

تأثیر گنادوتروپین کوریونی اسبی بر مشخصات منی قوچ نژاد زل در خارج از فصل تولیدمثلی

نارنجی ثانی، ر.^{۱*}، قره مشک غراوی، ج.^۲، معزی فر، م.^۳.

دریافت: ۱۳۹۳/۰۷/۰۲ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۰۹

خلاصه

هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر گنادوتروپین کوریونی اسبی (eCG) بر مشخصات منی قوچ نژاد زل در خارج از فصل تولیدمثلی بوده است. در این بررسی، ۱۸ قوچ بالغ به صورت تصادفی و برابر در ۳ گروه، یک گروه کنترل و ۲ گروه درمانی، تقسیم شدند. یک میلی لیتر سدیم کلراید ۰/۹ درصد به قوچ‌های گروه کنترل تزریق شد، در صورتیکه در گروه‌های درمانی، گنادوتروپین کوریونی اسبی در دو دوز ۴۰۰ واحد بین‌المللی و ۶۰۰ واحد بین‌المللی به هریک از قوچ‌ها به صورت عضلانی تزریق شد. نمونه‌های منی ۱۰ دقیقه پس از هر کدام از تزریقات بوسیله الکترواچاکولاتور جمع‌آوری شدند. این مطالعه نشان داد که گنادوتروپین کوریونی اسبی تغییری در حجم منی، درمقایسه با گروه کنترل ایجاد نمی‌کند. حرکت دسته جمعی، تحرک اسپرم و تعداد کلی اسپرم به صورت معنی داری ($P < 0/05$) در گروه درمانی گنادوتروپین کوریونی اسبی نسبت به کنترل افزایش داشته است. در مجموع، دوز ۶۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین کوریونی اسبی موجب افزایش حرکت دسته جمعی، تعداد کلی اسپرم، اسپرم زنده و غلظت اسپرم شد. می‌توان از این هورمون برای تولیدمثل خارج از فصل تولیدمثلی با دوزهای مذکور استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: گنادوتروپین کوریونی اسبی، مشخصات منی، قوچ نژاد زل.

۱. گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

۲. دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

۳. گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

*نویسنده مسؤول: Rezasani_vet@Semnan.ac.ir

گنادوتروپین کوریونی اسبی (equine corionic gonadotropin) که گنادوتروپین سرم مادبان آستن نیز نامیده می‌شود متعلق به خانواده هورمون‌های گلیکوپروتئینی و با وزن مولکولی ۶۲ کیلو دالتون است. در اسب‌سانان این هورمون تنها فعالیت شبه هورمون لوتئینه کننده (Luteinizing Hormone (LH)) دارد، اما در سایر گونه‌ها دارای فعالیت شبه هورمون تحریک کننده رشد فولیکول (Follicle Stimulating Hormone (FSH)) و هورمون لوتئینه کننده دارد. به‌هرحال، فعالیت شبه هورمون تحریک کننده رشد فولیکول این هورمون غالب تر بوده و به علت میزان اسید سیالیکی که در ساختار آن وجود دارد، نیمه عمر آن طولانی‌تر از هورمون لوتئینه کننده و هورمون تحریک کننده رشد فولیکول است. استفاده از گزوزن از گنادوتروپین‌ها به وسعت به منظور تحریک ترشح استروئیدها توسط سلول‌های لایدیگ در محیط آزمایشگاه (*in vitro*) انجام شده است (Hashizume و همکاران، ۱۹۹۶). در مطالعات درون تنی (*in vivo*) این هورمون القاء ترشح تستسترون و فعالیت سلول‌های سرتولی در سگ‌های آستنوزوسپرمیک (Asthenospermia) را باعث شده بود (Kawakami و همکاران، ۲۰۰۰). علاوه بر آن، تجویز هورمون گنادوتروپین کوریونی اسبی در رت‌هایی که فعالیت گنادی آنها مهار شده بود موجب افزایش وزن بیضه، قطر بیضه‌ها و فعالیت لوله‌های اسپرم‌ساز و اسپرماتوزن گردیده بود (Patil و همکاران، ۱۹۹۸). از طرفی یک تزریق گنادوتروپین کوریونی اسبی سبب افزایش گذرا در ترشح تستسترون در قوچ‌های بالغ (۱۴ ماهه) و قبل از بلوغ (۵ ماهه) شده بود (Hochereau-De Reviers و همکاران، ۱۹۹۰). در موش نیز تزریق گنادوتروپین کوریونی اسبی در تحریک بلوغ اسپرماتوزوآ مفید بوده است (Hashizume و همکاران، ۱۹۹۶). نژاد زل از گوسفندان کوچک جثه ایرانی است و تنها نژاد کشور است که بدون دنبه می‌باشد. منشا این نژاد شمال ایران، و استان‌های مازندران و گلستان است. گوسفند نژاد زل ۶/۲ درصد از کل جمعیت گوسفندان کشور را به خود اختصاص داده است. نژادی مهم در تامین گوشت است زیرا که گوشتی با حداقل چربی را در اختیار قرار می‌دهد اما دارای وزن بدنی اندک است (ساور سفلی و سید شریفی، ۱۳۹۴). همزمانی فحلی در خارج از فصل تولیدمثلی به میزان گسترده ای استفاده می‌شود و مطالعات پیشین نیز اثر مثبت گنادوتروپین کوریونی اسب‌سانان را بر کیفیت منی در سایر حیوانات نشان داده اند (Ogasa و Yokoki، ۱۹۸۰؛ Bartlett و همکاران، ۱۹۸۹؛ Hashizume و همکاران، ۱۹۹۶). بنابراین، هدف از انجام این مطالعه ارزیابی تاثیر تزریق داخل عضلانی گنادوتروپین

