

(OPEN ACCESS)

Investigation of the effects of recombinant human growth hormone on growth indices, expression of GHR and IGF1 genes, and intestinal pathology in rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*)

Hamidreza Ahmadniae Motlagh^{*1}, Salime Asadi², Ali Javadmanesh³,
Soodeh Alidadi⁴, Erfan Parsa⁵

1. Corresponding Author, Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Environment, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail: ahmadnia@um.ac.ir
2. Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail: salimeasadi0@gmail.com
3. Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Environment, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran and Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail: javadmanesh@um.ac.ir
4. Dept. of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail: salidadi@um.ac.ir
5. Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Environment, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail: erfan.parsa@mail.um.ac.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Full Length Research Paper	Background and Objectives: Studies on the oral application of growth hormone can enhance fish growth and aquaculture development by improving feed efficiency. This study was designed to investigate the effects of different levels of human growth hormone on growth indices, the expression of two genes (GHR and IGF1), and intestinal pathology in rainbow trout fry (75 fish with an initial weight of 1.469 ± 0.251 grams).
Article history: Received: 08.22.2024 Revised: 09.27.2024 Accepted: 10.13.2024	Materials and Methods: The experiment was conducted over 30 days using a completely randomized design with 3 treatments and 2 replicates. The experimental treatments included a control group (without hormone), fish fed a diet containing 0.2 mg of growth hormone per gram of feed, and fish fed a diet containing 0.4 mg of growth hormone per gram of feed.
Keywords: Gene expression, Insulin-like growth factor, Salmon, Somatotropin	Results: The results indicated that human growth hormone significantly increased body weight, specific growth rate, and liver index ($P < 0.05$), while the feed conversion ratio in the control group was significantly higher than in the groups receiving 0.2 and 0.4 mg of growth hormone ($P < 0.05$). Additionally, hormone consumption did not have a significant effect on the expression of the GHR and IGF1 genes. Histopathological examinations of the intestines of rainbow trout fry showed a normal intestinal condition in the control group, with mild infiltration of inflammatory cells in the subepithelial layer of the intestinal tissue in the hormone-treated groups.
	Conclusion: Therefore, based on the data obtained from this research, it seems that the use of human growth hormone in the diet of rainbow trout fry not only improves growth indices and stimulates intestinal immunity but also does not cause damage to the intestinal tissue.

Cite this article: Ahmadniae Motlagh, Hamidreza, Asadi, Salime, Javadmanesh, Ali, Alidadi, Soodeh, Parsa, Erfan. 2025. Investigation of the effects of recombinant human growth hormone on growth indices, expression of GHR and IGF1 genes, and intestinal pathology in rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 14 (3), 41-53.



بررسی اثرات هورمون رشد نوترکیب انسانی بر شاخص‌های رشد، بیان ژن‌های GHR و IGF1 و آسیب‌شناسی روده در بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

حمیدرضا احمدنیای مطلق^{۱*}، سلیمه اسدی^۲، علی جوادمنش^۳، سوده علیدادی^۴، عرفان پارسا^۵

۱. نویسنده مسئول، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: ahmadnia@um.ac.ir
۲. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: salimeasadi0@gmail.com
۳. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران و گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: javadmanesh@um.ac.ir
۴. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: salidadi@um.ac.ir
۵. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: erfan.parsa@mail.um.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله:	سابقه و هدف: مطالعات روی کاربرد خوراکی هورمون رشد می‌تواند رشد ماهی و توسعه
مقاله کامل علمی- پژوهشی	آبزی‌پروری را از طریق بهبود کارایی خوراک به همراه داشته باشد. این پژوهش با هدف بررسی
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۰۱	تأثیر سطوح مختلف هورمون رشد انسانی بر شاخص‌های رشد، بیان دو ژن GHR و IGF1 و
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۶	آسیب‌شناسی روده در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (۷۵ قطعه ماهی با وزن اولیه $1/469 \pm 0/251$
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۲	گرم) طراحی شد.
واژه‌های کلیدی:	مواد و روش‌ها: این مطالعه به مدت ۳۰ روز در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۲
بیان ژن، سوماتوتروپین، فاکتور رشد شبه انسولین، ماهی قزل‌آلا	تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد (فاقد هورمون)، ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۲ میلی‌گرم هورمون رشد به‌ازای یک گرم خوراک و ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۴ میلی‌گرم هورمون رشد به‌ازای یک گرم جیره بودند.
	یافته‌ها: نتایج نشان داد که هورمون رشد انسانی به‌طور معنی‌داری وزن نهایی، ضریب رشد ویژه و شاخص کبدی را افزایش داد ($P < 0/05$)، در حالی‌که ضریب تبدیل غذایی در گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه‌های حاوی ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم هورمون رشد بود ($P < 0/05$)؛ هم‌چنین، مصرف هورمون تأثیر معناداری بر بیان ژن‌های GHR و IGF1 نداشت. بررسی‌های آسیب‌شناسی روده بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان‌دهنده وضعیت طبیعی روده در گروه

شاهد بود و نفوذ خفیف سلول‌های التهابی در لایه زیر اپیتلیال بافت روده در گروه‌های دریافت‌کننده هورمون رشد تأیید شد.

نتیجه‌گیری: بنابراین، براساس داده‌های به‌دست‌آمده از این پژوهش، به‌نظر می‌رسد که استفاده از هورمون رشد انسانی در جیره بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان نه تنها به بهبود شاخص‌های رشد و تحریک ایمنی روده کمک می‌کند، بلکه آسیبی به بافت روده نخواهد رساند.

