قياس تركيز بعض الهرمونات في أمصال ابقار الحليب متكررة الشبق اثناء التلقيح الاصطناعي

علي حبيب جابر البديري ضياء حسين جاسم الدليمي
كلية الطب البيطري /جامعة القادسية

الخلاصة

اجري البحث على 120 بقرة متكررة الشبق من نوع هولشتاين فريزيان ، اجري الفحص الهرموني باستخدام الاستشعاع المناعي RIA لأمصال الأبقار المشمولة بالبحث للتحري عن مستويات الهرمونات (ACTH والبروجستيرون وLH والكورتيزول) . قسمت الحيوانات اعتماداً على الهياج العصبي أثناء التلقيح الاصطناعي إلى مجموعتين ، المجموعة الاولى A (60) بقرة لوحظ عليها علامات الهياج العصبي والمجموعة الثانية B (60) بقرة لم يلاحظ عليها علامات الهياج العصبي . وبين التحليل الهرموني لأمصال مجموعة الأبقار A ان المتوسط لمستويات الهرمونات (ACTH والبروجستيرون وLH والكورتيزول) هي (168.65بيكوغرام / مل ، 1.34نانوغرام/مل ، 1.03نانوغرام/مل و 21.92 نانوغرام/مل) على التوالي ، في حين كان المتوسط لمستويات الهرمونات في المجموعة B هي (72.30بيكوغرام / مل ، 0.41 نانوغرام/مل ، 1.52نانوغرام/مل و 12.69نانوغرام/مل) على التوالي ، وأظهر التحليل الإحصائي وجود فرق معنوي ($P<0.01$) في مستويات هذه الهرمونات بين المجموعتين .

المقدمة

عرفت الاباكير والأبقار متكررة الشبق بأنها الحيوانات التي تبدو سليمة سريرياً ولكنها تفشل في الإخصاب عند تلقيحها بسائل منوي خصب لثلاث مرات أو أكثر ومن ثم تعود لدورة شبق طبيعية (7,23,24).وأشار(17) بان نسبة الأبقار متكررة الشبق سجلت 10.1 % في أبقار الحليب . وأضاف (18) بان نسبة الأبقار متكررة الشبق تبلغ حولي (10-15)% في قطعان أبقار الحليب ، في حين بين (4) بان نسبة الأبقار التي تلقح اصطناعيا لثلاث مرات أو أكثر ولم ينتج عنه حمل مثمر كانت نسبتها (10-18) %، بينما سجل (21) مدى أوسع من ذلك حيث سجلت الأبقار متكررة الشبق ما نسبته (10-24) %في مزارع إنتاج الحليب . وأشار (7) بان إذا ما بلغت نسبة تكرار الشبق أكثر من 30 % تعتبر مشكلة اقتصادية في قطعان الحليب . وعزى (34) تكرار الشبق في الأبقار إلى فشل في الإخصاب وكانت 10% في حين كانت نسبة موت الجنين المبكر(25-30) % . ولاحظ (5,11) أن نسبة (5-25) % من أبقار الحليب تنبذ سنويا بسبب ظاهرة تكرار الشبق الناتج من فشل الإخصاب و موت الجنين المبكر . بينما وجد (24) أن حوالي 3% من الحيوانات تنبذ بسبب فشل الإخصاب.تحدث ظاهرة تكرار الشبق في أبقار الحليب نتيجة إلى فشل الإخصاب أو موت الجنين المبكر وهذا يعود للاضطرابات الصماوية ، الإصابات التناسلية والاضطرابات الغذائية والعوامل الوراثية والإدارية(3,5,8,23,25) .وأشارت العديد من الدراسات إلى أن من العوامل الأخرى المسبب لحالة تكرار الشبق في أبقار الحليب هو عامل المناعة(15,30,38,41,43) .وتسبب ظاهرة تكرار الشبق خسارة اقتصادية كبيرة في قطعان أبقار الحليب نتيجة لكثرة التلقيحات ، وطول الفترة بين ولادتين ، زيادة معدلات النبذ وكذلك الخدمات البيطرية (1,5,11,22) ، هدفت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير الهياج العصبي على مستويات الهرمونات (ACTH والبروجستيرون وLH والكورتيزول) أثناء التلقيح الاصطناعي لأبقار الحليب متكررة الشبق .

المواد وطرائق العمل

1- المواد

1-1 حيوانات الدراسة

أجريت الدراسة على 120 بقرة مضربة بين سلالتي الهولشتاين والفريزيان تتراوح أعمارها بين(3-7) سنوات ، لمعرفة مستويات الهرمونات (ACTH ، Progesterone ، LH ، Cortisol) في أبقار الحليب متكررة الشبق بالاعتماد على الإجهاد والهياج العصبي اثناء التلقيح الاصطناعي وقد تم اختيار أبقار الدراسة من خلال إجراء الفحص عبر المستقيم للتأكد من سلامة الرحم والمبايض وذات سوائل شبق شفافة ، وملقحة لثلاث تلقيحات سابقة أو أكثر مع عدم حدوث إخصاب وحمل .

1-2 نماذج الدم

جمعت (120) عينة دم من الأبقار المشمولة بالدراسة عن طريق سحب(5 مليلتر) من دم الوريد الوداجي باستعمال محقنه حجم (5 مليلتر) ثم وضعت في أنابيب زجاجية معقمة حيث توضع الأنابيب الحاوية على الدم بشكل مائل لتسهيل عملية فصل المصل ثم تنقل إلى المختبر في صناديق مبردة لتوضع في الثلاجة بدرجة (4 م˚) ولمدة (5-10 ساعات) ثم توضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة (3000 دورة/دقيقة) ولمدة 15 دقيقة ليتم سحب المصل(Serum) بعد ذلك بواسطة ماصة ليوضع في أنابيب بلاستيكية ليحفظ بالتجميد بدرجة (-20 م˚) لحين وقت التحليل الهرموني .

