



## اثر سطوح مختلف اسید آمینه لوسین بر عملکرد، خصوصیات و کیفیت لاشه و بیان ژن‌های IGF-1 و انسولین در جوجه‌های گوشتی

سیدسعید صادق‌زاده<sup>۱</sup>، محسن دانشیار<sup>۱</sup>، پرویز فره‌مند<sup>۱</sup>، محمدرضا یزدیان<sup>۲</sup>، سیدمحمد هاشمی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

<sup>۲</sup> گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

<sup>۳</sup> گروه علوم دامی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قم، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، قم، ایران

تاریخ دریافت: ۱۰ اسفند ماه ۱۳۹۹، تاریخ پذیرش: ۱۱ اردیبهشت ماه ۱۴۰۰



10.22059/jvr.2020.263312.2834



20.1001.1.20082525.1400.76.3.9.1

### چکیده

**زمینه مطالعه:** لوسین یکی از اسیدهای آمینه شاخه‌دار می‌باشد که از طریق تحریک ترشح انسولین نقش مهمی در آنابولیسم عضلات، بافت چربی و کبد دارد. **هدف:** اثرات سطوح متفاوت لوسین بر عملکرد، خصوصیات و کیفیت لاشه و بیان ژن‌های فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1) و انسولین در جوجه‌های گوشتی بررسی شد.

**روش کار:** ۵ سطح ال-لوسین (۱۰۰، ۱۱۰، ۱۲۰، ۱۳۰ و ۱۴۰ درصد نیازهای سویه راس) با ۲۵۰ قطعه جوجه نر یک‌روزه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۵ تکرار (۱۰ جوجه در هر تکرار) مورد ارزیابی قرار گرفت. در سن ۴۲ روزگی، نمونه‌های خون ۲ قطعه جوجه از هر تکرار (۱۰ جوجه از هر تیمار) برای اندازه‌گیری بیان ژن IGF-1 سرم جمع‌آوری شد. سپس این جوجه‌ها بررسی و خصوصیات، کیفیت لاشه، نمونه برداری از عضله کبد و سینه برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های IGF-1 سرم و انسولین کشتار شدند.

**نتایج:** وزن بدن با مصرف سطح ۱۴۰ درصد لوسین در مقایسه با سطح ۱۰۰ درصد افزایش یافت. کاهش ضریب تبدیل خوراک با مصرف سطح ۱۴۰ درصد لوسین مشاهده شد. بیان ژن IGF-1 عضله سینه و کبد با مصرف سطح ۱۱۰ درصد افزایش یافت. بعلاوه، مصرف سطح ۱۱۰ درصد لوسین باعث افزایش بیان ژن انسولین عضله سینه و کبد گردید. افزودن سطح ۱۳۰ درصد لوسین موجب بهبود مقادیر پروتئین، چربی و خاکستر گوشت گردید. همچنین مصرف سطح ۱۱۰ درصد لوسین موجب افزایش غلظت IGF-1 سرم شد.

**نتیجه‌گیری نهایی:** مصرف لوسین در جیره جوجه‌های گوشتی باعث افزایش بیان ژن IGF-1 و انسولین و در نتیجه بهبود عملکرد، کیفیت لاشه و کاهش درصد چربی محوطه بطنی در جوجه‌های گوشتی می‌گردد.

**کلمات کلیدی:** انسولین، ال-لوسین، بیان ژن، جوجه‌های گوشتی، IGF-1

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

نویسنده مسئول: محسن دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران  
پست الکترونیکی: m.daneshyar@urmia.ac.ir

### مقدمه

اسیدهای آمینه شاخه‌دار در پرورش مرغ گوشتی، در هنگام گرسنگی، فعالیت شدید و تولید گوشت سینه، به عنوان منبع انرژی ماهیچه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. در واقع با کاهش سطوح انرژی (ATP) در طیور، کاتابولیسم اسیدهای آمینه شاخه‌دار لوسین

اسیدهای آمینه شاخه‌دار (لوسین، والین و ایزولوسین) نقش‌های متابولیسمی اساسی در تغذیه طیور، بخصوص در مرحله رشد دارند (۲۹). تعادل مناسب اسیدهای آمینه شاخه‌دار در جیره طیور سبب بهبود مسیر تولید انرژی و متابولیسم پروتئین می‌گردد (۱۶).

گرم در کیلوگرم جیره در جوجه‌های گوشتی میزان چربی لاشه را کاهش داده است (۱۱). از آنجایی که لوسین تنها اسید آمینه‌ای است که می‌تواند موجب افزایش انسولین خون بصورت غیر وابسته به قند خون شود و از تجزیه پروتئین عضلات جلوگیری کند (۲۴،۳۵)، بنابراین مکمل‌سازی لوسین به عنوان مهم‌ترین اسید آمینه شاخه‌دار، نقش مهار کننده‌ای در مورد تجزیه پروتئین‌های بدن به ویژه ماهیچه‌ها دارد (۳۴). با وجود منابع انرژی کافی (قند و چربی) مکمل‌سازی لوسین به افزایش تولید پروتئین در عضلات کمک می‌کند. با توجه به نقش‌های گسترده متابولیک لوسین و کاهش سن کشتار جوجه‌های گوشتی و لزوم تولید لاشه‌هایی با چربی کمتر و کیفیت مطلوب‌تر، اهمیت ارزیابی لوسین به عنوان عامل مؤثر در تولید لاشه‌های با کیفیت و تعیین سطوح مؤثر از این اسید آمینه اهمیت دو چندان پیدا کرده است. بنابراین هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر سطوح مختلف اسید آمینه لوسین بر عملکرد، خصوصیات و کیفیت لاشه و بیان ژن‌های IGF-1 و انسولین در جوجه‌های گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ بود.

### مواد و روش کار

مطالعه حاضر بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۲۵۰ قطعه جوجه خروس گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ از ۱ تا ۴۲ روزگی در ۵ تیمار و ۵ تکرار (با ۱۰ جوجه در هر تیمار) انجام گردید. کلیه جیره‌های غذایی برای آزمایش براساس داده‌های حاصل از آنالیز مواد خوراکی مورد استفاده برای مراحل آغازین (صفر تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) طبق نیازهای تغذیه‌ای ارائه شده در کتابچه راهنمای مدیریتی راس ۳۰۸ (۲۰۱۴) تنظیم شدند. پنج سطح ال-لوسین (۱۰۰، ۱۱۰، ۱۲۰، ۱۳۰ و ۱۴۰ درصد نیازهای سویه راس ۳۰۸)، به عنوان تیمارهای آزمایشی استفاده شدند.

جیره‌های آزمایشی فاقد هر گونه داروی ضد کوکسیدیوز و آنتی بیوتیک بودند. به منظور آنالیز شیمیایی، ۱ کیلوگرم از هر نمونه تهیه و در آسیاب آزمایشگاهی با الک ۱ میلی‌متر آسیاب گردید. مقادیر ماده خشک، پروتئین خام، خاکستر و چربی نمونه‌ها طبق روش‌های توصیه شده AOAC (۲۰۰۰) اندازه‌گیری شد. به منظور تعیین پروفایل اسیدهای آمینه ذرت و کنجاله سویا، مقدار ۵۰۰ گرم از هر نمونه تهیه شد و پروفایل کلیه اسیدهای آمینه مورد استفاده در جیره‌های آزمایشی بخصوص اسید آمینه لوسین و ترکیب شیمیایی در آزمایشگاه مرکزی شرکت دگوسا در تهران با استفاده از

و والین در بافت ماهیچه‌ای افزایش می‌یابد (۳۷). بنابراین تغییر منبع انرژی سلول به منابع چربی و کربوهیدرات موجب تغییر مسیر اسیدهای آمینه شاخه‌دار از مسیرهای متابولیک به سمت تولید پروتئین می‌شود. به عبارت دیگر اکسیداسیون اسیدهای آمینه شاخه‌دار در جوجه‌های گوشتی با سرعت رشد بالا، بسیار زیاد می‌باشد. تحت این شرایط، اسیدهای آمینه شاخه‌دار به جای تولید پروتئین عضلات جهت تولید انرژی مورد استفاده قرار می‌گیرد. لوسین به عنوان منبع نیتروژن برای سنتز آلانین، گلوتامین و به عنوان پیش‌ساز برای تأمین اسکلت کربنی جهت گلوکونئوز در کبد ایفای نقش می‌کند (۳۴).

