# اثر تزریق داخل شیردانی منابع گلوکوژنیک و لیپوژنیک بر تست تحمل گلوکز گوسفندان

**عطیه بهلولی قائن*[1]، عباسعلی ناصریان[2]و رضا ولی زاده[2]**

دانشجوی دکتری* و استاد[2] دانشگاه فردوسی مشهد

*at_bohluli@yahoo.com

چکیده

اثر تزریق شیردانی نشاسته ذرت(CS) و دکستروز(DEX) بعنوان منبع گلوکوژنیک، پیه(TAL) وروغن ماهی(FO) بعنوان منبع لیپوژنیک بر پاسخ انسولین، گلوکز و اثرات آنتی لیپولیتیکی انسولین گوسفندان بررسی شدند.به پنج گوسفند نر بلوچی درقالب طرح مربع لاتین ۵×۵ بمدت۱٤/۵روز (دوبار در ساعات ۸و۱٤ قبل ازمصرف خوراک) ازطریق شیردان، آب(WTR)، نشاسته ذرت(۱۲۰g/d)، دکستروز(۱۲۰g/d)، پیه(۵۸g/d)، و روغن ماهی(۵۸g/d) تزریق شد. تست تحمل گلوکز وریدی(۰/۲۵gDEX/kg BW) در روز۱۵ هر دوره پس از ٦٦ ساعت محدودیت غذایی انجام شد. محدودیت غذایی به منظور افزایش غلظت پلاسمایی اسیدهای چرب غیراستریفیه(NEFA) انجام گرفت. نمونه گیری ازخون درزمانهای ۵-، ۱۵، ۳۰، ٤۵، ۷۵، ۱۰۵، ۱۳۵ و۱٦۵دقیقه پس از تزریق گلوکز انجام گرفت. داده ها با استفاده از رویهGLM نرم افزارSAS آنالیز شدند. در این آزمایش تیمارهای CS و DEX غلظت اولیه کمتر NEFA و بالاترگلوکز سرم را در مقایسه با سایر تیمارها نشان دادند($P<0.05$). ازطرفی افزایش سطح زیر منحنی انسولین پس از ۱٦۵ دقیقه ($AUC_{165}$) در تیمارDEX، و عدم تفاوت معنی دار گلوکز بین تیمارها میتواند بیانگر این باشد که تیمارDEX در این آزمایش اثرات مقاومت انسولینی داشته است. داده های این آزمایش نشان دادند غلظت NEFA سرم درتیمارهای CS و DEX در مدت انجام آزمایش کمتر ازسایر تیمارها بودند($P<0.01$)؛ که بنظر می رسد تیمارهای گلوکوژنیک در این آزمایش اثرات آنتی لیپولیتیکی انسولین را افزایش داده اند.

واژه های کلیدی: انسولین- اسیدهای چرب غیر استریفیه- تحمل گلوکز.

**مقدمه**

انسولین و گلوکز نقش مهمترین میانجی های هموستاتیک را در نشخوارکنندگان شیرده ایفا می کنند. انسولین موجب تحریک فرایندهای آنابولیک (لیپوژنز و گلیکوژنز) شده و از مسیرهای کاتابولیک (لیپولیز، گلوکونئوژنز، کتوژنز و پروتئولیز) ممانعت می کند، بنابراین موجب ذخیره سوبستراها برای سنتز شیر در آینده می شود (٤). در گاوهای دوره انتقال وشیرده، افزایش احتیاج به گلوکز ممکن است با تغذیه جیره های متراکم و یا افزایش نشاسته عبوری از شکمبه تامین شود. این در حالی است که افزایش گلوکز پس از شکمبه موجب افزایش گلایسمیا و انسولینمیا شده و می تواند منجر به کاهش پاسخ به انسولین یا مقاومت انسولینی در بافتهای سطحی شود (٤). از طرفی در دوره انتقال، با افزایش بسیج ذخائر چربی و غلظت اسیدهای چرب غیراستریفیه شده (NEFA) در پلاسما مواجه هستیم که نقش مهمی در پایه گذاری مقاومت انسولینی و بیماریهای متابولیکی مرتبط با انرژی دارند (۳). تا کنون مطالعات مختلفی درباره اثر منابع انرژی خوراک بر حساسیت انسولینی انسان و حیوانات انجام شده که نتایجی گاه متفاوت در بر داشته اند (۱). مصرف چربی بالا به ویژه چربی های اشباع به نظر می رسد که با مقاومت انسولینی در حیوانات (۱۱) و انسان (٦) همراه باشد و موجب گسترش دیابت نوع ۲ شود (۵). در حالی که مصرف چربیهای غیر اشباع n-3 نظیر روغن ماهی موجب بهبود عملکرد انسولین و افزایش دریافت گلوکز و اسیدهای آمینه توسط ماهیچه اسکلتی در گاوها (۷) شده و از توسعه دیابت جلوگیری کرده است (۲). هدف از این

