استخدام البوزورولين في تحريض الإباضة عند الأفراس العربية الأصيلة

* محمد أيمن البيش **أ.د. محمد زهير الأحمد

(الإيداع: 22 كانون الثاني 2019 ، القبول: 24 آذار 2019)

الملخص:

استخدم 20 رأساً من الأفراس العربية الأصيلة بعمر (5–10) سنوات لتقييم مدى استجابتها لاستخدام البوزورولين في تحريض الإباضة بهدف تحديد الوقت المفضل للتلقيح وزيادة نسبة الخصوبة.

وزعت الأفراس عشوائياً إلى مجموعتين (10 أفراس/مجموعة). تم في مجموعة الدراسة استخدام أحد المشتقات الصنعية لـ GnRH وهو البوزورولين حقناً عضلياً وبجرعة كلية وقدرها (40 ميكروغرام) مرتين بفاصل 12 ساعة حيث تم اعطاء الجرعة الأولى (20 ميكروغرام) عند وصول قطر الجريب إلى 45±3 ملم. وتم في مجموعة الشاهد حقن 5 مل محلول فيزيولوجي مرتين وبفاصل 12 ساعة في العضل في نفس أوقات إعطاء البوزورولين في مجموعة التجربة. فحصت بعد ذلك الأفراس بعد حقن البوزورولين كل 6 ساعات لتحديد وقت حدوث الإباضة. لقحت الأفراس طبيعياً ولمرة واحدة فقط وذلك بعد 24 ساعة من اعطاء الجرعة الأولى من البوزورولين. تم بعد ذلك فحص الحمل بواسطة التصوير بالأمواج فوق الصوتية بعد 18 يوماً وأعيد التشخيص بعد 30 يوماً و90 يوماً. أظهرت النتائج وجود فرقاً معنوياً ($P<0.05$) في متوسط وقت حدوث الإباضة بين كلتا المجموعتين (34.2±6.4 و40.9±12.2 ساعة) على الترتيب. وأظهرت النتائج أيضاً وجود فرقا معنوياً ($P<0.05$) في نسبة الحمل (80 % و50 %) في مجموعتي الدراسة والشاهد على الترتيب.

واستنتج من الدراسة أن حقن جرعتين من البوزورولين بفاصل 12 ساعة عند وصول قطر الجريب إلى (45±3) ملم يؤدي إلى تحريض الإباضة في الوقت المناسب للتلقيح مما يؤدي إلى زيادة نسبة الخصوبة والحمل عند الأفراس العربية الأصلية.

الكلمات المفتاحية: الأفراس، GnRH، البوزورولين، التطور الجريبي، الإباضة، دورة الشبق.

* طالب دراسات عليا (ماجستير) – اختصاص الولادة والتناسل وأمراضها – قسم الجراحة والولادة – كلية الطب البيطري – جامعة حماة.

** أستاذ في تناسليات التلقيح الاصطناعي – قسم الجراحة والولادة – كلية الطب البيطري – جامعة حماة.

Using of Buserelin to Induce Ovulation in the Purebred Arabian Mares

*Vet. Mohamad Ayman Albiesh **Prof. Dr Mohamad Zuher Alahmad

(Received: 22 January 2019, Accepted: 24 March 2019)

Abstract:

Twenty Mares, 5-10 years old, were used in this present study to evaluate whether the administration of the GnRH analogue Buserelin to induce ovulation for determine the preferred time of mating and increase fertility rate in the Purebred Arabian Mares during the breeding season.

Mares were divided randomly into two groups (10 mares per group). In the experimental group (G1), a total dose of Buserelin (40 µg) were injected twice at 12 hours interval. The first dose of Buserelin (20 µg) was injected when the dominant follicle reached a diameter of (45±3mm). In the control group (G2), 5 ml physiological solution was injected twice at 12 hours interval at the same time of administration of Buserelin in the experimental group. The mares were then examined every 6 hours to determine the ovulation time. Mares were mated only once 24 hours after the first dose of Buserelin. The Pregnancy was then examined by ultrasound in 18, 30 and 90 days.

