

تأثیر اکسی توسین بر کیفیت منی قوچ نژاد زل در خارج از فصل تولیدمثلی

نارنجی ثانی، ر.^۱، قزوینیان، خ.^۲، شبانی، ق.^۳، قره مشک غراوی، ج.^۴

دریافت: ۱۳۹۳/۰۲/۰۲ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۹/۱۶

خلاصه

هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر اکسی توسین بر مشخصات منی قوچ نژاد زل در خارج از فصل تولیدمثلی است. ۱۸ قوچ بالغ به صورت تصادفی انتخاب و در ۳ گروه مساوی، یک گروه کنترل و ۲ گروه درمانی (اکسی توسین ۵ و اکسی توسین ۱۰)، تقسیم شدند. یک سی سی سدیم کلراید ۰/۹ درصد به قوچ‌های گروه کنترل تزریق شد و در گروه‌های درمانی اکسی توسین ۵ و ۱۰ به ترتیب ۵ واحد بین‌المللی و ۱۰ واحد بین‌المللی اکسی توسین به هر کدام از قوچ‌ها به صورت عضلانی تزریق شد. نمونه‌های منی، ۱۰ دقیقه پس از هر کدام از تزریقات، بوسیله الکترو اِجاکولاتور جمع‌آوری شدند. این مطالعه نشان داد که اکسی توسین تغییری را در تحرک اسپرم و تعداد اسپرم غیر طبیعی، در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نمی‌کند و حجم منی، حرکت دسته جمعی و تعداد کلی اسپرم در گروه درمانی اکسی توسین به طور معنی‌داری ($P < 0/05$) نسبت به کنترل افزایش نشان داده است. در مجموع، دوز ۱۰ واحد بین‌المللی اکسی توسین موجب افزایش حرکت دسته جمعی، تعداد کلی اسپرم، اسپرم زنده و غلظت اسپرم شده و می‌توان از این هورمون برای تولیدمثل خارج از فصل تولیدمثلی با دوز مذکور استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اکسی توسین، کیفیت منی، قوچ نژاد زل، خارج از فصل تولیدمثلی.

۱. گروه علوم در مانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

۲. گروه علوم دامی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

۳. دانشجوی کارشناسی علوم دامی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

۴. دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

و ۲۱ دقیقه تا ۳۶ درجه و ۳۸ دقیقه عرض شمالی و ۵۲ درجه و ۴۳ دقیقه تا ۵۳ درجه و ۳ دقیقه طول شرقی از نصف النهار گرینویچ در خارج از فصل تولیدمثلی طی ماه‌های اردیبهشت تا مرداد سال ۱۳۹۲ انجام شده است. حیوانات مورد آزمایش قبل از ورود به طرح از نظر شرایط بالینی، بهداشتی و سلامت تولیدمثلی مورد معاینه قرار گرفتند. ۱۸ قوچ نژاد زل با میانگین وزنی ۴۰ کیلوگرم با میانگین نمره بدنی ۲/۵ و سه سال سن در ۳ گروه درمانی شرکت داده شدند. بررسی آزمایشگاهی در آزمایشگاه تولیدمثل دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان انجام پذیرفت.

جمع آوری منی و تجویز اکسی توسین

به هرکدام از قوچ‌های گروه کنترل، سرم فیزیولوژی (ساخت شرکت ثامن مشهد) تزریق عضلانی شد. در دو گروه درمانی اکسی توسین، با نام تجاری وتوسین (ساخت شرکت ابوریحان)، با دوزهای ۵ و ۱۰ واحد بین‌المللی به هرکدام از قوچ‌های درمانی در این گروه‌ها، به روش داخل عضلانی، تزریق شد. نمونه‌های منی با روش الکترو اجاکولاتور از تمام قوچ‌ها در ۳۰ ساعت پس از تزریق عضلانی، اخذ شد. نمونه‌های منی تا زمان ارزیابی منی در دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

ارزیابی منی

حجم منی به صورت مستقیم با خواندن درجه بندی بر روی لوله‌های جمع‌آوری تعیین شد. برای تعیین حرکت دسته جمعی، یک قطره از منی رقیق نشده بر روی لام گرم (۳۷ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد و توسط میکروسکوپ نوری (Olympus, BX53) با حفظ دمای لام با بزرگنمایی ۱۰۰، مورد ارزیابی قرار گرفت. دیافراگم کندنسور به منظور افزایش تطابق کاهش داده شد. ارزیابی حرکت دسته جمعی به این صورت بود:

۵: حرکت دسته جمعی تیره سریع

۴: حرکت دسته جمعی تیره آهسته تر

۳: حرکت دسته جمعی آهسته

۲: بدون حرکت دسته جمعی، اما حرکت انفرادی مشخص

۱: حرکت انفرادی اندک و ۰: بدون حرکت انفرادی (Barth, ۱۹۹۷).

