مقارنة استجابة مبايض الهامستر السوري بعد المعاملة بـ eCG أو hMG

محمد الصالح*

الملخص

يعدّ تنبيه عدة جريبات باستخدام منشطات مناسل خارجية شرطاً مسبقاً من أجل التطبيق الفعّال لتقانة نقل الأجنة. على الرغم من أن الهرمون المنبه للجريب FSH وموجّه المناسل المشيمائي الخيلي eCG استخدما بكثرة في الإباضة الفائقة عند الحيوانات المخبرية والزراعية، إلا أن موجّه المناسل الإياسي البشري hMG لم يلقَ الانتباه الكافي. قورن في الدراسة الحالية تأثير eCG و hMG في الاستجابة المبيضية عند إناث الهامستر السوري الفتية لتجنب أي تداخل بسبب مرحلة دورة الشبق. أُجريت هذه الدراسة على 20 أنثى فتية من الهامستر السوري وُزِّعت عشوائياً وبالتساوي إلى مجموعتين (ن = 10) وحقنت المجموعة الأولى ضمن الصفاق (i.p) بـ 5 وحدات دولية من هرمون منشط المناسل المشيمائي الخيلي eCG وحقنت المجموعة الثانية بـ 5 وحدات دولية من hMG على دفعتين بفاصل زمني 48 ساعة. بالنسبة لمجموعة الشاهد سُمح لـ 10 إناث بالغة لتُلقح من ذكور مُخصِبَة وأن تضع المواليد طبيعياً. جُمعت المبايض بعد الحقن النهائي بـ 40–44 ساعة وعُدتْ الأجسام الصفراء وأعداد الجريبات الناضجة. أشارت النتائج أن كل من eCG و hMG زاد بصورة معنوية ($P<0.05$) من عدد الجريبات النامية على المبيض عند حيوانات التجربة (20.9 مقابل 29.2 ، على التوالي) مقارنة مع 9.6 عند الشاهد. ولكن عدد الإباضات عند مجموعة hMG كان أقل بكثير من مجموعة eCG (1.7 مقابل 20.9 على التتالي، $P<0.05$). يمكن الاستنتاج بأن الجرعة المنخفضة من hMG غير ملائمة لإنتاج أجنة متعددة عند إناث الهامستر السوري الفتية.

الكلمات المفتاحية: الهامستر السوري، الإباضة الفائقة، eCG، hMG

*مدرس في قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

Comparison of ovarian response of Syrian hamster to eCG or hMG treatments

Mohammed Ssleh*

Abstract

Multiple follicular stimulation with exogenous gonadotropins is a prerequisite to the efficient application of embryo transfer technology. While follicle stimulating hormone (FSH), and equine chorionic gonadotropin (eCG) were used frequently for superovulation in laboratory and farm animals, a little attention was paid for human menopausal gonadotropin (hMG). In this study, the effect of eCG was compared with that of hMG on ovarian response in immature Syrian female hamster to avoid interference by the stage of estrus. The females were equally assigned to one of two treatment groups each of 10 females, the first group was intraperitoneally (i.p) administered with 5 IU of eCG and the second group with 5 IU of hMG, respectively. As a control group, 10 cyclic females were permitted coitus with males of proven fertility and allowed to deliver pups. Ovaries were collected at 40-44 h after administration and all corpora lutea and follicles were counted. The results indicated that both eCG and hMG increased significantly ($P< 0.05$) follicular development on the ovaries (20.9 vs 29.2, respectively as compared with a main of 9.6 in the controls. However, the number of ovulations in hMG- group was fewer than eCG-group (1.7 vs. 20.9, respectively). It may be concluded that low levels of hMG are unsuitable for producing multiple embryos immature Syrian female hamster.

Key words: Syrian hamster, superovulation, eCG, hMG.

* Assist. Professor, Anim. Prod. Dept., Fac. Agric., Damascus Univ.

المقدمة:

تعتمد برامج نقل الأجنة بكثرة على الإباضة الفائقة، ويستخدم لهذا الغرض عدة هرمونات منشطة للمناسل لعل أكثرها شيوعاً الهرمون المنبه للجريب FSH وموجّه المناسل المشيمائي الخيلي eCG. أجريت خلال العقود القليلة الماضية الكثير من الدراسات باستخدام هذين الهرمونين وتأثيرهما في الاستجابة المبيضية، وقد تبين على سبيل المثال أن FSH أكثر كفاءة من eCG لتحريض الإباضة الفائقة في المعز، ولكن يتطلب استخدامه جهداً أكبر وزمناً أطول (Yuswiati و Holtz، 1996؛ Nowshari وزملاؤه، 1995؛ Tsunoda و Sugie، 1989).

