تأثیر تعداد وعده های غذایی بر پروفایل ایمونوگلوبولین ها و انسولین سرم در موش صحرایی

منصور شهرکی[1]، جعفر مجیدی[2]، محمد رضا رشیدی[3]، سلطانعلی محبوب[4]، اردوان غازانچای[5]، مهران مسگری[5]، توران شهرکی[6]

1- استادیار، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، گروه تغذیه
2- دانشیار، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، گروه ایمونولوژی
3- استاد، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، گروه شیمی دارویی
4- استاد، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، گروه بیوشیمی و تغذیه
5- مربی، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات کاربردی- دارویی
6- استادیار، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، گروه اطفال

یافته / دوره هشتم / شماره 3 / پاییز 85 / مسلسل 29

چکیده

دریافت مقاله: 85/1/8، ***پذیرش مقاله***: 85/7/6

Ø مقدمه: گرچه مصرف سه و کمتر از سه وعده در روز (رژیم کم وعده) در بسیاری ازکشورها رایج میباشد ولی در حال حاضر در کشورهای غربی گرایش فزاینده ای به سوی تعداد وعده های غذایی بیشتر ولی با حجم کمتر(رژیم پر وعده) مشاهده میگردد. تا بحال ، اثرات تعداد وعده های غذایی بر ایمنی هومورال در حیوانات آزمایشگاهی مورد بررسی قرار نگرفته است. همچنین اطلاعات انسانی و حیوانی در مورد اثرات تعداد وعده های غذایی بر روی میزان انسولین سرم نیز ضد و نقیض است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات تعداد وعده های غذایی بر پروفایل ایمونوگلوبولین ها برای اولین بار روی موش صحرایی می باشد. همچنین در مطالعه اخیر، اثر تعداد وعده های غذایی روی میزان انسولین سرم نیز مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

Ø مواد و روش ها: در یک مطالعه تجربی قبل و بعد مدل حیوانی، 30 موش صحرایی ماده از نوع **Wistar** با 11 هفته سن (15±210 گرم) بعد از 10 روز دوره سازگاری وزن و به طور تصادفی به دو گروه کاملاً مساوی تقسیم گردیدند.حیوانات غذای یکسان را یا بصورت 8 وعده به فواصل هر 2 ساعت یکبار از ساعت 6 بعد از ظهر (رژیم پر وعده) و یا بصورت 2 وعده در ساعات 9 شب و 6 صبح (رژیم کم وعده) به مدت 60 روز دریافت نمودند. از هر حیوان قبل و بعد از مداخله خون گرفته شد. جهت اندازه گیری میزان انسولین و ایمونوگلوبولین های سرم از **ELISA** استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با روش آماری **Student's t-test** صورت گرفت . پروژه تحقیقاتی توسط کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز مورد مطالعه و به تصویب رسید.

Ø یافته ها: هر دو رژیم غذایی باعث کاهش غیر معنی داری (**P** >0/05) در مقادیر انسولین و **IgA** سرم بعد از 60 روز مداخله گردیدند. گرچه در هر دو رژیم غذایی میزان انسولین سرم بطور غیر معنی دار کاهش پیدا کرده بود، اما درصد کاهش در رژیم پر وعده در قیاس با رژیم کم وعده بیشتر بود (5/3%- در برابر2/3%-). میزان **IgM**و **IgG** سرم در هر دو رژیم غذایی بطور معنی داری(**P** <0/05) افزایش پیدا کرده بود، اما اختلاف بین دو رژیم قبل و بعد از مداخله معنی دار (**p**<0/05) نبود. گرچه، در هر دو گروه میزان **IgM**و **IgG** سرم بطور معنی داری(**P** <0/05) افزایش پیدا کرده بود، اما درصد افزایش در رژیم پر وعده در قیاس با رژیم کم وعده بیشتر بود(به ترتیب 56% در مقابل 38% و 37% در مقابل28/7% برای **IgM** و **IgG** سرم). دریافت آب و غذا بطور غیر معنی داری(**P** >0/05) در رژیم کم وعده در قیاس با رژیم پر وعده کمتر بود.

