

مقایسه فصلی هیستومورفولوژی و تغییرات میزان رونویسی ژن IGF-1 روده گاوهای منطقه شهرکرد

غلامعلی کجوری^{۱*}، محمد شادخواست^۲، حسین حسن پور^۲، بهناز کریمی بابااحمدی^۲،
زینب فتحی هفشجانی^۳

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد-ایران.
۲. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد-ایران.
۳. دانش‌آموخته‌ی دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد-ایران.

دریافت: ۲۲ اردیبهشت‌ماه ۱۴۰۵ پذیرش: ۷ مردادماه ۱۴۰۵

چکیده

فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (IGF-1) همراه هورمون رشد (GH) اثرات تحریکی بر تکثیر غضروف و استخوان دارند، اما اطلاعات کمی در مورد نقش IGF-1 در رشد پرزهای روده کوچک طی فصول سردوگرم سال وجود دارد. براین اساس مطالعه حاضر جهت تعیین تغییرات فصلی میزان نسخه‌برداری از ژن IGF-1، تفاوت رشد فصلی کریپت‌ها و پرزهای روده کوچک و سطوح سرمی روی و منیزیم انجام شد. بدین منظور از ۳۰ رأس گاو ذبح شده بیشتر از ۳ سال سن، طی فصول زمستان و تابستان نمونه خون و بافت روده (دوازدهه) گرفته شد. غلظت روی و منیزیم سرم با استفاده از کیت تجاری اندازه‌گیری شد و از روش RT-PCR برای تعیین میزان نسخه‌برداری از ژن IGF-1 در بافت روده استفاده شد. اندازه‌گیری‌های هیستومورفولوژیک نیز با استفاده از نرم‌افزار Image tools III مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، نرخ رونویسی ژن IGF-I و اندازه پرزها در فصل زمستان به ترتیب ۱/۸۲ و ۱/۲ برابر تابستان بود ($P < 0/05$). برعکس، غلظت منیزیم در تابستان به طور قابل توجهی بیشتر از زمستان بود ($P < 0/05$). در حالی که از نظر آماری، تفاوت معنی‌داری در سطح سرمی روی مشاهده نشد ($P > 0/05$). یافته‌ها نشان‌دهنده وجود همبستگی مثبت میان میزان رونویسی ژن IGF-1 و نرخ رشد پرزهای روده بود ($P = 0/341$ و $r = +0/852$). در نتیجه، تغییر فصلی در میزان رونویسی ژن IGF-1 برای اولین بار در روده کوچک گزارش شد. همچنین، وجود هیپومنیزیمی در زمستان را می‌توان به عنوان یک عامل خطر برای مستعد ساختن گاو به هیپوکلسمی تحت بالینی و بالینی در نظر گرفت.

واژه‌های کلیدی: گاو، روده، فاکتور رشد شبه‌انسولینی، هیستومورفولوژی، منیزیم

مقدمه

دنبال تحریک هورمون رشد، توسط کبد و بسیاری دیگر از سلول‌ها ساخته و ترشح می‌شود. این هورمون به شکل عمده در هموستاز بافتی مؤثر است و دارای اثرات میتوژنیک، ضد آپوپتوزی، ضدالتهایبی، آنتی‌اکسیدانی و دارای فعالیت متابولیک در عضلات و نقش محافظتی در سیستم عصبی، قلبی و عروقی است. به‌طور کلی IGF-1 نقشی مشابه انسولین داشته و طی دوران جنینی در رشد مغز، چشم و ریه دخالت

فاکتورهای رشد شبه انسولین (IGFs) هورمون‌هایی هستند که فرایندهای فیزیولوژیکی حیوانات از قبیل رشد، تمایز سلولی و متابولیسم را تحریک و تنظیم می‌کنند (۱). Guo و همکاران در سال ۲۰۲۰، IGF-1 را پروتئینی دانستند که توسط ژن IGF-1 کدگذاری شده و به شکل عمده به

بزرگسالان به طور مستقیم به سطح IGF-I بستگی دارد و با افزایش سن، کاهش می‌یابد (۱۰). مطالعات بیانگر تأثیرگذاری عواملی همچون وضعیت تغذیه، استرس و دما بر سیستم IGF است (۱۱). از این رو در تحقیق حاضر سعی بر آن است تا برای اولین بار به مقایسه میزان رونویسی ژن IGF-I و ساختار هیستومورفولوژی روده گاو و برهم‌کنش آن‌ها از یک سو و از سوی دیگر ارتباط تغییرات احتمالی آن‌ها با غلظت سرمی روی و منیزیم پرداخته شود. چراکه وقوع هیپوکالسمی ارتباطی تنگاتنگ با ویتامین D، PTH و میزان فراخوانی کلسیم از استخوان‌ها دارد و تاکنون نقش IGF-1 در این خصوص به درستی مورد بررسی قرار نگرفته است.