منشط المناسل المشيمائي الخيلي eCG عبارة عن هرمون بروتيني سكري يتكون ويفرز من قبل خلايا اغتذائية متخصصة تغزو بطانة الرحم الداخلية بين اليوم 40–130 من الحمل في الفرس. الميزة الفريدة لهذا الهرمون أنه يُظهر نشاطاً مشابهاً لكل من الهرمون الملوتن LH والهرمون المنشط للجريبات FSH عند استخدامه في أنواع أخرى غير العائلة الخيلية. كما يمتاز بأن نصف عمره الحيوي طويل لذلك تكفي جرعة واحدة منه لتحريض الإباضة الفائقة (الصالح، 2017). موجهة الغدد التناسلية البشرية الإياسية hMG أيضاً هرمون بروتيني سكري يُستخلص من بول المرأة بعد انقطاع الطمث والوصول إلى سن اليأس، إذ تتم معاملة البول واستبعاد الشوائب ذات الوزن الجزيئي المرتفع والمنخفض عبر الفصل اللوني. تتكون الشُطافة من 3% (FSH و LH) و 97% بروتينات بولية نوعية (Jennings وزملاؤه، 1996). تتم معايرة الـ hMG حيوياً ليماثل أنشطة FSH و LH بنسبة 1:1، ونظراً لأن النشاط الحيوي للهرمون الملوتن في البول الطبيعي بعد انقطاع الطمث يعادل ثلث نظيره للهرمون المنبه للجريب الـ FSH فإنه يتم الوصول إلى هذه النسبة 1:1 بإضافة hCG (Maclin، 2000) والذي يعدّ مماثلاً للهرمون الملوتن من الناحية التركيبية والحيوية.

هدفت الدراسة إلى مقارنة تأثير eCG و hMG في الاستجابة المبيضية عند إناث الهامستر السوري الفتية. تجدر الإشارة إلى أن هذه الدراسة تعدّ جزءاً من سلسلة دراسات هادفة بغرض مقارنة تأثير مختلف أنواع الهرمونات المُنبهة للمناسل في استجابة المبايض عند إناث الهامستر السوري الفتية.

المواد والطرائق:

الحيوانات:

أُجريت الدراسة في مخبر التقانات الحيوية الحيوانية – كلية الزراعة – جامعة دمشق على 20 أنثى غير بالغة من الهامستر السوري موزعة عشوائياً على مجموعتين تجريبيتين تضم كل منها 10 إناث غير بالغة متوسط أوزنها 44.56 غ. خُصِّصت للدراسة 10 إناث بالغة كشاهد وتركت لتحمل وتلد طبيعياً. وُضعت الحيوانات في أقفاص معدنية ضمن ظروف إضاءة ملائمة (14 ساعة ضوء/10 ساعات ظلمة) إذ امتدت الإضاءة من الساعة الواحدة ليلاً وحتى الساعة الثالثة بعد الظهر، وقُدم لها الماء والعلف المخصص للأبقار الحلوب.

تحريض الإباضة الفائقة:

حُرِّضت الإباضة الفائقة إما بحقن جرعة واحدة تبلغ 5 وحدات دولية من هرمون eCG أو جرعتين كل منهما 2.5 وحدة دولية من هرمون hMG خلال يومين متتالين ضمن الصفاق .ثم حُرِّضت الإباضة باستخدام هرمون hCG بعد 48 ساعة من جرعة eCG أو بعد 24 ساعة من جرعة hMG الثانية ووُضعت مع الإناث ذكور مُخصِبة مختبرة. تم التأكد في صباح اليوم التالي من حصول التلقيح من ملاحظة وجود السدادة المهبلية البيضاء. قُتِلت الإناث المعاملة بعد جرعة hCG بـ 40 –44 ساعة بأسلوب خلع الرقبة بعد تخديرها بالكلوروفورم ثم استُؤصل قرنا الرحم والمبايض وعُدَّت الأجسام الصفراء الموجودة على سطح كل مبيض تحت المجسام.

