مجله غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
سال اول، شماره ۳، صفحات ۲۲۸-۲۲۴ (پاییز ۱۳۷۸)

تعداد جسم زرد و میزان پروژسترون پلاسمای خون*

دکتر مجتبی کافی، حمیدرضا قیصری
بخش تولیدمثل دام گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی ـ دانشگاه شیراز

چکیده

هدف از انجام آزمایش حاضر بررسی رابطه بین جسم زرد و میزان پروژسترون (P_4) پلاسمای خون می‌باشد. تعداد ۱۷ رأس گاو (۱۶-۱۳ ماه سن) سیکلیک از نژاد هلشتاین انتخاب و سیکل فحلی در آنها همزمان گردید. در روز ۲±۱۰ سیکل با استفاده از FSH-P (۳۰mg) بصورت ۸ دز داخل عضلانی و طی مدت ۴ روز به فاصله هر ۱۲ ساعت، برنامه سوپراولاسیون اجرا شد. ۴۸ ساعت پس از اولین تزریق FSH-P، جهت تحلیل جسم زرد، یک دز لوتئولیتیک پروستاگلاندین اف دو آلفا به گاوها تزریق شد. گاوها روز هفتم پس از تلقیح مصنوعی، مورد ملامسه رکتال و سونوگرافی قرار گرفته و تعداد جسم زرد (>۱۰mm) شمارش و ثبت گردید. در همین روز اقدام به خونگیری جهت اندازه‌گیری P_4 گردید. تست همبستگی بین تعداد جسم زرد و میزان P_4 با استفاده از برنامه آماری SPSS انجام شد. ضریب همبستگی بین تعداد جسم زرد شمارش شده از طریق ملامسه رکتال و سونوگرافی رکتال با میزان پروژسترون پلاسما در روز هفتم پس از تلقیح به‌ترتیب ($p<۰/۰۱$ و $r=۰/۸۴$) و ($p<۰/۰۳$ و $r=۰/۸۰$) محاسبه شد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد، میزان پروژسترون

* ارائه شده در پنجمین کنگرهٔ بین‌المللی بیماری‌های غدد درون‌ریز، ۱۸-۱۵ شهریور ۱۳۷۸، تهران.

پلاسمای خون رابطه قوی و مثبت با تعداد جسم زرد روی تخمدان دارد.

کلمات کلیدی: جسم زرد، پروژسترون، گاو، سوپر اولاسیون

مقدمه

محققین روشهای گوناگونی را جهت ارزیابی و پیش‌بینی پاسخ تخمدان به درمان سوپراولاسیون مورد بررسی قرار داده‌اند. لاپاراسکوپی، لاپاراتومی و ملامسه راست روده‌ای تخمدانها (۲ و ۱) اندازه‌گیری هورمونهایی نظیر میزان استروژن (۳) و سونوگرافی تخمدانها (۴) از جمله راههایی بوده است که برای پیش‌بینی پاسخ تخمدانها به‌کار گرفته شده‌اند. اگرچه برخی از این روشها مثل لاپاراتومی دارای کارآیی قابل قبولی در پیش‌بینی پاسخ تخمدانها هستند ولی از نقطه‌نظر علمی نمی‌توان آنها را روی هر بیمار یا حیوان دهنده جنین به‌کار گرفت. صرف نظر از نارسایی روشهای یادشده در پیش‌بینی پاسخ تخمدانها به سوپراولاسیون، نوع هورمون استفاده شده، میزان خلوص هورمون، دزاژ، رژیم درمانی و وضعیت تخمدان در زمان آغاز درمان از علل مشکل بودن پیش‌بینی پاسخ تخمدان به درمان است (۵). مطالعات انجام شده نشان می‌دهد یک رابطهٔ مثبت قوی بین میزان پروژسترون پلاسما و حجم جسم زرد (۷و۶) در گاو وجود دارد. این رابطه مورد تأیید مطالعات سونوگرافی جسم زرد و میزان پروژسترون نیز قرارگرفته است (۹و۸).

هدف از انجام آزمایش حاضر بررسی رابطه بین تعداد جسم زرد شمارش شده از طریق ملامسه راست روده‌ای با میزان پروژسترون (P_4) پلاسمای خون است. گاو ماده به دلیل سهولت در ملامسه و سونوگرافی راست روده‌ای تخمدانها و همچنین امکان القاء تخمک‌گذاری چند تایی (Multiple ovulation) مدل مناسبی برای انجام این آزمایش است.

