

## تقييم استخدام سترات الكلوميدين في تحريض الشبق عند إناث الكلاب خارج الموسم التناسلي.

\* \* أ. د. محمد زهير الأحمد

\* سعيد محمد ناصر السليمان

(الإيداع: 9 نيسان 2019 ، القبول: 22 آب 2019)

## الملخص:

استخدمت 12 كلبة من مختلف الأنواع بعمر (2-5) سنوات لتقييم مدى استجابتها لاستخدام سترات الكلوميدين في تحريض الشبق خارج الموسم التناسلي.

فحصت الكلاب قبل بدء التجربة بالأموح فوق الصوتية والمسحات المهبلية للتأكد من عدم وجود شبق، وزعت الكلاب عشوائياً إلى مجموعتين، تم في المجموعة الأولى (مج1، n=6) استخدام أحد النظائر الصناعية لمضادات الأستروجين وهو سترات الكلوميدين تجريباً بالفم وبجرعة 100 ملغ يومياً حتى حدوث شبق ولمدة أقصاها 15 يوماً. وتم في مجموعة الشاهد (مج2، n=6) تجريب 10 مل محلول فيزيولوجي يومياً لمدة أقصاها 15 يوماً في نفس أوقات إعطاء سترات الكلوميدين في مجموعة التجربة الأولى. تم مراقبة الشبق وتحديد وقت الإباضة عن طريق (المسحات المهبلية، معايرة نسبة البروجسترون في الدم، التصوير بالأموح فوق الصوتية) للمجموعتين. لقحت الكلاب التي ظهر لديها الشبق مرتين يومياً ولمدة ثلاثة أيام من بداية مرحلة الشبق. تم فحص الحمل بواسطة التصوير بالأموح فوق الصوتية بعد 20 يوماً وأعيد التشخيص بعد 35 يوماً.

أظهرت النتائج وجود فرقاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في متوسط نسبة البروجسترون في الدم بين كلتا المجموعتين من بداية المعالجة بسترات الكلوميدين وذلك في الأيام (8,10,12,14,16)، وأظهرت النتائج أيضاً عدم وجود فرق معنوي ( $P > 0.05$ ) بالنسبة لمتوسط الفترة الزمنية اللازمة لحدوث الشبق بين مجموعتي الدراسة والشاهد (8.33 و12) يوماً على الترتيب، كما تبين وجود فروقات معنوية ( $P < 0.05$ ) من حيث عدد الكلاب التي ظهر لديها الحمل فلم يحدث حمل لدى مجموعة التجربة بينما حدث الحمل بمجموعة الشاهد بسبة 16.66%، وأظهرت النتائج عدم وجود فروقات معنوية ( $P > 0.05$ ) من حيث نسبة الكلاب التي ظهر عليها الشبق على الترتيب (3 و1) ما بين المجموعتين.

استنتج من الدراسة أن تجريب سترات الكلوميدين بالفم يومياً بجرعة 100 ملغ لمدة أقصاها 15 يوماً غير كافٍ لإحداث شبق عند إناث الكلاب خارج الموسم التناسلي.

الكلمات المفتاحية: الكلاب، تحريض الشبق، سترات الكلوميدين، بروجسترون، مضاد أستروجين.

\* 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.

## Evaluation of Clomiphene Citrate to Induce the Estrus in Bitches out of Breeding season.

\*Vet. Saeed Mohammad Naser Alsulieman

\*\*Prof. Dr. Mohamad Zuher Alahmad

(Received:9 April 2019 , Accepted: 22 August 2019)

### Abstract:

In this study, twelve different bitches, whose ages varied between two and five years from different breeders, were used to evaluate their response to the use of Clomiphene Citrate (CC) for inducing the estrus out of the breeding season. Before starting the experiment, the bitches were examined by ultrasound and vaginal cytology to be sure that there is no estrus. Then, the bitches were divided randomly into two groups. In the first experimental group (G<sub>1</sub>, n=6) CC:(100 mg) anti estrogen analogue was given orally once a day and daily until ovulation occurred or up to 15 days. In the control group (G<sub>2</sub>, n=6), 10 ml physiological solution was given orally once a day at the time of CC dosages in the first experimental group. The estrus and the ovulation time for the two groups were determined by (vaginal cytology, progesterone concentrations, and ultrasound). Bitches that showed estrus signs were mated twice a day for the three days following the beginning of the estrus. Pregnancy was then examined by ultrasound after 20 and 35 days.

Results showed a significant difference ( $P<0.05$ ) in the mean progesterone rate in blood between two groups in the days (8,10,12,14,16), and the results showed a nonsignificant difference ( $P>0.05$ ) for the mean period of time required for estrus induction between the two groups (8.33 & 12) days respectively> There was also a significant difference ( $P<0.05$ ) between the number of bitches that showed pregnancy (no pregnancy in G<sub>1</sub> compared with G<sub>2</sub> 16.66% of bitches have pregnancy), and the results showed a nonsignificant difference ( $P>0.05$ ) in the proportion of the bitches that showed estrus between the two groups (3 & 1) respectively.

These results indicate that using of CC (100mg, daily dose) for 15 days is not enough to Induce the estrus in bitches out of the breeding season.

**Keywords:** Canine, Estrus induction, Citrate Clomiphene, Progesterone, Anti–estrogen.

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

(2) Professor in Department of surgery and obstetrics. Faculty of Veterinary Medicine, Hama University, Syria.

**1- المقدمة Introduction:**

ظهرت في الآونة الأخيرة برامج عديدة لتحريض الشبق عند إناث الكلاب بهدف زيادة فرص الحمل والمواليد وعلاج حالات اللاشبق وتقصير الفترة بين شبقين.

