دراسة المكونات الهرمونية في السائل الجريبي للأبقار المصابة بتكيس المبايض الجريبي

افتخار مهدي كاظم النجار
الكلية التقنية\المسيب

الخلاصة :

جمعت عينات السائل الجريبي لمئة بقرة مذبوحة ازيلت مبايضها وسحب السائل الجريبي من مجموعتين من الجريبات المبيضية . الاولى قطرها يتجاوز 2.5-3 cm واعتبارها جريبات متكيسة والثانية لايتجاوزقطرها 1.8-2 cm واعتبارها جريبات اباضة . ثم استعملت طرق الاليزا التجارية لقياس تراكيز كل من الهرمونات الستيرويدية (الاستراديول واندروستينديون والتستستيرون) والهرمونات القندية (هرمون محفز الجريبات (FSH) وهرمون الاباضة (LH وهرمون الحليب (prolactin) . وكذلك الهرمونات الايضية (الانسولين والثايروكسين T4والتايرونين T3) .

وقد اظهرت الدراسة زيادة معنوية في تراكيز الهرمونات الستيرويدية في الجريبات المتكيسة عن جريبات الاباضة . بينما اظهرت الدراسة قلة معنوية في تركيز الهرمونات الايضية في الجريبات المتكيسة عن جريبات الاباضة اما تراكيز الهرمونات القندية فقد اظهرت الدراسة زيادة معنوية في هرمون البرولاكيتن في المتكيسة وقلة في هرمون الاباضة بينما تركيز FSH قد اقترب من مستوياتة الطبيعية في كل من الجريبات المتكيسة وجريبات الاباضة .

Study of hormonic composition of follicular fluid in cows infected with follicular cystic ovairies

E.M.K.ALnaggar

ABSTRACT :

follicular fluid samples were collected from one handres ovaris of slaughtered cows , and devided into two groups according to diameter of follicles , the first with 2.5-3 cm diameter and represented as cyctic follicls , the second of diameter less than 1.8-2 cm and represente as ovulat cysts . the samples analyzed by commercial Eliza to measure the steroid hormones , gonadotrophic hormones and metabolite hormones . the study demonstrate significant elevated in steroid hormone concentration (estradiol 17-b , androstenedion and testesteron) . the metabolite hormones (insoline T3,T4) demonstation singificaut decreasing in concentration in the cystic follicles than ovulat follicle . Gonadotrphin hormones demonstrat diffrente results . prolactin elevated significautly in cystic follicles than ovulat cyst wherase LH demonstrate singificautly decreasing in concentration in cystic follicles than ovulate cysts . FSH concentration elevated non significantly in ovulat cyst than cystic follicles.

ISSN 2072-3875

المقدمة :

بالنظرالى التطور الحاصل في تربية ابقار الحليب والاتجاة السائد حاليا في زيادة انتاجها بات من الضروري الاهتمام بوقاية الابقار من الامراض التناسلية التي تؤثر على الانتاج ومما يخص الابقار الحلوبة هوالتكيس المبيضي الجريبي الذي يسبب خسائراقتصادية كبيرة منها زيادة فترة ما بعد الولادة calving intrvala والتي لها تاثير سلبي على خصوبة الحيوان نتيجة الاضطراب الهرموني وما يصاحبة من تجمع المخاط في الرحم وتحطيم الخلايا والغدد الرحمية مما يؤدي الى العقم الموقت والذي يتطور الى العقم الدائمي في الحيوان (Hurinوجماعته،2002)و(النعيمي،2006) .وتعرف حالة تكيس المبايض الجريبي بانها عبارة عن وجود جريبة بقطر لايقل عن cm (3 -2.5) تبقى على المبيض مدة (15-10) يوم بعد فشل الاباضة وبغياب الجسم الاصفر (Sheresta وجماعته،2008) . ان نسبة حدوث التكيس الجريبي في الابقار تتراوح مابين 13%-10 وشائعة خلال 90 - 60 يوم الاولى بعد الولادة وهي مرتبطة مع مستوى الانتاج العالي للحليب وخاصة ما بعد الولادة حيث تعاني الابقار من نقص الطاقة السلبي nagativ energy balance (NEB) وعدم التوازن بين الطاقة الماخوذة من خلال التغذية والطاقة المصروفة لانتاج الحليب .وهناك عوامل وراثية وفسلجية كثيرة لحدوث المرض اضافة للتغذية الغير متوازية وزيادة انتاج الحليب (الجبوري ،2012)و(النجار،2011).ان التكيس الجريبي قد يكون مفرد او متعدد على مبيض واحد او كلا المبيضين (Jerardوجماعته ،2008). وبصورة عامة فان تشخيص المرض قد يكون عن طريق الجس المستقيمي او باتباع طرق اخرى غير دقيقة قد لاتخلو من الخطا وبالرغم من ارتباط الفحص بالاعراض والتي تتسم بالشبق الغير منتظم او بانعدام الشبق الذي يؤدي الى الاشتباة بحالة الحمل(Tom ,2005). لذا فان الهدف من الدراسة هو تشخيص الاصابة بمرض التكيس المبيضي الجريبي عن طريق دراسة الاضطراب الهرموني الحاصل في تراكيز الهرمونات ودراسة علاقتها مع مسببات المرض .

