**مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران**
**سال پانزدهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹، صفحات ۸-۱**

# مقایسه اثر سه نوع رژیم غذایی پر چربی، پر پروتئین و کم کالری بر بیان ژن‌های Klotho و TGF-β در کبد و سرم خون موش‌های صحرایی نر پیر نژاد ویستار

احمد مصطفی رحیمی[۲و۱]، آناهید شفیعی[۱]، فاطمه نبوی زاده[۱]، قربانگل اصحابی[۳]

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه البیرونی، افغانستان
۳- استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. پست الکترونیکی: gh-ashabi@tums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۹/۴/۴

## چکیده

**سابقه و هدف:** رژیم‌های غذایی نقش مهمی در سلامت انسان و جلوگیری از فرایند پیری دارد. بررسی حاضر میزان پروتئین ضد پیری Klotho را در سرم خون و بیان ژن Klotho و سطح پروتئین‌های TGF-β ( Transforming growth factor-β) و PDGF ( Platelet-derived growth factor) را در کبد موش‌های پیر درمان شده با رژیم‌های غذایی متفاوت (پر چربی، پرپروتئین، کم کالری، پرپروتئین- کم‌کالری) نشان می‌دهد.

**مواد و روش‌ها:** بیست و پنج عدد موش ۲۰ ماهه نژاد ویستار به ۵ گروه کنترل پیر (دریافت کننده غذای نرمال)، گروه دریافت کننده غذای پر چربی، پرپروتئین، کم کالری و پرپروتئین- کم کالری تقسیم شدند، همچنین یک گروه موش‌های جوان ۶ ماهه هم به عنوان گروه کنترل بالغ در نظر گرفته شد. موش‌ها به مدت ۱۰ هفته با رژیم‌های غذایی درمان شدند. سطح سرمی پروتئین Klotho و بیان ژن Klotho به وسیله روش Real-time PCR و سطح پروتئین‌های **TGF**-β و PDGF در کبد به وسیله کیت‌های مخصوص الایزا اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** مقدار پروتئین Klotho در سرم و بیان ژن آن در کبد موش‌های درمان شده با رژیم غذایی پر پروتئین و رژیم کم کالری نسبت به گروه موش‌های پیر نرمال افزایش پیدا کرده بود ($P$=۰/۰۰۰). میزان فاکتورهای کبدی TGFβ و PDGF در رژیم غذایی پر پروتئین و رژیم کم کالری نسبت به موش‌های نرمال پیر افزایش معنی‌داری پیدا کرده است ($P$=۰/۰۰۰).

**نتیجه گیری:** بررسی حاضر نشان داد که رژیم‌های غذایی مختلف در افراد مسن بسیار مهم و تعیین کننده می‌باشد. به طور کلی رژیم کالری محدود با پروتئین زیاد اثرات مفیدتری نسبت به رژیم‌های بررسی شده دیگر، بر روی فاکتور ضد پیری دارد. همچنین این رژیم‌ها می‌توانند عملکرد کبد را تحت تأثیر قرار داده و فاکتورهای حفاظتی را در آن زیاد کنند. مطالعات آتی نیازمند استفاده از مهار کننده‌های ژن *Klotho* می باشد تا اثرات مستقیم این ژن را در پیری مورد بررسی قرار دهد.

**واژگان کلیدی:** پیری، Klotho ، TGFβ، رژیم غذایی پرپروتئین، رژیم غذایی پرچربی، رژیم غذایی کم کالری

## • مقدمه

دوران پیری، واپسین سال‌ها و روزهای زندگی است که پس از پیمودن دوره‌های مختلف رشد، از کودکی گرفته تا نوجوانی و جوانی و میانسالی، در تقویم زندگی فرد پدیدار شده و آدمی را در شرایطی متفاوت با دوره‌های پیشین قرار می‌دهد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که بیماری‌های مختلف قلبی عروقی، مغزی و هورمونی در طی پیری رخ می‌دهند و ممکن است این عوامل سبب مرگ در افراد شود. امروزه مطالعات گسترده ای در خصوص پیشگیری و یا به تعویق انداختن پیری در حال انجام می‌باشد (۴-۱). در سنین پیری و سالمندی اشتها از بین می‌رود و در بسیاری مواقع حتی میل به نوشیدن آب نیز کم می‌شود. در چنین شرایطی سوءتغذیه یکی از بیماری‌های رایج افراد مسن است؛ سوء تغذیه ناشی از پیری بیماریی است که بسیاری آن را چندان جدی نمی‌گیرند (۱) . یک بررسی در کشور آلمان نشان داد که حدود ۱/۶ میلیون نفر در سنین بالای ۶۰ سال از سوء تغذیه مزمن رنج می‌برند. پس تغذیه کافی و سالم برای افراد مسن ضروری می‌باشد. امروزه رژیم‌های مختلف گیاه خواری، پروتئین خواری، خام خواری و محدود کردن کالری دریافتی برای افراد مسن

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-04-03 ]

پیشنهاد می‌شود ولی با توجه به افول عملکرد دستگاه گوارش هر کدام از این رژیم‌ها اثرات سوء خود را نشان می‌دهند و بررسی‌ها هنوز ادامه دارد. مهمترین اثرات کاهش عملکرد دستگاه گوارش، کاهش روند پروتئین سازی در کبد و در نتیجه ضعف جسمانی می‌باشد. در نتیجه عملکرد ضعیف کبد، میزان کل پروتئین بدن در طی پیری کاهش می‌یابد و این کاهش سبب عارضه‌های گوناگون از جمله بروز زوال عقلی در مغز می‌شود (۷-۵). در سالهای اخیر، ارتباط کبد و پیری بسیار مورد توجه قرار گرفته است و محققان دریافتند که نارسایی کبدی، فیبروژنز و کتوژنز کبدی و چاقی ناشی از رژیم غذایی بر روی فاکتورهای روانی از جمله اضطراب، و همچنین بر روی حافظه نقش مهمی دارند (۸).

