

# تأثیر کلسیم غذایی بر وزن، درصد چربی لاشه و اندازه آدیپوسیت‌ها در موش صحرایی نر

## چکیده:

**مقدمه و هدف:** کلسیم یکی از ریزمغذی‌ها است که به دلیل اثرات احتمالی بر وزن و چاقی مورد توجه قرار گرفته است و مکانیسمهای متعددی از جمله کاهش لیپوژنز و افزایش لیپولیز در نتیجه کاهش هورمون پاراتیروئید برای این اثر پیشنهاد شده است. این پژوهش با هدف تعیین تأثیر کلسیم غذایی بدون استفاده از لبنیات بر وزن، درصد چربی لاشه و اندازه آدیپوسیت‌ها در موش‌های صحرایی نر طراحی و اجرا شده است.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال ۱۳۸۴ انجام شد. ۴۸ سر موش صحرایی اسپراگ - دالی، ۱۰ هفته‌ای به طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند و پس از یک هفته تطابق به مدت ۱۰ هفته تحت تأثیر رژیم‌های غذایی کم کلسیم (۰/۲ درصد وزنی)، کلسیم معمول (۰/۵ درصد وزنی) و کلسیم متعادل (۱/۲ درصد وزنی) قرار گرفتند. به جز کلسیم که از طریق کربنات کلسیم تأمین شده بود، سایر اجزاء غذایی موش‌های صحرایی مطابق رژیم AIN - 93M بود. موش‌ها در دوره نوری - تاریکی ۱۲ ساعته و دمای ۲۵ - ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری و به غذا دسترسی آزاد داشتند. در انتهای مطالعه پس از سر زدن موش‌های صحرایی، درصد چربی و خاکستر لاشه بر اساس ماده خشک و نیز اندازه سلول‌های چربی ناحیه بیخه، صفاقی و زیرپوستی در سه گروه تعیین و نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس مقایسه شدند.

**یافته‌ها:** بین وزن کسب شده، درصد چربی لاشه و اندازه آدیپوسیت‌ها در سه گروه مورد بررسی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. غلظت سرمی هورمون پاراتیروئید در گروه دریافت کننده کلسیم بالا از گروه کلسیم متعادل و کلسیم پایین، کمتر بود ( $p < 0.05$ ). غلظت ۲۵ هیدروکسی کوله کلسیفرول نیز در گروه دریافت کننده کلسیم بالا پایین‌تر از دو گروه دیگر بود، اما اختلاف معنی‌دار نبود.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که غلظت‌های فیزیولوژیک کلسیم غذایی بر وزن، درصد چربی و اندازه آدیپوسیت‌ها در موش‌های صحرایی تأثیری ندارد. تفاوت غلظت سرمی هورمون پاراتیروئید در کنار درصد چربی و اندازه آدیپوسیت یکسان، فرضیه اثر کلسیم بر درصد چربی بدن از راه تغییر هورمون پاراتیروئید را رد می‌کند.

