مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۵، شماره ۴، ۱۳۹۹، ۴۸۵-۴۷۵
مقاله پژوهشی

مطالعه اثر مکمل روی آلی بر متابولیسم گلوکز و شاخصه‌های مقاومت به انسولین در اوایل دوره شیرواری میش

میلاد هاشمی[۱]، احسان عناصری[۲]، رسول پیرمحمدی[۳]، سیامک عصری‌رضایی[۲]

[۱] دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
[۲] گروه بیماری‌های درونی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
[۳] گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

10.22059/jvr.2019.286367.2953
تاریخ دریافت: ۱۹ مرداد ماه ۱۳۹۹، **تاریخ پذیرش:** ۱۶ مهر ماه ۱۳۹۹

چکیده

زمینهٔ مطالعه: کاهش حساسیت انسولینی و لیپولیز گسترده در حوالی زایمان از جمله علل معمول وقوع بیماری‌های متابولیکی مرتبط با متابولیسم انرژی در میش می‌باشند.

هدف: تحقیق حاضر با هدف مطالعه اثر روی آلی بر متابولیسم گلوکز و شاخصه‌های مقاومت به انسولین در میش‌های اوایل دوره شیرواری طراحی شد.

روش‌کار: ۱۸ راس میش نژاد قزل براساس میزان روی آلی دریافتی به سه گروه؛ CTR (جیره پایه بدون افزودنی روی)، LZn (جیره پایه بعلاوه روی به میزان ۳۰ میلی‌گرم به ازای ماده خشک خوراک) و HZn (جیره پایه بعلاوه روی به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای ماده خشک خوراک) تقسیم‌بندی شدند.

نتایج: نتایج مطالعه حاضر تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه در مقادیر گلوکز، اسیدهای چرب غیراستریفیه، بتاهیدروکسی بوتیرات، کلسترول و تری گلیسرید و نیز عیار انسولین خون میش‌ها نشان نداد. همچنین اثر روی بر نسبت انسولین به گلوکز در بین گروه‌های آزمایشی غیر معنی‌دار بود ($P>0/05$). تجویز زینک-متیونین به صورت خوراکی افزایش معنی‌داری ($P<0/001$) در غلظت روی سرم خون میش‌های دریافت‌کننده مکمل ایجاد نمود. مساحت سطح زیر منحنی (AUC_{60}, AUC_{120}) برای گروه کنترل و LZn بیشترین و برای گروه HZn کمترین مقادیر را نشان داد ($P<0/05$). نرخ پاکسازی گلوکز در میش‌های دریافت‌کننده مکمل زینک-متیونین نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. زمان لازم برای رسیدن غلظت گلوکز به نصف در میش‌های دریافت‌کننده روی به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ($P<0/001$) که نشان دهنده حالت بهبودی حساسیت به انسولین و وضعیت متابولیسم گلوکز است.

نتیجه‌گیری نهایی: یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهند که مکمل غذایی زینک-متیونین در بهبود بالانس منفی انرژی و جلوگیری از مقاومت به انسولین در میش‌های شیروار پس از زایش مؤثر بوده و این احتمال وجود دارد که پاسخ به انسولین در میش‌ها در کنار استفاده از مکمل‌های حاوی روی بهبود پیدا کند.

کلمات کلیدی: میش، انسولین، گلوکز، شیرواری، روی

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: احسان عناصری، گروه بیماری‌های درونی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
پست الکترونیکی: e.anassori@urmia.ac.ir

مقدمه

تولید شیر بلافاصله پس از زایمان یکی از فاکتورهای خطر بروز توازن منفی انرژی در نشخوارکنندگان محسوب می‌شود. این روند توازن منفی به همراه پایین بودن میزان خوراک مصرفی در اوایل شیرواری به دلیل وضعیت فیزیولوژیک خاص حیوان در این دوره و دریافت جیره‌های نامتعادل از نظر محتوای فیبر، انرژی و مواد معدنی خطر ابتلا به ناهنجاری‌های متابولیکی را افزایش می‌دهد. افزایش اسیدهای چرب غیراستریفیه یک معیار اندازه‌گیری مقدار تجزیه چربی‌ها در بافت‌های چربی یا متابولیسم چربی بدن در

شرایط توازن منفی انرژی می‌باشد. توالی رخدادها شامل کاهش گلوکز و انسولین، افزایش متابولیسم چربی و بالا رفتن اسیدهای چرب غیراستریفیه خون می‌باشد. فرکانس‌های سیری ایجاد شده توسط اکسیداسیون کبدی اسیدهای چرب غیراستریفیه که توسط عصب واگ به مراکز سیری هیپوتالاموس انتقال می‌یابد، می‌تواند به عنوان مکانیسم غالب کنترل کننده میزان خوراک مصرفی در دوره انتقال تبدیل شود (۳). بنابراین می‌توان گفت کنترل سرعت لیپولیز، کارایی اکسیداسیون اسیدهای چرب در کبد و طول مدت قرارگیری حیوان در تعادل منفی انرژی و وضعیت لیپولیتیک، می‌تواند عاملی اساسی در کاهش بروز ناهنجاری‌های متابولیکی باشد (۳،۳۴).

وضعیت لیپولیتیک چند هفته قبل از زایش با کاهش همزمان غلظت انسولین پلاسما و کاهش حساسیت بافت چربی و عضله به انسولین شروع شده و تا چندین هفته پس از زایش ادامه دارد (۱۵). کاهش حساسیت بافت‌ها به انسولین احتمالاً توسط افزایش تدریجی هورمون رشد، افزایش سیتوکین‌های پیش التهابی نظیر فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF-α) حاصل از جفت و بافت چربی و افزایش غلظت اسیدهای چرب غیر استریفیه (NEFA) پلاسما ایجاد می‌شود. سیگنال‌های مربوط به آبستنی و یا شیرواری، لیپولیز را برای عرضه NEFA به عنوان یک سوخت برای کبد و بافت‌های خارج کبدی آغاز می‌کنند و از این طریق در مقدار گلوکز مورد نیاز برای تولد جنین و یا تولید شیر صرفه جویی می‌کنند (۱۱).

برداشت NEFA توسط کبد با غلظت آن‌ها درخون متناسب است. غلظت بیش از حد تری گلیسرید کبدی نتیجه افزایش NEFA خون است که به اختلال در وظایف کبد و کاهش گلوکونئوژنز و بنابراین کاهش بهبود غلظت‌های گلوکز و انسولین خون به حالت طبیعی منجر می‌شود که وضعیت لیپولیتیک را بیشتر توسعه می‌دهد (۱). به علت اینکه کبد نشخوارکنندگان ظرفیت محدودی برای خروج تری گلیسرید به صورت لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار پایین دارد (۹)؛ بنابراین محدود کردن لیپولیز هدف اصلی انتقال موفقیت‌آمیز از دوره آبستنی به دوره شیردهی است. از این رو تنظیم دقیق متابولیسم گلوکز و چربی در بدن دام به منظور سازگاری متابولیک در این دوره ضروری است. مقاومت انسولینی یا عدم پاسخ بهینه بافت‌های هدف به انسولین، یکی از سازگاری‌های مهم نشخوارکنندگان در دوره انتقال است. همان‌طوری‌که در بالا اشاره شد ایجاد مقاومت انسولینی خفیف در دوره انتقال می‌تواند گلوکز، اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب بیشتری را در اواخر آبستنی به جفت و در اوایل زایش به غدد پستانی سوق دهد؛ اما مقاومت انسولینی شدید می‌تواند با ایجاد اختلال در تنظیم فرایندهای طبیعی بافت چربی، منجر به بالا رفتن غیرطبیعی اسیدهای چرب غیر استریفیه در خون شود (۱۲). استراتژی‌های تغذیه‌ای ممکن است بتواند با بهبود حساسیت انسولینی، فراخوانی چربی را از ذخایر بدنی محدود کرده و وقوع بیماری‌های متابولیکی مرتبط با متابولیسم انرژی دوره انتقال را کاهش دهد.