همچنین در طی پیری، کبد توانایی متابولیزه کردن کلسترول را از دست داده و این کلسترول مازاد سبب کاهش فعالیت‌های نورونی و رسوب در دیوار رگ‌های اندام‌های مختلف بدن می‌گردد. میزان کلسترول در کبد با افزایش سن زیاد می‌شود (۹). تغییرات سلول‌های کبدی مرتبط به سن شامل تغییر اندازه، تراکم سلول‌های کبدی، کاهش اندوپلاسمیک رتیکولوم صاف و کاهش تعداد و عملکرد میتوکندری می‌باشد. لیپوفوشین از تخریب پروتئین‌ها با پیش رفت سن بوجود می‌آید و در داخل سلول‌های کبدی قابل تخریب نمی باشد. در نتیجه منجر به مشتقات فعال اکسیژن شده و عمر سلول‌های کبدی را کاهش می‌دهد (۱۰).

کاهش یا افزایش پروتئین‌های التهابی در کبد سبب تغییرات عمده‌ای در عملکرد کبد در طی روند پیری می‌شود و تغذیه می‌تواند با کاهش دادن تغییرات گسترده در این پروتئین‌ها تا حدودی مرگ سلولی و متعاقباً روند پیری را به تعویق بیاندازد (۱۲، ۱۱) ولی رژیم غذایی کارآمد و مفید برای این سن از زندگی تا کنون به طور دقیق معرفی نشده است. بسیاری از دانشمندان، رژیم پرپروتئین را پیشنهاد داده اند در صورتی که برخی محدودیت کالری دریافتی را عامل ضد پیری می‌دانند (۱۳). ولی در هیچکدام از این رژیم‌های پیشنهادی، ملکولهای درگیر به درستی مورد بررسی قرار نگرفته اند و تنها مطالعات شناختی و رفتاری بر روی انسان‌ها و حیوانات انجام شده است (۱۵، ۱۴). با توجه به عوامل فوق و اهمیت عملکرد کبد از طریق ساخت پروتئین و متابولیسم چربی علی الخصوص در طی پیری، بر آن شدیم تا رژیم‌های غذایی مختلف را بر روی عملکرد فاکتورهای ملکولی کبد در موش‌های پیر بررسی نماییم. به همین منظور ، از موش‌های نر پیر ۲۰ ماهه با رژیم‌های غذایی پر چربی، پر پروتئینی، کم کالری وپرپروتئین–کم کالری پر چربی به مدت ۱۰ هفته استفاده کردیم تا میزان پروتئین ضد پیری Klotho را در سرم خون و بیان ژن Klotho در کبد و همچنین سطوح پروتئین‌های کبدی TGF-β1 ( Transforming growth factor-β1) و PDGF (Platelet-derived growth factor) را در این موش‌ها بررسی نماییم.

## • مواد و روش‌ها

**نگهداری از حیوانات:** دراین تحقیق از ۲۵ موش صحرایی نر بیست ماهه پیر و ۵ موش صحرایی نر شش ماهه به عنوان گروه جوان و بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی ۵۵۰-۴۵۰ گرم برای موش‌های پیر و میانگین وزنی ۳۵۰-۴۰۰ گرم برای موش‌های بالغ شش ماهه استفاده شد. این حیوانات از مرکز حیوانات دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه شدند و در قفس های استاندارد پلی کربنات شفاف مخصوص نگهداری حیوانات به صورت گروه های ۱ تا ۴ تایی قرار می‌گیرند. همچنین غذا و آب مناسب در دسترس آنها قرار داده شد. محل نگهداری حیوانات از نظر شرایط فیزیکی دوره روشنایی- تاریکی دوازده ساعته (۷شب تا ۷ صبح) می باشد. دما ۲±۲۰ درجه سانتی گراد و بدون هرگونه سروصدا وآلودگی بود. همه آزمایشها و مداخلات انجام شده مطابق با دستورالعمل وزارتخانه‌ایی کار با حیوانات آزمایشگاهی بوده است و از سوی کارگروه اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران بررسی و مورد تأیید قرار گرفت (IR.TUMS.MEDICINE.REC.1398.195)

**گروه بندی حیوانات و پروسه درمانی:** موش‌ها به صورت تصادفی به ۶ گروه پنج تایی تقسیم شدند. گروه ۱) گروه کنترل بالغ، موش‌های ۶ ماهه بالغی بودند که غذای عادی دریافت کردند. ۲) گروه کنترل پیر، موش‌های ۲۰ ماهه پیری بودند که رژیم غذایی پر پروتئین را به مدت ۱۰ هفته دریافت کردند. ۳) گروه پرچربی، موش‌های پیری بودند که رژیم غذایی پر چربی را به مدت ۱۰ هفته دریافت کردند. ۴) گروه پرپروتئین، موش‌های پیری بودند که رژیم غذایی پرپروتئین را به مدت ۱۰ هفته دریافت کردند. ۵) گروه کم کالری، موش‌های پیری بودند که غذای کم کالری را به مدت ۱۰ هفته را دریافت کردند. ۶) گروه پرپروتئین-کم کالری، موش‌های پیری که رژیم غذایی پر پروتئین-کم کالری را به مدت ۱۰ هفته دریافت کردند. تعداد ۵ راس موش در هر گروه قرار داشت. موش‌ها به مدت ۱۰ هفته رژیم غذایی پر چربی و یا پرپروتئینی به همراه و یا بدون رژیم کم کالری دریافت کردند و در روز هفتاد و یکم موش‌ها کشته شد، کبد و خون آنها گرفته و جدا شد (۱۷، ۱۶).

