# تأثير النظام الغذائي على التعبير الجيني لهرمون النمو في نسيج كرش الحملان حديثة الولادة

**فتحي منصور أبوحجر**

**قسم الأحياء، كلية التربية، الجامعة الأسمرية الإسلامية، زليتن، ليبيا**

**fbomarj@yahoo.com**

**الملخص:**

تظل الآلية الجزيئية التي لها علاقة بتطور نسيج الكرش غير محددة. لمعرفة شبكة الجينات والعوامل التنظيمية التي تنظم تطور الكرش، تم اختيار (15) من حملان الأغنام عند عمر 7 أيام. تم ذبح ثلاثة حملان في عمر 7 أيام (7D) لجمع الأنسجة لتمثل المجموعة ما قبل المعاملات، وتم تقسيم الحملان المتبقية بشكل عشوائي إلى أربعة مجاميع حسب النظام الغذائي، المجموعة الأولى (MO) تتغذى على حليب فقط، المجموعة الثانية (MC) تتغذى على حليب+علف مركز، المجموعة الثالثة (MG) تتغذى على حليب+علف خشن، المجموعة الرابعة (MCG) تتغذى على حليب+علف مركز+علف خشن. عند عمر 90 يوماً تم ذبح 3 حملان من كل مجموعة لتجميع نسيج الكرش. تم استخراج الحمض النووي (DNA) وتحويله إلى cDNA لدراسة تأثير النظام الغذائي على تعبير GHR، IFG-1 في نسيج الكرش وللتحقق من صحة التغييرات المكتشفة في التعبير الجيني المحدد، تم تحديد الجينات المعبر عنها تفاضلياً بين المجموعة (7D) عند عمر أسبوع (قبل المعاملة) مقابل وجبات MC , MO, MCG, MG, عند 90 يوم باستخدام Real Time-PCR.

أشارت النتائج لهذه الدراسة أن المجموعة الثالثة (MC) كانت الأعلى في مستويات التعبير الجيني لمستقبل هرمون النمو (GHR) وعامل هرمون النمو شبيه الأنسولين (IGF-1) في نسيج الكرش وبوجود فروق معنوية بين جميع المجموعات عند مستوى احتمالية ($P> 0.05$)، وأظهرت مجموعة الحملان (MCG) أقل مستوى في التعبير الجيني لـ GHR، بينما كان أقل مستوى في التعبير الجيني لـ(IGF-1) في المجموعة الثانية (MO) مقارنة مع المجموعات الأخرى. ويتضح من هذه النتائج أن تغذية الحملان على أعلاف المركزات في وقت مبكر تؤثر على مستويات التعبير الجيني لـ IGF-1, GHR في نسيج الكرش وهذا بدوره ينعكس بشكل إيجابي على نمو وتطور كرش الحملان ومن ثم يحسن في معدل الزيادة في وزن الجسم اليومية.

**الكلمات المفتاحية:** *عامل النمو شبيه الأنسولين، التعبير الجيني، النظام الغذائي، نسيج الكرش، الحملان، مستقبل هرمون النمو.*

**المقدمة:**

تعتبر الأغنام مصدراً مهماً للحوم والحليب والصوف لقطاع الثروة الحيوانية العالمي وتنتمي إلى واحدة من أكثر مجموعات الثدييات العاشبة نجاحاً وهي المجترات. وتصنف من ذوات المعدة المركبة أي أنها تمتلك أربع حجرات متخصصة وتشمل الكرش، الشبكية، الورقية، المعدة الحقيقية (الأنفحة)، وهي مكان حدوث التخمر الميكروبي (Bush et al., 2019). وللكرش العديد من الوظائف الفسيولوجية الجوهرية بما في ذلك الامتصاص، النقل، النشاط