مواد و روش کار

تعداد ۱۹ رأس گاو ماده (۱۶-۱۳ ماه سن) سیکلیک از نژاد هلشتاین انتخاب و تحت رژیم غذایی استاندارد ومشابه قرار گرفتند. گاوها در زمان انتخاب برای آزمایش دارای تخمدان فعال بودند وهر کدم یک یا دو بار علائم فحلی را نشان داده بودند. سیکل جنسی گاوها با استفاده از دو تزریق عضلانی پروستاگلاندین اف دو آلفا (لوتالیز، آپجان هلند) به فاصله ۱۱ روز همزمان گردید. برنامه سوپراولاسیون روز ۲±۱۰ سیکل جنسی با استفاده FSH-P (۳۰mg، شرینک امریکا) انجام گرفت. FSH-P به‌صورت ۸ دوز داخل عضلانی و طی مدت ۴ روز به فاصله هر ۱۲ ساعت و با رژیم دزکم شونده انجام شد. ۴۸ ساعت پس از اولین تزریق FSH-P، اقدام به تحلیل جسم زرد با تزریق پروستاگلاندین اف دو آلفا (۳۰mg) گردید. در فاصله ۲۴-۳۶ ساعت پس از تزریق پروستاگلاندین الف دو الفا، گاوها دوبار تلقیح مصنوعی شدند. گاوها روز هفتم پس از تلقیح مصنوعی، مورد ملامسه رکتال و سونوگرافی قرارگرفتند.

معاینه سونوگرافی تخمدانها

تخمدانهای هرگاو بوسیله یک دستگاه سونوگرافی مد B که مجهز به یک پروب رکتال با قدرت ۵ مگاهرتز (SSD, 500V, Aloka, Tokyo, Japan) بود، انجام شد. هر تخمدان از جهات مختلف مورد معاینه سونوگرافی قرارگرفت و تعداد جسم زرد و فولیکولهای بزرگتر از ۹ میلی‌متر روی هر تخمدان شماش شدند. جهت مطالعه بیشتر از تصاویر ساختارهای تخمدان عکس گرفته شد. معاینات سونوگرافی در زمان شروع

برنامه سوپراولاسیون جهت اطمینان از وجود جسم زرد بالغ (CL_3)، در روز تلقیح مصنوعی جهت مشاهده فولیکولهای بزرگ (>۹mm) و در روز هفتم پس از تلقیح مصنوعی جهت شمارش تعداد جسم زرد و فولیکولهای تخمک‌گذاری نکرده انجام گرفت.

اندازه‌گیری پروژسترون

نمونه‌های خون از سیاهرگ وداج در روز تلقیح مصنوعی و روز هفتم پس از تلقیح مصنوعی به داخل لوله‌های هپارین‌دار جمع‌آوری شد و پس از سانتریفیوژ نمونه‌ها (R/m ۳۰۰۰-۱۰ دقیقه)، پلاسما جدا و در شرایط منجمد ۳۰°C- نگاهداری شدند. اندازه‌گیری پروژسترون با استفاده از روش رادیوایمنواسی (RIA) (۱۰) انجام گرفت. کمترین غلظت قابل اندازه‌گیری پروژسترون $۰/۰۸ng\,ml^{-1}$ و بیشترین مقدار $۲۵ng\,ml^{-1}$ بود. تفاوت بین آزمایش RIA در $۵/۱ng\,ml^{-1}$، ۱۴ درصد مشاهده شد.

تحلیل آماری

رابطه بین تعداد جسم زرد و میزان پروژسترون با انجام تست همبستگی و معادله خط رگراسیون با استفاده از برنامه آماری SPSS تعیین شد. سطح معنی‌دار در حد ۵ درصد درنظر گرفته شد.

نتایج

براساس معاینه سونوگرافی، تعداد ۱۷ رأس از گاوها (۸۹/۴۷٪) در زمان شروع برنامه سوپراولاسیون دارای جسم زرد بالغ (CL_3) بودند. تعداد ۲ رأس گاو که در زمان شروع برنامه سوپراولاسیون دارای جسم زرد نبودند تحت درمان سوپراولاسیون قرار نگرفتند و از آزمایش حذف گردیدند. تعداد ۱۵ رأس از گاوها در فاصله ۲۴ تا ۳۶ ساعت پس از تزریق پروستاگلاندین اف دو آلفا، علائم جنسی ایستا (میل به جفتگیری) نشان دادند. خلاصه نتایج درمان سوپراولاسیون در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول شماره ۱) پاسخ تخمدان به درمان سوپراولاسیون

