

تأثير النمو الجريبي بعد توقيت الإباضة في التحلل اللوتيني المبكر عند نعجات العواس

عبير سلوم^١، المعتصم بالله الدقر^٢، محمد الصالح^٣

* ١ طالبة دكتوراه في قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

٢ باحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، وزارة الزراعة.

٣ أستاذ مساعد في قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

الملخص:

هدفت الدراسة الحالية إلى تحري إمكانية تقليل التحلل المبكر للجسم الأصفر عن طريق استبدال العامل المحرض للإباضة hCG بـ GnRH. استخدم في الدراسة ٣٩ نعجة عواس وزعت عشوائياً وبالتساوي بعد ٧٢ ساعة من التلقيح الصناعي إلى ثلاث مجموعات. حُقنت المجموعة الأولى بـ ٣٧.٥ مايكروغرام من نظير (GnRH) Lecirelin، وحُقنت المجموعة الثانية بـ ١٠٠٠ وحدة دولية من hCG، بينما تُركت المجموعة الثالثة كشاهد حيث حُقنت بـ ١ مل محلول فيزيولوجي جُمعت عينات الدم على فترات يومية مختلفة بعد المعاملة بـ GnRH، وُحُللت البلازما لمعرفة تراكيز الكوليسترول - الإسترايول والبروجستيرون. فُحصت المبايض عند حقنة GnRH وبعد ٦٠ و ٨٤ ساعة بجهاز الأمواج فوق الصوتية المزود بمسبر خطي عبر المستقيم يعمل على تردد 7.5 MHz، وُعِدَت الجريبات المبيضية وُحُدَّت أقطارها بمساعدة مسماكٍ إلكترونيٍّ، وتم تشخيص الحمل بالأمواج فوق الصوتية عبر المستقيم في اليوم ٣٢ بعد التلقيح الصناعي.

لم يختلف عدد وحجم وأقطار الجريبات المبيضية بين مجموعات الدراسة طوال فترة الفحص ($P>0.05$)، كما لم تتأثر بداية الشبق ومدته بشكل كبير بالمعاملة ($P>0.05$) ولم يتم تسجيل أي اختلافات ($P>0.05$) في تراكيز البروجستيرون - الإسترايول والكوليسترول بين مجموعات التجربة خلال فترة الدراسة. كان واضحاً التحلل المبكر للجسم الأصفر في اليوم ٦.٢٥ بعد التلقيح الصناعي وبلغ ٧.٦٩٪ و ١٨.١٨٪ و ٢٣.٠٧٪ في مجموعات GnRH و hCG والشاهد على التوالي. لم يصل الانخفاض المتوقع في معدل التحلل المبكر للجسم الأصفر عند مجموعتي GnRH و hCG إلى مستوى المعنوية الإحصائية ($P>0.05$) ارتفع معدل الحمل إلى ٩٢.٣١٪ و ٨١.٨٢٪ في مجموعتي GnRH و hCG على التوالي مقارنة بـ ٧٦.٩٢٪ في مجموعة الشاهد. يُستنتج من الدراسة أن GnRH كان أكثر فعالية في الحد من التحلل المبكر للجسم الأصفر من hCG وكان استبدال hCG بـ GnRH كعامل محرض للإباضة دون جدوى.

الكلمات المفتاحية: GnRH، hCG، Ovsynch، تحلل الجسم الأصفر، نعجات العواس

تاريخ الإيداع: ٢٠٢١/١٠/١٠

تاريخ القبول: ٢٠٢٢/٢/٢٠



حقوق النشر: جامعة دمشق - سورية،

يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب

الترخيص CC BY-NC-SA 04

Effect of follicular development after ovulation synchronization on Premature luteolysis in Awassi sheep

Abir Salloum¹, Almoutassem Billah Aldaker², Mohammed Saleh³

¹ PhD. Student, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria.

² Assistant Professor, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria.

³ Researcher, General Authority for Scientific Agricultural Research, Ministry of Agriculture.

Abstract:

The purpose of the present study was to investigate the possibility to alleviate premature luteolysis by replacing the ovulation inducing agent hCG by GnRH. Thirty-nine Awassi ewes were equally and randomly assigned, 72 h after artificial insemination (AI), to one of three treatment groups. Ewes in the first group received 37.5 µg of the GnRH analogue (Lecirelin), the second were injected with 1000 I.U. of hCG and the third group served as a control and received 1 mL physiological saline solution (Control). Blood samples, collected at daily intervals after the time of GnRH treatment, were analyzed for plasma progesterone, estradiol and, cholesterol concentrations. Ovarian follicles were monitored at the time of GnRH administration, 60 and 84 hours with the aid of a real-time ultrasound scanner equipped with a 7.5 MHz transrectal linear array transducer. Antral follicles were counted and measured with electronic calipers. Pregnancy was diagnosed ultrasonographically at day 32 after AI. All statistical analyses were performed using the SAS package.

Numbers, sizes and diameters of ovarian follicles among treatment groups throughout the inspection period did not differ ($P>0.05$). Onset and duration of estrus were not significantly affected by treatment ($P>0.05$). No significant differences ($P>0.05$) were recorded in cholesterol, estradiol and progesterone concentrations among the treatment groups during the inspection period. Premature luteolysis became evident in ewes with longer estrus durations by day 6.25 after AI and amounted to 7.69%, 18.18 % and 23.07% in GnRH, hCG and control group, respectively. The expected reduction in the incidence of luteal insufficiency in GnRH group didn't reach the significance level ($P>0.05$). This reduction is considered substantial despite its statistical insignificance. Pregnancy rates increased to 92.31% and 81.82% in GnRH and hCG groups, respectively, compared to %76.92 in the control group. From the results it may be concluded that GnRH was more effective in reducing premature luteolysis than hCG. Substitution of hCG for GnRH as ovulation inducing agent was not beneficial.

Key Words: GnRH, Hcg, Ovsynch, Luteolysis, Awassi Sheep.