Ø بحث و نتیجه گیری: رژیم غذایی پر وعده اثرات بهتری بر روی میزان انسولین، **IgM** و **IgG** سرم نسبت به رژیم کم وعده دارد .تحقیقات بیشتر در این زمینه روی انسان و حیوان توصیه میگردد.

واژه های کلیدی: تعداد وعده های غذایی ، ایمونوگلوبولین ها، انسولین سرم، موش صحرایی

آدرس مکاتبه: زاهدان، میدان مشاهیر، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه تغذیه و صنایع بهداشتی
پست الکترونیک: Shahraki2002@yahoo.com

مقدمه

وظیفه سیستم ایمنی حفظ و حمایت بدن در مقابل میکروارگانیسم ها و بیماریهای تهدید کننده سلامتی میباشد. این مکانیسم میتواند در دو دسته ایمنی غیر اختصاصی یا ذاتی و ایمنی اختصاصی یا اکتسابی قرار گیرد(1). اختلال در ایمنی ذاتی می تواند در نتیجه اختلال در چربیهای خون و مقاومت در برابر انسولین باشد که خود تسریع کننده آتروسکلروزیس یا بیماری تصلب شرائین است(2). از طرف دیگر نتایج بعضی تحقیقات نشان می دهند که چاقی و افزایش بعضی از فاکتورهای خون مثل انسولین و کلسترول عامل خطر عمده برای بعضی بیماریهای تهدید کننده سلامتی می باشند (3). در بسیاری ازکشورها گرچه مصرف سه و کمتر از سه وعده در روز (رژیم کم وعده) رایج میباشد ولی در حال حاضر، در کشورهای غربی گرایش فزاینده ای به سوی تعداد وعده های غذایی بیشتر ولی با حجم کمتر(رژیم پر وعده) است (4).

مطالعات زیادی قبلاً نشان داده اند که رژیم پر وعده همراه با کاهش مقادیر انسولین سرم است(5و6). اما بر طبق نظر بعضی از محققین(10-7) تغییر تعداد وعده های غذایی منجر به تغییرات معنی داری در میزان انسولین سرم نمی گردد. فقط یک مطالعه حیوانی(11) حاکی از افزایش میزان انسولین سرم در رژیم کم وعده است. از جمله دلایل این نتایج ضد و نقیض در مطالعات قبلی را میتوان به عدم اطلاعات کافی در مورد غذاهای مصرفی، تنوع روشهای مورد استفاده، مدت زمان کوتاه مطالعه، نبود کنترل دقیق مطالعات رژیمی و عدم تعریف قابل قبولی از زمان وعده های غذایی درمطالعات انسانی دانست(12و13). یک راه جهت غلبه بر این مشکلات استفاده از حیوانات آزمایشگاهی است.

با وجود گزارشات متعدد در مورد اثرات تغذیه (کیفیت و کمیت)،گرسنگی، محدودیت و محرومیت رژیمی بر سیستم ایمنی در مدلهای انسانی و حیوانی(16-14) ، تا به حال هیچ مطالعه ای در مورد اثرات تعداد وعده های غذایی (تعداد، زمان، کیفیت و کمیت غذاهای خورده شده در هر وعده) روی سیستم ایمنی هومورال نشده است. بنابراین، در مطالعه حاضر برای اولین بار اثرات تعداد وعده های غذایی (رژیم پر وعده و رژیم کم وعده) بر پروفایل ایمنی هومورال در موش صحرایی مورد بررسی قرار می گیرد. اثر تعداد وعده های غذایی بر میزان انسولین سرم نیز مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