نمونه‌های منی با سدیم سیترات ایزوتونیک با نسبت ۱ به ۱۰ (منی به سیترات سدیم) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رقیق شد. لام زیر میکروسکوپ نوری قرار گرفته و تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم شد. یک قطره کوچک از منی رقیق شده بر روی لام قرار گرفته و درصد

اکسی توسین یک هورمون موثر از نظر تولیدمثلی در دو جنس نر و ماده در تمام گونه‌های پستانداران است. اکسی توسین در هسته‌های سوپرا اپتیک و پارا و تریکولار هیپوتالاموس تولید می‌شود. با ترشح عصبی، هورمون به لب‌های خلفی هیپوفیز مهاجرت می‌کند، در آنجا ذخیره شده و در پاسخ به تحریکات نورونی آزاد می‌شود (Barth, ۱۹۹۷). اکسی توسین موجب تسریع تحرک اسپرم در طی انتقالش در مجاری آوران و اپیدیدیم می‌شود (Nicholson و همکاران، ۱۹۹۹) که این حرکت توسط تحریک سلول‌های عضلات صاف صورت می‌گیرد. تزریق اکسی توسین قبل از جمع‌آوری منی، غلظت اسپرم را در گونه‌های مختلف پستانداران مانند قوچ (Knight, ۱۹۷۴)، خرگوش (Fjellstram و همکاران، ۱۹۶۸)، گاو (Berndtson و Igboeli, ۱۹۸۸) و گاو میش (Ibrahim, ۱۹۸۸) افزایش می‌دهد. همچنین تجویز این هورمون باعث افزایش غلظت تستسترون پلاسمای منی، حجم منی، حرکت دسته جمعی اسپرم، غلظت اسپرم، تعداد کلی اسپرم و تعداد اسپرم متحرک در اولین انزال می‌شود که این اثر ناشی از افزایش انتقال اسپرم از اپیدیدیم است (Bozkurt و همکاران، ۲۰۰۷). همزمانی فحلی در خارج از فصل تولیدمثلی در میش‌ها به وفور اجرا می‌شود، بنابراین تلاشی به منظور افزایش باروری قوچ در خارج از فصل تولیدمثلی ضروری به نظر می‌رسد و با توجه به اینکه مطالعات پیشین نشان داده اند که اکسی توسین تاثیر مثبت بر کیفیت منی در داخل فصل تولیدمثلی دارد (Bozkurt و همکاران، ۲۰۰۷) این احتمال می‌رود که شاید در خارج از فصل نیز بتوان از این هورمون با هدف افزایش باروری قوچ استفاده کرد.

گوسفند زل از گوسفندان کوچک جثه ایرانی است و تنها نژاد کشور است که بدون دنبه است. منشا این نژاد شمال ایران، و استان‌های مازندران و گلستان است. هم زمانی فحلی در خارج از فصل تولیدمثلی به میزان گسترده ای استفاده شده و مطالعات پیشین نیز اثر مثبت اکسی توسین را بر کیفیت منی در سایر حیوانات نشان داده اند. بنابراین، هدف از انجام این مطالعه ارزیابی تاثیر تزریق داخل عضلانی اکسی توسین بر کیفیت منی در نژاد زل قبل از اخذ منی با روش الکترو اجاکولاتور است.

