

بررسی تاثیر تزریق hCG در روز پنجم پس از تلقیح مصنوعی بر افزایش عیار سرمی پروژسترون و بهبود میزان باروری گاوهای هلشتاین



اورنگ عطایی عمارلویی^{۱*}، بهرام سلاسل^۱، امیر محرابی^۲

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

۲. دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

سال دوم، شماره اول، زمستان ۱۳۸۹

صفحات ۳۹-۴۵

* نویسنده مسئول: ataee@kiaiu.ac.ir

چکیده

هدف از انجام این مطالعه ارزیابی تاثیر تزریق hCG در روز پنجم بعد از تلقیح مصنوعی بر عیار سرمی پروژسترون گاوهای شیری و میزان آبستنی آنها بوده است. بر همین اساس با مراجعه به یکی از دامداریهای استان قزوین ۴۰ راس دام غیر آبستن که فاقد هر گونه عوارض تولید مثلی بالینی بودند انتخاب شدند و بطور اتفاقی در یکی از دو گروه تیمار شامل ۱۹ راس و گروه کنترل شامل ۲۱ راس دام قرار گرفتند. دام های گروه درمانی در روز پنجم پس از تلقیح مصنوعی میزان ۳۰۰۰ واحد hCG داخل عضلانی و دام های گروه کنترل در همان روز میزان ۵ میلی لیتر سرم فیزیواوژی را دریافت کردند. علاوه بر این نمونه های خون هر دو گروه به منظور اندازه گیری عیار سرمی پروژسترون به عنوان شاخصی در جهت تخمین میزان تاثیر hCG تزریقی در روز پنجم (قبل از تزریقات hCG و سرم فیزیولوژی) و همچنین روز سیزدهم پس از تلقیح جمع آوری شدند. در هردو گروه تشخیص بارداری ۴۰ تا ۶۰ روز پس از تلقیح مصنوعی از طریق آزمایش رکتال داده شد. متوسط عیار سرمی پروژسترون در روز ۱۳ پس از تلقیح مصنوعی در دو گروه درمانی و کنترل به ترتیب ۷/۷۲ و ۸/۲۵ نانوگرم در میلی لیتر و درصد باروری در این دو گروه به ترتیب ۳۱/۶٪ و ۴۷/۶٪ بوده است. تجزیه و تحلیل آماری نتایج بدست آمده تفاوت معنی داری در عیار سرمی پروژسترون و میزان آبستنی دو گروه درمانی و شاهد را نشان نداد ($P > 0.05$).

واژه های کلیدی: hCG، میزان باروری، پروژسترون



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 2(1)39-45 2011

A study on the possible effects of administration of human chorionic gonadotrophin, at 5th day after AI, to improve conception rate and serum progesterone concentration in Holstein dairy cattle

Ataie, O.¹, Salase¹, B.¹Mehrabi, A.²

1. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch,

Islamic Azad University, Karaj, Iran

2. Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University,

Karaj, Iran

***Corresponding author:** ataee@kiaui.ac.ir

The objectives of this study were to determine the effect of administration of exogenous hCG 5 days after artificial insemination (AI) on serum progesterone concentration and conception rate in dairy cows. 39 lactating dairy cattle randomly allotted to 2 experimental groups: Treated group included 19 dairy cows that received 3000IU hCG on day 5 after AI and non treated (control) group included 21 dairy cows that only received 5ml normal saline 5 day after AI. Blood sampling obtained on day 5, before administration of exogenous hCG and normal saline, and also on day 13 after AI to measure serum progesterone concentrations. Pregnancy diagnosis was performed by rectal palpation 40-60 days after AI. On day 13 average serum progesterone concentrations were 7.72ng/ml and 8.25ng/ml in hCG and control groups respectively. Pregnancy proportion in hCG and control groups were 31.6% and 47.6% respectively. Statistical analysis of results did not show any significant difference between two groups in respect to pregnancy proportion or progesterone concentrations ($p>0.05$).