مواد و روش کار

پژوهش حاضر در کشتارگاه صنعتی جونقان (استان چهارمحال و بختیاری، ایران) صورت پذیرفت بدین منظور، با مراجعه به کشتارگاه اقدام به شناسایی ۳۰ رأس گاو ماده کشتار شده (بیشتر از ۳ سال سن) طی فصول زمستان و تابستان (هر فصل ۱۵ رأس) شد. در ابتدا اقدام به خون‌گیری از ورید و داج و سپس شماره‌گذاری حیوانات و دنبال کردن لاشه‌ها در طول خط کشتار شد، تا امکان نمونه‌برداری از بافت روده فراهم آید. سن حیوانات بر اساس فرمول دندانی ثبت شد. همچنین، لاشه‌ها مورد بازرسی دقیق قرار گرفتند و نمونه‌برداری از دوازده به میزان ۵ سانتی‌متر صورت پذیرفت. نمونه‌های روده ابتدا با سرم فیزیولوژی شسته شدند و سپس بخشی از آن در نیتروژن مایع دمای ۱۹۶- درجه سانتی‌گراد وارد و پس از انتقال به آزمایشگاه در برودت منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بخش دیگر نمونه روده جهت بررسی هیستوپاتولوژی در فرمالین ۱۰ درصد غوطه‌ور و به آزمایشگاه منتقل و ۲۴ ساعت پس از نمونه‌برداری اقدام به تعویض فرمالین شد. برای جداسازی سرم از سانتریفیوژ با دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد و تا انجام آزمایش‌های بعدی در میکروتیوب و در برودت منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

دارد (۲). Tabecka-Lonczynska و همکاران در سال ۲۰۱۹ چنین بیان داشتند که این هورمون به شکل پاراکراین و یا اتوکرین، به القا اثرات فیزیولوژیک خود می‌پردازد (۳). پژوهش‌ها نشان داده است که IGF-1 و IGF-2 در سراسر روده بیان می‌شوند و به شکل عمده در میوفیبروبلاست‌ها و سلول‌های ماهیچه صاف ایفای نقش می‌کنند. به دلیل بیان گسترده گیرنده IGF-I در روده میزان پاسخ‌دهی به گردش سیستمی و تولید موضعی این هورمون، در حد بالا گزارش شده است. این هورمون احتمالاً عملکردی مشابه هورمون پپتید شبه گلوکاگون (GLP2) داشته و بسیاری از پارامترهای فیزیولوژیک دستگاه گوارش نظیر رشد، هضم، جذب، نفوذپذیری و جریان خون را تعدیل می‌نماید (۴). از سوی دیگر IGF-1 در استئوبلاست‌ها عملکرد شبه‌انسولینی دارد و سبب تحریک رشد، تمایز و تشکیل ماتریکس استخوانی می‌شود (۵). تاکنون نقش انواع فاکتورهای رشد، به‌ویژه فاکتور رشد تغییردهنده بتا ($TGF-\beta$)، فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF)، فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGF) و IGF-1 در تشکیل، بازجذب، معدنی شدن و بیماری‌های متابولیک استخوانی به‌خوبی آشکار شده است (۶). Li و همکاران در سال ۲۰۰۹، IGF-1 را یک عامل آنابولیک جهت تکثیر، تمایز، معدنی شدن و محتوای کلسیم استئوبلاست‌های گاو شیری دانستند و از آن به‌عنوان یک درمان بالقوه برای بیماری‌های متابولیک مرتبط با استخوان یاد کردند (۷). محققان معتقدند که استفاده از هورمون رشد در موش‌های فاقد تخمدان، از کاهش گیرنده‌های ویتامین D جلوگیری می‌کند. به عبارت دیگر، هورمون رشد با تنظیم میزان گیرنده‌های ویتامین D، حساسیت سلول‌ها را به ویتامین D فعال افزایش می‌دهد؛ بنابراین نقش احتمالی IGF-I، افزایش جذب کلسیم بدون واسطه ویتامین D است (۸). یکی از عوامل مهمی که در هموستاز کلسیم نقش دارد، سطح سرمی منیزیم است. در هیپومنیزمی تحت بالینی، غلظت پاراتورمون (PTH) و بازجذب استخوانی کلسیم کاهش می‌یابد و احتمال بروز هیپوکالسمی افزایش می‌یابد (۹). جذب روده‌ای کلسیم در