روی به عنوان یک عنصر ضروری برای عملکرد بسیاری از آنزیم‌های دخیل در تقسیم سلولی و سنتز DNA و پروتئین لازم است. کاهش سطح سرمی روی باعث اختلال‌های متعددی می‌شود که از بین عوارض درون ریز آن می‌توان به هیپوگنادیسم و اختلال تحمل گلوکز اشاره کرد. عنصر روی برای سنتز، ذخیره‌سازی و ترشح انسولین ضروری است. با کاهش سطح روی سرم، کاهشی در ترشح انسولین و حساسیت بافت‌های محیطی به انسولین دیده می‌شود. مطالعات اخیر نقش روی را به عنوان یک پیامبر ثانویه داخل سلولی در کنترل سیگنالینگ انسولین و تنظیم گلوکز خون برجسته کرده است (۲۶). استفاده از ترکیبات روی در علم پزشکی نوین به منظور درمان کمبود روی و نیز برای بهبود کاهش روی در بیماری دیابت نوع یک در سال‌های اخیر توجه بسیاری از متخصصین تغذیه را به خود جلب کرده است. نتایج به دست آمده از بررسی‌های متعدد، دسترسی زیستی بالای منابع آلی روی را در مقایسه با ترکیبات غیر آلی آن و نیز ذخیره‌سازی بهتر این منابع را در بدن نشان می‌دهند (۲۷،۳۸،۴۱). لذا تحقیق حاضر با هدف مطالعه اثر استفاده از روی آلی (Zn-Met) بر متابولیسم گلوکز و شاخصه‌های مقاومت به انسولین در میش‌های اوایل دوره شیرواری طراحی شده است.

مواد و روش‌کار

این پژوهش در گوسفندداری دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام شد. همه میش‌ها دو هفته پیش از قوچ اندازی به روش سیدرگذاری (CIDR; Eazi-Breed CIDR; Pharmacia and Upjohn Pty Limited, Rydalmere, Australia) و تزریق عضلانی ۴۰۰ واحد هورمون (PMSG, Intervet Inc., Millsboro, DE) همزمان فحل و به صورت کنترل شده قوچ اندازی شدند.

در این تحقیق ۱۸ رأس میش آبستن نژاد قزل با میانگین وزن ۷±۶۱ کیلوگرم، جهت عادت پذیری با شرایط آزمایش، محیط و جیره از ۴ هفته مانده به تاریخ احتمالی زایمان بطور تصادفی در ۳ گروه (هر گروه ۶ راس) و در جایگاه‌های انفرادی قرار گرفتند.

دوره اصلی آزمایش در این مطالعه بلافاصله پس از زایمان میش‌ها شروع شده و به مدت ۳ هفته ادامه داشت. میزان احتیاجات غذایی دوره آبستنی و شیرواری میش‌ها براساس جداول (۲۰۰۷) NRC, تنظیم و به صورت تغذیه آزاد (۲ درصد باقیمانده خوراک)، روزانه در دو وعده صبح و عصر در اختیار میش‌ها قرار گرفت (جدول ۱)، (۲۹). جیره‌های آزمایشی از نظر تمام مواد مغذی یکسان بوده و فقط مقادیر مختلف روی (Zn) از منبع آلی روی؛ زینک-متیونین (Zn-Met)، ZnM, Zinpro; Corporation, Eden Prairie, (MN, USA) از شرکت سنا دام پارس تهیه و به آن‌ها افزوده شد. بر این اساس گروه‌های مورد آزمایش به صورت زیر تعریف شدند؛

گروه (۱): جیره پایه (TMR) بدون افزودن روی (روی به میزان صفر میلی‌گرم به ازای کیلوگرم ماده خشک) = (CTR)، گروه (۲): جیره پایه به همراه مکمل روی به میزان احتیاجات (روی به میزان ۳۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم ماده خشک خوراک) = (LZn) و گروه (۳): جیره پایه به همراه مکمل روی با میزان بالا (روی به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم ماده خشک خوراک) = (HZn).

میزان روی جیره پایه در حد ۳ میلی‌گرم به ازای ماده خشک خوراک توسط جیره تأمین و با استفاده از روش جذب اتمی تأیید شد. میزان احتیاجات میش براساس توصیه‌های (۲۰۰۷) NRC تعیین شد (۲۹). خونگیری از دام‌ها بصورت هفتگی و ۳ ساعت پس از مصرف خوراک وعده صبح در روزهای صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از زایمان انجام گرفت. نمونه‌های خون بدون ماده ضد انعقاد پس از انتقال به آزمایشگاه، به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شده (با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه) و سرم آن‌ها جدا گردید. نمونه‌های سرم جهت ارزیابی روی (Zn)، گلوکز، اسیدهای چرب غیر استریفیه (NEFA)، بتا هیدروکسی بوتیرات (BHB)، تری‌گلیسرید، کلسترول و انسولین تا زمان اندازه‌گیری، در دمای ۲۰ - درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از ۲۱ روز از شروع درمان، با تزریق سرم دکستروز ۵۰ درصد بر اساس پروتوکل‌های استاندارد (۲۴) میزان شاخص‌های مقاومت به انسولین شامل؛ مساحت سطح زیر منحنی (Area under the curve)، (AUC) تا دقیقه ۶۰ و ۱۲۰ (AUC_{60}, AUC_{120})، نرخ پاکسازی گلوکز، زمان رسیدن به سطح پایه و زمان لازم برای رسیدن غلظت به نصف توسط آزمون تحمل گلوکز (IVGGT) انجام گرفت.

به طور خلاصه آزمایش تحمل گلوکز درون وریدی با تزریق گلوکز (۰/۲۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با استفاده از سرم دکستروز ۵۰ درصد با سرعت ۵-۴ میلی‌لیتر در دقیقه) انجام گرفت. متعاقب تزریق گلوکز نمونه‌های خون به صورت پیوسته از ۱۵ دقیقه قبل از شروع تزریق تا ۳ ساعت پس از آن جمع‌آوری شد. خونگیری متعاقب تزریق درون وریدی گلوکز در زمان‌های ۱۵-، ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ نسبت به زمان تزریق انجام گرفت.

غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات (BHB) و اسیدهای چرب غیراستریفیه (NEFA) سرم با استفاده از کیت‌های تجاری (Randox Laboratories Ltd, Ardmore, UK) اندازه‌گیری شدند. در نمونه‌های سرم ذخیره شده، گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول و روی با استفاده ازکیت‌های تجاری (شـــرکت پارس آزمون، ایران) و با استفاده از آنالایزر بیوشیمی (Technicon, RA-1000, Tarry town, USA)، و انسولین با استفاده از کیت تجاری (Insulin AccuBind® ELISA; Monobind Inc. Lake Forest, USA) و به روش آنزیم ایمنواسی (ELISA, Biotek-Eon reader plate) مورد سنجش قرار گرفتند. میزان روی خوراک به روش طیف سنج جذب اتمی مجهز به سیستم کوره گرافیتی (Shimadzu AA6800, Tokyo, Japan) اندازه گیری شد.