1-3 العدد التشخيصية :

استخدمت عدة التشخيص (Kit) من إنتاج شركة Beckman Coulter Company الفرنسية و شركة Scantibodies Laboratory الفرنسية الخاصة لقياس الاستشعاع المناعي RIA للقياسات الهرمونية.

2: طرائق العمل

2-1 : تصميم التجربة :

اختيرت الأبقار متكررة الشبق اعتمادا على :

أ- ذات ثلاثة تلقيحات أو أكثر سابقة مع عدم حدوث إخصاب وحمل
ب- ذات رحم ومبايض خالية من أي علامات مرضية عند إجراء الجس ألمستقيمي
ج- ذات سوائل شبق رائقة (34, 37,40) .
إذ قسمت حيوانات الدراسة إلى مجموعتين اعتمادا على الهياج العصبي ، المجموعة الأولى(A) تمثلت بـ 60 بقرة تم ملاحظة علامات الهياج العصبي عليها والمجموعة الثانية(B) تمثلت بـ 60 بقرة لم يلاحظ عليها علامات الهياج العصبي عليها .

2-2 القياسات الهرمونية :
نقلت عينات المصول المحفوظة بدرجة (- 20 مئوية) إلى المختبر لغرض إجراء تحليل العينات لقياس مستوى هرمون محرض قشرة الكظر وهرمون البروجستيرون و هرمون الكورتيزول والهرمون اللوتيني في كل عينة مصل ، حيث تم استعمال التحليل بالطريقة الإشعاعية المناعية Radio Immuno Assay (RIA) وباستخدام جهاز Wizard Gamma Count فنلندي المنشأ ، واستخدمت عدة التشخيص الخاصة لكل هرمون وبموجب الخطوات التي اشارت اليها الشركة المجهزة لكل هرمون وكما يلي:

3-2-3-1 : قياس مستوى تركيز هرمون محرض قشرة الكظر (ACTH):
استعملت عدة مختبرية جاهزة Immunotech ACTH IRMA (kit) من شركة Scantibodies Laboratory الفرنسية باستخدام الفحص الاشعاعي المناعي Immunoradiometricassay وكما يلي :
1- أضيف 200 مايكرولتر من المصل الى ACTH antibody-coated tubes ، واضيف 100 مايكرولتر من الـTracer (ACTH I^{125}–antibody) .
2- حضنت العينات بدرجة حرارة الغرفة 18 -25 درجة مئوية ولمدة 18 -22 ساعة ورجت العينة 170 رجة/الدقيقة.
3- تم التخلص من الـ Tracer الغير مرتبط بالاجسام المناعية باستثناء انبوبتين كسيطرة لحساب العدد الكلي للاجسام المناعية المرتبطة .
4- قيس تركيز الهرمون في العينة بواسطة جهاز Gamma count وقرأت النتائج استناداً الى المنحني القياسي (Standard curve) والخاص لهرمون محرض قشرة الكظر .

3-2-3-2 : قياس مستوى هرمون البروجستيرون Progesterone :
استعملت عدة مختبرية جاهزة Immunotech RIA Progesterone (kit) من شركة Beckman Coulter Company الفرنسية باستخدام الفحص الاشعاعي المناعي Radioimmunoassay وكما يلي:
1- اضيف 50 مايكروليتر من المصل الى انابيب خاصة Anti-progesterone antibody–coated tube ثم اضيف 500 مايكوليتر من الـ Tracer والمؤلف من I^{125}-Labeled progesterone مع المحلول الدارى وبروتين .
2- حضنت لمدة ساعة واحدة بدرجة حرارة (18-25) درجة مئوية باستخدام جهاز الرج بسرعة 350 رجة/الدقيقة .
3- تم التخلص وبعناية من الـ Tracer غير المرتبط بالاجسام المناعية المضادة .
4- قيس الهرمون في العينة بواسطة جهاز Gamma count وقرأت النتائج استناداً الى المنحني القياسي (Standard curve) والخاص لهرمون البروجستيرون .

3-2-3- 3 : قياس مستوى الهرمون اللوتيني (LH) :
استعملت عدة مختبرية جاهزة Immunotech LH IRMA (kit) من شركة Beckman Coulter Company الفرنسية باستخدام الفحص الاشعاعي المناعي Immunoradiometricassay وكما يلي :
1- أضيف 100 مايكرولتر من المصل الى انابيب خاصةAnti-LH monoclonal Ab coated tubes لقياس هرمون LH ، وأضيف 50 مايكرولتر من الـ Tracer والمؤلف من I^{125} – Labeled monoclonal anti-LH Ab .
2- حضنت العينات بدرجة 18 - 25 درجة مئوية ولمدة 90 دقيقة ورجت باستخدام جهاز الرج للتاكد من عملية المزج وبسرعة 350 رجة / الدقيقة.
3- تم التخلص من ال Tracer غير المرتبط بالاجسام المناعية بغسل الانابيب باستعمال 2 مل من محلول الغسل باستثناء انبوبتين لحساب عدد الاجسام المناعية الكلية المرتبطة .
4- قيس تركيز الهرمون في العينة باستخدام جهاز Gamma count قرأت النتائج استنادا الى المنحني القياسي Standard curve والخاص بهرمون الـ LH .

3-2-3-4 : قياس مستوى تركيز هرمون الكورتيزول :
استعملت عدة مختبرية جاهزة Immunotech Cortisol RIA (kit) من شركة Beckman Coulter Company الفرنسية باستخدام الفحص الاشعاعي المناعي Radioimmunoassay وكما يلي:
1- أضيف 50 مايكرولتر من المصل الى Antibody coated tubes ، واضيف 500 مايكرولتر من الـ Tracer(Cortisol I^{125} –labeled).
2- حضنت العينات بدرجة حرارة 18 -25 درجة مئوية لمدة ساعة واحدة مع الرج 400 رجة / الدقيقة .
3- تم التخلص من ال Tracer غير المرتبط بالاجسام المناعية بغسل الانابيب باستعمال 2 مل من محلول الغسل ما عدا انبوبتين كسيطرة لحساب عدد الاجسام المناعية الكلية المرتبطة .
4- قيس تركيز الهرمون باستخدام جهاز Gamma counter وقرات النتائج أستنادا الى المنحني القياسي والخاص بهرمون الـ Cortisol .