Key words: *hCG, Dairy cattle, Conception rate, Progesterone*

مقدمه

دستگاه تولیدمثلی هر حیوان از طریق ملامسه راست روده ای در روزهای ۲۵-۲۰ و ۴۰-۳۵ پس از زایش به منظور ارزیابی روند بازگشت طبیعی رحم و تخمدان ها مورد آزمایش قرار می گرفت. تمامی تلقیحات توسط یک مأمور تلقیح و یکبار در روز انجام می گرفت و تنها گاوهای بدون اختلال تولیدمثلی قابل تشخیص، تلقیح می شدند. فحل یابی ها در مدت زمان انجام طرح توسط دو نفر مأمور فحل یاب انجام می شد.

دام های تحت مطالعه شامل ۴۰ رأس گاو هولشتاین تلقیح شده با BCS نسبتا یکسان بودند که به صورت اتفاقی در یکی از ۲ گروه ذیل قرار گرفتند.

۱- گروه درمانی: شامل ۱۹ رأس گاو هولشتاین که در روز ۵ پس از تلقیح ۳۰۰۰ واحد hCG (پرگنیل / ۱۵۰۰ واحد) دارو پنخس / ایران) بصورت عضلانی دریافت کردند.

۲- گروه کنترل: شامل ۲۱ رأس گاو هولشتاین که همزمان با گروه درمانی ۵ سی سی سرم فیزیولوژی در روز ۵ بعد از تلقیح بصورت عضلانی دریافت کردند.

تزریقات گروه درمانی و کنترل بلافاصله پس از اخذ نمونه خونی از ورید دمی توسط ونوجکت در هنگام شیردوشی یا در بهار بند انجام می گرفت نمونه ها با حفظ زنجیره سرد به آزمایشگاه فرستاده می شد و پس از سانتریفوژ و جدا سازی سرم در فریزر ۲۰- درجه نگهداری می شد تا در زمان مناسب مورد آزمایش و ارزیابی میزان هورمون پروژسترون با روش ELIZA قرار گیرند. تشخیص آبستنی در هر دو گروه درمانی و کنترل در روزهای ۴۰ تا ۶۰ و از طریق ملامسه راست روده ای صورت می گرفت.

آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون t-student و مربع کای انجام گرفت.

نتایج

در جدول ۱ میزان پروژسترون در روزهای ۵ (قبل از درمان) و ۱۳ بعد از فحلی در گروه های درمانی و کنترل آورده شده است.

میزان باروری گاوهای شیری طی چند دهه اخیر در تمام نقاط جهان به طور چشمگیری کاهش پیدا کرده است. (۸) کاهش کارایی تولید مثلی این حیوانات دلایل بسیار زیادی دارد. یکی از فرضیه ها بر کاهش غلظت سرمی پروژسترون در گاو شیری استوار است. بسیاری از محققین اعتقاد دارند که با افزایش تولید و متعاقب آن افزایش مصرف ماده خشک در گاوهای شیری، جریان خون پرتال افزایش یافته و به تبع آن کاتابولیسم پروژسترون در کبد افزایش می یابد و باعث کاهش غلظت سرمی پروژسترون و در نهایت سبب رشد نامناسب و ضعیف رویان و از دست رفتن سریع آبستنی می گردد. (۹)

در سال های اخیر روش های متفاوتی توسط دانشمندان مختلف در راستای کاربرد انواع داروها همچون GnRH, hCG و مکمل های پروژسترون به منظور بهبود میزان باروری بکار گرفته شده اند. تزریق hCG می تواند یکی از استراتژی های درمانی برای افزایش غلظت پروژسترون پلاسمایی باشد. این هورمون با القای تخمک گذاری در فولیکول (های) غالبی که واجد گیرنده های LH می باشد و یا با لوتئینه کردن برخی از فولیکول ها در اولین موج فولیکولی و متعاقبا تشکیل اجسام زرد فرعی منجر به افزایش تولید پروژسترون کل خواهد شد (۳). بر همین اساس تحقیق حاضر به منظور ارزیابی تاثیر تزریق hCG در روز پنجم پس از تلقیح مصنوعی بر روی عیار سرمی پروژسترون و میزان آبستنی انجام پذیرفت.