الأيضي، وحماية المضيف. وعند مواليد المجترات حديثة الولادة تكون الكرش غير متطورة وظيفياً ولم يكتمل بعد تأسيس ميكروبات الكرش (Roh SG et al., 2007). يعتبر المجتمع الميكروبي المعوي في المجترات ضرورياً لهضم العلف والتمثيل الغذائي وامتصاص المغذيات والاستجابة المناعية وتطور الجهاز الهضمي ( Yanez-Ruiz et al., 2015). كما ذكر (Baldwin et al., 2004) بأن الظروف المحيطة بتطور الكرش هي من بين أهم التحديات الفسيولوجية التي تواجه المجترات الصغيرة. ومع انتقال الحملان من النظام التغذية على الحليب إلى التغذية على العشب والحبوب الجافة، يخضع الجهاز الهضمي للعديد من التغييرات التنموية الرئيسية اثناء مراحل النمو (Bush et al., 2019). اقترحت الدراسات الحديثة بأن تنفيذ الانظمة الغذائية في سن مبكرة يمكن أن يؤثر على صحة وأداء الحيوانات المجترة عندما تكون بالغة من خلال تغيير التطور النمائي لميكروبات الجهاز الهضمي هذا من شأنه أن يخلق اختلافات في القدرة على التكيف (Yanez-Ruiz et al., Abecia et al., 2013, 2014; 2010, 2015). يمكن التحكم بالمجتمع الميكروبي في الأمعاء وتعزيزه من خلال الانظمة الغذائية لتعزيز إنتاجية الحيوان وصحته. ( Jiao et al., 2016; Malmuthuge et al., 2014) بناءً على الدراسات الحديثة، تم اقتراح أن نمو المستعمرات الميكروبية التي تنشأ بعد الولادة بفترة وجيزة يفتح إمكانية التلاعب مع إمكانية إحداث تأثيرات دائمة في حياة الحيوانات البالغة (Roehe et al., 2016).

التطور الوظيفي والتشريحي للجهاز الهضمي هي عملية زمنية ومتعاقبة. بالإضافة إلى ذلك ، تختلف معدلات النمو النسبي بين أقسام مختلفة من الجهاز الهضمي. (Jiao et al., 2015) لاحظ أن تطور الكرش يكون مهمًا في عمر 14-42 يوماً. علاوة على ذلك، يختلف تعبير جين النمو (GHR) بين أقسام الجهاز الهضمي المختلفة للعجول حديثة الولادة (Ontsouka et al., 2004a)، ويرتبط التعبير الجيني لـ GHR بمرحلة النمو ( Simard et al., 1996)، وهناك علاقة بين أنماط التعبير الجيني لـ GHR و IGF-I mRNA قد يكون التعبير الجيني IGF-I في كرش الحمل يعتمد على GH الذي يعمل أولاً على GHR في أنسجة الكرش، ثم يتم تنظيم نمو الأنسجة وتطورها بواسطة IGF-I (Cheng et al., 2012).

يرتبط التعبير الجيني GHR بعملية التطور الزمنية والمتتالية لأقسام الجهاز الهضمي المختلفة ويجب أن يتحد هرمون النمو (GH) مع المستقبلات المقابلة له ليقوم بتأثيرات بيولوجية لنمو وتطور الأنسجة والأعضاء في الحيوانات (Florini et al.,1996). حيث كشفت النتائج التي توصل إليها(Wang et al., 2016) أن تعبير GHR mRNA كان أعلى بشكل ملحوظ في الكرش منه في أقسام الجهاز الهضمي الأخرى للحملان البالغة من العمر 42 يوماً، مما يشير إلى أهميتها في تطور الكرش عندما يتم تغذية الحملان على الحليب والعلف البادي.

هرمون النمو (GH) يحفز النمو وتكاثر الخلايا وتجديد الأنسجة في الحيوانات. عندما يرتبط GH بمستقبله GHR، يتم بدء سلسلة إشارات من خلال المجال السيتوبلازمي (Bai et al., 2011)، مما يتسبب في تأثيرات بيولوجية على الخلايا المستهدفة (Lupu et al., 2001; Wang et al., 2016). التعبير الجيني لـ GHR، الذي يلعب دوراً حيوياً في تنظيم نمو الحيوان وتطوره ويتم تنظيمه من خلال مرحلة النمو والهرمونات والمغذيات ( Xia et al., 2003; Strous et al., 2004). يمكن أن يكون عامل النمو المحول بيتا1 (TGFβ1) transforming growth factor beta1 قادر على المساهمة في تطوير ظهارة الكرش واستقلاب الطاقة، كمنظم

للنسخ وتوفير سبل تطور الكرش ووظيفته في نمو العجول النامية (Connor et al., 2014). وأشار (Wang et al., 2016; Ontsouka et al., 2004b) أن التعبير التفاضلي لـIGF-1 و IGF-2 و IGF-1R و IGF-2R إلى وجود اختلافات في وظائف هذه الهرمونات في الأجزاء المختلفة من الجهاز الهضمي في العجول حديثة الولادة. علاوة على ذلك، (Georgieva et al., 2003) وجد أنه من بين هذه الجينات فقط GH-R و IGF-I mRNA لم يختلفا حسب مرحلة النمو.

