

ایجاد استروس با استفاده از ترکیب کابریگولین و HCG در سگ های آنستروس نژاد تریر



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

عبدالرضا رستگاریان^{۱*}، مسعود فاتح فر^۲، ارسلان امیرفلاح^۱، نوید مرادی^۲

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم دامگاهی، ارومیه، ایران

۲- دانش آموخته دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، دانشکده دامپزشکی، ارومیه، ایران

*نویسنده مسئول: a.rastegarnia@iaurmia.ac.ir

دوره دوم، شماره سوم، تابستان ۱۳۹۰

صفحات ۱۴۶-۱۳۵

چکیده

در این تحقیق، اثر تجویز خوراکی گابریگولین به عنوان یک داروی مهارکننده پرولاکتین در ایجاد استروس بارور در سگ های ماده مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور تعداد ۱۴ قلابه سگ نژاد تریر با آگاهی قبلی از آنستروس بودن آنها انتخاب گردید. چهارقلاده به عنوان دامهای گروه کنترل و ۱۰ قلابه ما بقی به عنوان دامهای گروه درمانی در نظر گرفته شدند. به تمامی سگ های گروه درمان محلول قرص خوراکی گابریگولین با دوز معمول ۵μg/kg به صورت روزانه تا حدود ۲ روز پس از شروع پرواستروس و یا برای یک دوره حداکثر ۴۲ روزه تجویز گردید. دامهایی که متعاقب درمان، علائم پرواستروس (۸/۱۰) را نشان دادند به دو زیرگروه تقسیم شدند. به چهارقلاده از سگ های مورد نظر ۵۰۰ واحد بین المللی از هورمون HCG به طریق عضلانی در روز اول و سوم از زمان شروع استروس تزریق گردید. چهار قلابه سگ های فحل باقیمانده نیز درمانی دریافت نمودند. نمونه خون از تمامی سگ های مورد نظر در روز شروع آزمایش و نیز همزمان با شروع علائم رفتاری استروس هر یکروز درمیان جهت اندازه گیری میزان پروژسترون اخذ گردید. میزان بروز استروس و نیز فاصله زمانی درمان تا شروع پرواستروس در سگ های تحت درمان مورد مقایسه قرار گرفت. وقوع پرواستروس در فاصله بین ۲۱ الی ۴۱ روز (میانگین ۲۹/۵±۶/۵ روز) از شروع تجویز دارو و در بین ۸۰ درصد از سگ های تحت درمان گزارش گردید (P<5%). میانگین طول مدت زمانی پرواستروس در بین دامهای تحت درمان ۶/۷ ± ۸/۱ روز گزارش گردید. میانگین طول مدت زمانی استروس در دامهای زیر گروه (+) HCG و نیز (-) HCG به ترتیب ۱۴/۵±۲/۵ روز (۶ الی ۱۱ روز) و ۱۰/۷±۱/۸ روز (۸ الی ۱۲) روز گزارش گردید (P<5%). میزان آبستنی برای هر دو گروه از سگ های تحت درمان ۵۰ درصد بود. میزان توله زائی نیز پس از ثبت سوا بق زایش برای دامهای آبستن دامهای زیر گروه (+) HCG و نیز (-) HCG به ترتیب ۰/۷ ± ۳/۵ و ۱/۴ ± ۴ گزارش گردید (P<5%). در هیچ کدام از دامهای گروه کنترل علائم رفتاری استروس در طول مدت زمان درمان و یا آبستنی مشاهده نگردید. به طور کلی نتایج حاصل تحقیق حاضر نشان داد که استروس نرمال و باروری در مراحل مختلف دوره ی آنستروس سگ های ماده با استفاده از ترکیب تجاری و قابل دسترس کابریگولین که برای مصارف پزشکی زنان به کار برده می شود بدست می آید و تزریق هورمون HCG در روزهای اول و سوم مرحله ی استروس هیچ گونه تاثیر قابل توجهی بر روی میزان آبستنی دام های تحت درمان ندارد.