التحليل الإحصائي:

أُجريت جميع العمليات الإحصائية باستخدام نظام التحليل الإحصائي (SAS 9.2; 2008). حُسبت المتوسطات للمؤشرات المدروسة بواسطة تعليمة MEANS. اختبرت الفروق بين متوسطات المجموعات – في حال وجودها – بحسب اختبار تَكي TUKEY المُدرَج ضمن تعليمة GLM.

النتائج والمناقشة:

أثرت المعاملة بدرجة معنوية ($P < 0.05$) في عدد الجريبات والأجسام الصفراء. أظهرت نتائج الدراسة الحالية فعالية كل من هرمون eCG و hMG في تحريض الجريبات عند إناث الهامستر غير الناضجة في مجموعات تراوحت بالمتوسط بين 20.9 لـ 29.2 جريباً في الموجة الجريبية الواحدة، على التتالي، توزعّت مناصفة بين المبيض الأيمن ونظيره الأيسر وذلك بالاعتماد على نوع الهرمون، وهذه الأعداد أعلى بكثير ($P < 0.05$)مما سُجِّل عند إناث الهامستر البالغة (الشاهد) التي تطوّر عندها حوالي 9.6 جريباً بالمتوسط في الموجة الجريبية الواحدة. لقد استنتج عدد الجريبات النامية والإباضات عند إناث مجموعة الشاهد من أعداد المواليد التي وضعتها. على الرغم من زيادة عدد الجريبات عند الإناث المعاملة بـ hMG عن تلك المعاملة بـ eCG إلا أن هذه الفروقات لم تصل إلى حد المعنوية ($P > 0.05$). أظهرت النتائج إنخفاضاً كبيراً ($P < 0.05$) في معدل الإباضة عند الإناث المعاملة بـ hMG مع الإشارة إلى أن معدل الإباضات الناتجة بعد التحريض الجريبي لا يمثل إلا 5.8% من إجمالي عدد الجريبات النامية بعد التحريض الجريبي الفائق بـ hMG.

الجدول (1). متوسط أعداد الجريبات والأجسام الصفراء المتطورة على مبايض إناث الهامستر

المعاملة	عدد الجريبات			عدد الإباضات	
	المتوسط	الخطأ القياسي		المتوسط	الخطأ القياسي
الشاهد	9.60 [a]	0.69		9.60 [a]	0.69
eCG	20.90 [b]	3.53		20.90 [b]	3.53
hMG	29.20 [b]	3.70		1.70[ac]	0.87

تشير الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية $P<0.05$

لا تزال التباينات الكبيرة في استجابة المبايض عند مختلف الأنواع الحيوانية لمعاملة الإباضة الفائقة غير مفهومة بشكل واضح، وتعدّ هذه التباينات إحدى أهم العوائق أمام الانتشار الواسع لهذه التقانة (Keller وTeepker، 1990 ؛ Kafi و McGowan، 1997). وقد هدفت هذه الدراسة المقارِنة إلى تحديد الهرمون الملائم لتحريض الإباضة الفائقة عند الهامستر السوري. إذ لوحظ إزدياد أعداد الجريبات عند الهامستر السوري عند استخدام كل من eCG وhMG، ولكن – برغم ذلك – يبدو أن كل منهما له تأثير مختلف في معدل الإباضة، فبينما حصلت الإباضة في جميع الجريبات عند الإناث المعاملة بـ eCG إلا أن حوالي 6% فقط في مجموعة hMG حصلت فيها إباضة، وتعدّ هذه النتائج غير مبشرة. تجدر الإشارة بهذا الخصوص أن نوع الهرمون ومقدار الجرعة الهرمونية من بين العوامل الأكثر تأثيراً في مدى الاستجابة المبيضية إضافة إلى التأثيرات البيئية كدرجة الحرارة وعدد ساعات الإضاءة (يسوف والصالح 2017). يمكن أن يعزى إنخفاض نسبة الإباضة عند الإناث المعاملة بـ hMG إلى حدوث شذوذات في نضج الخلية البيضية (Vujisic وزملاؤه، 2006) و/أو تضرر الصبغيات وما يسببه من تلف الدنا بعد التحريض الجريبي الفائق بـ hMG (Kovalenko وزملاؤه، 1999) نظراً لمحتواه المرتفع من هرمون اللوتنة LH (Maclin، 2000). تجدر الإشارة إلى أن

دراسات أخرى أكدت عدم وجود فروق كبيرة بين هرموني FSH و eCG اللذين يستخدمان بكثرة في برامج الإباضة الفائقة (Filipiak و Saunders، 2006).