وفي دراسة أجراها كلاً من ( Smal et al. 1991; Brameld et al., 1999) بأن المغذيات لها تأثير كبير على التعبير الجيني لـ GHR. وليس من الواضح ما إذا كان للأنظمة الغذائية تأثير على GHR، IGF-I. لذلك، كانت أهداف هذه الدراسة قياس مستويات تعبير مستقبل هرمون النمو growth hormone receptor (GHR) وعامل النمو شبيه الأنسولين Insulin-like growth factor1 (IGF-1) في نسيج كرش الحملان وتقييم آثار الأنظمة الغذائية المختلفة على تعبير جينات GHR، IGF-1 في نسيج كرش هذه الحيوانات.

**مواد وطرق البحث:**

**1. حيوانات التجربة:**

تم اختيار خمسة عشر رأساً من ذكور حملان الأغنام لهذه الدراسة. كان متوسط وزن الحملان 3.41 ± 0.52 كجم عند الولادة. تم إيواء جميع الحملان في حظيرة جيدة التهوية مع درجة حرارة ورطوبة مضبوطة للتأكد من أن الظروف البيئية كانت متشابهة طوال التجربة. عندما كان عمر الحملان أسبوعاً واحداً، المجموعات الأربعة المعاملة بالأنظمة الغذائية المختلفة تحصلت على حرية الوصول للماء وحرية الرضاعة من الأمهات خلال فترة 90 يوم. الجدول (1) يبين تقسيم الحملان إلى 5 مجموعات (3 حملان / مجموعة) على النحو التالي:

جدول (1) يوضح المجموعات التجريبية وعمر الذبح وعدد الحملان المذبوحة.

| عمر الذبح | المجموعات التجريبية | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | المجموعة 1 | المجموعة 2 | المجموعة 3 | المجموعة 4 | المجموعة 5 |
| | مجموعة الشاهد عند عمر اسبوع (7D) | مجموعة التغذية على الحليب فقط (MO) | مجموعة التغذية على العلف المركز (MC) | مجموعة التغذية على العلف الخشن (MG) | مجموعة التغذية على العلف المركز والعلف الخشن (MCG) |
| عمر 7 أيام | 3 | -- | -- | -- | -- |
| عمر 90 يوم | -- | 3 | 3 | 3 | 3 |

**ملاحظة:** تم ذبح ثلاثة حملان من كل مجموعة بشكل عشوائي في الأيام المقابلة للعمر.

**2. جمع العينات:**

تم جمع أنسجة الكرش بعد ذبح جميع الحيوانات، وتم تجميدها على الفور بواسطة النيتروجين السائل وتخزينها عند درجة حرارة -80 درجة مئوية حتى استخدامها.

**3. استخراج الحمض النووي الريبي وإجراء عملية النسخ :**

تم استخلاص إجمالي الحمض النووي الريبي باستخدام كاشف TRIzol reagent (Invitrogen, USA ) وفقاً للبروتوكول القياسي. تم تحويل (cDNA) من 1 جرام من الحمض النووي الريبي (DNA) المعزول من أنسجة الكرش باستخدام Reverse Transcriptase XL (Takara, Japan) وفقاً لبروتوكول الشركة المصنعة.

جدول 2: استنساخ cDNA، يتألف 1700 نانوجرام/ ميكرولتر - 20 ميكرولتر.

| No | 1700ng/ul | Water | Oligo 18-P | Buffer | dntp | RI | RT |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 4.485 | 6.515 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 2 | 3.758 | 7.242 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 3 | 2.308 | 8.692 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 4 | 8.745 | 2.255 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 5 | 10.937 | 0.063 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 6 | 1.851 | 9.149 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 7 | 8.347 | 2.653 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 8 | 9.934 | 1.066 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 9 | 7.608 | 3.392 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 10 | 2.292 | 8.708 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 11 | 3.34 | 7.66 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 12 | 9.206 | 1.794 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 13 | 6.594 | 4.406 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 14 | 6.155 | 4.845 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 15 | 5.824 | 5.176 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |

تم تحضين العينات عند 42 درجة مئوية لمدة ساعة واحدة ، وتم إنهاء التفاعل بـ 72 درجة مئوية لمدة 5 دقائق.

تم تخفيف cDNA 1: 3.

**4. تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي (في الوقت الحقيقي) ( Real Time-PCR)**

تم إجراء اختبار SYBR Green Real-Time PCR في نظام اكتشاف التسلسل ABI PRISM 7300 (Applied Biosystems, USA) لقياس مستويات التعبير GHR، IGF-1 في أنسجة الكرش، كما موضح سابقاً (Guan et al., 2007)، وتم إجراء تحليل البيانات باستخدام طريقة 2-Ct (Livak and Schmittgen, 2001).

**5. تصميم البادئات (Primer):**

تم تصميم زوجين من البادئات (Primer) لتفاعل التسلسل الكمي الحقيقي qPCR يدوياً بناءً على 3 مدخلات التمهيدي.(http://frodo.wi.mit.edu/primer3/). تم استخدام GAPDH كا housekeeping gene.