يعد تحريض الشبق من المشاكل الرئيسية التي تواجه المربين والباحثين ومزارع الإنتاج. أدت الأمراض التناسلية وانقطاع دورة الشبق أو عدم الإباضة إلى خسائر اقتصادية كبيرة على المدى الطويل ودون وجود حلول جذرية لهذه المشكلة (Kutzler, 2007). ومن وجهة نظر أخرى بعيداً عن المشاكل والأمراض التناسلية شكل تحريض الشبق نقلة نوعية في مجال التهجين والتلقيح الاصطناعي عند السلالات الأجنبية النادرة وغالية الثمن قليلة الشبق للحصول على زمن دقيق لوقت حدوث الإباضة (تزامن الشبق) وتحسين النسل، وقد استخدمت العديد من المركبات والهرمونات لهذه الغاية (Concannon, 1992).

وقد تم اللجوء إلى تحريض الشبق عند الكلاب لمعالجة حالات اللاشبق الأولية (الأساسية) أو غياب دورة الشبق - غياب دورة الشبق في الشهر 24 من عمر الكلاب عند اكتمال النضوج الجسدي والجنسي والذي قد يكون دليلاً على تقصير أو سوء عمل "الوطاء - الغدة النخامية - المبيض" والذي يمكن أن يؤثر على عملية تحريض الشبق - التلقيح الاصطناعي - نقل الأجنة وزيادة عدد الدورات وتقليل أطوار الراحة بين الدورات الشبقية (Kutzler, 2007).

وقد وضع منذ عام 1939 أكثر من 40 برنامجاً أو جدولاً لتحريض وتزامن الشبق عند إناث الكلاب، أهمها: الكابورغولين (Cabergoline) والبروموكربتئين (Bromocryptine) وهي من المشتقات الصناعية للدوبامين Dopamine (Agonists)، وكذلك استخدام الـداي إيثيل ستلبيسترول (Diethylstilbestrol) وهي من مشتقات الأستروجين (Estrogens) الصناعية وأيضاً الليترلين (Lutrelin) - البوزورولين (Buserelin) - الفيرترلين (Fertirelin) - الـديزولورلين (Deslorelin) و الليوبرولايد (Leuprolide) وهي من مشتقات هرمون الـ GnRH، كما تم استخدام الهرمونات (LH-FSH-HCG-PMSG-HMG) وهي من مركبات الجونادوتروبيين (Gonadotropins) (Kutzler, 2005). وهنا لا بد من التنويه أن العديد من هذه البرامج مشكوك بصحته وبقية البرامج تم تطبيقها بنجاح ولكن ارتفاع سعرها أو التكلفة الباهظة لتطبيقها كانت العقبة أمام استعمالها بشكل روتيني (Kutzler, 2005).

ومن جهة أخرى، قد تم استخدام مادة سترات الكلوميفين (Clomiphene Citrate) في تحريض الإباضة عند النساء، وهو عبارة عن نظير صناعي غير سيرونيدي للبروجسترون (مضاد أستروجين) - تم تجربته بكثرة عند النساء بسبب قدرته غير العادية في تحريض إفراز الجونادوتروبيين من الغدة النخامية بعد أن تم تقييمه أو تجربته على الفئران (Kistner, 1966)، حيث كانت تستعمل منذ عام 1962 وكانت تستخدم كخيار أول في العلاج (Kousta et al., 1997). يقوم سترات الكلوميفين بزيادة نسبة هرمون الـ FSH بنسبة أكثر من 50% (Wallach and Adashi, 1984)، والذي بدوره يحفز النمو الجريبي، والزيادة الكبيرة في هذا الهرمون تؤدي إلى زيادة تركيز هرمون الـ LH في النصف الثاني وحتى نهاية الدورة الطمثية عند النساء (Polson et al., 1989).

ويعتبر كلاً من هرموني الـ LH والـ FSH من الهرمونات الضرورية لتحريض الإباضة عند الكلاب (Concannon, 1988; Johnston et al., 2001).

وقد أظهرت الدراسات عند استعمال سترات الكلوميفين عند البشر أن معدل الإباضة ازداد بنسبة 60 إلى 80% ومعدل الحمل من 30 إلى 40% (MacGregor et al., 1968; Garcia et al., 1977; Gorkitsky et al., 1978; Dickey et al., 1996; Gysler et al., 1982; Hammond and wallach, 1984). وكانت معدلات الإجهاض في نفس الدراسة 13 - 25% (Hammond and wallach, 1984; Dickey et al., 1996).

بعد البدء باستخدام سيترات الكلوميدين بشكل شائع على المرضى من النساء، توجهت التجارب إلى دراسة العوامل المؤثرة في استجابة الجسم للعلاج وكانت النتيجة هي زيادة الوزن لا أكثر (Lobo *et al.*, 1982)، حيث أن زيادة الوزن قد تؤدي إلى عدم استجابة الجسم لمادة سيترات الكلوميدين (Polson *et al.*, 1989).

وكانت نسبة حدوث إباضة عند النساء السليمة من المشاكل التناسلية 77,6% بعد إعطاء سيترات الكلوميدين لمدة من 5 إلى 8 أيام بجرعة 25-75 ملغ باليوم الواحد (Roy *et al.*, 1963).