آزمایش بررسی اثر منابع مختلف گلوکوژنیک و لیپوژنیک بر روند تغییرات غلظت های سرمی انسولین، گلوکز و NEFA پس از تزریق وریدی گلوکز در شرایط محدودیت غذایی بود که در آن از گوسفندان با کانولای شیردانی، به عنوان مدل حیوانی استفاده شد.

**مواد و روشها**

در این آزمایش از ۵ گوسفند نر بالغ بلوچی (۱/۲kg ± ٤٥) با کانولای شیردانی در قالب طرح مربع لاتین ۵ × ۵ در دوره های ۲۱ روزه (٦ روز بدون تیمار و ۱۵ روز تزریق شیردانی) استفاده شد. حیوانات بر اساس احتیاجات نگهداری روزانه (۲۰۰g کاه، ۳۰۰g یونجه و ۳۵۰g کنسانتره) تغذیه شدند و تیمارها به صورت تزریق شیردانی آب (گروه شاهد)، نشاسته ذرت(۱۲۰g/d) و دکستروز(۱۲۰g/d)، به عنوان منابع گلوکوژنیک، پیه(۵۸g/d)، و روغن ماهی(۵۸g/d)، به عنوان منابع لیپوژنیک، اعمال شدند. تزریق ها دوبار در روز در ساعات ۸ و ١٤ قبل از مصرف خوراک داخل بن ماری ۳۷˚C با آب به حجم ٦۰ میلی لیتر رسیده و با استفاده از سرنگ ٦۰ mL متصل به کتتر به آهستگی به داخل شیردان تزریق می شدند. در روز ۱۹ و ۲۰ محدودیت غذایی با مصرف ۲۰۰g/d کاه اعمال شد.نمونه گیری از خون در روزهای ۱۹ و ۲۱ قبل از مصرف خوراک (ساعت ۷) انجام شدند. تست تحمل گلوکز وریدی (IVGTT) در روز ۲۱، یک ساعت پس از آخرین تزریق شیردانی (ساعت ۸) انجام شد. محلول دکستروز ۵۰٪ (۰/۲۵ g/kg BW) از طریق کتتر وداجی به آهستگی (۰/٦ min ±۲) تزریق شد و در زمانهای ۵-، ۱۵، ۳۰، ٤٥، ۷۵، ۱۳۵، و ١٦٥ دقیقه پس از تزریق گلوکز، نمونه گیری از خون از طریق کتتر انجام گرفت. نمونه ها سپس سانتریفیوژ و سرم آنها جدا شدند. سرم ها در فریزر ۷۰˚C- قرار داده شدند تا جهت اندازه گیری غلظت گلوکز، انسولین (RIA kit ) و NEFA (RANDOX, Cat No. FA 115) آنالیز شوند. آنالیز آماری داده ها با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS انجام شد.

