مجله دیابت و متابولیسم ایران. فروردین و اردیبهشت ۱۴۰۲؛ دوره ۲۳ (شماره ۱) ۵۲-۴۴

مقاله پژوهشی

# تأثیر دو نوع رژیم غذایی ایزوکالریک با درصدهای متفاوت چربی در دوران بارداری و شیردهی در موش‌های مادر C57BL/6 بر بیان ژن و پروتئین سیرتوئین-۱ در بافت کبد فرزندان بالغ

سیده ندا موسوی[۱و۲]، سارا قراچه[۳]، میرسعید سیددراجی[٤]، الهام حسینی[۱]، فریبا کوهدانی[۳*]

## چکیده

**مقدمه:** مطالعات حیوانی نشان داده‌اند که رژیم غذایی کم‌پُرکالری مادر در دوران بارداری می‌تواند با تغییر در بیان ژن سیرتوئین-۱، به عنوان یک سنسور متابولیک، بر متابولیسم فرزندان اثر بگذارد. اما تاکنون مطالعه‌ای به بررسی اثر رژیم غذایی ایزوکالریک در این زمینه نپرداخته است. در این مطالعه اثر دو نوع رژیم غذایی ایزوکالریک با مقادیر متفاوت چربی بر بیان ژن و پروتئین سیروتوئین-۱ در بافت کبد توله‌های نر و ماده بررسی شده است.

**روش‌ها:** گروه کنترل رژیم غذایی AIN93G دریافت نمودند. در این رژیم غذایی ۱٦٪ و ٦٤٪ از کل کالری به‌ترتیب از چربی و کربوهیدرات تأمین شد. گروه مداخله رژیم غذایی پُرچرب AIN93G دریافت نمودند که به‌ترتیب ٤۸٪ و ۳۲٪ از کل کالری روزانه از چربی و کربوهیدرات تأمین شد. چربی رژیم غذایی از روغن سویا در هر دوگروه تأمین شد. رژیم‌های غذایی ایزوکالریک بوده و ۲۰٪ از کل کالری روزانه از پروتئین فراهم شد. مادران در کل دوران بارداری و شیردهی یکی از این دونوع رژیم غذایی را دریافت کرده و همه‌ی توله‌ها پس از دوره‌ی از شیرگیری (۳ هفته پس از تولد)، رژیم غذایی کنترل را دریافت نمودند.

**یافته‌ها:** میزان بیان ژن و پروتئین سیرتوئین-۱ در توله‌های نر و ماده متولد شده از موش‌های مادری که رژیم غذایی پُرچرب دریافت کرده بودند کمتر از توله‌های گروه کنترل بود (P<۰/۰۰۱).

**نتیجه‌گیری:** تغییر در میزان چربی دریافتی در رژیم غذایی مادر، بدون افزایش میزان انرژی دریافتی، بر بیان ژن و پروتئین سیرتوئین-۱در کبد نسل بعد مؤثر است.

**واژگان کلیدی:** کالری، چربی رژیم غذایی، بارداری، برنامه‌ریزی جنینی، سیرتوئین-۱

۱- مرکز تحقیقات بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

۲- گروه تغذیه، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

۳- گروه تغذیه سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی علوم تغذیه و رژیم‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

٤-گروه شیمی کاربردی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

* ***نشانی:*** تهران، بلوار کشاورز، خیابان نادری، خیابان حجت دوست، پلاک ٤٤، دانشکده علوم تغذیه و رژیم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، کُد پستی: ۱٤۱٦٦٤۳۹۳۱، تلفن: ۸۸۹٥٥۹۷٥-۰۲۱، نمابر:۰۲۱۸۸۹۸٤۸٦۱، پست الکترونیک: fkoohdan@tums.ac.ir

**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۱/۰۹/۳۰ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۱۴۰۱/۱۱/۱۶ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۱/۱۲/۱۴

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]

## مقدمه

سیرتوئین-۱، آنزیم وابسته به نیکوتین آمید آدنین دی‌نوکلئوتید، یک گیرنده‌ی متابولیک موجود در هسته در بدن پستانداران است که از طریق داستیلاسیون هیستون‌ها و فاکتورهای نسخه برداری در تنظیم فرآیندهای اپی‌ژنتیک نقش دارد [۱]. مطالعات نشان داده‌اند که نیکوتین‌آمید مونونوکلئوتید، کوآنزیم اصلی سیرتوئین-۱، در بازسازی نورون‌های عصبی و عروق نقش داشته، سیرتوئین-۱ را در سطح نسخه‌برداری فعال کرده، از میتوکندری در برابر آسیب محافظت کرده و آپوپتوز و استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد [۲، ۳]. مطالعات اخیر نشان داده‌اند سیرتوئین-۱ بر مسیرهای گلوکونئوژنز، اکسیداسیون چربی، جریان کلسترول، ساخت اسیدهای صفراوی و لیپوژنز کبدی اثرگذار است [٦-٤]. افزایش فعالیت سیرتوئین-۱ با بهبود مقاومت به انسولین و کاهش میزان نیاز به انرژی در ارتباط بوده است [۷]. توجه مطالعات اخیر به سیرتوئین-۱ به‌دلیل نقشی که بر ترمیم DNA در نواحی آسیب دیده دارد بیشتر شده است [۸].