**6.** الجينات المستهدفة:

IGF1 = https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM_001009774.3
GHR = https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM_001009323.2

جدول 3: البادئات (Primer).

| Length bp | Ann Temp | Primer sequence | اسم التمهيدي (Primer) |
|---|---|---|---|
| 166 | 60 | FP= aaattcaccaagtgccgttc<br>FR= tgttttcaccagcagagacg | GHR |
| 209 | 60 | FP= ttgcacttcagaagcaatgg<br>RP= actggagagcatccaccaac | IGF-1 |

جدول (4): جودة RNA المعزول من نسيج الكرش.

| Number | Type | 260/280 | 260/230 | C: ng/uL |
|---|---|---|---|---|
| 1 | RNA-40 | 1.96 | 1.92 | 379.035 |
| 2 | RNA-40 | 2 | 2.03 | 452.33 |
| 3 | RNA-40 | 1.99 | 2.03 | 736.403 |
| 4 | RNA-40 | 2.03 | 2.04 | 194.391 |
| 5 | RNA-40 | 1.93 | 1.55 | 155.43 |
| 6 | RNA-40 | 2.11 | 2.09 | 918.19 |
| 7 | RNA-40 | 1.98 | 2.06 | 203.65 |
| 8 | RNA-40 | 2.32 | 2.32 | 171.113 |
| 9 | RNA-40 | 2.07 | 2.19 | 223.442 |
| 10 | RNA-40 | 2.1 | 2.09 | 741.7 |
| 11 | RNA-40 | 2 | 2.17 | 508.871 |
| 12 | RNA-40 | 2.09 | 1.92 | 184.65 |
| 13 | RNA-40 | 2.01 | 2.18 | 257.779 |
| 14 | RNA-40 | 1.99 | 2 | 276.19 |
| 15 | RNA-40 | 1.98 | 2.11 | 291.886 |

**7. التحليل الأحصائي:**

تم إجراء الاختبارات الإحصائية باستخدام Fast Statistics v2.0.4 Build 0627 DEMO Version.

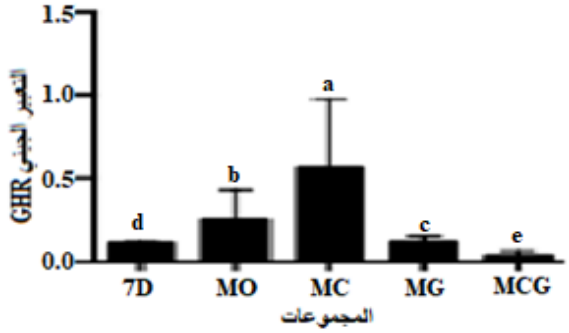
**النتائج:**

**1. تعبير (GHR)، (IGF-1) في نسيج الكرش:**

تم إجراء RT-PCR لتحديد مستويات تعبير GHR في نسيج الكرش لجميع حملان المجموعات الخمسة كما مبين في (شكل1). أظهرت النتائج أن GHR تم التعبير عنه في نسيج الكرش وكانت مستويات تعبير GHR أعلى بشكل ملحوظ في مجموعة الحملان التي تتغذى على العلف المركز فقط (MC) مقارنة بجميع المجموعات الأخرى. وكانت المجموعة المتغذية على الحليب فقط (MO) أعلى في مستويات تعبير GHR من المجموعات الثلاثة الأخرى. كما أظهرت النتائج أن التعبير عن IGF-1 في نسيج الكرش (شكل2) عالي المستوى لصالح المجموعة التي تتغذى على العلف المركز فقط (MC) مقارنة بجميع المجموعات الأخرى. وتوجد فروق معنوية عند مستوى احتمالية ($P> 0.05$) لصالح المجموعات الثلاث الأخرى مقارنة بالمجموعة التي تلقت حليب الأمهات فقط خلال فترة 90 يوم من التجربة.