وقد تم إضافة الديكساميتازون إلى سيترات الكلوميدين بجرعة 200 ملغ من سيترات كلوميدين لمدة من 5 إلى 9 أيام والديكساميتازون بجرعة 2 ملغ ولمدة 5 إلى 12 يوماً من بداية الدورة ووصل معدل الإباضة إلى 88% ومعدل الحمل عند النساء إلى 40% حيث أن بعض الأجسام قد تبدي مناعة لعمل سيترات الكلوميدين ويعمل الديكساميتازون على تقليل هذه المناعة (Parsanezhad *et al.*, 2002).

وقد استعمل سيترات الكلوميدين في دراسات قليلة جداً عند الحيوانات، ففي دراسة أجريت على ثنائي كلابات من أنواع مختلفة لوحظ الشبق عند 6 كلابات منها بعد إعطاء جرعة من سيترات الكلوميدين لمدة 15 يوماً وجرعة 5 ملغ لكل كغ من وزن الجسم بالفم يومياً (Fontaine *et al.*, 2011).

ونظراً لقلّة الدراسات عند الكلاب حول استخدام سيترات الكلوميدين في تحريض الشبق عند إناث الكلاب تم اقتراح هذه الدراسة لدراسة ومعرفة تأثير استخدام سيترات الكلوميدين عند إناث الكلاب البالغة جنسياً في تحريض الشبق خارج الموسم التناسلي من خلال (مراقبة تركيز هرمون البروجسترون في دم الكلابات خلال فترة المعالجة – نسبة الحمل – نسبة الولادات الطبيعية).

## 2- المواد اللازمة وطرق العمل **Material and Methods**:

### حيوانات التجربة:

أجريت الدراسة على 12 كلبه من الكلاب المختلفة السلالات بأعمار مختلفة تتراوح بين (2-5) سنوات ووزن حي (35-20) كغ، في المدرسة الذهبية للكلاب في العاصمة دمشق، حيث يتم وضع الكلاب في بوكسات منفردة وخاصة لكل كلب مع إعطائه اللقاحات اللازمة في الأوقات المحددة للقاح. تركت الحيوانات لمدة شهر كامل بنفس الظروف من حيث المكان والغذاء والماء، وذلك للتكيف مع الوسط المحيط. تم التأكد من سلامة الكلابات بالفحوصات العامة وأوزانها وسلامة الجهاز التناسلي وعدم وجود حمل، حقنت الكلاب جميعها باللقاحات اللازمة ثم تم ملئ استمارة لكل كلبه وسجلت المعطيات ثم وزعت حيوانات التجربة عشوائياً إلى مجموعتين على الشكل الآتي:

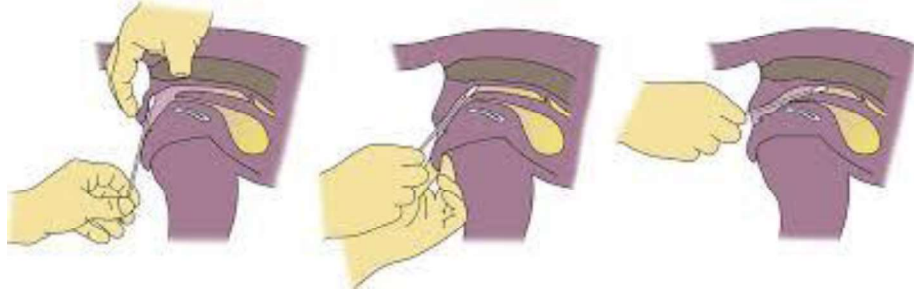
### المجموعة الأولى (n=6) هي مجموعة التجربة (G1):

تم تجريعها أفراس تحتوي على مادة سيترات الكلوميدين (كلوميدي® Sanofi Aventis – Clomid) بتركيز 100 ملغ يومياً حتى ظهور أعراض الشبق أو لمدة أقصاها 15 يوماً، تم فيها مراقبة مستويات البروجسترون في الدم بعد ظهور التصريف الدموي المهبلي ومراقبة المبيض بالإيكوغراف عند ذروة البروجسترون.

### المجموعة الثانية (n=6) هي مجموعة الشاهد (G2):

جرعت الكلابات في هذه المجموعة 10 مل من المحلول الفيزيولوجي عن طريق الفم في نفس المواعيد التي تم فيها إعطاء سيترات الكلوميدين في المجموعة الأولى.

أخذت المسحات المهبلية لجميع الكلاب طوال فترة الدراسة وذلك من خلال تبليل طرف الماسحة بمحلول ملحي معقم ثم فتح شفري الفرج وإدخال الماسحة كما هو موضح بالصورة رقم (1)، بعد ذلك تم برم الماسحة داخل المهبل من أجل كشط بعض الخلايا ثم اخرجت الماسحة بلطف من المهبل، وتم برم الطرف القطني منها على طول الشريحة لعمل فلم، جففت الشريحة بالهواء ثم تم صبغها بصبغة جيمسا لمدة 3 دقائق ثم غسلت الشريحة وجففت بالهواء ثم وضعت تحت المجهر لملاحظة الخلايا الموجودة.



الصورة رقم (1): توضح طريقة أخذ المسحة عند الكلاب.

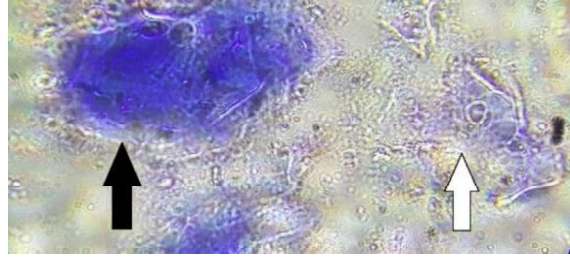
تم بعد ذلك سحب دم من الوريد الساعدي لجميع الكلاب في الأيام (8,10,12,14,16) منذ بداية الدراسة لمعرفة نسبة البروجسترون في الدم وتم تحليلها بالاستعانة بمخبر مختص للتحاليل الهرمونية كما تم مراقبة قطر الجريب إن وجد عند ذروة البروجسترون. لقحت بعد ذلك الكلاب التي ظهر لديها الشبق وفحص الحمل بالإيكوغراف باليوم 20 واليوم 35 بعد الجماع وتم مراقبة الإناث حتى الولادة وتسجيل عدد المواليد.