**نتایج**

پس از اعمال محدودیت غذایی در گوسفندان، غلظت سرمی NEFA در تیمارهای مختلف افزایش یافت، در حالیکه گلوکز و انسولین کاهش یافتند ($P<0.01$). اخیرا مطالعاتی نقش تغییرات غلظت پلاسمایی NEFA در شکل گیری مقاومت انسولینی گاوهای هلشتاین را نشان داده اند (۹). به نظر می رسد NEFA با گلوکز در مسیر اکسیداسیون رقابت می کند و با افزایش محصولات جانبی که در نهایت منجر به افزایش غلظت گلوکز ٦ فسفات و مهار هگزوکیناز می شود، انتقال فعال گلوکز را کاهش می دهد (۱۰). داده ها نشان دادند غلظت گلوکز سرم تیمار دکستروز پس از محدودیت غذایی مقدار پایین تری از نشاسته ذرت داشته، اما پس از تزریق شیردانی تیمارها، بالاتر از نشاسته ($P=0.07$) و سایر تیمارها بود ($P<0.05$).
با توجه به جدول ۱ غلظت گلوکز وانسولین سرم قبل از تزریق در تیمارهای نشاسته و دکستروز بالاتر از سایر تیمارها بودند، در حالیکه NEFA سرم در آنها کمتر از سایر تیمارها بودند ($P<0.01$). اما نسبت انسولین:گلوکز در این دوتیمار مشابه تیمار روغن پیه بوده و از روغن ماهی بالاتر بودند($P<0.05$). مقادیر $AUC_{165}$ انسولین، گلوکز و نسبت انسولین:گلوکز نشان داد که تزریق شیردانی دکستروز علیرغم افزایش معنی دار گردش انسولین خون، نتوانسته است گلوکز سرم را نسبت به سایر تیمارها کاهش دهند و به نظر می رسد تزریق دکستروز در این مدت اثر کاهش دهنده حساست انسولینی همچون روغن پیه ایجاد کرده است. در آزمایش پاگلیاسوتی و همکاران (۱۹۹۵) مصرف طولانی مدت قندهایی چون سوکروز و فروکتوز موجب گسترش مقاومت انسولینی در رت ها شد(۷). پایرز و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که تزریق وریدی امولیسیون چربی پیه در گاوهای هلشتاین افزایش غلظت NEFA و گسترش مقاومت انسولینی را به دنبال داشته است(۹).