روند سنتز پروتئین در سلول‌های ماهیچه‌ای توسط کمپلکس هدف راپامایسین پستانداران (mammalian target of rapamycin- mTOR) تنظیم می‌گردد. گیرنده‌های mTOR پیام‌هایی از ترکیبات خارج سلولی (که فعال کننده و یا مهار کننده سنتز پروتئین می‌باشند) را دریافت می‌کنند. لوسین می‌تواند یکی از این ترکیبات پیام‌رسان باشد (۲). لوسین یکی از اسیدهای آمینه شاخه‌دار است که در عضله اکسید می‌شود (۲۷). لوسین در مقایسه با دو اسید آمینه شاخه‌دار دیگر، سرعت اکسیداسیون بالاتری دارد (۳۷)؛ اولین نقش این اسید آمینه شرکت در ساختمان پروتئین‌های بدن می‌باشد (۳).

فاکتورهای رشد شبه انسولینی (IGF)، تنظیم کننده‌های مهمی برای تحریک رشد، تحریک تولید اسیدهای آمینه، متابولیسم گلوکز، سنتز DNA، سنتز پروتئین و تکثیر و تمایز انواع مختلف سلول‌ها محسوب می‌شوند (۳۸). انسولین و IGF-1 از محرک‌های سنتز پروتئین می‌باشند (۱۸). IGF-1 یک تنظیم کننده کلیدی بالقوه رشد و ترکیب ماهیچه‌های بدن جوجه‌های گوشتی می‌باشد (۳۳). لوسین با تحریک مستقیم فعال سازی mTOR و یا از طریق تحریک سنتز IGF-1 ترشحی از کبد، نقش مهمی در سنتز پروتئین ایفا می‌کند (۹،۱۰). نقش دیگر لوسین فعال سازی انسولین به عنوان محرک سنتز پروتئین در ماهیچه بخصوص در هنگام دسترسی به میزان کافی اسید آمینه و انرژی می‌باشد (۱۴،۳۴). در مطالعات گذشته معلوم شد که مصرف خوراکی لوسین موجب افزایش سطوح انسولین سرم می‌شود که سنتز پروتئین القاء شده با این اسید آمینه را تحریک می‌کند (۲۷،۳۰). لوسین به عنوان یک سیگنال غذایی، سنتز پروتئین را در سلول‌های چربی و سایر سلول‌ها از طریق مکانیسم‌های مستقل از انسولین تنظیم می‌کند (۲۱،۲۲،۳۱). گزارش شده است که افزایش لوسین به میزان ۰/۵

بار آزمایش برای حصول اطمینان) استفاده گردید. ابتدا بافت کبد و سینه به طور جداگانه در داخل هاون ریخته شده و ازت مایع به آن اضافه شد و به صورت مکانیکی با دسته هاون له شد تا پودر گردد. پودر حاصله در داخل یک میکروتیوب ۱/۵ سی سی استریل ریخته شد و با استفاده از کیت Ribospin<sup>TM</sup> شرکت Gene All کره جنوبی طبق پروتکل مربوطه استخراج گردید (۲۰). تعیین کمیت و کیفیت RNA استخراج شده به ترتیب با استفاده از دستگاه نانو دراپ و روش الکتروفورز انجام شد (تصویر ۱).

بعد از استخراج RNA با استفاده از کیت HyperScript<sup>TM</sup> (with Random hexamer) RT premix شرکت GeneAll، سنتز شد و در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای بررسی صحت استخراج cDNA با استفاده از پرایمرهای طراحی شده (جدول ۱) انجام گرفت. بعد از انجام واکنش، محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز با ژل آگارز (۱ درصد) مورد ارزیابی قرار گرفتند (تصویر ۱).

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای ژن IGF-1 و انسولین با دستگاه ترموسایکلر Reacon-TCY انجام شد. برای سنجش بیان ژن‌های IGF-1 و انسولین از تکنیک Real-Time PCR از نوع سنجش کمی به روش SYBR Green استفاده گردید. همچنین ژن GAPDH به عنوان ژن کنترل داخلی انتخاب شد. جهت محاسبه بیان ژن هدف نسبت به رفرنس، از روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$  استفاده شد (۲۶).

$$\Delta CT = CT_{\text{Target}} - CT_{\text{GAPDH}}$$

$$\Delta CT = CT_{\text{Target}} - CT_{\text{GAPDH}}$$

$$\Delta\Delta CT = \Delta CT_{\text{sample}} - \Delta CT_{\text{Reference}} \quad RQ = 2^{-(\Delta\Delta CT)}$$

کلید داده‌های مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۵ تکرار برای هر یک با استفاده از رویه GLM و UNIVARIATE نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۲) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین تیمارها، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید. برای آنالیز داده‌های Real Time PCR از نرم افزار REST استفاده شد.

مدل آماری مطالعه به شرح زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

که در این مدل  $Y_{ij}$  مقدار هر مشاهده،  $\mu$  اثر میانگین جامعه و  $\tau_i$  اثر تیمار آزمایش و  $\epsilon_{ij}$  خطای آزمایشی بود.

روش NIR (Near Infrared Spectroscopy) اندازه‌گیری شد. اسیدآمینه ال-لوسین مورد استفاده در مطالعه حاضر از شرکت ژاپنی آجینوموتو (با خلوص ۹۹ درصد) تهیه شد.

جوجه‌ها به محض ورود به صورت انفرادی وزن کشی شدند به طوری که تفاوتی بین وزن اولیه واحدهای آزمایشی وجود نداشت. جوجه‌ها در طول دوره آزمایشی تحت برنامه نوری سویه راس بودند و در طول شبانه روز به صورت آزاد به آب و خوراک دسترسی داشتند. آنالیز شیمیایی مواد خوراکی مورد استفاده در جیره و مقادیر اسیدهای آمینه قابل هضم برای جیره نویسی در نرم افزار UFFDA استفاده شد و جیره بر اساس اسیدهای آمینه قابل هضم تنظیم و ترکیب مواد مغذی جیره پایه گزارش شد. افزایش وزن، مقدار خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های آغازین (۱-۱۰ روزه)، رشد (۱۱-۲۴ روزه) و پایانی (۲۵-۴۲ روزه) اندازه‌گیری و محاسبه شدند.

در سن ۴۲ روزگی، ۲ قطعه جوجه از هر واحد آزمایشی (۱۰ جوجه از هر تکرار) به طور تصادفی انتخاب، وزن کشی و جهت نمونه‌برداری خون و اندازه‌گیری شاخص‌های کمی لاشه (درصد لاشه، سینه، ران، کبد، روده کوچک و سنگدان نسبت به وزن بدن) و کیفی لاشه (درصد ماده خشک، چربی، پروتئین و خاکستر) کشتار شدند. خون‌گیری از ورید بال در سن ۴۲ روزگی صورت گرفت. نمونه‌های خون داخل لوله‌های استریل ریخته شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ گردید و سرم آن‌ها جدا شد. اندازه‌گیری IGF-1 سرم به روش ELISA و کیت IGF-1 شرکت LDN انجام شد.

بعد از وزن‌کشی سینه، ۱۰۰ گرم ماهیچه سینه از هر مرغ کشتار شده جداسازی و چرخش دو درصد ماده خشک با قرار دادن نمونه‌ها در آون ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد. درصد چربی خام به روش سوکسوله (Soxtec ۲۰۵۰, Sweden) و درصد پروتئین ماهیچه سینه به‌طور غیر مستقیم به وسیله روش کلدال با استفاده از دستگاه کلدال اتوماتیک (Foss, Kjeltec<sup>TM</sup> ۲۳۰۰ Sweden) محاسبه شد. درصد خاکستر عضله سینه با قراردادن نمونه‌های فاقد رطوبت در کوره ۶۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت تعیین شد (AOAC, ۲۰۰۰).

در سن ۴۲ روزگی، نمونه‌های عضله سینه (پکتورالیس) و کبد پرنده‌های کشتار شده به منظور ارزیابی بیان ژن انسولین و IGF-1 اخذ گردید و در آزمایشگاه توسط RNA هولدر در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و برای استخراج RNA در دو Run (دو

جدول ۱. اجزای خوراکی و مواد مغذی جیره‌های آزمایش: سطح اسید آمینه لوسین در دوره آغازین، رشد و پایانی.