آزمایش تحمل گلوکز وریدی (IVGTI) در روز ۲۱ آزمایش انجام شد. پس از اندازه‌گیری گلوکز در خون داده‌های مربوط به آن در نرم افزار SAS ۹/۱ مورد بررسی قرار گرفت. از رویه NLIN برای پردازش منحنی‌های گلوکز در مدت ۶۰ دقیقه آزمایش تحمل گلوکز با استفاده از فرمول زیر استفاده شد (۱۹).

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

در این معادله F(t) غلظت متابولیت در زمان t می‌باشد. A بیشترین مقدار گلوکز می‌باشد. K هم ضریب تابعیت را تشکیل می‌دهد. هر دو برآورد A و K محاسبه شد. نرخ پاکسازی که مشخص کننده سرعت پاک شدن از خون است به صورت زیر محاسبه شد (۱۹):

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

نیمه عمر یا زمان رسیدن به نصف حداکثر غلظت از فرمول زیر محاسبه می‌گردد (۱۹):

$$(T_{1/2}; min) = \{[ln(2)]/CR\} \times 100)$$

در معادلات بالا [ta] غلظت متابولیت در زمان (ta) و [tb] غلظت متابولیت‌ها در زمان (tb) می‌باشد. مساحت زیر منحنی از گلوکز با (AUC) نشان داده می‌شود. پس از رسم منحنی گلوکز این شاخص با استفاده از مساحت ذوزنقه و جمع مقادیر ۶۰ دقیقه اول و دوم (AUC_{60}, AUC_{120}) محاسبه شد. مقدار گلوکز پایه بر اساس مقادیر زمان‌های ۱۵– محاسبه شد. بیشترین مقدار گلوکز بر اساس مقادیر اولین خونگیری پس از تزریق در نظر گرفته شد.

طرح آماری مورد استفاده: داده‌ها با طرح تصادفی با استفاده از مدل خطی عمومی (MIXED) نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و تحلیل شد. اندازه‌گیری‌های مکرر از Mixed برای داده‌ها (گلوکز و انسولین پلاسما در طول IVGTT) که در رابطه با زمان ساخته شده بودند (رویه داده‌های تکرار شونده در زمان) استفاده شد. حداقل مربعات محاسبه شد و برای تفاوت‌ها آزمون LSM مورد آزمایش قرار گرفت. تفاوت‌های معنی‌دار بین تیمارها در سطح ($P<۰/۰۵$) در نظرگرفته شد.

نتایج

میانگین و خطای استاندارد متابولیت‌های خون در سه گروه از میش‌های شیروار در ۳ هفته ابتدای شیرواری در جدول ۲ نشان داده شده است.

در مطالعه حاضر استفاده از روی آلی (Zn-Met) تأثیری بر میزان شاخص‌های مرتبط با انرژی شامل؛ مقادیر گلوکز، اسیدهای چرب غیر استریفیه، بتاهیدروکسی بوتیرات، کلسترول و تری‌گلیسرید و نیز عیار انسولین و مقادیر روی سرم خون میش‌های مورد مطالعه نداشت ($P>۰/۰۵$). با این‌حال تمایل عددی به کاهش غلظت NEFA و BHB در گروه‌های تحت درمان با Zn-Met دیده می‌شود (جدول ۲). همچنین در این جدول کاهش معنی‌دار مقادیر NEFA و BHB در تمام گروه‌ها با افزایش تعداد روزهای شیرواری مشهود است ($P<۰/۰۰۱$).

مقادیر گلوکز پلاسما با درمان، زمان و اثرات متقابل زمان و درمان تحت تأثیر قرار نگرفت. همچنین اثر روی بر نسبت انسولین به گلوکز در بین گروه‌های آزمایشی غیر معنی‌دار بود ($P>۰/۰۵$).

غلظت انسولین خون نیز با درمان، زمان و اثرات متقابل زمان و درمان تحت تأثیر قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$). تجویز Zn-Met به صورت خوراکی و روزانه، افزایش معنی‌داری ($P<۰/۰۰۱$) را در غلظت روی سرم خون میش‌های دریافت کننده مکمل ایجاد نمود، که در گروه HZn بیشتر از گروه LZn بود (جدول ۲).

متعاقب انفوزیون وریدی گلوکز (IVGGT) مقادیر پایه گلوکز (زمان ۱۵- دقیقه) در گروه کنترل از ۱۷/۴۵±۶۹ به ۱۷/۴۵±۷۶/۵ در دقیقه ۱۵۰ پس از تزریق رسید. مقادیر گلوکز به لحاظ عددی در گروه‌های تحت درمان با روی نسبت به گروه کنترل کمتر بود. مساحت سطح زیر منحنی (AUC_{60}, AUC_{120}) برای گروه کنترل و LZn بیشترین و برای گروه HZn کمترین مقادیر را نشان داد ($P<۰/۰۵$) (جدول ۳).

نرخ پاکسازی گلوکز در میش‌های دریافت کننده مکمل Zn-Met نسبت به گروه کنترل از مقادیر بیشتری حمایت می‌کرد ($P<۰/۰۰۱$) (جدول ۳). زمان لازم برای رسیدن غلظت به نصف در میش‌های دریافت کننده مکمل روی به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ($P<۰/۰۰۱$) (جدول ۳).

همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود به استثنای گروه LZn، غلظت گلوکز تا دقیقه ۱۵۰ پس از تزریق گلوکز به حد پایه نرسیده است. این شاخص در گروه LZn در دقیقه ۹۰ پس از تزریق درون وریدی گلوکز بدست آمده است (نمودار ۱).

جدول ۱. اقلام خوراکی و آنالیز شیمیایی مواد خوراکی مورد استفاده در اوایل دوره شیرواری میش.

اقلام خوراکی	کل (درصد)
علوفه یونجه	۲۹
سیلوی ذرت	۱۴/۵
کاه گندم	۱۰/۹
دانه جو	۲۷/۵
کنجاله سویا	۱۰/۲
سبوس گندم	۷/۲۵
کربنات کلسیم	۰/۳۶
نمک	۰/۲۹
ترکیب شیمیایی جیره	
انرژی قابل متابولیسم ($Mcal\ day^{-1}$)	۳/۲۸
پروتئین خام (%DM)	۱۷/۴۸
الیاف نامحلول در شوینده خنثی(%DM)	۴۰/۹۲
چربی خام (%DM)	۲/۵۰
کلسیم (%DM)	۰/۶۷
فسفر (%DM)	۰/۳۸

جدول ۲. پارامترهای خونی میش‌های تحت درمان با زینک-متیونین در اوایل دوره شیرواری میش.