3-2 : التحليل الإحصائي:
حللت نتائج الدراسة إحصائيا واستخدم المعدل والخطأ القياسي حيث استخدم نظام SPSS بمستوى احتمال 0.01 ، لتقييم نتائج البحث من الناحية الإحصائية (31).

النتائج

التغيرات الهرمونية :

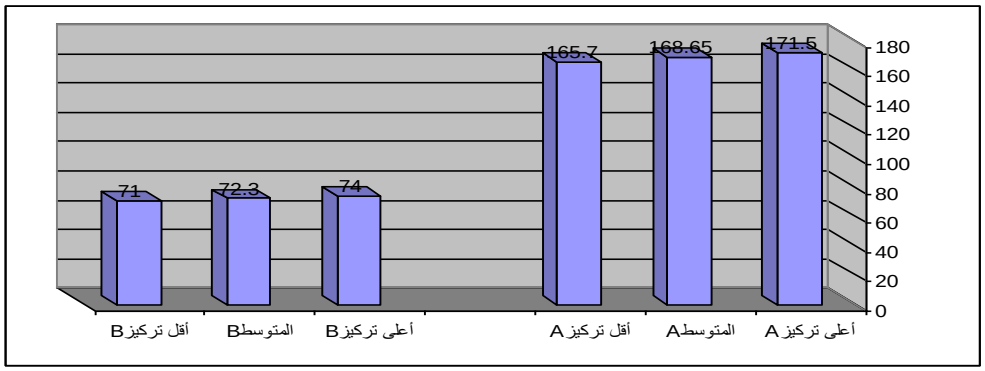
1 : مستويات هرمون ألـ ACTH (بيكوغرام /مل) في أمصال حيوانات الدراسة:

تبين من نتائج الدراسة بأن المتوسط العام ± الخطأ القياسي لمستوى تركيز هرمون ألـ ACTH في أمصال في مجموعة الأبقارA كان 168.65±2.22 بيكوغرام /مل ، وكان أعلى متوسط ± الخطأ القياسي لتركيز الهرمون 171.5±6.22 بيكوغرام /مل واقل متوسط ± الخطأ القياسي كان 165.7±6.33بيكوغرام /مل ، في حين المتوسط العام ± الخطأ القياسي لمستوى الهرمون في المجموعة B كان 72.30±0.73 بيكوغرام /مل ، وكان أعلى متوسط ± الخطأ القياسي لتركيز الهرمون وصل إليه ضمن هذه الأبقار 74±1.84 بيكوغرام /مل وأقل متوسط ± الخطأ القياسي للتركيز كان 71±1.69 بيكوغرام /مل ، وجد فرق معنوي (P<0.01) عند مقارنة مستويات تركيز الهرمون بين المجموعتين ، (جدول1) وشكل (1).

(جدول 1) مستويات هرمون ألـ ACTH (بيكوغرام/مل) في أمصال حيوانات الدراسة .

مجموعة الأبقار	عدد الأبقار	تركيز ACTH بيكوغرام/ مل±الخطأ القياسي		
		أعلى تركيز	المتوسط	اقل تركيز
الأبقار ذات الهياج العصبي(A)	60	171.5±6.22[a]	168.65±2.22[a]	165.7±6.33[a]
الأبقار التي لم يلاحظ عليها علامات الهياج العصبي(B)	60	74±1.84[b]	72.30±0.73[b]	71±1.69[b]

* الحروف الصغيرة المختلفة تعني وجود فرق معنوي (P<0.01)



شكل (1) مستويات هرمون ألـ ACTH (بيكوغرام/مل) في أمصال حيوانات الدراسة .

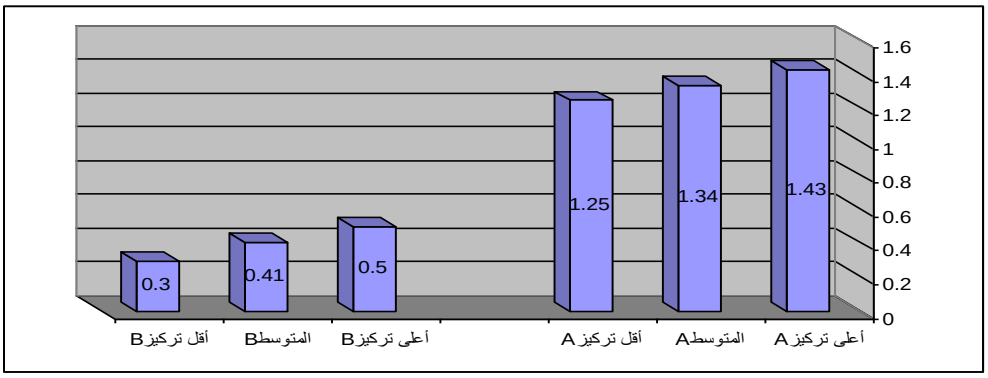
2 : مستويات هرمون البروجستيرون (نانوغرام/مل) في أمصال حيوانات الدراسة:

أظهرت النتائج بان المتوسط العام ± الخطأ القياسي لمستوى تركيز هرمون البروجستيرون في أمصال مجموعة الأبقارA كان 1.34±0.02 نانوغرام/مل ، وكان أعلى متوسط ± الخطأ القياسي لتركيز الهرمون كان 1.43±0.05 نانوغرام/مل واقل متوسط ± الخطأ القياسي للتركيز كان 1.25±0.05 نانوغرام/مل ، في حين المتوسط العام ± الخطأ القياسي لمستوى تركيز هرمون البروجستيرون في أمصال المجموعة B كان 0.41±0.02 نانوغرام/مل ، وكان أعلى متوسط ± الخطأ القياسي لتركيز الهرمون ضمن هذه الأبقار 0.50±0.06 نانوغرام/مل وأقل متوسط ± الخطأ القياسي للتركيز كان 0.30±0.02 نانوغرام/مل ، وجد فرق معنوي (P<0.01) عند مقارنة مستويات الهرمون بين المجموعتين ، (جدول 2) وشكل (2) .

