مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۵، دوره ۷۱، شماره ۴، ۴۱۵-۴۲۲
Journal of Veterinary Research. 71,4:415-422, 2016
Original Article

اثر مکمل چربی امگا-۳ و تعداد دفعات خوراک بر متابولیسم گلوکز و انسولین در بزغاله‌های مهابادی

سارا عطایی نظری[۱] مهدی گنج خانلو[۲*] ابوالفضل زالی[۲] منوچهر امینی[۳]

۱) گروه تغذیه دام، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۲) گروه علوم دام، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۳) دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۳۰ تیر ماه ۱۳۹۵، پذیرش نهایی: ۳ مهر ماه ۱۳۹۵)

چکیده

زمینه مطالعه: تحقیقات گذشته نشان داده امگا-۳ و سطوح بالا مصرف خوراک تأثیر مثبت بر حساسیت به انسولین در بافت‌ها داشته است. **هدف:** این مطالعه به منظور بررسی اثر مکمل چربی امگا-۳ بر متابولیسم گلوکز و انسولین در بزغاله‌های مهابادی انجام شد. **روش کار:** تعداد ۲۸ راس بزغاله مهابادی (۳ تا ۴ ماهه با میانگین وزن اولیه ۵ kg ±۱۷) در قالب طرح فاکتوریل با ۴ تیمار مورد استفاده قرار گرفتند. جیره پایه یکسان بود و بزغاله‌ها با ۴ تیمار، ۱) اشباع دو بار در روز، ۲) اشباع چهار بار در روز، ۳) دو در صد مکمل امگا-۳ دو بار در روز، ۴) دو درصد مکمل امگا-۳ چهار بار در روز ، به صورت انفرادی به مدت ۹۰ روز تغذیه شدند. در روز ۷۰ تست تحمل گلوکز وریدی بعد ۲۰ ساعت محرومیت غذایی انجام شد. نمونه‌گیری از خون در زمان‌های ۱۵-، ۱۰-، ۵-، ۵، ۱۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ انجام شد و داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شدند. **نتایج:** در این آزمایش مکمل امگا-۳ بر روی نرخ زدودگی گلوکز(CR) اثر معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵). از طرفی افزایش تعداد دفعات خوراک اثر معنی‌داری بر روی نرخ زدودگی گلوکز (CR) و زمان رسیدن به نصف غلظت حداکثر گلوکزداشت (p<۰/۰۵). افزایش تعداد دفعات خوراک باعث معنی‌دار شدن پاسخ به انسولین گردید (p<۰/۰۵). **نتیجه‌گیری نهایی:** این آزمایش نشان می‌دهد که مصرف مکمل امگا-۳ در سطح تغذیه‌ای بالا باعث بهبود وضعیت متابولیسم گلوکز و انسولین می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: امگا-۳، بزغاله مهابادی، تعداد دفعات خوراک، حساسیت به انسولین ، نرخ زدودگی گلوکز

مقدمه

اسیدهای چرب(FA) مواد ضروری در تمام سلول‌ها هستند و نقش مهمی را به عنوان منبع انرژی در اجزای ساختار سلولی دارند. این اسیدهای چرب در مقادیر قابل توجهی در روغن ماهی، پودر ماهی و برخی محصولات دریایی یافت می‌شود (۱۴). بطوریکه تحقیقات نشان می‌دهد در نشخوارکنندگان حتی زمانی که روغن ماهی محافظت شده نباشد بیوهیدروژناسیون DHA و EPA حداقل باشد (۱،۶). از دلایل دیگر ضرورت استفاده از روغن ماهی، مطالعات اپیدمیولوژیک، شیوع پایین‌تری از اختلال در تحمل گلوکز و دیابت نوع ۲ در جمعیت‌های با مصرف مقادیر بالای از منابع روغن ماهی (امگا-۳) گزارش کرده‌اند (۲۰). تجمع چربی، باعث کاهش انسولین و افزایش خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ می‌گردد (۲۳). Najafi و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند با جایگزینی مکمل چربی در جیره احتمالاً پروپیونیک اسید که می‌تواند باعث افزایش سنتز گلوکز کبد و ترشح انسولین از پانکراس گردد کاهش می‌یابد. Kalupahana و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش کردند امگا-۳ ممکن است مقاومت به انسولین را از طریق تعدادی از عوامل دیگر، از جمله کاهش در گردش TG و کاهش ذرات VLDL کاهش دهد و از طرفی باعث افزایش سیالیت غشایی و انتقال سیگنال می‌شود. علاوه بر این، چربی‌های اشباع نشده مانند امگا-۳ در مقایسه با چربی‌های اشباع شده، اثرات مفید در حساسیت به انسولین دارند (۹،۱۷). Udum و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند نشخوارکنندگان به انسولین نسبتاً غیر حساس می‌باشند بعبارتی مقاوم به انسولین هستند. سازوکار ایجاد مقاومت به انسولین در نشخوارکنندگان چندان روشن نیست، ولی تحقیقات نشان داده‌اند که مقاومت به انسولین با افزایش هورمون رشد ارتباط نزدیکی داشته باشد (۱۲). اثر هورمون رشد بر بافت چربی برای بسیج چربی های ذخیره ای، تشدید می‌شود. بدین ترتیب، هورمون رشد آزادسازی چربی‌ها را از بافت‌های چربی تحریک میکند. و به دلیل اینکه غلظت انسولین (هورمون مهارکننده آزادسازی چربی‌ها) کم است، پی درپی NEFA و BHBA افزایش می‌یابند (۱۲). افزایش NEFA می‌تواند منجر به مقاومت به انسولین شود. علاوه بر این‌ها، امگا-۳ (PUFA) می‌تواند استفاده از گلوکز را کاهش دهد و یا ممکن است گلوکونئوژنز کبدی را افزایش دهد. دیگر فاکتور مورد بررسی بر مقاومت سلولی به انسولین افزایش تعداد دفعات خوراک می‌باشد بطوری که تحقیقات نشان داده افزایش تعداد دفعات خوراک موجب بهبود بازده بیوانرژیتیک، ابقا نیتروژن و کاهش ذخیره چربی بدن و لاشه می‌شود (۲۲). مصرف خوراک در دفعات کم، ذخیره سازی چربی و تجزیه آن را زیاد کرده و در نتیجه بازده ذخیره سازی انرژی کم می‌شود (۲۳). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که تغذیه گاوهای شیری برای شش بار در روز در مقایسه با دو بار مصرف ماده خشک روزانه، مصرف پروتئین خام و pH شکمبه را افزایش می‌دهد. در حالی که نسبت پروپیونات

