الكشف عن تواجد الهابتوكلوبين في مستخلص اجزاء الجهاز التناسلي للكباش العواسية

ظافر محمد عزيز أحمد قيس أحمد
كلية الطب البيطري/ جامعة الموصل

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة للتحري عن تواجد الهابتوكلوبين في أجزاء الجهاز التناسلي الذكري للكباش العواسية. أستخدم في هذه الدراسة ثلاثة أجهزة تناسلية ذكرية لكباش بالغة سليمة من الناحية السريرية بعد الذبح في المجزرة. حضر مستخلص كل من الخصية وذيل البربخ والأمبولا والغدة الحويصلية وغدة البروستات وغدة البصلة الأحليلية. تم قياس مستوى الهابتوكلوبين في مستخلص أجزاء الجهاز التناسلي للكباش بطريقة الـ ELISA. بينت نتائج الدراسة تباين تركيز الهابتوكلوبين بين الأجزاء المختلفة من الجهاز التناسلي الذكري، فكان أعلى تركيز في الغدة الحوصلية (3,15 ± 0,92 مايكروغرام/مل) ثم تلاه تركيزه في الأمبولا (2,77 ± 0,87 مايكروغرام/مل)، ثم غدة البروستات (2,63 ± 0,90 مايكروغرام/مل) وتقارب تركيز الهابتوكلوبين في كل من البربخ وغدة البصلة الأحليلية (2,28 ± 0,58 و 2,35 ± 0,78 مايكروغرام/مل)، في حين كان أقل تركيز في الخصية (2,08 ± 0,63 مايكروغرام/مل). لم تظهر التحليلات الإحصائية وجود فروقات معنوية في تركيز الهابتوكلوبين بين أجزاء الجهاز التناسلي الذكري. يستنتج من الدراسة الحالية أن الهابتوكلوبين متواجد في أنسجة أجزاء الجهاز التناسلي الذكري جميعها.

المقدمة

يعد الهابتوكلوبين من أهم بروتينات الطور الحاد. يتواجد الهابتوكلوبين بثلاثة أنماط ظاهرية تمتلك كل منها اثنين من سلسلة β ويتحدد نوع الهابتوكلوبين بتغير نوع سلسلة α؛ فالنوع الأول يمتلك سلسلتين من α_1 ويسمى بـــ Hp1-1، والنوع الثاني له سلسلة من نوع α_1 وأخرى من نوع α_2 ويطلق عليه Hp2-1، أما النوع الثالث فله سلسلتان من نوع α_2 ويعرف بـــ Hp2-2 (1). ولقد وجد أن الهابتوكلوبين في الأغنام هو مشابه للهابتوكلوبين في الأنسان من نوع Hp2-2 (2).الجزء الرئيس من الهابتوكلوبين ينتج من الخلايا الكبدية (3)، وأجزاء اخرى من الهابتوكلوبين تنتج من أنسجة أخرى مثل الرئة (4) والنسيج الشحمي (5) والجلد (6) والطحال والغدة الكظرية والغدة تحت الفكية (7) ووجد أنه ينتج في المشيمة والمبيض والرحم (8) والضرع (9).للهابتوكلوبين دوراً في الجهاز التناسلي الأنثوي، إذ وجد في مبيض الجرذان (10) ومبيض الفئران ورحمها (11) ورحم الأرانب (8) وكذلك في رحم النساء (12) وفي السائل الجريبي عند النساء (13) والجاموس (14). وقد وجد أيضا" أن تركيز الهابتوكلوبين يزداد أثناء الولادة (12)، وفي بعض الحالات التناسلية مثل إلتهاب الرحم واحتباس المشيمة وتقيح الرحم والتهاب الضرع (15) وحالات عسر الولادة (16،17). أما على مستوى الجهاز التناسلي الذكري فلم تتوفر مصادر تشير الى تواجد الهابتوكلوبين فيه أو في السائل المنوي لأي نوع من أنواع الحيوانات أو الإنسان، إلا أن دراسة واحدة أجريت على الجرذان عثر فيها على الهابتوكلوبين في الوسط الزرعي لخلايا سرتولي، حيث يعتقد أن الهابتوكلوبين يلعب دوراً مهماً في عملية أيض الحديد في الخصية (10).صممت هذه الدراسة للتحري عن تواجد الهابتوكلوبين في أجزاء الجهاز التناسلي الذكري للكباش العواسية.