مواد و روش‌ها

حیوانات و محل انجام مطالعه

بخش بالینی مطالعه در کلینیک پژوهشی علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی واحد قائمشهر با موقعیت جغرافیایی: ارتفاع ۵۱/۲ متر از سطح دریا و طول و عرض جغرافیایی بین ۳۶ درجه

تغییر معنیداری را در تحرک اسپرم و میزان اسپرم غیرطبیعی نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرده است ($P > 0.05$). حجم منی، فعالیت دسته جمعی اسپرم و تعداد کلی اسپرم در گروه‌های درمانی بدون توجه به دوز درمانی اکسی‌توسین، افزایش معنیداری در مقایسه با گروه کنترل داشته است ($P < 0.05$). اسپرم زنده در گروه اکسی‌توسین ۱۰ واحد بین‌المللی به صورت معنیداری بیشتر از گروه‌های درمانی ۵ واحد بین‌المللی و گروه کنترل بوده است. و در غلظت اسپرم نیز افزایش معنیداری در گروه درمانی ۱۰ واحد بین‌المللی نسبت به گروه درمانی ۵ واحد بین‌المللی و گروه کنترل دیده شده است ($P < 0.05$). و از طرفی این غلظت در گروه درمانی ۵ واحد بین‌المللی به صورت معنیداری بیش از گروه کنترل بوده است ($P < 0.05$).

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که اکسی‌توسین می‌تواند مشخصات منی در قوچ نژاد زل را در خارج از فصل تولیدمثلی بهبود دهد. اکسی‌توسین صناعی دارای اثرات مشابهی با هورمون طبیعی آن دارد. این هورمون و آنالوگ‌های صناعی آن برای مدت زمان طولانی در طب انسانی و دامپزشکی استفاده شده است. اکسی‌توسین به عنوان یک هورمون دارای نقش در انتقال اسپرم و تحرک آن در حیوانات اهلی شناخته شده است (Watson و همکاران، ۱۹۹۹). در طی تحریک جنسی و انزال، اکسی‌توسین از هیپوفیز عصبی آزاد شده و به جریان خون محیطی می‌ریزد (Ogawa و همکاران، ۱۹۸۰). علاوه بر این، تجویز این هورمون، جمع‌آوری اسپرم بوسیله الکترو

تحرک از طریق مشاهده با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر ارزیابی شد. تخمین تحرک بر اساس مشاهده‌ی پنج شان مختلف از هر نمونه انجام شده است. میانگین ۵ شان مختلف به عنوان نمره نهایی تحرک گزارش شد.

برای تعیین درصد اسپرم‌های غیرطبیعی از نظر ریخت شناسی و همچنین اسپرم‌های زنده، از رنگ آمیزی ائوزین-نگروزین استفاده شد. تعداد ۳۰۰ اسپرماتوزوآ با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر از هر لام شمارش شد. غلظت اسپرم با هموسیتمتر اندازه گیری شد (Barth, ۱۹۹۷).

تعداد کلی اسپرم با حاصلضرب حجم منی و تعداد اسپرم در هر سی‌سی منی محاسبه شده است (Bozkurt و همکاران، ۲۰۰۷). تعداد اسپرم متحرک نیز با حاصلضرب تعداد کلی اسپرم و درصد اسپرم متحرک محاسبه شده است.

آنالیز آماری

اطلاعات با آنالیز واریانس‌ها تحلیل شد. تفاوت معنیدار بین گروه‌ها با استفاده از آزمون دانکن ارزیابی شد و تمام اطلاعات توسط نرم افزار SAS نسخه ۸/۲ مورد تحلیل و ارزیابی قرار گرفت.

مقایسه بین گروه‌های درمانی اکسی‌توسین و کنترل

مقادیر مشخصات منی مربوط به مقایسه گروه‌های درمانی اکسی‌توسین با گروه کنترل در جدول (۱) آمده است. در این جدول نشان داده شده است که تجویز اکسی‌توسین در هر دو گروه درمانی،

خطای استاندارد		گروه‌ها		مشخصات منی
	اکسی‌توسین ۱۰	اکسی‌توسین ۵	کنترل	
حجم (سی‌سی)	۰/۰۴	۰/۸۱ ^b	۰/۷۹ ^b	۰/۵۳ ^a
حرکت دسته جمعی (۵-۰)	۰/۱۱	۴/۵ ^b	۴/۳۳ ^b	۳/۶۶ ^a
تحرک اسپرم (درصد)	۱/۳۶	۸۰/۳۶	۷۷/۵۲	۷۶/۳
اسپرم زنده (درصد)	۱/۰۱	۸۳/۵۷ ^b	۷۹/۵۹ ^a	۷۹ ^a
میزان اسپرم غیر طبیعی	۰/۱	۸/۹۲	۹/۲۲	۹/۲۳
غلظت اسپرم	۰/۰۴	۲/۶۸ ^c	۲/۳۴ ^b	۱/۹۷ ^a
تعداد کلی اسپرم (سی‌سی/×۱۰۹)	۰/۱۳	۲/۲۳ ^b	۱/۸۹ ^b	۱/۰۷ ^a

جدول ۱. میانگین مقادیر مشخصات منی در گروه‌های درمانی اکسی‌توسین و کنترل.