واژه های کلیدی: سگ ماده، استروس، گابریگولین، HCG



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 2(3)135-146, 2011

Induction of estrus in anestrus Terrier by a combination of cabergoline and HCG

Rastegarnia, A. ^{1*}, Fatehfar, M. ², Amirfallah ¹, A., Moradi, N. ²

1. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch,

Islamic Azad University, Urmia, Iran

2. Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad

University, Urmia, Iran

* Corresponding author: a.rastegarnia@iaurmia.ac.ir

Abstract

In this experiment, the effect of oral administration of cabergoline, an anti-prolactin drug on induction of fertile estrus in bitches was investigated. For this purpose, fourteen bitches from terrier breeds were used in the study at their already determined periods of anestrus. Four dogs formed the control group, while 10 bitches were treatment group. All treatment females were administered with recommended doses (5µg/day) of cabergoline formulation marketed for use in women. An aqueous solution of cabergoline (casber, Pharmacia, Italy) was orally administered until 2 days after the onset of proestrus or for a maximum of 41 days. The dogs with signs of proestrus (8/10) following the treatment were assigned into two subgroups. Five hundred IU of HCG was intramuscularly administered to four of these dogs on days 1 and 3 of estrus. The remaining 4 dogs were not treated with HCG. Blood samples were taken once from all females during the first days of treatment and then every other day during the beginning the behavioral estrus to measure progesterone concentrations. Induced estrus rates and mean treatment and proestrus durations of dogs in treatment were compared. In the treatment proestrus was induced between days 21– 41 (mean: 29±6.5 days), in the ratio of 80.0 (p < 0.05). The duration of proestrus and oestrus was found to be 8.1 ±1.9 (range, 6 to 11).

The duration of estrus in the HCG (+) and HCG (-) subgroups were found to be 10.1 ±1.8 (range 9 to 11) and 14 ± 2.5 (range, 8 to 12) days, respectively. The conception rate in relation to the number of bitches responding to the estrus induction treatment was similar, 50% (2 out of 4) and mean number of offspring in the HCG(+) and HCG(-) subgroups were found to be 3.5 ± 0.6 and 4 ± 1.4, respectively (p > 0.05). In control group, all the animals did not show estrus behavior or pregnancy at the same period.

It has been concluded from this study that normal and fertile estrus can be induced more economically in bitches during different stages of anestrus using cabergoline formulation marketed for use in women, and HCG injections on days 1 and 3 of the estrus induced by this method had no positive effects on the pregnancy rates.

Keywords: bitch, estrus, cabergoline, HCG

با توجه به اینکه سگ یک حیوان منو استروس (تک چرخه ای) غیر فصلی می باشد لذا در این حیوان دوره آنستروس اجباری چند ماه را متعاقب زایمان خواهیم داشت و از آنجائی که معمولاً فواصل بین دو استروس حدوداً ۱۲-۵ ماه بطول می انجامد، عملاً یک سگ در طول سال تنها یک بار موقعیت و شانس آبستنی خواهد داشت. لذا تعداد درخواست از سوی صاحبان و پرورش دهندگان سگ برای ایجاد استروس و نهایتاً آبستن شدن حیوان بیش از یک بار در طول سال بالا خواهد بود (۴،۷).

تا به امروز محققان نتوانسته اند به یک روش واحد و یکپارچه که قادر به ایجاد استروس و نهایتاً آبستنی در سگ شود و بصورت روتین در کلینیکهای دامپزشکی مورد استفاده قرار گیرد دست پیدا کنند. از سوی دیگر قابل دسترس نبودن برخی از این هورمون ها و داروها در فارماکوپه تعدادی از کشورها، و از همه مهمتر قابل تکرار نبودن برخی از نتایج بدست آمده راه را برای استفاده روتین و دائمی از روشهای مطروحه سخت و مشکل ساخته است (۱۳).

