



MINISTERUL EDUCAȚIEI, CERCETĂRII ȘI INOVĂRII
UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ
“ION IONESCU DE LA BRAD”

Aleea M. Sadoveanu nr. 3, 700490 – IAȘI, ROMÂNIA

Tel. +40-232-213069/260650 Fax. +40-232-260650

Cod fiscal: 4541840

E-mail: rectorat@uaiasi.ro, <http://www.uaiasi.ro>

SINTEZA PROIECTULUI DE CERCETARE
-2009-

COD CNCSIS 1645/2008

TEMA PROIECTULUI :

CERCETARI PRIVIND IMPLICATIILE FIZIOLOGICE SI SECRETORII
CIRCADIENE ALE GLANDEI PINEALE IN STATUSUL REPRODUCTIV
AL GAINILOR OUATOARE

DIRECTOR PROIECT

Prof.univ.dr.ing. Paul Corneliu Boisteanu

Epifiza joaca un rol de control al ritmurilor zilnice si sezoniere la majoritatea speciilor; la mamifere ritmul secretor al melatoninei pineale este controlat de nucleul suprachiasmatic pe caile sistemului nervos somatic. La pasari glanda pineala contine un oscilator circadian autosustinut si numeroase canale de intrare ce sincronizeaza ceasul biologic intern, inclusiv prin sensibilitatea la lumina directa. Câteva canale de intrare fizice (lumina, temperatura, câmp magnetic) și biochimice (VIP, norepinefrina), ce influențeaza eliberarea melatoninei, sunt funcționabile *in vitro*, reprezentând un bun model de studiu al ceasului biologic circadian. Sinteza melatoninei la păsari și a altor hormoni indolici apare în glanda pineală și retină; aceleași căi de biosinteză există în ochii laterali, ceea ce arată că funcția primordială a melatoninei este legată de fotorecepție. Glanda pineală la păsări conține un oscilator circadian care are un rol major în organizarea temporală a funcțiilor cerebrale. Secreția indolilor pineali are o înaltă ritmicitate care pare a fi esențial endogenă, modulată de alternanța L/D și temperatură. Ceasul circadian prin care fiecare pinealocită aviară reglează transcripția biosintezei de melatonină se exprimă ritmic și în ciclul L/D si D/D, atât *in vivo* cât și *in vitro*. În adaptarea organismului la condițiile mediului exterior, pineala, prin hormonii ei, nu acționează direct asupra gonadelor sau asupra sistemului endocrin, ci acționează asupra creierului și contribuie la adaptarea funcțiilor cerebrale la condițiile de mediu, activitatea reproductivă fiind numai o latură a acestui proces. Glanda pineală, prin biosinteza melatoninei, este un traductor fotoperiodic care mediază sezonalitatea funcției de reproducție. Implicarea melatoninei în axa funcțională hipotalamo-hipofizo-gonadală se demonstrează prin nivelele crescute asociate secreției scăzute de gonadotropi, iar scăderea concentrației de melatonină activează axa hipotalamo-hipofizo-gonadală

Cercetările au fost efectuate pe 100 de găini ouătoare aparținând hibridului ALBO SL – 2000 crescuți la sol. Indivizii au fost repartizați în 3 loturi experimentale:

- L₁ – la care s-a realizat pinealectomie fotică prin expunerea la 150 lucși, 24 ore zilnic;
- L₂ - supus unui regim de iluminare de 12L/12D;
- L₃ – supus unui regim de iluminare de 16L/8D.

La toate cele 3 loturi experimentale s-a făcut furajarea cu nutreț combinat având următoarele caracteristici: E.M 2700Kcal/kg; PB 14,5%; Lizină 0,65%; Metionină 0,3%; Ca 3,5%; Fosfor 0,55%; Sodiu 0,14%; Clor 0,13%; Acid linoleic 0,85%; Xantofile totale 24ppm.

Consumul de furaj a fost de 127g/cap/zi, apa fiind administrată ad libitum.

Conform primului obiectiv din cadrul proiectului de cercetare, s-au urmărit următorii indicatori hematologici (WBC, RBC, Hb, HCT, MCV, MCH, MCHC), biochimici (glucoza, proteine totale, lipide totale, colesterol, fosfolipide, trigliceride, ioni de sodiu, ioni de potasiu, ioni de calciu, TGO, TGP, uree).