کوریونی اسبی بر کیفیت منی در نژاد زل قبل از اخذ منی با روش الکترواجاکولاتور بوده است.

مواد و روش‌ها

حیوانات و محل انجام مطالعه

این 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 و ۲۱ دقیقه تا ۳۶ درجه و ۲۸ 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 شده اند. مراحل آزمایشگاهی طرح در آزمایشگاه تولیدمثل دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان انجام گرفته است.

جمع‌آوری منی و تجویز گنادوتروپین کوریونی اسبی

سالمین فیزیولوژیک (ساخت شرکت ثامن مشهد)، به هرکدام از قوچ‌های گروه کنترل تزریق عضلانی شد. گنادوتروپین کوریونی اسبی با نام تجاری پرگنکول (ساخت شرکت بیونیک استرالیا) نیز در گروه‌های درمانی گنادوتروپین کوریونی اسبی با دوزهای ۴۰۰ و ۶۰۰ واحد بین‌المللی به هر کدام از قوچ‌ها در این دو گروه درمانی تزریق عضلانی شد. نمونه‌های منی با روش الکترواجاکولاتور 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 با حفظ دمای لام با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر مورد ارزیابی قرار گرفت (Bozkurt و همکاران، ۲۰۰۷).

نحوه ارزیابی حرکت دسته جمعی به این صورت بود: ۵ برای حرکت دسته جمعی تیره سریع، ۴ برای حرکت دسته جمعی تیره آهسته تر، ۳ برای حرکت دسته جمعی آهسته، ۲ برای عدم حرکت دسته جمعی و حرکت انفرادی مشخص و ۱ برای حرکت انفرادی اندک و صفر در نظر گرفته شد (Barth، ۱۹۹۷).

نمونه‌های منی با سدیم سترات ایزوتونیک با نسبت ۱ / ۱۰ (منی/

سترات 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 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 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 هموسایتمتراندازه گیری شد (Barth، ۱۹۹۷). تعداد کلی اسپرم با حاصلضرب حجم منی و تعداد اسپرم در هر سی‌سی منی محاسبه شده است. تعداد اسپرم متحرک نیز با حاصلضرب تعداد کلی اسپرم و درصد اسپرم متحرک محاسبه شده است (Bozkurt و همکاران، ۲۰۰۷).

آنالیز آماری

اطلاعات با آنالیز واریانس‌ها تحلیل شد. تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها با استفاده از آزمون دانکن ارزیابی شده و تمام اطلاعات توسط نرم

افزار SAS نسخه ۸/۲ تحلیل شد. $P < 0.05$ نشان دهنده تفاوت معنی دار بود.

نتایج

مقایسه بین گروه‌های درمانی گنادوتروپین کوریونی اسبی و گروه کنترل

یافته‌های مربوط به مشخصات منی مربوط به مقایسه گروه‌های درمانی گنادوتروپین کوریونی اسبی با گروه کنترل در جدول ۱ آورده شده است. در این جدول مشاهده می‌شود که تجویز گنادوتروپین کوریونی اسبی در هر دو گروه درمانی تغییر معنی‌داری در حجم منی ایجاد نکرد ($P > 0.05$). حرکت دسته جمعی، تحرک اسپرم و تعداد کلی اسپرم در گروه‌های درمانی بدون توجه به دوز درمانی افزایش داشت ($P < 0.05$). میزان اسپرم غیرطبیعی در گروه درمانی ۶۰۰ واحد بین‌المللی به میزان معنی‌داری کمتر از گروه درمانی ۴۰۰ واحد بین‌المللی و کنترل بود ($P < 0.05$) و در گروه درمانی ۶۰۰ واحد بین‌المللی تعداد اسپرم‌های زنده و غلظت اسپرم به صورت معنی‌داری بالاتر از گروه‌های درمانی ۴۰۰ واحد بین‌المللی و گروه کنترل بوده و از طرفی این شاخص‌ها در گروه درمانی ۴۰۰ واحد بین‌المللی به صورت معنی‌داری بیش از گروه کنترل بود ($P < 0.05$).