#### التحليل الإحصائي Statistics Analysis:

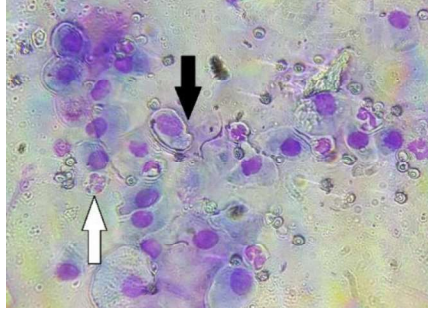
تم تحليل النتائج الإحصائية باستخدام اختبار (t) من خلال البرنامج الإحصائي (SPSS) النسخة اثنان وعشرون، كما تم إجراء دراسة إحصائية لكافة متغيرات الدراسة عند قيمة الاحتمالية  $P < 0.05$  وقيمة المعنوية ألفا 0.05 باستخدام البرنامج الإحصائي المذكور أعلاه (Gray and Kinnear, 2012).

#### 3-النتائج Results:

يظهر الشكل رقم (1 - 2) بعضاً من الخلايا التي ظهرت عند اخذ المسحات المجهرية في فترة الدراسة.



الشكل رقم (1): صورة مكبرة 450 مرة حيث يشير السهم الأسود الى خلية متقرنة غير منواة ويشير السهم الأبيض الى خلايا سطحية متقرنة بشكل جزئي.



الشكل رقم (2): صورة مكبرة 450 مرة حيث يشير السهم الأسود إلى خلية متوسطة صغيرة ويشير السهم الأبيض إلى كرية دم بيضاء لمفاوية.

ويُظهر الجدول رقم (1) بعضاً من المقاييس الإحصائية الوصفية وقيمة (P) الاحتمالية لمجموعات الدراسة ( $G_1, G_2$ ) فيما يتعلق بنسبة الإناث التي ظهر عليها الشبق، وذلك في مجموعة التجربة ( $G_1$ ) ومجموعة الشاهد ( $G_2$ ) وقد تبين عدم وجود فروقات معنوية بين المتوسطات الحسابية للمجموعات المدروسة عند قيمة الاحتمالية  $P < 0.05$ .

الجدول رقم (1): المقاييس الإحصائية الوصفية وقيمة (P) الاحتمالية لمجموعتي الدراسة فيما يتعلق بنسبة الإناث التي ظهر عليها الشبق.

عدد الحيوانات الشبقة		العدد الكلي	المجموعة
%	(n)		
50.00 <sup>a</sup>	3	6 ( $G_1$ )	التجربة
16.66 <sup>a</sup>	1	6 ( $G_2$ )	الشاهد
0.073			قيمة (P) الاحتمالية

حيث تشير الأحرف المتماثلة (a) ضمن العمود الواحد إلى عدم وجود فروقات معنوية بين المتوسطات الحسابية للمجموعات المدروسة عند قيمة الاحتمالية  $P < 0.05$

كما يُظهر الجدول رقم (2) بعضاً من المقاييس الإحصائية الوصفية وقيمة (P) الاحتمالية لمجموعات الدراسة ( $G_1, G_2$ ) فيما يتعلق بالفترة الزمنية اللازمة لظهور الشبق، فكانت المقاييس المستخدمة في هذه الدراسة هي نسبة الإناث الشبقة والمتوسط الحسابي والانحراف المعياري، حيث سجلت الدراسة أعلى قيمة للمتوسط الحسابي في مجموعة الشاهد ( $G_2$ ) مقارنةً مع مجموعة التجربة ( $G_1$ ) حيث كانت (12 و 8.33) يوماً على الترتيب، وقد تبين عدم وجود فروقات معنوية عند القيمة الاحتمالية  $P < 0.05$  بالنسبة إلى الفترة الزمنية اللازمة لظهور الشبق ما بين مجموعة التجربة والشاهد.

الجدول رقم (2): المقاييس الإحصائية الوصفية وقيمة (P) الاحتمالية لمجموعات الدراسة ( $G_1, G_2$ ) فيما يتعلق بالفترة الزمنية اللازمة لظهور الشبق.

الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي (يوماً)	عدد الإناث الشبقية	عدد الحيوانات	المجموعة
2.51	8.33 <sup>a</sup>	3	6 ( $G_1$ )	التجربة
--	12 <sup>a</sup>	1	6 ( $G_2$ )	الشاهد
0.334				قيمة (P) الاحتمالية