حروف غیر مشابه در هر ردیف نمایانگر اختلاف معنی دار است ($P < 0.05$). اطلاعات به صورت میانگین \pm خطای استاندارد گزارش شده است

اجاکولاتور را تسهیل می‌بخشد (Palmer و همکاران، ۲۰۰۴). افزایش حجم منی، تعداد کلی اسپرم و غلظت اسپرم در مطالعه حاضر در گروه‌های درمانی اکسی‌توسین احتمالاً ناشی از افزایش غلظت اکسی‌توسین در خون و همچنین تاثیر آن بر خروج اسپرم و جمع‌آوری آن بوده است. این نتایج با نتایج دیگری که در قوچ (Bozkurt؛ ۱۹۷۴، knight و همکاران، ۲۰۰۷)، گاو (Palmer و همکاران، ۲۰۰۴؛ Berndtson و Igboeli، ۱۹۸۸) و گاو میش (Ibrahim، ۱۹۸۸) به دست آمده است هماهنگ می‌باشد. برخی از محققین (Nicholson و همکاران ۱۹۸۷) گزارش کرده اند که این هورمون آزادسازی تستسترون را افزایش می‌دهد. از طرفی در مطالعات دیگر نیز مشاهده شده است که تجویز اکسی‌توسین افزایش معنیداری در سطوح پلاسمای منی تستسترون پس از ۱۰ دقیقه از تجویز آن ایجاد می‌کند، اما این اثرات پس از ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه، در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشده است.

این افزایش تستسترون در پلاسمای منی پس از ۱۰ دقیقه از تجویز اکسی‌توسین ممکن است ناشی از افزایش سطح تستسترون در مایعات پروستاتیکی باشد که در اثر تجویز اکسی‌توسین حاصل شده است (Jenkin و Nicholson، ۱۹۹۵). افزایش تستسترون در پلاسمای منی می‌تواند دلیلی برای حجم منی، حرکت دسته جمعی، تعداد کلی اسپرم و اسپرم زنده در مطالعه حاضر باشد که در گروه‌های درمانی اکسی‌توسین مشاهده شده است. در یک مطالعه

(Jenkin و Nicholson، ۱۹۹۵) پیشنهاد شده است که تجویز داخل بیضه ای اکسی‌توسین کاهش حرکت اسپرم در موش را به همراه دارد. همچنین در مطالعه‌ی دیگری (Walch و همکاران، ۲۰۰۱) نیز گزارش شده است که اکسی‌توسین اثر قابل تشخیصی بر زمان انزال و فراسنجه‌های منی پس از کاربرد داخل بینی در مرد سالم و طبیعی نداشته است. این تفاوت بین نتایج حاصله از این تحقیق و آنچه در برخی از مطالعات پیشین به دست آمده است ممکن است ناشی از مواد متفاوتی باشد که در مطالعات استفاده شده و یا نحوه‌ی تجویز هورمونی باشد که به کار گرفته شده است. نتایج به دست آمده در مطالعه‌ی حاضر در زمینه‌ی حرکت دسته جمعی، تعداد کلی اسپرم و غلظت اسپرم مشابه نتایجی است که در سایر مطالعات در قوچ و در فصل تولیدمثلی اخذ شده است (Bozkurt و همکاران، ۲۰۰۷)

نتیجه گیری

در مجموع تزریق یک دوز اکسی‌توسین با میزان ۱۰ واحد بین‌المللی داخل عضلانی موجب افزایش حجم منی، حرکت دسته جمعی، تعداد کلی اسپرم و کاهش اسپرم غیرطبیعی در قوچ نژاد زل در خارج از فصل تولیدمثلی می‌شود. بنابراین می‌توان از این هورمون در خارج از فصل تولیدمثلی در قوچ‌ها به منظور افزایش قدرت باروری استفاده کرد.