از روشهای هورمونی که به صورت بالینی برای ایجاد استروس در سگ با نتایج متفاوت بکار برده شده می توان به استفاده از تزریق هورمون هایی نظیر GnRH و یا آگونیستهای آن، eCG و بدنبال آن مصرف HCG برای القاء تخمک گذاری، هورمون human Menopausal Gonadotrophin (HMG)، استروژن های سنتتیک خوراکی و یا تزریقی، همچنین تزریق توأم FSH و استروژن و نیز تجویز متوالی گنادوتروفینهای LH,FSH اشاره کرد (۳،۴،۵،۶). علاوه بر روشهای هورمونی فوق، یکسری روش های درمانگاهی دیگر با سرعت عملکرد پایین نیز وجود دارد که نظیر روشهای هورمونی فوق بطور مستقیم باعث تحریک تخمدان ها نمی گردد که در این میان می توان به استفاده از پروستاگلندین ها برای کوتاه کردن فاز لوتئال (جسم زرد) و کوتاه کردن طول دوره مت استروس (دای استروس) و یا استفاده از آگونیست های دوپامین برای

پایان دادن به مرحله آنستروس و ایجاد پرواستروس زودرس اشاره کرد. آگونیست های دوپامین که امروزه برای القاء استروس در سگ استفاده می شوند از مشتقات ارگوت هستند که ترشح هورمون پرو لاکتین را مهار می کنند (۲۱،۲۰،۱۳،۸).

فرمول شیمیایی داروی گابریگولین N-[3-(dimethylamino)propyl]-N-[(ethylamino)carbonyl]-6-(2-propylenyl)ergoline-8/3-carboxamide می باشد. بنابرین فاقد گروه های آمینی در ساختمان مولکولی خود می باشد. مولکول گابریگولین بطور آزاد در الکل محلول می باشد. در محلول ۰/۱ مولاراسید کلریدریک بطور مختصر و تا حدودی قابل حل بوده ولی به طور کلی قابل حل در آب نمی باشد. اما برخی از فراورده های تجاری این دارو نظیر قرص Dostinx و یا Cabser که مورد استفاده پزشکی می باشد بطور کامل و به آسانی در آب مقطر در دمای معمولی اتاق حل می شود و PH نهایی محلول بدست آمده (10mg/ml) آن در حدود ۵/۵ تا ۶ می باشد. از آن جایی که تنظیم مقدار صحیح دوز مصرفی در شکل قرص مشکل می باشد لذا امروزه حل کردن آن در آب مقطر جهت استفاده بالینی توصیه شده است (۸). بررسی بیوشیمیائی نشان میدهد که مولکول های حاوی ترکیبات آلی با گروه های آمین آزاد متعاقب ترکیب و یا تحت عمل چهارتایی شدن قابل حل در آب میشوند. احتمال می رود که قابلیت حل قرص گابریگولین در آب به موجب چهارتایی شدن ترکیب مولکول موجود در قرص بوده یا بدلیل تداخل مولکول لوسین به عنوان بخش غیر فعال آن که متعلق به گروه های آمینی آزاد آن و دارای PH ایزوالکتریک در حدود ۵ تا ۵/۹ می باشد یا در جهت تشکیل ظرفیت بالای باند دارای هیدروژنی کابریگولین باشد (۱۹،۸).

در این بررسی سعی بر آن شد تا تاثیر تجویز خوراکی آگونیست های دوپامین نظیر قرص کابریگولین (cabergoline) به همراه تزریق هورمون HCG در انتهای برنامه درمان به ترتیب در ایجاد استروس و آبستنی سگ های ماده نژاد تریر

که همگی با فواصل تقریبی حداقل ۴ الی ۷ ماه از زمان آخرین فحلی آنها سپری شده بود، مورد بررسی قرار گیرد.

روش کار

در این بررسی ۱۴ قلاده سگ ماده نژاد تریر که همگی به فاصله تقریبی ۴ الی ۷ ماه از زمان زایش آنها سپری گردیده بود، جهت انجام آزمایش انتخاب شدند. سگهای مورد نظر از حدود دو ماه قبل از شروع آزمایش به محل جدید نگهداری در کلینیک تخصصی دانشکده دامپزشکی انتقال داده شدند. قبل از شروع آزمایش دامهای مورد نظر از لحاظ علائم عمومی نظیر اشتها، تغذیه، برنامه واکسیناسیون و درمان رایج ضد انگلی و همچنین از لحاظ علائم استروس و اندازه گیری میزان پروژسترون سرم خون برای تعیین مرحله چرخه استروس، تحت نظر قرار گرفتند (جدول ۱).