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۶-۳۲۲۴۸۰۸۲، نمابر: ۰۲۶-۳۲۲۴۶۷۵۲ Email: ganjkhanlou@ut.ac.ir

به استات شکمبه کم می‌شود (۱۸،۱۹). علاوه بر این، سطح انسولین پلاسما نیز کاهش می‌یابد (۱۸). Sutton و همکاران در سال ۱۹۸۶ در آزمایشی بر روی گاوهای شیرده با افزایش دفعات خوراک‌دهی، شاهد کاهش میانگین غلظت انسولین و گلوکاگون بودند. در نتیجه در صورت افزایش دفعات خوراک، سطح گلوکز خون افزایش می‌یابد که با توجه به نقش مهم انسولین در لیپوژنز، علاوه بر چاق شدن، خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ در حیوان افزایش پیدا می‌کند که به نظر می‌رسد به دنبال افزایش تعداد دفعات خوراک‌دهی، سطح انسولین پلاسما کاهش یافته و ذخیره چربی در بدن کم شود. لذا به نظر می‌رسد افزایش تعداد دفعات خوراک و استفاده از منابع چربی بتواند مقاومت سلول ها به انسولین و وضعیت حساسیت به انسولین و در نهایت متابولیسم گلوکز را در بدن بهبود دهد در نتیجه برای بررسی دقیق‌تر این مسئله، موضوع حاضر طراحی شده است.

مواد و روش کار

این مطالعه به مدت ۱۰۰ روز (۱۰ روز عادت‌دهی و ۹۰ روز دوره پرواربندی) با تعداد ۲۸ راس بزغاله مهابادی ۳ تا ۴ ماهه و با میانگین وزن اولیه ۱۷±۵ kg انجام گرفت. بزغاله‌های مورد آزمایش بطور تصادفی در جایگاه‌های انفرادی که به آب و خوراک دسترسی داشتند، نگهداری شدند. در ابتدای دوره پروار ویتامین B کمپلکس (۲cc)، ویتامین AD۳E ۳cc تزریق و شربت آلبندازول جهت جلوگیری از بروز عفونت انگلی به بزغاله‌ها خورانده و مایه کوبی علیه آنتروتوکسمی انجام گرفت. آزمایش شامل ۴ تیمار با سطوح مختلف مکمل امگا-۳ (روغن ماهی از منبع داخلی، کلسیمی شده و تهیه شده از شرکت کیمیا دانش الوند استفاده گردید) و اشباع و تعداد دفعات خوراک با یک جیره پایه بود: سطح ۱) اشباع و دو بار در روز، سطح ۲) اشباع و چهار بار در روز، سطح ۳) دو درصد مکمل امگا-۳ و دو بار در روز، سطح ۴) دو درصد مکمل امگا-۳ و چهار بار در روز به ازای هر دام در روز. جیره پایه بزغاله‌ها برای حداکثر رشد و تأمین احتیاجات غذایی توصیه شده توسط انجمن ملی تحقیقات آمریکا (NRC ۲۰۰۷) تنظیم گردید (جدول۱) و به صورت خوراک کاملاً مخلوط (TMR) در حد اشتها در دو نوبت (تیمار ۱ و ۳) (در ساعت ۸:۰۰ و در ساعت ۱۶:۰۰) و در چهار نوبت (تیمار ۲ و۴) (در ساعت ۸:۰۰، ۱۲:۰۰، ۱۶:۰۰ و در ساعت ۲۰:۰۰) در اختیار بزغاله‌ها قرار می‌گرفت.

جمع آوری نمونه: تست تحمل گلوکز وریدی (IVGTT) در روز ۷۰ آزمایش در۴ بزغاله از هر تیمار صورت گرفت. بزغاله‌ها با کاتتر وریدی ژوگولار استریل برازش شدند و کاتتر به پوست آن‌ها بخیه شد. خوراک در ساعت ۱۲ ظهر از آخور جمع آوری گردید و در ساعت ۸ صبح روز بعد، بزغاله‌ها بعد از ۲۰ ساعت محرومیت غذایی ابتدا وزن کشی شدند و بعد از جمع آوری نمونه‌های خونی قبل از تزریق گلوکز یک دوز بولوس داخل وریدی گلوکز (۵۰۰ mg گلوکز به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) تزریق شد(۱۱). نمونه‌های خونی در۱۵-، ۱۰-، ۵-، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۱۲۰و ۱۸۰ دقیقه بعد از تزریق در لوله‌های حاوی خلاء حاوی هپارین جمع‌آوری شد و بلافاصله در حمام یخ قرار داده شد و سانتریفوژ به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت. پس از اندازه گیری گلوکز در خون داده های مربوط به آن در نرم افزار SAS ۹/۱ مورد بررسی قرار گرفت. از رویه NLIN برای برازش منحنی‌های گلوکز در مدت ۶۰ دقیقه تست تحمل گلوکز و برای غلظت انسولین در ۳۰ دقیقه اول با استفاده از فرمول زیر استفاده شد(۱۶):

$$F(t) = A \times e^{(-k \times t)}$$

در این معادله F(t) غلظت متابولیت در زمان t می باشد. A بیشترین مقدار گلوکز ویا بیشترین مقدار انسولین می باشد. K هم ضریب تابعیت را تشکیل می دهد. هر دو برآورد A و K محاسبه خواهد شد. پارامترهای زیر براساس داده‌های فیت شده محاسبه شدند.

