تحديد تركيز هرمون اللبتِن في بلازما دم المعز الشامي ضمن الموسم التناسلي

Determination of Leptin Concentration In Plasma of Shami Goats in Breeding Season

عدنان الأسعد [1] محمد الصالح [2] معتز زرقاوي [3]

M. Zarkawi[3] M. Saleh[2] Al-Assad, A[1]

(1) المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة/أكساد.

(1) The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry lands (ACSAD).

(2) هيئة الطاقة الذرية، سورية.

(2) Atomic Energy Commission of Syria, Damascus, Syria.

(3) قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية.

(3) Dep. of Animal Production, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria.

eng.adnan.2010@gmail.com

الملخص

هدفت الدراسة إلى تحديد مستوى هرمون اللبتِن في بلازما دم المعز الشامي لمعرفة موعد النشاط المبيضي خلال الفترة المبكرة من الموسم التناسلي. سُحبت 460 عينة دم من الوريد الوداجي من عشرة عنزات غير حامل ولدت أكثر من مرة، قبل تناول العليقة الصباحية لمدة 46 يوماً خلال الفترة الممتدة من 8/11/ لغاية 2015/9/26 باستخدام أنابيب مفرغة تحتوي مادة الهيبارين كمانع تخثر، وثفلت العينات على سرعة 3000 د/ د ولمدة 20 دقيقة باستخدام مثفلة مبردة، وحُفظت البلازما المستخلصة ضمن مجمدة على درجة حرارة - 20 م° لحين إجراء التحليل الهرموني باستخدام طريقة المقايسة المناعية الإشعاعية Radioimmunoassay (RIA). أجريت العمليات الإحصائية باستخدام نظام التحليل الإحصائي (SAS ، 2008). قدرت الفروق بين متوسطي تركيز هرمون اللبتِن في مجموعتي العنزات الدورية وغير الدورية في حال وجودها حسب اختبار TUKEY المدرج ضمن تعليمة GLIMMIX. أظهرت نتائج تحليل التباين عدم وجود فرق معنوي P>0.05 في متوسط تركيز هرمون اللبتِن بين المعزات الشامية الدورية وغير الدورية، لكن الإناث الدورية كانت أكثر استقراراً في تغيرات إيقاع مستويات هرمون اللبتِن مع الميل إلى ارتفاع واضح خلال الطور اللوتيئيني. إذ بلغ متوسط المربعات لتركيز هرمون اللبتِن 3.5 ± 0.94 و 3.7 ± 0.47 نانو غرام/ مل في المعزات الشامية الدورية وغير الدورية على التوالي. يستنتج من الدراسة أنه لم تُسجل تغيرات كبيرة (P>0.05) لمستويات هرمون اللبتِن عند المعزات الشامية الدورية وغير الدورية، ولا يمكن الاعتماد عليه لتحديد الدورية عند المعز الشامي.

الكلمات المفتاحيّة : المعز الشامي، موسم التناسل، هرمون اللبتِن.

©2019 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved.

ISSN:2305 - 5243 ; AIF-177(p: 131 - 136)

Abstract

The aim of the present study was to determine the leptin level in plasma of shami goats during the early breeding season. A total of 460 blood samples were collected from ten multiparous non -pregnant Shami does before feeding during 46 days (from 11 Aug. to 26 Sep. / 2015) via jugular venipuncture and centrifuged at 3000 rpm for 20 min. The plasma was harvested and stored at -20°C until hormonal analysis by Radioimmunoassay (RIA). Data were analyzed using PROC GLIMMIX (SAS, 2008). Differences in least square means for leptin levels were subjected to Tukey test. No significant ($p > 0.05$) differences were recorded in mean leptin concentrations between cyclic and non-cyclic goats, however, leptin was more stable in the cyclic goats. The overall mean of leptin concentration was 3.5 ± 0.94 and 3.7 ± 0.47 ng/ mL in cyclic and non- cyclic goats.