قرص کابرگولین مورد استفاده در این طرح آزمایشی (Cabergoline; cabaser, pharmacia & Upjhon S.p.A, Italy) به عنوان یکی از فراورده های تجاری قابل مصرف در پزشکی و زنان حاوی ۱ میلی گرم ماده موثره بوده و دارای یک بخش غیر فعال از مولکولهای لاکتوز ولوسین میباشد. از آن جایی که تنظیم دوز صحیح و معمول مصرفی داروی یاد شده در شکل قرص مشکل می باشد لذا حل کردن قرص تجاری گابریگولین در آب مقطر توصیه شده است (۸،۱۴). برای این منظور قرص مصرفی مورد نظر در آب مقطر حل گردیده و مورد محاسبه قرار گرفت. قرص های ۱ میلی گرمی داروی مورد استفاده در داخل بشر حاوی آب مقطر ۳۷ درجه حل گردیده و بعد از یکنواخت کردن آن با استفاده از هم زن در حدود ۱۵ دقیقه بعد از تهیه با استفاده از سرنگ به صورت خوراکی تجویز گردید. در این حالت محلول تهیه شده حاوی مقدار نهائی 10 µg/ml از ماده موثره دارو برای درمان میباشد. با شروع دوره درمان دامهای مورد نظر داروی کابرگولین را یکبار در روز بصورت ناشتا با دوز 5 µg بصورت خوراکی با استفاده از سرنگ دریافت نمودند.

تجویز کابرگولین تا ۲ روز پس از شروع علائم پرواستروس (با تأکید تورم و پر خونی و ترشحات سروزی خونی از فرج) و نیز با اخذ نمونه پاپ اسمیر از واژن و تأیید بیش از ۵۰ درصد از سلولهای غالب از نوع سلول های بینابینی بزرگ سطحی (superficial intermediate cells) در تفسیر لام های تهیه شده از سگ های تحت درمان ادامه پیدا کرد. در سگ هایی که علائم پرواستروس در آنها مشاهده نگردید تزریق تا ۴۲ روز پس از شروع آزمایش ادامه پیدا کرد. تمامی سگ های تحت درمان روزانه چهار بار برای مشاهده علائم پرواستروس مورد بازرسی قرار می گرفتند. تهیه پاپ اسمیر از واژن سگهای تحت درمان تا شروع پرواستروس هر دو روز یکبار انجام گرفت. رنگ آمیزی گسترش تهیه شده از واژن با استفاده از تکنیک رنگ آمیزی گمیسا برای تعیین نوع و درصد سلول های پوششی صورت گرفت (۱۰).

همچنین در ادامه دامهای تحت درمان با شروع علائم استروس به دو زیرگروه بر اساس تزریق هورمون HCG تقسیم شدند. به دامهای گروه (+) HCG (۴رأس) به میزان ۵۰۰ واحد بین المللی هورمون HCG در روزهای اول و سوم از زمان شروع استروس تزریق گردید و دامهای (-) HCG (۴رأس) در طول مدت استروس هیچ هورمونی را دریافت ننمودند. با شروع استروس از یک قلاده سگ نر هم نژاد بالغ با سابقه جفت گیری طبیعی برای باروری سگهای تحت درمان در هر گروه استفاده گردید. استروس بودن سگهای ماده با ارزیابی گسترش تهیه شده و مشاهده بیش از ۹۰٪ از سلول های بینابین سطحی در لام مورد نظر و نیز پرش و جفت گیری سگ نر تأیید گردید (۲۲). اجازه پرش و جفت گیری به سگ نر روزی یکبار تا زمان قطع علائم و عدم پذیرش سگ نر توسط سگ ماده ادامه پیدا کرد. همزمان چهار قلاده از سگ های ماده نژاد تریر با سابقه فواصل زمانی بعد از زایش مشابه، در محل نگهداری دامهای تحت آزمایش به عنوان دامهای کنترل در نظر گرفته شدند.