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-04-03 ]

**پروتکل رژیم غذایی:** موش‌های کنترل بالغ و پیر مقدار ۵ گرم به ازای هر صد گرم وزن بدن غذایی عادی را هر روز به مدت ۱۰ هفته دریافت نمودند. در گروه رژیم پر پروتئین، موش‌ها ۵ گرم به ازای در هر صد گرم وزن بدن رژیم غذایی پر پروتئین دریافت کردند (۱۸). در گروه رژیم غذایی پر چربی، موش‌ها ۵ گرم به ازای هر صد گرم وزن بدن (۲۱۰ کیلو کالری) در روز غذای پر چرب به مدت ۱۰ هفته دریافت کردند(۱۹). در گروه رژیم غذایی رژیم غذایی کم کالری، موش‌ها ۳/۵ گرم به ازای در هر صد گرم وزن بدن (۱۴۰ کیلو کالری) در روز غذای نرمال را دریافت کردند. در این گروه ۳۰٪ کالری غذا بدون این که هیچ یک از اجزای ترکیب کننده غذا را کاهش داده شود، اعمال شد (۲۰). در گروه رژیم غذایی پر پروتئین-کم کالری موش‌ها ۳/۵ گرم به ازای هر صد گرم وزن بدن (۱۴۰ کیلو کالری) در روز از غذایی پر پروتئین به مدت ۱۰ هفته دریافت نمودند. ترکیب هر رژیم غذایی در جدول ۱ ارائه شده است. رژیم غذایی طوری در نظر گرفته شده بود که ضروریات تغذیه موش‌های بالغ را مطابق دستورالعمل انستیتو تغذیه آمریکا (AIN-93M) در بر گرفته باشد. رژیم‌های غذایی عادی، پر چربی و پر پروتئین از شرکت بهپرور (تهران، ایران) تهیه گردید.

**جدول ۱.** محتویات غذایی موجود در رژیم پر چربی، پر پروتئین و رژیم کم کالری در هر ۱۰۰ گرم غذای موش

| ترکیب مواد غذایی (g/100 g DM) | رژیم غذایی عادی | پر پروتئین | پر چربی |
|---|---|---|---|
| پروتئین خام | ۸,۲ | ۵۵,۴ | ۸,۲ |
| چربی خام | ۵,۳ | ۵,۳ | ۳۵,۲ |
| فیبر خام | ۴۷ | ۴ | ۴۷ |
| کلسیم | ۱ | ۱ | ۱ |
| کلراید سدیم | ۵ | ۵ | ۵ |
| آب | ۱۰ | ۱۰ | ۱۰ |
| میتونین_سیستین | ۱,۵ | ۱ | ۱,۵ |
| سوکروز | ۱۰ | ۰ | ۱۰ |
| لایزین | ۵ | ۱۱ | ۵ |
| ویتامین مخلوط AIN-93M | ۱ | ۱ | ۱ |
| منرال مخلوط AIN-93M | ۳,۵ | ۳,۵ | ۳,۵ |
| روغن سویا | ۷ | ۱۰ | ۷ |
| چربی *Tallow* | ۰ | ۰ | ۱۵ |

**استخراج پروتئین کبدی و اندازه‌گیری سطح PDGF و TGF- β1:** بافت کبد با استفاده از بافر لیز کننده حل گردید و به مدت ۵ دقیقه *rpm* ۱۵۰۰۰ در دمای $4\ ^oC$ سانتریفیوژ گردید و با استفاده از روش Bradford غلظت پروتئین آنها اندازه‌گیری شد (۲۱). سطح PDGF و TGF- β1 در کبد و سطح Klotho در سرم خون توسط کیت (Abcam, ELISA Cambridge, MA, USA) مطابق پروتکل شرکت تولید کننده اندازه‌گیری شد. سطح PDGF و TGF- β1 توسط توسط اندازه‌گیری جذب در ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

**روش *RT-PCR*:** مجموع ۲۰ µl از مسترمیکس سایبر گرین *(TAKARA)*، پرایمر مخصوص ژن *Klotho* ، نمونه *cDNA* و آب تهیه کرده و در دستگاه *Real-Time PCR* میزان بیان هر ژن را با توجه به میزان بیان ژن *actin-* β که یک housekeeping gene می‌باشد، سنجیده شد. آنالیز داده‌ها توسط نرم افزار Relative Expression Software Tool (REST)-XL انجام گردید. پرایمر ژن‌های *Klotho* و *actin-* β در جدول ۲ آمده است.

**جدول ۲.** توالی و اندازه پرایمرهای Klotho و β-actin که به منظور اندازه‌گیری بیان ژن Klotho در کبد موش‌های تحت آزمایش طراحی شد.

| نام پرایمر | نوع توالی | توالی(´3 ← ´5 ) |
|---|---|---|
| *Klotho* | Forward | CGTGAATGAGGCCTCTGAAAGC |
| | reverse | GAGCGGGTCACTAAGCGAATACG |
| *β-actin* | Forward | TGTTGTCCCTGTATGCCTCT |
| | reverse | TAATGTTCACGCACGATTTCC |

**مشخصات ابزار جمع آوری اطلاعات و نحوه آنالیز آن:** داده‌ها در همه گروه‌های مورد آزمایش با استفاده از روش *ANOVA One-way* آنالیز شدند. اختلاف معنی‌داری هر گروه با آزمون *Post-hoc Tukey* مشخص گردید و داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف از معیار بیان شد. $P<$ ۰/۰۵ سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار *SPSS version 14* انجام گردید.