مواد و روش ها

این مطالعه در یکی از گله های گاو شیری در اطراف استان قزوین با حدود ۳۰۰ رأس گاو نژاد هولشتاین انجام پذیرفت. دام های تحت مطالعه در بهار بندهای باز نگهداری می شدند و جیره خود را به صورت TMR دریافت می کردند. جمع آوری نمونه ها و درمان گاوها از بهمن ماه سال ۱۳۸۶ تا خرداد ماه سال ۱۳۸۷ به طول انجامید.

جدول ۱: مقایسه عیار سرمی پروژسترون در دو گروه درمانی و شاهد در روزهای ۵ و ۱۳ پس از تلقیح مصنوعی (برحسب ng/ml)

گروه های تحت مطالعه	تعداد دام	متوسط میزان پروژسترون در روز ۵ (انحراف معیار)	متوسط میزان پروژسترون در روز ۱۳ (انحراف معیار)
درمان	۱۹	۱/۸(۱/۴۶)	۷/۷۲(۳/۲۵)
کنترل	۲۱	۱/۵۸(۱/۰۸)	۸/۲۵(۲/۸۲)

با توجه به تجزیه و تحلیل آماری صورت گرفته هیچ یک از مقادیر پروژسترون سرمی در دو گروه کنترل و درمانی اختلاف معناداری را با یکدیگر نشان ندادند. ($p > 0.05$) تعداد نهایی گاوهای آبستن شده در هر گروه براساس اطلاعات مربوط به تست تشخیص آبستنی راست روده ای در ۴۰ تا ۶۰ روز پس از تلقیح مصنوعی در جدول ۲ ارایه شده است.

جدول ۲: درصد میزان آبستنی در دو گروه درمانی و کنترل در روزهای ۴۰ تا ۶۰ پس از تلقیح مصنوعی

گروه های تحت مطالعه	تعداد دام ها	تعداد دام های آبستن	درصد آبستنی
درمان	۱۹	۶	۳۱/۶
کنترل	۲۱	۱۰	۴۷/۶

تجزیه و تحلیل آماری نتایج به دست آمده به منظور بررسی میزان آبستنی در دو گروه درمانی و کنترل هیچگونه اختلاف معناداری را نشان نداد. ($P > 0.05$)

بحث و نتیجه گیری

محققین نشان داده اند که عیار پائین پروژسترون سرمی در

مراحل اولیه رشد جنین می تواند باعث کاهش درصد آبستنی گردد (۸) در نتیجه، این فرضیه مطرح شده است که افزایش عیار سرمی پروژسترون در اوایل (روز ۵) و یا اواخر (روز ۱۵) سیکل می تواند موجب کاهش درصد مرگ زودرس جنین و یا جذب آن در دام های تلقیح شده گردد. (۹،۱۰) تجزیه و تحلیل آماری نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر نشان داد که درمان گاوهای شیری با ۳۰۰۰ واحد hCG در روز پنجم بعد از تلقیح مصنوعی تاثیر معناداری بر افزایش عیار سرمی پروژسترون و میزان باروری گاوهای درمان شده ندارد. گزارشات متفاوتی مبنی بر تاثیر تزریق hCG روز پنجم پس از تلقیح بر روی میزان باروری و تغییرات عیار سرمی پروژسترون وجود دارد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات انجام گرفته توسط تنی چند از محققین همخوانی نداشته و با برخی دیگر همسان می باشد.