اجزای جیره آغازین	آغازین (درصد جیره)	رشد (درصد جیره)	پایانی (درصد جیره)
ذرت	۵۳/۴۳	۵۸/۷۰	۶۳/۳۹
کنجاله سویا	۴۰/۲۴	۳۵/۰۲	۳۰/۰۱
روغن گیاهی	۱/۴۱	۲/۰۴	۲/۷۲
دی-ال-متیونین	۰/۳۴	۰/۳۲	۰/۲۸
ال-لایزین کلراید	۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۱۷
ال-ترئونین	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۴
پودر صدف	۱/۵۲	۰/۹۵	۰/۸۹
دی کلسیم فسفات	۲	۱/۸۷	۱/۶۳
مکمل ویتامینی*	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی**	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
نمک طعام	۰/۲۵	۰/۲۶	۰/۲۷
کرینات کلسیم	۰/۱	۰/۱	۰/۱
جمع کل	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
مواد مغذی			
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری/کیلوگرم)	۲۹۱۰	۳۰۰۷	۳۱۰۳
پروتئین خام (درصد)	۲۲/۳	۲۰/۸	۱۸/۹
کلسیم (درصد)	۱	۰/۹	۰/۹
فسفر قابل استفاده (درصد)	۰/۴۶	۰/۴۲	۰/۳۷
سدیم (درصد)	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵
کلر (درصد)	۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۲۲
پتاسیم (درصد)	۰/۹۵	۰/۸۸	۰/۷۸
لایزین (درصد)	۱/۳۹	۱/۲۵	۱/۱۱
متیونین (درصد)	۰/۶۸	۰/۶۲	۰/۵۶
متیونین+سیستین (درصد)	۱/۰۴	۰/۹۶	۰/۸۷
آرژنین (درصد)	۱/۵۳	۱/۳۷	۱/۲۲
لوسین (درصد)	۱/۸۷	۱/۷۶	۱/۶۱
ترئونین (درصد)	۰/۹۴	۰/۸۵	۰/۷۵
تریئوفان (درصد)	۰/۲۸	۰/۸۷	۰/۷۸
والین (درصد)	۱/۰۶	۰/۹۷	۰/۸۸

\* مکمل ویتامین شامل ویتامین‌های A، ۷/۲ گرم، B<sub>۱</sub>، ۳/۳ گرم، B<sub>۲</sub>، ۴ گرم، B<sub>۳</sub>، ۱/۲ گرم، B<sub>۶</sub>، ۰/۶ گرم، B<sub>۱۲</sub>، ۱/۶ گرم، D<sub>۳</sub>، ۱۴/۴ گرم، E، ۱/۶ گرم، K<sub>۱</sub>، ۱/۵ گرم، B<sub>۳</sub>، ۱۲ گرم، B<sub>۵</sub>، ۲ گرم، H<sub>۲</sub>، ۴۰۰ گرم کولین کلراید و ۵۵۰/۸۸ گرم در کیلوگرم مکمل بود. \*\* مکمل معدنی شامل ۶۴ گرم اکسید منگنز، ۱۰۰ گرم اکسید روی، ۴۴ گرم سولفات آهن، ۱۶ گرم سولفات مس، ۰/۶۴ گرم یدات کلسیم، ۸ گرم پرمیکس سلنیوم و ۷۶۷/۳۶ گرم در کیلوگرم مکمل بود.

## نتایج

عملکرد (افزایش وزن بدن): داده‌های جدول ۲ نشان می‌دهد که مصرف سطوح ۱۱۰، ۱۲۰ و ۱۴۰ درصد نیازهای سویه راس از

لوسین باعث افزایش وزن بالاتری در مقایسه با تیمار شاهد در دوره‌های آغازین و رشد گردید ( $P < 0.05$ ). در دوره پایانی، مصرف سطوح ۱۲۰ و ۱۳۰ درصد لوسین موجب افزایش وزن کمتری در مقایسه با شاهد شد ( $P < 0.05$ ). در حالی که در کل دوره، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی برای افزایش وزن مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

جدول ۲. توالی الیگونوکلئوتیدی جفت آغازگرهای استفاده شده برای بیان ژن.

شماره دسترسی Accession number	طول قطعه تکثیری Length of product (bp)	توالی آغازگر (5'-3') Primer sequence	نام ژن Gene name
NM_001004384.2	217	5'-TGCTCTCAACATCTCACATCTC-3' 5'-TAAGGTAAGCAAACACAGGC-3'	ژن IGF-1 آغازگر رفت Forward آغازگر برگشت Reverse
XM_015286579.1	217	5'-GTAAGTTCGGACAGGTTTCAGC-3' 5'-TACTTAATCCTCCACCATCCC-3'	ژن انسولین آغازگر رفت Forward آغازگر برگشت Reverse
NM_204305.1	189	5'-GCAGGAACACTATAAAGGCG-3' 5'-CCCTGAAGTGTCCGTGTG-3'	ژن GAPDH آغازگر رفت Forward آغازگر برگشت Reverse

جدول ۳. اثر سطوح مختلف اسید آمینه لوسین (درصد نیازهای سویه راس) بر عملکرد جوجه‌های گوشتی.

افزایش وزن بدن (گرم)				سطوح اسید آمینه لوسین (درصد)
کل دوره (یک تا ۴۲ روزگی)	پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی)	رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)	آغازین (یک تا ده روزگی)	
۱۸۰۲/۴۷	۱۴۸۰/۸۶ <sup>a</sup>	۵۸۰/۱۰ <sup>b</sup>	۱۵۲/۳۲ <sup>b</sup>	۱۰۰
۱۸۵۱/۵۸	۱۴۰۲/۱۰ <sup>ab</sup>	۶۴۶/۲۸ <sup>a</sup>	۱۶۷/۷۷ <sup>a</sup>	۱۱۰
۱۸۱۷/۱۱	۱۳۵۴/۷۶ <sup>b</sup>	۶۷۰/۴۴ <sup>a</sup>	۱۶۵/۱۸ <sup>a</sup>	۱۲۰
۱۸۱۷/۱۱	۱۳۴۲/۴۸ <sup>b</sup>	۶۳۹/۹ <sup>ab</sup>	۱۶۲/۲۳ <sup>ab</sup>	۱۳۰
۱۸۸۶/۵۶	۱۴۹۴/۵۲ <sup>a</sup>	۶۷۱/۲۱ <sup>a</sup>	۱۷۳/۲۶ <sup>a</sup>	۱۴۰
۰/۶۰۵	۰/۰۱۱	۰/۰۳۱	۰/۰۱۴	<i>P value</i>
۱/۹۵۳	۲/۹۰۹	۱/۷۶۱	۱/۱۱۲	SEM
مصرف خوراک (گرم)				
۴۳۰۷/۶ <sup>b</sup>	۱۴۸۰/۸۶	۱۲۸۸/۷۱	۲۹۰/۲۷ <sup>b</sup>	۱۰۰
۵۲۷۳/۱ <sup>a</sup>	۱۴۰۲/۱۰	۱۱۸۰/۹۷	۲۹۶/۱۷ <sup>ab</sup>	۱۱۰
۴۲۶۱/۳ <sup>b</sup>	۱۳۵۴/۷۶	۱۲۳۵/۳۴	۲۷۲/۴۲ <sup>c</sup>	۱۲۰
۵۰۳۱/۹ <sup>a</sup>	۱۳۸۱/۰۴	۱۲۸۰/۳۷	۳۰۸/۰۶ <sup>a</sup>	۱۳۰
۴۲۶۸/۵ <sup>b</sup>	۱۴۸۲/۱۸	۱۲۰۰/۳۱	۳۱۱/۰۶ <sup>a</sup>	۱۴۰
۰/۰۰۱	۰/۰۹۴	۰/۲۳۸	۰/۰۰۱	<i>P value</i>
۱/۱۸۹	۱/۰۱۳	۱/۰۴۷	۱/۴۶۹	SEM
ضریب تبدیل خوراک درصد				
۲/۳۵ <sup>b</sup>	۱/۷۰ <sup>b</sup>	۲/۲۳ <sup>a</sup>	۱/۹۰ <sup>a</sup>	۱۰۰
۲/۸۶ <sup>a</sup>	۲/۰۶ <sup>a</sup>	۱/۸۴ <sup>b</sup>	۱/۷۷ <sup>ab</sup>	۱۱۰
۲/۳۴ <sup>b</sup>	۱/۸۸ <sup>ab</sup>	۱/۸۵ <sup>b</sup>	۱/۶۴ <sup>b</sup>	۱۲۰
۲/۷۹ <sup>a</sup>	۱/۹۶ <sup>a</sup>	۲/۰۰ <sup>ab</sup>	۱/۹۰ <sup>a</sup>	۱۳۰
۲/۲۶ <sup>b</sup>	۱/۶۷ <sup>b</sup>	۱/۷ <sup>b</sup>	۱/۸۰ <sup>a</sup>	۱۴۰
۰/۰۰۳	۰/۰۰۶	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	<i>P value</i>
۰/۰۷۰	۰/۰۴۴	۰/۰۴۵	۰/۰۲۷	SEM

<sup>a,b</sup> مقادیر دارای حروف متفاوت در هر ستون از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ دارند.