استناد: احمدنای مطلق، حمیدرضا، اسدی، سلیمه، جوادمنش، علی، علیدادی، سوده، پارسا، عرفان (۱۴۰۴). بررسی اثرات هورمون رشد نوترکیب انسانی بر شاخص‌های رشد، بیان ژن‌های GHR و IGF1 و آسیب‌شناسی روده در بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۴ (۳)، ۴۱-۵۳.

Doi: 10.22069/japu.2024.22744.1898



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه آبرزی پروری در راستای تأمین بخشی از نیاز غذایی انسان و به عنوان یک منبع پروتئین جانوری با کیفیت از اهمیت به‌سزایی برخوردار است (۱). ماهی‌ها با سایر منابع غذایی حیوانی کاملاً متفاوت هستند. گوشت ماهی منبع غنی از پروتئین‌هایی با کیفیت بالا، ویتامین‌های محلول در چربی و اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند مضاعف است (۲)، همچنین پروتئین‌های موجود در آن، به دلیل داشتن تمامی اسیدهای آمینه ضروری در مقادیر بالا منبع غذایی مفیدی برای انسان محسوب می‌گردند (۳).

رشد ماهی یک عملکرد پیچیده است که عمدتاً توسط سیستم IGF/GH تنظیم می‌شود (۴، ۵). هورمون رشد یا سوماتوتروپین (GH) نقش مهمی در رشد، متابولیسم، تولیدمثل، عملکرد ایمنی، تنظیم اسمزی و سایر عملکردهای فیزیولوژیک ماهی و سایر مهره‌داران (۶) ایفا می‌کند. محور هورمون رشد-فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (GH-IGF1) نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو جنینی و پس از تولد دارند که به‌طور عمده شامل دو هورمون GH و IGF1 و سه گیرنده هورمون رشد (GHR)، گیرنده IGF1 و گیرنده‌های انسولین (IR) می‌باشد (۷). پپتیدهای IGF1 و IGF2 دارای اثرات تقویت‌کننده رشد قوی در غدد درون‌ریز و پاراکرین/اتوکرین در طیف گسترده‌ای از بافت‌ها در هنگام قبل و بعد از تولد هستند و در طول رشد دچار تغییرات واضح در بیان می‌شوند. به‌طور مداوم، ژن‌های IGF1 و IGF2 به عنوان جایگاه‌های کمی برای رشد و نمو در گونه‌های مختلف جانوری شناسایی شده‌اند (۸).

هورمون رشد در مهره‌داران از سلول‌های سوماتوتروف غده هیپوفیز ترشح می‌شود. در ماهی‌ها این سلول‌ها عمدتاً در هیپوفیز قدامی واقع شده‌اند. این هورمون در ماهیان با وزن مولکولی تقریبی ۲۱ تا ۲۳ کیلو دالتون و متشکل از تقریباً ۲۰۰ اسیدآمینه بوده

(۹) و تنوع زیادی در اندازه نسبت به دیگر مهره‌داران نشان می‌دهد (۱۰). هورمون رشد دارای یک عملکرد فیزیولوژیک پلی‌تروپیک اندوکرینی است که به‌طور مستقیم توسط افزایش ساخت DNA و پروتئین و تجزیه و تحلیل چربی در ماهیچه و به‌طور غیرمستقیم توسط وادار کردن کبد و بافت‌های پیرامونش به تولید و ترشح فاکتور رشد شبه انسولین اثرات خود را در بدن موجودات القا می‌کند (۱۱). این هورمون در تنظیم فرآیندهای متعدد و پیچیده فیزیولوژیک چون تسریع رشد سوماتیک، دگردیسی و تکوین، تنظیم متابولیسم چربی‌ها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها، رشد و نمو گنادی، تنظیم اسمزی، کارکردهای سیستم ایمنی، تولیدمثل، اشتها، رفتارهای اجتماعی، شکار، حمله و فرار از شکارچی مشارکت دارد (۱۲). در مطالعه مشابهی که در آن به بررسی حمام کوتاه‌مدن هورمون رشد بر رشد و ایمنی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداخته شده بود، پژوهش‌گران دریافتند استفاده از این هورمون به میزان ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر تأثیر مثبتی بر عملکرد رشد و ارتقای ایمنی این ماهی گذاشت (۱۳). در یک بررسی که هورمون رشد نوترکیب سگ‌ماهی آزاد (*Chum Salmon*) بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) صورت گرفت، نشان داد که ماهیان تیمار شده با هورمون، دارای افزایش طول و وزن بیش‌تری نسبت به گروه شاهد (۱۴). نتایج مطالعه دیگری که تأثیر خوراکی هورمون رشد نوترکیب مار ماهی و ماهی سالمون بر روی ماهی سیم قرمز (*Red Sea Bream*) مورد بررسی قرار داد نشان داد که این هورمون، رشد ماهی را تحریک می‌کند (۱۵). با توجه به این‌که رشد به عنوان یک فاکتور مهم و آشکار در ماهیان پرورشی همواره مورد بحث پژوهش‌گران قرار گرفته است؛ هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر سطوح مختلف هورمون رشد بر شاخص‌های رشد، مورفولوژی روده و بیان دو ژن تأثیرگذار بر رشد (GHR و IGF1) در

بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست دانشگاه فردوسی مشهد، با رعایت استاندارد و اصول اخلاقی رفتار با حیوانات آزمایشی صورت پذیرفت. برای این منظور، تعداد ۱۸۰ قطعه بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (با وزن $1/469 \pm 0/251$) به صورت کاملاً تصادفی در ۳ تیمار با ۲ تکرار توزیع شدند و به مدت ۳۰ روز مورد آزمایش قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار شاهد (جیره فاقد هورمون)، تیمار ۱ (جیره حاوی ۰/۲ میلی‌گرم هورمون رشد به‌ازای یک گرم خوراک) و تیمار ۲ (جیره حاوی ۰/۴ میلی‌گرم هورمون رشد به‌ازای یک گرم خوراک) بودند (۱۵). غذادهی به‌میزان ۲ درصد وزن بدن