نرخ زدودگی که مشخص کننده سرعت پاک شدن از خون است به صورت زیر محاسبه می‌شود(۱۶):

$$\text{clearance rate (CR; \%/min)} = \{(\ln[ta] - \ln[tb])/(tb - ta)\} \times ۱۰۰$$

نیمه عمر یا زمان رسیدن به نصف حداکثر غلظت از فرمول زیر محاسبه می گردد(۱۶):

$$(T۲/۱; \text{min}) = \{[\ln(۲)]/CR\} \times ۱۰۰)$$

زمان رسیدن به غلظت پایه:

$$(T\text{basal}; \text{min}) = \{(\ln[ta] - \ln[tb])/CR\} \times ۱۰۰$$

در معادلات بالا [ta] غلظت متابولیت در زمان (ta) و [tb] غلظت متابولیت‌ها در زمان (tb) می‌باشد. مساحت زیر منحنی از گلوکز و انسولین با (AUC) نشان داده می شود. پس از رسم منحنی گلوکز و انسولین این شاخص با استفاده از مساحت ذوزنقه و جمع مقادیر ۶۰ دقیقه اول (AUC۶۰) محاسبه شد. مقدار گلوکز و انسولین پایه بر اساس مقادیر زمان‌های ۱۵- و ۵- محاسبه شد. بیشترین مقدار گلوکز بر اساس مقادیر اولین خون‌گیری پس از تزریق در نظر گرفته شد یعنی مقادیر گلوکز در دقیقه ۱۰+.

آنالیز نمونه‌ها: نمونه‌های پلاسما ذخیره شده با استفاده از کیت‌های تجاری (شرکت پارس آزمون، ایران) و اسپکتروفتومتر اتوماتیک(Clima به علاوه، RAL، مادرید، اسپانیا) برای گلوکز و انسولین توسط آنزیم روش Immuno-(ELISA plate reader Eon-Biotek, USA) روش استفاده از کیت تجاری (Tabeshyare شرکت نور، تهران، ایران) مورد سنجش قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری: داده ها با طرح تصادفی با استفاده از مدل خطی عمومی (GLM) روش SAS نسخه. ۹/۱ تجزیه و تحلیل شد. اندازه گیری‌های مکرر از GLM برای داده‌ها (گلوکز و انسولین پلاسما در طول IVGTT وIC) که در رابطه با زمان ساخته شده بودند استفاده شد. حداقل مربعات محاسبه شد و برای تفاوت‌ها آزمون LSM مورد آزمایش قرار

گرفت. تفاوت‌های بین تیمارها در سطح $p \geq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

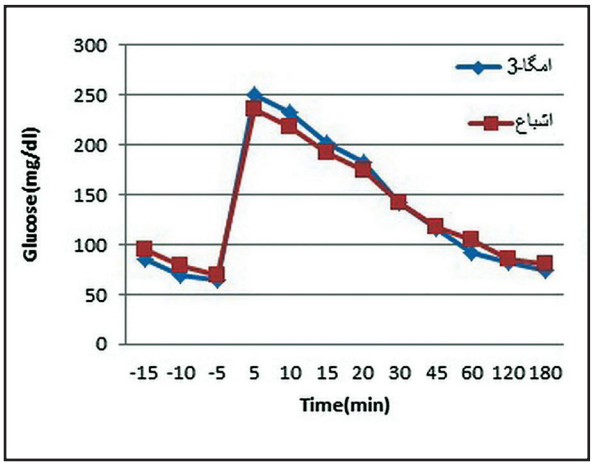
نتایج

غلظت قند و انسولین در طول IVGTT: تجزیه آماری نشان داد که غلظت گلوکز پایه قبل از IVGTT در تیمارهایی که امگا-۳ دریافت می‌کردند نسبت به تیمارهایی که مکمل امگا-۳ دریافت نمی‌کردند تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$) (تصویر۱). نرخ زودگی گلوکز توسط مکمل امگا-۳ بهبود یافت و منجر به نرخ زودگی بالاتر و منجر به زمان کوتاه‌تر برای رسیدن به نصف حداکثر غلظت گلوکز و زمان برای رسیدن به سطح پایه گردید (تصویر ۱، جدول ۲). بعبارتی پاسخ‌دهی به انسولین تا دقیقه ۶۰ و ۱۸۰ دقیقه بعد از نمونه‌گیری اندازه‌گیری شد و مشاهده گردید در تیمارهایی که مکمل امگا-۳ دریافت می‌کردند وضعیت پاسخ‌دهی به انسولین نسبت به تیمارهایی که مکمل امگا-۳ دریافت نمی‌کردند بهبود یافته بود هر چند اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$) (جدول۲).