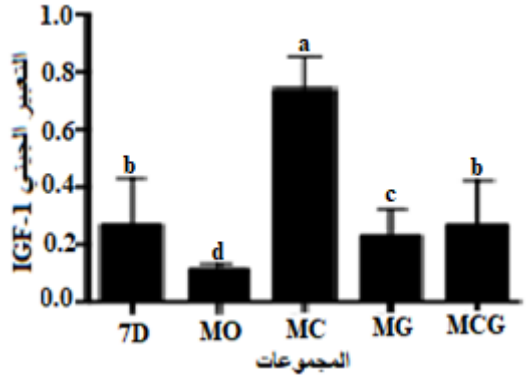
**2. تأثير نظام التغذية على التعبير الجيني (GHR)، (IGF-1) في نسيج الكرش:**

كان للنظام الغذائي تأثير ملحوظ على تعبير GHR في نسيج الكرش (الجدول 4)، مع تفاعل واضح بين هذه المتغيرات حيث كان تعبير GHR في أنسجة الكرش المجموعة (3) MC أعلى من تعبير المجموعات الأخرى مع وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ($P> 0.05$)، وأعلى بكثير من التعبير الجيني للمجموعات الثلاثة (7D، MG، MCG) (شكل1). من ناحية أخرى، كان التعبير الجيني لـ GHR في نسيج الكرش أعلى لصالح المجموعة (MO) عند مستوى احتمالية ($P> 0.05$) من التعبير الجيني للمجموعات (7D، MG، MCG) وكان أقل تعبير جيني لـ GHR لنسيج الكرش في المجموعة (MCG) أقل بكثير من تعبير المجموعة (MC).




شكل 1: يبين مستوى تدرج التعبير GHR بين المجموعات.

كما لوحظ أيضاً تأثير للنظم الغذائية على التعبير الجيني IGF-1 في نسيج الكرش الحملان. وأظهرت النتائج أن التعبير الجيني لـ IGF-1 في أنسجة كرش حملان المجموعة (MC) أعلى عند مستوى احتمالية ($P> 0.05$) مقارنة بالمجموعات الأخرى، وكانت عالية بشكل كبير مقارنة بالمجموعة (MO). ومن خلال التعبير التفاضلي بين المجموعات كان تعبير IGF-1 في نسيج الكرش أعلى لصالح المجموعات [MG، D7، MCG] مقارنة بالمجموعة (MO)، ووجد من بين هذه المقارنات أنه لم يكن هناك اختلاف معنوي عند مستوى احتمالية ($P> 0.05$) في مستوى التعبير الجيني لـ IGF-1 بين المجموعتين (7D، MCG). ومع ذلك انخفض مستوى التعبير الجيني لـ IGF-1 في نسيج كرش الحملان في المجموعة (MO) وكان أقل بكثير من مستوى التعبير الجيني لـ IGF-1 في المجموعة (MC).




شكل 2: يبين مستوى تدرج التعبير IGF-1 بين المجموعات.

**مناقشة النتائج:**

في هذه الدراسة، تم تخصيص أربعة أنظمة غذائية للحملان المستخدمة للمقارنة التي تبلغ من العمر 7 أيام. وفي الوقت نفسه، تم تغذية جميع الحملان في المجموعات MCG, MG, MC, MO على حليب الأمهات بالرضاعة الطبيعية أثناء فترة الدراسة 90 يوماً.

تم التعبير عن IGF-1, GHR في نسيج الكرش. كانت مستويات التعبير الجيني GHR أعلى بشكل ملحوظ في المجموعة 2 مقارنة بالمجموعات الأخرى وتوجد فروق معنوية عند مستوى احتمالية (P> 0.05). أظهرت الدراسات أن جين GHR يرتبط بنمو الحيوانات وتطورها. لوحظ أن مستويات التعبير الجيني GHR أقل في كرش العجول البالغة من العمر 5 أيام مقارنة بأقسام الجهاز الهضمي الأخرى. يمكن أن يُعزى التفاوت في النتائج إلى زيادة نمو حجم الكرش في الأسابيع القليلة من الولادة عندما تناولت العجول مع الحليب أعلاف تحتوي مكوناتها على النشا والألياف. وبالتالي، فإن التعبير الجيني لـGHR ليس كافياً في نسيج كرش هذه العجول ( Ontsouka et al., 2004c) وهذا يتفق مع نتائج هذه الدراسة. كشفت النتائج التي أشار إليها (Wang et al., 2016) أن تعبير GHR mRNA كان أعلى بشكل ملحوظ في الكرش منه في أقسام الجهاز الهضمي الأخرى للحملان البالغة من العمر 42 يوماً، مما يشير إلى أن معلمات المحور الجسدي مهمة لتطور الكرش عندما يتم تغذية الحملان بالحليب وبادي الأعلاف. بالإضافة إلى ذلك، كان تعبير GHR mRNA أقل في المنفحة مقارنة بأقسام المعدة الأخرى.