المواد وطرائق العمل

جمع المبايض Collection of ovaries

جمت مبايض الابقار في حاوية تحتوي على الملح الفسيولوجي بتركيز 0.9%ومضاد حيوي هو Gentamycin بتركيز 50mg/ml ثم عند وصولها للمختبر تغسل بالملح الفسيولوجي مرتين متتاليتين (Nandiوجماعته،2008).

فحص المبايض ovaries test

كل مبيض يفحص حول وجود الجريبات وتصنف الى مجموعتين حسب قطرها مجموعة الجريبات متكيسة وجريبات الاباضة ويقاس القطر باستعمال vernier calipers كما في الشكل رقم 1 وترقم العينات (Nandiوجماعته،2008).

جمع السائل الجريبي Follicular Fluid Collection

يسحب السائل الجريبي باستعمال نيدل gag 22 متصلة بمحقنة ذات حجم ml 5 ثم يضاف الية مانع التخثر(الهيبارين) 20mg/ml ثم يخلص السائل الجريبي من القشور والخلايا العالقة عن طريق استعمال جهاز الطرد المركزي بدرجة 40c ,5000rpm ولمدة 30 دقيقة . ثم يرشح السائل بمرشحات ذات قياس 0.2mm ثم يجمع الراشح في انابيب قياس 5ml وترقم وتصنف وتخزن بدرجة -8 لحين اجراء التحليل المختبري (النجار،2011).

ISSN 2072-3875

شكل (1)

التحليل الاحصائي :

تم استخراج المعدلات means + SE معامل الخطا القياسي لها ثم استعمل اختبار مربع كاي على طريقة cantingency tables في التحليل الاحصائي لمعرفة معنوية التغيرات في القيم لتراكيز الهرمونات في السائل الجريبي(الحسناوي ،2012).

النتائج :

اوضحت النتائج ان مستوى تركيز Estradiol 17-B يزداد معنويا" في السائل الجريبي للجريبة المتكيسة عن مستواة في جريبة الاباضة جدول رقم 1

ISSN 2072-3875

الجدول رقم(1) المكونات الستيرويدية في السائل الجريبي للجريبه المتكيسة وجريبة الاباضة

Steroid hormones	Ovulat cyst	Cystic Follicle
Estrdiol 17-B ng/ml	142 ±3.0 b	350 ± 7.0 a
Androstendion ng/ml	13±1.0 b	25± 3.1 a
Testesteron ng/ml	4 ± 1.5 b	15± 2.055 a

القيم ذي الحروف المختلفة في الصف الواحد تختلف معنويا (P > 0.05)

وهذا يتفق مع وجده(الحسناوي ،2012)حيث ان المحيط الهرموني يتغير كلما كبر حجم الجريبة وزيادة عدد وحجم الخلايا الحبيبية Granulosa cells(GC) وزيادة نشاطها في تحويل الاندروجينات التي تصنع في خلايا القراب البينية Theca interna cells(TIC) الى الهرمون المودق (الأستروجين)كما ان استمرار افراز (FSH) الهرمون محفز الجريبات المبيضية يؤدي الى زيادة نشاط الخلايا الاروماتي Granulosa cell aromatas activation وبالتالي زيادة الاستروجين داخل الجريبة المتكيسة وهذا يتفق مع ماوصل الية كل من (الجبوري ، 2012) ، (Nicolasوجماعته ،2005) و(Durlingerو جماعته ، 2002).