رژیم غذایی مادر در دوران بارداری و شیردهی تغییرات پایداری در متابولیسم جنین ایجاد می‌کند که به فرضیه «ریشه‌ی جنینی سلامت و بیماری» معروف است [۹]. بنابراین تغذیه‌ی مراحل اولیه زندگی منجر به ایجاد تطابق در روند رشد می‌شود که تغییرات پایدار متابولیک، فیزیولوژیک و فنوتیپیک، بدون تغییر در توالی DNA، ایجاد می‌کند [۱۰]. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که نوع و مقدار روغن مصرفی در رژیم غذایی موش‌های مادر بر بیان ژن‌های بافت چربی و استخوان در توله ها، طبق یک الگوی وابسته به جنس اثرگذار است [۱۱ و ۱۲]. به‌علاوه یک مطالعه‌ی حیوانی گزارش کرده است که رژیم غذایی پُرکالری-پُرچرب مادر منجر به استیلاسیون هیستون H3 در کبد توله‌ها از مسیر سیرتوئین-۱ شده و هموستاز چربی دچار اختلال شده است [۱۳]. با توجه به بررسی‌های صورت گرفته مطالعات تا به امروز به ارزیابی اثر رژیم غذایی پُرکالری یا کم‌کالری بر بیان ژن و پروتئین سیرتوئین-۱ پرداخته‌اند و تا به امروز مطالعه‌ای اثر رژیم غذایی ایزوکالریک را بررسی نکرده است [۱٤]. نکته‌ی مهم دیگر این است که تا کنون مطالعه‌ای به ارزیابی اثر مصرف رژیم غذایی پُرچرب در دوران‌های حیاتی رشد، بارداری و شیردهی، بر بیان ژن و پروتئین سیرتوئین-۱ در توله‌ها نپرداخته است. بنابراین مطالعه‌ی حاضر به‌منظور ارزیابی اثر رژیم غذایی ایزوکالریک مادر، با میزان چربی بالا، در دوران بارداری و شیردهی بر بیان ژن و پروتئین سیرتوئین-۱ در بافت کبد طراحی شده است.