**واژه‌های کلیدی:** کلسیم غذایی، چاقی، آدیپوسیت، موش صحرایی نر

جانمحمد ملک‌زاده \*

دکتر سید علی کشاورز \*\*

دکتر فریدون سیاسی \*\*\*

دکتر مه‌ری کدخدایی \*\*\*\*

دکتر محمدرضا اشراقیان \*\*\*\*\*

دکتر احمد رضا درستی مطلق \*\*\*\*

دکتر اصغر عالی‌پور \*\*\*\*\*

مریم چمری \*\*\*\*\*

\* دانشجوی دکتری تغذیه دانشگاه علوم پزشکی

تهران، مربی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده

بهداشت، گروه تغذیه

\*\* دکترای تغذیه، استاد دانشگاه علوم پزشکی تهران،

دانشکده بهداشت، گروه تغذیه و بیوشیمی

\*\*\* دکترای تغذیه، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی

تهران، دانشکده بهداشت، گروه تغذیه و بیوشیمی

\*\*\*\* دکترای فیزیولوژی، استاد دانشگاه علوم پزشکی

تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

\*\*\*\*\* دکترای آمار، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی

تهران، دانشکده بهداشت، گروه آمار و اپیدمیولوژی

\*\*\*\*\* دکترای تغذیه، استادیار دانشگاه علوم پزشکی

تهران، دانشکده بهداشت، گروه تغذیه و بیوشیمی

\*\*\*\*\* دستیار تخصصی پاتولوژی، دانشگاه علوم

پزشکی تهران، بیمارستان شریعتی، بخش پاتولوژی

\*\*\*\*\* دانشجوی کارشناسی ارشد علوم بهداشتی

در تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده

بهداشت، گروه تغذیه و بیوشیمی

تاریخ وصول: ۱۳۸۵/۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۵/۵/۴

مؤلف مسئول: دکتر سید علی کشاورز

پست الکترونیکی: s\_akeshavarz@yahoo.com

## مقدمه

رشد بافت چربی شامل افزایش تعداد سلول‌های چربی<sup>(۱)</sup>، و یا افزایش اندازه سلول‌ها<sup>(۲)</sup> است (۱ و ۲). حدود ۹۰ درصد از حجم سلول‌های چربی را قطره لیپیدی تشکیل می‌دهد. این سلول‌ها از نظر اندازه تفاوت زیادی دارند و برای ذخیره و آزاد کردن انرژی تطابق یافته‌اند<sup>(۱)</sup>. انرژی اضافی در بدن به وسیله سلول‌های چربی جذب و به صورت تری‌گلیسرید در قطرات لیپیدی درون سلول ذخیره می‌شود. این سلول‌ها برای جای دادن لیپیدها قادر به تغییر قطر خود تا حدود ۲۰ برابر و حجم چند هزار برابر هستند<sup>(۳ و ۱)</sup>.

چاقی سبب افزایش محتوای آدیپوسیت‌ها و هیپرتروفی سلول‌ها می‌شود و با رسیدن حجم سلول‌ها به اندازه خاصی تکثیر سلولی نیز انجام می‌شود (۴ - ۱). فرایند آدیپوژنز به وسیله انواعی از عوامل بیرونی<sup>(۳)</sup> شامل عوامل رشد و هورمون‌ها و نیز راه‌های پیام‌رسانی داخل سلولی<sup>(۴)</sup> تحت تأثیر قرار می‌گیرد<sup>(۱)</sup>.

کلسیم یک عنصر سیگنالی داخل سلولی است که در تنظیم اعمال متعدد سلول نقش دارد (۸ - ۵ و ۱). افزون بر این مطالعات نشان داده‌اند که افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی در محیط برون‌تنی<sup>(۵)</sup> در مراحل اولیه افتراق آدیپوسیت‌ها از تبدیل پری‌آدیپوسیت‌ها به آدیپوسیت‌های بالغ جلوگیری، ولی در مراحل بعدی تبدیل پری‌آدیپوسیت به آدیپوسیت‌های بالغ را تشدید می‌نماید<sup>(۱)</sup> و افزایش

مداوم غلظت کلسیم داخل سلولی سبب تجمع تری‌گلیسریدها در آدیپوسیت‌ها می‌شود<sup>(۸ - ۵ و ۱)</sup>. اثر کلسیم خارج سلولی نیز به صورت برون‌تنی مورد بررسی قرار گرفته است، در حالی که نشان داده شده است که افزایش کلسیم خارج سلولی سبب جلوگیری از افتراق پری‌آدیپوسیت‌ها به آدیپوسیت‌ها می‌شود، اثری بر غلظت کلسیم داخل سلولی نداشته است<sup>(۱)</sup>. این پیچیدگی اثر کلسیم بر آدیپوژنز و نیز محدودیت مطالعات درون‌تنی انجام شده در رابطه با اثر کلسیم بر متابولیسم چربی‌ها، ضرورت انجام پژوهش در شرایط فیزیولوژیک طبیعی بدن را نشان می‌دهد. اثر کلسیم غذایی بر مقدار چربی بدن می‌تواند از راه تغییر در اندازه و یا تعداد سلول‌های چربی در تمام قسمتهای بدن و یا در نواحی خاصی از بدن باشد (۲ - ۲). با توجه به این که در موش‌های بالغ تغییر اندازه سلول‌های چربی بر تغییر در تعداد آنها مقدم است<sup>(۹)</sup>، می‌توان اثر کلسیم غذایی را در تغییر در اندازه سلول‌های چربی نیز مشاهده کرد.

تأثیر کلسیم غذایی بر اندازه چربی بدن در مطالعات انسانی و حیوانی مورد بررسی قرار گرفته و نتایج ناهمگون و متناقضی گزارش شده است (۵ - ۱۵). مطالعات انجام شده نتیجه گیری دقیق‌تر را به انجام مطالعات بیشتر و کنترل شده‌تری موقوف کرده‌اند<sup>(۱۲)</sup>. همچنین تاکنون مطالعه‌ای در خصوص