بالاتر از ۱/۸ بود جهت سنتز cDNA استفاده شدند. سنتز cDNA مطابق دستورالعمل موجود در کیت تک مرحله‌ای SYBER PrimeScript RT-PCR kit از شرکت سازنده Takara Bio Inc ساخت کشور ژاپن استفاده شد. در مرحله‌ی آخر این کیت، محلول در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ثانیه قرار گرفت تا آنزیم رونوشت برداری معکوس غیرفعال شود سپس تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پرایمرهای موردنظر با استفاده از نرم‌افزار Primer-Blast قابل‌دسترس در نشانی www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/ (blast/index.cgi?LINK_LOC = BlastHome) طراحی شد. جدول ۱ توالی پرایمرهای مورد استفاده را نشان می‌دهد. از ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی واکنش‌های qPCR استفاده شد.

جهت بررسی میزان نسخه‌برداری ژن، ابتدا استخراج RNA از نمونه‌ها با استفاده از محلول RNX plus (Sinaclon Bioscience، تهران، ایران) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. بدین منظور حدود 100 mg از بافت هموژنیزه شده دوازده در داخل میکروتیوب وارد شد و مقدار ۵۰۰ میکرولیتر محلول دناتوره‌کننده RNX PLUS به آن افزوده شد. سپس محلول کلروفرم به آن اضافه شد. پس از سانتریفیوژ کردن مخلوط، RNA در فاز آبی بالایی ته‌نشین شد. پس از رسوب با ایزوپروپانول، پلت RNA با اتانول ۷۵ درصد شستشو داده شد. نمونه‌های RNA در آب تیمار شده DEPC حل شدند. جهت حذف DNA باقیمانده، RNA توسط DNase (Sinaclon Bioscience، تهران، ایران) تیمار شد. سپس کمیت و کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از اسپکتروفتومتری نانودراپ با نسبت چگالی نوری انجام شد و نمونه‌هایی که نسبت جذب نوری ۲۶۰ به ۲۸۰

جدول ۱- جزئیات پرایمرهای طراحی شده برای ژن GAPDH و IGF-1

نام ژن	توالی پرایمرها	طول محصول (bp) PCR	شماره دسترسی
GAPDH	5'- CTGCCC GTTCGACAGATAGC-3' 5'- CGTTCACTCCGACCTTCACC-3'	۸۲	NM_001034034.2
IGF-1	5'- GGTATGGCTCGAGCAGTCG-3' 5'- GACTTGCGGGCTTGAGAG-3'	۱۱۸	X15726.1

در انتها سیکل آستانه مربوط به واکنش‌ها توسط نرم‌افزار LinReg PCR (LinReg PCR software version 2012.0, Amsterdam, Netherland) استخراج و ثبت گردید (۱۲). سپس با مقایسه سیکل آستانه ژن IGF-1 با ژن مرجع (GAPDH)، میزان بیان ژن موردنظر به صورت کمی از فرمول زیر $\text{fold change} = 2^{-\Delta\Delta\text{ct}}$ به دست آمد (۱۳). جهت ارزیابی هیستولوژیک روده در مرحله نخست، حدود ۳ سانتی‌متر از نمونه دوازدهه برداشت شده و با محلول بافر فسفات (pH= ۷) شستشو داده شد. پس از قراردادی

انجام آزمون Real time PCR در مرحله بعد به وسیله دستگاه (Rotor Gene Q 6000, Qiagen, USA)، با استفاده از کیت Syber-Green شرکت تاکارا ژاپن و به شکل سه بار تکرار برای هر نمونه انجام شد. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰ μL تهیه شد. پروتکل دمایی مورد استفاده ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، ۴۰ چرخه ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۴۰ ثانیه، ۶۴ درجه سانتی‌گراد برای ۳۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه بود.



در فصل زمستان معادل $3/82 \pm 0/53$ و بیشتر از فصل تابستان ($2/06 \pm 0/316$) است ($P=0/049$). به عبارت دیگر میزان رونویسی این ژن در فصل تابستان، ۴۶ درصد کمتر از فصل زمستان بود. در حقیقت میزان نسخه‌برداری از ژن IGF-I در فصل زمستان $1/82$ برابر فصل تابستان بود.