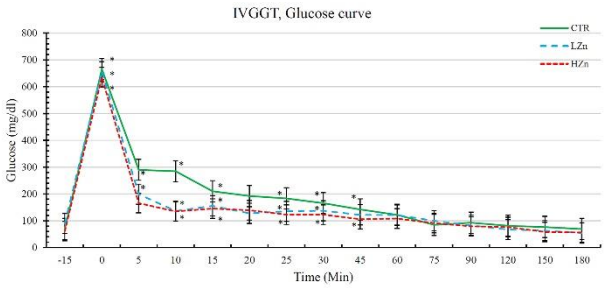
پارامتر		سه هفته اول پس از زایمان (زمان صفر روز زایمان)				*P* Value
		۰	۷	۱۴	۲۱	
گلوکز (میلی‌گرم/دسی لیتر)	HZn	۶۵/۴	۷۰/۲	۶۶/۲	۶۵/۲	NS
	LZn	۶۰/۲	۶۲/۶	۷۰/۸	۶۵	NS
	CTR	۶۹/۷	۶۵/۸	۶۹/۷	۶۳	NS
	±SEM	۴/۰۵	۴/۲	۴/۵	۲/۳	
BHB (میلی مول/لیتر)	HZn	۰/۵۲^{ab}	۰/۶۱^{a}	۰/۴۰^{b}	۰/۴۴^{b}	***
	LZn	۰/۷۵^{a}	۰/۵۸^{a}	۰/۴۵^{ab}	۰/۳۸^{b}	***
	CTR	۰/۵۹^{a}	۰/۶۵^{a}	۰/۴۹^{ab}	۰/۴۴^{b}	***
	±SEM	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۰۲	
NEFA (میلی مول/لیتر)	HZn	۰/۴۶^{a}	۰/۴۰^{ab}	۰/۳۶^{b}	۰/۳۲^{b}	***
	LZn	۰/۴۶^{a}	۰/۳۹^{ab}	۰/۳۵^{b}	۰/۳۴^{b}	***
	CTR	۰/۴۷	۰/۴۲	۰/۳۹	۰/۳۷	***
	±SEM	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	
تری گلیسرید (میلی گرم/دسی لیتر)	HZn	۱۶/۵	۶/۱۹	۱۷/۲	۱۹/۶	NS
	LZn	۱۶	۱۹/۲	۱۹	۱۶	NS
	CTR	۱۶/۹	۱۸/۴	۱۹/۶	۱۵/۸	NS
	±SEM	۱/۵	۲/۷	۱/۵	۱/۳	
کلسترول (میلی گرم /دسی لیتر)	HZn	۶۱/۳	۶۶/۸	۷۶/۶	۶۵/۴	NS
	LZn	۶۱^{b}	۷۸/۴^{a}	۷۶/۸^{a}	۶۵^{ab}	*
	CTR	۶۵/۲	۶۹/۲	۷۸/۲	۶۸/۸	NS
	±SEM	۳/۷	۳/۲	۵/۳	۳/۶	
روی (میکروگرم/دسی لیتر)	HZn	۷۶/۹۲^{c}	۸۹/۹۸^{bc}	۱۱۶/۴^{a}	۹۴/۱۰^{b}	***
	LZn	۷۴/۰۰^{b}	۸۷/۱۴^{ab}	۹۰/۲^{ab}	۹۲/۳۶^{a}	***
	CTR	۷۷/۵۶	۸۱/۸۲	۸۳/۹۴	۸۸/۵۸	NS
	±SEM	۳/۰۵	۴/۴۴	۶/۴۶	۶/۲۱	
انسولین (میکروواحد/میلی لیتر)	HZn	۱۲/۴۹	۱۴/۴۳	۱۴/۹۹	۱۶/۰۲	NS
	LZn	۱۲/۸۳	۱۴/۱۷	۱۴/۸۷	۱۶/۲۲	NS
	CTR	۱۳/۷۹	۱۵/۳۱	۱۴/۳۶	۱۶/۱۸	NS
	±SEM	۱/۱۲	۱/۳۳	۱/۱۱	۱/۱۴	
انسولین/گلوکز	HZn	۰/۱۹	۰/۲۱	۰/۲۳	۰/۲۵	NS
	LZn	۰/۲۱	۰/۲۳	۰/۲۱	۰/۲۵	NS
	CTR	۰/۲۱	۰/۲۳	۰/۲۱	۰/۲۶	NS
	±SEM	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	

^{a,b,c} در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌دار دارند ($P<۰/۰۵$).

جدول ۳. اثر زینک-متیونین بر شاخص‌های آزمایش تحمل گلوکز و مقاومت به انسولین در در اوایل دوره شیرواری میش.

متغیر	تیمار			SEM	*P* Value
بعد از تزریق درون وریدی گلوکز					
	CTR	LZn	HZn		
سطح زیر منحنی در دقیقه ۱۲۰ (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۷۹۴۳/۷۵^{a}	۱۰۳۲۰^{a}	۳۶۱۲/۵^{b}	۸۸۷/۰۲	*
سطح زیر منحنی در دقیقه ۶۰ (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۶۲۶۳/۷۵^{a}	۹۱۹۵^{a}	۳۰۹۱/۲۵^{b}	۶۱۲/۷۷	*
نرخ پاکسازی (درصد در دقیقه)	۲/۴۱^{b}	۴/۴۱^{a}	۴/۶^{a}	۰/۳۵	**
زمان لازم برای رسیدن غلظت به نصف (دقیقه)	۲۸/۸۶^{a}	۱۵/۸۵^{b}	۱۵/۱۷^{b}	۱/۰۶	**

^{a,b} در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌دار دارند ($P<۰/۰۵$).



نمودار ۱. اثر زینک-متیونین بر میزان گلوکز خون میش‌های شیروار دوره انتقال متعاقب تزریق وریدی گلوکز (IVGTT).* در هر زمان بیانگر اختلاف معنی‌دار با مقادیر پایه (نقطه زمانی ۱۵-) می‌باشد.

به عبارت بهتر نتایج حاصل از تجزیه آماری نشان داد که غلظت گلوکز پایه قبل از IVGTT در تیمارهایی که روی دریافت می‌کردند نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت ($P>۰/۰۵$)، (نمودار ۱). نرخ پاکسازی گلوکز توسط مکمل روی، بهبود یافته و منجر به نرخ پاکسازی بالاتر و منجر به زمان کوتاه‌تر برای رسیدن به نصف حداکثر غلظت گلوکز و زمان برای رسیدن به سطح پایه گردید (جدول ۳) (نمودار ۱).

بحث

در بررسی حاضر بـا تـوجه به اینکه میش‌ها در شرایط نسبتاً خوبی نگهداری مـی‌شـدند و جیـرهٔ آن‌هـا شامل علوفه با کیفیت مناسب (یونجه خشـک) و کنسانتره مرغوب بود، علائمی از مسمومیت آبستنی در میش‌های مـورد آزمـایش دیـده نشـد، میـزان گلوکـز خـون بین سه گروه تفاوت معنی‌داری نداشت، بنابراین میش‌ها در تمامی گروه‌های مورد مطالعه توانسته بودند گلوکز که سوخت اصلی جنین مـی‌باشـد را تأمـین کنـند. در بررسی‌های دیگر نیز میش‌هایی که در شـرایط نامناسب غـذایی قرار داشتند، توانسـته بودند با صـرفه جویی گلوکز و تکیه بیشتر به پیش ماده‌های گلوکزساز از منابعی غیر از جیره (به طور عمده امینواسیدهای داخلی) گلوکز خون را ثابت نگه داشته و مقادیر مورد نیاز برای جنین یا تولید شیر را تأمین کنند (۳۱).