1-Hyperplasia  
2-Hypertrophy  
3-Extrinsic  
4-Cell signaling  
5-In vitro

محیط جدید موش‌ها به مدت یک هفته روی رژیم پایه AIN-93M نگهداری شدند و سپس به مدت ۱۰ هفته روی رژیم‌های مربوط قرار گرفتند. وزن غذای داده شده، مصرف شده و مصرف نشده هر ۳ روز اندازه گیری و یادداشت می‌شد. هر ۱۰ - ۹ روز یک بار وزن موش‌ها اندازه‌گیری و یادداشت می‌شد. در انتهای مطالعه، پس از ناشتای شبانه (ساعت ۱ صبح به بعد)، از ساعت ۱۰-۸ صبح بعد از بیهوشی با اتر، موش‌ها با گیوتین سر زده و از راه شریان گردن از آنان خون‌گیری شد. سر و دم موش‌ها نیز قطع و دور ریخته شد.

نمونه‌های خون پس از نیم ساعت ماندن در محیط آزمایشگاه، سانتریفوژ، سرم آنها جدا و در لوله‌های ۵۰۰ لاندا ریخته و در دمای ۸۰ - درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌های لازم نگهداری شدند.

لاشه موش‌ها از ناحیه شکم با قیچی باز و از ناحیه بیضه، صفاق و زیرپوست در حاشیه خارجی ران چپ هر کدام حدود ۵۰۰ میلی‌گرم بافت چربی جدا و درون ظروف شیشه‌ای ۱۰ میلی‌لیتری حاوی فرمالین ۷ درصد قرار داده شد. معده موش‌ها بان، محتویات آن تخلیه و به لاشه برگردانده شد.

غلظت کلسیم یونیزه سرم ۳ روز پس از خون‌گیری با دستگاه آنالیزر<sup>(۱)</sup> در گروه فیزیولوژی دانشگاه تهران اندازه‌گیری شد. آماده‌سازی لاشه

اثر کلسیم غذایی بر اندازه آدیپوسیت‌ها به انجام نرسیده یا در دسترس نبوده است. بنابراین این پژوهش با هدف تعیین تأثیر کلسیم غذایی بر وزن، درصد چربی لاشه و اندازه آدیپوسیت‌ها در موش صحرایی نر طراحی و اجرا شده است.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی از آذر ماه تا پایان بهمن سال ۱۳۸۴ در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید و در کمیته اخلاق این دانشگاه به تصویب رسید.

تعداد ۴۸ سر موش صحرایی نر از نژاد اسپراگ - دالی از شرکت دام گستر دریافت و به طور تصادفی به سه گروه ۱۶ تایی تقسیم شدند. به گروه اول رژیم غذایی کم کلسیم (۰/۲ درصد وزنی رژیم)، گروه دوم کلسیم متعادل (۰/۵ درصد وزنی رژیم) و گروه سوم کلسیم بالا (۱/۲ درصد وزنی رژیم) داده شد. سایر اجزاء رژیم غذایی موش‌ها مطابق با رژیم AIN-93M تنظیم شد (۱۶) و به طور آزاد در دسترس موش‌ها قرار گرفت. سن موش‌های صحرایی هنگام شروع مطالعه ۱۰ هفته بود و به صورت انفرادی در قفس‌های استیل با دوره نوری تاریکی ۱۲ ساعته (۶ صبح الی ۶ عصر)، دمای ۲۵ - ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۰ - ۶۰ درصد و آب دیونیزه نگهداری شدند. برای عادت کردن به

1-Easylyte Na/Ka/Ca/pH Analyzer

برای اندازه‌گیری درصد چربی به روش بروکز و همکاران<sup>(۱)</sup> (۱۹۹۵) با اندکی تغییر انجام شد (۱۷). در این روش لاشه موش‌ها پس از تراشیدن مو دو بار از درون چرخ گوشت گذرانده و سپس با افزودن ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به کمک هموژنایزر دلونگی به مخلوط یکنواختی تبدیل و از مخلوط حاصل نمونه‌گیری و در ظروف پلی‌اتیلن در ۲۰ - درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. درصد چربی لاشه بر اساس گرم ماده خشک به روش سوکسله<sup>(۲)</sup> و با استفاده از دستگاه اتوماتیک سوکسله (۱۸) در آزمایشگاه اداره نظارت بر مواد غذایی یاسوج اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها به روش پاپاکنستانینو و همکاران<sup>(۳)</sup> (۲۰۰۳) و با استفاده از اجاق الکتریکی و کوره ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد خاکستر و مقدار خاکستر بر اساس وزن خشک محاسبه گردید (۱۴).