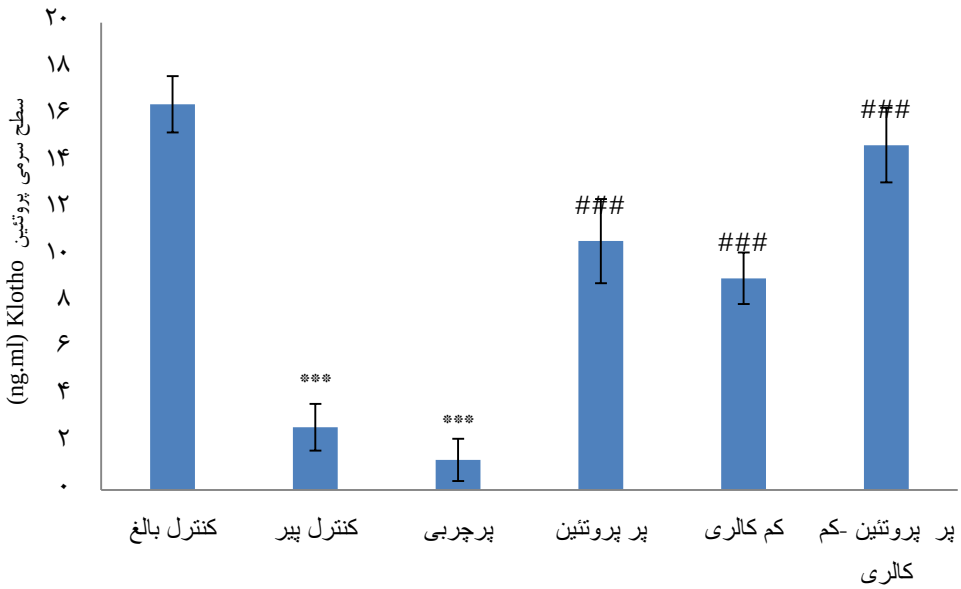
## • یافته‌ها

**بررسی اثر رژیم‌های غذایی پر چربی، پر پروتئین و رژیم کم کالری برسطح سرمی فاکتور *Klotho* و بیان ژن *Klotho* در کبد موش‌های تحت آزمایش:** داده‌ها در شکل ۱ نشان می‌دهد که میزان پروتئین سرمی *Klotho* در در گروه پیر نسبت به گروه جوان کاهش معنی‌داری داشته است ($P$=۰/۰۰۰). بررسی‌های ما نشان می‌دهد که رژیم غذایی پر پروتئین، کم کالری و پرپروتئین – کم کالری سبب افزایش این پروتئین در سرم خون موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل پیر شده است ($P$=۰/۰۰۰). همچنین یافته‌های بیان ژنی توسط *RT-PCR* که در جدول ۳ آمده است، موید این مطلب هست که رژیم غذایی پر چربی سبب کاهش میزان

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-04-03 ]

پروتئین *Klotho* نسبت به گروه پیر شده است (*P*=۰/۰۰۰). مشابه میزان پروتئین *Klotho* در خون، در کبد موش‌های آزمایش شده هم بیان ژن *Klotho* در گروه‌های پر پروتئین، کم کالری و پرپروتئین – کم کالری سبب افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل پیر دارد (*P*=۰/۰۰۱).

**بررسی اثر رژیم‌های غذایی پر چربی، پر پروتئین و رژیم کم کالری بر فاکتورهای TGF-β1 , PDGF کبدی:** شکل ۲ نشان دهنده سطح پروتئین‌های PDGF و TGF-β1 در کبد موش‌ها در گروه‌های آزمایشی می‌باشد. داده‌ها در شکل ۲ الف نشان می‌دهد که میزان پروتئین PDGF در کبد در گروه پیر نسبت به گروه جوان کاهش معنی‌داری داشته است (*P*=۰/۰۵). یافته‌های حاضر نشان می‌دهد که رژیم غذایی پر چربی سبب کاهش میزان پروتئین PDGF نسبت به گروه کنترل بالغ شده است (*P*=۰/۰۱). بر اساس این شکل رژیم‌های پر پروتئین، پر پروتئین-کم کالری و رژیم کم کالری منجر به افزایش میزان پروتئین PDGF نسبت به گروه پیر می‌گردد (*P*=۰/۰۰۰). داده‌ها در شکل ۲ ب نشان می‌دهد که میزان پروتئین TGF-β1در کبد در گروه پیر نسبت به گروه جوان کاهش معنی‌داری داشته است (*P*=۰/۰۰۰۱). یافته‌های الایزا نشانگر این مطلب است که رژیم غذایی پر چربی سبب کاهش میزان پروتئین TGF-β1 نسبت به گروه پیر شده است (*P*=۰/۰۰۰۱). بر اساس این شکل رژیم‌های پر پروتئین، پر پروتئین-کم کالری و رژیم کم‌کالری منجر به افزایش میزان پروتئین TGF-β1 نسبت به گروه پیر می‌گردد (*P*=۰/۰۰۰).