جدول ۴. اثر سطوح مختلف اسید آمینه لوسین (درصد نیازهای سویه راس) بر وزن اجزای لاشه و اندام‌های داخلی در ۴۲ روزگی.

سطوح اسید آمینه لوسین (درصد)	وزن اجزای لاشه و اندام‌های (درصد) در ۴۲ روزگی					
	لاشه	سینه	ران	سنگدان	کبد	روده
۱۰۰	۶۸/۲۸ <sup>c</sup>	۲۶/۴۴ <sup>c</sup>	۲۷/۲۸ <sup>a</sup>	۲/۲۴ <sup>a</sup>	۲/۳۸ <sup>b</sup>	۳/۸۲
۱۱۰	۷۱/۰۳ <sup>a</sup>	۲۸/۷۶ <sup>ab</sup>	۲۷/۸۴ <sup>a</sup>	۲/۱۷ <sup>ab</sup>	۲/۶۰ <sup>ab</sup>	۴/۰۵
۱۲۰	۶۸/۷۰ <sup>bc</sup>	۲۷/۰۴ <sup>bc</sup>	۲۷/۷۰ <sup>a</sup>	۲/۱۷ <sup>ab</sup>	۲/۶۰ <sup>b</sup>	۴/۰۰
۱۳۰	۷۰/۴۶ <sup>ab</sup>	۲۷/۸۱ <sup>bc</sup>	۲۷/۶۷ <sup>a</sup>	۱/۸۸ <sup>b</sup>	۲/۲۸ <sup>b</sup>	۳/۹۲
۱۴۰	۷۰/۰۹ <sup>ab</sup>	۲۹/۹۹ <sup>a</sup>	۲۶/۴۰ <sup>b</sup>	۱/۹۷ <sup>ab</sup>	۳/۱۹ <sup>a</sup>	۴/۵۱
<i>P value</i>	۰/۰۱۵	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۴۷	۰/۰۲۳	۰/۲۸۰
SEM	۰/۳۲۷	۰/۳۴۶	۰/۱۴۲	۰/۰۴۶	۰/۹۹۹	۰/۱۰۴

<sup>a,b</sup> مقادیر دارای حروف متفاوت در هر ستون از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ دارند.

جدول ۵. اثر سطوح مختلف اسید آمینه لوسین (درصد نیازهای سویه راس) بر میزان مواد مغذی سینه جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی.

سطوح اسید آمینه لوسین (درصد)	کیفیت لاشه در ۴۲ روزگی				
	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	رطوبت (درصد)	ماده خشک (درصد)	خاکستر (درصد)
۱۰۰	۸۷/۹۳ <sup>b</sup>	۴/۲۸ <sup>ab</sup>	۷۴/۷۵ <sup>b</sup>	۲۵/۲۴ <sup>a</sup>	۶/۳۴ <sup>c</sup>
۱۱۰	۸۸/۱۶ <sup>b</sup>	۴/۳۶ <sup>ab</sup>	۷۶/۲۹ <sup>a</sup>	۲۳/۷۱ <sup>b</sup>	۶/۹۰ <sup>b</sup>
۱۲۰	۸۹/۱۹ <sup>ab</sup>	۳/۷۲ <sup>b</sup>	۷۴/۷۹ <sup>b</sup>	۲۵/۲۱ <sup>a</sup>	۶/۶۸ <sup>bc</sup>
۱۳۰	۸۹/۸۹ <sup>a</sup>	۳/۶۶ <sup>b</sup>	۷۵/۳۰ <sup>b</sup>	۲۴/۶۹ <sup>a</sup>	۷/۵۶ <sup>a</sup>
۱۴۰	۸۸/۶۴ <sup>ab</sup>	۴/۸۶ <sup>a</sup>	۷۶/۳۲ <sup>a</sup>	۲۳/۶۸ <sup>b</sup>	۶/۷۶ <sup>bc</sup>
<i>P value</i>	۰/۰۴۸	۰/۰۱۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
SEM	۰/۲۳۹	۰/۱۳۳	۰/۱۷۲	۰/۱۷۲	۰/۱۰۸

<sup>a,b</sup> مقادیر دارای حروف متفاوت در هر ستون از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ دارند.

### خصوصیات لاشه: داده‌های جدول ۳ نشان می‌دهد که اگر

چه مصرف سطح ۱۴۰ درصد لوسین باعث بیشترین وزن سینه گردید ولی وزن ران را کاهش داد ( $P < 0.05$ ). همچنین درصد لاشه نیز با مصرف سطح ۱۱۰ درصد نیازهای سویه راس از لوسین بالاترین مقدار بود ( $P < 0.05$ ). البته مصرف سایر سطوح لوسین باعث تولید وزن لاشه بیشتری در مقایسه با شاهد شدند. پایین‌ترین وزن سنگدان در سن ۴۲ روزگی با مصرف ۱۳۰ درصد لوسین بدست آمد در حالی که تفاوتی بین سایر تیمارهای آزمایشی برای وزن سنگدان مشاهده نشد ( $P < 0.05$ ). همچنین بالاترین وزن کبد نیز با مصرف سطح لوسین ۱۴۰ درصد مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). تفاوت معنی‌داری بین سایر سطوح لوسین برای وزن کبد وجود نداشت. چربی حفره بطنی نیز با مصرف همه سطوح لوسین در مقایسه با شاهد کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). عدم تأثیر سطوح لوسین بر وزن روده مشاهده گردید ( $P > 0.05$ ).

### مصرف خوراک: در دوره آغازین با مصرف سطوح ۱۳۰ و

۱۴۰ درصد نیازهای سویه راس از لوسین میزان مصرف خوراک در مقایسه با شاهد افزایش پیدا کرد در حالی که مصرف سطح ۱۲۰ درصد لوسین موجب کاهش میزان مصرف خوراک گردید ( $P < 0.05$ ). عدم تأثیر سطح لوسین بر میزان مصرف خوراک در دوره رشد و پایانی مشاهده گردید ( $P > 0.05$ ). در کل دوره، مصرف سطوح ۱۱۰ و ۱۳۰ درصد لوسین موجب افزایش میزان مصرف خوراک در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد ( $P < 0.05$ ).

### ضریب تبدیل خوراک: در جوجه‌های تغذیه شده با سطح

۱۲۰ درصد لوسین در دوره آغازین، ۱۱۰، ۱۲۰ و ۱۴۰ درصد لوسین در دوره پایانی و ۱۰۰ و ۱۴۰ درصد لوسین در کل دوره، ضریب تبدیل خوراک پایین‌تر از مقادیر مربوط به سایر تیمارهای آزمایشی بود ( $P < 0.05$ ).

لوسین باعث کاهش بیان ژن IGF-1 در بافت کبد گردید ( $P < 0.01$ ).

#### بیان ژن انسولین (بیان ژن انسولین در عضله سینه):

مصرف سطوح ۱۱۰، ۱۲۰ و ۱۳۰ درصد لوسین موجب افزایش بیان ژن انسولین در عضله سینه در ۴۲ روزگی شد (تصویر ۲،  $P < 0.01$ ). بعلاوه، مصرف سطح ۱۴۰ درصد لوسین باعث کاهش بیان ژن انسولین در عضله سینه در مقایسه با تیمار شاهد گردید ( $P < 0.01$ ).

#### بیان ژن انسولین در بافت کبد: مصرف سطح ۱۱۰

درصد لوسین موجب افزایش بیان ژن انسولین در بافت کبد گردید (تصویر ۲،  $P < 0.01$ ). مصرف سطوح ۱۲۰ و ۱۳۰ درصد لوسین، موجب افزایش بیان ژن انسولین در بافت کبد به میزان کمتری نسبت به سطح ۱۱۰ درصد در مقایسه با شاهد شد ( $P < 0.05$ ). مصرف سطح ۱۴۰ درصد لوسین باعث کاهش بیان ژن انسولین در بافت کبد گردید ( $P < 0.01$ ).

#### اثرات سطوح متفاوت لوسین بر غلظت IGF-1 سرم:

مصرف سطوح ۱۱۰، ۱۲۰ و ۱۳۰ درصد لوسین موجب افزایش غلظت IGF-1 سرم در مقایسه با شاهد شد ( $P < 0.01$ ). مصرف سطح ۱۴۰ درصد لوسین باعث کاهش غلظت IGF-1 سرم گردید (تصویر ۲،  $P < 0.01$ ).