Tabelul 1

Variațiile parametrilor hematologici

Parametrii	Unități de măsură	L ₁	L ₂	L ₃
WBC	10 ³ /mm ³	20,45	26,18	25,2
RBC	10 ⁶ /mm ³	2,45	2,85	2,33
Hb	g/dl	7,5	9,7	9,5
HCT	%	28,6	29,4	27,4
MCV	μm ³	129,4	130,6	126,6
MCH	pg	36,6	34,9	38,8
MCHC	g/dl	40,5	23,4	44,6

În condiții fiziologice, numărul de eritrocite din sânge prezintă variații minime datorită adaptării continue a ratei eritropoezei la rata eritrocitelor. Durata medie de viață a eritrocitelor este de 28 de zile, procentual eritrocitele reprezintă 2,4%. La loturile luate în studio s-a întâlnit fenomenul de oligocitemie caracterizată prin scăderea numărului de eritrocite sub $2,4 \times 10^3/\text{mm}^3$, fenomen întâlnit destul de frecvent la găinile ouătoare.

O scădere a numărului total de eritrocite s-a observat la lotul L₃, $2,33 \times 10^3/\text{mm}^3$, scădere care se asociază cu niveluri scăzute ale constantelor eritrocitare.

Constantele eritrocitare derivate ne oferă relații asupra mărimii, formei și încărcării cu hemoglobină a hematiilor. Cantitatea de hemoglobină variază în funcție de intensitatea de ouat și structura rației.

Tabelul 2

Variațiile principalilor indicatori biochimici

Parametrii urmăriți	Unități de măsură	L1	L2	L3
Glucoză	mg/dl	260,4	320,2	200,1
Proteine totale	g/dl	5,2	2,3	5,3
Lipide totale	mg/dl	2562	2250	2112
Colesterol	mg/dl	147	125	118
Trigliceride	mg/dl	216	195	186
Ioni de sodiu	mg/dl	396	360	348
Ioni de potasiu	mg/dl	6	7	4
Ioni de calciu	mg/dl	31,4	28,3	36,8
TGO	U/L	159	134	133
TGP	U/L	18	12	10
Ureea	mg/dl	6,2	5,5	5,8

Lipidele totale au înregistrat valori de 2250mg/dl la lotul L₁, 2562 la L₂ și 2112 la lotul L₃. De remarcat diferențele mici între cele 3 loturi, dar și înscrierea valorilor obținute în limitele fiziologice. Excesul de lipide poate produce la găinile ouătoare hepatoză, urmată de creșterea lipidelor de până la 30% în conținutul hepatic.

Colesterolul determinat la lotul pinealectomizat fotic(L1) a fost de 147 mg/dl comparativ cu 125 mg/dl obținut la L₂ și 118 mg/dl înregistrat la L₃.

Trigliceridele din sângele găinilor din lotul L₁ au avut valori de 195mg/dl, 216mg/dl la lotul L₂ iar lotul L₃ la care expunerea la lumină a fost de 16L/8D valoarea înregistrată a fost de 186mg/dl.

Hipoglicemia sanguină se poate reflecta într-o calitate mai ridicată a ouălor, cu implicații în creșterea ratei de supraviețuire a puilor. Valori scăzute ale glicemiei au fost înregistrate la lotul L₃, 200,1mg/dl, hipoglicemia indicând un metabolism prin deficit de glucide și o perturbare a metabolismului energetic conducând la tulburări ale sistemului nervos și la distrofii parenchimotoase. La lotul L₁s-au înregistrat valori de 260,4 mg/dl iar la lotul L₂ valoarea de 320,2 mg/dl.

În cazul metabolismului glucidic, pinealectomia determină creșterea glicemiei și scăderea toleranței la glucoză.

O hrănire deficitară sub raport proteic conduce la scăderea producției de ouă, respectiv la hipoproteinemie.

S-a constatat ca din punct de vedere fiziologic privind formarea oului, cantitatea de proteine este mult mai importantă decât raportul energetic. Nivelul proteinelor plasmaticice este foarte important pe tot parcursul anului, dar este critic în perioada de ouat.

Nivelul proteinelor plasmaticice la păsări poate fi influențat de hormoni, inclusiv estrogen, pe durata dezvoltării foliculilor.