Received: 10/10/2021

Accepted: 20/2/2022



Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

المقدمة:

يستخدم البروجسترون الصناعي عادة في برامج توقيت الشبق، وقد تبين أن المعاملة به تسبب زيادة طول فترة سيادة الجريب الإباضي و يترافق ذلك مع انخفاض معنوي في معدل الحمل (Mihm وزملاؤه، ١٩٩٤)، كما أن الكفاءة الوظيفية للأجسام الصفراء الناتجة عن جريبات إباضية ذات فترة سيادة مطولة تكون غير كاملة ويمكن أن تنخفض معدلات الحمل كثيراً عندما يزداد طول فترة السيادة إلى ١٠ أيام (Mihm وزملاؤه، ١٩٩٤؛ Savio وزملاؤه، ١٩٩٣؛ Stock وزملاؤه، ١٩٩٣) اقترحت برامج بديلة تعتمد أساساً على استخدام لبروستاغلاندين $PGF_{2\alpha}$ بالمشاركة مع GnRH أو ما يعرف ببرنامج توقيت الإباضة Ovsynch (Holtz وزملاؤه، ٢٠٠٨)، إلا أنه سُجل بعد تطبيق البرنامج أنف الذكر معدلات متباينة من حالات التحلل اللوتيني المبكر، والتي بدورها خفضت من معدلات الحمل. يكمن السبب الفيزيولوجي وراء انخفاض معدل الحمل في اختلاف نماذج ديناميكية النمو الجريبي وخصوصاً ازدياد فترة السيادة الجريبية وما ينتج عن ذلك من بيئة هرمونية دقيقة تؤدي إلى زيادة تركيز الأسترايول (Savio وزملاؤه، 1993)، الذي يُفرز من الجريبات النامية (Scaramuzzi وزملاؤه، ١٩٩٣؛ Ward، 1986). لقد تبين تجريبياً أن تقصير فترة سيادة الجريب الإباضي إلى ٤ أيام تؤدي إلى زيادة معدل الحمل بنسبة ٧٠٪ عند البكاير (Austin وزملاؤه، ١٩٩٩). يعد فهم ديناميكية التطور الجريبي خطوة مهمة لتطوير تقانات زيادة الخصوبة عند النعجات، فقد بين Veiga-Lopez (٢٠٠٨) أن أكثر الجريبات كفاءة تكون بقطر حوالي ٤-٥ مم. يرتبط مستوى البروجسترون خلال الطور اللوتيني بشكل كبير مع عدد الأجسام الصفراء (Cahill وزملاؤه، 1981). عندما ينخفض تركيز البروجسترون يبدأ الأسترايول بالارتفاع نتيجة للتأثير الإيجابي لـ FSH في نمو الجريبات المبيضية التي تزداد بالحجم ليصل واحد أو أكثر إلى مرحلة السيادة. يرتبط تركيز البروجسترون في بعض مراحل دورة الشبق بمستوى الكوليسترول في الدم نظراً لأن الكوليسترول يعد اللبنة الأساسية لتركيب جميع الهرمونات الستيرويدية مثل البروجسترون والكوتيزول والكورتيكوسترون والإسترايول (Fall، ٢٠٠٨)، وبالتالي يؤثر تغير تركيزه في الدم بشكل سلبي أو إيجابي في الأداء التناسلي (Rahbar وزملاؤه، ٢٠١٤؛ Ghoreishi وزملاؤه، ٢٠٠٧). على الرغم من أن GnRH و hCG أثبتا فعاليتهما في تحريض الإباضة (Schmitt وزملاؤه، 1996a) إلا أن hCG كان الأفضل بخصوص تنشيط الجسم الأصفر الأصلي وتكوين أجسام صفراء إضافية (Schmitt وزملاؤه، 1996b) وإنتاج البروجسترون عند البقرات (Schmitt وزملاؤه، 1996c). أشارت دراسات عديدة أن المعاملة بـ hCG في وقت مبكر من الطور اللوتيني يمكن أن يزيد معدل الحمل عند البقرات (Santos وزملاؤه، ٢٠٠١؛ Sianangama و Rajamahendran، ١٩٩٢؛ Rajamahendran و Sianangama، ١٩٩٢) والنعجات (Rostami وزملاؤه، ٢٠١٧؛ Ahmadi و Mirzaei، ٢٠١١؛ Ataman وزملاؤه، ٢٠١٣). هدفت الدراسة إلى تحديد تأثير أعداد الجريبات وأقطارها وخصوصاً قطر الجريب الإباضي عند الحقن للمرة الثانية بـ GnRH في برنامج Ovsynch، ومستوى الإسترايول والبروجسترون وعلاقتها بمعدل الحمل، إضافة إلى تحديد العلاقة بين الكوليسترول وكل من البروجسترون والإسترايول.

مواد البحث وطرائقه:**مكان إجراء البحث**

نُفذ البحث في محطة بحوث دير الحجر لتربية غنم العواس في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية خلال موسم التناسل (آب 2018) على 39 نعجة عواس بالغة بأعمار وأوزان متقاربة (الموسم الإنتاجي الثاني) تمت رعايتها في حظائر نصف مفتوحة وملحق بها مسرح خارجي وقُدِّم لها 600 غ من المركزات العلفية، مع الوصول الحر للتبن والدريس والحجر الملحي والماء. تم قياس تركيزي هرموني P₄ و E₂ في مخبر الدراسات العليا في قسم الحياة الحيوانية - كلية العلوم، (جامعة دمشق)، بواسطة جهاز ELISA (Human Reader HS Germany) باستخدام مجموعات معايرة خاصة (DiaMetra إيطاليا) وحُدد تركيز الكوليسترول في مخبر التقانات الحيوية - كلية الزراعة - جامعة دمشق باستخدام المطياف الضوئي (اليابان - Optima SP 300) اعتماداً على مجموعات تحليل خاصة من (Human ألمانيا).