It may be concluded that there was very little changes in leptin concentration during the early breeding season, therefore, Leptin level cannot be consider as a reliable indicator for cyclicity in Shami goats.

Keywords: Shami goats, Leptin, Breeding Season.

المقدمة

نظراً للأهمية الاقتصادية لسلالة المعز الشامي في سورية، والضرورة الماسَة لدراسة الوظائف التناسلية المرتبطة بإنتاج الحليب والمواليد عند هذه الحيوانات، بغية تحسين أداءها ورفع مستوى إنتاجها، فإن دراسة المنحنيات الهرمونية تُعدّ حاجةً أساسيةً لكشف الإمكانات الإنتاجية لهذه السلالة .تؤدي التغيرات في وزن الجسم، أو الوضع التغذوي إلى إحداث تغييرات في مستوى العديد من الهرمونات وعوامل النمو في البلازما التي تنظم عمل الخلايا الشحمية ونمو الحيوان، من هذه الهرمونات اللبتِن (Barb وزملاؤه، 2006) ، الذي يعد من المنظمات الهرمونية العديدة التي تشترك في التنظيم المتكامل للتناسل والاستقلاب، ويُعدّ منظماً هرمونياً ضرورياً يربط مخازن الدهن في الجسم مع العديد من المحاور الهرمونية العصبية، ومنها تلك التي تنظم الجهاز التناسلي (Ahima وزملاؤه، 2000؛ Fernandez-Fernandez وزملاؤه، 2006؛ TenaSempere، 2007). يُفرز هرمون اللبتِن من النسيج الدهني الأبيض بتراكيز تتعلق بمقدار مخازن الدهن في الجسم، ويؤدي دوراً كعامل فاقد للشهية (Anorexigen) ومولد للحرارة (Thermogenic) على مستوى الوطاء، وبالتالي الإسهام في تعديل احتياجات الطاقة ومخازن الدهن والعلف المتناول (Casanueva و Dieguez، 1999؛ Ahima وزملاؤه، 2000). تتفق الكثير من الدراسات على مبدأ أن اللبتِن يؤدي دوراً مركزياً في التنظيم الاستقلابي للبلوغ والخصوبة، وكذلك تنظيم حرارة الجسم (Ahima وزملاؤه، 2000؛ McFadin وزملاؤه، 2002؛ FernandezFernandez وزملاؤه، 2006؛ TenaSempere، 2007).

يؤثر هرمون اللبتِن في الوطاء، ويؤدي إلى زيادة تحرير الهرمون المطلق لموجهة الغدد التناسلية (GnRH)، والذي بدوره يحفز النخامية الغدية على إفراز هرمون اللوتنة (LH)، والهرمون المنشط للجريب (FSH) اللذين يؤديان دوراً أساسياً في التطور الجريبي والإباضة (الصالح، 2017).

هدف البحث: نظرا لندرة المعلومات عن دور اللبتن في ابتداء النشاط المبيضي، هدفت هذه الدراسة إلى تحديد مستوى التركيز اليومي لهرمون اللبتِن خلال المرحلة المبكرة من الموسم التناسلي في دم إناث المعز الشامي الدورية وغير الدورية.

مواد البحث وطرائقه

الحيوانات:

استخدمت في هذه الدراسة 10 معزات شامية غير حامل، سبق لها أن ولدت أكثر من مرة، وزنها الحي بالمتوسط 8.06±55.6 كغ من محطة بحوث دير الحجر للمعز الشامي. عُزلت المعزات عن باقي حيوانات القطيع، ووضعت ضمن حظيرة خاصة، وسُمح لها نهاراً بالرعي في المراعي الطبيعي. قُدمت للحيوانات داخل الحظيرة عليقة مكونه من الشعير وكسبة القطن المقشورة وتبن القمح، ووضع أمامها مكعبات مخلوط معادن ووفر لها الماء بشكل حر، كما عولجت من الطفيليات الداخلية في بداية الدراسة، وأطلق معها تيس كشاف لكشف الشبق مرتين يومياً (9.00 صباحاً و 16.00 بعد الظهر).