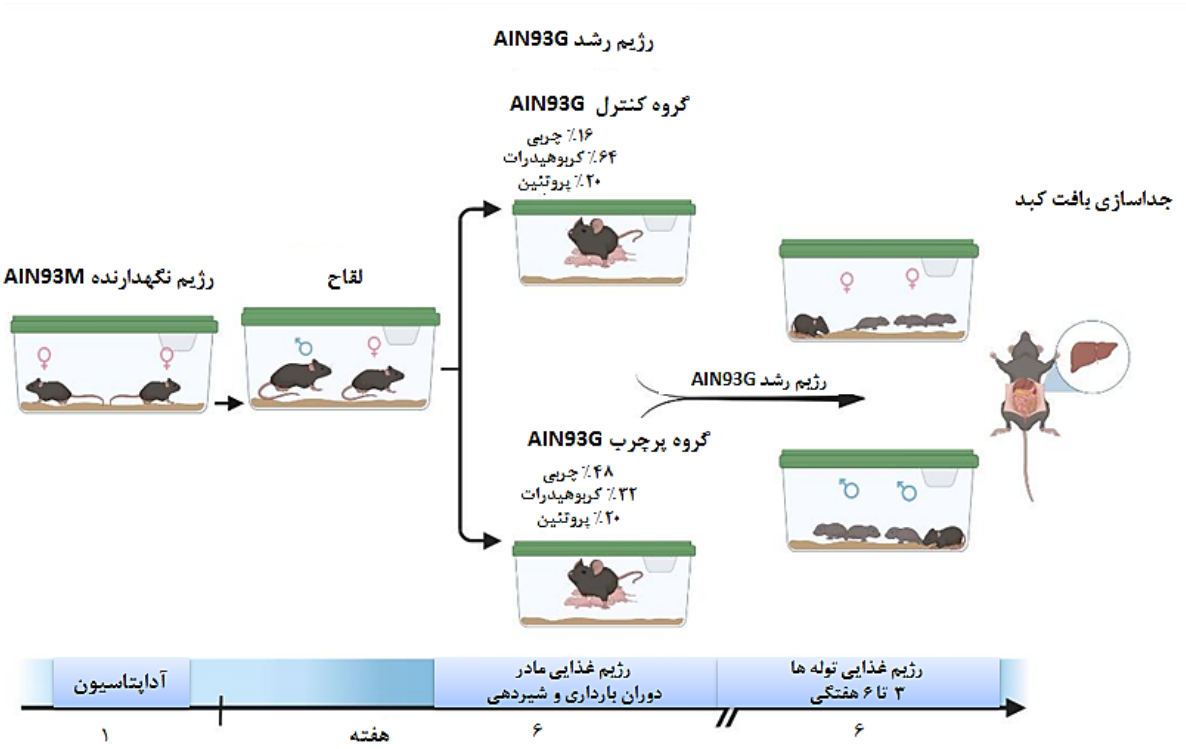
## روش‌ها

### مراحل حیوانی

این مطالعه از نوع مداخل‌های تجربی بود و بر روی موش‌های ماده نژاد C57Bl/6 انجام شد. مراحل مطالعه توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران تأیید شد (IR.TUMS.VCR.REC.1396.3008) و موازین اخلاقی در نگه‌داری و انجام آزمایش مطابق آن رعایت گردید. حیوانات از محل تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی در دانشگاه ایران خریداری شدند و در همین مرکز با شرایط یکسان در دوره های متوالی ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی و در درجه حرارت ۱±۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. حیوانات آزادانه به غذا و آب دسترسی داشتند. نوع رژیم غذایی در این مطالعه بر پایه‌ی توصیه‌ی انستیتوی تغذیه آمریکا در مورد جوندگان [۱۵] و به‌صورت رژیم غذایی تخلیص شده تهیه شد. ترکیب اجزای رژیم غذایی در جدول ۱ نشان داده شده است. رژیم‌های غذایی به‌صورت هفتگی در آزمایشگاه تغذیه‌ی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه تهران تهیه و در فریزر در دمای ۲۰ -درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. پس از یک هفته آداپتاسیون با رژیم غذایی نگه‌دارنده (AIN93M)، تمام موش‌های ماده به‌صورت تکی و با یک موش نر نژاد C57Bl/6 غیرفعال در یک قفس به‌منظور جفت‌گیری نگه‌داری شدند. پس از تأیید پلاک واژینال (روز اول بارداری)، موش‌های ماده به‌صورت تصادفی به دو گروه کنترل و پُرچرب دسته‌بندی شده و از روز اول بارداری تا پایان شیردهی یکی از این دونوع رژیم غذایی را دریافت نمودند. گروه کنترل رژیم غذایی AIN93G که مخصوص رشد

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]

در دوران بارداری و شیردهی است را دریافت نموده و گروه پُرچرب رژیم غذایی AIN93G با درصد بالای چربی را دریافت نمودند. رژیم‌های غذایی ایزوکالریک بوده و محتوی ۳/۹۷ کیلوکالری به ازای هرگرم غذا بودند. در رژیم غذایی گروه کنترل ٦٤٪، ١٦٪ و ٢٠٪ کالری از کربوهیدرات و چربی (به‌ترتیب) فراهم شد درحالی‌که در رژیم غذایی گروه پُرچرب ٣٢٪ و ٤٨٪ از کل کالری روزانه از کربوهیدرات و چربی تأمین شد. در هر دو نوع رژیم غذایی ٢٠٪ از کل کالری روزانه به پروتئین اختصاص داده شد. پس از زایمان تعداد توله‌ها در هر قفس به ٤ توله (٢ نر و ٢ ماده) کاهش داده شد. پس از دوره‌ی از شیرگیری (٣ هفتگی) همه‌ی توله‌ها بر حسب جنسیت جدا شده و در قفس‌های جداگانه نگه‌داری شده و تا ٦ هفتگی رژیم غذایی کنترل (AIN93G) را دریافت نمودند. در انتها توله‌های نر و ماده از هر قفس به‌صورت تصادفی انتخاب شده و توسط کتامین و زایلازین بیهوش شده، بافت کبد جدا شده و سریعاً به نیتروژن مایع منتقل شد. نمونه‌های بافت تا آنالیز نهایی بیان ژن و پروتئین و همچنین استخراج اسیدهای چرب بافت کبد در فریزر ٨٠- درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. مراحل اجرای مطالعه در شکل ١ نشان داده شده است:




**شکل ۱- مراحل اجرایی مطالعه**

**جدول ۱- اجزای رژیم‌های غذایی نگه‌دارنده و رشد AIN93**

| رژیم غذایی اجزا (g/kg) | | کازئین | نشاسته ذرت | ساکارز | روغن سویا | فیبر | مینرال میکس | ویتامین میکس | ال- سیستئین | کولین تارترات | ترت- بوتیل هیدروکینون |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AIN93M | | ۱۴۰ | ۶۳۰ | ۱۰۰ | ۴۰ | ۵۰ | ۳۵ | ۱۰ | ۱/۸ | ۲/۲ | ۰/۰۰۸ |
| AIN93G | کنترل | ۲۰۰ | ۵۳۰ | ۱۰۰ | ۷۰ | ۵۰ | ۳۵ | ۱۰ | ۳ | ۲/۲ | ۰/۰۱۴ |
| | پُرچرب | ۲۰۰ | ۲۱۷ | ۱۰۰ | ۲۱۰ | ۲۲۲/۵ | ۳۵ | ۱۰ | ۳ | ۲/۵ | ۰/۰۱۴ |

ال سیستئین (W326305, Sigma Aldrich, Germany)، ویتامین میکس (296040201, MP Biomedicals, USA)، مینرال میکس (296040002, MP Biomedicals, USA)، کولین بی تارترات (C1629, Sigma Aldrich, Germany)، ترت بوتیل هیدروکینون (112941, Sigma Aldrich, Germany)، کازئین، نشاسته ذرت، ساکارز و فیبر از ایران خریداری شد

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]