تشير الدراسات إلى أن الفطام المبكر يعزز نمو الكرش، وتغذية العجول بكميات كبيرة من الحليب يؤخر تناول العلف الصلب، مما يؤخر تطور الكرش قبل وأثناء الفطام (Jasper and Weary 2002) لهذا، فإن التغذية المبكرة أو الفطام المبكر يزيد من استهلاك العلف الصلب والتركيز الكلي للأحماض الدهنية المتطايرة في الكرش، مما يعزز التطور المبكر للكرش (Lane et al., 2000). أفاد (Ontsouka, 2004c) بأن تعبير GHR mRNA في نسيج الكرش قد تم تنظيمه في العجول التي تم تغذيتها على السرسوب مقارنة بالعجول التي تتغذى على الحليب متساوي التركيب في الطاقة، أشار (Xie et al., 2015) إلى زيادة التعبير الجيني لـ GHR في الكبد بشكل كبير في الماعز التي تتغذى على نظام غذائي عالي التركيز. في نفس الوقت، هناك القليل من الأدلة تشير إلى تأثير التغذية على العلف البادي وعمر الفطام على التعبير الجيني لـ GHR، كما تؤثر بعض العناصر الغذائية على التعبير الجيني لـGHR. (Bielohuby et al., 2011) ذكر أن نقص الكربوهيدرات في الغذاء يقلل من GHR mRNA الكبدي وتعبير البروتين، ويقلل من المستويات القاعدية من محولات الطاقة الكلية ومنشطات بروتينات إشارات النسخ ويقلل من التعبير الجيني IGF-I الكبدي.

أظهرت النتائج التي توصلنا إليها أن بداية التغذية المبكرة تزيد بشكل كبير من تعبير IGF-1, GHR في نسيج كرش الحملان عند عمر 90 يوماً 4. لذلك، أثرت التغذية المبكرة والفطام المبكر على تعبير GHR mRNA.

حصل (Bahrami et al., 2013) على علاقة إيجابية بين مستويات التعبير GHR mRNA في نسيج الكرش، وهذا يشير إلى أن التعبير الجيني لـ GHR في الكرش مرتبطاً مع إفراز IGF-1 في نسيج الكرش، ومع تطور الكرش. قد يكون التغيير في التعبير الجيني لـ GHR مع عمر الحيوان وتأثير التغذية المبكرة على التعبير الجيني GHR الكرش مرتبطاً أيضاً بتطور الكرش.

مستويات التعبير الأعلى من IGF-I كانت في المجموعة (3) MC مقارنة بالمجموعة (2) MO وهذا يدعم الدليل على دور لـ IGF-1 في تنظيم نمو الكرش ويؤكد على أهمية IGF-1 في نشاط الجهاز الهضمي خلال الاوقات المبكرة. هذا ربما يكون نتيجة ارتباطه بزيادة تكاثر الخلايا والتطور المبكر للكرش (Georgieva et al., 2003). كما اتفقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة (Xie et al., 2015) التي تشير إلى زيادة التعبير الجيني لـ GHR في الكبد بشكل كبير في الماعز التي تتغذى على نظام غذائي عالي التركيز. في نفس الوقت، هناك القليل من الأدلة على تأثير التغذية العلف البادي وعمر الفطام على التعبير الجيني لـ GHR. كما، تؤثر بعض العناصر الغذائية على التعبير الجيني لـGHR، (Bielohuby et al., 2011) ذكر أن نقص الكربوهيدرات في الغذاء يقلل من GHR mRNA الكبدي وتعبير البروتين، ويقلل من المستويات القاعدية من محولات الطاقة الكلية والمفسفرة ومنشطات بروتينات إشارات النسخ ويقلل من التعبير الجيني IGF-I في الكبد.

**الاستنتاجات:**

تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن مستويات التعبير الجيني لـ IGF-1, GHR أعلى بشكل ملحوظ في نسيج الكرش لصالح مجموعة الحملان MC التي تتغذى على علف مركز وبوجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية (P> 0.05) مقارنة بالمجموعات الأخرى. تؤثر النظم الغذائية على تعبير الجيني لـ IGF-1, GHR في نسيج الكرش.

في عملية النمو المبكر للكرش، أشارت نتائج أنماط التعبير الجيني لـ IGF-1, GHR والعلاقة بينهما إلى أن التعبير الجيني IGF-I في كرش الحملان قد يعتمد على GHR الذي عمل أولاً على أنسجة الكرش.

**المراجع:**

**Abecia,** L., Martín-García, A. I., Martínez, G., Newbold, C. J., & Yáñez-Ruiz, D. R. (2013). Nutritional intervention in early life to manipulate rumen microbial colonization and methane output by kid goats postweaning. *Journal of Animal Science*, *91*(10), 4832-4840.

**Abecia,** L., Waddams, K. E., Martínez-Fernandez, G., Martín-García, A. I., Ramos-Morales, E., Newbold, C. J., & Yáñez-Ruiz, D. R. (2014). An antimethanogenic nutritional intervention in early life of ruminants modifies ruminal colonization by Archaea. *Archaea*, *2014*.