صورت پذیرفت. به‌منظور ترکیب هورمون با خوراک از روش اسپری کردن استفاده گردید، به این صورت که به‌ازای هر گرم خوراک مقدار تعیین شده هورمون در آب مقطر حل شده و در حجم معینی به سطح خوراک اسپری شد؛ و پس از خشک شدن خوراک، محلول ژلاتین ۸ درصد جهت جلوگیری از هدررفت هورمون در آب به روی غذا اسپری شد (۱۶). شرایط محیط آزمایش شامل دمای آب، pH، سختی، دوره روشنایی، شوری براساس استانداردهای لازم جهت پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تنظیم شد. هورمون مورد استفاده، هورمون رشد انسانی (Somatropin, HHT4) محصول شرکت همافارم بود که در ویال‌های ۶ میلی‌گرمی تهیه شد. در جدول ۱ آنالیز خوراک و اجزای تشکیل‌دهنده آن گزارش شده است.

جدول ۱- درصد اجزای تشکیل‌دهنده و آنالیز شیمیایی جیره غذایی.

Table 1. Percentage of Components and Chemical Analysis of the Diet.

مقدار (درصد)	اجزا تشکیل‌دهنده
30	پودر ماهی Fish meal
13	پودر گوشت Meat meal
6	گلوتن گندم Wheat gluten
14	آرد گندم Wheat flour
14	آرد ذرت Corn flour
15	کنجاله سویا Soybean meal
2	روغن ماهی Fish oil
2	روغن سویا Soybean oil
0.5	ویتامین C Vitamin C
1.5	پرمیکس ویتامینه ^۱ Vitamin premix
1.5	پرمیکس معدنی ^۲ Mineral premix
0.5	نمک Salt

ادامه جدول ۱-

Continue Table 1.

ترکیبات شیمیایی (درصد)

Chemical compositions (percentage)

42.9	پروتئین خام Crude protein
12.38	چربی خام Crude fat
1	فیبر خام Crude fiber
37.76	عصاره عاری از ازل Nitrogen free extract
5.96	خاکستر Ash
94.04	مواد آلی Organic matter

۱. پرمیکس ویتامینه حاوی (mg/Kg) ویتامین E، ۳۰؛ پتاسیم، ۳؛ ریوفلاوین، ۷؛ پیریدوکسین، ۳؛ اسید پانتوتیک، ۱۸؛ نیاسین، ۴۰؛ فولاسین، ۱/۵؛ کولین، ۶۰۰؛ بیوتین، ۰/۷ و سیانوکوبالامین، ۲/۰۲
۲. پرمیکس معدنی حاوی (mg/Kg) منیزیم، ۱۰۰؛ روی، ۶۰؛ آهن، ۴۰؛ مس، ۵؛ کبالت، ۰/۱؛ ید، ۰/۱؛ آنتی‌اکسیدان، ۰/۱

برای استخراج RNA کامل از بافت کبد قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده شد. برای تعیین خلوص و کیفیت RNA استخراج شده از دستگاه میکروپلیت ریدر (Biotec, Epoch, USA) استفاده شد. DNA ژنومی با استفاده از آنزیم DNase I Thermo (DNase I Thermo, USA, Fisher Scientific) حذف شد.

به منظور ساخت cDNA، از دو میکروگرم RNA استفاده شد و فرایند ساخت مطابق با طبق دستورالعمل کیت ساخت cDNA (Esay cDNA Synthesis Kit, پارس توس، ایران) صورت گرفت. بیان دو ژن مرجع GAPDH و EF1α و دو ژن هدف GHR و IGF1 با استفاده از ریل تایم پی‌سی‌آر (quantitative real-time PCR) (BioRad-CFX96, Switzerland) انجام شد. میزان حجم واکنش ۲۰ میکرولیتر بود و به ازای هر نمونه دو تکرار در نظر گرفته شد. برای این منظور از مستر میکس حاوی سایبر گرین (شرکت یکتا تجهیز آزما، ایران) استفاده شد. لیست آغازگرهای مورد استفاده به همراه دمای اتصال در جدول ۲ آورده

جهت پایش اثر هورمون رشد انسانی بر رشد بچه‌ماهیان، زیست‌سنجی پس از اتمام دوره غذادهی با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم و خط‌کش با دقت ۰/۱ سانتی‌متر انجام شد. شاخص‌های مورد بررسی شامل وزن ابتدایی، وزن نهایی و میزان افزایش وزن بودند. ماهیان ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذادهی نشدند. از هر تکرار ۱۳ قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از پودر گل میخک (بیست میلی‌گرم در لیتر) بی‌هوش شده و وزن‌گیری صورت پذیرفت.

شاخص کبدی با تقسیم وزن کبد بر وزن کل بدن و ضرب در ۱۰۰ تعیین شد (۱۷). جهت استخراج RNA از بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، قسمتی از بافت کبد برش داده شد و در میکروتیوب حاوی ماده تثبیت‌کننده RNA با نام تجاری RNAsShield (شرکت دنا زیست آسیا)، ایران منتقل شده و تا زمان استخراج در فریزر -۸۰ نگه‌داری شد. از کیت استخراج RNA (Total RNA Extraction Kit، پارس توس، ایران)

شده است. برنامه تکثیر شامل ۴۵ چرخه شامل واسرشت سازی اولیه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد، واسرشت سازی در دمای ۹۴ به مدت ۳۰ ثانیه، زمان اتصال ۲۰ ثانیه و مرحله تکثیر در دمای ۷۲ درجه در ۲۵ ثانیه بود. اختصاصی بودن واکنش نیز با استفاده از آنالیز منحنی ذوب توسط نرم افزار و نیز الکتروفورز ژل آگارز ارزیابی شد (۱۸).