نمونه های خون از تمامی دام ها در گروه های درمانی در

ایجاد استروس با استفاده از ترکیب کابریگولین و HCG در سگ های آنستروس نژاد تبریر

درصد) علائم پرواستروس نظیر تورم، پر خونی و ترشحات سروزی خونی از فرج را در حدود ۲۱ الی ۴۲ روز پس از شروع آزمایش ($29 \pm 6/5$) نشان دادند. و نیز با اخذ نمونه گسترش مهلی و حضور بیش از ۵۰ درصد از سلول های غالب با حالت سلول های بینابینی سطحی در تفسیر لام های تهیه شده در حدود ۲۱ الی ۴۲ روز پس از شروع درمان ($29 \pm 6/5$) نیز تأیید گردید. متوسط طول مدت زمان پرو استروس در سگ های تحت درمان یعنی از زمان شروع ترشحات سروزی خونی تا تأیید شروع استروس یعنی اجازه جفت گیری با سگ نر و نیز مشاهده بیش از ۸۰ درصد از سلول های سطحی بزرگ در لام های تهیه شده از گسترش مهلی، در حدود $6/7 \pm 8/1$ روز گزارش گردید.

طول مدت زمان علائم رفتاری استروس نیز در چهار قلاده از سگ های استروس تحت درمان دامهای گروه (+) HCG که به میزان ۵۰۰ واحد بین المللی هورمون HCG در روزهای اول و سوم از زمان شروع استروس تزریق گردیده بود، در حدود $10/8 \pm 1/8$ روز بطول انجامید. طول مدت زمان علائم رفتاری استروس در گروه (-) HCG نیز $14/5 \pm 2/5$ روز گزارش گردید ($p < 0/05$). در هیچ کدام از دامهای کنترل در نظر گرفته شده علائم پرواستروس و یا سابقه جفت گیری در طول مدت یاد شده گزارش نگردید (جدول ۱).

عوارض جانبی که متعاقب درمان در سگها دیده شد شامل استفراغ و تا حدودی بی اشتهائی بود که در تمامی دامها ظرف مدت ۴۸ ساعت از زمان شروع درمان دیده شد که پس از روز سوم برطرف گردید. تغییر رنگ موی بدن عارضه جانبی دیگری بود که از هفته دوم بعد از شروع آزمایش در ۴ قلاده از دامها مشاهده گردید که تا پایان هفته سوم ادامه داشت.

در تفسیر نتایج سیتولوژی گسترش های مهلی تهیه شده در تمامی سگ های تحت آزمایش در شروع درمان غالب سلولها دراسمیر واژن از نوع پارابازال (parabasal cell)، بینابینی (intermediate cell) و لوکوسیت بود و تنها در سگ هایی که علائم پرواسترس نشان دادند (هشت از ده قلاده

روز شروع درمان و نیز از زمان شروع استروس هر یکروز در میان تا قطع علائم استروس اخذ گردید. برای این منظور از هر سگ تحت درمان مقدار ۵ml خون از ورید بازویی اخذ و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه برای جداسازی سرم خون اقدام گردید. نمونه های سرم مورد نظر در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد داخل فریزر تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند. اندازه گیری میزان پرواسترون خون سگهای تحت درمان با استفاده از روش radioimmunoassay (RIA) در یکی از آزمایشگاه های فرانس انجام گرفت. حساسیت آزمایش مورد نظر نیز 0/1 ng/ml گزارش گردید. همزمان به دنبال خون گیری جهت بررسی سیتولوژی واژن از سگ های تحت درمان اقدام به تهیه گسترش مهلی (پاپ اسمیر) گردید (۹،۱۸). تخمک گذاری در دامهای استروس با تأیید افزایش میزان پرواسترون به مقادیر بیش از 5ng/ml و نیز با تشخیص آبتنی از طریق سونوگرافی حدود ۴ هفته پس از جفت گیری تأیید گردید (۲۳).