**Bahrami,** A., Behzadi, S., Miraei-Ashtiani, S. R., Roh, S. G., & Katoh, K. (2013). Genetic polymorphisms and protein structures in growth hormone, growth hormone receptor, ghrelin, insulin-like growth factor 1 and leptin in Mehraban sheep. *Gene*, *527*(1), 397-404.

**Brameld**, J. M., Gilmour, R. S., & Buttery, P. J. (1999). Glucose and amino acids interact with hormones to control expression of insulin-like growth factor-I and growth hormone receptor mRNA in cultured pig hepatocytes. *The Journal of nutrition*, *129(*7), 1298-1306.

**Bush**, S. J., McCulloch, M. E., Muriuki, C., Salavati, M., Davis, G. M., Farquhar, I. L., ... & Clark, E. L. (2019). Comprehensive transcriptional profiling of the gastrointestinal tract of ruminants from birth to adulthood reveals strong developmental stage specific gene expression. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, *9*(2), 359-373.

**Cheng**, S., Li, F., Guo, J., Pei, J., Ma, Y., Wei, Y., ... & Xiao, Y. (2012). Developmental changes of GHR and IGF-I mRNA expression in lamb rumen. *Archives Animal Breeding*, *55*(1), 72-77.

**Connor**, E. E., Vi, R. B., Walker, M. P., Ellis, S. E., Li, C., Kahl, S., ... & Li, R. W. (2014). Transcriptional regulators transforming growth factor-β1 and estrogen-related receptor-α identified as putative mediators of calf rumen epithelial tissue development and function during weaning. *Journal of dairy science*, *97*(7), 4193-4207.

**Florini**, J. R., Ewton, D. Z., & Coolican, S. A. (1996). Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis. *Endocrine reviews*, *17*(5), 481-517.

**Georgieva**, T. M., Georgiev, I. P., Ontsouka, E., Hammon, H. M., Pfaffl, M. W., & Blum, J. W. (2003). Abundance of message for insulin-like growth factors-I and-II and for receptors for growth hormone, insulin-like growth factors-I and-II, and insulin in the intestine and liver of pre-and full-term calves. *Journal of animal science*, *81*(9), 2294-2300.

**Jasper**, J., & Weary, D. M. (2002). Effects of ad libitum milk intake on dairy calves. *Journal of dairy science*, *85*(11), 3054-3058.

**Jiao**, J., Li, X., Beauchemin, K. A., Tan, Z., Tang, S., & Zhou, C. (2015). Rumen development process in goats as affected by supplemental feeding v. grazing: age-related anatomic development, functional achievement and microbial colonisation. *British Journal of Nutrition*, *113*(6), 888-900.

**Lupu**, F., Terwilliger, J. D., Lee, K., Segre, G. V., & Efstratiadis, A. (2001). Roles of growth hormone and insulin-like growth factor 1 in mouse postnatal growth. *Developmental biology*, *229*(1), 141-162.

**Ontsouka**, E. C., Hammon, H. M., & Blum, J. W. (2004b). Expression of insulin-like growth factors (IGF)-1 and-2, IGF-binding proteins-2 and-3, and receptors for growth hormone, IGF type-1 and-2 and insulin in the gastrointestinal tract of neonatal calves. *Growth Factors*, *22*(1), 63-69.

**Ontsouka**, E. C., Philipona, C., Hammon, H. M., & Blum, J. W. (2004a). Abundance of mRNA encoding for components of the somatotropic axis and insulin receptor in different layers of the jejunum and ileum of neonatal calves. *Journal of animal science*, *82*(11), 3181-3188.

**Ontsouka**, C. E., Sauter, S. N., Blum, J. W., & Hammon, H. M. (2004c). Effects of colostrum feeding and dexamethasone treatment on mRNA levels of insulin-like growth factors (IGF)-I and-II, IGF binding proteins-2 and-3, and on receptors for growth hormone, IGF-I, IGF-II, and insulin in the gastrointestinal tract of neonatal calves. *Domestic animal endocrinology*, *26*(2), 155-175.

**Pfaffl**, M. W., Georgieva, T. M., Georgiev, I. P., Ontsouka, E., Hageleit, M., & Blum, J. W. (2002). Real-time RT-PCR quantification of insulin-like growth factor (IGF)-1, IGF-1 receptor, IGF-2, IGF-2 receptor, insulin receptor, growth hormone receptor, IGF-binding proteins 1, 2 and 3 in the bovine species. *Domestic animal endocrinology*, *22*(2), 91-102.