مشخصات منی	گروه‌ها		
	کنترل	eCG ξ_{00}	خطای استاندارد
حجم (سی‌سی)	۰/۷۶	۰/۸	۰/۴۰
حرکت دسته جمعی (۵-۰)	۳/۵ ^a	۴/۶ ^b	۰/۷۱
تحرک اسپرم (درصد)	۸۶/۳۰ ^a	۳۷/۲۵ ^b	۱/۴۱
اسپرم زنده (درصد)	۵۷/۳۱ ^a	۶۷/۸۲ ^b	۰/۱۳
میزان اسپرم غیر طبیعی	۸/۱۸ ^a	۸/۴۷ ^a	۰/۵۱
غلظت اسپرم	۱/۹ ^a	۲/۳۳ ^b	۰/۶۰
تعداد کلی اسپرم (سی‌سی/۱۰ ^۹ ×)	۱/۷۳ ^a	۱/۸۸ ^b	۰/۱۱

اطلاعات به صورت میانگین \pm خطای استاندارد گزارش شده است. حروف نامتجانس نشان دهنده ($P < 0.05$) می‌باشد.

جدول ۱. میانگین مقادیر مشخصات منی در گروه‌های درمانی گنادوتروپین کوریونی اسب‌سانان و کنترل

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که گنادوتروپین کوریونی اسبی می‌تواند مشخصات منی در قوچ نژاد زل را در خارج از فصل تولیدمثلی بهبود دهد. بسیاری از مطالعات پیشین (Berswordt-Wallrabe و Neuman، ۱۹۶۸؛ Loštroh، ۱۹۶۹؛ Yokoki و Ogasa، ۱۹۸۰؛ Bartlett و همکاران، ۱۹۸۹؛ Hashizume و همکاران،



Effects of equine corionic gonadotropin on the semen characteristics of Zel Rams in nonbreeding season

Narenji Sani, R.*¹, Ghare Mashk Gharavi, J.², Moezifar, M.³.

Received: 24.09.2014

Accepted: 30.12.2014

Abstract

Objective of this study was to investigate the effect of equine corionic gonadotropin on semen characteristics in Zel rams in nonbreeding season. Eighteen Zel adult rams were randomly divided into three equal groups, control and two treatment groups. 1 milliliter of 0.9% saline was injected into each ram in the control group, whereas equine corionic gonadotropin was administered Intramuscular at a single dose of 400 IU and 600 IU to each ram in the two equine corionic gonadotropin treatment groups. Semen samples were taken by an electroejaculator from all rams 10 minutes after injection. Equine corionic gonadotropin did not alter semen volume in comparison with the control values. Mass activity, sperm motility and total sperm number increased significantly ($P < 0.05$) in equine corionic gonadotropin group compared with the control group; In general, exogenous 600 IU equine corionic gonadotropin increased mass activity, total sperm number, lived sperm and sperm concentration. This hormone can be used with mentioned doses for the purpose of breeding in nonbreeding season.

Key words: : Equine corionic gonadotropin, Semen characteristics, Zel Ram.

1. Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran.
2. Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran.
3. Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

*Corresponding author: Rezasani_vet@Semnan.ac.ir

تستسترونی باشد که در مطالعات گذشته به آن اشاره کرده اند (Hashizume و همکاران، ۱۹۹۶) و این افزایش می‌تواند در فرایند اسپرماتوژنز نقش داشته باشد.

بین کاهش اندازه بیضه و تعداد سلول‌های لایدیگ در فصل غیر تولیدمثلی در بلدرچین کالیفرنایی ارتباط وجود داشت (Jones ، ۱۹۷۰). بنابراین در این مطالعه به دلیل اهمیت تولید مثل قوچ در خارج از فصل آن، از گنادوتروپین کوریونی اسب‌سانان با هدف بهبود مشخصات منی در نژاد زل و حذف کاهش احتمالی تعداد سلول‌های لایدیگ بهره گرفته شده است.

نتیجه گیری

در مجموع، تجویز داخل عضلانی ۶۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین کوریونی اسبی به صورت تک دوز در قوچ نژاد زل در خارج از فصل تولیدمثلی حرکت دسته جمعی، تحرک اسپرم، تعداد کلی اسپرم، اسپرم زنده و غلظت اسپرم را افزایش و تعداد اسپرم غیرطبیعی را کاهش داد. بنابراین می‌توان از این هورمون در خارج از فصل تولیدمثلی در قوچ‌ها به منظور افزایش قدرت باروری استفاده کرد.