مواد و روش ها

به منظور این مطالعه تجربی قبل و بعد مدل حیوانی، 30 موش صحرایی ماده از نوع ویستار[1] با 11 هفته سن و وزن اولیه 15± 210 گرم از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه علوم پزشکی تبریز فراهم گردیدند. جهت سازگاری با محیط جدید یا دوره سازگاری[2]، تمامی حیوانات مورد مطالعه غذای استاندارد خودشان را با دسترسی آزاد به آب بمدت 10 روز دریافت کردند. حیوانات در طول مدت مطالعه، در درجه حرارت $2^{o}C$ ± 22، رطوبت 10 ± 50 درصد ، سیکل تاریکی ـ روشنایی 12 ساعت (7 صبح تا 7 شب بعنوان ساعات روشنایی و 7 شب تا 7 صبح بعنوان ساعات تاریکی) و تهویه مناسب نگهداری شدند. جهت تعیین متوسط دریافت غذایی روزانه هر حیوان، در سه روز آخر دوره سازگاری دریافت غذای روزانه هرحیوان ثبت گردید (بطور متوسط0/74± 20 گرم در روز به ازای هر حیوان). سپس حیوانات مورد مطالعه بطور تصادفی به دو گروه 15 تایی شامل گروه پر وعده و گروه کم وعده تقسیم گردیدند. در پایان دوره سازگاری ساعت 6 عصر غذا از قفس ها برداشته شد اما آب بصورت آزاد[3] در دسترس حیوانات بود. 12 ساعت بعد ، حیوانات با اتر بیهوش و نمونه های خون از سینوسهای گوشه چشم هر حیوان گرفته شد. خون در لوله های آزمایش جمع آوری و بعد از لخته شدن در درجه حرارت آزمایشگاه، بمدت 15 دقیقه سانتریفیوژ گردید.

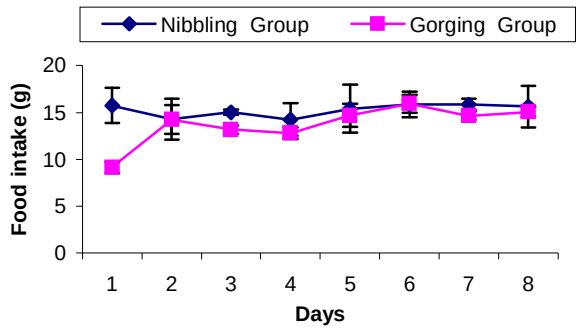
1. Wistar
2. Acclimatization period
3. Ad libitum

آنگاه سرم جدا وتا زمان آنالیز جهت تعیین میزان IgM، IgG، IgA و انسولین بعنوان مقادیر پایه، در دمای $-80^{o}C$ نگهداری گردید.

به منظور انطباق حیوانات با برنامه های غذایی مورد استفاده در مطالعه ، ابتدا مقدار 20 گرم غذا در هر روز در دسترس هر حیوان قرار گرفت . گروه پر وعده ، غذای دریافتی خود را در قالب 8 وعده غذای کوچک با فواصل زمانی 2 ساعت دریافت نمودند. زمان دریافت اولین وعده غذایی برای این گروه ساعت 18 بود. در مورد گروه کم وعده 20 گرم غذای روزانه هر حیوان ، در قالب 2 وعده غذایی در دسترس حیوانات قرار گرفت. زمان دریافت اولین وعده غذایی ساعت 21 و زمان دریافت دومین وعده غذایی ساعت 6 صبح و مدت زمان لازم برای مصرف غذا در هر وعده برای این گروه یک ساعت و نیم بود. جهت تعیین دوره سازگاری برای این دو رژیم غذایی، مقادیر خورده شده روزانه هر حیوان در هر گروه با ترازوی سارتوریوس[1] با دقت 0/1 گرم اندازه گیری وثبت گردید. مقادیر برابر[2]، 15 گرم بود که در روز هشتم بعد از شروع مداخله بدست آمد. ادامه برنامه، بر اساس غذای مصرفی بدست آمده در حالت پلاتو[3] (15 گرم در روز به ازای هرحیوان) به مدت 60 روز تداوم داشت. در روز شصتم مداخله، مجدداً از تمام حیوانات خون گرفته شد و مقادیر IgM، IgA، IgG و انسولین سرم تعیین گردید. مقادیر آب و غذای مصرفی نیز هر روز اندازه گیری گردید.جهت اندازه گیری میزان IgM، IgG، IgA و انسولین سرم از ELISA استفاده شد. مقایسه داده ها با استفاده از روش آماری استیودنت تی تست دوتایی[4] صورت گرفت. پروتکل تحقیق توسط کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز مورد مطالعه و تأیید قرار گرفت.