سحب عينات الدم:

سُحبت عينات الدم يومياً في الساعة 9.00 صباحاً قبل تقديم العليقة ولمدة 46 يوماً (من 11 آب /أغسطس لغاية 26 ايلول/ سبتمبر من عام

2015) من الوريد الوداجي للمعزات وبمعدل 10 مل باستخدام أنابيب مفرغة تحتوي على مادة الهيبارين، ثم ثُفلّت العينات الدموية بسرعة 3000 دورة بالدقيقة لمدة 20 دقيقة، ونقلت البلازما الناتجة إلى مخابر هيئة الطاقة الذرية السورية، وحُفظت في الثلاجة على درجة حرارة –20° م لحين إجراء التحاليل الهرمونية المطلوبة. نُقلت عينات البلازما باستخدام صندوق خاص بثلاث طبقات يحتوي على 12 كغ من الجل المجمد للمحافظة عليها مجمدةً في أثناء النقل الجوي إلى مخبر التناسل في قسم علم الحيوان بجامعة ميسوري في الولايات المتحدة الأمريكية، من أجل إجراء التحاليل الهرمونية. استخدمت طريقة المقايسة المناعية الإشعاعية Radioimmunoassay (RIA) في معايرة هرمون اللبتِن بحسب طريقة Delavaud وزملائه (2000)، وذلك كطريقة قياس تجمع بين النوعية العالية للتفاعل المناعي(Immune reaction) والحساسية العالية للتحري والكشف عن أضداد هرمون اللبتِن النوعية والمحضرة في الأرانب الموسومة باليود المشع I_{125}.

التحليل الاحصائي:

أجريت جميع العمليات الإحصائية باستخدام نظام التحليل الإحصائي (SAS، 2008)، وقدرت الفروق بين متوسطي تركيز الهرمون في المجموعتين في حال وجودها وفق اختبار TUKEY المدرج ضمن تعليمة GLIMMIX. قُيِّمت البيانات احصائياً تبعاً للأنموذج التالي:

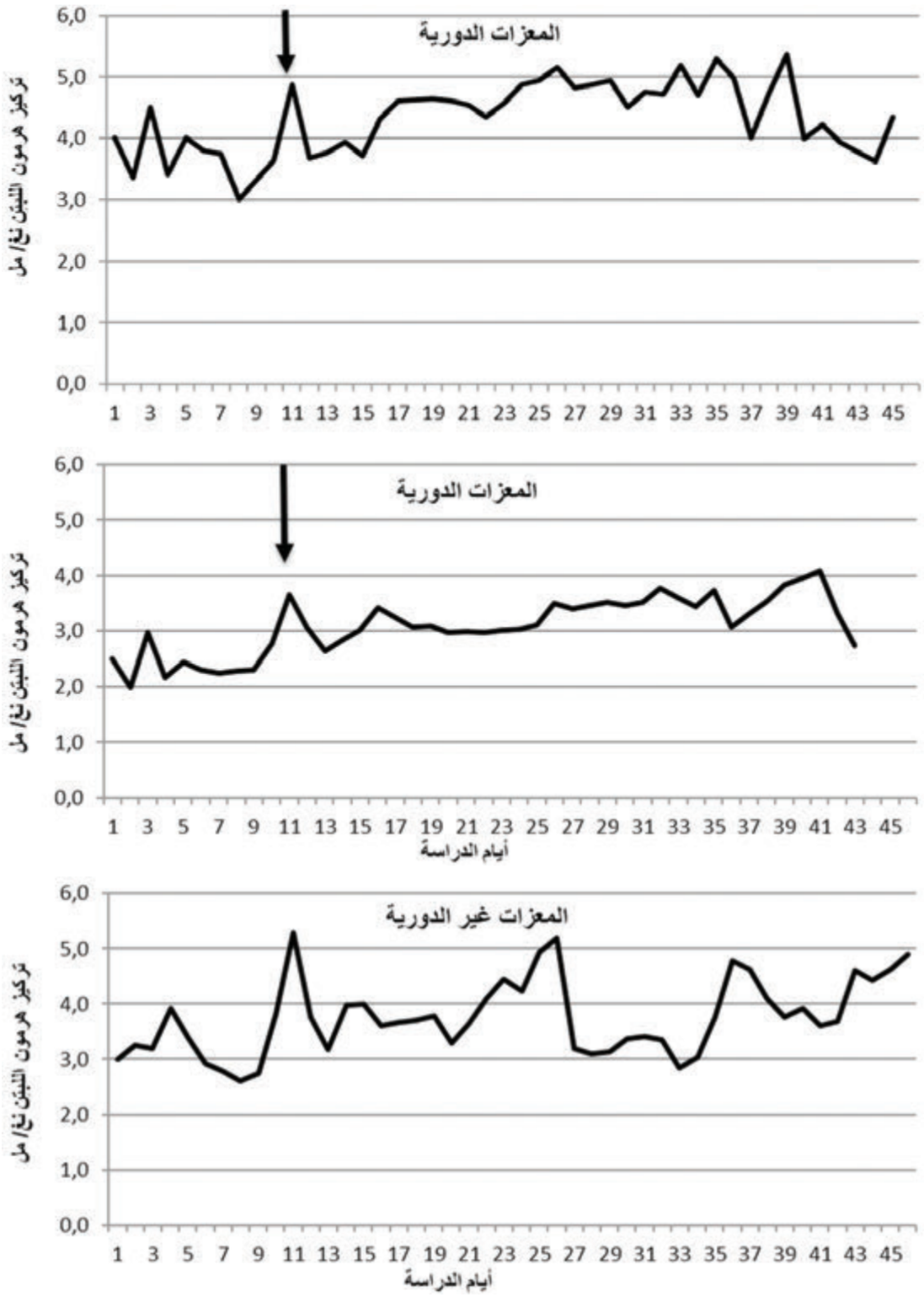
$$Y_i = X_{i\beta} + Z_{i\gamma} + \varepsilon_i$$

إذ تمثل Yi المتغير المدروس (متوسط تركيز الهرمون المدروس). Xi مصفوفة عمودية للمتغيرات التوضيحية (تعد مؤثرات ثابتة)، والتي يمكن قياسها من الإعدادات التجريبية (وهي في دراستنا الحالة التناسلية). قُدِّرت مصفوفة المعاملات غير المعروفة β بتطبيق طريقة أقل المربعات على بيانات المتغير المدروس Yi. وتمثل Z العوامل العشوائية، و γ مصفوفة العوامل العشوائية (مثل الحيوان، العمر) المؤثرة في المتغيرات المدروسة، ويمثل εi الخطأ التجريبي.

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج تحليل التباين عدم وجود فرق معنوي (P>0.05) في متوسط تركيز هرمون اللبتِن بين المعزات الشامية الدورية وغير الدورية، ولكن كانت الإناث الدورية أكثر استقراراً في تغيرات إيقاع مستويات هرمون اللبتِن مع ميل واضح إلى ارتفاع خلال الطور اللوتيئيني. إذ بلغ متوسط تركيز هرمون اللبتِن 3.5 ± 0.94 و 3.7 ± 0.47 نانوغرام/ مل في المعزات الشامية الدورية وغير الدورية على التوالي.

