نتایج این تحقیق می‌توان استنباط کرد که مصرف روغن کنجد می‌تواند باعث کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید سرم و بدنال آن کاهش سطح تری‌گلیسرید کبدی و جلوگیری از تشکیل کبد چرب در رژیم‌های غذایی پر کلسترول شود.

### نتیجه‌گیری

روغن کنجد می‌تواند از طریق ایجاد تغییرات مطلوب بر سطح لیپوپروتئین‌های خون و کاهش میزان چربی‌های سرم، در کاهش ریسک فاکتورهای بیماری‌های قلبی عروقی موثر باشد. همچنین، روغن کنجد می‌تواند باعث کاهش فعالیت آنزیم فسفاتیدات فسفوهیدرولاز و در نتیجه کاهش میزان سنتز تری‌گلیسرید کبدی شده و متعاقباً ریسک ابتلا به کبد چرب در رژیم‌های هیپرکلسترولمیک را کاهش دهد.

### قدردانی و تشکر

بدینوسیله پژوهشگران مراتب تقدیر و تشکر خود را از پرسنل محترم مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند، ابراز می‌دارند.

پلاسما و جلوگیری از روند پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد و اینکه روغن کنجد توانسته است میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را تا حد معنی‌داری بالا ببرد. در رابطه با این اثر روغن کنجد می‌توان به همان ترکیبات موجود در روغن کنجد نظیر لیگنان‌ها، ویتامین و اسیدهای چرب غیر اشباع اشاره کرد که نسبت به اکسیداسیون لیپیدی مقاوم و بعنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند. در رابطه با دانه کنجد، روغن آن اثبات شده که حاوی ترکیب سسامولین به مقدار زیاد می‌باشد که این ترکیب ممانعت‌کننده از عمل پراکسیداسیون چربی در کبد و کلیه است (۳۱). طبق تحقیقات انجام شده آسیب اکسیداتیو رادیکال‌های آزاد علت اصلی آسیب سلولی و بافتی در برخی از بیماری‌ها نظیر آترواسکلروز، سرطان، دیابت قندی و ... می‌باشد (۳۲ و ۳۳). آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که غشاءهای سلولی و ترکیبات مختلف موجود زنده را در مقابل اکسیدان‌ها حفظ می‌کنند. ساز و کار عمل این ترکیبات جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد، واگذاری الکترون به این اکسیدان‌ها و غیر فعال کردن آنها می‌باشد (۳۴ و ۳۵). بر اساس تحقیقات انجام شده، بعضی آنتی‌اکسیدان‌ها بوسیله جلوگیری از اکسیداسیون لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین، قادرند از آترواسکلروز جلوگیری بعمل آورند (۳۶ و ۳۷). بنابراین مصرف روغن کنجد در رژیم‌های پرکلسترول می‌تواند با بالا بردن سطح ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما از روند پراکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری کند و در کاهش ریسک ابتلا به آترواسکلروز موثر باشد. همچنین روغن کنجد باعث کاهش قابل توجه در میزان GOT و GPT سرم در گروهی از خرگوش‌ها که رژیم غذایی پرکلسترول

### References

1. Heinecke JW. Is the emperor wearing clothes? Clinical trials of vitamin E and the LDL oxidation hypothesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:1261-1264.
2. Batt KV, Avella M, Moore EH, Jackson B, Suckling KE, Botham KM. Differential effects of low-density lipoprotein and chylomicron remnants on lipid accumulation in human macrophages. *Exp Biol Med (Maywood)* 2004; 229:528-537.