**ارزیابی بیان ژن سیرتوئین-۱**

یک گرم از بافت کبد فریز شده در نیتروژن مایع پودر شده و کل RNAی بافت با استفاده از بافر لیزکننده ترایزول (QIAGEN Inc., Valencia, CA 91355, USA) استخراج شد. به این صورت که پس از شستشوی بافت با PBS، ۳۰۰ میکرولیتر ترایزول به‌منظور ایجاد لیزات اضافه شد. سپس کلروفرم اضافه شده و نمونه‌ها با دور rpm ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. ایزوپروپانول پس از جمع‌آوری سوپرناتانت اضافه شده و نمونه‌ها به‌مدت ۳۰-٦۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی گراد نگه‌داری شدند. در نهایت نمونه‌ها با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. به‌منظور پیشگیری از هرگونه آلودگی لیپیدی، ۷۰۰ میکرولیتر الکل ۸۰٪ به نمونه‌ها اضافه شده و مجدداً با دور rpm ۷۵۰۰ در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. رسوب RNA در ۲۰ میکرولیتر آب مقطر به مدت ۵ دقیقه در دمای ۵۵-٤۵ درجه‌ی سانتی‌گراد حل شد. به منظور ارزیابی مقدار RNA استخراج شده از نانودراپ ۱۰۰۰ در طول موج ۲٦۰ نانومتر استفاده شد ( DPI-1, QIAGEN Inc., USA). همچنین کیفیت RNAی استخراج شده از الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد. در نهایت با استفاده از روش فرمنتاز (Fermentas Co. USA) از یک میکروگرم از RNAی استخراج شده، cDNA ساخته شد. به‌منظور ارزیابی بیان ژن از دستگاه ABI (Applied Biosystems, California, USA) استفاده شد. به‌منظور ارزیابی بیان ژن، ۱۰ پیکومول از پرایمر فوروارد و ریورس ژن سیرتوئین-۱، گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به‌عنوان ژن خانه نگه‌دار، ۱ میکرولیتر از Cdnaی ساخته شده و سایبرگرین مسترمیکس با دوبار تکرار استفاده شد. پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار primer express به‌صورت زیر طراحی شدند:

SIRT1 (فوروارد: GTGTCATAGGATAGGTGGTG;ریورس TATGAAGAGGTGTTGGTGG)
GAPDH (فوروارد: CTATGTTTGTGATGGGTGTGA;ریورس AGTGGATGCAGGGATGATGT).

چرخه‌ی تکثیر شامل ٤۰ سیکل سه مرحله‌ای: ۹٤ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ ثانیه، ۵۸-٦۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه بود. نتایج با استفاده از فرمول زیر و $2^{\wedge-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد.

$$\Delta\Delta CT = (CT_{SIRT1} - CT_{GAPDH})_{Time\ X} - (CT_{SIRT1} - CT_{GAPDH})_{Time\ 0}$$

**ارزیابی میزان پروتئین سیرتوئین-۱**

برای ارزیابی مقدار پروتئین سیرتوئین-۱ در بافت کبد از روش وسترن بلات استفاده شد. در ابتدا بافت کبد با محلول PBS پاکسازی شد. برای جلوگیری از آسیب به ساختار پروتئین تحت تأثیر دما، لیز بافت بر روی یخ صورت گرفت. پروتئین لیز شده را درون میکروتیوب ریخته و سپس ۲۰۰ میکرولیتر بافر ریپا به آن اضافه شده و به‌مدت ۹۰ دقیقه در دمای ٤ درجه ی سانتی‌گراد قرار داده شد. در این مدت هر ۲۰ دقیقه بافت را از یخچال بیرون آورده و پس از کوبیدن بافت مجدداً به دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد برگرداندیم. نمونه‌ها بعد از گذشت ۹۰ دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت rpm ۱۰۰۰۰ در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. اتیلن دی‌آمین تترااستیک اسید (EDTA) به‌عنوان مهارکننده‌ی پروتئاز استفاده شد. سوپرناتانت در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا آنالیز نهایی نگه‌داری شد. ۵۰ میلی‌گرم پروتئین (از هرنمونه) به بافر لودینگ به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتیگراد اضافه شد. سپس پروتئین‌های دناچوره شده روی چاهک‌ها لود شده و بافر متحرک در ولتاژ ۱۰۰ میلی ولت به‌مدت ۲۲۰ دقیقه اضافه شد. پروتئین‌ها با صفحه SDS ۱۰٪ (PH=٦/۸) جداسازی شده و به غشای نیتروسلولزی با ولتاژ ۸۰ میلی‌ولت

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]