یافته ها

روند دریافت غذا در دو گروه از حیوانات در طی اولین 8 روز بعد ازشروع مداخله در شکل 1 ارائه گردیده است. نتایج این شکل بیانگر آن است که دریافت غذا درهفتمین و هشتمین روز بعد ازشروع مداخله در هر دو گروه از حیوانات به سطح ثابت (15 گرم در روز به ازای هر حیوان) رسیده است.



شکل شماره 1- مقادیر دریافت غذا در گروههای پر وعده و کم وعده در طی اولین 8 روز بعد از مداخله

مقادیر آب و غذای دریافتی حیوانات در طی دوره مطالعه در جدول 1 ارائه شده است. بر اساس جدول شماره 1 ، میانگین دریافت روزانه غذا و آب برای هر حیوان در طی شصت روز مطالعه، به ترتیب برای گروه پر وعده برابر با 14/69 ±0/52 گرم و 30/15 ± 3/28 میلی لیتر و برای گروه کم وعده برابر با 13/95 ± 1/07 گرم و 29/52 ± 3/42 میلی لیتر بود. مقایسه میزان غذا و آب دریافتی قبل و بعد از مداخله، در هر دو گروه تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند. مقادیر IgA،IgM ، IgGو انسولین سرم در هر دو گروه از حیوانات قبل و بعد از مداخله در جدول 2 ارائه شده است. بر اساس یافته های این جدول هر دو رژیم غذایی باعث کاهش غیر معنی داری (P>0/05) در مقادیر انسولین و IgA سرم بعد از شصت روز مداخله گردیده بودند. تفاوت معنی دار در مقادیر انسولین و

1. Sartorius
2. Corresponding value
3. Plateau level
4. Student's paired t-test

IgA سرم قبل و بعد از مداخله در هر دو گروه مشاهده نگردید. گرچه در هر دو رژیم غذایی میزان انسولین سرم بطور غیر معنی دار کاهش پیدا کرده بود، اما درصد کاهش در رژیم پر وعده در قیاس با رژیم کم وعده بیشتر بود (5/3%- در برابر2/3%-).

مقادیر IgM و IgG سرم در هر دو رژیم غذایی بطور معنی داری (P<0/05) افزایش پیدا کرده بود اما این اختلاف قبل و بعد از مداخله بین گروهها به لحاظ آماری معنی دار نبود. گرچه در هر دو گروه از حیوانات مورد مطالعه میزان IgM و IgG سرم بطور معنی داری افزایش پیدا کرده بود،اما درصد افزایش میزان IgM و IgG سرم در رژیم پر وعده در قیاس با رژیم کم وعده بیشتر بود(56% در برابر 38% و 37% در برابر 28/7% به ترتیب برای میزان IgM و IgG سرم).