بدنبال جفت گیری سگهای تحت درمان تا پایان آبتنی و نیز مشخص شدن زایمان میزان توله زایی تحت نظر قرار گرفتند. فاصله درمان تا شروع علائم پرواستروس (خونریزی از فرج) و نیز طول مدت پرواستروس و استروس به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش گردید. میزان آبتنی در گروه درمانی سگ های مورد نظر براساس نسبت سگ های زایمان کرده به آنهایی که علائم رفتار استروس و جفت گیری را داشتند، بر اساس درصد محاسبه و گزارش گردید. اطلاعات بدست آمده در خصوص میزان آبتنی و بروز استروس (درصد) از طریق آزمون مربع کای و نیز فاصله خاتمه درمان تا بروز علائم استروس (میانگین \pm انحراف معیار) با استفاده از آزمون تی در برنامه آماری SAS version13، مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۰).

نتایج

هشت قلاده از ۱۰ قلاده سگ های ماده تحت درمان (۸۰)

سگی که متعاقب پرواستروس سابقه جفت گیری داشتند) غالب سلولها بینابینی بزرگ (بیش از ۵۰ درصد) و با شروع استروس غالب سلولها بینابینی سطحی بزرگ (>۸۰) همراه با افزایش تعداد گلبولهای قرمز گزارش گردید. (تصویرهای ۲، ۱، ۳).

در تمامی سگهای تحت درمان میزان پروژسترون قبل از شروع آزمایش و در طول مدت درمان قبل از شروع استروس پایین تر از $ng/ml (0/4 \pm 0/1)$ گزارش گردید. میزان پروژسترون در سگ هایی که علائم استروس را نشان دادند (هشت از ده قلاده سگی که متعاقب پرواستروس سابقه جفت گیری داشتند) همزمان با شروع استروس میزان پروژسترون سرم خون دامهای مورد نظر افزایش یافت و در زمان جفت گیری و در طول مدت استروس در دامهای گروه (+) HCG به $ng/ml (6/9 \pm 2/1)$ و در گروه (-) HCG نیز به $ng/ml (8/2 \pm 2/1)$ گزارش گردید ($p > 0/05$).

تشخیص آبستنی در دامهای مورد نظر نیز با تأیید افزایش میزان پروژسترون سرم خون و نیز با استفاده از سونوگرافی مجهز به پروب شکمی ۵ مگاهرتز (Pie medical, Aquila, vet 344) در حدود ۲۸ الی ۳۳ روز پس از جفت گیری و بر اساس تشخیص کیسه وزیکول بلاستودرمیک در داخل شاخ رحم آبستن تنها در ۲ رأس از دامهای گروه (+) HCG و (-) HCG که متعاقب پرواستروس سابقه جفت گیری در هر گروه را داشتند، تأیید گردید. معهذاً میزان آبستنی در سگهای موجود در گروه های تحت درمان ۵۰ درصد گزارش گردید. میزان توله زائی نیز پس از ثبت سوابق زایش برای دامهای آبستن به ترتیب برای دو گروه یاد شده $3/5 \pm 0/7$ و $1/4 \pm 4$ گزارش گردید (جدول ۱).

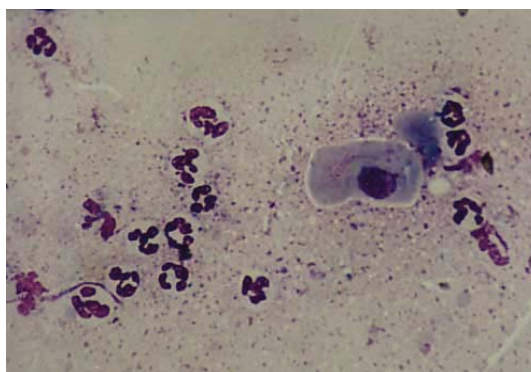
جدول ۱- متوسط فاصله زمانی درمان تا شروع پرواستروس، و نیز برخی از شاخص های تولید مثلی به تفکیک در دو زیرگروه (+) HCG و (-) HCG از سگ های تحت درمان