(جدول 2) مستويات هرمون ألـprogesterone (نانوغرام/ مل) في امصال حيوانات الدراسة

مجموعة الابقار	عدد الابقار	تركيز progesterone نانوغرام/ مل±الخطأ القياسي		
		أعلى تركيز	المتوسط	اقل تركيز
الأبقار ذات الهياج العصبي(A)	60	1.43±0.05[a]	1.34±0.02[a]	1.25±0.05[a]
لأبقار التي لم يلاحظ عليها علامات الهياج العصبي(B)	60	0.50±0.06[b]	0.41±0.02[b]	0.30±0.02[b]

* الحروف الصغيرة المختلفة تعني وجود فرق معنوي (P<0.01)



شكل (2) مستويات هرمون البروجستيرون(نانوغرام/مل) في أمصال حيوانات الدراسة .

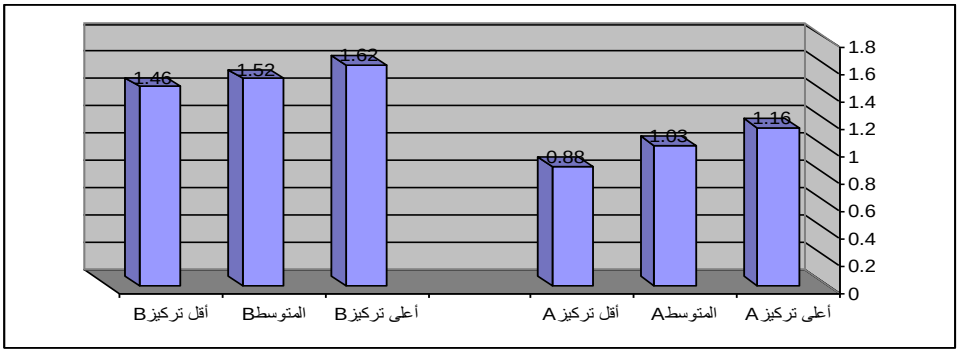
3 : مستويات هرمون ألـ LH (نانوغرام/مل) في أمصال حيوانات الدراسة:

من خلال الفحص الهرموني لمستوى تركيز هرمون ألـ LH كان المتوسط العام ± الخطأ القياسي 1.03±0.02 نانوغرام/مل في أمصال مجموعة الأبقار A وأعلى متوسط ± الخطأ القياسي لتركيز الهرمون كان 1.16±0.04 نانوغرام/مل واقل متوسط ± الخطأ القياسي لتركيز الهرمون كان 0.88±0.05 نانوغرام/مل ، في حين المتوسط العام ± الخطأ القياسي لمستوى تركيز الهرمون في أمصال المجموعة B كان1.52±0.02 نانوغرام/مل ، بينما أعلى متوسط ± الخطأ القياسي لتركيز الهرمون ضمن هذه الأبقار كان 1.62±0.04نانوغرام/مل وأقل متوسط ± الخطأ القياسي لتركيز الهرمون كان 1.46±0.03 نانوغرام/مل ، وجد فرق معنوي (P<0.01) عند مقارنة مستويات تركيز هرمون ألـ LH في أمصال الأبقار بين المجموعتين (جدول 3) وشكل (3) .

(جدول 3) مستويات هرمون ألـ LH (نانوغرام/مل) في أمصال حيوانات الدراسة .

مجموعة الابقار	عدد الابقار	تركيز LH نانوغرام/ مل±الخطأ القياسي		
		أعلى تركيز	المتوسط	اقل تركيز
الأبقار ذات الهياج العصبي(A)	60	1.16±0.04[a]	1.03±0.02[a]	0.88±0.05[a]
لأبقار التي لم يلاحظ عليها علامات الهياج العصبي(B)	60	1.62±0.04[b]	1.52±0.02[b]	1.46±0.03[b]

* الحروف الصغيرة المختلفة تعني وجود فرق معنوي (P<0.01)



شكل (3) مستويات هرمون ألـ LH (نانوغرام/مل) في أمصال حيوانات الدراسة .

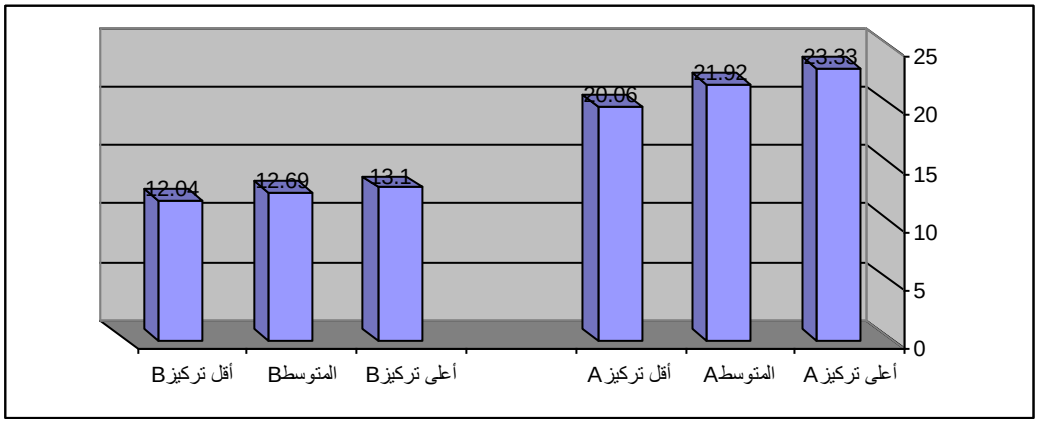
4 : مستويات هرمون الكورتيزول (نانوغرام/مل) في أمصال حيوانات الدراسة :