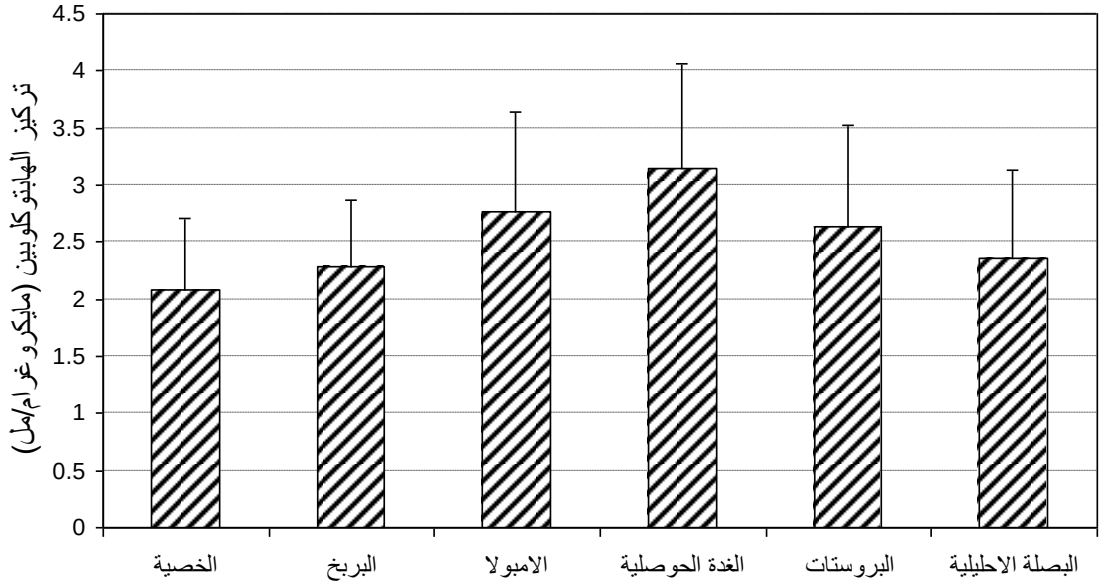
المواد وطرائق العمل

أستخدم في هذه الدراسة ثلاثة أجهزة تناسلية ذكرية لكباش بالغة سليمة من الناحية السريرية بعد الذبح في المجزرة لتحديد تواجد الهابتوكلوبين في أجزاءها. أخذ 10 غم من كل من الخصية وذيل البربخ والأمبولا والغدة الحويصلية وغدة البروستات وغدة البصلة الأحليلية، ووضعت كل عينة في حاوية منفصلة وأضيف لها 10 مل من محلول الملح الفسلجي. بعدها تم سحق العينة بشكل جيد، ثم تركت لمدة 90 دقيقة بدرجة 4 °م بعدها تم ترشيح المزيج باستخدام طبقتين من الشاش، ثم أخذ مستخلص العينات ووضع في أنابيب وباستخدام جهاز الطرد المركزي وبمعدل 3000 دورة/دقيقة ولمدة 20 دقيقة تم الحصول على المستخلص النهائي (18). حفظت العينات في عبوات منفصلة بدرجة −20°م لحين موعد التحليل.تم قياس مستوى الهابتوكلوبين في مستخلص أجزاء الجهاز التناسلي للكباش بطريقة الـ ELISA ووفق الطريقة التي وصفها Hiss وجماعته (9) إذ تم تحضير المحاليل والأطباق وأجراء خطوات قياس تركيز الهابتوكلوبين في المختبر المركزي / كلية الطب البيطري / جامعة الموصل.استخدم جهاز قراءة الأطباق الدقيقة EXL 800 ,Bio) Universal Microplate Reader Tec. Instruments Inc, USA) وعلى طول موجي 450 نانوميتر لقراءة نتائج التحليل.بعد الحصول على نتائج العينات من جهاز قراءة الأطباق الدقيقة، نقلت البيانات الى برنامج Titri) Version 5.04, Netherland)، إذ تم الحصول على المنحنى القياسي لمحاليل الهابتوكلوبين القياسية الذي تم من خلاله حساب تركيز الهابتوكلوبين في العينات.تم مقارنة بيانات المجاميع مع بعضها البعض باستخدام تحليل التباين الاحادي One Way Analysis of Variance، وفي حال ظهور اختلافات معنوية بين المجاميع استخدم اختبار دنكن Duncan's Multiple Range Test لتثبيت مواضع الاختلاف بين المجاميع. تم تطبيق التحليلات الاحصائية باستخدام برنامج التحليل الاحصائي