Results showed a significant difference ($P<0.05$) in the mean time of ovulation between experimental and control groups (34.2±6.4 and 40.9±12.2h) respectively. The percentage of pregnancy was significantly differenced ($P<0.05$) between two groups (80% and 50%) respectively.

These results indicate two injections of 20 µg of Buserelin at 12 hours interval, when follicles reached a diameter (45±3mm), was effectives to induce time of ovulation to increase the fertility and pregnancy rate in the Purebred Arabian Mares.

Keywords: Mares, GnRH, Buserelin, Follicular Growth, Ovulation, Estrous Cycle.

* Postgraduate student (Master in reproduction and obstetrics), Department of surgery and obstetrics، Faculty of Veterinary Medicine, Hama University, Syria.

** Professor in Department of surgery and obstetrics، Faculty of Veterinary Medicine, Hama University, Syria.

1- المقدمة Introduction:

يعتبر تأخر الإباضة وعدم تحديد وقتها بدقة خلال فترة الشبق من أهم المشاكل على الاطلاق التي تعاني منها الأفراس بشكل عام (Ginther *et al.*, 2004). وقد استخدمت مركبات هرمونية كثيرة لتحريض الإباضة وذلك بغية تلقيح الأفراس بوقت محدد ودقيق، ومن أهم هذه الهرمونات: هرمون equine Luteinising Hormone (eLH) المستخلص من الغدة النخامية للخيول، والهرمون المشيمائي البشري human Chorionic Gonadotropin (hCG)، والهرمون المحفز لموجهات القند Gonadotropins Releasing Hormone (GnRH) أو أحد مشتقاته الصنعية ومن أهمها البوزورولين (Yoon, 2012). حيث أثبتت العديد من الدراسات أن الـ GnRH أو مشتقاته يمكن أن تحفز الإباضة في دورات الشبق عند الأفراس (Palmer *et al.*, 1993; Hyland, 1993)، ويتم إفراز الـ GnRH خلال موسم التكاثر من الوطاء، ووظيفته هي تحفيز الغدة النخامية على إنتاج وإفراز الهرمون الحاث الجريبي Follicular Stimulating Hormone (FSH) والهرمون اللوتيئيني Luteinising Hormone (LH) وهي المسؤولة عن التغيرات الفيزيولوجية في المبيض خلال دورة الشبق (Green *et al.*, 2007). وتتمثل الأدوار المهمة لـ GnRH في السيطرة على تطور الجريب لتحفيز إفراز هرمون الاستروجين من الجريبات، وللحث على الإباضة (Samper *et al.*, 2007). ومن أهم نظائر أو مشتقات الـ GnRH المستخدمة بكثرة مركب البوزورولين Buserelin، وقد أشارت دراسات عديدة إلى استخدام هذا المشتق الصنعي في تحريض الإباضة عند الأفراس (Edward *et al.*, 2008).

استخدم البوزورولين لتحريض الإباضة بجرعة واحدة قدرها 0.04 ملغ لمدة 3 أيام في دراسة أجريت عام 2014 على الخيول الليبية حيث وصلت نسبة الإباضة إلى 50% من الأفراس وحدثت لديها إباضة خلال 48 ساعة و50% من الأفراس أظهرت الشبق فقط بدون إباضة (Medan and Al-Daek, 2014).

وفي دراسة أجريت في فرنسا على بعض السلالات المحلية استعمل البوزورولين بجرعة واحدة أيضاً قدرها 9 ميكروغرام تحت الجلد عندما وصل قطر الجريب إلى 35 ملم حيث وصلت نسبة الإباضة إلى 88.6% (35/31) بالمقارنة مع مجموعة الشاهد والتي وصلت فيها النسبة إلى 27.3% (55/15) وحدثت الإباضة ما بين 24 و48 ساعة بعد الحقن (Levy and Duchamp, 2007).