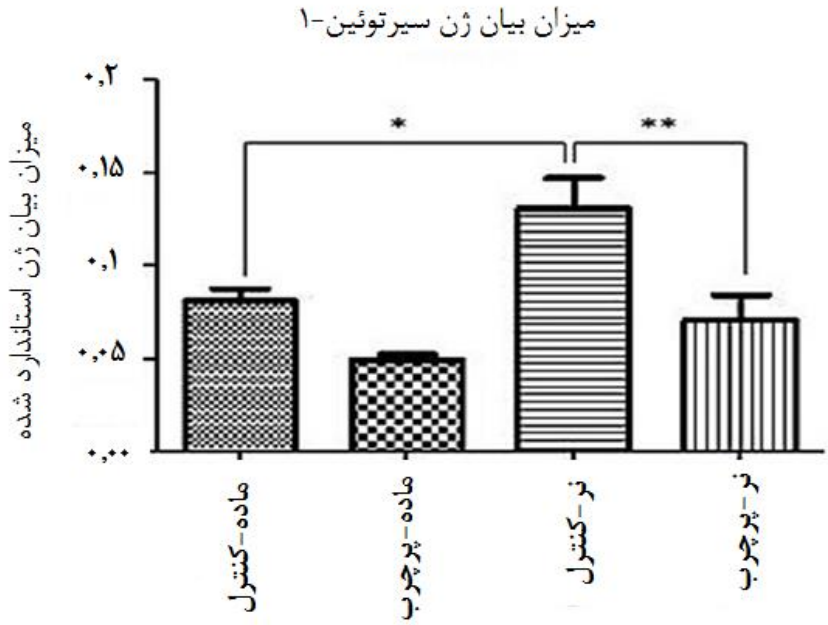
و دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۸۰ دقیقه انتقال داده شدند. بعد از انکوباسیون شبانه در بافر مسدود کننده (شیرخشک بدون چربی)، آنتی‌بادی سیرتوئین-۱ به همراه بافر توبین ۸۰ رقیق شده (۱ به ۲۰۰)، به غشای نیتروسلولزی اضافه شده و به‌مدت ۱۲۰ دقیقه تکان داده شد. نمونه‌ها سه بار با بافر توبین شستشو داده شد و در هر بار شستشو به‌مدت ۱۰ دقیقه تکان داده شد. آنتی‌بادی آنتی‌سیرتوئین-۱ (Abcam Co., UK) اضافه شده و نمونه‌ها به‌مدت ۹۰ دقیقه تکان داده شد. برای ارزیابی میزان پروتئین از سیستم کمی لومینسانس و نرم‌افزار ImageJ استفاده شد.

### تحلیل آماری

پس از جمع‌آوری اطلاعات، ابتدا میزان نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف تعیین شد. پس از اطمینان از توزیع غیرنرمال داده‌ها، از آزمون من-ویتنی به‌منظور ارزیابی بیان ژن و پروتئین سیرتوئین-۱ استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ تجزیه‌وتحلیل شدند. سطح معنی‌داری برابر با ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

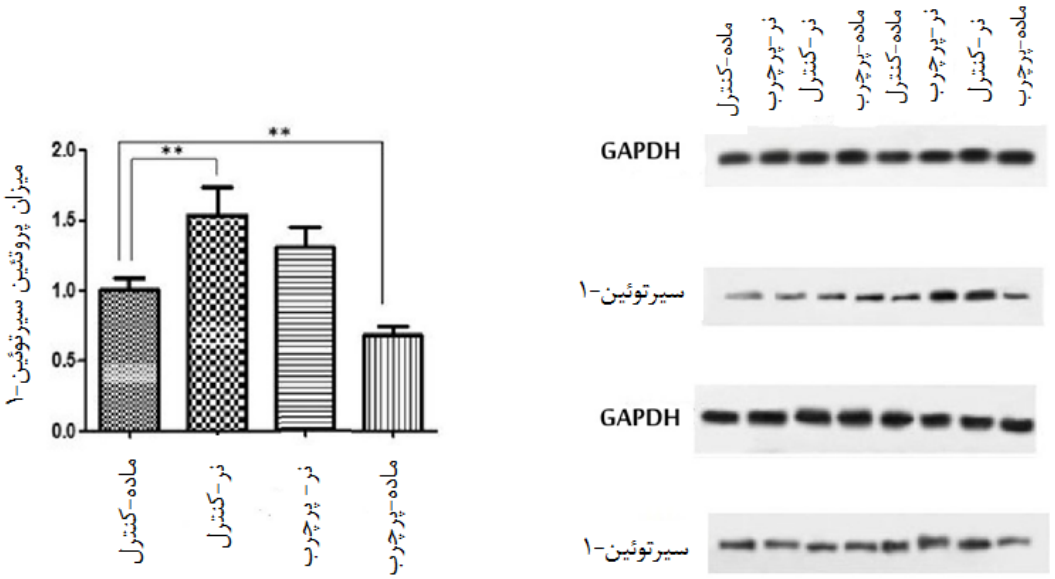
میزان بیان ژن سیرتوئین-۱ در توله‌های ماده بین دوگروه تفاوت معنی‌داری نداشت. در گروه کنترل، میزان بیان ژن سیرتوئین-۱ در کبد توله‌های نر به‌طور معنی‌دار بالاتر از توله های ماده بود (P<۰/۰۱). به‌علاوه میزان بیان ژن سیرتوئین-۱ در کبد توله‌های متولد شده از مادران مصرف کننده‌ی رژیم غذایی پُرچرب در مقایسه با توله‌های نر گروه کنترل کمتر بود (P<۰/۰۰۱).