(Jandel Scientific Softwaer V3.1) Sigmastat. وتم اعتماد مستوى المعنوية $P<0.05$ بوصفه حداً أدنى للفروقات المعنوية.

النتائج

الشكل 1 يوضح تركيز الهابتوكلوبين في مستخلص أجزاء الجهاز التناسلي الذكري، إذ لوحظ تباين في تركيزه بين الأجزاء المختلفة من الجهاز التناسلي الذكري، فكان أعلى تركيز في الغدة الحوصلية (3,15 ± 0,92 مايكروغرام/مل) ثم تلاه تركيزه في الأمبولا (2,77 ± 0,87 مايكروغرام/مل)، ثم غدة البروستات (2,63 ± 0,90 مايكروغرام/مل) وتقارب تركيز الهابتوكلوبين في كل من البربخ وغدة البصلة الأحليلية (2,28 ± 0,58 و 2,35 ± 0,78 مايكروغرام/مل)، في حين كان أقل تركيز في الخصية (2,08 ± 0,63 مايكروغرام/مل). لم تظهر التحليلات الإحصائية وجود فروقات معنوية في تركيز الهابتوكلوبين بين أجزاء الجهاز التناسلي الذكري.



الشكل 1: تركيز الهابتوكلوبين (المعدل ± الخطأ القياسي) في مستخلص أجزاء الجهاز التناسلي الذكري للكباش (العدد = 3) .

المناقشة

دلت نتائج الدراسة الحالية على تواجد الهابتوكلوبين في مستخلص أجزاء الجهاز التناسلي الذكري جميعها، وهذه النتيجة تتوافق مع ما توصل اليه الباحث Hiss وجماعته (19) الذين لاحظوا تواجد الهابتوكلوبين في عصارة لحم الخنزير، لكن تركيز الهابتوكلوبين لم يكن متساوياً في اجزاء الجهاز التناسلي الذكري جميعها إذ كان أعلى تركيز في الغدة الحوصلية وأقل تركيز في الخصية، إن تواجد الهابتوكلوبين في أجزاء الجهاز التناسلي الذكري ربما يكون مصدره الدم أو أنه ينتج من قبل نوع أو أكثر من الخلايا المتواجدة في هذه الأجزاء، أو ربما يكون المصدر الاثنين معاً، إذ سبق وأن اثبت أن الهابتوكلوبين ينتج من خلايا سرتولي في الجرذان (8)، إلا أن الهابتوكلوبين لم يثبت إنتاجه من خلايا أخرى في الجهاز التناسلي التناسلي الذكري.إن التباين في تركيز الهابتوكلوبين في مستخلص أجزاء الجهاز التناسلي الذكري ربما يتناسب مع القابلية الإفرازية وتواجد السوائل داخل كل جزء من أجزاء الجهاز التناسلي الذكري، فقد لوحظ أن أعلى تركيز كان في الغدة الحوصلية التي من المعروف أنها تنتج الجزء الأكبر من بلازما السائل المنوي (20). يستنتج من الدراسة الحالية أن الهابتوكلوبين متواجد في أنسجة أجزاء الجهاز التناسلي الذكري جميعها.