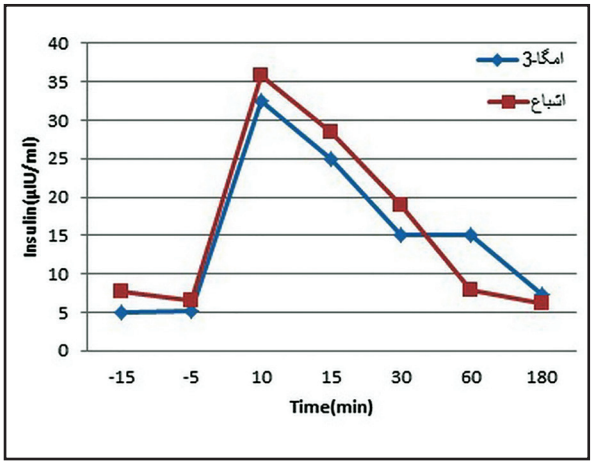
غلظت انسولین در طول IC: غلظت انسولین پایه برای تیمارهایی که امگا-۳ دریافت می‌کردند نسبت به تیمارهایی که مکمل دریافت نمی‌کردند کمتر بود هر چند تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$) (جدول۳، تصویر۲) پس از تزریق گلوکز برای IVGTT، غلظت انسولین (از منشاء داخلی) به بالاترین اوج خود رسید. نرخ زودگی انسولین توسط مکمل امگا-۳ بهبود یافت و منجر به نرخ زودگی بالاتر گردید هر چند تفاوت معنی‌دار در نرخ زودگی انسولین در طول IC وجود ندارد، از طرفی مشاهده گردید زمان رسیدن به نصف حداکثر غلظت و زمان رسیدن به سطح پایه کوتاه‌تر گردید.

غلظت قند و انسولین در طول IVGTT تحت تأثیر تعداد دفعات خوراک: تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که غلظت گلوکز پایه با افزایش تعداد دفعات خوراک (۴ مرتبه در روز) نسب به (۲مرتبه در روز) بهبود حاصل کرد. در داخل تیمارها، تیمارهایی که چهارنوبت خوراک در روز دریافت می‌کردند نسبت به تیمارهایی که دو مرتبه در روز خوراک مصرف می‌کردند وضعیت گلوکز پایه بهبود پیدا کرده بود (امگا-۳، ۶۷/۹۸ در مقابل ۷۰/۵۶ و اشباع ۷۲/۳۰ در مقابل ۷۳/۴۵) هر چند اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). نرخ زودگی در تیمارهایی که تعداد خوراک در دفعات بالا دریافت می‌کردند افزایش پیدا کرد و اختلاف معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$) و زمان رسیدن به نصف حداکثر غلظت انسولین و رسیدن به سطح پایه کوتاه‌تر گردید ($p<۰/۰۵$). همچنین پاسخ به انسولین در تیمارهایی که تعداد دفعات بالای خوراک را دریافت می‌کردند بهبود گردید و تفاوت معنی‌دار در AUC تا دقیقه ۱۸۰ از نمونه‌گیری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) (جدول۴، تصویر ۳).

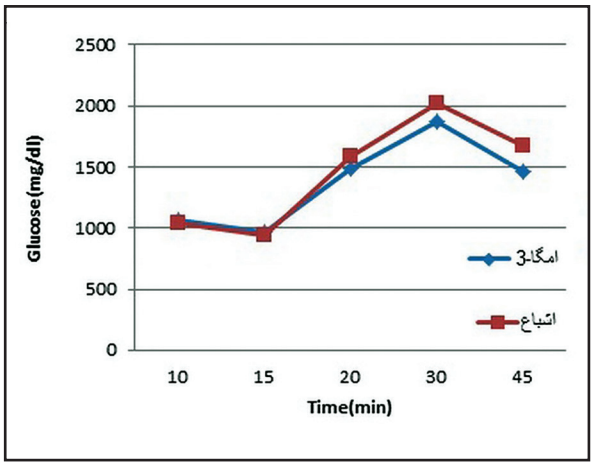
غلظت انسولین پایه با افزایش تعداد دفعات خوراک (۴ مرتبه در در روز) نسبت به (۲مرتبه در روز) بهبود حاصل کرد (جدول۵). نرخ زودگی در



تصویر ۱. غلظت گلوکز پایه.



تصویر ۱. غلظت پایه انسولین.



تصویر ۱. وضعیت پاسخ‌دهی به انسولین در۶۰ دقیقه اول نمونه گیری.

تیمارهایی که تعداد خوراک در دفعات بالا دریافت می‌کردند افزایش پیدا کرد ($p<۰/۰۵$) و زمان برای نیمه عمر یا زمان رسیدن به نصف حداکثر غلظت انسولین و برای رسیدن به سطح پایه کوتاه‌تر گردید ($p<۰/۰۵$). همچنین تعداد دفعات بالا خوراک باعث بهبود پاسخ به انسولین گردید و تفاوت معنی‌دار در AUC تا ۱۸۰ دقیقه از نمونه‌گیری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).

جدول.۱ اقلام جیره.

ترکیبات	در صد
یونجه	۱۴/۳۴
ذرت سیلو شده	۱۳/۰۳
کاه گندم	۲/۶۱
جو	۵۲/۱۴
ذرت	۳/۹۱
سبوس گندم	۱/۹۶
سبوس برنج	۱/۹۶
کنجاله سویا	۳
کنجاله کانولا	۲/۳۵
چربی	۱/۸۲
کربنات کلسیم	۱
مکمل ویتامینی-معدنی	۱
بیکربنات سدیم	۰/۵۰
نمک	۰/۳۹