**شکل ۲- میزان بیان ژن سیرتوئین-۱ استاندارد شده براساس GAPDH در کبد توله‌های مورد مطالعه (*P<۰/۰۱ و **P<۰/۰۰۱)**

در گروه کنترل میزان پروتئین سیرتوئین-۱ در توله‌های نر بیشتر از توله‌های ماده بود (P<۰,۰۰۱). به‌علاوه میزان پروتئین سیرتوئین-۱ در کبد توله‌های ماده متولد شده از مادران مصرف کننده‌ی رژیم غذایی پُرچرب به‌طور معنی‌داری کمتر از توله های نر بود (P<۰/۰۰۱).

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]




**شکل ۳- میزان پروتئین سیرتوئین-۱ و ژل وسترن بلات استاندارد شده براساس GAPDH در کبد توله‌های مورد مطالعه (**P<۰/۰۰۱)**

## بحث

مطالعه‌ی حاضر اولین مطالعه‌ای است که به ارزیابی مقایسه‌ای میزان بیان ژن و پروتئین سیرتوئین-۱ در کبد توله‌های نر و ماده‌ی متولد شده از مادران مصرف کننده‌ی رژیم غذایی پُرچرب و معمولی در دوران بارداری و شیردهی پرداخته است. نتایج جالب به‌دست آمده نشان داد که توله‌های ماده در مقایسه با جنس نر، نسبت به این تغییرات حساس‌تر هستند. میزان بیان ژن و پروتئین سیرتوئین-۱ در توله‌های نر متولد شده از گروه کنترل به‌طور معنی‌دار بیشتر از توله‌های ماده بود. همچنین میزان بیان ژن سیرتوئین-۱ در کبد توله‌های نر متولد شده از گروه کنترل بیشتر از گروه پُرچرب بود اما این تغییرات در سطح پروتئین دیده نشد. براساس بررسی‌های صورت گرفته تاکنون مطالعه‌ای به ارزیابی مقایسه‌ای اثر رژیم‌های غذایی ایزوکالریک حاوی مقادیر متفاوت چربی و کربوهیدرات در دوران بارداری و شیردهی بر بیان ژن و پروتئین سیرتوئین-۱ در نسل اول نپرداخته است. به‌طور کلی مطالعات در زمینه‌ی اثر رژیم غذایی پُرکالری-پُرچرب بر بیان ژن سیرتوئین-۱ بسیار محدود است [۱۸-۱۶]. تنها دو مطالعه‌ی حیوانی گزارش نموده اند که چاقی مادر در دوران بارداری منجر به کاهش بیان ژن سیرتوئین-۱ در کبد جنین می‌شود [۱۹]. یک مطالعه‌ی حیوانی دیگر گزارش کرده است که رژیم غذایی پُرچرب منجر به افزایش بیان ژن سیرتوئین-۱ در هیپوتالاموس می‌شود [۲۰]. مطالعه‌ای به ارزیابی اثر رژیم غذایی پُرچرب طولانی مدت در مقایسه با رژیم غذایی محدود از انرژی بر بیان ژن سیرتوئین-۱ در بافت اپی‌نلیال عروق پرداخت. نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف طولانی مدت رژیم غذایی پُرچرب منجر به داستیلاسیون سیرتوئین-۱ شده که اثرات مخرب بر بافت اپی تلیال عروق برجا می‌گذارد [۲۱]. سیرتوئین-۱ یک سنسور تغذیه‌ای، هیستون داستیلاز وابسته به NAD+، است که مسیرهای متابولیسمی را با توجه به موجودیت انرژی تنظیم می کند [۲۲]. در مطالعه‌ی حاضر توله‌های متولد شده از مادران مصرف کننده رژیم غذایی پُرچرب کاهش بیان ژن و پروتئین سیرتوئین-۱ داشتند. براساس فرضیه ریشه‌ی جنینی سلامت و بیماری، رژیم غذایی مادر در دوران بارداری و شیردهی اثرات پایداری بر اپی‌ژنوم فرزندان نسل آینده دارد که استعداد ابتلا به بیماری‌های مزمن در سنین بزرگسالی افزایش می‌دهد [۹]. بنابراین می‌توان انتظار داشت که تغییرات ایجاد شده به‌صورت پایدار به نسل بعد منتقل شده و مسیرهای متابولیسمی بدن توله ها را تحت تأثیر قرار دهد [۲۳]. امروزه به‌دلیل صنعتی شدن

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]

جوامع و کاهش زمان برای تهیه‌ی غذای سالم، گذار تغذیه‌ای رخ داده است. به گونه‌ای که رژیم غذایی سنتی غنی از فیبر توأم با دانه‌ها، میوه‌ها و سبزی‌ها به رژیم غذایی مدرن حاوی چربی، کربوهیدرات ساده و نمک فراوان تبدیل شده است [۲٤]. ممکن است افراد به میزان کالری دریافتی روزانه توجه کرده وآن را کنترل کنند اما دریافت درصدهای مختلف کربوهیدرات و چربی، حتی در رژیم غذایی ایزوکالریک، می تواند اثرات مضری برای سلامتی داشته باشد [۲۵].