وفي دراسة أخرى تم حقن البوزورولين بجرعة 40 ميكروغرام بـ 4 جرعات بفاصل 12 ساعة عندما وصل قطر الجريب إلى 33 ملم حيث حثت هذه الطريقة الإباضة بشكل كبير خلال 48 ساعة (Barrier-Battuta *et al.*, 2001).

واستخدمت أيضاً عند سلالة خيول الجر الثقيلة جرعة واحدة من البوزورولين قدرها 40 ميكروغرام عندما وصل قطر الجريب إلى 45 ملم، حيث وصلت نسبة الإباضة إلى 93.5% (31/28) بالمقارنة مع مجموعة الشاهد والتي أعطت نسبة 56% (50/28) حيث حدثت الإباضة فيها خلال 48 ساعة (Miki *et al.*, 2016).

ونظراً لقلة الأبحاث حول استخدام البوزورولين في تحريض الإباضة عند الخيول العربية الأصيلة، تم اقتراح هذه الدراسة للإجابة على الأهداف الآتية:

1- دراسة تأثير البوزورولين المشتق الصنعي لهرمون الـ GnRH في تحريض الإباضة عند الأفراس العربية الأصيلة.

2- تحديد الوقت المثالي للإباضة بعد حقن البوزورولين بهدف تحديد الوقت المفضل للتلقيح من أجل زيادة نسبة الخصوبة.

2– المواد وطرائق العمل Material and Methods:

أجريت الدراسة على (20) رأساً من الأفراس العربية الأصيلة (سورية الأصل)، بعمر (5–10) سنة وبوزن حي (400–300) كغ في إسطبلات صافنات الجياد في العاصمة دمشق، اعتباراً من بداية شهر آذار 2018 وحتى تأكيد الحمل بعمر ثلاثة أشهر. تم فيها وضع كل فرس على حدى في إسطبل خاص مع وجود مشارب نصف آلية، وتم توزيع العلف فيهما على مرحلتين يومياً والمكون بالإجمال عند حيوانات التجربة والشاهد من التبن (3) كغ والنخالة (2) كغ وكمية قليلة من الشعير (0.5) كغ. تركت الحيوانات لفترة 20 يوماً في نفس المربط وبنفس الظروف من حيث المكان والتغذية، وذلك للتكيف مع الوسط المحيط. وبعد أن تم فحص الجهاز التناسلي للأفراس جميعها والتأكد من خلوها من المشاكل التناسلية باستخدام التصوير بالأمواج فوق الصوتية (الإيكوغراف) والتنظير المهبلي، تم توزيعها عشوائياً إلى مجموعتين متساويتين على الشكل الآتي:

1– المجموعة الأولى (n=10) وهي مجموعة التجربة (مج 1):

تم إعطاؤها المشتق الصنعي لـ GnRH وهو البوزورولين (ريسيبتال Receptal®) بجرعة (20 ميكروغرام) مرتين و بفاصل 12 ساعة في العضل حيث تم اعطاء الجرعة الأولى عند وصول قطر الجريب إلى 45±3 ملم بعد أن تم متابعتها يومياً خلال فترة الشبق وتسجيل أقطار الجريب السائد كل 24 ساعة.

2– المجموعة الثانية (n=10) وهي مجموعة الشاهد (مج 2):

تم إعطاؤها 5 مل محلول فيزيولوجي مرتين وبفاصل 12 ساعة في العضل عند وصول قطر الجريب إلى 45±3 ملم بعد أن تم متابعتها يومياً خلال فترة الشبق وتسجيل أقطار الجريب السائد كل 24 ساعة.