يوضح الشكل 1 التغيرات اليومية في مستوى هرمون اللبتِن في المعزات الشامية خلال الفترة المبكرة من الموسم التناسلي، إذ يلاحظ عدم وجود ثبات في الإيقاع اليومي لمستوى هذا الهرمون (الشكل 1) في المعزات غير الدورية، وكانت مستوياته خلال الأيام الأولى من فترة الدراسة أقل منه في الأيام الأخيرة (2.8 إلى 3 نانو غرام/ مل)، وبلغ 2 إلى 4 نانو غرام/ مل عند المعزات الدورية في بداية الموسم التناسلي، مع وجود نزعة للارتفاع مع تقدم أيام الموسم التناسلي، إذ وصل مستواه لنحو 3 إلى 5 نانو غرام/ مل عند المعزات الدورية، كما سجل وجود نزعة مماثلة في المعزات غير الدورية، فقد بلغت قيم هرمون اللبتِن في بداية ونهاية الدراسة (3.5 و 3.7 نانو غرام/مل، على التوالي)، لكن الخطأ القياسي كان أكبر في المعزات الدورية، ويعد هذا البحث الأول الذي يدرس تغيرات مستوى تركيز هرمون اللبتِن في بلازما المعز الشامي خلال المرحلة المبكرة من الموسم التناسلي نظراً لعدم وجود دراسات وبحوث سابقة عن تحديد مستوى هرمون اللبتِن في بلازما المعز الشامي في سورية. ولم يسجل فرق معنوي في المتوسط العام اليومي لتركيز هرمون اللبتِن بين المعزات الشامية الدورية وغير الدورية. إذ بلغ المتوسط العام لتركيز هرمون اللبتِن 3.5 إلى 3.7 نانو غرام/ مل، وهو مشابه لتقدير Alial-Johansson وزملائه (2004) في سلالة المعز الفنلندي (3 إلى 3.6 نانوغرام/مل)، والتي تجاوزت أعمارها 5 سنوات، وأعلى منه في سلالة المعز الكشميري الأسترالي (1.22 إلى 1.5 نانوغرام/مل) في الإناث التي أعمارها بين 2 و 3 سنوات (Shikh Miadin وزملاؤه، 2014)، وفي سلالة معز السانين والبالغ 2.16+ 0.29 نانوغرام/مل (Guzel وزملاؤه، 2012)، وعند معز الشعر في تركيا (0.94 0.1 نانوغرام/مل) (Guzel وزملاؤه، 2012)، وعند غنم العواس التركية والبالغ (3.5 + 0.53 نانوغرام/مل) (Guzel وزملاؤه، 2012). ويبدو أن تركيز هرمون اللبتِن يختلف بين العديد من الأنواع والعروق الحيوانية (Vaniant و 2003 ،Label؛ McFadin وزملاؤه، 2002)، وأيضاً ضمن العرق بحسب العمر، ومدة الإضاءة والحرارة، ومدى توفر الأعلاف (Alial-Johansson وزملاؤه، 2004)، وحسب تطور حالة الجسم (Leon وزملاؤه، 2004). ترتبط تغيرات هرمون اللبتِن مع تغيرات هرمون البروجِستيرون خلال الطور اللوتيئيني في المرأة (Hardie وزملاؤه، 1997)، والبقر (Mann وBlache، 2002؛ Mann وزملاؤه، 2005)، ويؤدي دوراً في تطور الجريبات، وله تأثير في وظيفة الجسم الأصفر عند إناث الخنازير (Ruiz-Cortes وزملاؤه، 2003).



الشكل1. التغيرات اليومية لتركيز هرمون اللبتِن (نانو غرام/ مل) في بلازما المعزات الشامية الدورية وغير الدورية خلال فترة الدراسة (11 /8 /2015 إلى 26 /9/ 2015).

تجدر الإشارة إلى أن هرمون اللبتِن يؤثر في محور الوطاء والغدة النخامية والمبيض في البقر (Nicklin وزملاؤه، 2007)، علماً أن مستوى هذى الهرمون يرتبط بالحالة الغذائية (Adam وزملاؤه، 2001). فقد أشارت النتائج في المختبر إلى أن التغذية تؤثر عن طريق نظام IGF في وظيفة الجسم الأصفر وإنتاجه للبروجستيرون (Einspanier وزملاؤه، 1990؛ Ricke وزملاؤه، 1999). لم تسجل في هذه الدراسة فروق معنوية بين متوسطات مستوى هرمون اللبتِن عند المعزات الدورية وغير الدورية، لكن الإناث التي أظهرت نشاطاً تناسلياً كانت أكثر