در مطالعه حاضر با افزایش تعداد روزهای شیرواری سطح NEFA و BHB خون روند کاهشی دارد. پیشتر به اثرات مهاری اسیدهای چرب آزاد روی مصرف گلوکز اشاره شده است. اسیدهای چرب آزاد می‌توانند غلظت گلوکز پلاسما را با تحریک گلوکونئوژنز از طریق مکانیسم‌های مختلفی افزایش دهند که شامل، افزایش بروز ژن آنزیم‌های گلوکونئوژنیک، افزایش اکسیداسیون کبدی FFAs که منجر به افزایش تولید NADH، استیل‌کوآ و ATP می‌شود و نیز القای مقاومت به انسولین می‌باشد (۴۰). هرچند که مقادیر بالای اسیدهای چرب غیراستریفیه در ابتدای زایمان تأثیری بر میزان گلوکز و یا انسولین میش‌های مورد مطالعه نداشت. با این حال با کاهش مقادیر NEFA، افزایش عددی مقادیر انسولین سرم خون دیده می‌شود. در این رابطه در مطالعه‌ای روی گاوهای شیری حوالی زایمان، Kerestes و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که غلظت اسیدهای چرب غیر استریفیه به طور معنی‌داری با ترشح کمتر انسولین در ارتباط است (۲۵). مطالعات دیگر نیز کاهش ظرفیت ترشحی انسولین از پانکراس با افزایش سطح NEFA در گاوهای شیری را نشان دادند (۶). بنابراین، این احتمال وجود دارد که در مطالعه حاضر کاهش غلظت FFAs در دوره پس از زایمان منجر به افزایش ترشح انسولین از پانکراس شده باشد.

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که عنصر روی نقش مهمی در سنتز، ذخیره‌سازی، ترشح و بهبود عملکرد انسولین دارد و کمبود آن با مقاومت به انسولین مرتبط است (۲۸). PPAR γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor) یکی از گیرنده‌های داخل هسته‌ای می‌باشد که عمدتاً در بافت چربی بیان می‌شود و فعالیت آن با تحریک ناقل گلوکز وابسته به انسولین (GLUT4)، افزایش بیان آدیپونکتین و افزایش حساسیت به انسولین همراه است (۱۸). نقش مهم روی در ساختار پروتئین‌های دارای انگشت روی (zinc-finger proteins)، در تنظیم فعالیت و عملکرد PPARγ به اثبات رسیده است (۳۵). در بافت چربی و عضله، انسولین با فراهم کردن سوبسترای اسید چرب از طریق تحریک فعالیت لیپوپروتئین لیپاز (LPL) سبب تشویق سنتز تری‌گلیسرید می‌گردد. همچنین انسولین از طریق کاهش سطح cAMP و ممانعت از فعالیت پروتئین کیناز A و لیپاز حساس به هورمون باعث کاهش لیپولیز می‌گردد (۵). با این‌حال در مطالعه حاضر علی‌رغم افزایش سطح روی در میش‌های تحت درمان با Zn-Met و افزایش عددی میزان انسولین، تغییرات معنی‌داری در عیار انسولین خون دیده نمی‌شود. توجه به این نکته ضروری است که کاهش غلظت اسیدهای چرب غیر استریفیه در واقع انعکاسی از وضعیت روبه بهبود انرژی در میش‌های مورد مطالعه با افزایش تعداد روزهای شیرواری است که به دلیل کاهش تولید شیر و افزایش مصرف خوراک می‌باشد و نیز نکته حائز اهمیت در این مساله توجه به نقش روی در بهبود وضعیت انرژی حیوان می‌باشد.

مطالعات نشان داده‌اند که در کمبود روی سلول، بیان PPARγ هم در سطح mRNA و هم در سطح پروتئین به‌طور معنی‌داری کاهش و با مکمل روی افزایش می‌یابد (۴۲) و همچنین فعال شدن PPARγ با افزایش بیان آدیپونکتین همراه است (۱۸،۳۶). بنابراین شاید مکمل Zn-Met در مطالعه حاضر باعث فعال شدن PPARγ در بافت چربی شده و در نتیجه ترشح آدیپونکتین و سطح سرمی آن را افزایش داده است و این نیز با تحریک سوخت گلوکز و اکسیداسیون اسیدهای چرب از طریق فسفوریلاسیون و فعال کردن AMP کیناز در عضلات و کبد باعث افزایش برداشت گلوکز شده است که پیشتر توسط Okamoto و همکاران در سال ۲۰۰۶ توضیح داده شده است (۳۰). به همین دلیل شاهد بهبود وضعیت انرژی در میش‌های تحت درمان با Zn-Met خواهیم بود که این موضوع با کاهش بیشتر مقادیر BHB در این گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل تأیید می‌شود.

آزمایش تحمل گلوکز داخل وریدی (IVGTT) برای ارزیابی سنتز و ترشح انسولین توسط پانکراس در نشخوارکنندگان انجام شده است (۴،۱۱،۱۴). اساساً IVGTT عملکرد اولیه سلول‌های بتا (beta cells) را برای تولید انسولین ارزیابی می‌کند. الگوی پاسخ گلوکز سرم به تزریق درون وریدی گلوکز متعاقب IVGTT در مطالعه حاضر شبیه به الگوی گزارش شده در سایر مطالعات است (۱۳،۱۴،۲۰). در تحقیق حاضر نرخ پاکسازی گلوکز متعاقب آزمایش IVGTT در دام‌های تحت درمان با روی بیشتر بود. مقادیر بالای نرخ پاکسازی گلوکز در گروه‌های تحت درمان با روی، احتمالاً مربوط به غلظت‌های پایین‌تر انسولین، یا توسعهٔ مقاومت به انسولین یا به احتمال فراوان مربوط به هر دو عامل فوق در میش‌های گروه کنترل می‌باشد (۳۳). در آزمایش تحمل گلوکز، غلظت‌های پایه و حداکثر، نرخ پاکسازی سرم، نیمه عمر، زمان رسیدن به غلظت پایه، سطح زیر منحنی برای گلوکز سرم و نسبت گلوکز سرم به انسولین سرم، فراسنجه‌های لازم جهت ارزیابی تحمل گلوکز می‌باشد (۱۹). با این حال اطلاعات حاصل از آزمایش تحمل گلوکز به سادگی قابل تفسیر نمی‌باشد، برای مثال در طول آزمایش تحمل گلوکز مشخص نیست که آیا افزایش نرخ پاکسازی گلوکز سرم در نتیجه افزایش مصرف گلوکز است یا کاهش تولید گلوکز. در این مورد نسبت مولار انسولین سرم به گلوکز یا نسبت نرخ پاکسازی آن‌ها در مقایسه با نرخ پاکسازی گلوکز سرم شاخص بهتری برای مقاومت به انسولین می‌باشد (۳۹). بررسی حاضر نشان داد که جیره حاوی Zinc- Met با میزان بالا از نظر آماری سطح زیر منحنی گلوکز کمتری نسبت به گروه کنترل و گروه LZn دارد.

سطح زیر منحنی (AUC) گلوکز بالاتر در گروه‌های کنترل و LZn، نسبت به میش‌های گروه HZn نشان‌دهنده عدم کارایی انسولین برای پاک کردن میزان مشابه گلوکز در این گروه‌ها بوده، لذا ممکن است نشان‌دهنده درجه‌ای از مقاومت به انسولین باشد.