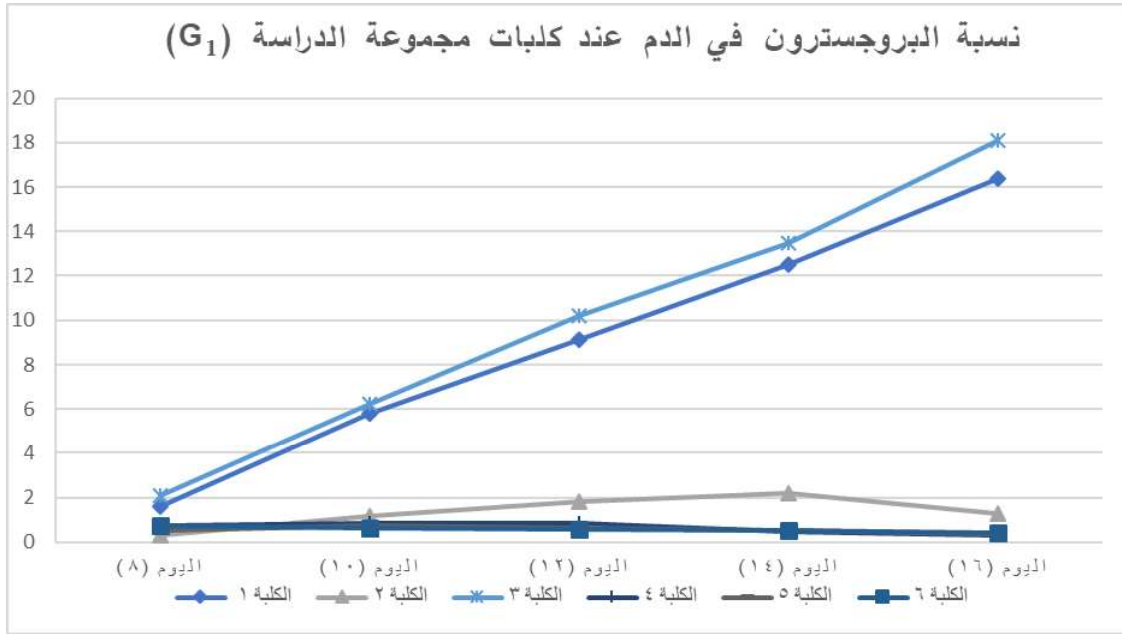
تشير الأحرف المتماثلة ضمن العمود الواحد إلى عدم وجود فروقات معنوية بين المتوسطات الحسابية للمجموعات المدروسة عند قيمة الاحتمالية  $P < 0.05$ .

ويُظهر الجدول رقم (3) والمخطط البياني رقم (1 - 2) بعضاً من المقاييس الإحصائية الوصفية وقيمة (P) الاحتمالية لمجموعات الدراسة ( $G_1, G_2$ ) فيما يتعلق بنسبة البروجسترون في الدم بدءاً من بداية المعالجة، فكانت المقاييس المستخدمة في هذه الدراسة هي المتوسط الحسابي وذلك في الأيام (8, 10, 12, 14, 16) وتبين وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية ما بين مجموعتي التجربة عند القيمة الاحتمالية  $P > 0.05$ .

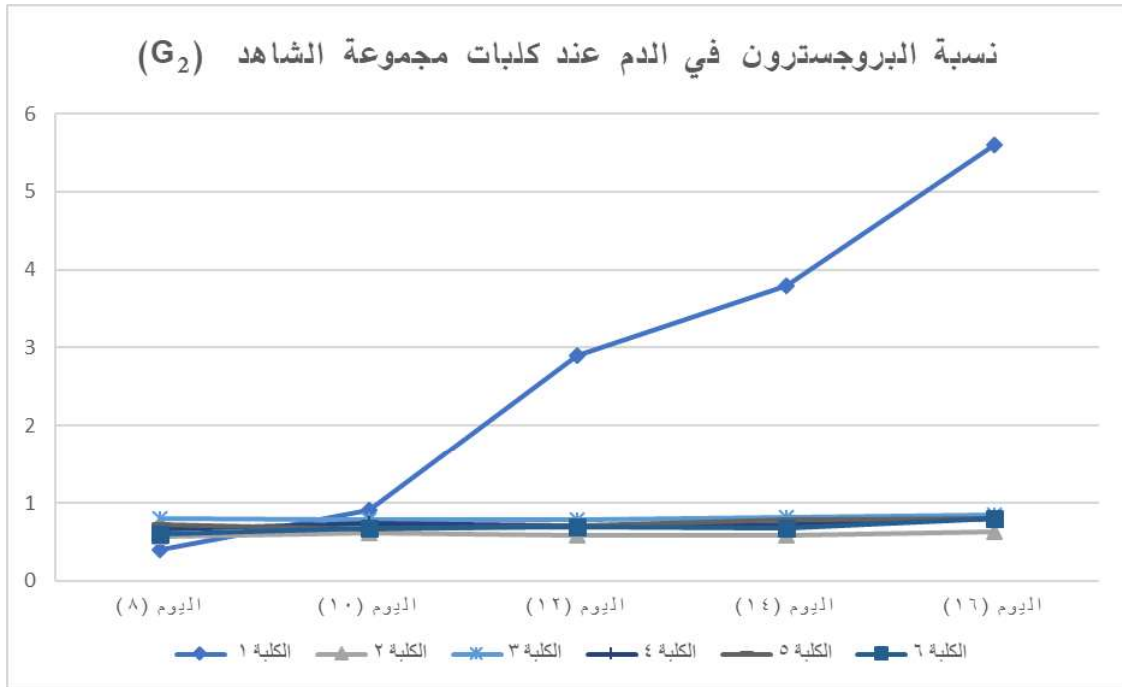
الجدول رقم (3): المقاييس الإحصائية الوصفية وقيمة (P) الاحتمالية لمجموعات الدراسة ( $G_1, G_2$ ) فيما يتعلق بنسبة البروجسترون في الدم بدءاً من بداية المعالجة.