**Roehe**, R., Dewhurst, R. J., Duthie, C. A., Rooke, J. A., McKain, N., Ross, D. W., ... & Wallace, R. J. (2016). Bovine host genetic variation influences rumen microbial methane production with best selection criterion for low methane emitting and efficiently feed converting hosts based on metagenomic gene abundance. *PLoS genetics*, *12*(2), e1005846.

**Simard**, M., Manthos, H., Giaid, A., Lefebvre, Y., & Goodyer, C. G. (1996). Ontogeny of growth hormone receptors in human tissues: an immunohistochemical study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *81(*8), 3097-3102.

**Smal**, J., & Le Bail, P. Y. (1991). Location and characterization of growth hormone binding sites in the central nervous system of a teleost fish (Oncorhynchus mykiss). *Growth Regulation*, *1*(4), 145-152.

**Strous**, G. J., Alves dos Santos, C., Gent, J., Govers, R., Sachse, M., Schantl, J., & Kerkhof, P. V. (2004). Ubiquitin system-dependent regulation of growth hormone receptor signal transduction. *Signalling from Internalized Growth Factor Receptors*, 81-118.

**Sun**, D., Yin, Y., Guo, C., Liu, L., Mao, S., Zhu, W., & Liu, J. (2021). Transcriptomic analysis reveals the molecular mechanisms of rumen wall morphological and functional development induced by different solid diet introduction in a lamb model. *Journal of animal science and biotechnology*, *12*(1), 1-15.

**Vi**, R. B., McLeod, K. R., Klotz, J. L., & Heitmann, R. N. (2004). Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre-and postweaning ruminant. *Journal of dairy science*, *87*, E55-E65.

**Wang**, F., Li, C., Li, F., Wang, W., Wang, X., Liu, T., ... & Li, B. (2016). Effects of starter feeding and early weaning on GHR mRNA expression in liver and rumen of lambs from birth to 84 days of age. *Archives of Animal Nutrition*, *70(*3), 239-248.

**Xia**, D., Zhao, R. Q., Wei, X. H., Xu, Q. F., & Chen, J. (2003). Developmental patterns of GHr and SS mRNA expression in porcine gastric tissue. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, *9(*5), 1058.

**Yáñez**-Ruiz, D. R., Abecia, L., & Newbold, C. J. (2015). Manipulating rumen microbiome and fermentation through interventions during early life: a review. *Frontiers in microbiology*, *6*, 1133.

**Yáñez**-Ruiz, D. R., Macías, B., Pinloche, E., & Newbold, C. J. (2010). The persistence of bacterial and methanogenic archaeal communities residing in the rumen of young lambs. *FEMS Microbiology Ecology*, *72*(2), 272-278.

# Influence of diet on growth hormone gene expression in neonatal rumen tissues

**Fathi Mansour Abohajer**
**Biology Department, College of Education, ALAsmarya Islamic University, Zliten, Libya**
**fbomarj@yahoo.com**

**Abstract:**

The molecular mechanism involved in the association of the growth hormone receptor (GHR) with rumen tissue development remains undetermined. To find out the network of genes and regulatory factors that regulate rumen development, (15) male sheep lambs were selected at the age of 7 days.

Three lambs were slaughtered at the age of 7 days (7D) to collect tissues to represent the pre-treatment group, and the remaining lambs were randomly divided into four groups according to the diet, the first group (MO) fed on milk only, the second group (MC) fed on milk. + Concentrated feed, the third group (MG) fed on milk + grass fed, the fourth group (MCG) fed on milk + concentrated feed + grass fed.

At 90 days of age, 3 lambs from each group were slaughtered to collect rumen tissue. DNA was extracted and transformed into cDNA to study the effect of diet on GHR, IFG-1 expression, in rumen tissue and to validate the detected changes in specific gene expression, differentially expressed genes were identified among the (7D) group at one week of age (before treatment) against four diets MO, MC, MCG, MG, at 90 days using Real Time-PCR.

The results of this study indicated that the MC group (3) had the highest levels of growth hormone receptor (GHR) and insulin-like growth hormone (IGF-1) gene expression in the rumen tissue and with significant differences between all groups at probability level (P> 0.05), and the MCG lambs group showed the lowest level of expression The gene expression of GHR, while the lowest level of gene expression for (IGF-1) was in group (2) MO compared with the other groups. It is clear from these results that feeding lambs with concentrated feed at an early stage affects the levels of gene expression of IGF-1, GHR in the rumen tissue, which in turn positively affects the growth and development of the lambs rumen, which improves the rate of increase in daily body weight.

**Keywords:** *Insulin-like growth factor, gene expression, diet, rumen tissue, lambs, growth hormone receptor.*