Effects of Oxytocin on Semen quality of Zel Rams in non-breeding seasen

Narenji Sani, R.*¹, Ghazvinian, Kh.², Shabani, Gh.³, Ghare mashk gharavi, J.⁴.

Received: 22.04.2014

Accepted: 07.12.2014

Abstract

Objective of this study was to investigate the effect of Oxytocin on semen characteristics in Zel rams in out of breeding season. Eighteen Zel adult rams were randomly selected and divided into 3 equal groups, control and two treatment groups. 1 milliliter 0.9% saline was injected into each ram in the control group, whereas Oxytocin was administered Intra Muscle at a single dose of 5 IU and 10 IU to each ram in the two Oxytocin treatment groups. Semen samples were taken by an electro ejaculator from all rams 10 mins after injection. Oxytocin did not alter sperm motility or abnormal sperm, in comparison to the control values. Semen volume, mass activity, total sperm number of the Oxytocin treatment groups increased significantly ($P<0.05$) compared to the control group. In general, exogenous 10 IU Oxytocin increase mass activity, total sperm number, lived sperm and sperm concentration in Zel ramsm hence using this hormone with mention doses in nonbreeding season in rams is possible.

Key words: Oxytocin; Semen characteristics; Zel Ram; Nonbreeding season.

1. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran.
2. Department of Animal Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran.
3. Student of Animal Science, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran.
4. DVM Student, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran.

*Corresponding author: rezasani_vet@semnan.ac.ir

- Barth, A.D.** 1997. Evaluation of potential breeding soundness of the bull. In: Younquist, R. (Eds.), *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. WB saunders company, Philadelphia, Pp. 222-236.
- Berndtson, W.E., and Igboeli, G.** 1988. Spermatogenesis, sperm output and seminal quality of Holstein bulls electroejaculated after administration of oxytocin. *Journal of Reproduction and Fertility* **82**, 467-475.
- Bozkurt, T., Tuerk, G., Gar, S.** 2007. Effects of exogenous oxytocin on serologic and seminal steroids and semen characteristics in rams. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* **31**, 303-309.
- Fjellstram, D., Kihlstram, J.E., Melin, P.** 1968. The effect of synthetic oxytocin upon seminal characteristics and sexual behavior in male rabbits. *Journal of Reproduction and Fertility* **17**, 207-209.
- Ibrahim, M.A.** 1988. Influence of oxytocin and prostaglandin on semen characteristics and process of ejaculation in buffalo bulls. *Acta veterinary Hungarica* **36**, 3-7.
- Knight, T.W.** 1974. The effect of oxytocin and adrenaline on the semen output of rams. *Journal of Reproduction and Fertility* **39**, 329-336.
- Nicholson, H.D., Jenkin, L.** 1995. Oxytocin and prostatic function. *Advance in Experimental Medicine and Biology* **395**, 529-538.
- Nicholson, H.D., Parkinson, T.J., Lapwood, K.R.** 1999. Effects of oxytocin and vasopressin on sperm transport from the cauda epididymis in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* **117**, 299-305.
- Nicholson, H.D., Worley, R.T.S., Guldenaar, S.E.F., Pickering, B.T.** 1987. Ethan-1, 2-dimethanesulphonate reduces testicular oxytocin content and seminiferous tubule movements in the rat. *Journal of Endocrinology* **112**, 311-318.
- Ogawa, S., Kudo, S., Kitsunai, Y., Fukuchi, S.** 1980. Increase in oxytocin secretion at ejaculation in male. *Clinal Endocrinology* **13**, 95-97.
- Palmer, C.W., Amundson, S.D., Brito, L.F.C., Waldner, C.L., Barth, A.D.** 2004. Use of oxytocin and cloprostenol to facilitate semen collection by electroejaculation or transrectal massage in bulls. *Animal Reproduction Science* **80**, 213-223.
- Walch, K., Eder, R., Schindler, A., Feichtinger, W.** 2001. The effect of single-dose oxytocin application on time to ejaculation and seminal parameters in men. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* **18**, 655-659.
- Watson, E.D., Nikolakopoulos, E.C., Goode, J.** 1999. Oxytocin in the semen and gonads of the stallion. *Theriogenology* **51**, 855-865.