بحث

Bossaert و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند سطوح گلوکز خون در دقایق مختلف خونگیری تست IVGTT متاثر از گلوکز تزریقی، گلوکز تولیدی از منشا درونی، گلوکز جذب شده از روده، دفع گلوکز کلیوی و جذب گلوکز توسط بافت‌های حساس به انسولین (بافت ماهیچه اسکلتی و آدیپوز) می باشد (۳). میزان اینفیوژن گلوکز بر مبنای مقالات مقدار mg ۵۰۰ گلوکز به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با اعمال محرومیت ۲۰ ساعتی از خوراک استفاده شد (۱۱،۱۶) و از آنجایی که حدوداً تا ۲ساعت پس از ارائه گلوکز، سطح آن در خون بایستی به سطح اولیه رسیده باشد، بنابراین تست تا دقیقه ۱۸۰ ادامه یافت (۱۶). De koster و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند هرچه زمان بیشتری طول بکشد تا میزان گلوکز خون به حد طبیعی خود برگردد، بافت های بدن حالتی مقاوم به انسولین دارند . بنابراین در حالت مقاومت به انسولین انتظار می رود نرخ زدودگی پایین، سطح زیر منحنی گلوکز زیاد و زمان رسیدن به نصف حداکثر غلظت گلوکز یا زمان رسیدن به غلظت پایه گلوکز بیشتر باشد (۷). با در نظر گرفتن این شاخص‌ها به نظر می رسد که حالتی از مقاومت به انسولین در بزهایی که تیمار اشباع مصرف کرده بودند ایجاد شده است. هر چند از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین تیمار امگا-۳ و اشباع مشاهده نشد ولی نتایج حاکی از آن می‌باشد که مصرف مکمل امگا-۳ باعث بهبود مقاومت به انسولین در تیمار پودر ماهی شده است. Evans و همکاران درسال ۲۰۰۳ گزارش کردند اثر مثبت اسیدهای چرب امگا-۳ بر بهبود مقاومت به انسولین حاصل از تجزیه چربی‌های بدن بعلت تأثیر مثبت اسیدهای چرب امگا-۳ بر مسیرهای سیگنالینگ انسولین می‌باشد. همچنین نرخ زدودگی انسولین و زمان رسیدن به نصف غلظت حداکثر و زمان رسیدن به غلظت پایه در تیمار امگا-۳ نسبت به شاهد بهبود حاصل کرد. به نظر می‌رسد که اسیدهای چرب امگا-۳ می‌توانند با تأثیر بر مسیرهای سیگنالینگ سلولی انسولین اثرات ضد سنتز چربی این هورمون را تقویت کنند (۸). زیرا در حالت مقاومت به انسولین، این هورمون نمیتواند مانع لیپولیز بیش از حد بافت چربی شود. در نتیجه با افزایش تجزیه منابع چربی، سطوح NEFA بالا رفته و وضعیت کاهش پاسخ و حساسیت به انسولین رخ می دهد. از طرفی توانایی انسولین در سرکوب آزادسازی اسیدهای چرب از سلول‌های آدیپوز می‌تواند در حالت مقاومت به انسولین کاهش یابد. این بدین معناست که در ابتدا افزایش NEFA حالت مقاوت به انسولین را ایجاد کرده و سپس با پیشرفت مقاومت به انسولین اسیدهای چرب بیشتری آزاد شده و حتی ممکن است ترشح انسولین هم دچار اختلال شود و با اندازه‌گیری غلظت انسولین در طول IC مشاهده گردید که مصرف مکمل امگا-۳باعث بهبود وضعیت انسولین پایه در تیمارهایی که پودر ماهی در یافت می‌کردند شده است. بنابراین نقش NEFA در ایجاد مقاومت به انسولین بسیار پر رنگ است. اگرچه دراین آزمایش انجام شده سطوح NEFA قبل و در هنگام انجام تست تحمل اندازه‌گیری نشد اما به نظر می‌رسد اعمال چند ساعت محرومیت غذایی توانسته باشد تجزیه بافت چربی را تحریک و NEFA خون را افزایش دهد و بنابراین مقاومت به انسولین ایجاد شود. در این آزمایش سعی شد تا اثرات اسیدهای چرب امگا-۳ از منابع ماهی به عنوان محرک حساسیت انسولین بررسی شوند. Clarke در سال ۲۰۰۰ گزارش کرد پروفایل اسیدهای چرب جیره می توانند تعدیل کننده پاسخ کل بدن به انسولین باشند، به ویژه اسیدهای چرب امگا-۳ بلند زنجیر (منشا روغن ماهی) می تواند از توسعه مقاومت به انسولین در انسان و جوندگان ممانعت کند (۵). Mashek و همکاران در سال ۲۰۰۵مشخص کردند که کاهش NEFA به دلیل کاهش لیپولیز بوده و ارتباطی به اکسیداسیون بیشتر کبد ندارد (۱۳). Wilcox در سال ۲۰۰۵ گزارش کردند هنگامی که انسولین عمل خود را به درستی انجام دهد و سیگنالینگ آن فعال شود، در نتیجه تغییر مکان مولکول‌های GLUT۴ اتفاق افتاده و جذب گلوکز بهتر شده و سریع تر از خون پاک می‌شود. البته می‌توان این فرضیه را ارائه داد که افزایش حساسیت به انسولین در تیمار ماهی نسبت به اشباع می‌تواند مستقل از تأثیر آن روی NEFA باشد (یعنی مستقل از اثرات انسولین روی باشد)(۲). برای مثال Bergman و همکاران در سال ۱۹۸۹مشخص کردند که، در گوسفندان چاق علی رغم سطح برابر NEFA با گوسفندان لاغر حساسیت به انسولین کاهش یافت. به طوری که مشخص شده است که اسیدهای چرب امگا-۳ می‌توانند اثرات ضد التهابی داشته باشند و به کمک گیرنده‌های سطح سلول، مستقل از گیرنده انسولین باعث تغییر مکان مولکول های GLUT-۴ شده و به این طریق گلوکز را سریع‌تر از خون پاک کنند(۲۲). Annison در سال ۱۹۶۱ گزارش کردند که غلظت قند خون در نشخوارکنندگان بطور قابل توجهی کمتر از غیر نشخوارکنندگان می‌باشد (۲۶). Bergman در

جدول۲. اثر تزریق گلوکز بر پاسخ گلوکز در طول تست تحمل گلوکز(IVGTT).