استقراراً في تغيرات إيقاع مستويات هرمون اللبتِن مع ميل إلى ارتفاع واضح خلال الطور اللوتيئيني، وهذا قد يوحي إلى ضرورة وصول الحيوان لوزن محدد يتمكن عنده من الحفاظ على مستويات هرمون اللبتِن (Richards وزملاؤه، 1989) تُفعِّل دوره في النشاط المبيضي، أما انخفاض وزن الحيوان عن مستوى معين فيزيد من التباين اليومي في مستوى اللبتِن ويقلل من تطور الجريبات المبيضية، وبالتالي عدم حدوث إباضة (Mackey وزملاؤه، 1999)، دون التأثير في إنتاج الحد الأدنى من هرمون البروجستيرون (Nicklin وزملاؤه، 2007).

بناءً على هذه النتائج تبين أن المبايض في المعز الشامي كانت هدفاً لتأثير هرمون اللبتِن، ويرتبط تركيزه مع تركيز هرمون البروجِستيرون خلال الطور اللوتيئيني، وأن الارتفاع الكبير في تركيزه عند المعزات الدورية قد يكون لها علاقة بحالة الجسم (حجم الجسم ووزنه) والتغيرات اليومية (Leon وزملاؤه، 2004؛ Aboelmaaty وزملاؤه، 2008) خلال فترة الدراسة.

وعليه توصى الدراسة بإجراء مزيد من الدراسات لتقييم تأثير هرمون اللبتِن في سلالات المعز خلال مرحلة الجسم الأصفر، وتأثيره في الخلايا التي تنتج الهرمونات الستيروئيدية، وتحديد مدى ارتباطه مع تغيرات الجسم سواء من حيث الوزن أو النمو.

شكر وتقدير:

الشكر لإدارة بحوث الإنتاج الحيواني في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية في سورية لتقديم العينات الدموية، ومركز بحوث علم الحيوان في جامعة ميسوري في الولايات المتحدة الأمريكية.

المراجع

- الصالح م ع. 2017. فيزيولوجيا الحيوان. منشورات جامعة دمشق.
- Aboelmaaty, A. M., M.M. Mansour, Omaima, H. Ezzo and A.M. Hamam. 2008. Some reproductive and metabolic responses to food restriction and refeeding in Egyptian native goats. Glob. Vet., 2(5): 225-232.
- Adam, C.L. T.S. Gadd, P. A. Findlat, and D. C. Wathes. 2001. IGF-1 stimulation of luteinizing hormone secretion, IGF-binding proteins (IGFBPs) and expression of mRNAs for IGFs, IGF receptors and IGFBPs in the ovine pituitary gland. J. Endocrinol., 166: 247-254.
- Ahima RS, C.B. Saper, J.S. Flier and J.K. Elmquist .2000. Leptin regulation of neuroendocrine systems. Front Neuroendocrine; 21:263–307.
- Alial-Johansson, A., L. Eriksson, T. Soveri and M. L. Laakso. 2004. Daily annual variations of free fatty acid, glycerol and leptin plasma concentrations in goats (*Carpa hircus*) under different photo periods. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 138: 119-131.
- Barb, C.R., J.G. Hausman and T. G. Ramsay. 2006. Leptin in farm animals, in: Castracone, VD and Henson MC (eds.), Leptin, Endocrine Update Series, Springer Publishing Group, New York, NY., Volume 5, Chapter 14: 263-3-8.
- Casanueva FF, and C. Dieguez. 1999. Neuroendocrine regulation and actions of leptin. Front Neuroendocrinol; 20:317–63.
- Delavaud, C., F. Bocquier, Y. Chilliard, D.H. Keisler, A. Gertier, and G. Kann. 2000. Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. J. Endocrinol., 165:519-526.
- Einspanier, R., A. Miyamoto, D. Schams, M. Muller and G. Brenn. 1990. Tissue concentration, mRNA expression and stimulation of IGF-1 in luteal tissue during the estrus cycle and pregnancy of cows. J. Reprod. Fertil., 90: 439-445.
- FernandezFernandez R, A.C. Martini, and V.M.Navarro. 2006. Novel signals for the integration of