معاملة توقيت الإباضة:

تم توقيت الإباضة عند نعجات المجموعات خلال الموسم التناسلي بتطبيق برنامج توقيت الإباضة Ovsynch، إذ حُقنت في اليوم الأول بجرعة أولى من GnRH (1.5 مل دالماريلين، FATRO إيطاليا) وفي اليوم السابع بجرعة (1.5 مل PGF_{2α} دالمارين، FATRO إيطاليا)، وبعد 52 ساعة حُقنت جرعة ثانية من GnRH (1.5 مل دالماريلين) وأجري التلقيح الصناعي بعد 12-16 ساعة باستخدام سائل منوي طازج ممدد. قسمت النعجات بعد 72 ساعة من التلقيح الصناعي إلى ثلاث مجموعات كل منها 13 نعجة، تركت المجموعة الأولى كشاهد ولم تعامل بأية معاملة وحُقنت بـ 1 مل سائل فيزيولوجي فقط (مجموعة الشاهد)، أما المجموعة الثانية عوملت بـ 1000 وحدة دولية hCG (مجموعة hCG)، والمجموعة الثالثة عوملت بـ 1.5 مل دالماريلين (مجموعة GnRH).

عينات الدم:

سُحبت عينات الدم (5 مل) يومياً اعتباراً من جرعة GnRH الثانية من برنامج توقيت الإباضة من الوريد الوداجي لمدة 7 أيام لاحقة باستخدام أنابيب مفرغة مخصصة للاستعمال مرة واحدة مزودة بمادة K₃EDTA كمانع تخثر. غُزلت البلازما بعد التثقيب وفرغَت في أربع عبوات بلاستيكية Eppendorf سعة كلٍ منها 1.5 مل، خصصت العبوة الأولى لقياس مستوى هرمون الإستراديول، والعبوة الثانية لقياس مستوى هرمون البروجسترون، والعبوة الثالثة لقياس مستوى الكوليسترول. سُجِّلَ على العبوات رقم الحيوان وتاريخ الجمع وحفظت على درجة حرارة -20°م لحين إجراء المعايرة الهرمونية باستخدام طريقة ELISA (Germany Human Reader HS).

الفحص المبيضي وتشخيص الحمل:

فحصت الجريبات المبيضية للمرة الأولى باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية (Honda HS 2000 Japan) عن طريق المستقيم بالتزامن مع جرعة GnRH الثانية في برنامج Ovsynch آنف الذكر، وكرر الفحص بعد 48 ساعة، كما وكرر الحقن للمرة الثالثة بعد 72 ساعة من التلقيح الصناعي عند حقن GnRH أو hCG.

صُنِّفَت الجريبات تبعاً لأقطارها في ثلاث فئات: جريبات صغيرة بأقطار أقل من 3 مم، جريبات متوسطة تتراوح أقطارها من 3 حتى 5 مم، وجريبات كبيرة تبلغ أقطارها أكبر من 5 مم. أُجري تشخيص الحمل في اليوم 32 بعد التلقيح الصناعي باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية آنف الذكر وروقت حالة الحمل عند النعجات حتى الولادة.

التحليل الإحصائي:

أُجريت جميع العمليات الإحصائية باستخدام نظام التحليل الإحصائي SAS 9.2 (2008) وحسبت المتوسطات للمؤشرات المدروسة بواسطة تعليمة MEANS، واختبرت الفروق بين متوسطات بداية الشبق ومدته بين المجموعات في حال وجودها بحسب اختبار TUKEY المدرج ضمن تعليمة GLIMMIX. وفق النموذج $Y_i = X_i\beta + Z_i\gamma + \epsilon_i$ حيث:

Y_i - المتغير المدروس (مستويات الكوليسترول والإسترايول والبروجسترون وأقطار الجريبات).

X_i - مصفوفة عمودية للمتغيرات التوضيحية (تعد مؤثرات ثابتة) التي يمكن قياسها من الإعدادات التجريبية (موجهات المناسل في هذه الدراسة).

β - سوف تقدر مصفوفة المعاملات غير المعروفة بتطبيق طريقة أقل المربعات على بيانات المتغير المدروس.

Z_i تمثل y مصفوفة العوامل العشوائية مثل (الحيوان، العمر) المؤثرة في المتغيرات المدروسة.

ϵ_i الخطأ التجريبي

قُيِّمت الفروق الإحصائية في معدل حدوث الحمل بين المجموعات التجريبية باستخدام كاي مربع X^2 .

تم تحديد أفضل نموذج رياضي مُفسِّر للعوامل المؤثرة في معدل تحلل الجسم الأصفر المبكر باستخدام تعليمة REG، وتم إدخال المتغيرات ذات قيمة AIC و C(p) (معياري المعلومات AKaiKe) الأدنى فقط في النموذج الرياضي. استخدمت تعليمة PROC LOGISTIC للحصول على نسب التغيرات في ODDS، واحتمال حدوث التحلل المبكر للجسم الأصفر المبكر عندما يزداد التباين المرافق "X" بمقدار وحدة واحدة.

النتائج:

تم استبعاد نعجتين من مجموعة hCG من التحاليل الإحصائية لأسباب صحية، أظهرت جميع النعجات المتبقية علامات الشبق، إذ لم تسجل فروق إحصائية في كل من ابتداء الشبق بعد حقن GnRH (البداية ٩,٤٨ و ٩,٨٩ و ٩,٥٢ ساعة بالنسبة لمجموعة الشاهد و hCG و GnRH على التوالي)، ومدته (٦٤,٢٢ و ٢٧,٢٢ و ٦٩,٢٢ ساعة بالنسبة لمجموعة الشاهد و hCG و GnRH على التوالي). لم تسجل فروق كبيرة ($P > 0.05$) في متوسط العدد الإجمالي للجريبات عند المجموعات الثلاثة بخصوص متوسط العدد الإجمالي عند يوم الحقن الأخير بـ GnRH في برنامج Ovsynch، كما ولم يسجل وجود جريبات كبيرة بعدها بـ ٦٠ و ٨٤ ساعة من الحقن (جدول ١).