نسبة البروجسترون في الدم بدءاً من بداية المعالجة (ng / ml)					عدد الحيوانات	المجموعة
اليوم (16)	اليوم (14)	اليوم (12)	اليوم (10)	اليوم (8)		
6.148 <sup>a</sup>	4.893 <sup>a</sup>	3.851 <sup>a</sup>	2.565 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	6	$G_1$ التجربة
1.578 <sup>b</sup>	1.231 <sup>b</sup>	1.061 <sup>b</sup>	0.720 <sup>b</sup>	0.623 <sup>b</sup>	6	$G_2$ الشاهد
0.001	0.001	0.001	0.000	0.007	قيمة (P) الاحتمالية	

حيث تشير الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد إلى وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية، بين المتوسطات الحسابية للمجموعات المدروسة عند قيمة الاحتمالية  $P < 0.05$ .



الجدول البياني رقم (1): يوضح تغيرات نسبة البروجسترون في الدم عند كليات مجموعة الدراسة خلال فترة الدراسة.



الجدول البياني رقم (2): يوضح تغيرات نسبة البروجسترون في الدم عند كليات مجموعة الشاهد خلال فترة الدراسة.

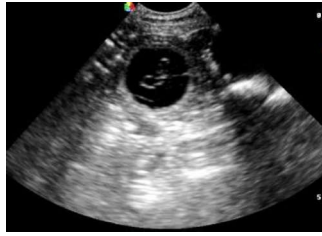
ويبين الجدول رقم (4) المقاييس الإحصائية الوصفية وقيمة (P) الاحتمالية لمجموعات الدراسة ( $G_1, G_2$ ) فيما يتعلق بعدد ونسبة الحيوانات التي ظهر عليها الحمل وقد أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية  $P > 0.05$  بالنسبة لعدد الحيوانات التي ظهر لديها حمل بين مجموعة التجربة والشاهد باستخدام الايكوغراف (الشكل رقم 3).



الجدول رقم (4): المقاييس الإحصائية الوصفية وقيمة (P) الاحتمالية لمجموعات الدراسة فيما يتعلق بعدد ونسبة الحيوانات التي ظهر عليها الحمل.

عدد الحيوانات التي ظهر لديها حمل		العدد	المجموعة
%	(n)		
0.00 <sup>a</sup>	0	6 (G <sub>1</sub> )	التجربة
16.66 <sup>b</sup>	1	6 (G <sub>2</sub> )	الشاهد
0.031			قيمة (P) الاحتمالية

حيث تشير الأحرف المختلفة (a, b) ضمن العمود الواحد إلى وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية بين المتوسطات الحسابية للمجموعات المدروسة عند قيمة الاحتمالية  $P < 0.05$ .



الشكل رقم (3): صورة تبين حمل بعمر 20 يوماً بالتصوير بالأمواج فوق الصوتية.

#### 4- المناقشة Discussion:

إن الهدف من الدراسة الحالية هو تقييم أثر استخدام سيترات الكلوميدين في تحريض الشبق عند إناث الكلاب خارج الموسم التناسلي، وهي دراسة تجرى لأول مرة في سورية نظراً لعدم توفر الكثير من برامج توقيت الشبق عند إناث الكلاب. لقد استخدم سيترات الكلوميدين لأكثر من 40 عاماً يشغل الخيار الأول بالعلاج أو زيادة الإباضة عند النساء لسهولة استعماله وأثاره الجانبية القليلة (Kousta *et al.*, 1997). وهناك أبحاث قليلة متوفرة حول طريقة استعماله أو الجرعة اللازمة عند الكلاب حيث استعمل هذا العقار عند المجترات والفئران عن طريق الفم (Bukhari *et al.*, 2016; Nelson *et al.*, 1990) على الرغم من الاستخدام الواسع لسيترات الكلوميدين لإحداث الشبق أظهرت الدراسات السريرية نتائج لا يمكن التنبؤ بها عند الحيوانات مثل الفئران والخيول (Donovan, 1971; Robinson, 1977; Prabhakar *et al.*, 1990) أظهرت دراستنا في الجدول رقم (1) عدم وجود فروقات معنوية ( $P > 0.05$ ) من حيث عدد ونسبة حدوث الشبق عند إناث الكلاب بين مجموعتي الدراسة والشاهد حيث وصلت إلى (3 من أصل 6 كلابات) في مجموعة الدراسة وبنسبة 50% بمقابل (كلية واحدة من أصل 6 كلابات) وبنسبة 16.66% في مجموعة الشاهد، كانت هذه النسبة أقل مما حصل عليه (Bukhari *et al.*, 2016) عند تجريع 6 أبقار لمادة سيترات الكلوميدين بتركيز 300 ملغ يومياً ولمدة تسعة أيام وكانت نسبة حدوث الشبق هي 83.44%. وهي مشابهة للنسبة التي حصل عليها (Wankar, 2016) عند تجريع 6 من إناث الجاموس لمادة سيترات الكلوميدين بتركيز 300 ملغ ولمدة 5 أيام وكانت نسبة حدوث الشبق هي 50%. لقد أظهرت الدراسات أن سيترات الكلوميدين عند الثدييات يقوم بحجب التلقيح الراجع من الأعضاء التناسلية إلى الوطاء وإيهام الدماغ بأن مستويات الأستروجين

في الجسم منخفضة مما يؤدي إلى إرسال إشارات من الوطاء للغدة النخامية يحفزها على إفراز الـ GnRH والذي بدوره يحفز على إنتاج المزيد من الـ LH والـ FSH مما يؤدي لتحريض المبيض لتشكيل الجريبات حيث أن هرمون الـ LH هو الهرمون الذي يسبب انفجار الجريبات وتحرير البويضات (Puri, 2015).