### بحث

#### عملکرد رشد: در مطالعه حاضر افزودن لوسین به جیره

جوجه‌های گوشتی موجب بهبود ضریب تبدیل خوراک و افزایش وزن گردید. این نتایج با مطالعه Erwan در سال ۲۰۱۸ همخوانی داشت. این محقق نشان داد که افزودن لوسین به میزان ۰/۵ گرم در کیلوگرم جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره رشد موجب افزایش وزن بدن و درصد لاشه می‌شود. به نظر می‌رسد این بهبود با تأثیر لوسین بر مکانیسم سیری، کنترل وزن بدن و مصرف کل انرژی بدن مرتبط باشد (۳). لوسین در ابتدا mTOR را تحریک می‌کند و موجب افزایش سنتز پروتئین در تمام سلول‌های بدن از جمله سلول‌های عضلانی و سلول‌های بتای لوزالمعده می‌گردد (۴).



تصویر ۱. کیفیت RNA استخراج شده.

#### میزان مواد مغذی گوشت سینه (درصد پروتئین،

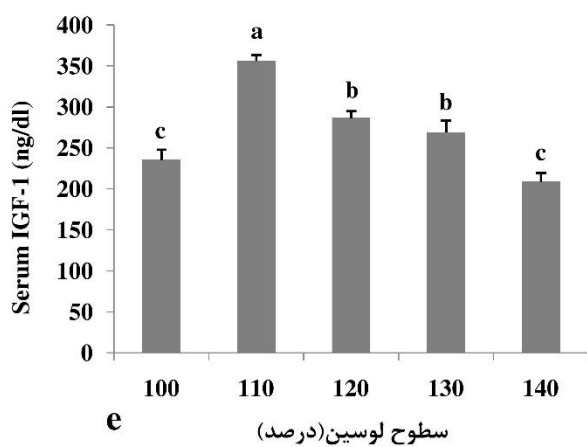
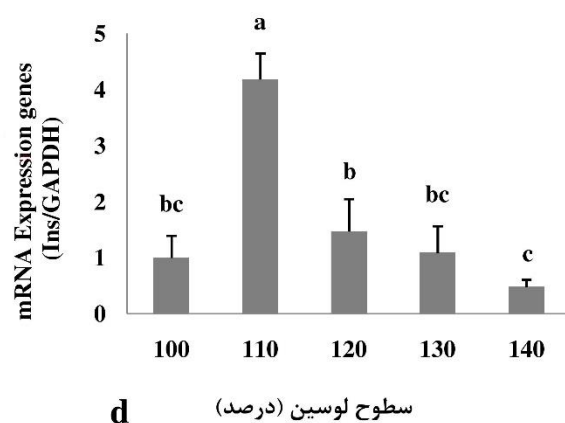
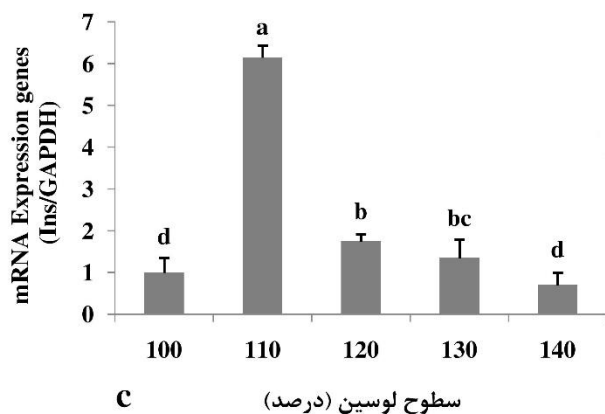
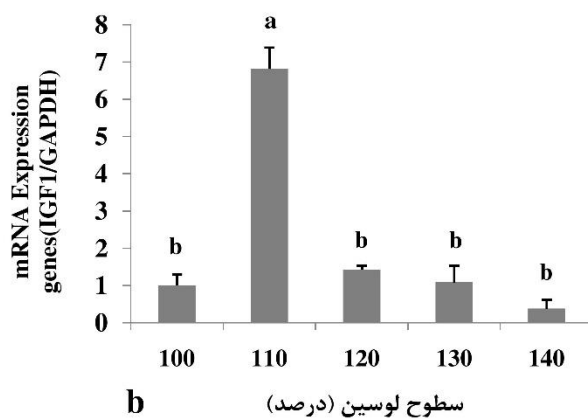
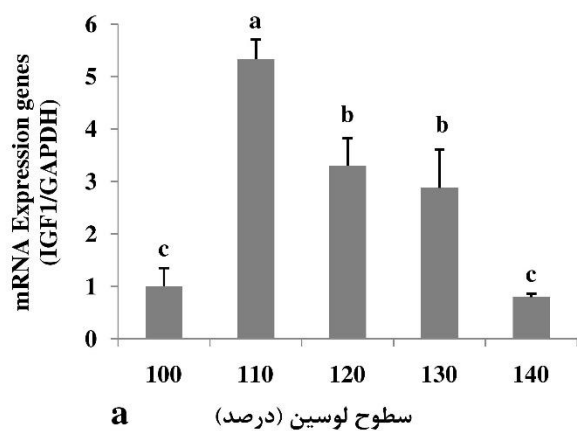
چربی، خاکستر و ماده خشک): داده‌های جدول ۴ نشان می‌دهد که مصرف سطح ۱۳۰ درصد لوسین موجب افزایش درصد پروتئین و خاکسترگردید ( $P < 0.01$ ). مصرف سطوح ۱۲۰ و ۱۳۰ درصد لوسین باعث کاهش درصد چربی عضله سینه ( $P < 0.01$ ) و مصرف سطح ۱۲۰ درصد لوسین موجب افزایش درصد ماده خشک عضله سینه در مقایسه با شاهد شد ( $P < 0.01$ ).

#### بیان ژن IGF-1 (بیان ژن IGF-1 در عضله سینه):

تصویر ۲ نشان می‌دهد که مصرف سطوح ۱۱۰، ۱۲۰ و ۱۳۰ درصد لوسین موجب افزایش بیان ژن IGF-1 در عضله سینه گردید ( $P < 0.01$ ). مصرف سطح ۱۴۰ درصد لوسین، باعث کاهش بیان ژن IGF-1 در عضله سینه در مقایسه با تیمار شاهد شد ( $P < 0.01$ ).

#### بیان ژن IGF-1 بافت کبد: مصرف سطوح ۱۱۰ درصد

نیازهای سوپه راس اسید آمینه لوسین موجب افزایش بیان ژن IGF-1 در بافت کبد شد (تصویر ۲،  $P < 0.01$ ). مصرف سطوح ۱۲۰ و ۱۳۰ درصد لوسین موجب افزایش بیان ژن IGF-1 در بافت کبد به میزان کمتری نسبت به سطح ۱۱۰ درصد در مقایسه با شاهد شد ( $P < 0.05$ ). مصرف سطح ۱۴۰ درصد



تصویر ۲. a- نمودار بیان ژن IGF-1 در عضله سینه، b- نمودار بیان ژن IGF-1 در بافت کبد، c- نمودار بیان ژن انسولین در عضله سینه، d- نمودار بیان ژن انسولین در بافت کبد و e- نمودار غلظت IGF-1 سرم.



محسوب می‌شوند (۳۷). کبد منبع اصلی تولید و ترشح IGF-1 سرم خون می‌باشد. فعالیت IGF-1 در بدن به صورت اندوکراین، پاراکراین و اتوکراین می‌باشد (۳۶). IGF-1 پاراکراین مهم‌تر از IGF-1 اندوکراین برای رشد ماهیچه می‌باشد (۵). IGF-1 به‌عنوان واسطه مهم فعالیت هورمون رشد می‌باشد (۵). IGF-1 جذب گلوکز و اسید آمینه و سنتز پروتئین و DNA را تحریک کرده و تجزیه پروتئین را توسط تارهای عضلانی مشتق از سلول‌های اقماری مهار می‌کند (۱۵). اثرات آنابولیک انسولین و IGF-1ها در عضله جوجه‌های گوشتی بعد از هیچ مشخص شده است (۲۸). IGF-1 یک تنظیم کننده کلیدی بالقوه رشد جوجه‌ها و ترکیب بدنی است (۲۵).