غلظت کلسیم تام و فسفر سرم با اتوآنالیزر، غلظت ویتامین دی<sup>(۴)</sup> و هورمون پاراتیروئید سرم به روش رادیوایمونواسی، اندازه‌گیری شد. نمونه‌های بافت چربی در آزمایشگاه پاتولوژی به ضخامت ۵ میکرون برش و به روش همتوکسیلین - ائوزینوفیل رنگ‌آمیزی و لام تهیه شد. لام‌ها زیر میکروسکوپ الپئوس با بزرگنمایی ۱۰ برابر مشاهده و به کمک نرم افزار 2 DVD Creator از قسمت‌های مختلف آن تصاویری به ابعاد ۲۴۰×۳۲۰ پیکسل ثبت و ذخیره شد. مساحت حداقل ۱۰۰ عدد سلول چربی به کمک نرم‌افزار Image J نسخه ۱/۲۵ به روش دستی اندازه‌گیری و نتایج در فایل‌ی ذخیره شد. سپس با

انتقال داده‌های فایل‌ها به نرم‌افزار آماری میانگین سطح ۱۰۰ فایل محاسبه و به عنوان شاخص اندازه سلول چربی در هر موش مورد استفاده قرار گرفت. نرم‌افزار، بزرگنمایی و شرایط مورد استفاده برای تمام نمونه لامها یکسان بود. این روش مشابه آنالیز کامپیوتری چن و فارسی<sup>(۵)</sup> (۲۰۰۲)، اما از آن دقیق‌تر است (۱۹).

از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف<sup>(۶)</sup> برای ارزیابی توزیع متغیرها استفاده شد. برای مقایسه میانگین گروهها از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه<sup>(۷)</sup> و در صورت وجود اختلاف از آزمون شفه<sup>(۸)</sup> برای تعیین گروههای مختلف استفاده شد. نرم افزار مورد استفاده SPSS<sup>(۹)</sup> بود.

#### یافته‌ها

نتایج نشان داد که مقدار غذای خورده شده در سه گروه تفاوت معنی‌داری ندارد. بر اساس گرم وزن پایه مقدار کل غذای مصرفی در گروه کم کلسیم، کلسیم متعادل و کلسیم بالا به ترتیب؛ ۵/۹۷، ۵/۹۴ و ۵/۸۳ گرم می‌باشد.

بر اساس یافته‌های موجود بین غلظت کلسیم تام سرم در سه گروه اختلاف معنی‌داری وجود دارد

- 1-Brooks et al
- 2-Soxhelet
- 3-Papakonstantinou et al
- 4-D Vitamin
- 5-Chen & Farese
- 6-Clomogrov-Smirnov
- 7- Two way ANOVA
- 8-Scheffe
- 9-Statistical Package for Social Sciences

و صفاقی و نیز بین سلول‌های ناحیه صفاقی و زیرپوستی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. یافته‌های حاصل از تجزیه لاشه بین درصد چربی و خاکستر لاشه در سه گروه اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که از نظر اندازه آدیپوسیت‌های هر ناحیه بین سه گروه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد، اما اندازه سلول‌های چربی ناحیه بیضه بزرگتر از صفاقی و ناحیه صفاقی بزرگتر از زیرپوستی است (جدول ۲). ( $p < 0.05$ )

و گروه دریافت کننده کلسیم بالا غلظت کلسیم تام سرم بیشتری از دو گروه دیگر دارند ( $p < 0.05$ )، ولی بین غلظت فسفر و کلسیم یونیزه سرم موش‌های صحرایی در سه گروه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (جدول ۱).

بررسی اندازه میانگین سلول‌های بافت چربی نیز در سه گروه اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد، اما میانگین اندازه سلول‌ها در نواحی مختلف با هم متفاوت هستند و اندازه سلول‌های چربی ناحیه بیضه به طور معنی‌داری بزرگتر از ناحیه زیرپوستی است ( $p < 0.05$ )، اما بین اندازه سلول‌های ناحیه بیضه

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار شاخصهای مورد بررسی در سه گروه از موش‌های صحرایی دریافت کننده سطوح مختلف کلسیم غذایی