تم بعد ذلك تلقيح الأفراس طبيعياً من فحل واحد موجود في نفس المزرعة ولمرة واحدة فقط وذلك بعد 24 ساعة من اعطاء الجرعة الأولى من البوزورولين والمحلول الفيزيولوجي في مجموعتي التجربة والشاهد على الترتيب. تم فحص الحمل بواسطة الإيكوغراف بعد 18 يوماً وأعيد التشخيص بعد 30 يوماً و 90 يوماً للأفراس في كلا المجموعتين.

التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج الإحصائية باستخدام اختبار التباين باتجاه وحيد (ANOVA) واستخدام نظم التحليل الأمريكي من خلال البرنامج الإحصائي (Statistix, 2010) النسخة عشرون، كما تم إجراء دراسة إحصائية لكافة متغيرات الدراسة ومقارنة مستوى المعنوية للنتائج المحصول عليها عند مستوى ($P<0.05$) باستخدام البرنامج الإحصائي المذكور أعلاه.

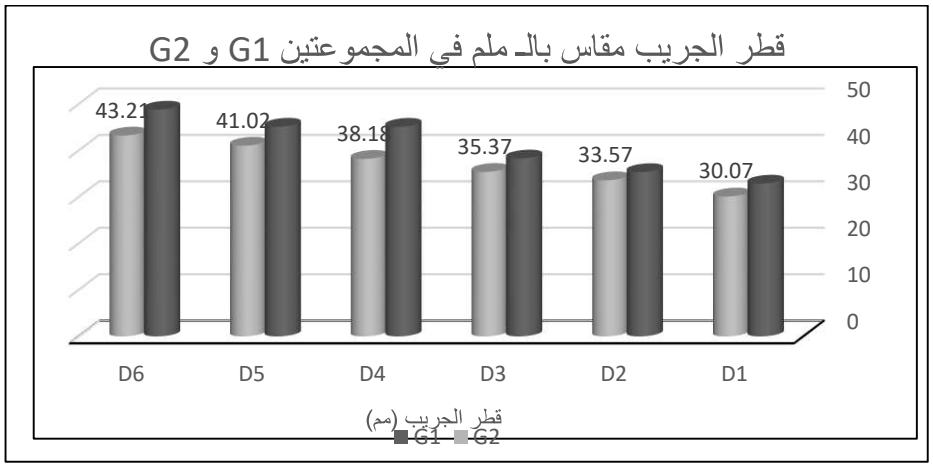
3– النتائج Results:

يوضح الجدول رقم (1) والمخطط البياني رقم (1) نسبة الأفراس التي ظهر عليها الشبق وكذلك قطر الجريب المقاس يومياً خلال فترة الشبق (6 أيام) وقد أظهرت النتائج عدم وجود أية فروقات معنوية في أقطار الجريبات في كلا المجموعتين.

الجدول رقم (1): يبين نسبة حدوث الشبق وقطر الجريب في كلا المجموعتين.

المجموعة	نسبة ظهور الشبق	قياس قطر الجريب (مم) خلال فترة الشبق (6 أيام)					
		اليوم (1)	اليوم (2)	اليوم (3)	اليوم (4)	اليوم (5)	اليوم (6)
مجموعة التجربة G1 (n=10)	100 %	6.12±32.85[a]	6.38±35.32[a]	5.93±38.26[a]	8.78±43.09[a]	4.64±45.11[a]	4.32±48.78[a]
مجموعة الشاهد G2 (n=10)	100 %	4.41±30.07[a]	4.64±33.57[a]	4.62±35.37[a]	4.10±38.18[a]	4.44±41.02[a]	5.10±43.21[a]
قيمة *p*		**0.67**	**0.78**	**0.79**	**0.17**	**0.99**	**0.59**

تشير الأحرف المتماثلة ضمن العمود الواحد إلى عدم وجود فروق معنوية بين المجموعات المدروسة(P<0.05).



المخطط البياني رقم (1): يشير إلى أقطار الجريب مقاساً في الأيام الستة لفترة الشبق.