جدول ۲- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در بررسی بیان ژنهای IGF1 و GHR

Table 2. Sequence of primers used in the analysis of GHR and IGF1 gene expression.

نام ژن Gene symbol	جهت Direction	توالی (۵'→۳') Sequence (3'→5')	دمای اتصال Annealing temp (°C)	طول قطعه (bp) Product size (bp)	آدرس بانک ژنی GenBank Accession No
IGF1	رفت Forward	GGTACAGGAGACACAGCACA	59	67	XM_021577178.2
	برگشت Reverse	CGGTCATTCTTCCAGTGGC			
GHR	رفت Forward	TGGGAAGATGAGTGCCAGACT	60	73	XM_021601256.2
	برگشت Reverse	CACAAGACTACTGTCCTCTGTTGG			
EF1	رفت Forward	ACCCGAGGGACCTGTG	59	159	NM_001124339.1
	برگشت Reverse	TCCTCTGGTCGTTTCGCTG			
GAPDH	رفت Forward	TTGTAAAGCCCCTGTTCTGG	60	89	XM_021623341.2
	برگشت Reverse	GAAGCAGGTTTCAGTGCAACA			

نتایج

نتایج حاصل از بررسی اثر استفاده از هورمون رشد انسانی بر شاخص های رشد بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان در جدول ۳ گزارش شده است. نتایج نشان داد وزن نهایی، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و شاخص کبدی به طور معنی داری در تیمارهای حاوی هورمون رشد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت اما ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد به طور معنی داری بیش تر از تیمارهای حاوی ۰/۲ و ۰/۴ درصد هورمون رشد بود ($P < 0/05$). افزودن هورمون رشد به جیره تأثیر معنی داری بر بیان ژنهای GHR و IGF1 در بافت کبد نداشت ($P > 0/05$) (شکل ۱).

به منظور بررسی هیستوپاتولوژی روده بچه ماهیان، نمونه های بافتی در فرمالین ده درصد بافر خنثی تثبیت و در پارافین قالب گیری شدند. سپس، مقاطع بافتی با ضخامت ۵ میکرومتر برش زده شد و با هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ آمیزی شدند. مقاطع تهیه شده از نظر ضایعات هیستوپاتولوژیک از جمله پرخونی، خونریزی و التهاب در روده مورد بررسی قرار گرفتند (۱۸).

برای آنالیز داده ها، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده و مقایسه میانگین ها با بهره گیری از آزمون توکی در سطح اطمینان ۵ درصد استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده ها با نرم افزار SAS نسخه ۹٫۴ (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) انجام شد.

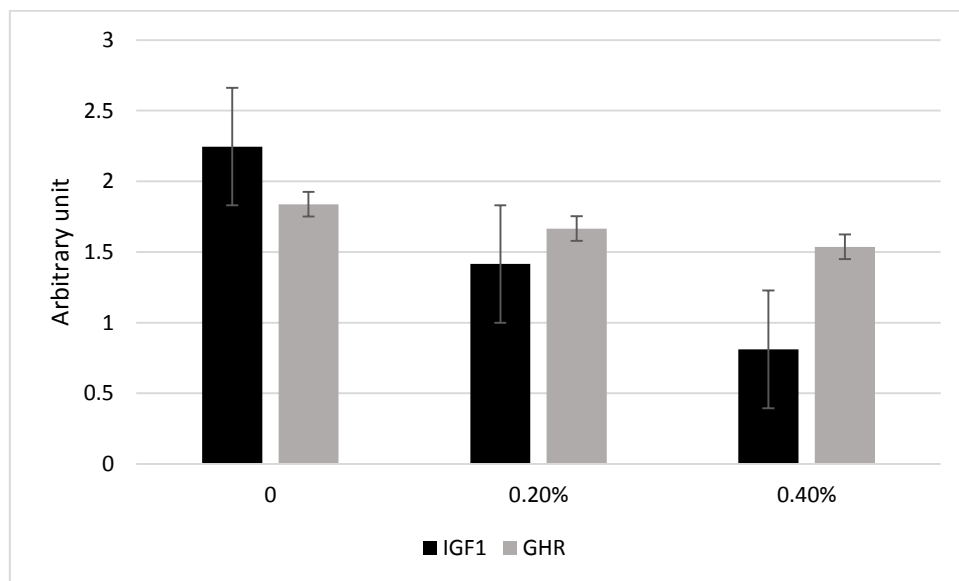
جدول ۳- تأثیر هورمون رشد بر شاخص‌های رشد و بیان دو ژن GHR و IGF1 در بافت کبد بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان.

Table 3. Effect of growth hormone on growth indices and expression of GHR and IGF1 genes in the liver tissue of rainbow trout juveniles.