يبين الجدول (4) وشكل (4) بان المتوسط العام ± الخطأ القياسي لمستوى تركيز هرمون الكورتيزول في أمصال مجموعة الأبقار A كان 21.92±0.23 نانوغرام/مل ، وكان أعلى متوسط ± الخطأ القياسي لتركيز الهرمون ضمن هذه الأبقار 23.33±0.48 نانوغرام/مل واقل متوسط ± الخطأ القياسي لتركيز الهرمون كان 20.06±0.44 نانوغرام/مل ، في حين المتوسط العام ± الخطأ القياسي لمستوى تركيز الهرمون في أمصال المجموعة B كان 12.69±0.13نانوغرام/مل ، وكان أعلى متوسط ± الخطأ القياسي لتركيز الهرمون ضمن هذه الأبقار 13.10±0.28نانوغرام/مل وأقل متوسط ± الخطأ القياسي لتركيز الهرمون كان 12.04±0.21 نانوغرام/مل ، وجد فرق معنوي (P<0.01) عند مقارنة مستويات تركيز هرمون الكورتيزول في أمصال أبقار بين المجموعتين ، (جدول 4) وشكل (4).

(جدول 4) مستويات هرمون الكورتيزول (نانوغرام/مل) في أمصال حيوانات الدراسة .

مجموعة الابقار	عدد الابقار	تركيز cortisol نانوغرام/ مل±الخطأ القياسي		
		أعلى تركيز	المتوسط	اقل تركيز
الأبقار ذات الهياج العصبي(A)	60	23.33±0.48[a]	21.92±0.23[a]	20.06±0.44[a]
لأبقار التي لم يلاحظ عليها علامات الهياج العصبي(B)	60	13.10±0.28[b]	12.69±0.12[b]	12.04±0.21[b]

* الحروف الصغيرة المختلفة تعني وجود فرق معنوي (P<0.01)



شكل (4) مستويات هرمون الكورتيزول (نانوغرام/مل) في أمصال حيوانات الدراسة .

المناقشة

التغيرات الهرمونية :

1 : مستويات هرمون ألـ ACTH (بيكوغرام /مل) في أمصال حيوانات الدراسة:

اظهر الفحص الهرموني لأمصال أبقار الدراسة وجود زيادة معنوية في تركيز هرمون ألـ ACTH في الأبقار ذات الهياج العصبي حيث كان المتوسط العام ± الخطأ القياسي 168.65±2.22 بيكوغرام /مل عنه في الأبقار التي لم تُبدِ هياجا عصبيا والتي سجلت المتوسط العام ± الخطأ القياسي 72.30±0.73 بيكوغرام /مل ، وهذا ناتج عن تأثير الهياج العصبي والذي يرفع من مستوى تركيز هرمون ألـ CRH من غدة تحت المهاد وهذا يرفع من مستوى تركيز هرمون ألـ ACTH المحرر من الفص الأمامي للغدة النخامية وهذا يتفق مع ما أشار إليه (9) بان المحفزات الاجهادية تحث غدة تحت المهاد لتحرير هرمون CRH والذي يحفز الفص الأمامي للغدة النخامية لتحرير هرمون ألـ ACTH ، وكذلك ما توصل إليه (36) حيث عد الأشهر الأخيرة من الحمل من عوامل الإجهاد التي ترفع مستوى تركيز هرمون ألـ ACTH حيث كان تركيزه (60.8 ، 71.3 ، 239.2 و406.9) بيكوغرام / مل في الأشهر (5 ، 7 ، 8 و 9) من الحمل على التوالي ، كذلك وجد أن مستوى تركيز هرمون ألـ ACTH قد انخفض بعد الولادة من 182.3 بيكوغرام / مل إلى 99.9 بيكوغرام / مل بعد 5 يوم من الولادة ، إضافة إلى ما بينته بعض الدراسات من ان مستوى تركيز هرمون ألـ ACTH ازداد تركيزه في مصل دم الحبل السري مع تقدم الحمل حيث كان تركيزه في الشهرين الأخيرين من الحمل 241 بيكوغرام / مل (44) ، واتفقت نتائج الدراسة مع ما سجله (10) حيث كانت مستويات تركيز هرمون ألـ ACTH مرتفعة في الأبقار التي تعرضت لعامل الإجهاد كالنقل والحمل والولادة والمرض وقد ارتفع تركيزه من 4.72 بيكوغرام / مل إلى 8.24 بيكوغرام / مل في خلايا اللمفوسايت إثناء النقل المجهد للأبقار.

2 : مستويات هرمون البروجستيرون(نانوغرام/مل) في أمصال حيوانات الدراسة:

تبين من خلال الفحص الهرموني لمستوى تركيز هرمون البروجستيرون في أمصال دم الأبقار التي لوحظ عليها علامات الهياج العصبي حيث كان المتوسط العام ± الخطأ القياسي 1.34±0.02 نانوغرام/ ، وبذلك سجل زيادة معنوية عن مستواه في الأبقار التي لم يلاحظ عليها علامات الهياج العصبي إذ كان 0.41±0.02نانوغرام/مل وهذا يفسر أن تأثير الهياج العصبي على الحيوانات رفع مستوى تركيز هرمون البروجستيرون في أمصال دمها ، وهذا يتفق مع ما أشارا إليه (46) بأنه يزداد مستوى تركيز هرمون البروجستيرون كلما ازدادت الجرعة المحقونة من ألـ ACTH في الأبقار حيث كانت مستوياته (0.6 ، 1.3 ، 1.5 و 2.5) نانوغرام / مل عند حقن (3 ، 6 ، 12 و 25) وحدة دولية على التوالي ، واتفقت النتائج مع ما توصل إليه (2) بان مستويات تركيز هرمون البروجستيرون كانت مرتفعة وسجلت 1.48 نانوغرام / مل في الأبقار التي حقنت ب 100 وحدة دولية من ألـ ACTH ، وكذلك ما توصل إليه (42) حيث وجد أنه عند حقن الأبقار بـ 100 وحدة دولية من ACTH ارتفع مستوى تركيز هرمون البروجستيرون في مصل الدم أكثر من (1 – 1.5) نانوغرام / مل ، وأيضا اتفقت نتائج الدراسة مع ما وجده (6) بان الأبقار متكررة الشبق أكثر تحفيزا للاستجابة بعوامل الإجهاد من الأبقار