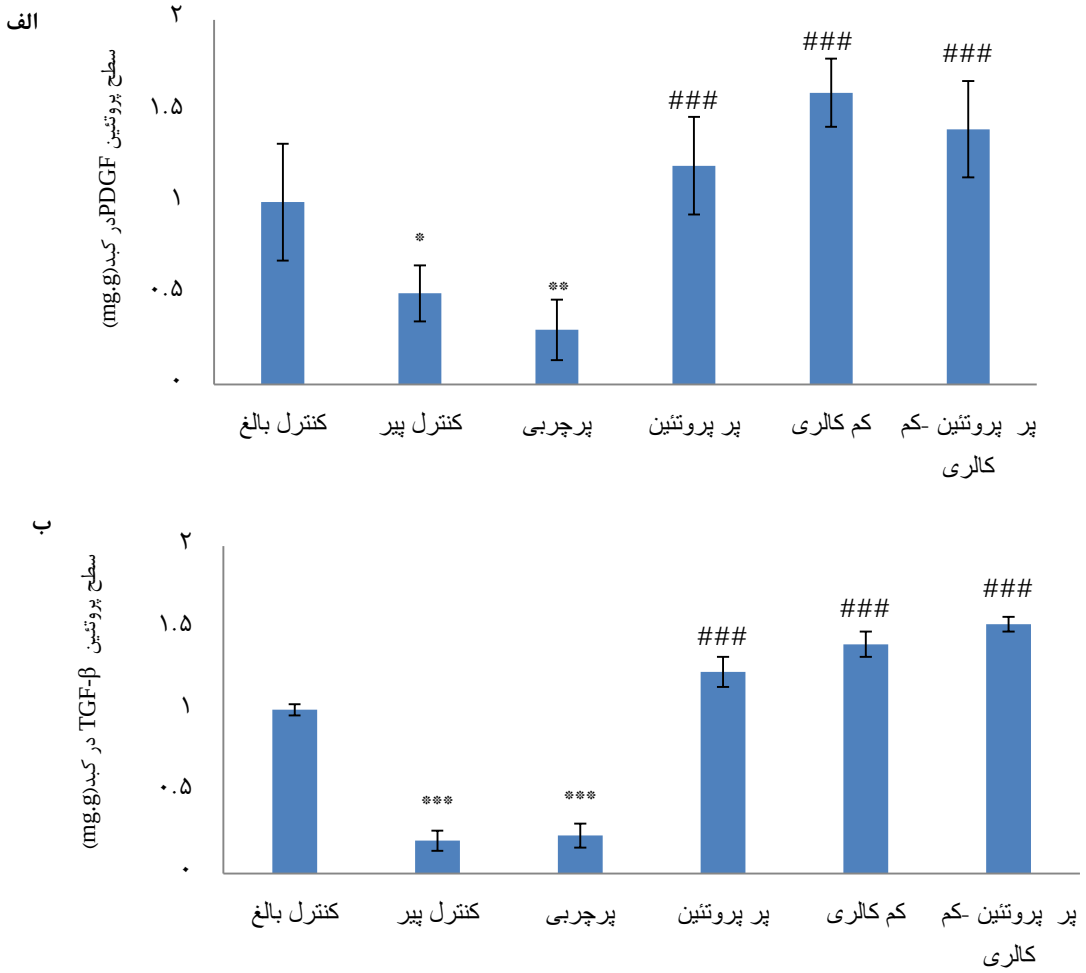

**شکل ۱.** سطح پروتئین *Klotho* در سرم خون موش‌های درمان شده با رژیم‌های غذایی مختلف که به وسیله روش الایزا انجام گرفت.
( *P<0.001* *** مقایسه نسبت به گروه سالم بالغ و *P<0.001* ### مقایسه نسبت به گروه پیر)

**جدول ۳.** میزان بیان ژن Klotho در کبد موش‌های درمان شده با رژیم‌های غذایی مختلف که با روش Real-time PCR انجام گرفت.

| نام گروه ها | کنترل بالغ | کنترل پیر | پر چربی | پرپروتئین | کم کالری | پرپروتئین کم کالری |
|---|---|---|---|---|---|---|
| میزان بیان ژن Klotho (میانگین±انحراف از میانگین) | ۱±۰/۰۳ | ۰/۳۲±۰/۰۱*** | ۰/۴۱±۰/۰۲*** | ۰/۷۶±۰/۰۵### | ۰/۸۲±۰/۰۳### | ۰/۸۹±۰/۰۵### |

P<۰/۰۰۱ *** مقایسه نسبت به گروه سالم بالغ و P<۰/۰۰۱ ### مقایسه نسبت به گروه پیر.

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-04-03 ]




**شکل۲.** میزان بیان فاکتورهای *PDGF , TGF-β1* در کبد موش‌های درمان شده با رژیم‌های غذایی پر چربی، پر پروتئین و رژیم کم کالری
(* $P<۰/۰۵$ ، ** $P<۰/۰۱$ و *** $P<۰/۰۰۱$ مقایسه نسبت به گروه سالم جوان ### $P<۰/۰۰۱$ مقایسه نسبت به گروه پی)

## • بحث

بررسی حاضر نشان می‌دهد که رژیم غذایی پرپروتئین همراه با کالری کم سبب افزایش فاکتورهای ضد پیری از جمله Klotho و TGF-β و PDGF در مغز و کبد موش‌های پیر می‌گردد. در مقابل رژیم غذایی پر چربی بیشترین ضرر را در مقایسه با رژیم‌های دیگر در مورد فاکتورهای ذکر شده دارد. امروزه مشخص شده است که مصرف مواد غذایی کم سود، سبب ضعف بدن و تحلیل اندام‌های بدنی می‌شود، از این رو تمرکز بر روی مواد غذایی با ارزش بالا بسیار مورد توجه دانشمندان بوده است (۱۳، ۶). در جهان رژیم‌های غذایی غنی از پروتئین و رژیم غذایی کم کالری بسیار مورد توجه واقع شده است.