جدول (١) متوسطات أعداد الجريبات الصغيرة (بقطر > 3 مم) والمتوسطة (٣-٥)، والكبيرة على مبيضي نعجات المجموعات الثلاثة في يوم حقن

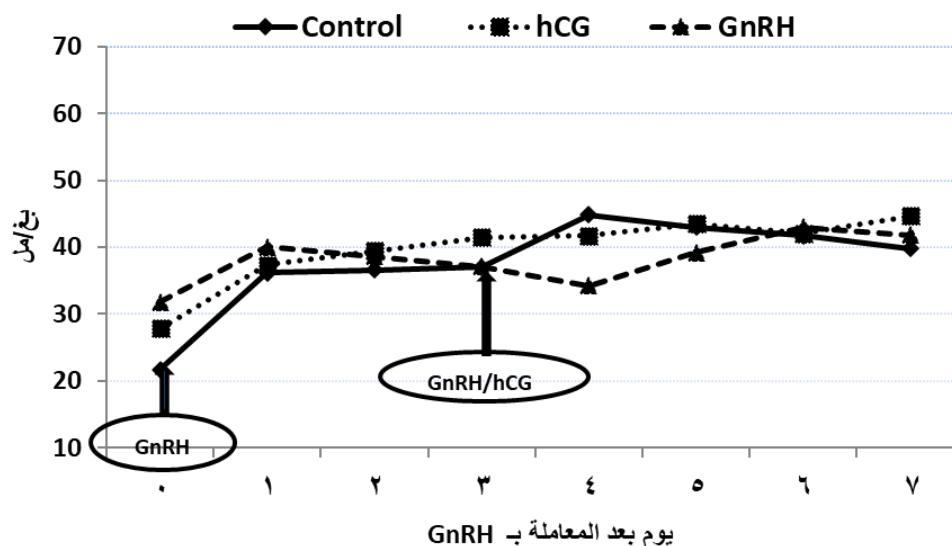
GnRH وبعده بـ ٦٠ و ٨٤ ساعة.

P	مجموعة hCG		مجموعة GnRH		مجموعة الشاهد		حجم الجريب/مم	المدة/سا بعد GnRH الثانية
	SE	المتوسط	SE	المتوسط	SE	المتوسط		
0.53	1.22	6.14 ^a	1.20	7.00 ^a	1.01	5.14 ^a	صغير	٠
0.61	0.00	0.00 ^a	0.14	0.14 ^a	0.25	0.25 ^a	متوسط	
-	-	-	-	-	-	-	كبير	
0.35	1.21	5.43 ^a	0.82	4.00 ^a	1.06	3.25 ^a	صغير	٦٠
0.62	0.92	2.71 ^a	0.87	3.00 ^a	0.79	1.88 ^a	متوسط	
-	-	-	-	-	-	-	كبير	
0.95	0.99	2.71 ^a	1.09	2.43 ^a	0.90	2.88 ^a	صغير	٨٤
0.75	1.57	4.71 ^a	1.75	4.14 ^a	1.29	5.75 ^a	متوسط	
-	0.18	0.29	-	-	-	-	كبير	

• تشير الحروف المتماثلة ضمن السطر الواحد إلى عدم وجود فروق معنوية ($P>0.05$)

تبين بناءً على الخوارزميات المتوافرة في تعلية REG أن أهم عامل مؤثر في التحلل اللوتينيني المبكر، وبالتالي معدل الحمل، هو طول مدة الشبق، ويؤكد ذلك تقديرات الاحتمال الأعظمي التي أشارت أن حدوث التحلل اللوتينيني المبكر يرتبط بطول مدة الشبق وبلغ معدل الترجيح $OR=3.58$.

لم تسجل فروق كبيرة ($P>0.05$) في تركيز الإسترايول عند حقن جرعة GnRH الثانية في المجموعات الثلاثة في برنامج Ovsynch، إذ بلغ تركيزه عند مجموعة الشاهد ٢١,٦٩ بغم/مل وسجل بعد ٢٤ ساعة زيادة لتصل إلى ٣٦,٥ بغم/مل وحافظت على مستواها حتى اليوم السابع. أما في مجموعة GnRH و hCG فقد سجلت اعتباراً من اليوم الثاني ارتفاع في تركيز الإسترايول من ٢٣,٨٢ و ٢٧,٨٦ بغم/مل لتصل إلى ٤٠,٠٤ و ٣٧,٣٩ بغم/مل على التوالي وحافظ على مستواه خلال باقي أيام المعاملة، سجل ارتباط سلبي ($r=-0.72$ ، $P=0.005$) بين إجمالي عدد الجريبات وتركيز الإسترايول في يوم حقن hCG و GnRH بعد التلقيح الصناعي بـ ٧٢ ساعة.



الشكل (١) متوسط تراكيز الإسترايول بغم/مل عند ثلاث مجموعات من النعجات المعاملة ببرنامج Ovsynch، متبوعة بتحريض الإباضة باستخدام hCG أو GnRH مقارنة مع الشاهد.

جدول (٢) بداية الشبق (ساعة بعد حقنة GnRH) ومدته (ساعة) في النعجات المعاملة ببرنامج Ovsynch، متبوعاً بتحريض الإباضة باستخدام GnRH و hCG مقارنة مع الشاهد.