لقد بينت النتائج في جدول رقم (1)زيادة معنوية في تركيز كل من Testesteron و ال Androstendion اللذان ينتميان الى مجموعة الاندروحينات التي تفرز من خلايا القراب البينية Theca interna cell (TIC) في المبيض ويعزى سبب الزيادة في الجريبة المتكيسة والتي تدعى حالة Hyperandrgenism وهي (علامة تشخيصية لمرض التكيس الجريبي المبيضي) ، الى عوامل مبيضية داخليه واخرى خارجية . العوامل الداخلية لزيادة الاندروجينات فانها تتعلق باضطراب تنظيم خلايا القراب البينية (TIC) في الجريبة المتكيسة فتؤدي الى زيادة افراز الاندروجينات وهذا ما يفسر ظاهرة الذكورة (Verlisms) في الابقار المصابة بتكيس المبايض الجريب (Findlayوجماعته ،2009). وبالمثل فان الاضطراب التنظيمي للخلايا الحبيبية (G.C) يودي ايضا الى زيادة انتاج الاندروجينات وقد وجد ان هذة الخلايا تفرز الانهيبينات التي يعتقد بانها ترتب وتهيأ عملية تكوين الستيرويدات الجريبة فمثلا الانهيبين A يزيد بشكل مباشر من افراز الاندروجينات (Mcdonald,2001)كذلك فان خلايا (G.C) تفرز (AMH) Antimorol hormones والتي تضاعف من افراز الاندروجينات وهذا يتفق مع ماوصل اليه (Nishimotoوجماعته ,2009)في البشر .

اما العوامل الخارجية فانها تعود الى زيادة هرمون LH في بلازما الدم (وليس في السائل الجريبي) المؤازرة لعملية تكوين الستيرويدات في خلايا القراب البينية(TIC) وميكانيكية عمل LH هنا غير واضحة على الرغم من زيادة LH puls و LH amplitut اي زيادة نبضات LH وزيادة تكرارها فانها لاتؤدي الى زيادة LH surg . والدراسات الحالية تفسرها بمنع التغذية الاسترجاعية السالبة على افراز LH والتي تودي الى زيادة تاثير الاندروجينات على محوري النخامية وتحت المهاد وهذا يتفق مع ما وصل اليه(AL.bomohsenوجماعته ،2011) (Eagleson وجماعته،2000)لقد اوضحت الدراسة عدم وجود فرق معنوي في تركيز الهرمون محفز الجريبات FSH مابين الجريبة المتكيسة وجريبة الاباضة (جدول رقم 2) . ولعدم حصول الاباضة وفشلها في الجريبة المتكيسة فان خلايا (G.C) في الجسم الاصفر لا تكون الانهيبين B والذي يعتبر عامل مثبط لافراز FSH من النخامية وبذلك يحصل حالة Follicular arrest وهذا يتفق مع ما وصل اليه (Fortaوجماعته ، 2011)و(Deshpand& pathak ، 2010)(في الماعز و(Sophie & dwaily , 2004) في البشر .