فاکتورها	تیمار				SEM	p- value
	۱ (۲مرتبه اشباع)	۲ (۴مرتبه اشباع)	۳ (۲مرتبه ماهی)	۴ (۴مرتبه ماهی)		
BG (mg/dl)	۷۳/۴۵	۷۲/۳۰	۷۰/۵۶	۶۷/۹۸	۳/۳۷	۰/۸۳
CR۶۰ (٪/min)	۱/۶۴ c	۱/۶۶ c	۱/۹۱ b	۲/۱۰ a	۰/۰۴	۰/۰۵
T۲/۱ (min)	۴۲/۴۱	۴۱/۷۳	۳۶/۳۳	۳۳/۹۲	۱/۰۲	۰/۱۸
Tbasal (min)	۷۲/۲۲	۶۳/۱۰	۶۰/۸۴	۵۷/۶۴	۴/۷۷	۰/۵۴
AUC۶۰ (mg/dl)	۷۶۴۵/۷۵	۷۳۰۲/۵۴	۷۲۷۱/۴۳	۷۰۴۱/۶۷	۲۰۸/۶۴	۰/۷۹
AUC۱۸۰ (mg/dl)	۷۴۴۲/۱۰	۷۹۷۵/۱۲	۷۱۷۲/۹۳	۷۴۳۶/۲۲	۱۸۵/۵۱	۰/۴۸

جدول۳. اثر تزریق گلوکز بر پاسخ انسولین در طول تست تحمل گلوکز(IVGTT).

فاکتورها	تیمار				SEM	p- value
	۱(۲مرتبه اشباع)	۲(۴مرتبه اشباع)	۳(۲مرتبه ماهی)	۴(۴مرتبه ماهی)		
BI (mg/dl)	۷/۶۴	۶/۶۶	۵/۳۲	۴/۹۵	۰/۳۴	۰/۳۸
CR۳۰ (٪/min)	۳/۲۷	۳/۳۱	۳/۷۹	۳/۹۰	۰/۲۶	۰/۸۹
T۱/۲ (min)	۲۲/۹۲	۲۱/۱۸	۱۸/۳۴	۱۸/۰۴	۱/۶۶	۰/۶۸
Tbasal (min)	۵۵/۱۵	۴۸/۹۸	۴۵/۱۳	۴۴/۴۳	۶/۴۴	۰/۶۰
AUC۶۰ (mg/dl)	۴۵۶/۶	۴۴۵/۸۶	۴۱۹/۳۱	۴۱۶/۲۳	۴۹/۱۲	۰/۷۰
AUC۱۸۰ (mg/dl)	۴۳۷/۱۲	۴۴۳/۲۲	۴۶۰/۳۳	۴۶۹/۰۵	۱۰/۶۶	۰/۸۹

جدول۴. اثر تزریق گلوکز بر پاسخ گلوکز، تحت تعداد دفعات خوراک در طول تست تحمل گلوکز (IVGTT).

فاکتورها	تیمار		p- value	تیمار		SEM	p- value
	۱ (۲مرتبه اشباع)	۲ (۴مرتبه اشباع)		۳ (۲مرتبه ماهی)	۴ (۴مرتبه ماهی)		
BG (mg/dl)	۷۳/۴۵	۷۲/۳۰	۰/۵۹	۷۰/۵۶	۶۷/۹۸	۰/۳۰	۲/۳۸
CR۶۰ (٪/min)	۱/۶۴	۱/۶۶	۰/۰۲	۱/۹۱	۲/۱۰	<۰/۰۰۱	۰/۰۳
T۱/۲ (min)	۴۲/۴۱	۴۱/۷۳	۰/۰۵	۳۶/۳۳	۳۳/۹۲	<۰/۰۰۱	۰/۶۳
Tbasal (min)	۷۲/۲۲	۶۳/۱۰	۰/۲۲	۶۰/۸۴	۵۷/۶۴	۰/۱۰	۳/۳۷
AUC۶۰ (mg/dl)	۷۶۴۵/۷۵	۷۳۰۲/۵۴	۰/۱۹	۷۲۷۱/۴۳	۷۰۴۱/۶۷	۰/۱۵	۱۴۷/۵۳
AUC۱۸۰ (mg/dl)	۷۴۴۲/۱۰	۷۹۷۵/۱۲	۰/۰۵	۷۱۷۲/۹۳	۷۴۳۶/۲۲	۰/۰۵	۱۳۱/۱۷

جدول۵. اثر تزریق گلوکز بر پاسخ انسولین، تحت تعداد دفعات خوراک در طول تست تحمل گلوکز(IVGTT).

فاکتورها	تیمار		p- value	تیمار		SEM	p- value
	۱ (۲مرتبه اشباع)	۲ (۴مرتبه اشباع)		۳ (۲مرتبه ماهی)	۴ (۴مرتبه ماهی)		
BI (mg/dl)	۷/۶۴	۶/۶۶	۰/۰۷	۵/۳۲	۴/۹۵	<۰/۰۰۱	۰/۲۴
CR۳۰ (٪/min)	۳/۲۷	۳/۳۱	۰/۷۸	۳/۷۹	۳/۹۰	۰/۰۵	۰/۱۸
T۱/۲ (min)	۲۲/۹۲	۲۱/۱۸	۰/۵۶	۱۸/۳۴	۱۸/۰۴	۰/۴	۱/۱۷
Tbasal (min)	۵۵/۱۵	۴۸/۹۸	۰/۲۸	۴۵/۱۳	۴۴/۴۳	۰/۶۷	۴/۵۵
AUC۶۰ (mg/dl)	۴۵۶/۶	۴۴۵/۸۶	۰/۴۸	۴۱۹/۳۱	۴۱۶/۲۳	۰/۰۴	۳۴/۷۳
AUC۱۸۰ (mg/dl)	۴۳۷/۱۲	۴۴۳ /۲۲	۰/۴	۴۶۰/۳۳	۴۶۹/۰۵	۰/۰۳	۷/۵۳