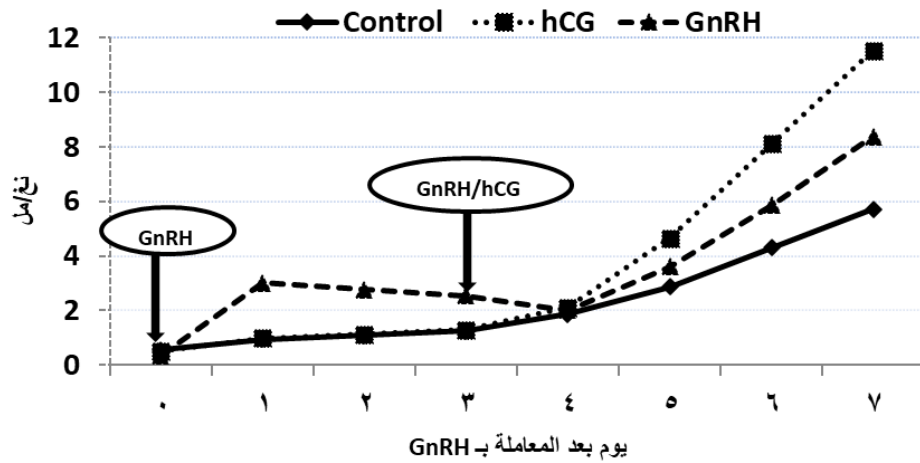
مدة الشبق		بداية الشبق		المعاملة
SE	المتوسط	SE	المتوسط	
0.37	22.64 ^a	0.21	9.48 ^a	مجموعة الشاهد
0.18	22.27 ^a	0.16	9.89 ^a	مجموعة hCG
0.17	22.69 ^a	0.21	9.52 ^a	مجموعة GnRH

تشير الحروف المتماثلة ضمن العمود الواحد إلى عدم وجود فروق معنوية ($P>0.05$)

لم تسجل فروق إحصائية ($P>0.05$) في مستويات البروجسترون بين المجموعات الثلاثة عند حقن GnRH، إذ انخفضت تراكيز البروجسترون إلى المستويات الدنيا كما هو موضح في الشكل (٢) خلال يومين بعد حقن $PGF_{2\alpha}$ ، وبما أنه لوحظت علامات شبق فقد عُد اليوم الأول من الدورة التناسلية، ثم ارتفعت مستويات البروجسترون تدريجياً في مجموعة GnRH لتصل في اليوم الثالث من دورة الشبق إلى ٢,٥٣ نغ/مل، وكانت هذه القيمة أعلى من مجموعة الشاهد ١,١ نغ/مل، ومجموعة hCG التي بلغ فيها تركيز البروجسترون ١,٢٨ نغ/مل.

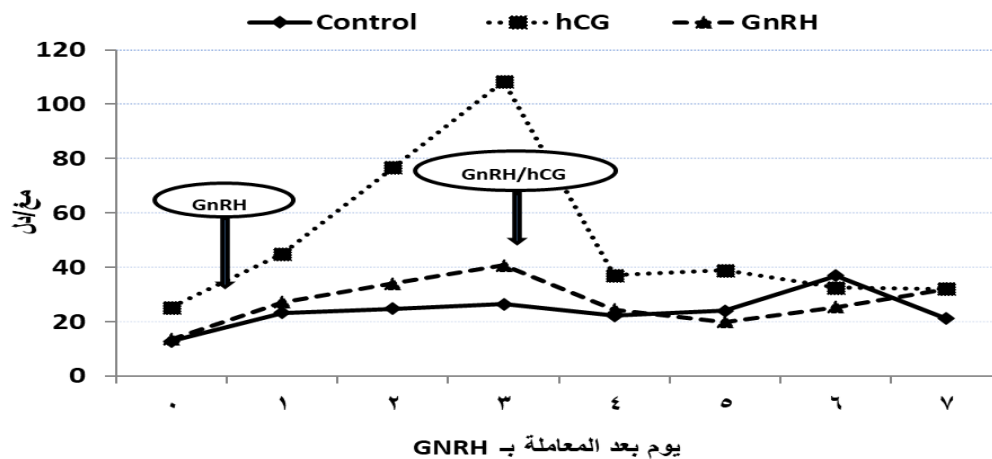
أُثبت انحلال الجسم الأصفر المبكر في اليوم ٦,٢٤ بعد التلقيح الصناعي حيث ترافق بانخفاض تراكيز البروجسترون إلى مستويات قاعدية عند ٣ نعجات من أصل ١٣ (٢٣,٠٧٪) من مجموعة الشاهد، وكذلك عند نعجة (٧,٦٩٪) من مجموعة GnRH ونعجتين (١٨,١٨٪) من مجموعة hCG ولم تسجل فروق معنوية في نسبة ظهور دورات شبق قصيرة بين المجموعات.

بعد حقن hCG أو GnRH ارتفعت تراكيز البروجسترون بسرعة (شكل ٢) أكبر مقارنة مع الشاهد، وكانت التراكيز عند مجموعة hCG في اليوم السابع أعلى مقارنة مع مجموعة GnRH، وبالتالي فإن استبدال hCG بـ GnRH كعامل محرض للإباضة لم يكن ذو جدوى (جدول ٢) ولم يخف معنوياً من حدوث تحلل الجسم الأصفر المبكر.



الشكل (٢) متوسط تراكيز البروجسترون نغ/مل عند ثلاث مجموعات من النعجات المعاملة ببرنامج Ovsynch، متبوعة بتحريض الإباضة باستخدام hCG أو GnRH مقارنة مع الشاهد.

يُلاحظ من الشكل (٣) إن تراكيز الكوليسترول كانت الأخفض عند حقن GnRH في المجموعات الثلاثة ومن ثم ازدادت تدريجياً، حيث ارتفعت مستويات الكوليسترول بعد ٢٤ ساعة من حقن GnRH بسرعة لتشكل ذروة (١٠٨,٤٢ مغ/دل) عند مجموعة hCG في اليوم الثالث من دورة الشبق، ثم انخفض بشدة خلال يوم واحد ليصل إلى (٣٧,١٠ مغ/دل)، أما في مجموعتي GnRH والشاهد فقد ازدادت تراكيز الكوليسترول على خلاف مجموعة hCG، لتصل إلى ٤٠,٣٢ و ٢٠,٤٠ مغ/دل على التوالي، وبعد ذلك بقيت ثابتة حتى نهاية أخذ عينات الدم، هذا ولم تسجل فروق معنوية ($P>0.05$) بين المجموعات الثلاثة خلال فترة سحب العينات.