در تجربیات Santos و همکاران (۲۰۰۱) افزایش میزان باروری در روزهای ۲۸-۴۵ و ۹۰ پس از تلقیح در گاوهایی که با hCG در روز پنجم پس از فعلی درمان شده بودند، گزارش گردیده است (۱۱). بدنبال تحقیقات انجام گرفته توسط Stevenson و همکاران (۲۰۰۷) که بر روی ۵ گله متفاوت صورت گرفته بود مشخص گردید که تزریق hCG در بین روزهای ۴ تا ۹ پس از تلقیح تنها در سه گله از گله های درمان شده باعث افزایش میزان باروری گشته است (۱۴). نتایج و یافته های تعداد دیگری از محققین همچون Breuel (۱۹۸۹)، Helmer (۱۹۸۶) و Fricke (۱۹۹۳) نشان داده است که غلظت پروژسترون متعاقب تزریق hCG در بین روزهای ۱۱ تا ۱۶ افزایش یافته است (۱،۴،۶). Willared و همکاران (۲۰۰۳) هم افزایش غلظت پروژسترون را در گاوهای تحت استرس گرمایی که hCG را در روز پنجم پس از تلقیح دریافت کرده بودند گزارش نمودند (۱۷). Dahlen و همکاران (۲۰۰۹) نیز در دانشگاه مینه سوتا با تزریق ۳۰۰۰ واحد hCG در روز هفتم پس از تلقیح به گاوهای گوستی که از قبل با پروتکل همزمانی تخمک گذاری درمان شده بودند

بدنبال تحقیقات صورت گرفته توسط Breuel و همکاران (۱۹۹۰) مشخص شد که تزریق ۳۰۰۰ واحد hCG در روز ۴ بعد از زایش تاثیری در افزایش میزان باروری در گاوهای نژاد گوشتی ندارد. (۲)

Twagiramunga و همکاران هم همانند نتایج حاصل از بررسی حاضر هیچگونه افزایشی را در میزان غلظت سرمی پروژسترون در طول ۶ روز بعد از تزریق نوعی آگونیست GnRh گزارش نکردند. (۱۵) در ایران نیز تحقیقات انجام گرفته توسط شمس اسفندآبادی و همکاران نشان داده است که تزریق hCG در روز پنجم پس از تلقیح با اینکه تاثیری معنادار بر افزایش عیار سرمی پروژسترون در روز ۱۲ پس از تلقیح داشته است ولی میزان باروری را بهبود نبخشد است (۱۳).

Dahlen و همکاران در سال ۲۰۰۹ به نتایج خوبی در خصوص تاثیر تزریق hCG بر القای تخمک گذاری در فولیکول های غالب دست یافتند و اعلام داشتند که این تاثیر در گاوهایی که فولیکول های غالب با قطر کمتر یا برابر با ۱۰ میلیمتر دارند نسبت به فولیکول هایی با قطر بیش از ۱۰ میلی متر به مراتب بیشتر بوده است (۳).

با توجه به مطالب بالا به نظر می رسد که استفاده نکردن از ابزاری دقیق همچون اولتراسوند در تعیین سطح و حجم بافت جسم زرد در قبل و پس از بکار گیری hCG و همچنین مشخص نبودن دقیق تعداد و سایز فولیکول های غالب در زمان تزریق این هورمون دو عامل مهم در عدم ارزیابی مدلل در خصوص علت تاثیر نکردن hCG در افزایش عیار سرمی پروژسترون و باروری دام های درمان شده در تحقیق حاضر باشد. چه بسا در مواردی عدم حضور تعداد کافی فولیکول بالغ با قطر کمتر از ۱۰ میلیمتر علت پاسخ نامناسب به تزریق hCG در جهت افزایش عیار سرمی پروژسترون در تحقیق حاضر بوده باشد. از سوی دیگر این احتمال نیز وجود دارد که کمبود عیار سرمی پروژسترون عامل اساسی در کاهش میزان باروری این گله نبوده است. با نگاهی به جدول ۱ مشاهده می