شاخص سرمی	کلسیم غذایی	پایین	متعادل	بالا	سطح معنی‌داری
		انحراف معیار ± میانگین (تعداد)	انحراف معیار ± میانگین (تعداد)	انحراف معیار ± میانگین (تعداد)	
کلسیم تام (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۹/۲±۰/۷۳ (۱۶)	۹/۸±۰/۶۳ (۱۴)	۹/۹±۰/۴۴ (۱۵)	< 0.05	
کلسیم یونیزه (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱/۱۵±۰/۱۴ (۱۵)	۱/۲۶±۰/۱۵ (۱۴)	۱/۲۱±۰/۲ (۱۴)	NS*	
فسفر (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۵/۵۸±۰/۹۳ (۱۶)	۵/۹۲±۱/۶۵ (۱۵)	۴/۹۸±۱/۵۵ (۱۶)	NS*	
ویتامین دی (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۰/۵۶±۵/۴ (۱۶)	۹/۹۳±۴/۹ (۱۴)	۷/۲۱±۲/۲۶ (۱۴)	NS*	
هورمون پاراتیروئید (پیکوگرم بر درصد)	۴۲/۲±۲۸/۵ (۱۳)	۲۲/۵۷±۸/۷ (۱۴)	۱۲/۳۶±۸/۸ (۱۴)	< 0.05	
وزن اولیه (گرم)	۲۲۲/۸۷±۲۷ (۱۶)	۲۲۱/۵۶±۳۳ (۱۵)	۲۲۲/۶±۲۷ (۱۶)	NS*	
وزن در انتهای مطالعه (گرم)	۲۸۸/۲±۳۶ (۱۶)	۲۹۴/۲±۴۱ (۱۵)	۲۹۹/۶±۳۸ (۱۶)	NS*	
مقدار تغییر وزن (گرم)	۶۵/۳±۱۴/۶ (۱۶)	۷۱/۲۷±۲۰/۵ (۱۵)	۷۹/۹±۱۹ (۱۶)	NS*	
چربی لاشه (درصد)	۲۲/۹۵±۵/۹ (۱۶)	۲۲±۵/۲ (۱۵)	۲۴/۱۵±۵/۹ (۱۶)	NS*	
خاکستر لاشه (درصد)	۸/۶۹±۰/۶ (۱۶)	۸/۳±۰/۶ (۱۵)	۸/۶±۰/۵ (۱۶)	NS*	

\*NS: Not Significant

جدول ۲: مقایسه اندازه آدیپوسیت‌های نواحی بیضه، صفاقی و زیرپوستی در سه گروه موش‌های صحرایی دریافت کننده سطوح مختلف کلسیم بر حسب پیکسل

کلسیم غذایی	ناحیه	بیضه	صفاقی	زیرپوستی	سطح معنی‌داری
		انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	
پایین	۱۱۰۱±۲۵۶	۹۴۸±۲۶۲	۸۶۲±۲۰۰	< 0.05	
متعادل	۱۱۲۱±۲۳۵	۱۱۵۲±۲۹۸	۹۹۲±۱۷۲	< 0.05	
بالا	۱۰۸۷±۱۶۵	۱۰۵۲±۳۲۸	۹۸۰±۱۹۷	< 0.05	
سطح معنی‌داری	NS*	NS*	NS*		

\*NS: Not Significant

## بحث و نتیجه‌گیری

کلسیم بالا کسب کرده‌اند (۱۴).

تفاوت‌های آشکار در دو دسته مطالعات موافق و مخالف فرضیه تأثیر کلسیم بر مقدار چربی و وزن بدن می‌توانند توجیه کننده علل تفاوت باشند. برخی مطالعات بر موش‌های ترشح کننده آگوتی انجام شده است که دارای متابولیسم تغییر یافته هستند (۱۱ و ۱۰، ۸ - ۶). مهم‌ترین اثر شناخته شده فیزیولوژیک پروتئین آگوتی تحریک اشتها و دریافت غذا است (۲۰). از طرفی موش‌های ترشح کننده آگوتی دارای ضایعاتی هستند که باعث تغییر در متابولیسم درون سلولی کلسیم می‌شود و بنابراین آنان را مستعد بروز تغییرات شدید در مقابل تغییرات دریافت کلسیم می‌نماید (۱۰). مکانیسم پیشنهادی برای اثر آدیپوژنوسیتی رژیم کم کلسیم، تأثیر آن از راه افزایش هورمون پاراتیروئید و افزایش غلظت درون سلولی کلسیم یونیزه است (۷ - ۵). جنسن و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه برون تنی نشان دادند که غلظت کلسیم خارج سلولی بالاتر از ۲/۵ مول بر اندازه کلسیم داخل سلولی اثری ندارد، ولی تبدیل پری آدیپوسیت‌ها به آدیپوسیت‌ها را کاهش و تجمع چربی داخل سلولی را از راه مکانیسم وابسته به پروتئین جی (۸) کاهش

چاقی در نتیجه تجمع چربی در سلول‌های چربی و افزایش اندازه و تعداد آدیپوسیت‌ها ایجاد می‌شود. مطالعات انجام شده در باره اثر کلسیم بر چاقی و آدیپوژنز نتایج ضد و نقیضی را نشان داده‌اند و اغلب دارای عوامل مخدوش کننده متعددی هستند و اثرات ترکیبات لبنی را که منبع کلسیم دریافتی است مورد توجه قرار نداده‌اند (۱۵ - ۵). در این راستا این پژوهش به منظور بررسی اثر کلسیم غذایی بدون استفاده از لبنیات بر آدیپوژنز و اندازه سلول‌های چربی طراحی و اجرا شده است.