مشابه با سایر مطالعات، مطالعه‌ی حاضر محدودیت‌های دارد. بیان ژن و پروتئین سیرتوئین-۱ تنها در سنین نوجوانی توله‌ها ارزیابی شد. به‌علاوه اثر رژیم غذایی مادر در دوران بارداری و شیردهی بر بیان ژن و پروتئین سیرتوئین-۱ در توله‌ها مورد بررسی قرار گرفت. توله‌ها پس از دوره‌ی از شیرگیری رژیم غذایی استاندارد داشتند. تغییرات در دوره‌های مختلف بارداری می‌تواند اثرات متفاوتی برجا گذارد. همچنین ادامه رژیم‌های غذایی پُرچرب پس از دوره از شیرگیری می‌تواند منجر به بروز نتایج متفاوتی شود. بنابراین پیشنهاد می‌شود مطالعات آینده با بررسی اثر تغییرات رژیم غذایی در دوره‌های مختلف بارداری با ارزیابی پیامد در سنین مختلف توله‌ها طراحی گردد. به‌علاوه انجام مطالعات انسانی جهت بررسی در بدن انسان نیز توصیه می‌شود. همچنین تغییرات اپی‌ژنتیکی سیرتوئین شامل استیلاسیون/داستیلاسیون جهت شفاف‌سازی مسیرهای متابولیسمی درگیر می‌تواند پایه‌ای برای انجام مطالعات آینده باشد. به‌طورکلی، رژیم غذایی مادر در دوران بارداری و شیردهی اثرات ماندگاری بر متابولیسم نسل بعد برجا می‌گذارد. حتی رعایت یک رژیم غذایی مناسب پس از دوره‌ی از شیرگیری نمی‌تواند اثرات مخرب رژیم‌های غذایی دوران بارداری و شیردهی را از بین ببرد. ترکیب رژیم غذایی به اندازه میزان کالری دریافتی مهم است. رعایت تعادل در دریافت درشت مغذی‌ها شامل کربوهیدرات، چربی و پروتئین توصیه می‌شود.

## سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه علوم پزشکی تهران بابت تأمین هزینه های مورد نیاز برای اجرای پروژه کمال سپاس را دارند.

## مآخذ


1. Kiss T, Nyúl-Tóth Á, Balasubramanian P, Tarantini S, Ahire C, Yabluchanskiy A, et al. Nicotinamide mononucleotide (NMN) supplementation promotes neurovascular rejuvenation in aged mice: transcriptional footprint of SIRT1 activation, mitochondrial protection, anti-inflammatory, and anti-apoptotic effects. *GeroScience*, 2020; 42: 1-20.
2. Dominy Jr JE, Lee Y, Gerhart-Hines Z, Puigserver P. Nutrient-dependent regulation of PGC-1α's acetylation state and metabolic function through the enzymatic activities of Sirt1/GCN5. *Biochimica et biophysica acta (BBA)-proteins and proteomics*, 2010; 1804: 1676-83.
3. Purushotham A, Xu Q, Lu J, Foley JF, Yan X, Kim D-H, et al. Hepatic deletion of SIRT1 decreases hepatocyte nuclear factor 1α/farnesoid X receptor signaling and induces formation of cholesterol gallstones in mice. *Molecular and cellular biology*, 2012; 32: 1226-36.
4. Purushotham A, Schug TT, Xu Q, Surapureddi S, Guo X, Li X. Hepatocyte-specific deletion of SIRT1 alters fatty acid metabolism and results in hepatic steatosis and inflammation. *Cell metabolism*, 2009; 9: 327-38.
5. Banks AS, Kon N, Knight C, Matsumoto M, Gutiérrez-Juárez R, Rossetti L, et al. SirT1 gain of function increases energy efficiency and prevents diabetes in mice. *Cell metabolism*, 2008; 8: 333-41.
6. Oberdoerffer P, Michan S, McVay M, Mostoslavsky R, Vann J, Park S-K, et al. SIRT1 redistribution on chromatin promotes genomic stability but alters gene expression during aging. *Cell*, 2008; 135: 907-18.
7. Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis: Type 2 diabetes. *British medical bulletin*, 2001; 60: 5-20.
8. Kwon EJ, Kim YJ. What is fetal programming?: a lifetime health is under the control of in utero health. *Obstetrics & gynecology science*, 2017; 60: 506-19.
9. Barker DJ, Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet*, 1: 1077–1081, 1986.
10. Parrettini S, Caroli A, Torlone E. Nutrition and Metabolic Adaptations in Physiological and


[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]