به نتایج مشابهی در راستای افزایش عیار سرمی پروژسترون دست یافتند (۳). اکثریت آنها بر این باورند که افزایش تعداد اجسام زرد متعاقب تزریق hCG باعث افزایش میزان عیار سرمی پروژسترون و در مواردی باروری شده است. برخی نیز معتقد هستند که افزایش حجم (۱۴) و یا سطح و حجم (۱۱) جسم زرد اصلی و اجسام زرد فرعی متعاقب تزریق hCG باعث بروز اثرات مثبت بر عیار سرمی پروژسترون می گردد. در این بین ذکر یک نکته ضروری به نظر می رسد که Dahlen و همکاران با توجه به اطلاعات بدست آمده از تحقیقات خود و آقای Santos اعلام می دارند که نتایج نشان داده اند تولید پروژسترون در دام های درمان شده نسبت به گاوهای درمان نشده به ازای حجم بافت جسم زرد کاهش یافته است (۳). برای مثال در تحقیقات آقای Dahlen میزان پروژسترون در گاوهای درمان شده و نشده به ترتیب ۳/۲ و ۳/۸ نانوگرم در میلی لیتر به ازای هر سانتیمتر مکعب حجم بافت جسم زرد بوده است. آنها در کل این نتیجه گیری را می کنند که گرچه تعداد و حجم کلی بافت جسم زرد متعاقب تزریق hCG افزایش می یابد ولی این افزایش تا حدودی با کاهش تولید پروژسترون در واحد حجم بافت اجسام زرد جبران و خنثی می گردد. این نتایج توسط تحقیقات آزمایشگاهی که Veenhuizen و Fricke انجام داده اند نیز تایید گشته است آنها اعلام می دارند که تولید پروژسترون بازال و یا القا شده توسط LH در واحد حجم بافت اجسام زرد فرعی کمتر از جسم زرد اصلی بوده است (۴، ۱۶).

نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات Schmitt (۱۹۹۶) و Hanlon و همکاران (۲۰۰۵) همخوانی دارد. آنها گزارش دادند که تزریق ۱۵۰۰ واحد hCG در روز پنجم بعد از تلقیح مصنوعی، میزان باروری را در اولین تلقیح بهبود نمی بخشد. (۵، ۱۲)، Helmer و همکاران نیز در سال ۱۹۸۶ گزارش کردند که تزریق ۵۰۰ واحد hCG در روز ۳ بعد از تلقیح میزان باروری را بالا نمی برد. (۶، ۷) همچنین

References

- 1-Breuel, K. F., Spitzer, J. C. and Henricks, D. M. (1989). Systemic progesterone concentration following human chorionic gonadotropin administration at various times during the estrous cycle in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 67:1564-1572
- 2-Breuel, K. F., Spitzer, J. C., Thompson, C. E. and Breuel, J. F. (1990). First-service pregnancy rate in beef heifers as influenced by human chorionic gonadotropin administration before and/or after breeding. *Theriogenology* 34:139-145
- 3-Dahlen, C. R., Bird, S. L., Martel, C. A., Olson, K. C., Stevenson, J. S. and Lamb, J. C. (2009). Administration of human chorionic gonadotropin 7 days after fixed-time AI of suckled beef cows. Published Online First on February 26, 2010 as doi: 10. 2527/jas.2009-2596.
- 4-Fricke, P.M., Reynolds, L.P. and Redmer, D.A. (1993). Effect of human chorionic gonadotropin administered early in the estrous cycle on ovulation and subsequent luteal function in cows. *J. Anim. Sci.*, 71:1242
- 5-Hanlon, D.W., Jarrat, G.M., Davison, P.J., Millar A.J., and Douglas, V.L. (2005). The effect of hCG administration five days after insemination on first service conception rate of anestrous dairy cows. *Theriogenology*, 63:1938-1945
- 6-Helmer, S.D. and Britt, J.H. (1986). Fertility of dairy cattle treated with human chorionic gonadotropin (hCG) to stimulate progesterone secretion. *Theriogenology*, 26:6: 683-695
- 7-Helmer, S.D. and Britt, J.H. (1987). Hormone secretion and characteristics of estrous cycles after treatment of heifers with human gonadotropin or prostaglandin F_{2α} during corpus luteum formation. *J. Anim.*