**جدول ۱. مقادیر سرمی گلوکز، انسولین و NEFA قبل و پس از محدودیت غذایی و تست تحمل گلوکز.**

| | | | | | | | $P_{value}$ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| روز ۱۹، قبل از محدودیت غذایی (قبل از تزریق شیردانی) | آب | نشاسته ذرت | دکستروز | روغن پیه | روغن ماهی | SEM | روز | روز*تیمار |
| گلوکز (mg/dL) | ٦٤/٢ | ٦١/٤ | ٥٧/٦ | ٦٧/٣ | ٥٥/٦ | ١/٩٨ | <٠/٠١ | ٠/٤٤ |
| انسولین (μIU/mL) | ١٢/٦$^{b}$ | ٢٠/٩$^{a}$ | ١٨/١ | ١٦/٦ | ١٢/٢$^{b}$ | ١/١٨ | <٠/٠١ | ٠/٦٥ |
| NEFA (mmol/dL) | ٠/٣٦ | ٠/٣٢ | ٠/٣٤ | ٠/٤٢$^{a}$ | ٠/٢٢$^{b}$ | ٠/٠٣ | <٠/٠١ | ٠/١٠ |
| روز ۲۱، پس از محدودیت غذایی (قبل از تزریق شیردانی) | | | | | | | زمان | زمان*تیمار |
| گلوکز (mg/dL) | ٥١/٦ | ٥٤/٨$^{a}$ | ٤٥/٨$^{b}$ | ٤٧/٨ | ٤٦/٨$^{b}$ | ١/١٥ | <٠/٠١ | <٠/٠١ |
| انسولین (μIU/mL) | ٩/٨٥ | ١١/٢٥$^{a}$ | ١٢/٤١$^{a}$ | ٨/١٩ | ٦/٢٩$^{b}$ | ٠/٧٥ | <٠/٠١ | ٠/٢٣ |
| NEFA (mmol/dL) | ١/١٩$^{a}$ | ٠/٦٦$^{c}$ | ٠/٩٩$^{ab}$ | ١/٢٢$^{a}$ | ٠/٨٤$^{b}$ | ٠/٠٢ | ٠/١٢ | ٠/٠٥ |
| روز ۲۱، قبل از تزریق وریدی گلوکز (۱ ساعت پس از تزریق شیردانی) | | | | | | | | |
| گلوکز (mg/dL) | ٥٦/٩$^{b}$ | ٧٤/٨$^{a}$ | ٨٧/٩$^{a}$ | ٤٨/٩$^{b}$ | ٥٥/٦$^{b}$ | ٢/٠٦ | | |
| انسولین (μIU/mL) | ١٢/٥$^{b}$ | ١٩/٢$^{a}$ | ٢١/١$^{a}$ | ١٢/٠$^{b}$ | ٧/٥$^{b}$ | ٠/٩٨ | | |
| انسولین:گلوکز | ٠/٢٢ | ٠/٢٥$^{a}$ | ٠/٢٥$^{a}$ | ٠/٢٤$^{a}$ | ٠/١٣$^{b}$ | ٠/٠١ | | |
| NEFA (mmol/dL) | ١/١٧$^{a}$ | ٠/٦٣$^{b}$ | ٠/٥٤$^{b}$ | ١/١٣$^{a}$ | ١/١٤$^{a}$ | ٠/٠٣ | | |
| $AUC_{45}$ (سطح زیر منحنی ٤٥ دقیقه پس از تزریق وریدی گلوکز) | | | | | | | | |
| گلوکز (mg/dL) | ٦٧٦٨$^{b}$ | ٨٠٢٨$^{a}$ | ٧٧٨١$^{ab}$ | ٦٤٧٢$^{c}$ | ٧٢٢٧ | ١٦٥/٢ | | |
| انسولین (μIU/mL) | ٢٤٦٦$^{b}$ | ٢٨٥٤$^{b}$ | ٣٢١٢ | ٤٠٦٦$^{a}$ | ٣٣٩٩ | ١٤٤/١ | | |
| انسولین:گلوکز | ١٧/٥$^{b}$ | ١٥/٨$^{b}$ | ٢٠/٥$^{b}$ | ٣٢/٤$^{a}$ | ٢١/٣$^{b}$ | ١/٤٧ | | |
| NEFA (mmol/dL) | ٢٥/٠ | ٢٠/١$^{b}$ | ١٨/١$^{b}$ | ٢٥/٨$^{a}$ | ٢٥/٨$^{a}$ | ٠/٦٥ | | |
| $AUC_{165}$ (سطح زیر منحنی ١٦٥ دقیقه پس از تزریق وریدی گلوکز) | | | | | | | | |
| گلوکز (mg/dL) | ١٩٧٧١ | ٢٢٧٧٨ | ٢٢٥٧١ | ١٩٩٨٧ | ٢١٠١٠ | ٤٦٥ | | |
| انسولین (μIU/mL) | ٧٧٤١$^{b}$ | ٩٣٧٥ | ١١١٨٨$^{a}$ | ٩٤٤١ | ٨٨١٣$^{b}$ | ٢٨٤/١ | | |
| انسولین:گلوکز | ٦٥/٥$^{b}$ | ٦٨/١$^{b}$ | ٨٨/٠$^{a}$ | ٨١/٣ | ٦٧/٦$^{b}$ | ٢/٣٩ | | |
| NEFA (mmol/dL) | ٦٤/٤$^{a}$ | ٥٣/٥$^{b}$ | ٤٦/٦$^{b}$ | ٦٩/٩$^{a}$ | ٦٥/٨$^{a}$ | ١/٢٣ | | |

اختلاف حروف a,b,c بیانگر تفاوت معنی دار می باشند ($P<0.05$).

مقدار اولیه و تغییرات غلظت NEFA پس از ٤٥ و ١٦٥ دقیقه تزریق گلوکز نشان می دهد که در تیمارهای گلوکوژنیک غلظت NEFA با سرعت بیشتری کاهش یافته که ممکن است به علت افزایش اثـرات آنتـی لیپـولیتیکی انسـولین و کـاهش تجزیه پذیری گلیسیریدها در کبد باشد(٨ و ٩). به طور کلی به نظر می رسد توجه به نوع منبع مورد اسـتفاده از نظـر مکـان جذب، محصولات حاصل از هضم و جذب آنها و اثری که بر متابولیسم بافتها می گذارند در بررسی حساسیت بافت ها بـه انسولین مهمتر از صرفا گلوکوژنیک یا لیپوژنیک بودن آنهاست.