energy balance and reproduction. Mol Cell Endocrinol; 254–255:127–32.
- Guzel,S.,M. tanriverdi and N. Gunes. 2012. Plasma leptin in some ruminant species and breeds. J. Anim. Vet. Advan. 11(15): 2735-2755.
- Hardie, L., P. Trayhurn, D. Abramovich and P. Fowler. 1997. Circulating leptin in women: A longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. J. Cli. Endocrinol., 47: 101-106.
- Leon, H.V., J. Hemandez-Ceron, D.H. Keislert, and C.G. Gutierrez. 2004. Plasma concentrations of leptin, insulin-like growth factor-I, and insulin in relation to changes in body condition score in heifers. J. Anim. Sci., 82:445-451.
- Mackey, D.R., J.M. Sreenan, J.F. Roche and M.G. Diskin. 1999. The effect of acute and nutritional constriction on incidence of anovulation periovulatory estradiol and gonadotropin concentrations in beef heifers. Biol. Reprod., 61: 1601-1607.
- Mann, G.E. and D. Blache. 2002. Relationship between plasma leptin concentrations and reproductive function in dairy cows. Proc. Br. Soc. Anim. Sci. Abstr.2.
- Mann, G.E., S.J. Mann, D. Blache and R. Webb. 2005. Metabolic variables and plasma leptin concentrations in dairy cows exhibiting reproductive cycle abnormalities identified through milk progesterone monitoring during the postpartum period. Anim. Reprod. Sci., 88:191-202.
- McFadin, E. L., Morrison, C.D., Buff, P.R., Whitley, N.C. and Keisler, D.H., 2002. Leptin concentrations in per parturient ewes and their subsequent offspring. Journal of Animal Science, 80: 738-743.
- Nicklin, L.T., R.S. Robinson, P. Marsters, B.K. Campbell, G.E. Mann and M.G. Hunter. 2007. Leptin in bovine corpus luteum: Receptor expression and effects on progesterone production. Molec. Reprod. Develop. 74: 724-729.
- Quinton ND, R.F. Smith, P.E. Clayton, M.S. Gill, S. Shalet, S.K. Justice, S.A. Simon, S. Walters, M.C. Postel-Vinay,and A.I. Blakemore. 1999. Leptin binding activity changes with age: the link between leptin and puberty. J Clin Endocrinol Metab. Jul;84(7):2336–2341.
- Richards, M.W., R P. Wettemann and H.M. Schoenemann. 1989. Nutritional anestrus in beef cows: body weight change, body condition, luteinizing hormone in plasma and ovarian activity. J. Anim. Sci., 67: 1520-1526.
- Ricke, W.A., D. A. Red and L.P. Reynolds. 1999. Growth and cellular proliferation of pig corpora luteal throughout estrus cycle. J. Reprod. Fertil., 117: 369-377.
- Ruiz-Cortes, Z.T, Y. Martel-Kennes, N.Y. Gevry, B.R. Downey, M.F. Palin, and B.D. Murphy. 2003. Biphasic effects of leptin in porcine granulosa cells. Biol. Reprod., 68:789-796.
- SAS. SAS/ STAT. 2008. Users Guide,Verion 9.2. Cary, USA: SAS Institute Inc.
- Shikh Miadin, M., M.A. Blackberry, J.T.B. Milton, P.A.R. Hawken and G.B. Martin. 2014. Nutritional Supplements, leptin, insulin and progesterone in female Australian Cashmere goats. APCBEE Procedia, 8: 299-304.
- TenaSempere M. 2007. Roles of ghrelin and leptin in the control of reproductive function. Neuroendocrinology; 86:229-241.
- Vaniant, M.M., and C.p. Labe. 2003. Leptin: from animals to humans, Curr. Pharm.Des.9;811-818.

N° Ref: 807