Complicated Pregnancy: Focus on Obesity and Gestational Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020; 11:611929.
11. Mousavi SN, Koohdani F, Shidfar F, Eslaminejad MB. Comparison of maternal isocaloric high carbohydrate and high fat diets on osteogenic and adipogenic genes expression in adolescent mice offspring. *Nutrition & metabolism*, 2016; 13: 69.
12. Mousavi SN, Koohdani F, Eslaminejad MB, Izadi P, Eshraghian M, Sayahpour FA, et al. Extra virgin olive oil in maternal diet increases osteogenic genes expression, but high amounts have deleterious effects on bones in mice offspring at adolescence. *Iranian journal of basic medical sciences*, 2016; 19: 1299.
13. Suter MA, Chen A, Burdine MS, Choudhury M, Harris RA, Lane RH, et al. A maternal high-fat diet modulates fetal SIRT1 histone and protein deacetylase activity in nonhuman primates. *The FASEB Journal*, 2012; 26: 5106-14.
14. Lee JD, Choi M-A, Ro SW, Yang WI, Cho AE, Ju H-L, et al. Synergic chemoprevention with dietary carbohydrate restriction and supplementation of AMPK-activating phytochemicals: the role of SIRT1. *European Journal of Cancer Prevention*, 2016; 25: 54.
15. Council NR. *Nutrient Requirement of Laboratory Animals. 4th edition ed*. Washington, DC, USA,: National Academy Press; 1995.
16. Nguyen LT, Chen H, Zaky A, Pollock C, Saad S. SIRT1 overexpression attenuates offspring metabolic and liver disorders as a result of maternal high- fat feeding. *The Journal of physiology*, 2019; 597: 467-80.
17. Borengasser SJ, Kang P, Faske J, Gomez-Acevedo H, Blackburn ML, Badger TM, et al. High fat diet and in utero exposure to maternal obesity disrupts circadian rhythm and leads to metabolic programming of liver in rat offspring. *PloS one*, 2014; 9: e84209.
18. Chen H, Morris MJ. Differential responses of orexigenic neuropeptides to fasting in offspring of obese mothers. *Obesity*, 2009; 17: 1356-62.
19. Elamin M, Ruskin DN, Masino SA, Sacchetti P. Ketogenic diet modulates nad+-dependent enzymes and reduces DNA damage in hippocampus. *Frontiers in cellular neuroscience*, 2018; 12: 263.
20. Palliyaguru DL, Rudderow AL, Sossong AM, Lewis KN, Younts C, Pearson KJ, et al. Perinatal diet influences health and survival in a mouse model of leukemia. *Geroscience*, 2020; 42:1147-1155.
21. Tomada I, Negrão R, Almeida H, Neves D Long-term high-fat consumption leads to downregulation of Akt phosphorylation of eNOS at Ser1177 and upregulation of Sirtuin-1 expression in rat cavernous tissue. *Age*, 2014; 36: 597-611.
22. Perez PA, DiPatrizio NV. Impact of maternal western diet-induced obesity on offspring mortality and peripheral endocannabinoid system in mice. *PLoS One*, 2018; 13: e0205021.
23. Schmitz G, Ecker J. The opposing effects of n− 3 and n− 6 fatty acids. *Progress in lipid research*, 2008; 47: 147-55.
24. Golabi F, Aghayari Hir T, Sae M. The evaluation of intergenerational nutritional transition and associated social contexts. *Journal of the Iranian Institute for Health Sciences Research*, 2017; 15 (3):221-231.
25. Mousavi SN, Koohdani F, Baghaban Eslaminejad M, Izadi P. Eshraghian M and et al. Extra virgin olive oil in maternal diet in, but high amount has deleterious effects creases osteogenic genes expression on bones in mice offspring at adolescence. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2016; 19 (12): 1299-1307.

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]

# Effects of Two Isocalorie Diets with Different Amounts of Fat during Pregnancy and Lactation of C57BL/6 Mice on Gene and Protein Level of Sirtuin 1 in the Liver Tissue of Adult Offspring

Seyedeh Neda Mousavi[1,2], Sara Gharacheh[3], Mir Saeed Seyed Dorraji[4], Elham Hosseini[1], Fariba Koohdani[*3]

*1. Zanjan Metabolic Diseases Research Center, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran*
*2. Department of Nutrition, School of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran*
*3. Department of Cellular and Molecular Nutrition, School of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
*4. Department of Chemistry, Faculty of Science, Applied Chemistry Research Laboratory, University of Zanjan, Zanjan, Iran*

## ABSTRACT

**Background:** Animal studies have shown maternal low/ high-calorie diet during pregnancy can alter metabolism of offspring through change in Sirtuin 1 (SIRT1) expression, as a metabolic sensor. However, there is no study on the effects of isocalorie diet. Herein, effects of two isocalorie diets with different amounts of fat were assessed on SIRT1 gene and protein level in the liver of male and female offspring.
**Methods:** The control group received AIN93G diet. In this diet, 16% and 64% of total calorie were prepared from fat and carbohydrate, respectively. The intervention group received high fat AIN93G diet contained 48% and 32% of calorie from fat and carbohydrate, respectively. In both diets, fat was prepared from soy oil. Diets were isocaloric and 20% of total calorie was provided from protein. Mothers categorized to one of these diets and offspring received the control diet after weaning (3 weeks after the birth).
**Results:** SIRT1 gene and protein levels were lower in male and female offspring born from mothers received high-fat diet than the controls ($p<0.001$).
**Conclusion:** Change in maternal dietary fat, without increase in calorie, effects on gene and protein levels of SIRT-1 in the liver of next generation.

**Keywords:** Calorie, Dietary Fat, Pregnancy, Embryonic Programming, Sirtuin 1

* Hojjatdoost St., Naderi St., Keshavarz Blv., Department of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, Postal code: 1416643931, Tel: 021-88955975, Fax: 021-88984861, E-mail: fkoohdan@tums.ac.ir

Copyright © 2023 Iranian Journal of Diabetes and Metabolism and Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]