كما ويوضح الجدول رقم (2) أيضاً عدم وجود فروقات معنوية ( $P>0.05$ ) من حيث متوسط المدة التي ظهر فيها الشبق عند مجموعة الدراسة والشاهد حيث كانت 8.33 يوماً في مجموعة الدراسة الأولى مقابل 12 يوماً في مجموعة الشاهد، وهذه المدة مشابهة لما حصل عليه (Kodagali *et al.*, 1985) عند تجريب سيترات الكلوميدين عند إناث كلاب الدوبرمان لتحريض الشبق وكانت النتائج حصول شبق بعد 7 إلى 9 أيام، حيث أن اختلاف الفاصل الزمني بعد العلاج بسيترات الكلوميدين قد يكون بسبب اختلاف مراحل التطور الجريبي في مرحلة ما قبل الشبق في وقت العلاج حيث أن المعالجة في الفترة المتأخرة من مرحلة ما قبل الشبق قد يحفز على حدوث شبق في الفترة أسرع من ذلك الحاصل عند العلاج في مرحلة أخرى من مرحلة ما قبل الشبق (Wankar, 2016).

يظهر الجدول رقم (3) في دراستنا وجود فرقاً معنوياً ( $P<0.05$ ) بين متوسط نسبة البروجسترون في دم الكلاب في المجموعتين خلال مدة الدراسة في الأيام (8,10,12,14,16)، حيث نشاهد ارتفاع ملحوظ في نسبة البروجسترون بين مجموعة الدراسة والشاهد يتوافق ذلك مع ما حصل عليه (Bukhari *et al.*, 2016) حيث أظهرت الدراسات أن سيترات الكلوميدين يحفز إفراز هرمون الـ GnRH وهو الهرمون الوظيفي الأول والمسؤول عن التكاثر عن التثبيبات إذ يعمل على مرحلتين الأولى على الغدة النخامية والتي تسبب زيادة إفراز الـ LH و FSH وطرحها في الدم مصحوبة بزيادة الهرمونات الستيروئيدية الجنسية ومن ثم في المرحلة الثانية في حالة استمرار المعالجة سيؤدي ذلك تحسس الغدة النخامية وزيادة مستويات الـ LH والـ FSH في الجسم مما يحث على تحريض الإباضة (Fontaine and Fontbonne, 2011)، كما توافق نتائجنا مع ما حصل عليه (El-sherry *et al.*, 2011) حيث استخدم سيترات الكلوميدين عند أغنام الرحماني وكانت غير كافية لاستمرار نمو الجريب وحدوث إباضة وأثر ذلك سلباً على مستوى الأستروجين في الدم.

كما يظهر الجدول رقم (4) في دراستنا إلى حصول فرقاً معنوياً ( $P>0.05$ ) فيما يتعلق بنسبة وعدد الحيوانات التي ظهر لديها حمل بين مجموعة الدراسة (لا يوجد حمل) والشاهد (كلبة واحدة ظهر لديها الحمل) وهذه النسبة أقل بكثير من النسبة التي حصل عليها (Roy *et al.*, 1963) عند إعطاء سيترات الكلوميدين لـ 179 امرأة وكانت النتائج حدوث إباضة عند 139 منهم وبنسبة 77.6% وحدث حمل بنسبة 18.4%. حيث أظهرت بعض الدراسات أن المعالجة الطويلة بنظائر الـ GnRH قد تسبب فشل لوتثيني ثانوي عائد للغدة النخامية حيث أن الـ LH هو أحد العوامل الملوتة الأساسية عند الكلاب ويعمل على تفجير حويصل غراف لطرح البويضة المخصبة (Fontbonne *et al.*, 2007).

يستنتج من هذه الدراسة أن تجريب سيترات الكلوميدين بالفم يومياً بجرعة 100 ملغ لمدة أقصاها 15 يوماً غير كافي لإحداث شبق عند إناث الكلاب خارج الموسم التناسلي.

#### 5-التوصيات Recommendations:

1. القيام بدراسات مشابهة لهذه الدراسة يتم فيها استخدام جرعة 200 ملغ من سيترات الكلوميدين يومياً عند إناث الكلاب.
2. القيام بدراسات أخرى يتم فيها حقن الهرمون المشيمي البشري (hCG) مع سيترات الكلوميدين لدعم انفجار جريبات غراف.
3. القيام بدراسات إضافية لتقييم استخدام سيترات الكلوميدين عند إناث الكلاب لكن يتم فيها تحديد نوع السلالة او العرق.