SEM	P value	۰/۴ درصد 0.4%	۰/۲ درصد 0.2%	۰ درصد 0%	شاخص‌ها
0.141	0.365	1.882	1.710	1.788	وزن اولیه Initial weight (g)
0.105	0.001	4.546 ^b	4.060 ^b	3.488 ^a	وزن نهایی Final weight (g)
0.291	0.008	2.638 ^b	2.349 ^b	1.700 ^a	افزایش وزن Weight gain (g)
0.003	0.023	0.038 ^b	0.0037 ^b	0.045 ^a	ضریب تبدیل غذایی FCR
0.252	0.048	2.946 ^b	2.900 ^b	2.233 ^a	ضریب رشد ویژه SGR
0.079	0.010	2.064 ^b	1.928 ^{ab}	1.533 ^a	شاخص کبدی (درصد) HIS (%)

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$)

Non-matching letters in each row indicate a significant difference ($P < 0.05$)

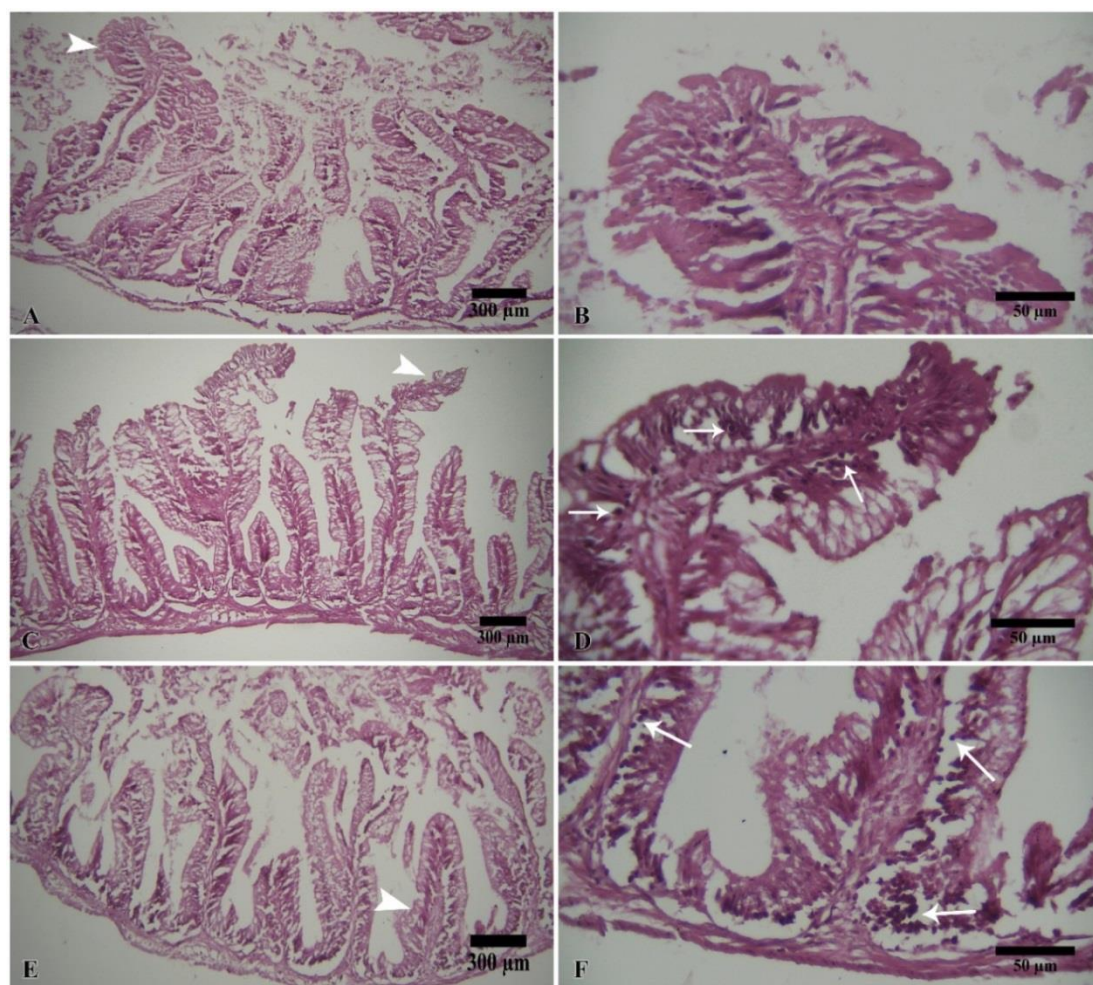


شکل ۱- تأثیر هورمون رشد بر بیان دو ژن GHR و IGF1 در بافت کبد بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان.

Figure 1. Effect of growth hormone on expression of GHR and IGF1 genes in the liver tissue of rainbow trout juveniles.

خونریزی در گروه شاهد دیده شد (شکل ۱، A و B). در ماهی‌های دریافت‌کننده هورمون رشد پرخونی و نفوذ خفیف سلول‌های التهابی تک‌هسته‌ای در مخاط زیر اپیتلیال و پارین بافت‌های روده دیده شد (شکل ۱، C-F).

با توجه به شکل ۲ که تأثیر هورمون رشد بر هیستوپاتولوژی بافت روده بچه‌ماهیان را نمایش داده است، مشخص شد اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود ندارد. با این‌حال، بافت‌شناسی طبیعی روده بدون ضایعه قابل‌توجهی از نظر التهاب، پرخونی و



شکل ۲- یافته‌های هیستوپاتولوژیک روده مربوط به ماهی‌های گروه شاهد (A و B) و تیمار شده با هورمون رشد (C-F).
پیکان‌های سفیدرنگ نشان‌دهنده نفوذ خفیف سلول‌های التهابی تک‌هسته‌ای در مخاط زیر اپیتلیال بافت‌های روده ماهی‌های دریافت‌کننده هورمون رشد هستند. نوک پیکان تصاویر با بزرگ‌نمایی بیش‌تر در ستون دوم را نشان داده است. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین.
مقیاس خطی = ۳۰۰ میکرومتر برای A، C و E؛ ۵۰ میکرومتر برای B، D و F.