نتایج این بررسی نشان داد که کلسیم غذایی بر اندازه چربی لاشه و اندازه سلول‌های بافت چربی تأثیر معنی‌داری ندارد. نتایج مطالعات ژانگ و توردوف (۲۰۰۴)<sup>(۱)</sup> و پارادیس و کاباناک (۲۰۰۵)<sup>(۲)</sup> بر موش‌های صحرایی نیز شواهدی از اثر کلسیم غذایی بر درصد چربی بدن را نشان نداد (۱۱ و ۱۰). مطالعات شای و همکاران (۲۰۰۱)<sup>(۳)</sup>، زمل و همکاران (۲۰۰۰)<sup>(۴)</sup> و سان و زمل (۲۰۰۴)<sup>(۵)</sup> بر موش‌های ترشح کننده آگوتی (۶) نشان داده است که موش‌های دریافت کننده کلسیم بالا، دارای وزن و چربی کمتری از موش‌های دریافت کننده کلسیم پایین هستند (۸ - ۶).

پاپاکستانتینو و همکاران (۲۰۰۳) نیز در بررسی اثر کلسیم بر موش‌های صحرایی نشان دادند موش‌های صحرایی گروه کم کلسیم وزن بیشتری از گروه

1-Zhang & Tordoff  
2-Paradis & Cabanac  
3-Shi et al  
4-Zemel et al  
5-Sun & Zeml  
6-Ap2 - agouti transgenic mice  
7-Jensen et al  
8- G Protein

شیرخشک بدون چربی وجود نداشت (۱۴). تأثیر آدیپوژنیک ساکاروز در مطالعات گذشته تأیید شده است و معمولاً برای القاء چاقی از رژیم پرساکاروز استفاده می‌شود (۶). یکسانی اندازه آدیپوسیت‌های نواحی مشابه و نبود تفاوت قابل ملاحظه در درصد چربی لاشه بین سه گروه با دریافت متفاوت کلسیم غذایی در مطالعه حاضر، گواه قوی بر عدم وجود تأثیر کلسیم غذایی حداقل در موش‌های صحرایی نرمال می‌باشد. همچنین در مطالعاتی که اثر کلسیم بر چربی بدن را تأیید کرده‌اند به دلیل تفاوت غلظت ساکاروز رژیم غذایی (۱۴)، یا تفاوت در سایر ترکیبات غذای مورد استفاده مانند وجود شیرخشک بدون چربی در رژیم پرکلسیم و نیز استفاده از حیوانات با متابولیسم تغییر یافته (۱۴ و ۸ - ۶) که مستعد ابتلا به سندرم متابولیک (۱۰) هستند و تنظیم کلسیم در بدن آنها مختل شده است، نتایج باید با محافظه کاری و احتیاط بیشتری تفسیر شوند.

جمع‌بندی نتایج این مطالعه و دیگر مطالعات

(۱۱ و ۱۰)، در کنار وجود عوامل مخدوش کننده قوی در مطالعات مغایر (۱۴ و ۸ - ۶)، نشان دهنده عدم تأثیر کلسیم غذایی بر اندازه چربی بدن است. بررسی اثر ترکیبات مختلف محصولات لبنی

می‌دهد. در شرایط طبیعی بدن، غلظت یون کلسیم پلاسمایی در محدوده  $2/6 - 2/3$  میلی‌مول در لیتر تنظیم می‌شود و سلول‌ها به تجهیزاتی مجهز هستند که کلسیم خارج سلولی و داخل سلولی را به دقت تنظیم می‌کنند (۱). بنابراین رسیدن غلظت کلسیم پلاسمایی به سطح بحرانی بالا به ندرت اتفاق می‌افتد. همچنین منبع کلسیم غذایی در مطالعات مذکور علاوه بر کربنات کلسیم، شیرخشک بدون چربی بوده است (۱۴ و ۸ - ۶). شیر حاوی مواد بیولوژیک متعددی است که می‌توانند بر وزن و درصد چربی بدن اثر داشته باشند. مواد فعال بیولوژیک در لبنیات شامل؛ ماکروگلیکوپپتیدها، کازئومورفین، ماکروکازئوپپتید، پپتید بازدارنده آنزیم مبدل آنژیوتانسین و اسیدلینولئیک کانژوگه همگی می‌توانند بر وزن و درصد چربی بدن اثر داشته باشند (۲۳ - ۲۱ و ۱۵، ۱۲). در این مطالعه و مطالعات ژانگ و همکاران (۲۰۰۴) و مطالعه پارادیس و کاباناک (۲۰۰۵) منبع کلسیم غذایی فقط کربنات کلسیم بود (۱۱ و ۱۰). این در حالی است که سایر ترکیبات مطالعه حاضر در سه گروه یکسان بود.