## 6-المراجع References

- 1- **Bukhari, S. A. A., Ali, S., Zubair, M., Ahmad, I., & Rehman, U. U.**, (2016). Effect of clomiphene citrate and human chorionic gonadotropin (hCG) on ovulation induction in prepubertal Sahiwal heifers. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(3): 232–235.
- 2- **Concannon, P. W.** (1988). Induction of fertile oestrus in anoestrous dogs by constant infusion of GnRH agonist. *J. Reprod. Fertil.*, 39:149–160.
- 3- **Concannon, P. W.** (1993). Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs. *J. Reprod. Fertil.*, 47:3–27.
- 4- **Concannon, P.W.** (1992). Methods for rapid induction of fertile oestrus in dogs. In: *Kirk's Current Veterinary Therapy: Small Animal Practice*; eds. Kirk, R.W. and Bonagura, J.D., W.B. Saunders Company, Philadelphia. pp:960–963.
- 5- **Dickey, R. P., Taylor, S. N., Curole, D. N., Rye, P. H., & Pyrzak, R.** (1996). Infertility: Incidence of spontaneous abortion in clomiphene pregnancies. *Hum. Reprod.*, 11:2623–2628.
- 6- **Donovan, B. T.** (1971). The action of clomiphene in the ferret. *Journal of Endocrinology*, 51(2): 387–391.
- 7- **EL Sherry, T. M., Derar, D., Hussein, H. A., Shahin, A. Y., & Fahmy, S.** (2011). Effect of clomiphene citrate on follicular recruitment, development, and superovulation during the first follicular wave in Rahmani ewes. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(3): 232–235
- 8- **Fontaine, E., & Fontbonne, A.** (2011). Clinical use of GnRH agonists in canine and feline species. *Reproduction in domestic animals*, 46(2): 344–353.
- 9- **Fontaine, E., Mir, F., Vannier, F., Albouy, M., & Fontbonne, A.** (2011). Use of anti-oestrogens and aromatase inhibitors to prevent heat induction in anoestrous bitches treated with deslorelin implants. In *Reproduction in Domestic Animals* (pp. 46, pp. 105–105).
- 10- **Fontbonne A, Levy X, Fontaine E, Gilson C.** (2007). *Guide pratique de reproduction clinique canine et féline*. ed. E. Med'com., pp. 272.
- 11- **Garcia, J., Jones, G. S., & Wentz, A. C.** (1977). The use of clomiphene citrate. *Fertil. Steril.*, 28:707–717.

- 12– **Gorlitsky, G. A., Kase, N. G., & Speroff, L.** (1978). Ovulation and pregnancy rates with clomiphene citrate. *Obstet. Gynecol.*, 51:265–269.
- 13– **Gray, C. D., & Kinnear, P. R.** (2012). IBM SPSS statistics 19 made simple. Psychology Press.
- 14– **Gysler, M., March, C. M., Mishell, D. R., & Bailey, E. J.** (1982). A decade's experience with an individualized clomiphene treatment regimen including its effect on the postcoital test. *Fertil. Steril.*, 37:161–167.
- 15– **Hammond, M. G., & Wallach, E. E.** (1984). Monitoring techniques for improved pregnancy rates during clomiphene ovulation induction. *Fertil. Steril.*, 42:499–509.
- 16– **Johnston, S. D., Kustritz, M. V., & Olson, P. S.** (2001). The Feline Estrous Cycle. In: *Canine and feline theriogenology*. Elsevier Health Sciences. 396:398–403.
- 17– **Kistner, R. W.** (1966). Use of clomiphene citrate, human chorionic gonadotropin, and human menopausal gonadotropin for induction of ovulation in the human female. *Fertility and Sterility*, 17(5): 569–583.
- 18– **Kodagali, S. B., Dhami, A. J. & Luktuke, S.N.** (1985). Induction of ovulatory oestrus in a Dobermann bitch. *Indian J. Anim. Reprod.* 6:105–106.
- 19– **Kousta, E., white, D. M., & Franks, S.** (1997). Modern use of clomiphene citrate in induction of ovulation, *Hum. Repro. Update*, 3(4): 359–365.
- 20– **Kutzler, M.** (2005). Induction and synchronization of estrus in dogs. *Theriogenology*, 64:766–775.
- 21– **Kutzler, M.** (2007). Estrus induction and synchronization in canids and felids. *Theriogenology*, 68:354–374.
- 22– **Lobo, R. A., Gysler, M., March, C. M., Goebelsmann, U., & Mishell, D. R.** (1982). Clinical and laboratory predictors of clomiphene response. *Fertil. Steril.*, 37(2): 168–174.
- 23– **MacGregor, A. H., Johnson, J. E. & Bundle, C. A.** (1968). Further clinical experience with clomiphene citrate. *Fertil. Steril.*, 19(4):, 616–626.
- 24– **Nelson, L. M., Hershlag, A., Kurl, R. S., Hall, J. L., & Stillman, R. J.** (1990). Clomiphene citrate directly impairs endometrial receptivity in the mouse. *Fertility and sterility*, 53(4): 727–731.

- 25– **Parsanezhad, M. E., Alborzi, S., Motazedian, S., & Omrani, G.** (2002). Dexamethasone in clomiphene citrate–resistant patients, *Fertil. Steril.*, 78(5): 1001–1004.
- 26– **Polson, D. W., Kiddy, D. S., Mason, H. D. & Franks, S.** (1989). Induction of ovulation with clomiphene citrate in women with polycystic ovary syndrome: the difference between responders and non–responders. *Fertil. Steril.*, 51(1): 30–34.
- 27– **Prabhakar, S., Sharma, R. D., & Dhaliwal, G. S.** (1990). Efficacy of hormonal and non–hormonal drugs for induction of oestrus in anoestrous bitches. *Indian Veterinary Journal*, 67(5): 433–435.
- 28– **Puri, D. S.** (2015). Pharmacokinetic Study of Clomiphene in Goats (Doctoral dissertation, MAFSU, Nagpur.).
- 29– **Robinson, J. R.** (1977). Use of clomiphene citrate to induce estrus in anestrous mares. *Veterinary medicine, small animal clinician: VM, SAC*, 72(4), 605–607.
- 30– **Roy S., Greenblatt R. B., Mahesh V. B., & Jungck E. C.** (1963). Clomiphene Citrate and Ovulation, *Fertil. Steril.*, 14(6): 575–595.
- 31– **Wallach, E. E. & Adashi, E. Y.** (1984). Clomiphene citrate: mechanism(s) and site(s) of action—a hypothesis revisited. *Fertil. Steril.*, 42:331–344.
- 32– **Wankar, M. S.** (2016). Fertility Evaluation After Clomiphene Citrate and Ovsynch Protocol Treatment in Buffalo Heifers (Doctoral dissertation, MAFSU, Nagpur).