نتایج مربوط به سنجش روی سرم طی دو فصل زمستان و تابستان نیز در جدول شماره ۲ آورده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، میانگین سرمی این ریزمغذی در فصل زمستان معادل $52/8 \pm 75/18$ میلی گرم بر دسی لیتر و در تابستان معادل $66/33 \pm 11/69$ تعیین شد. در حقیقت طی فصل تابستان سطح سرمی روی به میزان $20/47$ درصد افزایش می‌یابد، اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P>0/05$).

سطح منیزیم سرم از دیگر فراسنجه‌های مورد بررسی در این تحقیق بود که بر اساس ارقام موجود در جدول شماره ۲ و آنالیز آماری، سطح سرمی منیزیم در دو فصل تابستان و زمستان دارای تفاوتی معنی‌دار و قابل توجه است. به طوری که میزان سرمی این ملح در تابستان با میانگین $2/53 \pm 0/06$ میلی گرم بر دسی لیتر بیشتر از مقدار آن در زمستان با میانگین $1/09 \pm 0/13$ میلی گرم بر دسی لیتر است ($P=0/011$).

باتوجه به نتایج مربوط به ارزیابی هیستوپاتولوژی و مطالعات آماری که در جدول شماره ۲ آورده شده است، اندازه پرزها در دو فصل تابستان و زمستان از تفاوت معنی‌داری برخوردار است. به این صورت که میانگین اندازه‌ی پرزها در فصل زمستان با $40 \pm 1/68$ میکرون بیشتر از فصل تابستان با $33/1 \pm 24/76$ میکرون بود. به بیان دیگر میانگین اندازه‌ی پرزها در فصل زمستان $1/2$ برابر فصل تابستان تعیین شد.

مقاطع دوازدهه در پارافین برش‌هایی با ضخامت $5/6$ میکرون تهیه شد. نمونه‌ها پس از رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین - اتوزین برای مطالعات کمی آماده شدند. برای بررسی‌های کیفی و کمی از میکروسکوپ نوری و نرم‌افزار Image tools بهره گرفته شد. پس از تهیه مقاطع بافتی، اندازه‌گیری ضخامت لایه ماهیچه‌ای و پرزها امکان‌پذیر شد. به منظور تعیین خصوصیات پرزهای دوازدهه، ده پرز به طور تصادفی انتخاب و طول آن از پایه تا نوک پرز اندازه‌گیری شد (14).

سنجش غلظت سرمی منیزیم با استفاده از کیت فتومتریک تجاری (شرکت پارس آزمون ایران) و سنجش میزان روی با استفاده از کیت Biorexfars و بر مبنای روش آنزیمی-کالریمتری اندازه‌گیری شد.

جهت بررسی آنالیز آماری داده‌ها ابتدا تفاوت بین گروه‌ها با آزمون t یا آزمون ویلکاکسون در زمانی که توزیع نرمال نبود ارزیابی شد. سپس داده‌های به دست آمده در برنامه‌ی آماری SigmaStat با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون‌های کمکی Kruskal Wallis و 'Dunnets' مابین دو فصل زمستان و تابستان مورد مقایسه و ارزیابی در سطح $P<0/05$ قرار گرفت. همچنین با بهره‌گیری از Pearson correlation ارتباط مابین فاکتورهای موردنظر (میزان نسخه‌برداری ژن IGF-1، اندازه پرز و کریپت و غلظت سرمی عناصر در هر فصل به طور جداگانه) تعیین شد.

نتایج

نتایج بررسی آنالیز واریانس یک‌طرفه و مقایسه داده‌های به دست آمده در فصول مختلف نشان داد که میزان نسخه‌برداری از ژن IGF-I در بافت دوازدهه و سطوح سرمی منیزیم و روی، دستخوش تغییراتی می‌شوند. همان‌گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، میزان نسخه‌برداری ژن IGF-I

جدول ۲- مقایسه میزان نسخه‌برداری ژن IGF-I، اندازه پرز و ویلی دوازدهه و غلظت روی و منیزیم گاوهای طی فصول زمستان و تابستان

فصل	میزان رونویسی	روی (mg/dL)	منیزیم (mg/dL)	اندازه کریپت (میکرون)	اندازه پرز (میکرون)	فراسنجه‌ها
زمستان	۳/۸۲±۰/۵۳	۵۲/۷۵±۸/۱۸	۱/۰۹±۰/۱۳	۱۹/۵۲±۲/۹۵	۴۰±۱/۶۸	
تابستان	۲/۰۶±۰/۳۱۶	۶۶/۱۱±۳۳/۶۹	۲/۵۳±۰/۰۶	۲۰/۶۶±۱/۲	۳۳/۲۴±۱/۷۶	
P value	۰/۰۴۹	-	۰/۰۱۱	-	۰/۰۴۳	