پاکسازی گلوکز پس از IVGTT نتیجه مصرف گلوکز توسط بافت‌های محیطی، جذب روده، تولید گلوکز در کبد و دفع آن از طریق کلیه است. همچنین مصرف گلوکز توسط غده شیری در اوایل شیردهی به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (۲۱)، و میزان مصرف گلوکز از گردش خون بستگی به میزان تولید شیر دارد. گرچه گلوکونئوژنز کبدی در گاوهای اوایل شیرواری افزایش می‌یابد (۲۲)، افزایش غلظت انسولین در نتیجه IVGTT باعث کاهش میزان گلوکونئوژنز در سلول‌های کبدی می‌شود (۸). در مطالعه حاضر تجزیه و تحلیل شاخص‌های مقاومت به انسولین نشان داد که مقادیر سطح زیر منحنی گلوکز در گروه کنترل به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای تحت درمان با Zn-Met بود. این یافته یک حالت مقاومت به انسولین و کاهش پاکسازی گلوکز توسط بافت‌ها را نشان می‌دهد. بنابراین، به‌نظر می‌رسد که افزایش غلظت روی سرم خون با افزایش ترشح انسولین از پانکراس و یا با افزایش حساسیت بافتی به انسولین در بهبود وضعیت سطح انرژی میش‌های شیروار مؤثر بوده باشد. همان‌طور که اشاره شد در این مطالعه، نرخ پاکسازی گلوکز متعاقب تزریق درون وریدی گلوکز معنی‌دار است؛ افزایش میزان پاکسازی گلوکز از خون در نتیجه افزایش انسولین ناشی می‌شود (۱۷). لذا می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که مصرف گلوکز خون توسط بافت‌های محیطی در میش‌های دریافت‌کننده روی بیشتر از گروه کنترل تحت تأثیر واقع شده است.

عموماً افزایش سطح انسولین خون، سبب کاهش فعالیت انسولین در سطح گیرنده و پس از گیرنده می‌گردد (۵). در مقاومت به انسولین کبدی، افزایش سطح انسولین خون با عدم توانایی انسولین در کاهش تولید گلوکز در کبد مرتبط است. در مقاومت به انسولین بافت محیطی، افزایش سطح انسولین خون با نقص مصرف و اکسیداسیون گلوکز در عضله و سلول‌های بافت چربی و عدم توانایی در کاهش آزاد شدن اسیدهای چرب از بافت چربی مرتبط می‌باشد (۳۷). بنابراین نتیجه حاصل از مطالعه حاضر بروز مقاومت به انسولین بافت محیطی را به ویژه در میش‌های گروه کنترل نشان می‌دهد. مطالعات نشان می‌دهند که در گاوهای شیروار، مقاومت به انسولین گاهی اوقات به معنی کاهش ترشح

انسولین پانکراس است (۲۱). با این حال در مطالعه حاضر مقادیر گلوکز نسبت به مقادیر اولیه میش‌های گروه کنترل ۵ و ۱۰ تا ۳۰ دقیقه پس از IVGTT به عنوان تأیید توانایی گلوکز برای تولید و انتشار انسولین از سلول‌های اندوکرین بتای پانکراس در میش‌های دریافت کننده Zn-Met می‌باشد.

Bossaert و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردندکه سطوح گلوکز خون در دقایق مختلف خونگیری آزمایش IVGTT متأثر از گلوکز تزریقی، گلوکز تولیدی از منشأ درونی، گلوکز جذب شده از روده، دفع گلوکز کلیوی و جذب گلوکز توسط بافت‌های حساس به انسولین (بافت ماهیچه اسکلتی و آدیپوز) می‌باشد (۷). میزان اینفیوژن گلوکز بر مبنای مقالات مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم گلوکز به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با اعمال محرومیت ۲۰ ساعتی از خوراک استفاده شد (۲۳،۳۲). از آنجایی که حدوداً تا ۲ ساعت پس از ارائه گلوکز، سطح آن در خون بایستی به سطح اولیه رسیده باشد (۳۲)، آزمایش تا دقیقه ۱۸۰ ادامه یافت. De koster و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند هرچه زمان بیشتری طول بکشد تا میزان گلوکز خون به حد طبیعی خود برگردد، بافت‌های بدن حالتی مقاوم به انسولین دارند. در حالت مقاومت به انسولین انتظار می‌رود نرخ پاکسازی پایین، سطح زیرمنحنی گلوکز زیاد و زمان رسیدن به نصف حداکثر غلظت گلوکز یا زمان رسیدن به غلظت پایه گلوکز بیشتر باشد (۱۲). با درنظر گرفتن این شاخص‌ها به نظر می‌رسد که حالت بهبود حساسیت به انسولین در میش‌هایی که زینک متیونین مصرف کرده بودند ایجاد شـــده اســـت. لذا به نظر می‌رسد اســـتفاده ازمکمل روی بتواند وضعیت متابولیسم گلوکز را در بدن بهبود دهد.

الگوی افزایش قابل توجهی از انسولین و قند خون پس از تزریق گلوکز در گاوهای شیری اوایل دوره شیردهی گزارش شده است (۲۱،۳۳). در آزمایش آن‌ها، گلوکز در ۴ ساعت به طور معنی‌داری در سطوح بالاتر از مقادیر خط پایه باقی مانده بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که مقاومت به انسولین در گاوهای اوایل شیردهی وجود دارد. بر اساس این یافته و بر اساس نتایج حاضر، به نظر می‌رسد که واکنش ترشح انسولین به گلوکز و همچنین حساسیت به انسولین در بافت‌های محیطی ممکن است در طول اوایل شیرواری کاهش یابد. به عبارتی کاهش نرخ پاکسازی ترشح گلوکز پس از زایمان به علت افزایش مقاومت به انسولین است که با تشدید لیپولیز از آدیپوسیت‌ها مشخص می‌شود، این یافته در مطابقت با سایر مطالعات قبلی می‌باشد (۲۱،۳۳).

متابولیت‌های انسولین و لیپید نسبتاً رابطه‌ی معکوسی با هم دارند (۶). انسولین با مهار لیپولیز، تحریک لیپوژنز و با افزایش استفاده از کتون بادی‌ها در بافت‌های محیطی اثر آنتی‌کتوژنیک دارد (۸). علاوه بر این، انسولین فعالیت آنزیمی کبدی را برای استریفیه کردن مجدد NEFA به تری اسیل گلیسرول افزایش می‌دهد (۱۶). همچنین انسولین اکسیداسیون NEFA در سلول‌های میتوکندری کبدی را به واسطه کاهش فعالیت پالمیتوئیل ترانسفراز-۱ (CPT-1) و درنتیجه کاهش جذب میتوکندریایی NEFA کاهش می‌دهد (۴۳). NEFA و BHB به طور کلی پاسخ انسولین و گلوکز را به خطر می‌اندازند. NEFA نه تنها منجر به بروز اختلال در چندین مسیر انسولین می‌شود، بلکه می‌تواند منجر به اختلال در تولید انسولین پانکراس نیز گردد. نشان داده شده است که NEFA رابطه منفی با AUC انسولین و سطوح پیک، بدون تأثیر روی پارامترهای گلوکز در گاوهای پس از زایمان دارد (۶). افزایش تری‌گلیسرید و بویژه سطح NEFA عامل تشدید کننده مقاومت به انسولین است و می‌تواند توسط تزریق نیکوتینیک اسید کاهش یابد (۳۲). همچنین در مطالعه‌ای نشان داده شده است که هیپرلیپیدمی تجربی با استفاده از غلظت بالای NEFA سبب مقاومت به انسولین در گوسفندان می‌شود (۲). Hayirli در سال ۲۰۰۶ گزارش داد که غلظت بالای NEFA سبب کاهش استفاده از گلوکز در بافت‌ها، کاهش تعداد گیرنده GLUT4 و اختلال در مسیرهای سیگنالینگ انسولین داخل سلولی در بافت‌های کبد و محیطی می‌شود (۲۰). کاهش در غلظت گلوکز اولیه، انتشار گلوکز و انسولین و میزان پاکسازی گلوکز در عین حال افزایش آزادسازی چربی و کتوژنز، نشانه‌هایی از مقاومت به انسولین در نشخوارکنندگان به دلیل مواجهه با سوء تغذیه و کتوزیس ناشی از آن است. یافته‌های حاضر کاهش مقادیر NEFA و BHB را به لحاظ عددی در گروه‌های تحت درمان با Zn-Met به ویژه در گروه دریافت کننده میزان بالا نشان می‌دهد که احتمالاً دلیلی بر بهبود پاسخ به انسولین در گروه‌های تحت درمان با روی می‌باشد.