دامنه	۰-۲	۵-۳	>۵
تعداد گاو			
دارای فولیکول (میلی‌متر ۹<) در روز AI	۲	۴	۱۱
دارای جسم زرد (۲/۵-۱ سانتی‌متر) مشاهده شده با سونوگرافی در روز هفتم پس از AI	۴	۴	۹
دارای جسم زرد (۲/۵-۱ سانتی‌متر) لمس شده در روز هفتم پس از AI	۳	۵	۹

AI = Artificial insemination

ضریب همبستگی بین تعداد جسم زرد شمارش شده از طریق ملامسه رکتال با میزان پروژسترون در روز هفتم پس از تلقیح مصنوعی ($p<۰/۰۱$ و $r=۰/۸۴$) محاسبه شد. همچنین ضریب همبستگی بین تعداد جسم زرد مشاهده شده از طریق سونوگرافی رکتال و میزان پروژسترون در روز هفتم پس از تلقیح مصنوعی و میزان پروژسترون پلاسما در روز هفتم پس از تلقیح مصنوعی $Y=۱/۲۶a+۴/۷۶$ و برای تعداد جسم زرد مشاهده شده از طریق سونوگرافی و میزان پروژسترون پلاسما در روز هفتم پس از تلقیح مصنوعی

Y=۲/۰۲a+۴/۹۶ محاسبه شد. میانگین تعداد فولیکولهای تخمک‌گذاری نکرده که از طریق سونوگرافی در روز هفتم پس از AI مشاهده شد، (X=SD؛ ۲/۵±۲/۱) بود.

بحث

میزان پروژسترون در دوره لوتئال سیکل جنسی قبلی (۱۶)، در زمان اولاسیون (۱۷) و میزن پروژسترون ترشح شده از جسم زرد در سیکل جنسی بعدی (۱۶) از عوامل مهم مؤثر روی ایجادو بقاء آبستنی در گاو است. اهمیت وجود یک جسم زرد فعال در زمان آغاز درمان سوپراولاسیون نشان داده شده است (۱۱). گاوهایی که در زمان آغاز درمان سوپراولاسیون دارای پروژسترون خون کمتر از $۰/۵ng\ ml^{-1}$ بودند، از LH surge مشخص و طبیعی در زمان مورد انتظار اولاسیون برخوردار نبودند و پاسخ تخمدان به درمان سوپراولاسیون بسیار ضعیف بود (۱۱) گاوهایی که تحت درمان سوپراولاسیون قرار گرفته‌اند، چنانچه میزان پروژسترون خون آنها در زمان اولاسیون بیشتر از $۱ng\ ml^{-1}$ باشد، پاسخ خوبی به درمان سوپراولاسیون نمی‌دهند (۱۲). بالابودن پروژسترون خون در زمان اولاسیون مانعی در جهت وقوع LH Surge است.

در مطالعه حاضر، رابطه بین تعداد جسم زرد و میزان پروژسترون در روز هفتم پس از تلقیح مصنوعی در گاوهای تحت درمان سوپراولاسیون با FSH-P مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، رابطه‌ای قوی بین تعداد جسم زرد لمس شده یا مشاهده شده از طریق سونوگرافی رکتال با میزان پروژسترون خون در روز هفتم پس از تلقیح مصنوعی مشاهده شد. نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های Wubishet و همکاران (۱۹۹۱) (۱۳) مشابه و با یافته‌های Saumande و همکاران (۱۹۸۰) (۳) متفاوت می‌باشد. اکثر محققین نشان داده‌اند در روز پس از تلقیح مصنوعی همبستگی بین تعداد بافت لوتئال و میزان پروژسترون بسیار بالاست ولی به تدریج تا روز هشتم پس از تلقیح این همبستگی ضعیف‌تر می‌گردد. دلیل ضعیف شدن این همبستگی وجود فولیکولهای تخمگذاری نکرده‌ای است که دیواره آنها به درجات مختلف لوتئینی می‌شود. این ساختارها جسم زرد کاذب نامیده شده‌اند (۱). در زمان ملامسه راست روده‌ای این ساختارها با جسم زردهای طبیعی به راحتی قابل تفریق نیستند و این باعث خطا در شمارش جسم زردها می‌گردد. استفاده از eCG (equine Choriogonadotrophin) در زمان سوپراولاسیون اغلب موجب بوجود آمدن فولیکولهای تخمگذاری نکرده می‌شوند (۱۴ و ۱۵).