فعالیت IGF-1 در بدن به‌صورت اندوکراین، پاراکراین و اتوکراین می‌باشد (۳۳). هر دو IGF-1 اندوکراین و پاراکرینی می‌توانند در سنتز پروتئین دخالت داشته باشند. یک ارتباط مثبت بین IGF-1 اندوکراین و ضریب رشد وجود دارد. همچنین شواهدی مبنی بر یک ارتباط مثبت بین mRNA IGF-1 عضلانی به‌عنوان فاکتور پاراکراین و رشد عضلانی ژنوتیپ‌های با رشد بالا در مدل‌های ژنتیکی و تغذیه‌ای دیده شده است (۲۹، ۲۳). مواد مغذی ممکن است به‌طور مستقیم رشد عضلات را از طریق اثر بر فاکتورهای تنظیمی کنترل کنند. سیستم عصبی و غدد درون ریز به‌عنوان هماهنگ کننده متابولیسم بدن عمل می‌کنند، بنابراین نقش مهمی در تنظیم رشد حیوان دارند (۱۸). فعالیت هورمون رشد در بدن جوجه‌های گوشتی با عامل رشد شبه انسولین انجام می‌شود (۷، ۳۸). IGF-1 یک ژن کاندیدا برای رشد، ترکیب بدن و سوخت و ساز چربی در طیور می‌باشد که منجر به رشد عضله در گونه‌های مختلف طیور می‌شود (۳۲، ۱۵). لوسین به‌عنوان یک تحریک کننده ترشح انسولین محسوب می‌شود و تجویز خوراکی لوسین موجب افزایش سطوح انسولین سرم می‌شود که سنتز پروتئین القاء شده با این اسید آمینه را تحریک می‌کند (۲۸، ۲۷). Stipanuk در سال ۲۰۰۷ بیان کرد لوسین به‌عنوان یک سیگنال غذایی، سنتز پروتئین را در سلول‌های چربی و سایر سلول‌ها از طریق مکانیسم‌های مستقل از انسولین تنظیم می‌کند (۳۵، ۲۱). لوسین تنها اسید آمینه‌ای می‌باشد که مستقل از قند خون می‌تواند موجب افزایش انسولین خون شود و از تجزیه پروتئین عضلات جلوگیری می‌کند (۱۲). لوسین به تولید انرژی کمک می‌کند و این کار در نتیجه تحریک و تولید انسولین صورت می‌گیرد که باعث جذب بیشتر

**خصوصیات لاشه و وزن نسبی اندام‌های داخلی:** لوسین موجب افزایش درصد لاشه، ران، سینه و کاهش چربی محوطه بطنی در مطالعه اخیر گردید. این نتایج با یافته‌های Donato و همکاران در سال ۲۰۰۷ موافق است. این محققین نشان دادند که افزودن ۰/۵ درصد لوسین به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی باعث کاهش محتوای چربی بدن گردیده است. لوسین توده چربی را کاهش می‌دهد و متابولیسم گلوکز را بهبود می‌بخشد (۳۷). وجود لوسین به اندازه کافی باعث رشد عضلات ران و سینه جوجه‌های گوشتی می‌شود (۲۴). این بهبود عمدتاً به دلیل تأثیر لوسین بر ماهیچه‌ها و بافت چربی در ساخته شدن استرهایبی است که جهت تحریک رشد عضلات و مانع از تجزیه عضلانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۴). لوسین با افزایش ترشح انسولین، تنظیم متابولیسم گلوکز و چربی و تغییر متابولیسم سلول‌ها از کربوهیدرات و چربی به سمت پروتئین‌سازی، موجب افزایش محتوای پروتئین بدن و کاهش محتوای چربی بدن می‌گردد. انسولین محتوای پروتئین بدن را از طریق تحریک پروتئین‌سازی در کبد و با واسطه فاکتورهای رشد شبه انسولین، افزایش می‌دهد.

**میزان مواد مغذی گوشت سینه:** در مطالعه حاضر، لوسین باعث افزایش درصد پروتئین، ماده خشک و کاهش درصد چربی عضله سینه شد که با مطالعه Corzo و همکاران در سال ۲۰۱۰ موافق است. این محققین گزارش کردند که اسیدهای آمینه شاخه‌دار باعث افزایش آنابولیسم در عضلات، بافت چربی و کبد می‌گردد و این کار به واسطه لوسین به‌عنوان قوی‌ترین اسید آمینه شاخه‌دار انجام می‌گیرد. این بهبود به دلیل نقش لوسین در ساختار پروتئین‌های بدن می‌باشد. روند سنتز پروتئین در سلول‌ها توسط کمپلکس mTOR تنظیم می‌گردد. گیرنده‌های mTOR پیام‌هایی از ترکیبات خارج سلولی (که فعال کننده و یا مهار کننده سنتز پروتئین هستند) را دریافت می‌کنند. انسولین و IGF-1 احتمالاً از محرک‌های سنتز پروتئین می‌باشند. در بین اسیدهای آمینه شاخه‌دار، لوسین نقش مهمی در تحریک mTOR برای سنتز پروتئین در ماهیچه دارد (۲).

**بیان ژن‌های IGF-1 و انسولین در عضله سینه و کبد:** افزودن لوسین به جیره جوجه‌های گوشتی بیان ژن‌های IGF-1 و انسولین را افزایش داد. هورمون‌های IGF تنظیم کننده‌های مهم تحریک رشد، تحریک تولیدسازی اسید آمینه، متابولیسم گلوکز، سنتز DNA، سنتز پروتئین و تکثیر و تمایز انواع مختلف سلول‌ها

مسیرهای ناشناخته گردد (۱۳). Corzo و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند که نقش اسیدهای آمینه شاخه‌دار به‌عنوان سیگنال‌های مواد مغذی یا قابلیت دسترسی کاملاً مشخص است چرا که این اسیدهای آمینه در اکثر گونه‌های حیوانی توسط کبد به مقادیر کمی برداشت می‌شود. همچنین این محققین بیان کردند که لوسین موجب تحریک ترشح انسولین می‌شود. Bruhat و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که اثرات تنظیمی لوسین بر بیان ژن ممکن است توسط فاکتورهای نسخه برداری (شامل ناحیه بازی لوسین، فاکتورهای زیپ کننده، فاکتورهای فعال کننده نسخه برداری و پروتئین تقویت کننده اتصال CCAAT) میانجی‌گری شود. همچنین اثرات تنظیمی لوسین می‌تواند از طریق توالی‌های تنظیمی اختصاصی (شامل عناصر پاسخ اسید آمینه، عناصر پاسخ حساس به خوراک و جایگاه‌های چندگانه) در ژن پروموتور و عناصر متمایز از عناصر پاسخ اسید آمینه یا عناصر پاسخ حساس به خوراک نیز میانجی‌گری گردد.

**نتیجه‌گیری:** مطالعه حاضر بیانگر آن است که مکمل ال-لوسین، بیان mRNA ژن IGF-1 و بیان mRNA ژن انسولین را در عضله سینه و کبد جوجه‌های گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ افزایش می‌دهد. افزایش تولید IGF-1 و انسولین، از طریق تحریک کمپلکس mTOR موجب افزایش سنتز پروتئین در عضلات و کبد شده و در نتیجه افزایش وزن عضله سینه و لاشه و بهبود خصوصیات و کیفیت لاشه (کاهش چربی محوطه بطنی) را به دنبال دارد.

## سپاسگزاری

نویسندگان از همکاری پژوهشگران و پرسنل مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان قم و آزمایشگاه‌های آمین و پاستور به ویژه آقایان کلهر و طاهری کمال تشکر و قدردانی می‌نمایند.

## تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

گلوکز توسط سلول‌های عضله از گردش خون می‌شود. گلوکز جذب شده نیز به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌شود.

انسولین همگام با اسیدهای آمینه شاخه‌دار باعث تسهیل ورود اسیدهای آمینه (بجز تریپتوفان) به داخل عضله می‌شود تا برای ساختن بافت عضلانی مورد استفاده قرار گیرد. هنگامی که لوسین در عضلات اسکلتی تجزیه می‌شوند (بالاترین میزان اکسیداسیون را دارد)، تبدیل به آلانین و گلوتامین می‌شود و این اسیدهای آمینه در نگهداری تعادل قند خون مهم هستند (۱۲). لوسین از راه فعال کردن mTOR در نتیجه فسفوریله شدن پروتئین ریبوزومی ۷۰ کیلو دالتونی S6 کیناز (P70S6K) یا همان S6K1 منجر به آغاز ترجمه mRNA و سنتز پروتئین می‌گردد (۱۷). لوسین از راه تحریک نشانه پردازی mTOR در هیپوتالاموس به ویژه در ناحیه نورون‌های اورکسیژنیک (اشتها آور) بیان کننده نوروپپتید Y و پروتئین وابسته به ژن آگوتی، مصرف خوراک را کاهش می‌دهد (۹).