سال ۱۹۸۹، Sano و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش کردند از آنجایی که گلوکز ماده اصلی سوخت و ساز بدن است پس انتظار می‌رود با مصرف خوراک، پروپیونات (پیش ماده عمده برای گلوکونئوژنز) در شکمبه تولید و پس از تغذیه جذب شود. علاوه بر این، ترشح انسولین به سرعت با مصرف خوراک افزایش می‌یابد. Udum و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند در صورت افزایش سطح خوراک، سطح گلوکز خون افزایش می‌یابد که با توجه به نقش مهم انسولین در لیپوژنز، علاوه بر چاق شدن، خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ در حیوان افزایش پیدا می‌کند. به نظر می‌رسد به دنبال افزایش تعداد دفعات خوراک‌دهی، سطح انسولین پلاسما کاهش یافته و ذخیره چربی در بدن کم شود (۲۵). از طرفی هر چند غلظت گلوکز پلاسما بین حیوانات متفاوت نبود اما سطح آن در حیوانات دو بار تغذیه کمتر از گروه‌های دیگر می باشد (۲۱) و همین طور که مشاهده گردید با افزایش

تعداد دفعات خوراک هم در تیمار مکمل امگا-۳ و هم تیمار اشباع بهبود در غلظت پایه‌ای گلوکز و انسولین، نرخ زودودگی و زمان T۱/۲ و پایه و بطور کلی میزان پاسخ‌دهی به انسولین مشاهده گردید.

نتیجه گیری: در حالت مقاومت به انسولین انتظار می رود نرخ زدودگی پایین، سطح زیر منحنی گلوکز زیاد و زمان رسیدن به نصف حداکثر غلظت گلوکز یا زمان رسیدن به غلظت پایه گلوکز بیشتر باشد (۷). با در نظر گرفتن این شاخص‌ها به نظر می رسد که حالتی از مقاومت به انسولین در بزهایی که تیمار اشباع مصرف کرده بودند ایجاد شده است. لذا به نظر می‌رسد افزایش تعداد دفعات خوراک و استفاده از مکمل چربی امگا-۳ بتواند وضعیت متابولیسم گلوکز را در بدن بهبود دهد.

تشکروقدردانی

از کلیه همکاران ایستگاه آموزشی-پژوهشی و آزمایشگاه تغذیه دام گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و همچنین شرکت کیمیا دانش الوند که در اجرای این تحقیق همکاری کردند تشکر می‌گردد.

References

1. Ashes, J.R., Siebert, B.D., Gulati, S.K., Cuthbertson, A.Z., Scott, T.W. (1992) Incorporation of n− 3 fatty acids of fish oil into tissue and serum lipids of ruminants. Lipids Sci. 27: 629-631.
2. Bergman, E., Reulein, S., Corlett, R. (1989) Effects of obesity on insulin sensitivity and responsiveness in sheep. Am J Physiol. 257: E772-E781.
3. Bossaert, P., Leroy, J., Campeneere, D.S., Vliegher, D.S., opsomer, G. (2009) Differences in the glucose-induced insulin response and the peripheral insulin responsiveness between neonatal calves of the Belgian Blue, Holstein-Friesian, and East Flemish breeds. J Dairy Sci. 92: 4404-4411.
4. Coleman, R.A., Lewin, T.M., Van Horn, C.G., Gonzalenz Baro, M.R. (2011) Omega-3 fatty acids and incident type 2 diabetes: the Singapore Chine se Health Study. Am J Clin Nutr. 94: 520-526.
5. Clarke, S.D. (2000) Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a mechanism to improve energy balance and insulin resistance. Br J Nutr. 83: S59-S66.
6. Coleman, R.A., Lewin, T.M., Van Horn, C.G., Gonzalenz Baro, M.R. (2002) Do long-chain acyl-CoA synthetases regulate fatty acid entry into synthetic versus degradative pathways? J Nutr 132: 2123-2126.
7. De Koster, J.D. Opsomer, G. (2013) Insulin resistance in dairy cows. Vet Clin Food Anim. 29: 299-322.
8. Evans, J.L., Goldfine, I.D., Maddux, G.M., Grodsky, G.M. (2003) Are Oxidative Stress− Activated Signaling Pathways Mediators of Insulin Resistance and β-Cell Dysfunction? Diabetes 52: 1-8.
9. Flachs, P., Rossmeisl, M. Kopecky, J. (2014) The effect of n-3 fatty acids on glucose homeostasis and insulin sensitivity. Physiol Res. 63 (Suppl 1): S93-118.
10. Gingras, A.A., White, P.J., Chouinard, P.Y., Julien, P., Davis, T. A., Dombrowski, L. (2007) Long-chain omega-3 fatty acids regulate bovine whole-body protein metabolism by promoting muscle insulin signalling to the Akt-mTOR-S6K1 pathway and insulin sensitivity. J Physiol. 579: 269-284.
11. Kadowaki, T., Yamauchi, T., Kubota, N., Hara, K., Ueki, K., Tobe, K. (2006) Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. J Clin Invest. 116: 1784.
12. Kahn, B.B., Flier, J.S. (2000) Obesity and insulin resistance. J Clin Invest. 106: 473.
13. Kalupahana, N.S., Claycombe, K.J., Moustaid, N. (2011) (n-3) Fatty acids alleviate adipose tissue inflammation and insulin resistance: mechanistic insights. Adv Nutr July. 2: 304-316.
14. Liu, S., Baracos, V., Quinney, H., Clandinin, M. (1994) Dietary omega-3 and polyunsaturated fatty acids modify fatty acyl composition and insulin binding in skeletal-muscle sarcolemma. Biochem J. 299 (Pt 3): 831.
15. Mashek, D., Bertics, S., Grummer, R. (2005) Effects of intravenous triacylglycerol emulsions on hepatic metabolism and blood metabolites in fasted dairy cows. J Dairy Sci. 88: 100-109.
16. Najafi, M., Zeinoaldini, S., Ganjkhanlou, M.,

Mohammadi, H., Hopkins, D., Ponnampalam, E. (2012) Performance, carcass traits, muscle fatty acid composition and meat sensory properties of male Mahabadi goat kids fed palm oil, soybean oil or fish oil. Meat Sci. 92: 848-854.