ISSN 2072-3875

جدول رقم (2) المكونات القندية للسائل الجريبي في الجريبة المتكيسة وجريبة الاباضة

Gonadotrophic hormones	Ovulat cyst	Cystic follicles
Follicular stimulating Hormon FSH ng / ml	**64 ± 0.93 a**	**63 ± 0.6 a**
Prolactin ng / ml	**30 ± 0.6 b**	**70 ± 0.69 a**
Leutmizing hormon LH ng /ml	**3.3 ± 0.05 b**	**0.6 ± 0.01 a**

القيم ذي الحروف المختلفة في الصف الواحد تختلف معنويا ($p < 0.05$)

لقد اظهرت النتائج في (جدول رقم 2) زيادة تركيز هرمون البرولاكتين في الجريبة المتكيسة عن جريبة الاباضة تقابلها قلة في هرمون الاباضة LH وحيث ان جميع هرمونات النخامية يؤثر عليها بتاثير تحفيزي ما عدى البرولاكتين فان تحت المهاد يثبط افرازه (Mcdonald,2001) ويبدو ان سبب زيادة البرولاكتين هو ناتج عن زيادة الاستروجينات وما لها من اهمية في بناء مستقبلات البرولاكتين على خلايا الضرع وتاثيرة على تطور غدد الضرع وهذا يفسر ارتباط حالة تكيس المبايض الجريبي مع الانتاج العالي للحليب (Butler,2003)اما قلة LH تعودالى قلة LH surg في الجريبة المتكيسة والتي لا تكفي لحدوث الاباضة بسبب انخفاض الانسولين الذي يؤدي الى تغيير التناغم بين المحاور الثلاث (تحت المهاد- نخامية - القند). (Skinneوجماعته،2008)لقد اوضحت الدراسة انخفاض معنوي في الهرمونات الايضية الانسولين و T4 و T3 في الجريبة المتكيسة عن مستواها في جريبة الاباضة كما مبين في جدول رقم (3) وهذا يتفق مع ما وصل اليه (Armstrongوجماعته،2002)في الابقار .

جدول رقم (3)المكونات الهرمونية الايضية في السائل الجريبي للجريبة المتكيسة وجريبة الاباضة

Metabolic hormones	Ovulute cyst	Cystic follicles
Insulin Ng/ml	**8.92 ± 0.74 a**	**5.16 ± 0.73 b**
T4 Ug/ dl	**16.00 ± 1.09 a**	**14.00 ± 1.47 b**
	3.9 ± 0.26 a	**2.48 ± 0.3 b**

القيم ذي الحروف المختلفة في الصف الواحد تختلف معنويا ($P < 0.05$)

لقد اوضحت الدراسة بان الانسولين هو عامل ايضي مهم في امراضية التكيس المبيضي الجريبي لان لة تاثير على الخلايا الجريبية ونضجها وكذا فان قلة الانسولين سوف تؤدي الى حدوث التكيس من خلال التحفيزالغير كافي لتضاعف الخلايا الجريبية وعملية تكوين السيترويدات (Ingmanوجماعته،2006) . ان نقص الانسولين يؤدي الى تراجع نمو ونضج الجريبة السائدة وكذلك انتاج ostradiol 17.B وكليهما يغيرتناعم المحاور الثلاث (تحت المهاد - نخامية - القند) خلال التغذية الاسترجاعية الموجبة الغير كافية . مما يؤدي الى anaberrant LH surg اي دفقة متحرفة لهرمون الاباضة او ان تكون قليلة او عادية ولكن ليس بوقتها المحدد وبذلك تؤخر الاباضة او تمنعها وينشا التكيس المبيضي (Ingmanوجماعته،2006) و (Acosta, 2007). ان الانسولين يؤثر بصورة غير مباشرة على نمو الجريبة من خلال تقليله افراز الهرمونات القندية FSH و LH وكذلك تقليلة LH puls من تحت المهاد