به جز لوسین اسید آمینه دیگری نشانه پردازی mTOR در هیپوتالاموس را تنظیم نمی‌کند (۱). Corzo و همکاران در سال ۲۰۱۰ ثابت کردند که اسیدهای آمینه شاخه‌دار این قابلیت را دارند تا باعث افزایش آنابولیسم در عضلات، بافت چربی و کبد گردند و این کار به واسطه لوسین به‌عنوان قوی‌ترین اسید آمینه انجام می‌گیرد. لوسین یک اثر قابل توجه بر چرخه پروتئین اعمال کرده و قادر است کاتابولیسم اسیدهای آمینه از قبیل والین و ایزولوسین را افزایش دهد. این اثر با دخالت غیر مستقیم از طریق کاهش فعالیت یک آنزیم مسئول کاتابولیسم این اسیدهای آمینه ایجاد می‌شود و نتیجه آن کاهش غلظت اسیدهای آمینه بدن است (۱۱). لوسین فسفوریله شدن mTOR را به یک روش اختصاصی در سلول تحریک می‌کند و باعث فسفوریله شدن پروتئین ریبوزومی S6kinase-1 و فاکتور آغازگر ترجمه یوکاریوتیک 4E-binding protein-1 و بنابراین تشکیل مجموعه آغازگر ترجمه می‌گردد.

فعال شدن mTOR همچنین می‌تواند باعث مهار تجزیه پروتئین داخل سلولی از راه مکانیسم‌های دخیل در اتوفاجی و سایر

## References

1. Anthony, J.C., Yoshizawa, F., Anthony, T.G., Vary, T.C., Jefferson, L.S., Kimball, S.R. (2000). Leucine stimulates translation initiation in skeletal muscle of postabsorptive rats via a rapamycin-sensitive pathway. *J Nutr*, 130(10), 2413-2419. <https://doi.org/10.1093/jn/130.10.2413> PMID: 11015466
2. Baker, D.H. (2005). Tolerance for branched-chain amino acids in experimental animals and humans. *J Nutr*, 135(6), 1585S-1590S. <https://doi.org/10.1093/jn/135.6.1585S> PMID: 15930474
3. Bruhat, A., Chérasse, Y., Chaveroux, C. (2009). Amino acids as regulators of gene expression in mammals: molecular

- mechanisms. *Biofactors*, 35(4), 249-57. <https://doi.org/10.1002/biof.40> PMID: 19415732
4. Boutry, C., El-Kadi, S.W., Suryawan, A., Wheatley, S.M., Orellana, R.A., Kimball, S.R., Nguyen, H.V., Davis, T.A. (2013). Leucine pulses enhance skeletal muscle protein synthesis during continuous feeding in neonatal pigs. *Am J Physiol-Endocrinol Metab*, 305(5), E620-E631. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00135.2013> PMID: 23839523
  5. Butler, A.A., LeRoith, D. (2001). Minireview: tissue-specific versus generalized gene targeting of the *igf1* and *igf1r* genes and their roles in insulin-like growth factor physiology. *Endocrinol*, 142(5), 1685-1688. <https://doi.org/10.1210/endo.142.5.8148> PMID: 11316729
  6. Chang, Y., Cai, H., Liu, G., Chang, W., Zheng, A., Zhang, S., Liao, R., Liu, W., Li, Y., Tian, J. (2015). Effects of dietary leucine supplementation on the gene expression of mammalian target of rapamycin signaling pathway and intestinal development of broilers. *Anim Nutr*, 1(4), 313-319. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.11.005> PMID: 29767001
  7. Corzo, A., Dozier III, W., Loar, R., Kidd, M., Tillman, P. (2010). Dietary limitation of isoleucine and valine in diets based on maize, soybean meal, and meat and bone meal for broiler chickens. *Br Poult Sci*, 51(4), 558-563. <https://doi.org/10.1080/00071668.2010.507242> PMID: 20924851
  8. Corzo, A., Kidd, M.T., Dozier, W.A., Vieira, S.L. (2007). Marginality and needs of dietary valine for broilers fed certain all-vegetable diet. *J Appl Poult Res*, 16, 546-554.
  9. Cota, D., Proulx, K., Smith, K.A.B., Kozma, S.C., Thomas, G., Woods, S.C., Seeley, R.J. (2006). Hypothalamic mTOR signaling regulates food intake. *Sci*, 312(5775), 927-930. <https://doi.org/10.1126/science.1124147> PMID: 16690869
  10. D'Mello, J., Lewis, D. (1970). Amino acid interactions in chick nutrition: 2. Interrelationships between leucine, isoleucine and valine. *Br Poult Sci*, 11(3), 313-323. <https://doi.org/10.1080/00071667008415821> PMID: 5433122
  11. Donato Jr, J., Pedrosa, R.G., de Araújo Jr, J.A., de Oliveira Pires, I.S., Tirapegui, J. (2007). Effects of leucine and phenylalanine supplementation during intermittent periods of food restriction and refeeding in adult rats. *Life Sci*, 81(1), 31-39. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.04.015> PMID: 17512018
  12. Erwan, E. (2018). Supplementation of caloric-and protein-restricted diets with L-leucine stimulates food intake and improves carcass characteristics in broiler chickens. *Int J Poult Sci*, 28-33. <http://repository.uin-suska.ac.id/id/eprint/12764>
  13. Erwan, E., Alimon, A.R., Sazili, A.Q., Yaakub, H., Karim, R. (2011). Effects of levels of L-Leucine supplementation with sub-optimal protein in the diet of grower-finisher broiler chickens on carcass composition and sensory characteristics. *Asian Australas J Anim Sci*, 24 650-654. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.90293>
  14. Garlick, P.J. (2004). The nature of human hazards associated with excessive intake of amino acids. *J Nutr*, 134(6), 1633S-1639S. <https://doi.org/10.1093/jn/134.6.1633S> PMID: 15173443
  15. Kadlec, J., Hosnedlová, B., Řehout, V., Čitek, J., Večerek, L., Hanusová, L. (2011). Insulin-like growth factor-I gene polymorphism and its association with growth and slaughter characteristics in broiler chickens. *J Agrobiol*, 28(2), 157-163. <https://doi.org/10.2478/v10146-011-0017-4>
  16. Kainulainen, H., Hulmi, J.J., Kujala, U.M. (2013). Potential role of branched-chain amino acid catabolism in regulating fat oxidation. *Exerc Sport Sci Rev*, 41(4), 194-200. <https://doi.org/10.1097/JES.0b013e3182a4e6b6> PMID: 23873132
  17. Kimball, S.R., Jefferson, L.S. (2006). New functions for amino acids: effects on gene transcription and translation. *Am J Clin Nutr*, 83(2), 500S-507S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.2.500S> PMID: 16470021
  18. Kita, K., Nagao, K., Okumura, J. (2005). Nutritional and tissue specificity of IGF-I and IGFBP-2 gene expression in growing chickens-a review. *Asian-Australasian J Anim Sci*, 18(5), 747-754. <https://doi.org/10.5713/ajas.2005.747>
  19. Li, F., Yin, Y., Tan, B., Kong, X., Wu, G. (2011). Leucine nutrition in animals and humans: mTOR signaling and beyond. *Amino Acids*, 41(5), 1185. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0983-2> PMID: 21773813
  20. Livak, K.J., Schmittgen, T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>ΔΔCT method. *Methods*, 25(4), 402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262> PMID: 11846609
  21. Lynch, C.J., Hutson, S.M., Patson, B.J., Vaval, A., Vary, T.C. (2002). Tissue-specific effects of chronic dietary leucine and norleucine supplementation on protein synthesis in rats. *Am J Physiol-Endocrinol Metab*, 283(4), E824-E835. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00085.2002> PMID: 12217901
  22. Lynch, C.J., Patson, B.J., Anthony, J., Vaval, A., Jefferson, L.S., Vary, T.C. (2002). Leucine is a direct-acting nutrient signal that regulates protein synthesis in adipose tissue. *Am J Physiol-Endocrinol Metab*, 283(3), E503-E513. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00084.2002> PMID: 12169444
  23. Naranjo, W.M., Yakar, S., Sanchez-Gomez, M., Perez, A.U., Setser, J., LeRoith, D. (2002). Protein calorie restriction affects nonhepatic IGF-I production and the lymphoid system: studies using the liver-specific IGF-I gene-deleted mouse model. *Endocrinol*, 143(6), 2233-2241. <https://doi.org/10.1210/endo.143.6.8852> PMID: 12021187
  24. Ospina-Rojas, I., Murakami, A., Duarte, C., Nascimento, G., Garcia, E., Sakamoto, M., Nunes, R. (2017). Leucine and valine supplementation of low-protein diets for broiler chickens from 21 to 42 days of age. *Poult Sci*, 96(4), 914-922. <https://doi.org/10.3382/ps/pew319> PMID: 27664200
  25. Oudin, A., Chevalier, B., Simon, J., Duclos, M. (1998). Muscle insulin-like growth factor-I (IGF-I) receptors in chickens with high or low body weight: effects of age and muscle fibre type. *Growth Hormone & IGF Res*, 8(3), 243-250. [https://doi.org/10.1016/S1096-6374\(98\)80117-2](https://doi.org/10.1016/S1096-6374(98)80117-2) PMID: 10984313
  26. Rao, X., Huang, X., Zhou, Z., Lin, X. (2013). An improvement of the 2<sup>-</sup>ΔΔCT method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostatistics, Bioinformatics and Biomathematics*, 3(3), 71. PMID: 25558171
  27. Rogero, M.M., Tirapegui, J. (2008). Aspectos atuais sobre aminoácidos de cadeia ramificada e exercício físico. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 44(4), 563-575. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322008000400004>
  28. Sancak, Y., Peterson, T.R., Shaul, Y.D., Lindquist, R.A., Thoreen, C.C., Bar-Peled, L., Sabatini, D.M. (2008). The rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1. *Sci*, 320(5882), 1496-1501. <https://doi.org/10.1126/science.1157535> PMID: 18497260
  29. Shimomura, Y., Yamamoto, Y., Bajotto, G., Sato, J., Murakami, T., Shimomura, N., Kobayashi, H., Mawatari, K. (2006). Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle. *J Nutr*, 136(2), 529S-532S. <https://doi.org/10.1093/jn/136.2.529S> PMID: 16424141
  30. Stipanuk, M.H. (2007). Leucine and protein synthesis: mTOR and beyond. *Nutr Rev*, 65(3), 122-129. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2007.tb00289.x> PMID: 17425063