الطبيعية حيث وجد إن تركيز هرمون البروجستيرون مرتفع في الأبقار متكررة الشبق التي تعرضت للإجهاد عن الأبقار الطبيعية .

3 : مستويات هرمون ألـ LH (نانوغرام/مل) في أمصال حيوانات الدراسة :

من خلال الجدول (3) تبين وجود زيادة معنوية في مستوى تركيز هرمون ألـ LH في أمصال الأبقار التي لم يلاحظ عليها علامات الهياج العصبي حيث سجل المتوسط العام ± الخطأ القياسي 0.02±1.52 نانوغرام/مل عنها في الأبقار ذات الهياج العصبي والتي سجلت 0.02±1.03 نانوغرام/مل ، هذه النتيجة ربما تعود للإجهاد الناتج من الهياج العصبي والذي يؤدي إلى ارتفاع مستوى تركيز هرمون البروجستيرون والذي له تأثير سلبي من خلال التغذية الاسترجاعية السالبة على غدة تحت المهاد وبالتالي التأثير على الفص الأمامي للغدة النخامية وبذلك يقلل من طرح هرمون ألـ LH ، وهذا يتفق مع ما أشار إليه (16) من ان الإجهاد يؤدي إلى رفع مستوى تركيز هرمون البروجستيرون المفروز من قشرة الغدة الكظرية في الدم وبالتالي يقلل من طرح الهرمون اللوتيني من الفص الأمامي للغدة النخامية ، كما يتفق مع ما توصل إليه (32) بان الإجهاد يقلل من إفراز هرمون GnRH من الغدة تحت المهاد وبالتالي يقلل من تحرير هرمون ألـ LH من الفص الأمامي للغدة النخامية ، وتتوافق النتائج مع ما اقترحه (14,27) من أن لارتفاع مستوى تركيز هرمون الكورتيزول تأثيراً على إطلاق هرمون ألـ LH من خلال تقليل تكرار وكمية هرمون ألـ GnRH ، وتقاربت النتائج مع ما توصل إليه (19) حيث وجد أن تركيز هرمون ألـ LH عند تغذية الأبقار على مستويات مختلفة من البروتين كان (1.2-1.8) نانوغرام / مل في اليوم الثاني من التلقيح .

4 : مستويات هرمون الكورتيزول (نانوغرام/مل) في أمصال حيوانات الدراسة :

إن مستويات هرمون الكورتيزول في أمصال الأبقار متكررة الشبق أظهرت فرقاً معنوياً بين الأبقار التي ظهر عليها علامات الهياج العصبي والتي لم يظهر عليها علامات الهياج العصبي حيث كان المتوسط العام ± الخطأ القياسي لمستوى تركيز هرمون الكورتيزول في أمصال الأبقار(0.23±21.92 نانوغرام/مل و 0.13±12.69 نانوغرام/مل) على التوالي ، وهذا يعود الى الارتباط الطردي بين زيادة مستويات تركيز هرمون ألـ ACTH في مصل الدم والذي يؤثر على قشرة الغدة الكظرية ومستوى تركيز هرمون الكورتيزول المفروز منها وهذا يتفق مع أشار إليه (45) حيث اعزيا ارتفاع مستويات تركيز هرمون الكورتزول في مصل الدم إلى الزيادة الحاصلة في تركيز مستوى هرمون ألـ ACTH الناتج من التعرض للإجهاد وكذلك اتفقت النتائج مع ما توصل إليه (6,33) من إن مستويات تركيز هرمون الكورتيزول تزداد 5-10 أضعاف عن مستواها الطبيعي عند حقن الأبقار بـ 25-50 وحدة دولية من ألـ ACTH . وسجل بعض الباحثين من ان مستوى تركيز هرمون الكورتيزول يرتفع عند فحص الأبقار عبر المستقيم بحدود 12- 14 نانوغرام / مل (29) ، واتفقت هذه النتائج مع ما سجله (28) حيث وجد زيادة معنوية في تركيز هرمون الكورتيزول في الأبقار المجهدة من عملية الحلب حيث كانت 14-19.6 نانوغرام / مل ، وكذلك بين (12) بان هنالك زيادة معنوية في تركيز هرمون الكورتيزول في الأبقار ألمجهدة بسبب العرج مقارنة بأبقار السيطرة ، ومع ما توصل إليه (39) بان الأبقار المجهدة يرتفع مستوى تركيز هرمون الكورتيزول في مصل دمها حيث سجل زيادة من 9.4 إلى 22.2 نانوغرام / مل بعد تعريضها لإجهاد النقل .

وبينت بعض الدراسات بان عوامل الإجهاد كثيرة من ضمنها زيادة إنتاج الحليب والعرج والفحص عبر المستقيم والتي تؤثر على المحور تحت المهادي – النخامي – الكظري وبالتالي تزيد من إفراز هرمون الكزرتيزول (12,29) .