ISSN 2072-3875

والنخامية على التعاقب . ومن الهرمونات التي يؤثر على افرازها الانسولين هو البرولاكتين وهذا دليل على وجود رابط شكلي بين انتاج الحليب وتكيس المبايض الجريبي . فقد وجد بان تركيز الانسولين الواطى في الابقار الحلوبة واستجابة الانسولين لتحمل سكر الكلوكوز Glucose challeng المنخفضة حيث تقلل السكر الماخوذ من الانسجة المحيطة وبالتالي يزداد الكلوكوز المستخدم في انتاج الحليب في الضرع (Ingmanوجماعته،2006) . اما بالنسبة لانخفاض تراكيز كل من T4 و T3 في الجريبة المتكيسة عن جريبة الاباضة وحيث ان هرمون الثايروكسين المفرز من الغدة الدرقية يستوجب 1 ملغم يوميا من اليود لتصنيعة(Vivien & Theoclore,2010) . ولكون الابقار الحلوبة بعد الولادة تتعرض الى حالة التوازن السلبي للطاقة (NEB) وتغير الحالة الايضية وزيادة (NEFA) Non estrified fatty acids اضافة الى زيادة الاجسام الكيتونية وبسبب الاضطراب الايضي والفسلجي الذي يقوم به انخفاض الانسولين كل ذلك يؤدي الى انخفاض الهرمونين T3 و T4 (Vivien & Theoclore,2010).

ومن الجديد بالذكر ان الاحماض الشحمية الغير ماسترة (NEFA)تعمل كمراسل ايضي في افراز القند على مستوى (النخامية - تحت المهاد) وتؤثر على مختلف انواع الخلايا الجريبية واداءها ووجد ان هناك تداخل بين الاحماض الحرة مما يؤثر على ترتيب عملية افراز الانسولين بواسطة البنكرياس (Sophie & dwaily , 2004)وان كثرة تعرض جزيرات لانكرهانس الى تراكيز عالية من (NEFA) تؤدي الى قلة افراز الانسولين في مرض تكيس المبايض الجريبي (Vivien & Theoclore,2010).

المصادر :

الجبوري ، ناهض حمزة عبادي . (2012) . دراسة بعض المكونات الكيموحيوية للسائل الجريبي المبيضي للمعز المحلي وعلاقتها بحجم الجريبة وبعض الصفات الظاهرية لجهازه التناسلي . دبلوم عالي - الكلية التقنية / المسيب ، هيئة التعليم التقني - العراق

الحسناوي ، ميادة صاحب حسن . (2012) . تاثير الموسم وحجم الجريبة المبيضية في بعض المكونات البايوكيمياوية للسائل الجريبي في النعاج المحلية . رسالة ماجستير في تقنيات الانتاج الحيواني - الكلية التقنية -المسيب هيئة التعليم التقني - العراق .

النجار ، افتخار مهدي كاظم (2011) . دراسة المكونات الايونية والايضية في السائل الجريبي والدم للابقار المصابة بتكيس المبايض الجريبي مجلة جامعة كربلاء العلمية - المجلد ، التاسع - العدد الرابع . (72- 77).

النعيمي ، علي جاسم جعفر .(2010) . العلاقة ما بين قطر الجريبة ونضج البويضة لدى النعاج المحلية رسالة ماجستير-الكلية التقنية /المسيب هيئة التعليم التقني – العراق

Acosta ,T.J (2007). studies of follicular vascularity associated with follicle selection and ovuloction in cattle . J . Reprod . Dev , 53:39 -44 .

Al bomohsen , H .; Mamouei , S.; Tabatabei , S . and fayazi , J . (2011) .metabolic composition variations of follicular fluid and blood serum in Iranian dromedary camels during the peak breeding season . J . Anim . and ver ., (3) : 327 – 331.

Armstorng , D.G ; Baxter , G . ; Hogg , C.O ; woad , J.K (2002) insulin - like growth factor (IGF) system in the oocyte and somatic cell of of bovine prentral follicle Reproduction , 123 : 789-797.

Butler WR , 2003 . Energy balance relationship with follicular . development , ovulation and fertility in post partum dairg cows . livest prod sci 83, 211-218.

Deshpande , S.B. and pathak , M.M . (2010) Hormonal and Biochemical profiles in follicular fluid of unovlated follicles in superovulated Goats ovaries . Vet World . ; 3(5) : 221-223.

ISSN 2072-3875

Durlinger Al , Gruijters MJ , kramer P , karles B , kumar TR , MatZuk MM , Rose UM , deJong FH , etal (2007) anti miillerian hormone attenuate the effect of Fsh on follicle development in the mouse ovary . Endocrinology 142, 4891- 4899 .