Deasemenea valoarea proteinelor poate fi scăzută și datorită concentrației scăzute de albumine și globuline. Valorile obținute la lotul L₁ au fost de 5,2g/dl, la lotul L₂ 2,3g/dl și 5,3 la lotul L₃.

În cazul ionilor plasmatici determinați, valorile au fost următoarele:

Ionii de sodiu au prezentat o concentrație plasmatică de 396mg/dl la L₁, 360mg/dl la L₂, 348 mg/dl la L₃.

Ionii de potasiu din sânge au avut o concentrație de 6 mg/dl la L₁, 4mg/dl la L₃ respectiv 7mg/dl la L₂.

La păsările outoare carența de calciu determină osteopatiile malacice, care pe lângă procesele de demineralizare reflectate asupra cojii oului se extind și asupra scheletului, printr-un proces de înlocuire a țesutului mineralizat cu osteoid și chiar țesut fibros ducând la deformări ale oaselor și la tulburări locomotorii. Inducerea estrogenului poate determina creșterea nivelului calciului în timpul perioadei de ouat, imediat după ouat sau în timpul ovulației.

Găinile ouătoare prezintă după perioada de ouat modificări ale metabolismului hepatic, reflectate în creșterea concentrației de TGO. La lotul L₁ s-au obținut valori de 159 U/L, la lotul L₂ de 134 U/L, iar la lotul L₃ 133U/L, valori care depășesc limitele fiziologice.

Valorile TGP prezintă modificări în sensul creșterii în cazul afecțiunilor musculare și hepatice, dar semnificația în diagnostic a acestora este limitată.

În cazul celor trei loturi experimentale s-au înregistrat valori de 18 U/L la lotul L₁, valoare care se înscrie în limitele fiziologice, comparative cu 10 U/L înregistrată la lotul L₃ și 12 U/L la lotul L₂.

În cazul metabolismului glucidic, pinelectomia determină creșterea glicemiei și scăderea toleranței la glucoză, în timp ce extractele peptidice pineale produc efecte hipoglicemiant, ce se realizează prin mecanismul potențării acțiunii hipoglicemiant a insulinei și stimulării depunerilor de glicogen la nivel hepatic și muscular.

Proprietăți anabolizante au fost puse în evidență și la nivelul metabolismului proteic, pinealectomia determinând scăderea greutateii corporale și accelerarea captării aminoacizilor din sânge; administrarea cronică a extractelor peptidice pineale la aceste animale a fost urmată de creșterea semnificativă a concentrației azotului proteic muscular, dublată de restabilirea greutateii corporale.

Asupra metabolismului lipidic, pinealectomia realizează creșterea lipidelor totale, colesterolului și a acizilor grași din sânge, iar extractele peptidice pineale scad concentrația sanguină a acestora, în condiții normale de hrană; la animalele supuse unui regim suplimentat cu colesterol, în vederea producerii de leziuni de ateroscleroză experimentală, extractele peptidice pineale determină atenuarea tulburărilor aterosclerotice vasculare.

Modificările structurale la cele trei loturi de control au fost observate cu ajutorul microscopiei optice.

În urma cercetărilor s-au urmărit efectele determinate de pinealectomia fotică, rezultate, ce au fost interpretate din prisma valorilor variabile ale indicatorilor hematologici și biochimici urmăriți.