Figure 2. Histopathological findings of the intestines related to control group fish (A and B) and those treated with growth hormone (C-F).

The white arrows indicate mild infiltration of mononuclear inflammatory cells in the subepithelial mucosa of the intestines of fish receiving growth hormone. The tips of the arrows in the second column show higher magnification images. Staining with hematoxylin and eosin. Scale bar = 300 micrometers for A, C, and E; 50 micrometers for B, D, and F.

پلت مرطوب در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌طور معنی‌داری سبب افزایش طول و وزن نسبت به تیمار شاهد شد (۲۰). در بررسی مطالعات گذشته مشخص شد تزریق هورمون رشد نوترکیب گاوی در دوز بالا (۶۰ و ۱۲۰ میکروگرم بر گرم وزن بدن) به‌طور معنی‌داری سبب افزایش طول بدن گربه‌ماهی (*Ictalurus punctatus*) شد اما تأثیری بر شاخص

بحث

در مطالعه حاضر استفاده از هورمون رشد انسانی به‌صورت خوراکی و اسپری شده در غذا سبب افزایش رشد معنی‌دار در بچه ماهیان قزل‌آلا نسبت به تیمار شاهد شد. در پژوهش مشابهی استفاده از هورمون رشد به‌صورت ماتریکس پلیمری به‌میزان ۲۰۰ میکروگرم محلول هورمونی در ۲۰۰ میلی‌گرم

کبدی نداشت. افزایش شاخص کبدی در این مطالعه ممکن است به علت کاهش لیپولیز در کبد باشد زیرا لیپولیز کبد باعث کاهش شاخص کبدی می‌شود (۲۱). تصور می‌شود که بسیاری از اعمال هورمون رشد از طریق تولید کبدی و تحریک آزادسازی فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (IGF-I) عمل می‌کند. در ماهی مانند سایر مهره‌داران، هورمون رشد سنتز پروتئین را تحریک می‌کند که به عنوان افزایش سنتز عضلانی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و افزایش دسترسی به اسیدهای آمینه در ماهی تیلپای نیل (*Oreochromis niloticus*) مشهود است. مطالعات آزمایشگاهی در سلول‌های کبدی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و بافت چربی ماهی نشان می‌دهد که هورمون رشد باعث تجزیه چربی‌های کبد می‌شود و سطح اسیدهای چرب آزاد در گردش خون را افزایش می‌دهد. چنین افزایش پروتئین ناشی از هورمون رشد همراه با تحرک چربی باعث می‌شود ماهی قزل‌آلا تحت درمان با هورمون رشد شکل بدنی بلند و لاغر به خود بگیرد (۷).

به نظر می‌رسد که در ماهی‌ها، مانند سایر مهره‌داران، آزادسازی هورمون رشد توسط دو نوروپپتید هیپوتالاموس، سوماتوستاتین مهار (SRIF) و فاکتور آزادکننده هورمون رشد تحریک‌کننده (GRF) تنظیم می‌شود. با این حال، چندین اثر متابولیک وجود دارد که در سطح مرکزی با هم تعامل دارند و به کنترل آزادسازی هورمون رشد هیپوفیز کمک می‌کنند؛ بنابراین، نقش بازدارنده IGF-I بر آزادسازی هورمون رشد به روشی وابسته به دوز در کشت‌های آزمایشگاهی سلول‌های هیپوفیز ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ثابت شده است (۲۲). در این مطالعه افزودن هورمون رشد به جیره تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن‌های IGF1 و GHR در بافت کبد نداشت. هم‌راستا با مطالعه حاضر، تزریق هورمون رشد به گربه‌ماهی تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن IGF1 در بافت

کبد نداشت (۲۱). در مطالعات بسیاری و مخالف با بررسی حاضر، تزریق هورمون رشد در Coho salmon (۲۳)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (۲۴) و sea bream (۲۵) سبب افزایش بیان ژن IGF1 در کبد این ماهیان شد. تزریق ۲۴۰ میکروگرم بر گرم وزن بدن هورمون رشد نوترکیب گاوی به ماهی قزل‌آلای رنگین به‌طور معنی‌داری سبب افزایش بیان ژن IGF1 سلول‌های کبدی شد (۲۶). این تفاوت در نتایج ممکن است ناشی نوع طراحی آزمایش، سن و نژاد ماهیان، نحوه استفاده از هورمون یا طول دوره آزمایش در مطالعات مختلف باشد. مشخص شده است در چندین گونه از ماهیان، هورمون رشد نوترکیب، نرخ رشد را در مقایسه با سویه‌های غیر نوترکیب افزایش می‌دهند (۲۷). از طرفی، افزایش بیان طولانی‌مدت IGF1 در کبد ممکن است باعث بروز سرطان در بدن گردد (۲۸). با توجه به این‌که در این پژوهش هورمون رشد به بدن تزریق نشده است و به‌صورت خوراکی مصرف شده، ممکن است در اثر جذب هورمون از طریق دستگاه گوارش، اختلاف معنی‌داری در بیان ژن‌های IGF1 و GHR در بافت روده وجود داشته باشد که در این پژوهش بررسی نشد.