ويوضح الجدول رقم (2) نسبة حدوث الإباضة ووقتها محسوباً بالساعات بعد وصول قطر الجريب السائد إلى 45±3 ملم وإعطاء البوزورولين والمحلول الفيزيولوجي في مجموعتي الدراسة والشاهد على الترتيب (الصورة رقم 1). حيث أظهرت النتائج وجود فرقاً معنوياً (P<0.05) بين كلتا المجموعتين (34.2±6.4 و40.9±12.2 سا) على الترتيب. ويوضح نفس الجدول نسبة حدوث الحمل نتيجة الفحص بالأمواج فوق الصوتية في الأيام 18 و30 و 90 ما بعد التلقيح حيث أظهرت النتائج وجود فرقا معنوياً (P<0.05) في نسبة الحمل (80 % و 50%) في مجموعتي الدراسة والشاهد على الترتيب (الصورة رقم 2 و 3 والتي تبين الحمل بعمر 18 و30 يوما على التوالي).

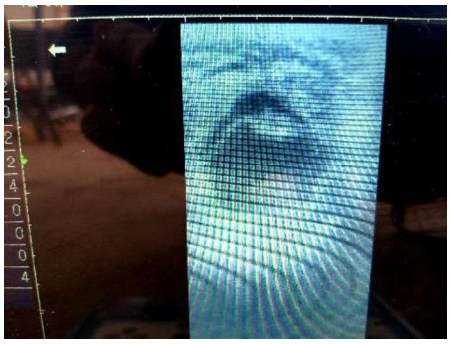
الجدول رقم (2): يبين نسبة حدوث الإباضة ونسبة الحمل في كلا المجموعتين.

المجموعة	الإباضة		نسبة الحمل (%)		
	النسبة (%)	الوقت (ساعة)	اليوم 18	اليوم 30	اليوم 90
مجموعة التجربة G1 (n=10)	100	6.4 ± 34.2^{a}	80^{a}	80^{a}	80^{a}
مجموعة الشاهد G2 (n=10)	100	12.2 ± 40.9^{b}	50^{b}	50^{b}	50^{b}
قيمة *p*	**N.S**	**0.008**	**0.04**	**0.04**	**0.04**

تشير الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية بين المجموعات المدروسة ($P<0.05$).

الصورة رقم (1): الجريب السائد في المبيض عند الأفراس بالتصوير بالأمواج فوق الصوتية.

الصورة رقم (2): حمل بعمر 18 يوماً.



الصورة رقم (3): حمل بعمر 30 يوماً.

4- المناقشة Discussion:

أظهرت هذه الدراسة (الجدول رقم 1) عدم وجود فرق معنوي ($P<0.05$) في المتوسط العام لنسبة حدوث الشبق عند الأفراس التي ظهر عليها الشبق حيث وصلت إلى 100 % في كلا مجموعتين الدراسة والشاهد. وكذلك لم تلاحظ أية فروق معنوية في أقطار الجريبات التي تم قياسها يومياً طيلة فترة الشبق (6 أيام) بين مجموعة الدراسة (التي استخدم فيها البوزورولين) ومجموعة الشاهد (التي استخدم فيها محلول فيزيولوجي) حيث وصل متوسط قطر الجريب ماقبل الاباضي في اليوم الرابع إلى (45.9±8.78 مقابل 38.18±2.10 ملم على الترتيب) وفي اليوم الخامس (45.11±4.64 مقابل 41.02± 4.44 ملم على الترتيب) وفي اليوم السادس (48.78±4.32 مقابل 43.21±5.10 ملم على الترتيب) وهذه النتائج توافق تقريباً ما تم التوصل إليه في دراسة أجراها (Miki ., 2016 *et al*) والتي حقن فيها البوزورولين بجرعة واحدة قدرها 20 ميكروغرام موزعة مرتين باليوم بفاصل 12 ساعة حيث وصل قطر الجريب في اليوم الرابع إلى (47.0±1.6 مقابل 45.7±1.1 ملم) لمجموعتي الدراسة والشاهد على الترتيب، ووصل قبل يوم من الإباضة إلى (52.1±1.9 مقابل 47.0±1.6ملم) في مجموعتي الدراسة والشاهد على الترتيب.