جدول شماره 1- مقایسه میزان دریافت غذا و آب بین دو گروه از حیوانات مورد مطالعه[a]

گروه	دریافت غذا	دریافت آب
پر وعده[b]	14/69±0/52 (14/2-15/2)	30/15±3/28 (26/1-33/4)
کم وعده[b]	13/95±1/07[c] (12/9-15/0)	29/52±3/42[c] (26/1-32/9)

a- ارقام بر اساس Mean ±SD بیان شده اند.
b- N=15 در هر گروه
c- اختلاف غیر معنی دار(P>0/05) بین دو گروه

جدول شماره 2- مقادیر انسولین،IgM،IgGوIgA قبل و بعد از مداخله در دو گروه از حیوانات مورد مطالعه[a]

	انسولین Pmol/L		IgM mg/dl		IgG mg/dl		IgA mg/dl	
گروه	قبل	بعد	قبل	بعد	قبل	بعد	قبل	بعد
پر وعده[b]	121/2±11/4 (109/9-132/5)	114/7±4[c] (110/7-118/7)	5/3±0/8 (4/5-6/1)	8/3±1/8[d] (6/5-10/1)	7/2±1/5 (5/7-8/7)	9/9±1/7[d] (8/2-11/6)	7/7±4 (3/7-10/7)	7±3/5[c] (3/5-10/5)
کم وعده[b]	118/5±18/5[e] (100/2-136/8)	115/8±8/2 [e,c] (107/7-123/9)	5/2±1/4[e] (3/8-6/6)	7/2±2[d,e] (5/0-9/4)	8±2/2[e] (5/8-10/2)	10/3±1/9[d,e] (8/4-12/2)	7/9±2/6[e] (5/3-10/5)	6/8±4 [e,c] (2/8-10/8)

a- ارقام بر اساس Mean ±SD بیان شده اند.
b- N=15 در هر گروه
c- اختلاف غیر معنی دار(P>0/05) بین قبل و بعد از مداخله
d- اختلاف معنی دار(P<0/05) بین قبل و بعد از مداخله
e- اختلاف غیر معنی دار(P>0/05) بین دو گروه

بحث و نتیجه گیری

افزایش میزان انسولین سرم ناشتا و بعد از غذا در بیماران غیر دیابتی یکی از علل سکته قلبی گزارش شده است (17). در ارتباط با تأثیر تعداد وعده های غذایی بر میزان انسولین سرم گزارشات ضد و نقیض می باشد. بعضی از محققین (5، 6) معتقدند که میزان انسولین سرم در رژیم پر وعده در قیاس با رژیم کم وعده کاهش پیدا می نماید. جنکینز[1] و همکاران (5) کاهش معنی دار در میزان انسولین سرم در رژیم پر وعده (17 وعده در روز) در مقایسه با رژیم کم وعده (3 وعده در روز) را گزارش نمودند. کاهش میزان انسولین سرم در طی رژیم پر وعده ممکن است مستقیماً به کاهش خطر بیماریهای قلبی عروقی کمک نماید. نتایج تحقیقات (20-18) نشان می دهند که انسولین لیپوژنز را در بافتهای عروقی تحریک و رشد و تکثیر سلولی را در سلولهای صاف دیواره عروقی افزایش می دهد. در مطالعه حاضر هر دو رژیم غذایی باعث کاهش غیر معنی دار (p<0/05) میزان انسولین سرم بعد از 60 روز مداخله شده بودند، اما اختلاف معنی دار در میزان انسولین سرم بین گروهها قبل و بعد از مداخله مشاهده نگردید. عدم اختلاف معنی دار در میزان انسولین سرم منبعث از تأثیر رژیم های کم و پر وعده توسط دیگر تحقیقات انسانی (10-7) نیز گزارش شده است. آرنولد[2] و همکاران (8) عدم تأثیر رژیم های سه

1. Jenkins 2. Arnold

وعده در روز (رژیم کم وعده) و نه وعده در روز (رژیم پر وعده) بر میزان انسولین سرم را گزارش نمودند که نتایج این تحقیق هم راستا با نتایج تحقیق حیوانی اخیر می باشد. به هر حال، گرچه در مطالعه حاضر در هر دو رژیم غذایی میزان انسولین سرم بطور غیر معنی دار کاهش پیدا کرده بود ، اما درصد کاهش در رژیم پر وعده در قیاس با رژیم کم وعده بیشتر بود (5/3%- در برابر2/3%-).