References

1. Ahmadi, M. & Dehghan, S. (2007) . Evaluation of treatment of repeat breeder dairy cows with utrin lavage plus PGF2α with or without cephapirin . Turk. J. Vet. Anim. Sci. , 31:125-129 .
2. Alam, M.G. ; Dobson, H. & Fitzpatrick, R.J. (1986) . Endocrine response to different doses of ACTH in cows . Br. Vet. J. , 142:239-245 .
3. Ayalon, N. (1978) . Embryonic mortality in cattle . Jour. of Reprod. and Ferility 54:483-493 .
4. Ayalon, N. (1984) . The repeat breeder problem . Proceedings 10th , Ann. Int. Congr. Anim. Reprodu. AI., Illinois. IV,1:41-50 .
5. Bage, R. ; Gustafsson, H. ; Larsson, B. ; Forsberg, M. & Rodriguez-Martinez, H. (2002) . Repeat breeding in dairy heifers :

follicular dynamics and estrous cycle characteristic in relation to sextual hormone patterns . Theriog. V.57, 9:2257-2269 .

6. Bage, R. ; Forsberg, M. ; Gustafsson, H. & Larsson, B. (2000) . Effect of ACTH-challenge on progesterone and cortisol levels in ovariectomised repeat breeder heifers . Anim. Reprod. Sci. , 63:65-76.
7. Bilby, T.R. (2008) . Getting those repeat breeding bred . Western Dairy News , Vol. 8 , 7:145-146 .
8. Bruyas, J.F. ; Fieni, F. & Tainturier, D.L. (1993) . Syndrome "repeat breeding " , analyse bibliographique, partie , etiologe . Fran. Medicine Vet. , 144:385-398 .
9. Buckingham, J.C. ; Cowell, A.M. ; Gillies, G.E. ; Herbison, A.E. & Steel, J.H. (1997). The neuroendocrine system: Anatomy , Physiology & Responses to stress : Stress, stress hormones and the immune system .Ltd. Chichester, pp.9-47 .
10. Dixit, V.D. ; Marahrens, M. ; & Parvizi, N. (2001) . Transport stress modulates adrenocortictropin secretion from peripheral bovine lymphocytes . J. Anim. Sci. , 79:729-734
11. Eddy, R.G. (1994) . The repeat breeder cow . J. Cattle Pract. , 2:39-45 .
12. Endo, H. ; Ogata, Y. ; Takahashi, K. ; Fujikura, T. & Konno, M. (2003) . Management for claw diseases in free-stall type dairy farms using evaluation data on pain stress and metabolic profile test . Jap. J. Livestock , Med. , 50:241-248 .
13. Enkhia, K.L. ; Kohli, I.S. & Bhatia, J.S. (1983) . Electrolytes of cervico-vaginal mucus & blood during oestrus in normal & repeat-breeding Rathi cows . Indian Jou. of Anim. Sci. , 53:66-68 .
14. Estienne, M.J. ; Barab, C.R. & Kesner, J.S. (1991) . Luteinizing hormone secretion in hypophsyial stalk-transected gilts given hydrocortisone acetate & pulsatile gonadotropin- releasing hormone. Domest. Anim. Endocr. , 8:407-414 .
15. Frichorova, R. & Boulanov, I. (1996) . Anti-Seminal plasma antibodies associated with infertility . An. J. Reprod. Immunol. , 36:198-203 .
16. Gordon, I. (2003). Labarotory production of cattle embryos: The bovine oestrous cycle and associated events . Chapter2 , pp.42-47 . printed & bound in the UK. This book is available from the British library , London , UK.
17. Gustafsson, H. & Emanuelson, U. (2002) . Characterisation of repeat breeding syndrome in Swedish dairy cattle . J. Acta .,Vet. Scand. , 4:115-125 .
18. 18-Hartigan, P.J. ;Murphy, J.A. ; Nunn, W.R. & Griffin, J.F. (1972) . An investigation in to the causes of reproductive failure in dairy cows : ntrauterine infection and endometrial histopathology in clinically normal-repeat-breeder cows . Lrish. Vet. J. , 26:245-247.
19. Jordan, E.R. & Swanon, L.V. (1979) . Serum progesterone and luteinizing hormone n dairy cattle fed varying levels of crude protein . J. Anim. Sci. , 48:1154-1158 .
20. Kaikini, A.S. ; Chikalikar, G.K. & Dindorkar, C.V. (1983). Reproductive disorders I Holstein-Friesian cows . Indian Jou. of Anim. Sci. , 53:556-558 .
21. Kimura, M. ; Nakao, T. ; Moriyoshi, M. & Kawata, K. (1987) . Luteal phase deficiency as apossible cause of repeat breeding in dairy cows . Br.Vet. J. , 143:560-566 .
22. Lafi, S. ; Kaneene, J. ; Black, J. & Lloy, J.M. (1992). Epidemiological & economic study of the repeat breeder

syndrome in Michigan dairy cattle . Econom. Modeling , Prev. Vet. Med. , 14:99-114 .