بحث

در تحقیق حاضر مشخص شد که میزان نسخه‌برداری از ژن IGF-I در بافت دوازدهه گاوهای کشتاری در فصل زمستان به طور معنی‌دار بیشتر از تابستان است. Dou و همکاران (۲۰۲۳) به ارزیابی تغییرات فصلی بیان ژن IGF-1 و گیرنده آن و بیان ژن klotho در بیضه و اپیدیدیم گاوهای کوهان‌دار پرداختند و چنین اظهار نمودند که بیان IGF-1 و IGF-IR، هر دو در بیضه و اپیدیدیم گاوهای کوهان‌دار به طور قابل توجهی در آغاز فصل تابستان (ماه ژوئن) بالاتر از فصل زمستان (ماه دسامبر) است و دلیل آن را شروع دوره تولیدمثلی، افزایش استروئیدوژنز، کاهش آپوپتوز در سلول‌های لیدیک و آماده‌سازی بیشتر سلول‌های بیضه و اپیدیدیم جهت اسپرماتوژنز دانستند. نویسندگان همچنین بیان کردند که عملکرد فصلی مشاهده شده در بیضه و اپیدیدیم احتمالاً به تغییرات IGF، klotho و همکاری متقابل آنها بستگی دارد (۳). در انسان و قبل از بلوغ با افزایش سطح سرمی تستوسترون پسران و در ظرف ۴ تا ۶ هفته میزان جذب کلسیم تا ۶۱ درصد افزایش می‌یابد و این مهم همراه با افزایش ۶۷ درصدی سطح سرمی IGF-1 است. این در حالی است که نقش مستقیم تستوسترون بر روده در جذب کلسیم توضیح داده نشده است و چنین به نظر می‌رسد که سطح سرمی متابولیت‌های ویتامین D به هنگام بلوغ تحت تأثیر نوسانات تستوسترون قرار نگیرد (۱۵).

Collier و همکاران در سال ۲۰۰۸ با تزریق سوماتوتروپین به گاوان شیرده متوجه شدند که علی‌رغم کاهش میزان دریافت ماده خشک و وقوع بالانس منفی انرژی، سطح IGF-1 سرم و تولید شیر طی فصل تابستان افزایش می‌یابد؛ اما تغییری در سطح IGF-II رخ نمی‌دهد؛

بنابراین محور سوماتوتروپین IGF-1 در این بین نقش ایفا می‌نماید (۱۶). گیرنده IGF-1 پروتئینی است که بر سطح بسیاری از سلول‌ها یافت شده و توسط هورمون‌هایی نظیر انسولین و هورمون رشد شبه‌انسولینی I و II تحریک می‌شود. چنین بیان شده است که غلظت‌های مختلف IGF-1 اثرات متفاوتی بر مخاط روده دارد و سطوح بهینه IGF-1 ضمن تسهیل تغذیه روده، آپوپتوز سلول‌های اپیتلیال را کاهش داده و تکثیر آن‌ها را افزایش می‌دهد (۱۷). تزریق IGF-1 منجر به افزایش استفاده از مواد مغذی و عملکرد بهتر ایمنی در معده آبزیان می‌شود (۱۱). در همین راستا نتایج تحقیق حاضر نشان داد که رشد پرزهای روده در فصل زمستان هم‌زمان با افزایش میزان بیان ژن IGF-1 صورت گرفته است. پیش‌از این محققین به تغییرات رشد پرزها و ویلی‌ها و رابطه آن با رژیم غذایی و به تبعیت آن فلور روده اشاره نموده‌اند. Wright در سال ۱۹۸۴ چنین بیان می‌دارد که رشد و توسعه کریپت‌ها و پرزهای روده شدیداً به میکرو فلور موجود وابسته است و با تغییرات رژیم غذایی و به دنبال آن فلور روده، ابتدا پرزها و سپس کریپت‌های سلول‌های سطحی لومن روده توسعه پیدا می‌کنند. به محض آنکه نوزاد تازه‌متولد شده در معرض رژیم غذایی و به دنبال آن میکرو فلور مخصوص قرار گیرد، پرزهای روده متناسب با این تغییرات شروع به شکل‌گیری می‌کنند و هم‌زمان فرم‌گیری لبه‌ها و پهنای آن‌ها رخ می‌دهد. طی دوران رشد و متعاقب دریافت رژیم غذایی متعادل، این تغییرات همچنان ادامه می‌یابد تا پرز ساختار انگشت‌مانندی پیدا کند. به عبارت دیگر از این زمان به بعد تغییرات ساختاری چشمگیری در پرزها رخ نخواهد داد (۱۸). Nishihara و همکاران در سال ۲۰۱۹ کاهش بیان پروتئین‌های متصل‌شونده به IGF (IGFBPs) را سبب