هرچند مطالعات انسانی و حیوانی در مورد تأثیر محرومیت شدید تغذیه ای بر سطوح ایمنی هومورال کم بوده و نتایج نیز ضد و نقیض می باشد، اما تاکنون هیچگونه تحقیقی در مورد اثرات تعداد وعده های غذایی بر سیستم ایمنی هومورال در حیوانات انجام نشده است. کلی[1] و همکاران (16) گزارش نمودند که میزان IgA و IgG سرم بطور معنی داری ($p<0/05$) در اثر محدودیت انرژی در زنان مبتلا به افزایش وزن کاهش پیدا می نماید. محدودیت انرژی در این تحقیق میزان IgM سرم را تحت تأثیر قرار نداده بود. اومزوا[2] و همکاران(21) کاهش معنی دار میزان IgA و IgM سرم در اثر محدودیت انرژی (خوردن 60% انرژی روزانه بعنوان گروه شاهد) در قیاس با گروه کنترل (بصورت آزاد) را در یک مطالعه حیوانی نشان دادند. از طرف دیگر نتایج یک تحقیق انسانی (14) بیانگر افزایش غیر معنی دار میزان IgG سرم در اثر گرسنگی در افراد چاق می باشد. در مطالعه حاضر، هر دو رژیم غذایی باعث افزایش معنی دار ($p<0/05$) در میزان IgM و IgG سرم و کاهش غیر معنی دار ($p<0/05$) در میزان IgA سرم بعد از 60 روز مداخله گردیدند.اختلاف معنی داری بین دو رژیم غذایی در میزان IgM، IgG و IgA سرم قبل و بعد از مداخله مشاهده نگردید.گرچه در مطالعه حاضر در هر دو گروه از حیوانات مورد مطالعه میزان IgM و IgG سرم بطور معنی داری افزایش پیدا کرده بود، اما درصد افزایش میزان IgM و IgG سرم در رژیم پر وعده در قیاس با رژیم کم وعده بیشتر بود(56% در برابر 38% و 37% در برابر 28/7% به ترتیب برای میزان IgM و IgG سرم). بنظر می رسد که گرسنگی با مدت کوتاه تأثیرات متعددی نسبت به تأثیرات یکنواخت بر وظایف سیستم ایمنی دارد.

نتیجه گیری

گرچه اختلاف معنی داری بین رژیم پر وعده و کم وعده در مورد میزان IgM ، IgG، IgA و انسولین سرم مشاهده نگردید، ولی در کل یافته های بدست آمده از تحقیق حاکی از نتایج بهتر رژیم غذایی پر وعده بر روی میزان انسولین ، IgM و IgG سرم نسبت به رژیم کم وعده است. در پایان گرچه ما استفاده از مدل افزایش تعداد وعده های غذایی را که در این تحقیق ارائه کردیم دفاع نمی نمائیم، اما معتقدیم که این مدل یک اصل مهمی را بیان می دارد. نهایتاً تحقیقات بیشتر انسانی وحیوانی جهت اثبات و توضیح این مدل مورد نیازمی باشد.

تقدیر و تشکر

حمایت مالی این تحقیق توسط مرکز تحقیقات کاربردی-داروئی و دانشکده بهداشت و تغذیه دانشگاه علوم پزشکی تبریز صورت گرفت که صمیمانه از مسئولین محترم سپاسگزاری می گردد.