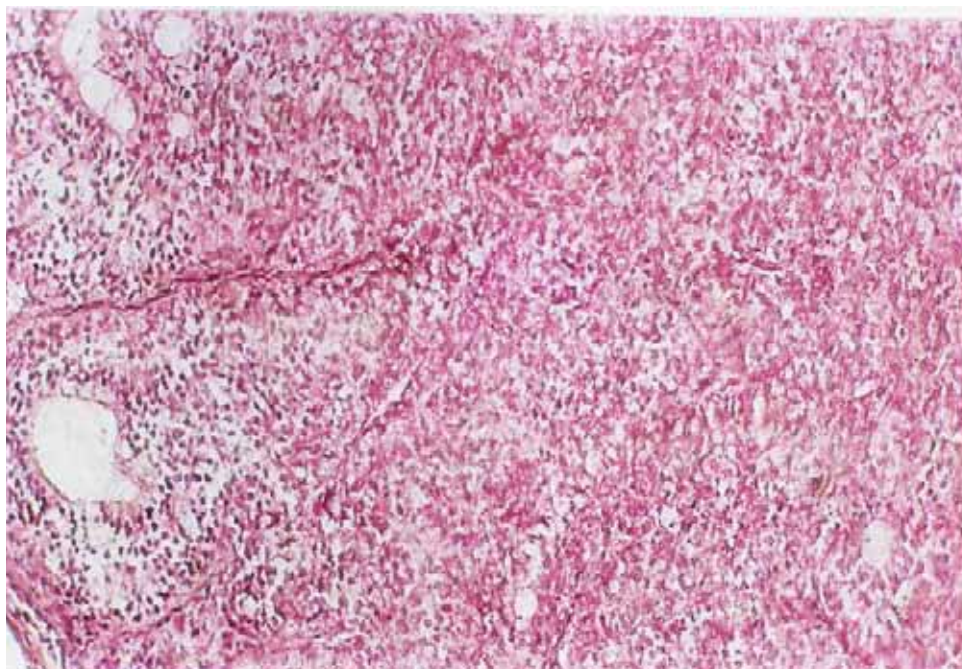


Fig. 1-Glandă pineală bine dezvoltată, cu celule secretorii normale

Aspectele microscopice au relevat în glanda pineală a găinilor din lotul L₁ a numeroase celule secretorii, cu nucleii mici și rotunzi și plaje de celule întunecate, dispuse radier în jurul canalelor glandulare, reflectând normalitatea secretorie a glandei.

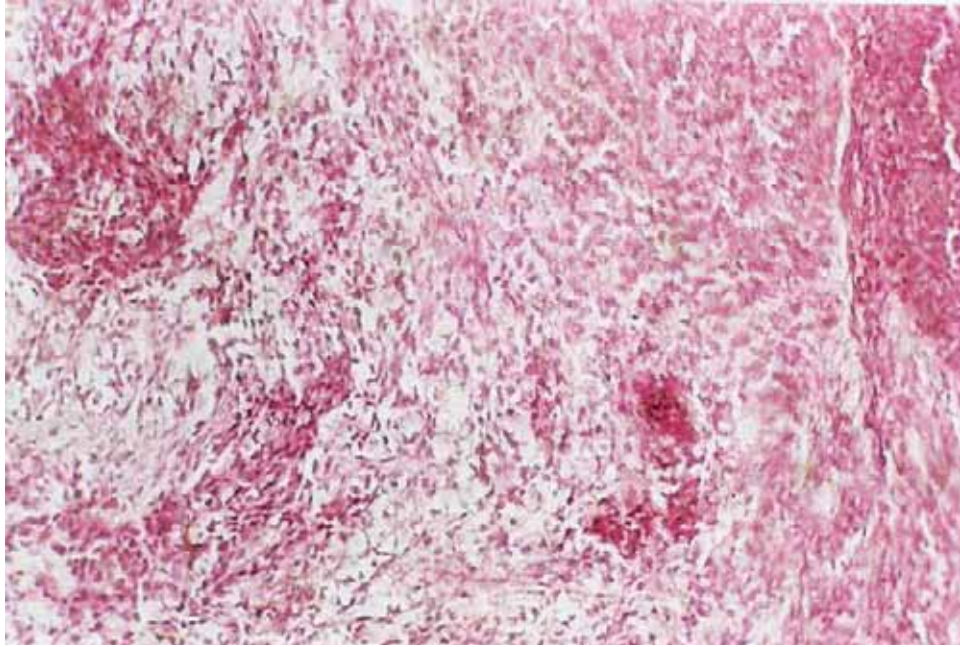


Fig.2-Sețiune prin glanda pineală -activitate secretorie normală cu proporție echilibrată a celor două tipuri de celule