در مطالعه پاپاکنستانینو و همکاران (۲۰۰۳)

مقدار ساکاروز در رژیم کم کلسیم بسیار بیشتر از رژیم پرکلسیم و در رژیم با کلسیم بالا شیرخشک بدون چربی وجود داشت، اما در رژیم کم کلسیم

در کنار کلسیم غذایی غیرلبنی می‌تواند به روشن شدن بیشتر موضوع کمک کند.

### تقدیر و تشکر

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی تهران و اعضای محترم کمیته اخلاق پزشکی آن دانشگاه تشکر و تقدیر می‌شود. از شرکت‌های داروسازی رازک، مکمل‌سازی هشتگرد و علیرضا سرلک مدیر بازرگانی این کارخانه، سرور چاره‌دار کارشناس آزمایشگاه دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، رعنا غزنوی کارشناس ارشد گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، فروغ لطفی مسئول آزمایشگاه دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، ژاله پورالحسینی و کارکنان محترم آزمایشگاه اداره نظارت بر مواد غذایی یاسوج تشکر می‌شود. همچنین از دکتر محمود جلالی که همکاری علمی و فنی شایسته‌ای با این پژوهش داشتند تقدیر و تشکر می‌شود.



# Effects of Dietary Calcium on Body Weight, Carcass Fat Content and Adipocyte Size in Male Rats

Malekzadeh J<sup>\*</sup>,  
Keshavarz SA<sup>†</sup>,  
Siassi F<sup>‡</sup>,  
Kadkhodaei M<sup>§</sup>,  
Eshraghian MR<sup>||</sup>,  
Dorosti Motlagh AR<sup>¶</sup>,  
Aliehpoor A<sup>\*\*</sup>,  
Chamari M<sup>\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup> PhD Student of Nutrition, Department of Nutrition, Faculty Health, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

<sup>†</sup> Professor of nutrition, Department of Nutrition and Biochemistry, School of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>‡</sup> Professor of Nutrition, Department of Nutrition and Biochemistry, School of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>§</sup> Professor of Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>||</sup> Professor of Statistics, Department of Statistics and Epidemiology, School of health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>¶</sup> Assistant Professor of Nutrition, Department of Nutrition and Biochemistry, School of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>\*\*</sup> Assistant of Pathology, Department of Pathology, Shariaati Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>\*\*\*</sup> Student of MSc in Nutrition, Department of Nutrition and Biochemistry, School of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**KEYWORDS:**  
Dietary Calcium,  
Obesity,  
Adipocyte  
Male Rat

Received: 15/2/1385

Accepted: 4/5/1385

Corresponding author: Keshavarz SA  
Email:s.akeshavarz@yahoo.com

## ABSTRACT:

**Introduction & Objective:** Calcium is a micronutrient and now receiving much attention for its doubtful effects on weight and body fatness. A few mechanisms has been suggested for calcium effects on body fatness and the most emphasized one is the reducing of lipolysis and increasing lipogenesis via reducing parathyroid hormone levels. The present study is designed to evaluate the effects of nondairy dietary calcium on adipogenesis and adipocyte size in male Sprague dawley rats.

**Materials & Methods:** This experimental study was done from November to September of 2005 at Tehran school of health, nutrition department. 48 male Spragu-Dawley rats from Damgostar Company were used in three randomly selected groups. The rats were fed low (0.2% W/W), usual (0.5% W/W) and high (1.2% W/W) dietary calcium based on AIN-93M purified diet. Rats were housed in 12 hours light-dark cycle, 22-25°C room temperature with free access to their respective diets. At the end of the experiment, rats were decapitated and carcass fat content, carcass ash content and mean adipocyte size in testis, peritoneal and subcutaneous fat pads were compared in three groups. The SPSS 11.5 was used as statistical software, running analysis of variance for comparing the effects.

**Results:** weight gain, carcass fat content and adipocyte size, in groups were not significantly different, while serum parathyroid hormone concentrations in high calcium group was significantly lower than low calcium group ( $p < 0.05$ ) and insignificantly lower than usual calcium group [12.36, 23.57 and 42.2 pg/dl respectively]. Serum concentrations of 25-hydroxy cholecalciferol were also insignificantly lower in high calcium group.