23. Lamming, G.E. & Darwash, A.O. (1998) . The use of milk progesterone profiles to characterize components of subfertility in milked dairy cows . Anim. Reprodu. Sci. , 52:175-190.
24. LeBlanc, S.S. ; Duffied, T.E. ; Leslie, K.E. ; Bateman, K.G. ; Reefe, G.P. ; Walton, J.S. & Johnosn, W.H. (2002) . Defining & diagnosis postpartum clinical endometeritis and its impact on reproductive performance in dairy cows .J. of Dairy Sci. , 85:2223-2236 .
25. Levine, H.D. (1999). The repeat breeder cow. J. Bovine Practitioner , 33:97-105 .
26. Lopez-Gatius, F. ; Yaniz, J.L. Santolaria, P. ; Murugare, L. K. ; Guijarro, R. ; Calvo, E. & Lopez-Bejar, M. (2004) . Reproductive performance of lactating dairy cows treated with cloprostenol at the time of insemination. Theriog. , 62:677-689 .
27. Macfarlane, M.S. ; Breen, K.M. ; Sakurai, H. ; Adams, B.M. & Adam, T.E. (2000) . Effect of ovulation of infusion of stress-like concentrations of cortisol on follicular development and the preovulatary surge of LH in sheep . Ani. Reprod. Sci. , 63:167-175 .
28. Miyazawa, K. (1983) . Changes in the plasma cortisol & glucose levels after applying stimulus into the jugular vein to collect blood , stimulus on the teat and stimulus of milking n cows . Res. Bull. Obihiro. , Univ. 13:229-235 .
29. Nakao, T. ; Sato, T. ; Moriyoshi, M. & Kawat, K. (1994) . Plasma cortisol response in dairy cows to vagioscopy , genital palpation per rectum and artificial insemination . J. Vet. Med. , 41:16-21 .
30. Nouza, K. ; Kinsky, & Dimitrov, D. (1992) . Immunology and immunopathology of reproduction. Folia. Biol. , 38:170-194 .
31. Petrie, A. & Watson, P. (2004). Statistics for veterinary and animal science. Illustrations prepared by Alexander Hunte . Printed and bound in Great Britain . By T.J. International Ltd , Padstowy Cornwall .
32. Roche, J.F. ; Crowe, M.A. & Boland, M.P. (1992).Postpartum anestrus in dairy & beef cows . Anim. Reprod. Sci. , 28:371-378 .
33. Roussel, J.D. ; Clement, T.J. ; Arnas, T.J. and Seybt, S.H. (1983). Changes in circulating plasma levels of cortisol lactating and non- lactating dairy cattle during the estrus cycle . Theriog. 19:535-539 .
34. Shigeru, K. (1992) . Artificial insemination manual for cattle. Part II , chapter II , Association of Livestock Technology , Pp.178 .
35. Sreenan, J.M. ; Diskin, M.G. & Morris, D.G. (2001) . Embryo survival in cattle : amiajor limitation to the a chievement of high fertility . Fertility in high producing dairy cow .Br. Anim. Sci. Vo.1 , 26:93-104.
36. 36-Takeishi, M. ; Shibata, S. & Tsumagari, S. (1989) . Adenocorticotropin and cortisol levels in the plasma of bovine fetuses and neonates . Jap. J. Vet. Sci. , 51:975-980 .
37. 37-Ui-Hyung, K. ; Guk-Hyung, S. ;Tai-Young, H. ; Seog-Jin, K. ; Hyun-Gu, K. ; Soo-Bong, P. ; Hyeon-Shup, K. & Ill-Hwa, K. (2007) . Comparison of two type of CIDR-based timed artificial insemination protocols for repeat-breeder dairy cows . J. of Reprod. & Develp. , Vol. 53, 3:639-645 .
38. Ulcova-Gallova, Z. & Mardestein, T. (1996) . Does invitro fertilization

(IVF) influence the levels of sperm & zona pelluceda (ZP) antibodies in inoculation of bulls , rams , with chlemedia . Anim. J. Vet. Res. , 37:517-520 .

39. Varner, M.A. ; Johnson, B.H. ; Britt, J.H. ; McDaniel, B.T. & Mochrie, R.D. (1983) . Influence of herd relocation upon production & endocrine traits of dairy cows . J. Dairy Sci. , 66:466-464 .
40. Villarrorel, A. ; Muartino, A. ; BonDurant, R. H. ; Deletang, F. & Sischo, M. (2004) . Effect of post-insemination supplementation with PRID on pregnancy in repeat-breeder Holstein cows . Theriogenology , 61:1513-1520 .
41. Wang, G. & Xie, C. (1990) . The relationship between antisprm antibodies and progesterone in serum of infertile dairy cows . Acta. Vet. Zootech. Simca. , 21:26-30 .
42. Wanger, W.C. ; Strohbehn, R.E. & Harris, P.A. (1972) . ACTH , corticoids and luteal function in heifers . J. Anim. Sci. , 35:789-793 .
43. Wazieri, M. & Fayemi, O. (2000) . Sero prevalence of sperm antibodies in goats . Vet. Archiv. , 70:95-102 .
44. Winters, A.J. ; Oliver, C. ; Colston, C. ; MacDanal, P.C. & Porter, J.C. (1974) . Plasma ACTH levels in human fetus and neonate , as related to age & parturition . J. Clin. Endo. Metab. , 32:269-273 .
45. Yoshida, C. & Nakao, T. (2005) . Response of plasma cortisol and progesterone after ACTH challenge in overictomized lactating dairy cows. J. Reprod. Develop. , Vol.51 , 1 :99-107 .
46. Yoshida, C. & Nakao, T. (2006) . Pasma cortisol and progesterone response to low doses of Adenocorticotropic hormone in ovariectmized lactating cows . J. Reprod. Develop. , Vol. 52, 6:797-803 .

Evaluation of some hormones concentration in the repeat-breeder dairy cows sera during artificial insemination

A. H. J. AL-bdeery D. H. J. AL-delemy
Coll. of Vet.Med./ Univ.of Al-Qadisiya

Abstract

The paper was conducted on 120 repeat-breeder dairy cows from Holistein-Fresian , the hormonal analyses were done RIA technique of the sera of the involved cows to detect (ACTH,progesterone ,LH & cortisol) hormonal levels .The animal of study were divided depending on the nervous excitation during artificial insemination into two groups , the fist group A (60) cows expressed signs of nervous excitation , the second group B (60) cows did not expressed signs of nervous excitation.The hormonal analysis of group A cows sera , the mean of hormonal levels of ACTH,progesterone ,LH & cortisol were 168.65pg/ml , 1.34ng/ml , 1.03ng/ml & 21.92ng/ml , respectively while the mean of hormonal levels in group B were 72.30pg/ml , 0.41ng/ml , 1.52ng/ml & 12.69ng/ml , respectively .The statistical analysis reveal there were significant variance ($P<0.01$) in the levels of these hormones between two groups .