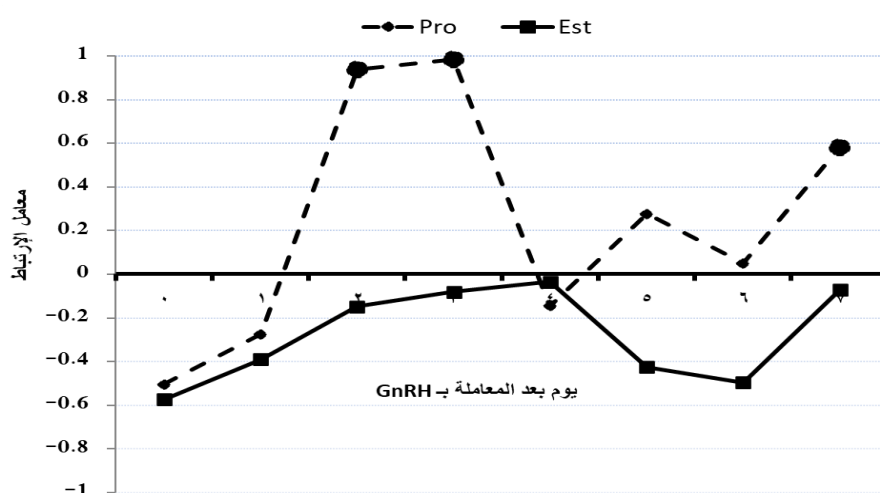


الشكل (٣) مستويات الكوليسترول عند نعجات مجموعتي الدراسة مع مجموعة الشاهد بعد حقن hCG و GnRH.

أظهرت تراكيز الكوليسترول ارتباطاً سلبياً مع تراكيز الإسترايول خلال كامل فترة أخذ العينات، بينما سُجل ارتباطاً إيجابياً معنوياً في الأيام ٣ و ٤ و ٧ بعد المعاملة بـ GnRH (٠,٩٤ و ٠,٩٨ و ٠,٥٨) على التوالي (شكل ٤).

جدول (٣) معدل دورات الشبق القصيرة والحمل والولادات عند نعجات العواس المعاملة بـ hCG أو GnRH داخل موسم التناسل

المعاملة	دورات الشبق القصيرة %	الحمل %	الولادات %
الشاهد	23.07 ^a	76.92 ^a	76.92 ^a
hCG	18.18 ^a	81.82 ^a	81.82 ^a
GnRH	7.69 ^a	92.31 ^a	84.61 ^a



الشكل (٤) معاملات الارتباط بين الكوليسترول وكل من البروجسترون والإسترايول عند ثلاث مجموعات من النعجات المعاملة ببرنامج Ovsynch، متبوعة بتحريض الإباضة بـ hCG أو GnRH خلال موسم التناسل

المناقشة:

بفرض أن حقن GnRH أو hCG بعد ثلاثة أيام من التلقيح الصناعي يمكن أن يكون طريقة فعالة إما لوتنة الجريبات السائدة أو إباضتها لاستبعاد على أي مصدر محتمل للإسترايول لمنع انحلال الجسم الأصفر المبكر أو تقليل حدوثه للحد الأدنى، وعلاوة على ذلك كان الغرض من هذه المعاملة دعم وظيفة الجسم الأصفر بالإضافة إلى تعويض أي قصور محتمل للجسم الأصفر باستبدال hCG بـ GnRH. أظهرت جميع النعجات المعاملة علامات شبق نموذجية مطابقة للقطيع، مما يدل على أن إفراز هرمون الإستروجين الذي يؤدي دوراً أساسياً في حدوث عائل الشبق، (Etgen و Garcia-Segura، ٢٠٠٩؛ Jeong و Kaiser، ٢٠٠٦) كان طبيعياً ولم يتأثر ببرنامج الإباضة Ovsynch، وعلاوة على ذلك قد يكون تركيز الإسترايول المتزايد في بداية الطور اللوتيني (الشكل ٢) ، بسبب حقن GnRH الذي يحفز إفراز FSH و LH (الصالح، ٢٠١٧)، حيث يحفز FSH نمو الجريبات ويؤدي إلى زيادة مستوى الإسترايول، كما ولم يؤد حقن hCG أو GnRH إلى تراجع مستويات الاسترايول بصورة كبيرة بعد ٧٢ ساعة من التلقيح الصناعي، وقد يكون ذلك بسبب غياب الجريبات الكبيرة عند الحقن.

إن الاستجابة المباشرة لانحلال الجسم الأصفر بعد المعاملة بالبروستاغلاندينات هو دليل على حساسية الجسم الأصفر المرتفعة للبروستاغلاندين عند الأغنام، حيث تحولت جميع جريبات الإباضة إلى أجسام صفراء (الشكل ١)، إذ كانت تراكيز هرمون البروجسترون المسجلة بعد حقن GnRH للمرة الثانية نموذجية متوافقة مع تراكيز نعجات في دراسة سابقة (Driancourt وزملاؤه، ١٩٨٥) التي بدأ فيها الجسم الأصفر اعتباراً من اليوم الثالث بإفراز كميات متزايدة من البروجسترون حتى اليوم السابع وبقي مرتفعاً (١-٣) نانو غرام/مل حتى اليوم الثاني عشر.

سُجلت تراكيز أعلى للبروجسترون في اليوم السابع في مجموعة hCG و GnRH (١١,٥٥ و ٨,٣٩ نغ/مل) مقارنة بمجموعة الشاهد (٥,٧٣ نغ/مل) على التوالي، هذا وتجدر الإشارة إلى وجود اختلافات في تركيز البروجسترون بين السلالات، ويعود ذلك إلى اختلافات وراثية أو في طرائق تقدير مستويات الهرمون (ELISA أو RIA)، فالتراكيز الأعلى من البروجسترون في مجموعة hCG يمكن أن يكون بسبب التأثير المديد المنشط للجسم الأصفر الناجم عن حقن هرمون hCG (Saleh، ٢٠١١؛ Rao و Lei، ١٩٩٤)، الذي يمتاز بتركيب مماثل تقريباً لـ LH ويعتقد أن تحت وحدة β من hCG قادرة على التفاعل مع مستقبلات LH لتحفيز إنتاج البروجسترون من الجسم الأصفر (Saleh، ٢٠١١)، وقد أشارت إحدى الدراسات إن القدرة على إفراز البروجسترون من الأجسام الصفراء الناتجة عن المعاملة بـ GnRH كانت أقل من التي نتجت عن المعاملة بـ hCG (Stevenson وزملاؤه، 2008). أظهرت نتائج هذه الدراسة أن انخفاض معدل تحلل الجسم الأصفر المبكر بعد المعاملة بـ GnRH يعد مؤشراً على ملائمة GnRH لزيادة معدلات الحمل، حيث تحولت جميع جريبات الإباضة عند النعجات التي كان عندها دورات شبق قصيرة إلى أجسام صفراء قصيرة العمر وهذا يمكن استنتاجه من تراكيز البروجسترون.