از جذب منیزیم برشمرده (۲۱). ورود حیوانات به چراگاه با افزایش فعالیت همراه است که منجر به صرف مقادیر قابل توجهی انرژی و دریافت مقادیر بیشتری پتاسیم و نیتروژن از مرتع شده و شرایط را برای شکل‌گیری هیپومینیمی فراهم می‌نماید (۲۲). در مناطق سرد و خشک (همچون شهرکرد) اغلب تغذیه به روش دستی است و چرای آزاد در دستور کار دامپروران منطقه قرار ندارد، از این رو توجهات مطالعه مذکور چندان قابل بسط به سایر مناطق نیست (۲۱) چراکه در منطقه شهرکرد و طی فصول سرد، شاهد بروز موارد درمانگاهی و تحت درمانگاهی کمبود منیزیم در گاوان هولشتاین هستیم و دلیل آن را می‌توان در تغییرات ناگهانی آب و هوا (برودت، وزش باد، باران شدید و طوفان)، کمبود اولیه منیزیم در خاک و گیاه منطقه، حضور مقادیر قابل توجهی پتاسیم و نیتروژن در جیره غذایی (غلات سبز)، وارد شدن هرگونه استرس به حیوان (حمل و نقل، تغییرات آب‌وهوایی و...)، پایین بودن سطح انرژی جیره، قرارگرفتن طولانی مدت حیوان در محیط بسته و دوری از تابش نور مستقیم خورشید جستجو نمود. تنوع ژنتیکی موجود در بین نژادهای مختلف و تفاوت در میزان منیزیم دفعی در شیر نیز دلیلی بر تفاوت سطح سرمی منیزیم است. نکته مهم آنکه در حضور هیپومینیمی از غلظت پاراتورمون کاسته می‌شود و لذا بافت‌ها به این هورمون پاسخ مناسب را نخواهند داد و گاو به کمبود کلسیم و تب شیر حساس خواهد شد (۲۲).

یافته‌های تحقیق حاضر نشان‌دهنده وجود همبستگی مثبت میان میزان رونویسی ژن IGF-1 و نرخ رشد پرزهای روده بود ($P=0.0341$ و $r=+0.852$). در نتیجه، تغییر فصلی در میزان رونویسی ژن IGF-1 برای اولین بار گزارش شد و وجود هیپومینیمی در زمستان را می‌توان به عنوان یک عامل خطر برای مستعد ساختن گاو به هیپوکلسمی تحت بالینی و بالینی در نظر گرفته شود.

قدردانی و تشکر

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از مساعدت‌های مالی دانشگاه شهرکرد تقدیر و تشکر نمایند.

افزایش فعالیت IGF در سلول‌های اپی‌تلیال شکمبه و افزایش رشد پاپیلای شکمبه در گوساله‌های از شیر گرفته، می‌دانند. این پروتئین‌ها به شکل معمول فعالیت IGF را مهار می‌کنند (۱۹). Dubé و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که هورمون GLP-2 یا (Glucagon-like peptide-2)، بیان و ترشح IGF-1 در روده را افزایش می‌دهد و متقابلاً IGF-1 جهت پاسخ‌دهی بهتر روده کوچک و بزرگ نیاز به GLP-2 دارد؛ بنابراین نقش IGF-1 به عنوان یک واسطه ضروری جهت عملکرد GLP-2 در روده گزارش شده است؛ لذا GLP-2 سبب افزایش طول محور کریپت-پرزا و افزایش تکثیر سلولی در کریپت‌ها می‌شود (۴).