17. Pires, J., Pescara, J., Brickner, A., Del Rio, N.S., Cunha, A., Grummer, R. (2008) Effects of abomasal infusion of linseed oil on responses to glucose and insulin in Holstein cows. J Dairy Sci. 91: 1378-1390.
18. Pires, J., Souza, A., Glummer, R. (2007) Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. J Dairy Sci. 90: 2735-2744.
19. Portillo, M.P., Tueros, A.I., Perona, J.S., Ruiz Gutierrez, V., Torres, I., Macarulla, M.T. (1999) Modifications induced by dietary lipid source in adipose tissue phospholipid fatty acids and their consequences in lipid mobilization. Br J Nutr. 82: 319-327.
20. Rudkowska, I. (2010) Fish oils for cardiovascular disease: Impact on diabetes. Maturitas 67: 25-28.
21. Sano, H., Takebayashi, A., Kodama, Y., Nakamura, K., Ito, H., Arino, Y. (1999) Effects of feed restriction and cold exposure on glucose metabolism in response to feeding and insulin in sheep. J Animal Sci. 77: 2564-2573.
22. Solomon, T.P., Chambers, E.S., Jeukendrup, A.E., Toogood, A.A., Blannin, A.K. (2008) The effect of feeding frequency on insulin and ghrelin responses in human subjects. Br J Nutr. 100: 810-819.
23. Sugino, T., Yamaura, J., Yamagishi, M., Ogura, A., Hayashi, R., Kurose, Y. (2002) A transient surge of ghrelin secretion before feeding is modified by different feeding regimens in sheep. Biochemical and Biophysical Research Communications. 298: 785-788.
24. Tishinsky, J.M., Gulli, R.A., Mullen, K.L., Dyck, D.J., Robinson, L.E. (2012) Fish oil prevents high-saturated fat diet-induced impairments in adiponectin and insulin response in rodent soleus muscle. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 302: R598-R605.
25. Turner, N., Cooney, G.J., Kraegen, E.W., Bruce, C.R. (2014) Fatty acid metabolism, energy expenditure and insulin resistance in muscle. J Endocrinology. 220: T61-T79.
26. Udum, C.D., Cetin, M., Baici, F., Gunes, N., Hecer, C. (2008) Effects of plasma insulin, glucose and NEFA concentrations of feeding frequency during long term in lambs. J Biol Environ Sci. 2: 45-51.
27. Wilcox, G. (2005) Insulin and insulin resistance. Clin Biochem Rev. 26: 19-39.

Effects of omega-3 fat supplementation and feeding frequency on glucose metabolism and insulin in on Mahabad kid

Attaee-Nazari, S.[1], Ganjkhanlou, M.[2*], Zali, A.[2], Amini, M.[3]

[1]*Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences and Engineering, University of Tehran, Karaj, Iran*

[2]*Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences and Engineering, University of Tehran, Karaj, Iran*

[3]*Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*

(Received 20 July 2016, Accepted 24 September 2016)

Abstract:

BACKGROUND: Previous studies have shown that high intake and level of omega-3 have a positive impact on insulin sensitivity in the tissues. **OBJECTIVES:** This study investigated the effect of omega-3 fat supplementation on glucose metabolism and insulin in Mahabadi kid. **METHODS:** Twenty-eight Mahabad goat kids (3 to 4 months, with an average initial weight of 17 ± 5 kg) were randomly assigned to four dietary treatments with a 2 × 2 factorial arrangement, with 2 types of feeding frequency (twice or 4 times in a day) combined with 2 types of fat (saturated fat and fish oil in 2% of DM) to investigate the effect of omega-3 fat supplementation and feeding time frequency on glucose and insulin metabolism. Goats were fed individually for 90 days. On day 70 an intravenous glucose tolerance test was performed after 20 hours of food deprivation. Blood samples were collected at -15, -10, -5, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 120 and 180 min after glucose injection. Data were analyzed using the SAS GLM procedure. **RESULTS:** The IVGTT indicated that Omega-3 supplementation had a significant effect ($p<0.05$) on glucose clearance rate (CR). On the other hand, with increasing feeding frequency, kids had higher glucose clearance rate (K) and lower glucose half-life. **CONCLUSIONS:** The results suggested that dietary supplementation with omega-3 fat and increased feeding frequency of diet improved glucose and insulin metabolism.

Keyword: feeding frequency, glucose clearance rate, insulin sensitivity, kid Mahabad, Omega-3

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. The basic concentration of glucose.

Figure 2. The basic concentration of insulin.

Figure 3. The response to insulin in the first 60 minutes of sampling.

Table 1. Diets. 1 kilogram of vitamin supplements containing 600 thousand international units of vitamin A, 200 thousand international units of vitamin D, 200 mg of vitamin E, 2,500 mg of antioxidants, 195 grams of calcium, 80 grams of phosphorus, 21,000 mg of magnesium, 2200 mg of manganese, 3000 mg of iron, 300 mg, 300 mg of copper, 100 mg of cobalt, 120 mg of iodine and 1.1 mg of selenium.

Table 2. Effect of glucose injection on glucose response during the glucose tolerance test.

Table 3. Effect of glucose injection on insulin response during the glucose tolerance test.

Table 4. Effect of glucose injection under the feeding frequency on glucose response.

Table 5. Effect of glucose injection under the feeding frequency on insulin response.

***Corresponding author's email: ganjkhanlou@ut.ac.ir, Tel: 026-32248082, Fax: 026-32246752**