قوچ‌های نابالغ نداشته است (Bielli و Ungerfeld ، ۲۰۰۸). آنچه که در آن مطالعه به عنوان دلیل احتمالی فقدان نتایج مثبت ذکر شده است تجویز هفتگی گنادوتروپین کوریونی اسب‌سانان بوده است، که ممکن است یک پاسخ ایمنی ایجاد کرده و بنابراین موجب از بین بردن اثربخشی خود شده باشد. از آنجاییکه اجزاء پروتئینی این هورمون در نشخوارکنندگان هترولوگ است، بنابراین به دنبال تکرار تجویز آن آنتی بادی‌هایی بر علیه آن در چند حروف غیر مشابه در هر ردیف نمایانگر اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

اما در مطالعه‌ی حاضر، ما فقط از تک تزریق گنادوتروپین کوریونی اسبی بهره برده ایم تا این اثر را خنثی کنیم، و در مطالعات گذشته نیز ذکر شده است که پس از یک تزریق گنادوتروپین کوریونی اسب‌سانان، افزایشی حاد در ترشح هورمون تستسترون اتفاق می‌افتد (Hochereau-De Reviers و همکاران، ۱۹۹۰).

افزایش معنی‌دار حرکت دسته جمعی، تحرک اسپرم، تعداد کلی اسپرم، اسپرم‌های زنده و غلظت اسپرم و کاهش معنی‌دار میزان اسپرم‌های غیرطبیعی در مطالعه حاضر در قوچ نژاد زل نیز می‌تواند به دلیل هایپرتروفی سلول‌های لایدیگ و افزایش ترشح هورمون

<https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00922.x>

Yokoki, Y., Ogasa, A. 1980. Effect of FSH and testosterone propionate on spermatogenesis in hypophysectomised immature male rats. *The Japanese Journal of Animal Reproduction*, **26**, 165-173.

ساور سفلی، س.، سید شریفی، ر. ۱۳۹۴. برآورد پارامترها و روند ژنتیکی صفات رشد در گوسفندان زل. فصلنامه تحقیقات کاربردی در علوم دامی، **۱۶**، ۱۱-۱۸.

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, USA, 222-236.

Bartlett, J.M.S., Weinbauer, G.F., Nieschlag, E. 1989. Differential effects of FSH and testosterone on the maintenance of spermatogenesis in the adult hypophysectomized rat. *The Journal of Endocrinology*, **121**, 49-58. PMID:2497224

Berswordt-Wallrabe, R. VO., Neumann, F. 1968. Successful reinitiation and restoration of spermatogenesis in hypophysectomized rats with pregnant mare's serum after a long-term regression period. *Experientia*, **24**, 499-501. PMID:5675002

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 Sciences*, **31**, 303-309.

Hashizume, K., Tsujii, H., Takagi, Y., Rokutanda, M. 1996. Effect of eCG Administration on the Reproductive Function in Hypogonadal (hpg) Male Mice. *Journal of Reproduction and Development*, **42**, 47-53. <https://doi.org/10.1262/jrd.42.47>

Hochereau-De Reviers, M.T., Copin, M., Seck, M., Monet-Kuntz, C., Cornu, C., Fontaine, I., Perreau, C. 1990. Stimulation of testosterone production by PMSG injection in the ovine male: effect of breed and age and application to males carrying or not carrying the "F" Booroola gene. *Animal Reproduction Science*, **23**, 21-32.

Jones, R.E. 1970. Effect of season and gonadotropin on testicular interstitial cells of California quail. *The Auk*, **87**, 729-737.

Kawakami, E., Hori, T., Tsutsui, T. 2000. Changes in plasma testosterone and testicular transferrin concentration, testicular histology and semen quality after treatment of testosterone-depot plus PMSG to 3 dogs with asthenozoospermia. *The Journal of Veterinary Medical Science*, **62**, 203-206. <https://doi.org/10.1292/jvms.62.203>

Lostron, A.J. 1969. Regulation by FSH and ICSH (LH) of reproductive function in the immature male rat. *Endocrinology*, **85**, 438-445. <https://doi.org/10.1210/endo-85-3-438>

Patil, S.R., Sonar, A., Londonkar, R., Patil, S.R., Patil, S.B. 1998. Efficacy of exogenous gonadotropins on the maintenance of spermatogenesis in pethidine treated albino rats. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, **42**, 509-514. PMID:10874352

Ungerfeld, R., Bielli, A. 2008. No change detected in body weight, scrotal circumference, semen characteristics and sexual behavior during the development of prepubertal Milchschaaf lambs after weekly administration of eCG. *Reproduction in Domestic Animals*, **43**, 400-402.