در بررسی میکروسکوپی، ضایعه قابل‌توجه، پرخونی و التهاب در بافت روده ماهیان گروه شاهد وجود نداشت (شکل ۱، A و B). در مقابل، افزایش تعداد سلول‌های التهابی، به‌ویژه لنفوسیت‌ها، به مخاط زیر اپیتلیال و لامینا پروپریا بافت‌های روده در گروه‌های دریافت‌کننده هورمون (شکل ۱، C-F) نفوذ کردند. به‌طورکلی التهاب خفیفی در این گروه‌ها نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد؛ که می‌تواند به دلیل مصرف خوراکی هورمون رشد انسانی و تحریک ایمنی روده بچه‌ماهیان باشد. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که واکنش‌پذیری گیرنده هورمون رشد در سراسر دستگاه گوارش وجود دارد و بر تکثیر اپیتلیوم روده، ترشح

سلول‌های غدد درون‌ریز و جذب مواد مغذی تأثیر می‌گذارد (۲۹). مطالعات روی ماهی طلایی نشان داده است که هورمون رشد آگروژن ساختار و عملکرد روده را تعدیل می‌کند و نقش آن را در سلامت روده برجسته می‌کند (۳۰).

پژوهش‌ها روی ماهی قرمز تغذیه شده با هورمون رشد نو ترکیب (*Epinephelus lanceolatus* (rELGH) از طریق تجویز خوراکی، افزایش قابل توجهی در عملکرد رشد، محتوای پروتئین و چربی و ایمنی ذاتی بدون آسیب بافتی خاص به اندام‌ها را نشان داد (۳۱). علاوه بر این، مطالعاتی که روی ماهی آزاد اقیانوس اطلس تراریخته انجام شد نشان داد که ماهی‌هایی با نرخ رشد بالاتر به دلیل تراریخت هورمون رشد دارای چین‌های روده‌ای بزرگ‌تر و افزایش سطح گوارشی هستند که نشان‌دهنده تغییرات بافت‌شناسی بالقوه در روده است. علاوه بر این، آزمایش‌ها با هورمون رشد گاوی (bGH) که به صورت خوراکی در ماهی قزل‌آلا تجویز شد، تغییراتی را در ساختار روده و فرایندهای انتقال هورمون نشان داد (۳۰). این یافته‌ها در مجموع نشان می‌دهد که مصرف خوراکی هورمون رشد در ماهی می‌تواند بر بافت‌شناسی روده تأثیر بگذارد و نیاز به پژوهش‌های بیش‌تر در این زمینه را برجسته می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از هورمون رشد در تغذیه بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های عملکردی آن گذاشت و سبب بهبود رشد شد، اما بررسی‌های بافت‌شناسی روده و بیان ژن‌های GHR و IGF1 در بافت کبد نشان‌دهنده نبودن اختلاف

معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی بود. استفاده از هورمون رشد در سطح ۴ درصد بهترین عملکرد رشد را از خود نشان داد و توصیه می‌شود مطالعات بیش‌تری در این زمینه صورت گیرد. از آنجایی‌که هدف ما در این مطالعه بررسی امکان جذب روده‌ای هورمون رشد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود، می‌توان براساس افزایش رشد حاصله و تحریک ایمنی روده نتیجه‌گیری نمود که هورمون رشد، دارای قابلیت جذب از طریق روده در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. توصیه می‌شود در مطالعات آینده، بیان این دو ژن در بافت روده نیز که محل جذب هورمون است مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت دانشگاه فردوسی مشهد و گرنت شماره ۵۵۸۷۸/۲ انجام شد. نویسندگان مراتب قدردانی خود را از آقای مهندس وحید منصوریان به جهت در اختیار قرار دادن ماهی به عمل می‌آورند.

تعارض منافع

نویسندگان بیان می‌کنند که هیچ‌گونه تعارض منفعی در رابطه با انتشار این مقاله وجود ندارد و داده‌های این مقاله در هیچ مجله دیگری در دست داوری یا انتشار نمی‌باشد. همچنین نویسندگان هیچ‌گونه سرمایه‌گذاری، مشاوره یا سمت اجرایی در شرکت‌های مرتبط با موضوع این پژوهش ندارند. بنابراین تضاد منفعی در این زمینه وجود ندارد و نتایج گزارش‌شده در این مقاله کاملاً بی‌طرفانه و مستقل می‌باشند.