Eagleson CA , Gingrich MB , pastor CL . Arora Tk , Burt CM, Evans WS and marshall JC (2000) polycystic ovary syndrom evidence that flutamide restores sensitivity of the gonadotropin releasing hormone pulse generator to in hibition by estradiol and progesteron J clin endocrinol metab 85 , 4047 - 4052 .

Findlay , J.K . kerr , J.B . Britt, k.; Liew , S.H ; simpson , E.R.; Rosairo , D. and Drummond , A . (2009) . ovarian physiology follicle development , oocyte and hormone relationships Anim Reprod , V. 6 , N . 16 -19.

Forta , I.M.A. leitao , C.C.F; costa , J.J.N; Vanden Hurk , R.; Briota , I.R. ; saraiva , M.V.A.; figueriredo , J.T.; Silva , J.R.V. (2011) effects of MBP-7 and FSH on the development of goat prentral follicle and levels of mRNA for FSH-R , BMP-7 and BMP reseptors after in - vitro culture . anim. Reprod . (8) 25- 31.

Gerard , N. , Loiseau , S. , Duchampo , GƐseguin F. 2008 . analysis of the variations of follicular fluid composition during follicular growth and maturation in more proton nuclear magnetic resonance (HNMR) Reprod . 124 , 241 - 248.

Hurine RBM , Saatkamp HW , Bergevoet RHM, 2002. economic analysis of common health problem in dairy vattle . in kaske M, seholz H , Holter Shinken M. Recent development and perspectiv in bovin medicin . proceedings of XX11 world Buiatrics congres , Hannover , Germany, 18-23 August . Ingman , W.V; Robker , R.L.; woittiez , K .; Robertson , S.A. (2006) null mutation in transforming growth factor beta distrups ovarian function and causes oocyt incompeltence and early embro arrest . endocrinology , 147 : 835 . 845.

MCDonald , L.E. (2001) . veterinany Endocrinology and Reproductin . (2 nd ed) lea and Febiger , philadlphia : 206-332 .

Nandi , S ., Girish kumar ,V; manjunatha , B.M . and Gupta , P.S.P. (2008) . Biochemical composition of ovine Follicular Fluid in relation to Follicle size . Journal compilation , Japans society of Developmental Biologist Growth Differ . 49 : 61 - 66.

Nicolas , M ; Nadia , G ; Henry , J.; Helen , M .; Sarah , H (2005) . Fluctations in bovine ovarian Follicular fluid composition through the oestrous cycle (paper) society for reproduction and fertility Nishimoto , S., Glen , A.H.; Akio , M . and safumi , T. (2009) .

Classification of Bovine follicles based on the concetarion of steroid , glucose and lactate in follicular fluid and the status of accompanying follicles . J . Rep , vol . 55 , No .2. SaS . (2004) SAS / STAT Users Guid For personal computers . Release 7.0. sas lnstitnte Lnc cary Nc. usa. sas (statical analysis system)

Shresta Hk , Nakoa T , Suzuki T , Akita M . (2008) . effect of abnormal ovarian cycles during preservice period postpartum on subsequent reproductive performance of high-producing holestin cows Theriogenology 61 , 1559-1571 .

ISSN 2072-3875

Sophie Jonard and Didier Dwailly . the follicular excess in polycystic ovaris due to intraovarion hyperandrogemism may be the main culprit for the follicular arrst . Hum Rep . vol . 10 , No .2 pp. 107 - 117 , 2004.

SKinner ,D.C.;Malpaux ,B . ; Delaleu , B .; Caraty , A . (2008) . Lutinizing hormones (LH) in third ventriculor cerebrospinal fluid of the ewe : correlation with LH pulse and LH surge . Endocrinology , 136: 3230-3237 .

Tom vanholder , (2005) . cystic ovarian follicles in high yelding dairy cows post partum . Doctor thesis . vet . med . chent university 26-Vivien Bonert and Theoclore C.Fried man ., (2010) Thyroid Gland . Endocrin , capt . 65 , 593-602.

Vivien Bonert and Theoclore C.Fried man ., (2010) Thyroid Gland . Endocrin , capt . 65 , 593-602.

ISSN 2072-3875