بررسی‌ها نشان داده است که رژیم‌های غذایی در افراد مسن می‌توانند بر روی فاکتورهای پروتئینی مربوط به پیری اثر بگذارند (۲۲). یکی از این فاکتورهای پروتئین ضد پیری Klotho می‌باشد که در مسیر درون سلولی سبب بهبود فعالیت کبد در افراد پیر می‌شود (۲۴، ۲۳) . میزان این پروتئین در طی پیری کاهش می‌یابد و نشان داده شده است که کاهش مسیر سیگنالینگ Klotho می‌تواند باعث کم کاری کبد گردد (۲۵). یافته‌های بررسی حاضر نشان داد که رژیم غذایی پر چربی در افراد مسن سبب کاهش فاکتور Klotho می‌شود، در حالی که رژیم غذایی پرپروتئین کم کالری می‌تواند این امر را بهبود بخشیده و Klotho را افزایش دهند. مطالعه‌ای نشان داده است که رژیم غذایی پر چربی سبب کاهش فاکتور Klotho در کلیه افراد می‌شود (۲۶). همچنین یک مطالعه بالینی هم نشان داده است که رژیم غذایی پر پروتئین می‌تواند میزان بیان پروتئین‌های مسیر Klotho و FGF21 سرم خون افراد را افزایش دهد (۲۷). در

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-04-03 ]

راستای تایید مطالعات پیشین، بررسی حاضر نشان داد که رژیم غذایی پر چربی سبب کاهش مسیر Klotho و رژیم غذایی پرپروتئین کم کالری سبب افزایش این پروتئین می‌شود.

معمول ترین وظیفه بیولوژیک PDGF و TGF-β1 شامل تنظیم تکثیر و بقا سلولی، تولید عروق، مهاجرت سلولی و تنظیم دوباره اسکلیت سلولی با تنظیم مجدد سیستم فلامان اکتین و میوزین است (۲۸). پروتئین PDGF با تحریک شد سلولی و شیموتاکسی سلولی در انسان‌ها و حیوانات آزمایشگاهی، سبب بازسازی و بهبودی بافت را در بافت نرم آسیب دیده بهبود می‌بخشد(۲۹). در میان فاکتورهای رشد که قویاً در بهبودی زخم پاسخ می‌دهد، TGF-β1 وPDGF بیشتر از همه در تحریک تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای و فیبروبلاست‌های کبدی می‌باشد (۳۰). در مقابل برخی مطالعات نشان می‌دهد که افزایش بیان PDGF در سلول‌های بیان کننده گیرنده‌های PDGF منجر به تخریب حاد و مزمن بافت کبدی در حیوانات آزمایشگاهی و انسان‌ها می‌شود (۳۱). با این حال بسیاری از مطالعات نقش فعال PDGF و TGF-β1 را در بازسازی و فیبروز کبد تأیید می‌نماید (۳۳، ۳۲). یک بررسی نشان داد که ۶۰٪ از موش‌های که فاقد TGF-β1 بودند، دچار مرگ سلولی اندوتلیالی شده و مردند و موش هایی که زنده ماندند، پاسخ‌های شدید التهابی در قلب و کبد داشتند (۳۴).

همانطور که ذکر شد افزایش پروتئین‌های مسیر Klotho سبب بهبود عملکرد کبد می‌شود. به همین منظور بیان TGF-β1 و PDGF را در کبد موش‌ها مورد بررسی قرار دادیم و نشان داد که این یافته‌های هماهنگ با بررسی‌های پروتئین‌های مسیر Klotho می‌باشد. رژیم غذایی پر چربی سبب کاهش بیان TGF-β1 و PDGF در کبد و رژیم غذایی پرپروتئین کم کالری سبب بهبود و افزایش پروتئین‌های TGF-β1 و PDGF می‌شود. بررسی‌های پیشین هم موید این مطلب است که رژیم‌های غذایی سبب تغییر در TGF-β1 و PDGF خونی می‌شود (۳۶، ۳۵).

به طور کلی بررسی حاضر نشان داد که رژیم‌های غذایی در افراد مسن بسیار مهم و تعیین کننده می‌باشد و از طرفی این رژیم‌ها می‌توانند سبب بهبود عملکرد کبد و کنترل متابولیسم کبدی گردد. همچنین رژیم‌های پرپروتئین و رژیم‌های کم کالری و رژیم‌های پرپروتئین کم کالری، میزان پروتئین‌های ضد پیری Klotho را افزایش می‌دهند و به طور کلی رژیم کالری محدود با پروتئین زیاد اثرات مفیدتری نسبت به رژیم‌های بررسی شده دیگر بر روی فاکتور ضد پیری دارد. همچنین این رژیم‌ها می‌توانند عملکرد کبد را تحت تأثیر قرار داده و فاکتورهای حفاظتی را در آن زیاد کنند. در ادامه این مطالعه می‌توان از مهار کننده‌های ژن *Klotho* استفاده نمود تا اثرات مستقیم این ژن را در زمان پیری مورد بررسی قرار داد. ایجاد موش‌های پیر از محدودیت‌های این بررسی بوده است که به همین منظور از موش‌هایی که عمر بالا داشتند، استفاده شده است که زمان طولانی برای رسیدن این موش‌ها به سن مورد نظر از مشکلات این طرح بوده است.