**منابع**


1) Bessesen D.H. 2001. The role of carbohydrates in insulin resistance. Symposium: Carbohydrates—Friend or Foe. *Am Socie for Nutr Sci.* Supl. 2782-86.
2) Delarue J, LeFoll C, Corporeau C, Lucas D. 2004. N-3 long chain polyunsaturated fatty acids: A nutritional tool to prevent insulin resistance associated to type 2 diabetes and obesity. *Reprod. Nutr. Dev.* 44:289–299
3) Grummer RR. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1993;76:3882–3896

4) Lemosquet S, Debras E, Balage M, Hocquette JF, Rulquin H, Grizard J. 2002. Short-term mild hyperglycemia enhances insulin-stimulated glucose disposal in lactating goats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 282(2):464-74.
5) Marshall, J. A., Hoag, S., Shetterly, S. & Hamman, R. F. 1994. Dietary fat predicts conversion from impaired glucose tolerance to NIDDM. *Diabetes Care* 17: 50–56.
6) Marshall, J. A., Bessesen, D. H. & Hamman R. F. 1997. High saturated fat and low starch and fiber are associated with hyperinsulinemia in a nondiabetic population: the San Luis Valley Diabetes Study. *Diabetologia*. 40: 430–438.
7) Pagliassotti, M. J. & Prach, P. A. (1995) Quantity of sucrose alters the tissue pattern and time course of insulin resistance in young rats. *Am. J. Physiol.*269: R641–R646.
8) Pires J.A.A., J.B. Pescara, A.E. Brickner, N. Silva del Rio, A.P. Cunha, R.R. Grummer. 2008. Effects of Abomasal Infusion of Linseed Oil on Responses to Glucose and Insulin in Holstein Cows. *J. Dairy Sci.* 91: 1378-90.
9) Pires JA, Souza AH, Grummer RR. 2007. Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. *J Dairy Sci.* 90(6):2735-44.
10) Randle, P.J. 1998. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. *Diabetes Metab. Rev.* 14(4):263-283.
11) Storlien, L. H., Baur, L. A., Kriketos, A. D., Pan, D. A., Cooney, G. J., Jenkins, A. B., Calvert, G. D. & Campbell, L.V. 1996. Dietary fats and insulin action. *Diabetologia* 39: 621–631.

# Effects of abomasal infusion of corn starch, dextrose, tallow and fish oil on sheep glucose tolerance test

**Atiyeh Bohlul Ghaen[*1], Abasali Naserian[2], Reza Valizade[2]**

[1]Ph.D. student and [2]professor, Ferdowsi University. Mashhad

*at_bohluli@yahoo.com

## Abstract

The objective was to study the effects of abomasal infusion of corn starch (CS) and dextrose (DEX) as glucogenic, tallow (TAL) and fish oil (FO) as lipogenic sources on insulin, glucose and insulin antilipolytic response of sheep. Five adult Baloochi rams were assigned to a 5×5 Latin square design, infused abomasally with either water(WTR), CS(120g/d), DEX(120g/d), TAL(58g/d), and FO(58g/d), for 14.5d. Treatments were infused twice daily at 0800 and 1400 before feeding. Intravenous glucose tolerance test (IVGTT; 0.25g DEX/kg BW) was performed on d15 of each period after 66h feed restriction. Feed restriction was used to simulate body reserve mobilization and increase plasma nonesterified fatty acid (NEFA) concentration. Blood samples were collected at -5, 15, 30, 45, 75, 105, 135, and 165 min relative to administration of glucose. Data were analyzed using the GLM procedure of SAS. In this experiment plasma basal NEFA were decreased and glucose increased in both CS and DEX than others ($P<0.05$). So, the greater insulin area under curve after 165 min of IVGTT ($AUC_{165}$) in DEX, and same glucose $AUC_{165}$ between treatments, may show DEX treatment had insulin resistance effects. Data showed NEFA concentration of CS and DEX were ever lower than others ($P<0.01$); it suggest that glucogenic treatments enhanced antilipolytic effects of insulin.

**Keywords:** Insulin, nonesterified fatty acid, glucose tolerance.