وبينت دراستنا أيضاً في الجدول رقم (2) عدم وجود فرق معنوي في نسبة حدوث الإباضة بين مجموعة الدراسة (التي استخدم فيها البوزورولين) ومجموعة الشاهد (التي استخدم فيها المحلول الفيزيولوجي) حيث وصلت إلى 100 % في كلا المجموعتين. بينما لوحظ وجود فرق معنوي ($P<0.05$) في وقت حدوث الإباضة محسوباً بالساعات بعد وصول قطر الجريب السائد إلى 45±3 ملم حيث وصل إلى (34.2±6.4 و40.9±12.2 سا) على الترتيب. وهذه النتائج تتطابق مع ما حصل عليه (Miki *et al.*, 2016) حيث وصلت نسبة الإباضة إلى 93.5% (31/28) بالمقارنة مع مجموعة الشاهد والتي أعطت نسبة 56% (50/28).

ويوضح الجدول رقم (2) في دراستنا أيضاً نسبة حدوث الحمل نتيجة الفحص بالأمواج فوق الصوتية في الأيام 18 و 30 و 90 مابعد التلقيح حيث أظهرت النتائج وجود فرقاً معنوياً ($P<0.05$) فوصلت نسبة الحمل إلى (80 % و 50 %) في مجموعتي الدراسة والشاهد على الترتيب. ويتفق ذلك مع ماجاء في دراسة أجريت سابقاً تم فيها حقن الـ GnRH وصلت فيها نسبة الحمل إلى 85.2 % (Patrick *et al.*, 1992). وتفوقت على دراسة أخرى تم فيها حقن أسيتات البوزورورلين حيث وصلت نسبة الحمل إلى 50 % (Levy and Duchamp, 2007). وتشير النتائج أن حقن الـ GnRH أو أحد مشتقاته يمكن أن يحث على حدوث إباضة مخصبة مبكرة خارج الموسم التناسلي كما أشار (Thorson *et al.*, 2014; Patrick *et al.*, 1992) أي أن هذه المركبات تسرع من عملية الإباضة مما يؤدي إلى تجنب بعض الحالات التي تتأخر فيها الإباضة ولا يتم إخصابها نتيجة اعتماد المربين على تلقيح أغلبية الأفراس في وقت محدد من الدورة التناسلية دون معرفة وضع المبيض.

وقد تبين أن لجميع مركبات الـ GnRH منها البوزورولين العديد من المزايا عند استخدامه كعامل للتبويض لدى الأفراس وهي على عكس الهرمون المشيمائي البشري (hCG) إذ لا تسبب تمنيع عند استخدامها عدة مرات متتالية

خلال الموسم (Yoon, 2012). وبالتالي يعتبر البوزورولين من أهم المشتقات الصنعية لـ GnRH والذي يعتبر المنظم الرئيسي لإفراز هرمون الـ LH من الفص الأمامي للغدة النخامية (Alexander and Irvine, 1987). ومن هنا جاء استخدامه كعامل رئيسي للتبويض عند الحيوانات الأهلية ولا سيما الأفراس من خلال الحث على تحفيز إفراز الـ LH كما ذكرت أغلب الدراسات (Miki *et al.*, 2016).

وبالنتيجة أظهرت الدراسة الحالية أن حقن جرعتين من البوزورولين بفاصل 12 ساعة عند وصول قطر الجريب إلى (45±3) ملم يؤدي إلى التحريض على الإباضة في الوقت المناسب للتلقيح مما يؤدي إلى زيادة نسبة الخصوبة والحمل عند الأفراس العربية الأصلية.