Dou و همکاران (۲۰۲۳) تنظیم ترشح هورمون IGF را تحت تأثیر تفاوت‌های گونه‌ای، بافتی و تأثیرات محیطی (استرس، دوره نوری، دما و وضعیت تغذیه) می‌دانند (۱۱). Wathes و همکاران در سال ۲۰۲۱ چنین اظهار داشتند که غلظت خونی IGF-1 منعکس‌کننده دریافت مواد مغذی توسط گاوهای شیری است و همبستگی مثبتی با تعادل انرژی و پروتئین دارد. اصولاً تغییرات تغذیه و جیره‌ای در گاوها در بازه زمانی طولانی صورت می‌گیرد، بنابراین غلظت IGF-1 در خون نسبتاً ثابت باقیمانده و به عنوان نشانگر متابولیک قابل اطمینان تری نسبت به اسیدهای چرب غیراستریفیه (NEFA)، بتا هیدروکسی بوتیرات (BHB) و گلوکز شناخته می‌شود، چراکه غلظت آن‌ها باتوجه به زمان و تغییر جیره غذایی متغیر است (۲۰).

نتایج پژوهش حاضر حکایت از آن دارد که سطح منیزیم سرم در فصل زمستان کمتر از فصل تابستان است؛ اما تفاوت سطوح سرمی روی در دو فصل معنی‌دار نبود. ارزیابی غلظت سرمی منیزیم گاوهای بومی منطقه آذربایجان ایران (۲۱) نشان داد که سطح منیزیم سرم گاوان نر از ۱/۵۹ میلی گرم بر دسی لیتر فراتر نمی‌رود و این در حالی است که سطح سرمی آن را در بهار و تابستان کمتر از پاییز و زمستان گزارش نمودند. علت چنین رفتاری از منیزیم را می‌توان در تغذیه مناسب طی فصول پاییز و زمستان دانست و چرای حیوانات بر مزارع سرسبز به هنگام بهار و تابستان را دلیلی برای کمبود منیزیم در جیره و یا فراهم شدن شرایط برای مداخله عوامل ثانویه در جلوگیری

8. Krabbe S, Hummer L, Christiansen C. Serum levels of vitamin D metabolites and testosterone in male puberty. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1986;62(3):503-7.
9. Li SH, Guo DZ, Li B, Yin HB, Li JK, Xiang JM, et al. The stimulatory effect of insulin-like growth factor-1 on the proliferation, differentiation, and mineralization of osteoblastic cells from Holstein cattle. *The Veterinary Journal*. 2009;179(3):430-6.
10. Ndandala CB, Zhou Q, Li Z, Guo Y, Li G, Chen H. Identification of Insulin-like Growth Factor (IGF) Family Genes in the Golden Pompano, *Trachinotus ovatus*: Molecular Cloning, Characterization and Gene Expression. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(5):2499.
11. Nishihara K, Suzuki Y, Kim D, Roh S. Growth of rumen papillae in weaned calves is associated with lower expression of insulin-like growth factor-binding proteins 2, 3, and 6. *Animal Science Journal*. 2019;90(9):1287-92.
12. Qiu T, Crane JL, Xie L, Xian L, Xie H, Cao X. IGF-I induced phosphorylation of PTH receptor enhances osteoblast to osteocyte transition. *Bone research*. 2018;6(1):5.
13. Ruijter J, Ramakers C, Hoogaars W, Karlen Y, Bakker O, Van den Hoff M, et al. Amplification efficiency: linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Research*. 2009;37(6):e45-e.
14. Sakamoto K, Hirose H, Onizuka A, Hayashi M, Futamura N, Kawamura Y, et al. Quantitative study of changes in intestinal morphology and mucus gel on total parenteral nutrition in rats. *Journal of Surgical Research*. 2000;94(2):99-106.
15. Tabecka-Lonczynska A, Mytych J, Solek P, Kowalewski MP, Koziorowski

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافی ندارند.

منابع

1. Collier RJ, Miller MA, McLaughlin CL, Johnson HD, Baile CA. Effects of recombinant bovine somatotropin (rbST) and season on plasma and milk insulin-like growth factors I (IGF-I) and II (IGF-II) in lactating dairy cows. *Domestic Animal Endocrinology*. 2008 Jul 1;35(1):16-23.
2. Dorak M. Real Time PCR Taylor & Francis. Oxford: UK [https://doi.org/10.2006/4324\(97802\):03967](https://doi.org/10.2006/4324(97802):03967).
3. Dou M, Azad MAK, Cheng Y, Ding S, Liu Y, Song B, et al. Expressions of Insulin-like Growth Factor System among Different Breeds Impact Piglets' Growth during Weaning. *Animals*. 2023;13(19):3011.
4. Dubé PE, Forse CL, Bahrami J, Brubaker PL. The essential role of insulin-like growth factor-1 in the intestinal tropic effects of glucagon-like peptide-2 in mice. *Gastroenterology*. 2006;131(2):589-605.
5. Fatayerji D, Mawer E, Eastell R. The role of insulin-like growth factor I in age-related changes in calcium homeostasis in men. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2000;85(12):4657-62.
6. Guo J, Xie J, Zhou B, Găman M-A, Kord-Varkaneh H, Clark CC, et al. The influence of zinc supplementation on IGF-1 levels in humans: A systematic review and meta-analysis. *Journal of King Saud University-Science*. 2020;32(3):1824-30.
7. Kojouri GA. *Metabolic Diseases in Large Animals*. 1st edition, Shahrekord University Publication, Shahrekord, Iran. 2017. [In Persian]