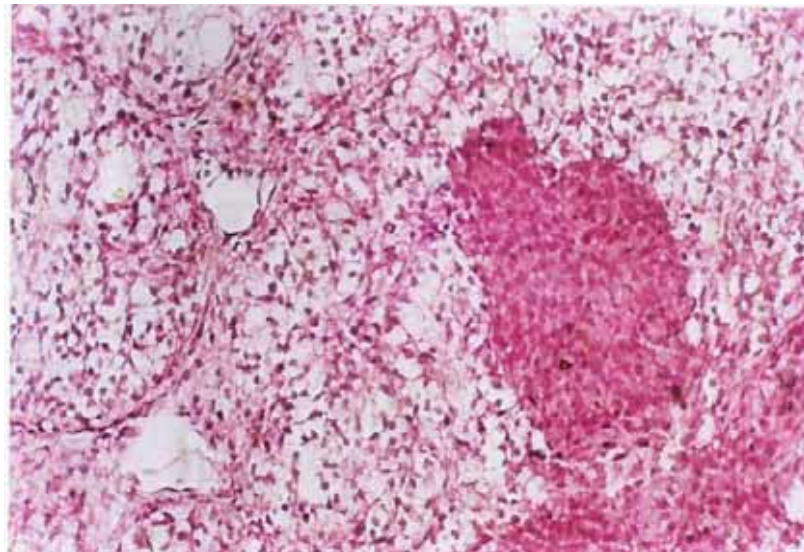


Fig.3-Glandă pineală normal dezvoltată, cu grupuri compacte de celule întunecate în alternanță cu celule clare și rare formațiuni chistice

Astfel, prin microscopie optică, la epifiza găinilor din lotul de control s-a observat prezența celor două categorii obișnuite de celule (clare și întunecate), cu puține cavități chistice, ceea ce denotă o activitate secretorie normală.

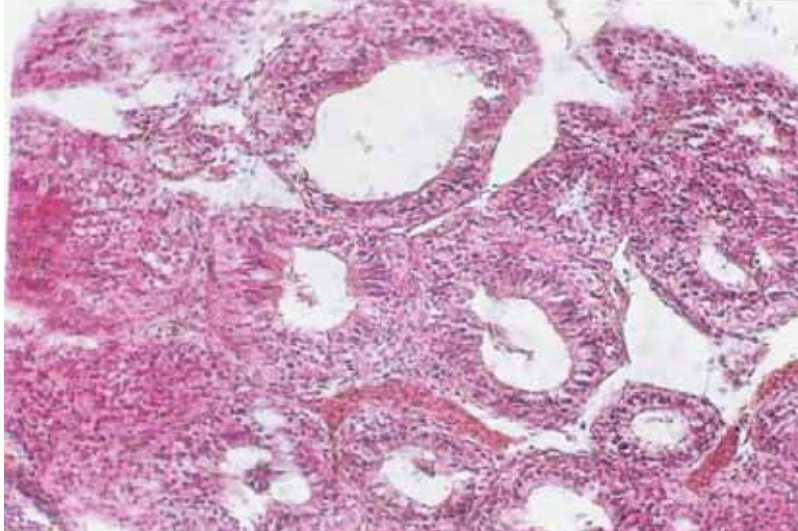


Fig.4-Epifiză atrofică, cu parenchim glandular redus și numeroase cavități chistice, delimitate de celule endimare ciliate

Pinelectomia fotică a indus modificări atrofice la nivelul glandei pineale, reprezentate de numeroase cavități chistice și frecvente celule gliale și care au fost datorate inhibiției secretorii a țesutului glandular pineal de către stimularea luminoasă continuă.

Hormonii pineali participă la modularea reproducției la animalele dependente de factorii fizici din mediul extern, la reglarea fotoperiodicității, reglarea metabolismelor intermediare și a echilibrului hidro - electrolitic precum și la modularea excitabilității sistemului nervos central și a ciclului somn – veghe.

La păsări, pineala intervine în reglarea statusului reproductiv, caracteristic la acestea fiind durata de câteva ore a ciclului ovulator.

Ciclul ovulator începe o exprimare productivă la 17 săptămâni fiind sub controlul complexului hipotalamo-hipofizo-gonadal, complex influențat de factorii neurohormonali și epifizari modulați de vibrațiile ambientale (fotice, termice, sezoniere).

Ablația fotică a pinealei relevă intervenția hormonilor pineali în sens antigonadotrop determinând un efect gonadostimulant ca rezultat al modificării relației fazice dintre ritmurile biologice circadiene și ciclul lumină- întuneric cu schimbarea relației dintre ritmul circadian al fotosensibilității și ciclul artificial de iluminare.