در مطالعه حاضر از FSH-P به‌عنوان گونادوتروفین مورد نیاز در رژیم سوپراولاسیون استفاده شد. FSH-P برخلاف eCG دارای نیمه عمر کوتاه است (متوسط ۵ ساعت در مقابل ۵۱ ساعت) و بنابراین احتمال وقوع فولیکولهای تخمگذاری نکرده در گاوهای درمان شده با FSH-P کمتر است. وجود کمتر این فولیکولها دقت در تشخیص جسم زرد را از طریق ملامسه رکتال و سونوگرافی رکتال بیشتر می‌کند که این خود همبستگی قویتری بین میزان پروژسترون و تعداد جسم زرد را بوجود می‌آورد. معاینه سونوگرافی تخمدانها در مطالعه حاضر نشان داد تعداد فولیکولهای تخمگذاری نکرده در روز هفتم پس از تلقیح مصنوعی بسیار کم بود. نتایج این مطالعه نشان دهنده یک رابطه فیزیولوژیک است که تحت شرایط کنترل شده و با استفاده از FSH-P، همبستگی مثبت قوی و معنی‌داری بین تعداد جسم زرد و میزان پروژسترون خون در گاوهای تحت درمان سوپراولاسیون وجود دارد. بالابودن میزان پروژسترون پلاسمای خون را به معنای بالا بودن تعداد بافتهای لوتئینی و در واقع پاسخ مناسب تخمدان به دمان سوپراولاسیون می‌توان درنظر گرفت ولی الزاماً این ارتباط به معنای بالا بودن تعداد اولاسیون و بالا بودن تعداد جنین قابل جمع‌آوری نمی‌باشد.

منابع

1) Monniaux D, Chupin D, Saumande J. Superovulatory responses in cattle. Theriogenol 1983; 19, 55-81.

2) Guay P, Bedoya M. A study of the equivalence between rectal palpation, laparoscopy, laparotomy and ovarian dissection for evaluation of the ovarian response of PMSG-Superovulated cows. Canada Vet J 1981; 22, 252-255.

3) Saumande J. Concentration of LH, oestradiol-17B and progesterone in the plasma of heifers treated to induce superovulation. J Endocrinol 1980; 84, 425-437.

4) Draincourt MA, Thatcher WW, Terqut M, Andrieu D. Dynamics of ovarian follicular development in cattle. Domestic Animal Endocrinol 1991; 8, 209-221.

5) Kafi M, McGowan M. Factors affecting superovulatory response in cattle. Animal Reproduct Sci 1997; 48, 137-157.

6) Maricel M, Rodriguez MH, Gustafsson H. Fine structure of corpora lutea in superovulated heifers. Zentralblatt Fur Veterinarianizin 1991; 39, 89-97.

7) Kastelic J, Pierson R, Ginther O J. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. Theriogenol 1990; 34, 487-498.

8) Lean I, Abe N, Duggan S, Kingsford N. Within and between observer agreement on ultrasonic evaluation of bovine ovarian structures. Austral Vet J 1992; 69, 279-282.

9) Singh J, Pierson R, Adams G P. Ultrasound image attribures of the bovine corpus luteum. J Reproduct Fertil 1997; 109, 35-44.

10) D'Occhio M, Giffird DR, Hoskinson RM, Setchel BP. Gonadotrophin secretion and ovarian respenses in prepubertal heifers actively immunized against androstendione and E_2. J Reproduct Fertil 1988; 83, 159-168.

11) Greve T, Callesen H, Madej A, Edqvist L. Endocrine profiles and egg quality in the supersovulated cows. Nosdistic Vet Med 1983; 35: 408-21.

12) Mike-Jensen A, Greve T, Madej A, Edqvist L. Endocrine profiles and embryo quality in the PMSG-$PGF_2\alpha$ treated cow. Teriogenol 1982; 18, 33-44.

13) Wubishet A, Kesler D J, Graves C N, Spahr S L, Favero RJ. Preovulatory LH profiles of superovulated cows. Theriogenol 1991; 35, 451-457.

14) Boland M, Roche J F. Embryo production in vivo: Problems and prospects. Proceedings of the first international / Congress of ET in Italy. Millan, Italy, 1992, 2006.

15) Gonzalez A, Wang H, Mapletoft RJ. Superovulation in the cow with PMSG. Canada Vet J 1994; 35, 158-162.

16) Britt J H. Impacts of early postpartum metabolism on follicular development and fertility. American Association of Bovine Practitioner. Kansas: USA; 1992.

17) Espey L L, Lipner H. Ovulation. In: Knonil E, Neill J D, editors. The physiology of reproduction. 2nd ed. NewYork. Raven Press; 1994, 759-60.