المصادر

1. Bowman BH, Kurosky A. Haptoglobin: the evolutionary product of duplication, unegual crossing over, and point mutation. Adv. Hum. Genet. 1982; 12: 189-207.
2. Marti J, Moretti J. Purification and structure of sheep haptoglobin. FEBS Letters 1976; 66: 137-141.
3. Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC. Schalm's veterinary hematology. 1st ed. Lippincott Williams and

Wilkins, Philadelphia, pp. 2000: 891-896.
4. Yang F, Ghio A, Herbert D, Weaker F, Walter C, Coalson J. Pulmonary expression of the human haptoglobin gene. Am J Respir Cell Mol Biol 2000; 23: 277-82.
5. do Nascimento C, Hunter L, Trayhurn P. Regulation of haptoglobin gene expression in 3t3-11 adipocytes by cytokines, catecholamines,, PPARgamma. Biochem Biophys Res Commun 2004; 313: 702-708.
6. Wang H, Gao X, Wang Y, Li P, He C, Xie Y, Chen H. Expression of haptoglobin in human keratinocytes and langerhans cells. Br J Dermatol 2005; 153: 894-900.
7. D'Armiento J, Dalal S, Chada K. Tissue, temporal and inducible expression pattern of haptogtobin in mice. Gene 1997; 195: 19-27.
8. Olson G, Winfrey V, Matrisian P, Melner M, Hoffman L. Specific expression of haptoglobin mRNA in implantation-stage rabbit uterine epithelium. J Endocrinol 1997; 152: 69-80.
9. Hiss S, Mielenz M, Bruckmaier RM, Sauerwein H. Haptoglobin concentrations in blood and milk after endotoxin challenge and quantification of mammary Hp mRNA expression. J Dairy Sci 2004; 87: 3778-3784.
10. O'Bryan M, Grima J, Mruk D, Cheng C. Haptoglobin is a Sertoli cell product in the rat seminiferous epithelium: its purification and regulation. J Androl 1997; 18: 637–645.
11. Friedrichs WE, Navarijo-Ashbaugh AL, Bowman BH, Yang F. Expression and inflammatory regulation of haptoglobin gene in adipocytes. Biochem Biophys Res Commun 1995; 209: 250-256.
12. Berkova N, Lemay A, Dresser DW, Fontaine JY, Kerizit J, Goupil S. Haptoglobin is present in human endometrium and shows elevated levels in the decidua during pregnancy. Mol Human Reprod 2001. 7: 747–754.
13. Porta A, Cassano E, Balestrieri M, Bianco M, Picone R, De Stefano C, Abrescia P. Haptoglobin transport into human ovarian follicles and its binding to apolipoprotein A-1. Zygote 1999; 7: 67–77.
14. Bergamo P, Balestrieri M, Carratore V, Abrescia P. Purification of a 240 kDa protein from serum and follicular fluid of water buffalo and its identification as haptoglobin. J Exp Zool 1995; 271: 452–461.
15. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Saunders Company, London, pp. 1999: 494-497.
16. Aziz DM, Taha MB. Effect of dystocia on serum haptoglobin in Awassi ewes. Theiogenology 1997; 48: 559-562.
17. Al-Sultan MAH, Aziz DM. Serum haptoglobin in caprine dystocia. Iraqi J Vet Sci. 1998; 11: 237-239.
18. Weber MS, Purup S, Vestergaard M, Akers MR, Sejrsen K. Nutritional and somatotropin regulation of the mitogenic response of mammary cells to mammary tissue extracts. Domestic Anim Endocrinol 2000; 18: 159–164.
19. Hiss S, Knura-Deszczka S, Regula G, Hennies M, Gymnich S, Petersen B, Sauerwein H. Development of an enzyme immuno assay for the determination of porcine haptoglobin in various body fluids: testing the significance of meat juice measurements for quality monitoring programs. Vet Immunol Immunopathol 2003; 96: 73-82.
20. Bearden HJ, Fuquay JW, Willard ST. Applied animal reproduction. 6th ed. New Jerssy: Pearson Prentice Hall. 2004: pp: 173-193.