3. Zhdanov VS, Sternby NH, Voronova OV, Galakhov IE, Argunov VA. Monitoring of aortic and coronary atherosclerosis in native and non-native males of Yakutsk over 40 years. *Atherosclerosis* 2007; 190:338-342.
4. Gugliucci A, Menini T. Three different pathways for human LDL oxidation are inhibited in vitro by water extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureoides*. *Life Sci* 2002; 71:693-705.
5. Brar GS. Variations and correlations in oil content and fatty acid composition of sesame. *Indian J Agric Sci* 1982; 52:27-30.
6. Chen PR, Chien KL, Su TC, Chang CJ, Liu T, Cheng H, Tsai C. Dietary sesame reduces serum cholesterol and enhances antioxidant capacity in hypercholesterolemia. *Nutr Res* 2005; 25:559-567.
7. Ide T, Ono Y, Kawashima H, Kiso Y. Interrelated effects of dihomo- $\gamma$ -linolenic and arachidonic acids, and sesamin on hepatic fatty acid synthesis and oxidation in rats. *Br J Nutr* 2012; 28:1-14.
8. Hirose N, Inoue T, Nishihara K, Sugano M, Akimoto K, Shimizu S, Yamada H. Inhibition of cholesterol absorption and synthesis in rats by sesamin. *J Lipid Res* 1991; 32:629-638.
9. Trattner S, Ruyter B, Ostbye TK, Kamal-Eldin A, Moazzami A, Pan J, Gjoen T, Brännäs E, Zlabek V, Pickova J. Influence of dietary sesamin, a bioactive compound on fatty acids and expression of some lipid regulating genes in Baltic Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) juveniles. *Physiol Res* 2011; 60:125-37.
10. Tsuruoka N, Kidokoro A, Matsumoto I, Abe K, Kiso Y. Modulating effect of sesamin, a functional lignan in sesame seeds, on the transcription levels of lipid- and alcohol-metabolizing enzymes in rat liver: a DNA microarray study. *Biosci Biotechnol Biochem* 2005; 69:179-188.
11. Ide T, Ashakumary L, Takahashi Y, Kushiro M, Fukuda N, Sugano M. Sesamin, a sesame lignan, decreases fatty acid synthesis in rat liver accompanying the down-regulation of sterol regulatory element binding protein-1. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1534:1-13.
12. Carman GM, Han GS. Roles of phosphatidate phosphatase enzymes in lipid metabolism. *Trends Biochem Sci* 2006; 31:694-699.
13. Petersen KF, Shulman GI. Etiology of insulin resistance. *Am J Med* 2006; 119: S10-16.
14. Reue K, Phan J. Metabolic consequences of lipodystrophy in mouse models. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006; 9: 436-441.
15. Pyne S, Long JS, Ktistakis NT, Pyne NJ. Lipid phosphate phosphatases and lipid phosphate signalling. *Biochem Soc Trans* 2005; 33: 1370-1374.
16. Heidarian E, Jafari-Dehkordi E, Seidkhani-Nahal A. Effect of garlic on liver phosphatidate phosphohydrolase and plasma lipid levels in hyperlipidemic rats. *Food Chem Toxicol* 2011; 49:1110-1114.
17. Heidarian E, Jafari-Dehkordi E, Seidkhani-Nahal A. Lipid-lowering effect of artichoke on liver phosphatidate phosphohydrolase and plasma lipids in hyperlipidemic rats. *J Med Plants Res* 2011; 5: 4918-4924.
18. Yanagita T, Han SY, Wang YM, Tsuruta Y, Anno T. Cycloalliin, a cyclic sulfur imino acid, reduces serum triacylglycerol in rats. *Nutrition* 2003; 19:140-143.
19. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226:497-509.
20. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72:248-254.

21. 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;18:499-502.
22. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
23. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996;239:70-76.
24. Sankar D, Rao MR, Sambandam G, Pugalendi KV. A pilot study of open label sesame oil in hypertensive diabetics. *J Med Food* 2006;9:408-412.
25. Abou-Gharbia HA, Shehata AAY, Shahidi F. Effect of processing on oxidative stability and lipid classes of sesame oil. *Food Res Int* 2000; 33:331-340.
26. Tsuruoka N, Kidokoro A, Matsumoto I, Abe K, Kiso Y. Modulating effect of sesamin, a functional lignan in sesame seeds, on the transcription levels of lipid- and alcohol-metabolizing enzymes in rat liver: a DNA microarray study. *Biosci Biotechnol Biochem* 2005; 69:179-188.
27. Ide T, Ashakumary L, Takahashi Y, Kushiro M, Fukuda N, Sugano M. Sesamin, a sesame lignan, decreases fatty acid synthesis in rat liver accompanying the down-regulation of sterol regulatory element binding protein-1. *Biochim Biophys Acta* 2001 30;1534:1-13.
28. Elabbadi N, Day CP, Gamouh A, Yeaman SJ. Relationship between the inhibition of phosphatidic acid phosphohydrolase-1 by oleate and oleoyl-CoA ester and its apparent translocation. *Biochimie* 2005; 87:437-443.
29. Elleuch M, Besbes S I, Roiseux O, Blecker C, Hamidi A. Quality characteristics of sesame seeds and by producte. *Food Chem* 2006; 103: 641-650.
30. Kang MH, Naito M, Sakai K, Uchida K, Osawa T. Mode of action of sesame lignans in protecting low-density lipoprotein against oxidative damage in vitro. *Life Sci* 2000; 66:161-171.
31. Kang MH, Naito M, Tsujihara N, Osawa T. Sesamolin inhibits lipid peroxidation in rat liver and kidney. *J Nutr* 1998;128:1018-1022.
32. Ho E, Bray TM. Antioxidants, NFkappaB activation, and diabetogenesis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222:205-213.
33. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987;107:526-545.
34. Jacob V, Michael A. Nutritional antioxidants: mechanism of action, analyses of activities and medical application. *Curr Med Chem Imm Endoc Metab Agents* 2002; 1:99-117.
35. Urquiaga I, Leighton F. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biol Res* 2000; 33: 159-165.
36. Patterson RA, Leake DS. Human serum, cysteine and histidine inhibit the oxidation of low density lipoprotein less at acidic pH. *FEBS Lett* 1998; 434:317-21.
37. Kapiotis S, Hermann M, Held I, Mühl A, Gmeiner B. Tyrosine: an inhibitor of LDL oxidation and endothelial cell cytotoxicity initiated by superoxide/nitric oxide radicals. *FEBS Lett* 1997; 409:223-226.