**سپاسگزاری**

نویسندگان از تأمین سرمایه لازم برای انجام این کار توسط دانشگاه علوم پزشکی تهران (۹۷-۰۲-۳۰-۳۶۸۵۲) قدردانی می‌نمایند.

## References

1. Jagota A, Mattam U. Daily chronomics of proteomic profile in aging and rotenone-induced Parkinson's disease model in male Wistar rat and its modulation by melatonin. Biogerontology. 2017;18(4):615-30.
2. Ko JH, Katako A, Aljuaid M, Goertzen AL, Borys A, Hobson DE, et al. Distinct brain metabolic patterns separately associated with cognition, motor function, and aging in Parkinson's disease dementia. Neurobiol Aging. 2017;60:81-91.
3. Seaman CD, Ragni MV. The Association of Aging With Von Willebrand Factor Levels and Bleeding Risk in Type 1 Von Willebrand Disease. Clin Appl Thromb Hemost. 2017:1076029617724232.
4. Tudorache E, Fildan AP, Frandes M, Dantes E, Tofolean DE. Aging and extrapulmonary effects of chronic obstructive pulmonary disease. Clin Interv Aging. 2017;12:1281-7.
5. Clements SJ, S RC. Diet, the intestinal microbiota, and immune health in aging. Crit Rev Food Sci Nutr. 2016:1-11.
6. Kim IH, Xu J, Liu X, Koyama Y, Ma HY, Diggle K, et al. Aging increases the susceptibility of hepatic inflammation, liver fibrosis and aging in response to high-fat diet in mice. Age (Dordr). 2016;38(4):291-302.
7. Yen CA, Curran SP. Gene-diet interactions and aging in C. elegans. Exp Gerontol. 2016;86:106-12.
8. Head E, Nukala VN, Fenoglio KA, Muggenburg BA, Cotman CW, Sullivan PG. Effects of age, dietary, and behavioral enrichment on brain mitochondria in a canine model of human aging. Exp Neurol. 2009;220(1):171-6.

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-04-03 ]

9. Tietz NW, Shuey DF, Wekstein DR. Laboratory values in fit aging individuals--sexagenarians through centenarians. Clinical chemistry. 1992;38(6):1167-85.

10. Höhn A, Grune T. Lipofuscin: formation, effects and role of macroautophagy. Redox biology. 2013;1(1):140-4.

11. Min-Wen JC, Jun-Hao ET, Shyh-Chang N. Stem cell mitochondria during aging. Semin Cell Dev Biol. 2016;52:110-8.

12. Yang W, Li X, Li X, Li X, Yu S. Neuronal hemoglobin in mitochondria is reduced by forming a complex with alpha-synuclein in aging monkey brains. Oncotarget. 2016;7(7):7441-54.

13. Taketani H, Nishikawa T, Nakajima H, Kodo K, Sugimoto S, Aoi W, et al. Aging-associated impairment in metabolic compensation by subcutaneous adipose tissue promotes diet-induced fatty liver disease in mice. Diabetes Metab Syndr Obes. 2019;12:1473-92.

14. Balasubramanian P, Mattison JA, Anderson RM. Nutrition, metabolism, and targeting aging in nonhuman primates. Ageing Res Rev. 2017;39:29-35.

15. Boccardi V, Paolisso G, Mecocci P. Nutrition and lifestyle in healthy aging: the telomerase challenge. Aging (Albany NY). 2016;8(1):12-5.

16. Hill CM, Fang Y, Miquet JG, Sun LY, Masternak MM, Bartke A. Long-lived hypopituitary Ames dwarf mice are resistant to the detrimental effects of high-fat diet on metabolic function and energy expenditure. Aging Cell. 2016;15(3):509-21.

17. Lee H-Y, Lee JS, Alves T, Ladiges W, Rabinovitch PS, Jurczak MJ, et al. Mitochondrial-Targeted Catalase Protects Against High-Fat Diet–Induced Muscle Insulin Resistance by Decreasing Intramuscular Lipid Accumulation. Diabetes. 2017;66(8):2072-81.

18. Smiljanic K, Vanmierlo T, Djordjevic AM, Perovic M, Loncarevic-Vasiljkovic N, Tesic V, et al. Aging induces tissue-specific changes in cholesterol metabolism in rat brain and liver. Lipids. 2013;48(11):1069-77.

19. Sahin K, Tuzcu M, Orhan C, Sahin N, Kucuk O, Ozercan IH, et al. Anti-diabetic activity of chromium picolinate and biotin in rats with type 2 diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin. British Journal of Nutrition. 2013;110(2):197-205.

20. Mobbs CV, Mastaitis J, Yen K, Schwartz J, Mohan V, Poplawski M, et al. Low-carbohydrate diets cause obesity, low-carbohydrate diets reverse obesity: a metabolic mechanism resolving the paradox. Appetite. 2007;48(2):135-8.

21. Lam TG, Jeong YS, Kim SA, Ahn SG. New metformin derivative HL 156A prevents oral cancer progression by inhibiting the insulin-like growth factor/AKT/mammalian target of rapamycin pathways. Cancer science. 2018;109(3):699-709.

22. Tang P, Low HB, Png CW, Torta F, Kumar JK, Lim HY, et al. Protective Function of Mitogen-Activated Protein Kinase Phosphatase 5 in Aging- and Diet-Induced Hepatic Steatosis and Steatohepatitis. Hepatol Commun. 2019;3(6):748-62.