التوصيات:

1–الإعتماد على نتائج هذه الدراسة لاستخدام البوزورولين وهو من أهم المشتقات الصنعية لـ GnRH في تحريض الإباضة عند الأفراس العربية الاصيلة.

2–اختبار فعالية البوزورولين في تحريض الإباضة عند الأفراس العربية الاصيلة من خلال حقنه في الوريد أو تحت الجلد بالمقارنة مع الحقن العضلي.

3–إجراء دراسة مقارنة حول استخدام البوزورولين داخل وخارج الموسم التناسلي على عدد معنوي من الأفراس العربية الأصيلة.

References:

1- Alexander, S.L., and Irvine, C.H., (1987). Secretion rates and short-term patterns of gonadotrophin-releasing hormone, FSH and LH throughout the periovulator period in the mare. J. Endocrinol., 114:351-362.

2- Barrier-Battut, I., Pouter, N. Le., Trocherie, E., Hecht, S., Raux, A.G., Nicaise, J.I., Verin, X., Bertrand, J., Fieni, F., Hoier, R., Renault, A., Egron, L., Tainturier, D., Bruyas, J.F., (2001). Use of Buserelin to induce ovulation in the cyclic mare. Theriogenology, 55(8):1679-1695.

3- Edward, L., Squires, PhD., (2008). Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory, Colorado State University, Fort Collins, Co; 80:523-1683.

4- Ginther, O.J., Beg, M.A., Gastal, M.O., and Gastal, E.L., (2004). Follicle dynamics and selection in mares. Anim. Reprod., 1:45-63.

5- Green, J.M., Raz, T., Epp, T., Carley, S., (2007). Card CE. Relationships between utero-ovarian parameters in the ovulatory response to human chorionic gonadotropin in mares. AAEP. Proc; 53:563–567.

6- Levy, I., Duchamp, G.A., (2007). A Single subcutaneous administration of buserelin induces ovulation in the mare: filed data. Reprod. Domest. Anim., 42:550-554.

7- Medan, M.S., and Al-Daek, T., (2014). Treatment of Ovarian Inactivity in Mares during the Breeding Season with PMSG/hCG, PMSG or GnRH and the Effect of Treatment on Estradiol and Progesterone Concentrations. American Journal of Anim. and Veterinary Sci., 9(4):211-216.

8- Miki, W., Oniyama, H., Takeda, N., Kimura, Y., Haneda, S., Matsui, M., Taya, K., and Nambo, Y., (2016). Effect of a single use of the GnRH analog buserelin on the induction of ovulation and endocrine profiles in heavy draft mares. J. Equine. Sci., 27(4):149-156.

9- Palmer, E., Hajmeli, G., and Duchamp, G., (1993). Gonadotrophin treatments increase ovulation rate but not embryo production from mares. Equine Vet. J., 15:99-102.

10- Patrick, M., Mccue, D.V.M., Rod, C., Warren, D.V.M., R. Dixon Appel, D.V.M., George H. Stabenfeldt, DVM, PhD., John P. Hughes, DVM., and Bill L. Lasley, Phd., (1992). Pregnancy Rates Following Adminstration of GnRH Anestrou Mares.

11- Statistix, (2010). Analytical Softeware-Microsofte co. Ltd. Version 2010, USA.

12- Samper, J. C., Pycock, J. F., and mckinnon, A. O., (2007). Current Therapy in Equine Reproduction. W. B. Saunders, Philadelphia.

13- Thorson, J.F., Prezotto, L.D., Cardoso, R.C., Allen, C.C., Alves, B.R.C., Amstalden, M., Williams, G.L., (2014). Pharmacologic application of native GnRH in the winter anovulatory mars, II: Accelerating the timing of pregnancy, Theriogenology., 81: 625-631.

14- Yoon, M., (2012). The Estrous Cycle and Induction of Ovulation in Mares. 54(3):165-174.