نتیجه گیری: یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهند که مکمل غذایی زینک-متیونین به ویژه با میزان بالا (۳۰۰ میلی‌گرم به ازای ماده خشک خوراک)، در بهبود بالانس منفی انرژی و جلوگیری از مقاومت به انسولین در میش‌های شیروار پس از زایش مؤثر بوده و این احتمال وجود دارد که پاسخ به انسولین در میش‌ها در کنار استفاده از مکمل‌های حاوی روی بهبود پیدا کند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله نویسندگان از دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه ارومیه، جهت تأمین منابع مالی این تحقیق، کمال تشکر را دارند. همچنین نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از شرکت سنا دام پارس از بابت حمایت در تأمین مکمل زینک-متیونین اعلام می‌دارد.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Adewuyi, A., Gruys, E., Van Eerdenburg, F. (2005). Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. Vet Q, 27, 117-126. https://doi.org/10.1080/01652176.2005.9695192
2. Akbari, H., Dalir-Naghadeh, B., Asri-Rezaei, S., Hadian, M., Boston, R. (2015). Experimental hyperlipidemia induces insulin resistance in sheep. Domest Anim Endocrinol, 53, 95-102. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2015.06.002
3. Allen, M., Bradford, B., Oba, M. (2009). Board-invited review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. J Anim Sci, 87, 3317-3334. https://doi.org/10.2527/jas.2009-1779
4. Attaee-Nazari, S., Ganjkhanlou, M., Zali, A., Amini, M. (2016). Effects of omega-3 fat supplementation and feeding frequency on glucose metabolism and insulin in on Mahabad kid. J Vet Res, 71, 415-422. (In Persian)
5. Berne, R.M., Levy, M.N. (2005). Principles of Physiology. (4st ed.) St Louis, Elsevier, Mosby. p. 509-517.
6. Bossaert, P., Leroy, J., De Vliegher, S., Opsomer, G. (2008). Interrelations between glucose-induced insulin response, metabolic indicators, and time of first ovulation in high-yielding dairy cows. J Dairy Sci, 91, 3363-3371. https://doi.org/10.3168/jds.2008-0994
7. Bossaert, P., Leroy, J., De Campeneere, S., De Vliegher, 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, 91, 92, 4404-4411. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2218
8. Brockman, R.P., Laarveld, B. (1986). Effect of insulin on gluconeogenesis and the metabolism of lactate in sheep. Can J Physiol Pharmacol, 64, 1055-1059. https://doi.org/10.1139/y86-181
9. Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H, Grünberg, W. (2016). Veterinary Medicine-e-Book: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats (11st ed.) Elsevier Health Sciences. St. Louis, Missouri. p. 1722-1726.
10. Contreras, G.A., Strieder-Barboza, C., Raphael, W. (2017). Adipose tissue lipolysis and remodeling during the transition period of dairy cows. J Anim Sci Biotech, 8, 41. https://doi.org/10.1186/s40104-017-0174-4
11. De Koster, J., Van Eetvelde, M., Hermans, K., Van Den Broeck, W., Hostens, M., Opsomer, G. (2017). Limitations of glucose tolerance tests in the assessment of peripheral tissue insulin sensitivity during pregnancy and lactation in dairy heifers. J Dairy Sci, 100, 2381-2387. https://doi.org/10.3168/jds.2016-11792
12. De Koster, J.D., Opsomer, G. (2013). Insulin resistance in dairy cows. Vet Clin North Am Food Anim Pract, 29, 299-322. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.04.002
13. Djokovic, R., Šamanc, H., Nikolić, Z., Bogosavljević, S.B. (2007). Changes in blood values of glucose, insulin and inorganic phosphorus in healthy and ketotic dairy cows after intravenous infusion of propionate solution. Acta Vet Brno, 76, 533-539. https://doi.org/10.2754/avb200776040533
14. Djokovic, R., Šamanc, H., Ilić, Z., Kurćubić, V. (2009). Blood glucose, insulin and inorganic phosphorus in healthy and ketotic dairy cows after intravenous infusion of glucose solution. Acta Vet Brno, 78, 449-453. https://doi.org/10.2754/avb200978030449
15. Doepel, L., Lapierre, H., Kennelly, J. (2002). Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. J Dairy Sci, 85, 2315-2334. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74312-9
16. Emmison, N., Zammit, V, Agius, L. (1992). Triacylglycerol accumulation and secretion in hepatocyte cultures. Effects of insulin, albumin and Triton WR 1339. Biochem J, 285, 655-660. https://doi.org/10.1042/bj2850655
17. Frangioudakis, G., Gyte, A.C., Loxham, S.J., Poucher, S.M. (2008). The intravenous glucose tolerance test in cannulated Wistar rats: a robust method for the in vivo assessment of glucose-stimulated insulin secretion. J Pharmacol Toxicol Methods, 57, 106-113. https://doi.org/10.1016/j.vascn.2007.12.002
18. Ferré, P. (2004). The biology of peroxisome proliferator-activated receptors: relationship with lipid metabolism and insulin sensitivity. Diabetes, 53, S43-S50. https://doi.org/10.2337/diabetes.53.2007.S43
19. Hayirli, A., Bremmer, D., Bertics, S., Socha, M., Grummer, R. (2001). Effect of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cows. J Dairy Sci, 84, 1218-1230. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74583-3
20. Hayirli, A. (2006). The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 30, 749-774. https://doi.org/10.1007/s11259-006-3320-6
21. Holtenius, K., Agenäs, S., Delavaud, C., Chilliard, Y. (2003). Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. J Dairy Science, 86, 883-891. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73671-6
22. Ingvartsen, K.L. (2006). Feeding-and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce

feeding-related diseases. Anim Feed Sci Technol, 126, 175-213. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.08.003
23. 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, 1784-1792. https://doi.org/10.1172/JCI29126
24. Kaneko, J.J. (2008). Carbohydrate metabolism and its diseases. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. (6th ed.) Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. (eds.). Academic Press, San Diego, CA, p. 45-80.
25. Kerestes, M., Faigl, V., Kulcsár, M, Balogh, O., Földi, J, Fébel, H., Chilliard, Y., Huszenicza G. (2009). Periparturient insulin secretion and whole-body insulin responsiveness in dairy cows showing various forms of ketone pattern with or without puerperal metritis. Domest Anim Endocrinol, 37, 250-261. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2009.07.003
26. Myers, S.A. (2015). Zinc transporters and zinc signaling: new insights into their role in type 2 diabetes. Int J Endocrinol, 2015, 1-7. http://dx.doi.org/10.1155/2015/167503
27. Nocek, J., Socha, M., Tomlinson, D. (2006). The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. J Dairy Sci, 89, 2679-2693. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72344-X
28. Norouzi, S., Adulcikas, J., Sohal, S.S., Myers, S. (2017) Zinc transporters and insulin resistance: therapeutic implications for type 2 diabetes and metabolic disease. J Biomed Sci, 24, 87-97. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191727
29. NRC, (2007). Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids National Research Council. The National Academies Press, Washington, DC. p. 244-270.
30. Okamoto, Y., Kihara, S., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., Libby, P. (2006). Adiponectin: a key adipocytokine in metabolic syndrome. Clin Sci, 110, 267-278. https://doi.org/10.1042/CS20050182
31. Petterson, J.A., Dunshea, F.R., Ehrhardt, R.A., Bell, A.W. (1993). Pregnancy and undernutrition alter glucose metabolic responses to insulin in sheep. J Nut, 123, 1286-1295. https://doi.org/10.1093/jn/123.7.1286
32. Pires, J., Pescara, J., Grummer, R. (2007a). Reduction of plasma NEFA concentration by nicotinic acid enhances the response to insulin in feed-restricted Holstein cows. J Dairy Sci, 90, 4635-4642. https://doi.org/10.3168/jds.2007-0146
33. Pires, J., Souza, A., Grummer, R. (2007b). Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. J Dairy Sci, 90, 2735-2744. https://doi.org/10.3168/jds.2006-759
34. Rojas, L., McDowell, L., Cousins, R., Martin, F., Wilkinson, N., Johnson, A.B., Velasquez, J. (1995). Relative bioavailability of two organic and two inorganic zinc sources fed to sheep. J Anim Sci, 73, 1202-1207. https://doi.org/10.2527/1995.7341202x
35. Rosen, E.D., Spiegelman, B.M. (2001). PPARγ: a nuclear regulator of metabolism, differentiation, and cell growth. J Biol Chem, 276, 37731-37734. https://doi.org/10.1074/jbc.R100034200
36. Shen, H., MacDonald, R., Bruemmer, D., Stromberg, A., Daugherty, A., Li, Xa., Toborek, M., Hennig, B. (2007). Zinc deficiency alters lipid metabolism in LDL receptor–deficient mice treated with rosiglitazone. J Nut, 137, 2339-2345. https://doi.org/10.1093/jn/137.11.2339
37. Sparks, J.D., Chamberlain, J.M., O'Dell, C., Khatun, I., Hussain, M.M., Sparks, C.E. (2011). Acute suppression of apo B secretion by insulin occurs independently of MTP. Biochem Biophys Res Commun, 406, 252-256. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.02.028
38. Spears, J. (1989). Zinc methionine for ruminants: relative bioavailability of zinc in lambs and effects of growth and performance of growing heifers. J Anim Sci 67, 835-843. https://doi.org/10.2527/jas1989.673835x
39. Subiyatno, A., Mowat, D., Yang, W. (1996). Metabolite and hormonal responses to glucose or propionate infusions in periparturient dairy cows supplemented with chromium. J Dairy Sci, 79, 1436-1445. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76502-5
40. Van Kempen, A.A., Van der Crabben, S.N., Ackermans, M.T., Endert, E., Kok, J.H., Sauerwein, H.P. (2006). Stimulation of gluconeogenesis by intravenous lipids in preterm infants: response depends on fatty acid profile. Am J Physiol Endocrinol Metab, 290, 723-730. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00303.2005
41. Wedekind, K., Hortin, A., Baker, D. (1992) Methodology for assessing zinc bioavailability: efficacy estimates for zinc-methionine, zinc sulfate, and zinc oxide. J Anim Sci, 70, 178-187. https://doi.org/10.2527/1992.701178x
42. Yang, W.S., Jeng, C.Y., Wu, T.J., Tanaka, S., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., Wang, J.P., Chen, C.L., Tai, T.Y., Chuang, L.M. (2002). Synthetic peroxisome proliferator-activated receptor-γ agonist, rosiglitazone, increases plasma levels of adiponectin in type 2 diabetic patients. Diabetes Care, 25, 376-380. https://doi.org/10.2337/diacare.25.2.376
43. Zammit, V.A. (1996). Role of insulin in hepatic fatty acid partitioning: emerging concepts. Biochem J, 15, 1-14. https://doi.org/10.1042/bj3140001

Journal of Veterinary Research
J Vet Res, Volume 75, Number 3, 2020
Original Article

A Study of the Effect of Organic Zinc Supplementation on Glucose Metabolism and Insulin Resistance Indices in Early Lactation Ewes

Milad Hashemi[1], Ehsan Anassori[2], Rasoul Pirmohammadi[3], Siamak Asri-Rezaei[2]

[1] *Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*
[2] *Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*
[3] *Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran*

10.22059/jvr.2019.286367.2953
Received: *9 August 2020,* ***Accepted:*** *7 October 2020*

Abstract

BACKGROUND: The decreases in insulin sensitivity and extensive perinatal lipolysis are common causes of metabolic diseases related to energy metabolism in ewes.
OBJECTIVES: The present study was designed to study the effect of organic zinc on glucose metabolism and insulin resistance indices in early lactating ewes.
METHODS: 18 Ghezel ewes were divided into three groups based on organic zinc supplementation, including CTR: (basal diet without Zinc), LZn: (basal diet supplemented with 30 mg Zn/kgDM) and group 3, HZn: (basal diet supplemented with 300 mg Zn/kgDM).
RESULTS: The results of this study showed no significant differences between the experimental groups in glucose, NEFAs, BHB, cholesterol, triglyceride, and insulin concentrations. Furthermore, the effect of zinc on the insulin to glucose ratio was not significant among the experimental groups (P>0.05). Supplementation of zinc-methionine significantly increased serum zinc concentration in ewes (P<0.001). The area under the curve (AUC_{60}, AUC_{120}) was the highest for the control group and LZn and the lowest for HZn group (P<0.05). The rate of glucose clearance in zinc-methionine supplement recipients was higher compared to the control group. The time to reach half maximal glucose concentration in zinc treated ewes was significantly lower than that of the control group (P<0.001), indicating an improvement in insulin sensitivity and glucose metabolism.
CONCLUSIONS: Our findings indicate that Zinc is effective in improving the NEB and preventing insulin resistance in early lactation. It is possible that in sheep, the tissue responsiveness to insulin is enhanced with dietary Zn supplementation, and present findings suggest that dietary Zn-Met may improve energy balance and insulin resistance in lactating ewes.

Keywords: Ewe, Insulin, Glucose, Lactation, Zinc

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: e.anassori@urmia.ac.ir Tel/Fax: 044-31942625/044-2777099

How to cite this article:

Hashemi, M., Anassori, E., Pirmohammadi, R., Asri-Rezaei, S. (2021). A Study of the Effect of Organic Zinc Supplementation on Glucose Metabolism and Insulin Resistance Indices in Early Lactation Ewes. J Vet Res, 75(4), 475-485. https://doi.org/10.22059/jvr.2019.286367.2953

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Ingredient and chemical analysis of nutrients used in early lactation ewe.
Table 2. Blood parameters of Zn-Met-treated ewes in early lactation. ^{a,b,c} in each row, means with different superscript letters differ significantly (P<0.05).
Table 3. Effect of Zn-Met on glucose tolerance and insulin resistance indices in early lactation ewe. ^{a,b} in each row, means with different superscript letters differ significantly (P<0.05).
Figure 1. Effect of Zn-Met on blood glucose in early lactating ewes following intra venus glucose injection (IVGTT). * Indicates significant differences (P<0.05) between each time point versus baseline level (time point -15).