23. Rao Z, Landry T, Li P, Bunner W, Laing BT, Yuan Y, et al. Administration of alpha Klotho reduces liver and adipose lipid accumulation in obese mice. Heliyon. 2019;5(4):e01494.

24. Fujii N, Uta S, Kobayashi M, Sato T, Okita N, Higami Y. Impact of aging and caloric restriction on fibroblast growth factor 21 signaling in rat white adipose tissue. Exp Gerontol. 2019;118:55-64.

25. Tsujikawa H, Kurotaki Y, Fujimori T, Fukuda K, Nabeshima Y. Klotho , a gene related to a syndrome resembling human premature aging, functions in a negative regulatory circuit of vitamin D endocrine system. Mol Endocrinol. 2003;17(12):2393-403.

26. Rios R, Pineda C, Lopez I, Munoz-Castaneda J, Rodriguez M, Aguilera-Tejero E, et al. Phosphorus restriction does not prevent the increase in fibroblast growth factor 23 elicited by high fat diet. PLoS One. 2018;13(6):e0198481.

27. Markova M, Pivovarova O, Hornemann S, Sucher S, Frahnow T, Wegner K, et al. Isocaloric Diets High in Animal or Plant Protein Reduce Liver Fat and Inflammation in Individuals With Type 2 Diabetes. Gastroenterology. 2017;152(3):571-85 e8.

28. Heldin C-H, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. Physiological reviews. 1999;79(4):1283-316.

29. Borkham-Kamphorst E, Weiskirchen R. The PDGF system and its antagonists in liver fibrosis. Cytokine & growth factor reviews. 2016;28:53-61.

30. Martin IV, Borkham-Kamphorst E, Zok S, van Roeyen CR, Eriksson U, Boor P, et al. Platelet-derived growth factor (PDGF)-C neutralization reveals differential roles of PDGF receptors in liver and kidney fibrosis. The American journal of pathology. 2013;182(1):107-17.

31. Wong L, Yamasaki G, Johnson RJ, Friedman SL. Induction of beta-platelet-derived growth factor receptor in rat hepatic lipocytes during cellular activation in vivo and in culture. The Journal of clinical investigation. 1994;94(4):1563-9.

32. Yang L, Dong C, Yang J, Yang L, Chang N, Qi C, et al. MicroRNA-26b-5p Inhibits Mouse Liver Fibrogenesis and Angiogenesis by Targeting PDGF Receptor-Beta. Mol Ther Nucleic Acids. 2019;16:206-17.

33. Cuiqiong W, Chao X, Xinling F, Yinyan J. Schisandrin B suppresses liver fibrosis in rats by targeting miR-101-5p through the TGF-beta signaling pathway. Artif Cells Nanomed Biotechnol. 2020;48(1):473-8.

34. Dropmann A, Dediulia T, Breitkopf-Heinlein K, Korhonen H, Janicot M, Weber SN, et al. TGF-β1 and TGF-β2 abundance in liver diseases of mice and men. Oncotarget. 2016;7(15):19499.

35. Holt RL, Mikati MA. Care for child development: basic science rationale and effects of interventions. Pediatr Neurol. 2011;44(4):239-53.

36. Janssen CI, Jansen D, Mutsaers MP, Dederen PJ, Geenen B, Mulder MT, et al. The Effect of a High-Fat Diet on Brain Plasticity, Inflammation and Cognition in Female ApoE4-Knockin and ApoE-Knockout Mice. PLoS One. 2016;11(5):e0155307.

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-04-03 ]

# Comparison of Effects of High-Fat, High-Protein and Low-Calorie Diets on Klotho Gene Expression and TGF-β Level in Serum and Liver of Old Male Wistar Rats

*Rahimi A.M[1,2], Shafie A[1], Nabavizadeh F[1], Ashabi Gh[3]**

*1- Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

*2- Department of Physiology, School of Medicine, Alberony University, Afghanistan*

*3-*Corresponding author: assistant prof, Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: ashabi@tums.ac.ir*

**Received 7 Mar, 2020** **Accepted 24 Jun, 2020**

**Background and Objectives:** Different diets have important roles in human health and aging. In the current study, we aimed to characterize the Klotho, an anti-aging protein, gene expression and protein level in the serum and assess the protein levels of ***Transforming growth factor***-β and Platelet-derived growth factor in old rats which treated with different diets (high-fat, high-protein, low calorie, high-protein and low calorie).

**Materials & Methods:** Twenty-five old and five adult rats were treated with high-fat, high-protein, low calorie, high-protein and low-calorie diets for ten weeks. Then, serum protein levels of Klotho, transforming growth factor-β and platelet-derived growth factor and gene expression of Klotho in the liver were assessed using enzyme-linked immunosorbent assay.

**Results:** Protein level of Klotho in the blood serum and expression level of Klotho gene in the liver were increased in high-protein, low-calorie and low-calorie high-protein diets in comparison to control old group ($p$ = 0.000). The levels of transforming growth factor-β and platelet-derived growth factor were increased in low-calorie high-protein group, compared to old group in the liver ($p$ = 0.000).

**Conclusion:** Results revealed that expression of Klotho decreased in old rats while low-calorie high-protein and particularly low-calorie high-protein diets increased this protein. Moreover, these protective diets could enhance transforming growth factor-β and platelet-derived growth factor in liver of rats,veryfieing improvement of the liver function.

**Keywords:** Aging; Klotho, TGF-β, High-protein diet, High-fat diet, Low-calorie diet

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-04-03 ]