إن الاختلافات بين المجموعات فيما يتعلق بوظيفة الجسم الأصفر تقودنا إلى التكهن أن التحسن في وظيفة الجسم الأصفر في مجموعة GnRH (٩٢,٣١ % وظيفة جسم أصفر طبيعية) يعود إلى فعالية Lecirelin كعامل تحفيز للإباضة فضلاً عن لوتنة الجريبات المبيضية وتمايزها إلى أجسام صفراء سليمة، وهذه النتائج لا تتفق مع دراسة سابقة (Rantala وزملاؤه، ٢٠٠٨) التي بينت أن hCG كان أكثر فعالية من GnRH في تقليل حدوث دورات الشبق القصيرة.

عند مقارنة مجموعة الشاهد مع المجموعتين GnRH و hCG تبين أن النعجات ذات الأجسام الصفراء الطبيعية كانت أقل، كما ازداد تحلل الجسم الأصفر المبكر ($P < 0.05$)، وكانت هذه النسبة ٢٣,٠٧ % (الجدول ١)، وهذا أقل مما كان عليه في دراسة سابقة بعد تطبيق برنامج Ovsynch لوحده عند ما عزر البوير ٢٩ % (Holtz وزملاؤه، ٢٠٠٨).

أظهرت نتائج الدراسة أنه لم يؤثر استبدال hCG بـ GnRH كعامل محفز للإباضة على تقليل الانحلال المبكر للجسم الأصفر ($P > 0.05$) (الجدول ٣)، في حين بين Schmitt وزملاؤه (1996a) بأن hCG تفوق على GnRH كعامل محفز للإباضة في برنامج التلقيح الصناعي عند الأبقار عن طريق تقليل إجراء تلقيحات إضافية، إلى مستويات مماثلة لتلك التي لم يطبق عليها برنامج الإباضة، عندما تعامل بالبروستاغلاندين في الوقت المناسب.

كانت نسبة الاحتمالات ODDS لمدة الشبق ٣,٥٨ هذا يشير أن النعجات التي لديها مدة شبق طويلة، أظهرت دورات شبق قصيرة أكثر بـ ٢٥٨٪ من غيرها مع مدة شبق قصيرة، وبعبارة أخرى عندما تزيد مدة الشبق، يزداد معدل التحلل المبكر للجسم الأصفر. كان هناك ارتباط إيجابي بين حجم جريبات الإباضة عند موجة LH ووظيفة الأجسام الصفراء اللاحقة (Holtz وزملاؤه، ٢٠٠٨؛ Taponen وزملاؤه، ٢٠٠٣؛ Vasconcelos وزملاؤه، 1999). يمكن أن يكون العامل الرئيسي المحدد للنتائج في هذه الدراسة هو حجم العينة لذلك يوصى بإجراء مزيد من البحوث باستخدام حجم عينة أعلى لتقييم الآثار على معدلات الحمل في النعجات المعالجة ببرنامج Ovsynch.

الاستنتاجات والمقترحات:

يُستنتج من الدراسة أنه لا مناص من حدوث انحلال الجسم الأصفر عند نسبة من النعجات، ولا يمكن حتى الوقت الحاضر على الأقل إلغاؤه بصورة نهائية، وإنما تقليل حالات حدوثه، وينصح باستخدام GnRH كعامل محفز للإباضة، كونه أدى إلى ازدياد معدلات الحمل أكثر من hCG، إذ أدى إلى تخفيض الانحلال المبكر للجسم الأصفر بشكلٍ فعال، وكان استخدام hCG بدلاً من GnRH كعامل محفز للإباضة دون جدوى، كما وينصح بإجراء المزيد من البحوث لحل المشاكل المتعلقة بالانحلال المبكر للجسم الأصفر، وباستخدام حجم عينة كبير لتقييم الآثار على معدلات الحمل في النعجات المعالجة ببرنامج Ovsynch، حيث يعد حجم العينة العامل الرئيسي المحدد للنتائج.

التمويل: هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم التمويل (501100020595).

References:

١. الصالح ، م ع. (2017). فيزيولوجيا الحيوان، كتاب جامعي، منشورات جامعة دمشق.
2. **Ahmadi E, Mirzaei A. (2016).** High twin lambing rate of synchronized ewes using progestagen combined with the gonadotropins injection in breeding season. *Revue Méd Vét.* 167 (1–2):28–32.
3. **Ataman, M. B., Aköz, M., Saribay, M. K., Erdem, H., and Bucak, M. N. (2013).** Prevention of embryonic death using different hormonal treatments in ewes. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences.* 37(1): 6-8.
4. **Austin, E.J., Mihm M, Ryan MP, Williams, D.H., and Roche, J.F. (1999).** Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *Journal of Animal Science.* 77: 2219–2226.
5. **Cahill, L. P., Saumande, J., Ravault, J. P., Blanc, M., Thimonier, J., Mariana, J. C. and Mauleon, P. (1981).** Hormonal and follicular relationships in ewes of high and low ovulation rates. *Journal of Reproduction and Fertility.* 62:141-150.
6. **Driancourt, M.A., Gibson, W.R., and Cahill, L.P. (1985).** Follicular dynamics throughout the oestrous cycle in sheep. A review. *Reproduction Nutrition and ovulation rate in the ewe. Reproduction Fertility and Development.* 5:459-478.
7. **Etgen, A.M, Garcia-Segura, LM., (2009).** Estrogen regulation of neurotransmitter and growth factor signaling in the brain. In: *Hormones , Brain and Behaviour* , 2nd Edition Elsevier Inc. , , pp.1121-1162.
8. **Fall, M. (2008).** Lipoprotein and Steroids. Lecturer 36. *Biochemistri* 460. <http://www.biochem.arizona.edu/miesfeld/Miesfeld-Fall2008Lecs/Lec36- all08/Lec36-F08-Handout.pdf> [12 Febuari 2012].
9. **Ghoreishi, S. M., Zamiri, M. J., Rowhani, E., and Hejazi, H. (2007).** Effect of a calcium soap of fatty acids on reproductive characteristics and lactation performance of fat-tailed sheep. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS.* 10(14): 2389-2395.
10. **Holtz, W., Sohnrey, B., Gerland, M., and Driancourt, M. A. (2008).** Ovsynch synchronization and fixed-time insemination in goats. *Theriogenology.* 69(7):785-792.
11. **Jeong, K.H., Kaiser U.B. (2006)** Gonadotropin-releasing hormone regulation of gonadotropin biosynthesis and secretion. In: *Knobil and Neil's physiology of reproduction.* Elsevier Inc.
12. **Lei, ZM., Rao, C.V. (1994).** Novel presence of luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin (hCG) receptors and the down-regulation action of hCG on gonadotropin releasing hormone gene expression in immortalized hypothalamic GT1-7 Neurons. *Molecular Endocrinology.* 8:1111-1121.
13. **Mihm, M., Baguisi, A., Boland, M. P., and Roche, J. F. (1994).** Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *Reproduction.* 102(1): 123-130.
14. **Rahbar, B., Safdar, A. H. A., and Kor, N. M. (2014).** Mechanisms through which fat supplementation could enhance reproduction in farm animal. *European Journal of Experimental Biology.* 4(1): 340-348.
15. **Rajamahendran, R., and Sianangama, P. C. (1992).** Effect of human chorionic gonadotrophin on dominant follicles in cows: formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. *Reproduction.* 95(2): 577-584.
16. **Rantala M.H., Katila T., Taponen J. (2008).** Effect of time interval between prostaglandin F_{2α} and GnRH treatments on occurrence of short estrous cycles in cyclic dairy heifers and cows. *Theriogenology.* (71)6: 930-938.
17. **Rostami, B., Hajizadeh, R., Shahir, M. H., and Aliyari, D. (2017).** The effect of post-mating hCG or progesterone administration on reproductive performance of Afshari × Booroola-Merino crossbred ewes. *Tropical animal health and production.* 49(2): 245-250.
18. **Saleh, M., (2011).** Synchronization and superovulation of Boer Goats PGF_{2α} and GnRH or hCG and parentage Analysis Microsatellite Markers. Dissertation, Georg-August- University Gottingen, Germany.

19. 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. *Journal of Animal Science*. 79(11): 2881-2894.
20. Savio, J.D., Thatcher, W.W., Badinga, L., de la Sota, R.L., and Wolfenson, D. (1993). Regulation and Fertility of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. *Journal of Reproduction*. 97: 197-203.
21. Scaramuzzi, R. J., Adams, N. R., Baird, D. T., Campbell, B. K., Downing, J. A., Findlay, J. K., Henderson, K. M., Martin, G. B., McNatty, K. P., McNeilly, A. S., and Tsonis, C. G. (1993). A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility Development*. 5: 459-478.
22. Schmitt, E.J.P., Diaz, T., Drost, M., Thatcher, W.W. (1996a). Use of gonadotropin releasing hormone or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J. Animal Sci.* 74:1084-1091.
23. Schmitt, E.J.P., Diaz, T., Barros, C.M., de la Sota, R.L., Drost, M., Fredriksson, E.W., Staples, C.R., Thorner, R., Thatcher, W.W. (1996b) Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin releasing hormone. *J. Animal Sci.* 74:1074-1083.
24. Schmitt, E.J.P., Barros, C.M., Fields, P.A., Fields, M.J., Diaz, T., Kluge, J.M., Thatcher, W.W. (1996c) A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day 5 of the estrous cycle. *J Anim Sci*. 74:1915-1929.
25. Sianangama, P. C., and Rajamahendran, R. (1992). Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology*. 38(1):85-96.
26. Stevenson, J.S., Tiffany, S.M., Inskeep, E.K. (2008). Maintenance of pregnancy in dairy cattle after treatment with human chorionic gonadotropin or gonadotropin-releasing hormone. *J Dairy Sci*. 91:3092-101.
27. Stock, A. E., and Fortune, J. E. (1993). Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*. 132 (3):1108-1114.
28. Taponen, J., Hjerpe, P., Kopra, E., Rodriguez-Martinez, H., Katila, T., and Kindahl, H. (2003). Premature prostaglandin $F^2\alpha$ secretion causes luteal regression in GnRH-induced short estrous cycles in cyclic dairy heifers. *Theriogenology*. 60: 379-393.
29. Vasconcelos, J.L.M., Silcox R.W., Rosa, G.J.M., Pursley, J.R., Wiltbank, M.C. (1999) Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*. (52):1067-1078.
30. Veiga-Lopez, A., Dominguez, V., Souza, C. J., Garcia-Garcia, R. M., Ariznavarreta, C., Tresguerres, J. A., and Gonzalez-Bulnes, A. (2008). Features of follicle-stimulating hormone-stimulated follicles in a sheep model: keys to elucidate embryo failure in assisted reproductive technique cycles. *Fertility and sterility*. 89 (5):1328-1337.
31. Ward, W. R. (1986). The breeding season and the estrous cycle. In: Morrow, D. A. (Ed) *Current therapy in theriogenology*. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, pp. 846-847.