**Conclusion:** Our findings suggested that physiological concentration of dietary calcium is not effective on weight gain, body fatness and adipocyte size. Relatively equal fat content; beside significant difference in serum parathyroid hormone levels is against the parathyroid theory of calcium effects on body fatness. Finally we do not suggest any effect for calcium on body fatness and adipocyte size.

## REFERENCES:

1. Jensen B, Farach - Carson MC, Kenaley E, Akanbi KA. High extracellular calcium attenuates adipogenesis in 3T3 - L1 preadipocytes. *Experimental Cell Research* 2004; 301: 280 - 92.
2. Kawada T, Takahashi N, Fushiki T. Biochemical and physiological characteristics of fat cells. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 2001; 47(1): 1 - 12.
3. Frühbeck G, Gomez - Ambrosi J, Murazabal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 2001; 280: 827 - 47.
4. Michaud EJ, Mynatt RL, Miltenberger RJ, Klebig ML, Wilkinson JE, Zemel MB, et al. Role of agouti gene in obesity. *Journal of Endocrinology* 1997; 155: 207 - 9.
5. Zemel MB. Mechanisms of dairy modulation of adiposity. *Journal of Nutrition* 2003; 133: 252 - 6.
6. Shi H, Dirienzo D, Zemel MB. Effects of dietary calcium on adipocyte lipid metabolism and body weight regulation in energy - restricted ap2 - agouti transgenic mice. *FASEB Journal* 2001; 15: 291 - 3.
7. Zemel MB, Shi H, Greer B, Dirienzo D, Zemel PC. Regulation of adiposity by dietary calcium. *FASEB Journal* 2000; 14: 1132 - 8.
8. Sun X, Zemel MB. Calcium and dairy products inhibit weight and fat regain during ad libitum consumption following energy restriction in AP2 - Agouti transgenic mice. *Journal of Nutrition* 2004; 134: 3054 - 60.
9. Lemonnier D. Effect of age, sex, and site on cellularity of adipose tissue in mice and rats rendered obese by high fat diet. *The Journal of Clinical Investigation* 1972; 51: 2907 - 15.
10. Zhang Q, Tordoff MG. No effects of dietary calcium on body weight of lean and obese mice and rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286: 669 - 77.
11. Paradis S, Cabanac M. Calcium deficiency cannot induce obesity in rats. *Physiology and Behavior* 2005; 85: 259 - 64.
12. Sakhaee Kh, Malouf NM. Dietary calcium, obesity and hypertension - The end of the road. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005; 90(7): 4411 - 3.
13. Boon N, Hul GB, Viguerie N, Sicard A, Langin D, Sris WH. Effects of 3 diets with various calcium contents on 24 - h energy expenditure, fat oxidation, and adipose tissue message RNA expression of lipid metabolism - related proteins. *American Journal of Clinical Nutrition* 2005; 82: 1244 - 52.
14. Papakonstantinou E, Flatt WP, Huth PJ, Hrris R. High dietary calcium reduces body fat content, digestibility of fat, and serum vitamin D in rats. *Obesity Research* 2003; 11(3): 387 - 94.
15. Teegarden D, Zemel MB. Dairy product components and weight regulation: Symposium overview. *Journal of Nutrition* 2003; 133: 243 - 4.
16. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN - 93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American institute of nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN - 76A rodent diet. *Journal of Nutrition* 1993; 123: 1939 - 51.
17. Brooks SPJ, Lampi BJ, Sarwar G, Botting HG. A comparison of methods for determining total body protein. *Analytical Biochemistry* 1995; 226: 26 - 30.
18. Brooks SPJ, Ratnayake WMN, Lampi BJ, Hollywood R. Measuring total lipid content in rat carcasses: A comparison of commonly employed extraction methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1998; 46(10): 4214 - 7.
19. Chen HC, Farese RV. Determination of adipocyte size by computer image analysis. *Journal of Lipid Research* 2002; 43: 986 - 9.
20. Stütz AM, Morrison CD, Argyropoulos G. The Agouti - related protein and its role in energy homeostasis. *Peptides* 2005; 26: 1771 - 81.
21. Dunshea FR. Use of the pig and obese minipig in nutritional and obesity research. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 2005; 14suppl 1: S31.
22. Anderson GH, Moore SE. Dietary proteins in the regulation of food intake and body weight in humans. *Journal of Nutrition* 2004; 134: 974 - 9.
23. Teegarden D. The influence of dairy product consumption on body composition. *Journal of Nutrition* 2005; 135: 2749 - 52.

Archive of SID