منابع

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). *The state of world fisheries and aquaculture 2020: Sustainability in action*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
2. Weber, J., Bochi, V. C., Ribeiro, C. P., Victório, A. D. M., & Emanuelli, T. (2008). Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fillets. *Food chemistry*, 106(1), 140-146.
3. Gabillard, J. C., Weil, C., Rescan, P. Y., Navarro, I., Gutiérrez, J., & Le Bail, P. Y. (2005). Does the GH/IGF system mediate the effect of water temperature on fish growth? A review. *Cybiurn*, 29(2), 107-117.
4. Bozaris, I. S. (Ed.). (2014). *Seafood processing: technology, quality and safety*. John Wiley & Sons.
5. Wood, A. W., Duan, G., & Bern, H. A. (2005). Insulin-like growth factor signaling in fish. *International review of cytology*, 243(1), 215-285.
6. Hymer, W. C., Kennett, M. J., Maji, S. K., Gosselink, K. L., McCall, G. E., Grindeland, R. E., & Kraemer, W. J. (2020). Bioactive growth hormone in humans: controversies, complexities and concepts. *Growth Hormone & IGF Research*, 50, 9-22.
7. Javadmanesh. (2018, August). A comprehensive expression analysis of GH-IGF1 axis transcripts in bovine pre- and postnatal tissues. In The 8th Iranian Animal Science Congress.
8. Ghanipoor-Samami, M., Javadmanesh, A., Burns, B. M., Thomsen, D. A., Nattrass, G. S., Estrella, C. A. S., ... & Hiendleder, S. (2018). Atlas of tissue- and developmental stage specific gene expression for the bovine insulin-like growth factor (IGF) system. *PloS one*, 13(7), e0200466.
9. Canosa, L. F., Chang, J. P., & Peter, R. E. (2007). Neuroendocrine control of growth hormone in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 151(1), 1-26.
10. Sciara, A. A., Rubiolo, J. A., Somoza, G. M., & Arranz, S. E. (2006). Molecular cloning, expression and immunological characterization of pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) growth hormone. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 142(3-4), 284-292.
11. Busby, E. R., Roch, G. J., & Sherwood, N. M. (2010). Endocrinology of zebrafish: a small fish with a large gene pool. In *Fish Physiology* (Vol. 29, pp. 173-247). Academic Press.
12. Waters, M. J., Shang, C. A., Behnken, S. N., Tam, S. P., Li, H., Shen, B., & Lobie, P. E. (1999). Growth hormone as a cytokine. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, 26(10), 760-764.
13. Amirpour, Z., Haji Baglo, A., Sodagar, M., & Paknejad, H. (2019). Effects of short-term bath of growth hormone (somatotropin) on some growth and immunity indicators in the early stages of growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Development Journal*, 13(3), 1-12.
14. Moriyama, S., Yamamoto, H., Sugimoto, S., Abe, T., Hirano, T., & Kawauchi, H. (1993). Oral administration of recombinant salmon growth hormone to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 112(1), 99-106.
15. Hymer, W. C., Kennett, M. J., Maji, S. K., Gosselink, K. L., McCall, G. E., Grindeland, R. E., ... & Kraemer, W. J. (2020). Bioactive growth hormone in humans: controversies, complexities and concepts. *Growth Hormone & IGF Research*, 50, 9-22.
16. Tsai, H. J., Kuo, J. C., Lou, S. W., & Kuo, T. T. (1994). Growth enhancement of juvenile striped mullet by feeding recombinant yeasts containing fish growth hormone. *The Progressive Fish-Culturist*, 56(1), 7-12.

17. AOAC. (1995). Method 991.42 & 993.19. Official methods of analysis (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
18. Riasi, M., Mozaffari Jovin, S., & Javadmanesh, A. (2022). Effect of Intramuscular and Intraperitoneal Injections of conjugated MSTN-siRNA-cholesterol on Inhibition of Myostatin Gene expression. *Journal of Cell and Molecular Research*, 14(1), 20-27.
19. Liu, S., Zang, X., Liu, B., Zhang, X., Kkiu, A., Zhang, X., & Liang, B. (2007). Effect of growth hormone transgenic *Synechocystis* on growth, feed efficiency, muscle composition, haematology and histology of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture Research*, 38(12), 1283-1292.
20. Moriyama, S., Yamamoto, H., Sugimoto, S., Abe, T., Hirano, T., & Kawauchi, H. (1993). Oral administration of recombinant salmon growth hormone to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 112(1), 99-106.
21. Peterson, B. C., Small, B. C., & Bosworth, B. G. (2004). Effects of bovine growth hormone (Posilac®) on growth performance, body composition, and IGF-BPs in two strains of channel catfish. *Aquaculture*, 232(1-4), 651-663.
22. Pérez-Sánchez, J., Weil, C., & Le Bail, P. Y. (1992). Effects of human insulin-like growth factor-I on release of growth hormone by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) pituitary cells. *Journal of Experimental Zoology*, 262(3), 287-290.
23. Cao, Q. P., Duguay, S. J., Plisetskaya, E., Steiner, D. F., & Chan, S. J. (1989). Nucleotide sequence and growth hormone-regulated expression of salmon insulin-like growth factor I mRNA. *Molecular Endocrinology*, 3(12), 2005-2010.
24. Biga, P. R., Schelling, G. T., Hardy, R. W., Cain, K. D., Overturf, K., & Ott, T. L. (2004). The effects of recombinant bovine somatotropin (rbST) on tissue IGF-I, IGF-I receptor, and GH mRNA levels in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology*, 135(3), 324-333.
25. Duguay, S. J., Lai-Zhang, J., Steiner, D. F., Funkenstein, B., & Chan, S. J. (1996). Developmental and tissue-regulated expression of IGF-I and IGF-II mRNAs in *Sparus aurata*. *Journal of Molecular Endocrinology*, 16(2), 123-132.
26. Fenn, C. M., & Small, B. C. (2015). Exogenous recombinant bovine growth hormone stimulates growth and hepatic IGF expression in shovelnose sturgeon *Scaphirhynchus platorhynchus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 180, 18-22.
27. Donaldson, E. M., Fagerlund, U. H., Higgs, D. A., & McBride, J. R. (1979). Hormonal enhancement of growth. In *Fish physiology* (Vol. 8, pp. 455-597). Academic Press.
28. Roozbeh, B., Moazami, M., Rashidlamir, A., Moosavi, Z., & Javadmanesh, A. (2019). The Effect of resistance training and growth hormone injection on circulating IGF-1 and IGF-BP-3 levels in a rat model. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 11(1), 13-18.
29. Shulman, D. I. (2000). Gastrointestinal effects of growth hormone. *Endocrine*, 12, 147-152.
30. Walker, R. L., Buret, A. G., Jackson, C. L., Scott, K. G. E., Bajwa, R., & Habibi, H. R. (2004). Effects of growth hormone on leucine absorption, intestinal morphology, and ultrastructure of the goldfish intestine. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 82(11), 951-959.
31. Antoro, S., Zairin Jr, M., Alimuddin, A., Suprayudi, M. A., & Faizal, I. (2016). Growth, biochemical composition, innate immunity and histological performance of the juvenile humpback grouper (*Cromileptes altivelis*) after treatment with recombinant fish growth hormone. *Aquaculture Research*, 47(4), 1238-1250.