Growth in Female Rats. The Journal of nutrition. 2011;141(11):2010-6.

- M. Seasonal expression of insulin-like growth factor 1 (IGF-1), its receptor IGF-1R and klotho in testis and epididymis of the European bison (*Bison bonasus*, Linnaeus 1758). *Theriogenology*. 2019; 126: 199-205.
16. Valilou M, editor Seasonal investigation of serum magnesium concentration in native cattle at Western Azerbaijan Province, Iran. *International Seminar on Tropical Animal Production (ISTAP)*.
 17. Wang W, Sun X, Wang A, Lu Y, Han Y, Zhao J, Liu F, Tian Z. Expression and pathogenesis of insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding protein 3 in a mouse model of ulcerative colitis. *Heliyon*. 2024;10(15).
 18. Wathes DC, Becker F, Buggiotti L, Crowe MA, Ferris C, Foldager L, Grelet C, Hostens M, Ingvarsen KL, Marchitelli C, Salavati M. Associations between circulating IGF-1 concentrations, disease status and the leukocyte transcriptome in early lactation dairy cows. *Ruminants*. 2021;1(2):147-77.
 19. Wright NA, Alison M. The biology of epithelial cell populations. Clarendon Press, Oxford University Press. 1984.
 20. Wu M, Chen G, Li Y-P. TGF- β and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease. *Bone research*. 2016;4(1):1-21.
 21. Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M, Yano S, Sugimoto T. Acute-onset hypomagnesemia-induced hypocalcemia caused by the refractoriness of bones and renal tubules to parathyroid hormone. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 2011; 29:752-5.
 22. Zhang Q, Wastney ME, Rosen CJ, Beamer WG, Weaver CM. Calcium Accumulation Only during Rapid



Seasonal comparison of histomorphology and intestinal IGF-1 gene transcription rate changes in Shahrekord dairy cows

Gholamali Kojouri^{1*}; Mohammad Shadkhast²; Hosein Hasanpour²;
Behnaz Karimi Babaahmadi²; Zeinab Fathi Hafshejani³

1. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.
2. Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.
3. DVM Graduated, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.

Received: 12 May 2026

Accepted: 29 July 2026

Summary

Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and growth hormone (GH), exerts stimulatory effects on cartilage and bone proliferation; however, limited information exists regarding the role of IGF-1 in small intestinal villus growth during cold and warm seasons. Accordingly, the present study was conducted on slaughtered dairy cows to determine the seasonal variations of serum zinc and magnesium levels, IGF-1 gene transcription rate and seasonal variations in small intestine crypt and villus size. To these reasons, blood and intestinal (duodenal) tissue samples were collected from 30 slaughtered cattle (aged over three years) during the winter and summer seasons. Serum zinc and magnesium concentrations were measured using commercial kits, and RT-PCR was employed to determine the intestinal IGF-1 gene transcription rate. Histomorphometric measurements were also evaluated using Image Tools III software. The results indicated that the IGF-1 gene transcription rate and villus size in winter were 1.82 and 1.2 times those observed in summer, respectively ($P < 0.05$). Conversely, magnesium concentration was significantly higher in summer than in winter ($P < 0.05$), whereas no statistically significant difference was observed in serum zinc levels ($P > 0.05$). These findings indicated a positive correlation between intestinal IGF-1 gene transcription rate and the growth rate of intestinal villi. Consequently, seasonal variation in intestinal IGF-1 gene transcription rate has been reported here for the first time. Furthermore, the occurrence of hypomagnesemia in winter should be considered a risk factor predisposing cattle to subclinical and clinical hypocalcemia.

Keywords: Cattle, Intestine, IGF-1, Histomorphology, Magnesium

* Corresponding Author drgholam_alikojouri@yahoo.com ; kojouri@sku.ac.ir