إن الجريبات غير المنفجرة على الرغم من إمكانية استغلالها في برامج الإنضاج والإخصاب خارج الرحم ،إلا أنها تؤدي عند التطور الجنيني ضمن الرحم دوراً رئيسياً في التحلل اللوتئيني المبكر كونها مصدر للأستروجين الذي يشترك في الآليات المعقدة المؤدية إلى إفراز $PGF_{2\alpha}$ الهرمون الرئيس المحلل للجسم الأصفر (Taponen وزملاؤه، 2003؛ Saleh، 2011) ولا شك في أن إنهاك وظيفة الجسم الأصفر يؤدي لفقدان الأجنة من الرحم قبل إتمام عملية جمعها. لقد لوحظت هذه الظاهرة آنفة الذكر عند تحريض الإباضة الفائقة بـ hMG ولم تلاحظ عند المعاملة بـ eCG.

يُستنتج من الدراسة الحالية أن كل منeCG و hMG يُحرِّضان بنجاح التطور الجريبي عند إناث الهامستر الفتية، إلا أن معدل الإباضة بعد استخدام منشط المناسل الإياسي البشري hMG كان منخفضاً. يُقترح اعتماد eCG عند تحريض الإباضة الفائقة عند الهامستر. تجدر الإشارة إلى وجود خاصية يمتاز بها eCG وتتلخص في حقيقة أن حقنة واحدة منه تكفي لتحريض الإباضة الفائقة وهذا يتطلب جهداً بشرياً أقل وإجهاداً أقل للحيوانات.

المراجع:

- **الصالح م .ع. (2017).** فيزيولوجيا الحيوان. منشورات جامعة دمشق.
- **يسوف. ع والصالح م.ع. (2017).** تأثير تركيز مُنشِّطات القُند المشيمائية eCG و hCG في معدل الإباضة والأجنة الناتجة في الهامستر السوري مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية.
- **Filipiak W.E., and T.L. Saunders. (2006)**. Advances in transgenic rat production. Transgenic Res. 15:673–686.
- **Jennings J.C.,** Moreland K., and C.M. Peterson. (1996). In vitro fertilisation: a review of drug therapy and clinical management, Drugs, 52, 331–343.
- **Kafi M., and M.R. McGowan . (1997).** Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle. Anim. Reprod. Sci. 48(2-4):137-157.
- **Keller D. S., and G. Teepker. (1990).** Effect of variability in response to superovulation on donor cow selection differentials in nucleus breeding schemes. J. Dairy Sci. 73(2):549-554.
- **Kovalenko T.A., Lakiza O.V., Stefanovych H.V., and I.R. Baryliak. (1999).** The effect of different doses of gonadotropins on the quantitative, morphological and cytogenetic characteristics of oocytes from CBA mice. Tsitol Genet. 33:49–53.
- **Maclin V.M. (2000).** Ovarian stimulation and ovulation induction. In: Keel B., May J.V., and C.J. Dejonge. Handbook of the assisted reproduction laboratory. CRC Press LLC.
- **Nowshari M.A., Beckers J.F., and W. Holtz. (1995).** Superovulation of goats with purified FSH supplemented with defined amounts of pLH. Theriogenology 43:797-802.
- **Saleh M. (2011).** Synchronization and superovulation of Boer goats with PGF2α and GnRH or hCG, and parentage analysis using microsatellite markers. Dissertation, Georg-August University, Goettingen, Germany.
- **SAS. (2008).** SAS/STAT User's Guide، Version 9.2. Cary، NC، USA: SAS Institute Inc.

- **Taponen J., Hjerppe P., Kopra E., Rodriguez-Martinez H., Katila T., and Kindahl H. (2003).** Premature prostaglandin F2α secretion causes luteal regression in GnRH-induced short estrous cycles in cyclic dairy heifers. Theriogenology 60:379-393.
- **Tsunoda, Y., and T. Sugie. (1989).** Superovulation in non-seasonal Japanese native goats with special reference to the developmental progression of embryos. Theriogenology 31(5):991-996.
- **Vujisic S., Lepej S.Z., Emedi I., Bauman R., Remenar A., and M.K. Tiljak. (2006).** Ovarian follicular concentration of IL-12, IL-15, IL-18 and p40 subunit of IL-12 and IL-23. Hum. Reprod. 21: 2650–2655.
- **Yuswiati E., and W. Holtz. (1996).** Superovulation with different exogenous gonadotropins in peripubertal goats. Indian J. Anim. Sci. 66(2):131-133.