1. Kelley 2. Umezawa

References

1. Hulsewe KWE, Van Acker BAC, Von Meyenfeldt MF, Soeter PB. Nutritional depletion and dietary manipulation: Effects on immune response. World J Surg, 1999; 23: 536- 544
2. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. Eur Cytokine Netw, 2006; 17 (1): 4-12
3. Reaven P. Metabolic syndrom. J Insur Med, 2004; 36 (2): 132-42
4. Drummond S, Crombie N, Kirk T. A critique of the effects of snacking on body weight status. Eur J Clin Nutr, 1996; 50: 779-783
5. Jenkins DJA, Wolever TMS, Vuksan V. Nibbling versus gorging: metabolic advantages of increased meal frequency. N Engl J Med, 1989; 321: 929-34
6. Jenkins DJA, Ocana A, Jenkins AL, Wolever TMS, Vuksan V, Katzman L. Metabolic advantages of spreading the nutrient load: effects of increased meal frequency in non-insulin-dependent diabetes. Am J Clin Nutr, 1992; 55: 461-67
7. Maislos M, Rabiah YA, Zuili I, Iordash S, Shany S. Gorging and plasma HDL-cholesterol – The Ramadan model. Eur J Clin Nutr, 1998; 52: 127-130
8. Arnold L, Ball M, Mann J. Metabolic effects of alterations in meal frequency in hypercholesterolaemic individuals. Atherosclerosis, 1994; 108: 167-174
9. Bertelsen J, Christiansen C, Thomsen C, Poulsen PL, Vestergoard S, Steinov A. Effect of meal frequency on blood glucose, insulin, and free fatty acids in NIDDM subjects. Diabetes Care, 1993; 16: 4-7
10. Segura AG, Josse RG, Wolever TMS. Acute metabolic effects of increased meal frequency in Type II diabetes: three vs. six, nine and twelve meals. Diabetes Nutrition and Metabolism, 1995; 8: 331-338
11. Fabry P, Tepperman J. Meal frequency- A possible factor in human pathology. Am J Clin Nutr, 1970; 23: 1059-1068
12. Rashidi MR, Mahboob S, Sattarivand R. Effects of nibbling and gorging on lipid profiles, blood glucose and insulin levels in healthy subjects. Saudi Med J, 2003; 24 (9): 945-8
13. Gatenby SJ: Eating frequency. Methodological dietary aspects. Br J Nutr, 1997 ;77, Suppl 1: 7-20
14. Wing EJ, Stanko RT, Winklstein A, Adibi SA. Fasting-enhanced immune effector mechanisms in obese subjects. Am J Med, 1983; 75: 91-96
15. Perkins KH, VandeHaar MJ, Burton JL, Liesman JS, Erskine RJ, Elsasser TH. Clinical responses to intramammary endotoxin infusion in dairy cows subjected to feed restriction. J Dairy Sci, 2002; 85 (7): 1724-31
16. Kelley DS, Dauda PA, Branch LB, Johnson HL, Taylor PC Mackey B. Energy restriction decreases number of circulating natural killer cells and serum levels of immunoglobulins in overweight women. Eur J Clin Nutr, 1994; 48: 9-18
17. Rubins HB, Robins SJ, Collins D, Nelson DB, Elam MB, Schaefer EJ, et al. Diabetes, plasma insulin, and cardiovascular disease: subgroup analysis from the Department of Veterans Affairs high-density lipoprotein intervention trial (VA-HIT). Arch Intern Med, 2002; 162 (22): 2597-2604

18. Sato Y, Shiraishi S, Oshida Y, Ishiguro T, sakamoto N. Experimental arteriosclerosis-like lesions induced by hyper insulinism in wistar rats. Diabetes, 1989; 38: 91-6
19. Stout RW. Insulin-stimulated lipogenesis in arterial tissue in relation to diabetes and atheroma. Lancet, 1968; 2: 702-3
20. Rizzoni D, Muiesan ML, Porteri E, Castellano M, Salvetti M, Monteduro C, et al. Circulating adhesion molecules and carotid artery structural changes in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. J Hum Hypertens, 2003; 17 (7): 463-70
21. Umezawa M, Hanada K, Naiki H, Chen WH, Hosokawa M, Hosono M. Effects of dietary restriction on age-related immune dysfunction in the senescence accelerated mouse. J Nutr, 1990; 120: 1393-400