گرد که متوسط عیار سرمی در دو گروه درمان شده و کنترل در قبل از تزریق hCG تفاوت معناداری را با یکدیگر نشان نمی دهند. شاید بهتر می بود که گروه های کنترل و درمان شده ای نیز از میان دام های واکل که بطور معناداری عیارهای سرمی کمتری از پروژسترون را نسبت به دو گروه بالا نشان می دادند نیز در این تحقیق گنجانیده می شدند تا میزان تاثیر افزایش بالا رفتن عیار سرمی پروژسترون و متعاقباً میزان باروری آنها پس از درمان با hCG بهتر سنجیده می شد. البته با توجه به تحقیقات صورت گرفته توسط دیگر محققین (۱۳، ۶، ۷، ۳) نمی توان بالا رفتن عیار سرمی پروژسترون را در همه حال مترادف با افزایش میزان باروری دانست چرا که بسیاری از محققین همچون Dahlen اعلام داشته اند که با وجود افزایش عیار پروژسترون متعاقب تزریق hCG به نتایج مطلوبی در جهت افزایش میزان باروری دست نیافته اند و شاید این هیپوتز قابل طرح باشد که احتمالاً تاثیر کاهش عیار سرمی پروژسترون بر میزان باروری نسبت به افزایش آن در گاوهای شیری مهم تر و معنادارتر خواهد بود که البته نیازمند انجام مطالعات تکمیلی بیشتری می باشد.

- Sci.,64:74:782
- 8-Lucy M.C.(2001).Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? J Dairy Sci;84:1277-1293
- 9-Mann,G.M.and Lamming,G.E.(1999).The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. Reprod.Domest Anim., 34:269-279
- 10-Peters, A.R., Drew, S.B, Mann, G.E., Lamming, G.E. and Beck, N.F.(1992). Experimental and practical approaches to the establishment and maintenance of pregnancy.J.Physiol. Phamacol.,43:143-152
- 11-Santos, J.E.P, Thatcher,W.W., Pool, L. and Overton, M.W.(2001). Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows.J.Anim.Sci., 79:2881-2894
- 12-Schmitt, E.J., Diaz, T., Barros, C.M., De la Sota, R.L. and Drost, M. (1996).Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin releasing hormone.J. Anim.Sci.,74: 1074-1083
- 13-Shams-Esfandabadi, N., Shirazi, A., Mirshokrai, P. and Bonyadian, M.(2007).Influence of hCG Administration after AI on Conception Rates and Serum Progesterone Concentration in Cattle.Pakistan j.Bio. Sci. 10(16):2709-2713
- 14-Stevenson, J. S., Portaluppi, M. A., Tenhouse, D. E., Lloyd, A. Eborn, D. R., Kacuba, S. and DeJarnette J. M.. (2007). Interventions after artificial insemination: conception rates, pregnancy survival, and ovarian response to gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone. J. Dairy Sci. 90:331-340
- 15-Twagiramungu, H., Guilbault, L.A., Proulx, J.G. and Dufour, J.J.(1995).Buserelin alters the development of the corpora lutea in cyclic and early postpartum cows.J.Anim.Sci.,73:805-811
- 16- Veenhuizen, E. L., Wagner, J. F. and Tonkinson, L. V.(1972). Corpus luteum response to 6-chloro Δ 6-17 acetoxypregesterone and hCG in the cow. Biol. Reprod. 6:270-276
- 17-Willard,S., Gandy, S., Bowers, S., Graves, K., Elias, A. and Wisnant, C.(2003).The effect of GnRH administration post insemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress.Theriogenology,59:1799-1810