31. Suryawan, A., Nguyen, H.V., Almonaci, R.D., Davis, T.A. (2013). Abundance of amino acid transporters involved in mTORC1 activation in skeletal muscle of neonatal pigs is developmentally regulated. *Amino Acids*, 45(3), 523-530. <https://doi.org/10.1007/s00726-012-1326-7> PMID: 22643846
32. van Vught, A.J., Nieuwenhuizen, A.G., Brummer, R.-J.M., Westerterp-Plantenga, M.S. (2008). Effects of oral ingestion of amino acids and proteins on the somatotrophic axis. *J Clin Endocrinol Metab*, 93(2), 584-590. <https://doi.org/10.1210/jc.2007-1784> PMID: 18029456
33. Velloso, C. (2008). Regulation of muscle mass by growth hormone and IGF-I. *Br J Pharmacol*, 154(3), 557-568. <https://doi.org/10.1038/bjp.2008.153> PMID: 18500379
34. Wu, G., Bazer, F.W., Dai, Z., Li, D., Wang, J., Wu, Z. (2014). Amino acid nutrition in animals: protein synthesis and beyond. *Annu Rev Anim Biosci*, 2(1), 387-417. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022513-114113> PMID: 25384149
35. Yang, J., Chi, Y., Burkhardt, B.R., Guan, Y., Wolf, B.A. (2010). Leucine metabolism in regulation of insulin secretion from pancreatic beta cells. *Nutr Rev*, 68(5), 270-279. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2010.00282.x> PMID: 20500788
36. Yin, Y., Yao, K., Liu, Z., Gong, M., Ruan, Z., Deng, D., Tan, B., Liu, Z., Wu, G. (2010). Supplementing L-leucine to a low-protein diet increases tissue protein synthesis in weanling pigs. *Amino Acids*, 39(5), 1477-1486. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0612-5> PMID: 20473536
37. Zhang, S., Qiao, S., Ren, M., Zeng, X., Ma, X., Wu, Z., Thacker, P., Wu, G. (2013). Supplementation with branched-chain amino acids to a low-protein diet regulates intestinal expression of amino acid and peptide transporters in weanling pigs. *Amino Acids*, 45(5), 1191-1205. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1577-y> PMID: 23990159
38. Zhou, H., Mitchell, A., McMurtry, J., Ashwell, C., Lamont, S. J. (2005). Insulin-like growth factor-I gene polymorphism associations with growth, body composition, skeleton integrity, and metabolic traits in chickens. *Poult Sci*, 84(2), 212-219. <https://doi.org/10.1093/ps/84.2.212> PMID: 15742956



## The Effect of Different Dietary Leucine Levels on Performance, Carcass Quality, and Expression of IGF-1 and Insulin Genes in Broiler Chickens

Seyed Saeid Sadeghzadeh<sup>1</sup>, Mohsen Daneshyar<sup>1</sup>, Parviz Farhomand<sup>1</sup>,  
Mohammad Reza Yazdian<sup>2</sup>, Seyed Mohammad Hashemi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

<sup>2</sup> Department of Basic Sciences, Faculty of Medical Science, Islamic Azad University Qom Branch, Qom, Iran

<sup>3</sup> Department of Animal Sciences, Qom Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Qom, Iran

doi [10.22059/jvr.2020.263312.2834](https://doi.org/10.22059/jvr.2020.263312.2834)

Received: 28 February 2021, Accepted: 1 May 2021

### Abstract

**BACKGROUND:** Leucine is one of the subgroups of amino acids, which play an important role in the anabolism of muscles, adipose tissue, and the liver by stimulating insulin secretion.

**OBJECTIVES:** Effects of different levels of leucine were investigated on carcass yield, characteristics, and quality, and expression of insulin-like growth factor (IGF-1) and insulin genes in male broilers.

**METHODS:** Five levels of L-leucine (100, 110, 120, 130, and 140 % of Ross strain requirements) were tested with 250 male one-day-old chicks in a completely randomized design with five treatments and five replicates (containing 10 chicks each). On day 42 of their age, the blood samples of two birds from each replicate (10 birds per treatment) were taken to determine serum IGF-1 gene expression. Subsequently, these birds were slaughtered for analysis of carcass characteristics and quality, and collecting the samples of liver and breast for expression of IGF-1 and insulin genes.

**RESULTS:** Body weight increased by consumption of 140 % of leucine as compared to 100 %. Reduction in feed conversion ratio was observed by feeding 140 % of leucine level. The IGF-1 gene expression of breast and liver increased by 110 % of leucine level. Moreover, feeding 110 % of leucine level caused a higher expression of insulin gene in breast and liver. Consumption of 130 % of leucine improved the meat protein, fat, and ash contents. Furthermore, consumption of 110 % of leucine increased the serum IGF-1 concentration.

**CONCLUSIONS:** Consumption of leucine in broiler diets was found to increase the expression of IGF-1 and insulin genes and consequently, improve the performance and carcass quality. It also decreased the abdominal fat in broiler chickens.

**Keywords:** Broiler chickens, Gene expression, Insulin, IGF-1, Leucine

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:** m.daneshyar@urmia.ac.ir Tel/Fax: 044-32942341/044-32779558

### How to cite this article:

Sadeghzadeh, S., Daneshyar, M., Farhomand, P., Yazdian, M., Hashemi, S. (2021). The Effect of Different Dietary Leucine Levels on Performance, Carcass Quality, and Expression of IGF-1 and Insulin Genes in Broiler Chickens. J Vet Res, 76(3), 359-371. <https://doi.org/10.22059/jvr.2020.263312.2834>

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Oligonucleotide primer pairs used for gene expression.

**Table 2.** Effect of different levels of leucine (% of Ross 308 requirements) on the performance of broilers.

**Table 3.** Effect of different levels of leucine (% of Ross 308 requirements) on carcass traits and internal organs in broilers with 42 days of age.

**Table 4.** Effect of different levels of leucine (% of Ross 308 requirements) on nutrient contents of breast in broilers with 42 days of age.

**Figure 1.** The quality of extracted RNA.

**Figure 2.** a- IGF-1 gene expression chart in breast muscle, b- IGF-1 gene expression chart in liver tissue, c- Insulin gene expression chart in breast muscle, d- Insulin gene expression chart in liver tissue, and e-diagram Serum IGF-1 concentration.