گروه ها			
کنترل	(-) HCG	(+) HCG	
-	۴	۴	تعداد دام استروس
-	$29 \pm 6/5$	$29 \pm 6/5$	فاصله درمان تا شروع پرواستروس
-	$8/1 \pm 6/7$	$8/1 \pm 6/7$	طول مدت پرواستروس
-	$10/7 \pm 1/8^a$	$14/5 \pm 2/5^a$	طول مدت استروس
$0/5 \pm 0/32^b$	$0/61 \pm 0/22^b$	$0/5 \pm 0/12^b$	میانگین غلظت پروژسترون در شروع درمان (ng/ml)
-	$8/2 \pm 1/1^a$	$6/9 \pm 2/1^a$	میانگین غلظت پروژسترون در طی استروس (ng/ml)
-	۵۰	۵۰	میزان آبستنی (درصد)
-	$4 \pm 1/4^a$	$3/5 \pm 0/6^a$	توله زائی (litter size)

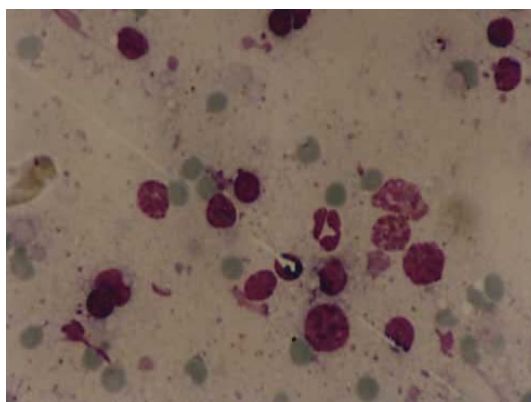
a؛ b اعداد لاتین متفاوت مشخص شده در هر ستون اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند ($P < 0/05$)

بحث

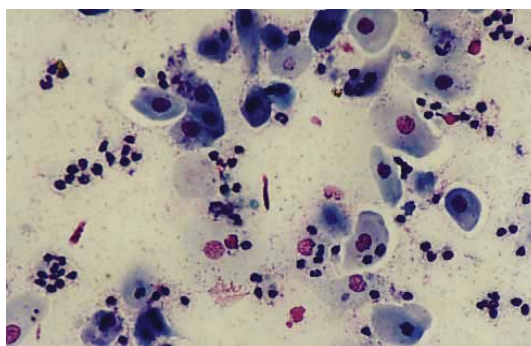
بررسی های مختلف که توسط محققین در این زمینه صورت گرفته حاکی از متفاوت بودن نتایج ایجاد استروس و آبستنی بدنبال استفاده از دوزهای مختلف داروی کابریولین و نیز تاثیر زمانهای مختلف آنستروس بر روی نتایج بدست آمده می باشد. داروی کابریولین در فارماکوپه ی دامپزشکی اروپا مصرف دارویی داشته و برای درمان آبستنی کاذب سگ ها استفاده می شود. همچنین اخیراً از این دارو بیشتر برای کاهش فواصل بین استروس در سگهای آنستروس نیز استفاده می شود، (۱۳،۱۴،۲۱). کابریولین اثرات جانبی کمتری نسبت به بروموکریپتین دارد و استفاده از این آگونیست امروزه بیشتر مد نظر قرار گرفته است. کابریولین که یک آلکالوئید ارگوت و آگونیست دوپامین است تمایل و اختصاص بیشتری به رسپتورهای D2- دوپامین نسبت به بروموکریپتین دارد و میل ترکیبی کمتری به گیرنده های سروتونینی 5HT-2 دارد و طول و اثر آن طولانی تر است و عملکرد کمتری بر روی سیستم اعصاب مرکزی دارد (۱۹،۲۳). به طور کلی آگونیستهای دوپامین باعث ایجاد استروس در بیشتر سگهای تحت درمان می گردند. معهدا در خیلی از کشورها این دارو ها به آسانی قابل دسترس نیستند (۲۸). همچنین نکته دیگر طولانی بودن مدت درمان حتی تا بیش از ۳۰ روز و نیز مهم بودن مرحله درمان (اوایل، اواسط و یا اواخر) آنستروس می باشد (۲۴،۲۱). در تحقیق حاضر از شکل محلول در آب قرص کابریولین برای سهولت تجویز و نیز محاسبه دقیق مقادیر مورد مصرف دارو استفاده گردید. پرسیانی و همکاران در سال ۱۹۹۴ نشان دادند که خاصیت فارماکودینامیکی و دوز قابلیت دسترسی نسبی کابریولین تحت تاثیر اشکال فراورده دارویی نظیر قرص یا محلول تزریقی قرار نمی گیرد که این امر می تواند دقیق بودن مقادیر داروی مصرفی بکارگرفته شده را تأیید نماید (۲۵). در یک بررسی انجام گرفته تجویز به تنهایی و خوراکی دوز بالای کابریولین به میزان ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم



تصویر ۱- نمونه گسترش مهبل تهیه شده از سگ های تحت آزمایش در هفته دوم پس از شروع درمان حضورمقادیر زیادی از نوتروفیل به همراه انواع سلولهای بینابینی (رنگ آمیزی گیمسا)



تصویر ۲- نمونه گسترش تهیه شده از سگ های تحت درمان در گروه (-) HCG در زمان پرو استروس، حضور غالب گلبول قرمز، سلولهای پارابازال و انواع سلولهای بینابینی (رنگ آمیزی گیمسا)



تصویر ۳- نمونه گسترش تهیه شده از سگ های تحت درمان در گروه (+) HCG در زمان شروع استروس، حضور غالب سلولهای سطحی بزرگ و نیز گلبول قرمز، سلولهای پارابازال و سلولهای بینابینی (رنگ آمیزی گیمسا)

وزن بدن دام در سگ های نژاد جرمن شپرد به صورت روزانه باعث ایجاد استروس و آبستنی تنها در ۲۵ درصد از سگ‌های تحت درمان گردیده است (۷).

روتا و همکاران در سال ۲۰۰۳ کارایی استفاده از داروی کابریگولین با دوز ۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن را در مقایسه با تزریق روزانه هورمون GnRH مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی سگ های تحت درمان در حدود ۳۰ روز پس از شروع درمان روزانه با کابریگولین علائم رفتاری و سیتولوژی مهبل پرواستروس را نشان دادند. کاهش میزان پرولاکتین در هر دو روش گزارش گردید معه‌ذا به دنبال مصرف کابریگولین بطئی تر بود. همچنین به دنبال ایجاد پرواستروس و جفت‌گیری میزان پروژسترون سرم خون نیز افزایش نشان داد. در این تحقیق ۱۰ از ۱۲ قلاده سگ تحت درمان با کابریگولین سابقه جفت‌گیری و نیز توله‌زایی را نشان دادند. در حالیکه تنها ۳ قلاده از ۱۰ قلاده سگ تحت درمان با تزریق روزانه هورمون GnRH به مدت دو هفته علائم استروس را نشان دادند که به نظر می‌رسد استفاده از گابریگولین کارایی بهتری در ایجاد استروس بارور نسبت به هورمون GnRH در تحقیق اخیر داشته است (۲۸).

در یک بررسی مشابه انجام گرفته، آجیت کومار و پراسیدا در سال ۲۰۱۰ اثر تجویز خوراکی داروی گابریگولین با مقادیر ۵ میکرو گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۲۰ روز برای ایجاد استروس سگ های آنستروس نژاد تریر را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق ۱۶ از ۲۰ قلاده سگ ماده تحت درمان در فاصله زمانی $3/12 \pm 13/44$ روز از شروع تجویز دارو علائم پرواستروس نظیر خونریزی مهبل را نشان دادند. متوسط طول مدت پرواستروس به ترتیب $0/6 \pm 10/11$ روز و $0/29 \pm 8$ روز گزارش گردید. میزان آبستنی برای دام های استروس در این تحقیق $87/5$ درصد (۱۴ قلاده از ۱۶ قلاده سگ با سابقه جفت‌گیری) و میزان آبستنی کل ۷۰ درصد (۱۴ قلاده از ۲۰ قلاده سگ) گزارش گردید (۱).

فاصله زمانی تجویز دارو تا شروع پرواستروس در تحقیق

حاضر $6/7 \pm 29$ روز گزارش گردید که به نظر می‌رسد که تاثیر مرحله آنستروس (اوایل، اواسط و یا اواخر) در ایجاد اختلاف فاصله زمانی یاد شده قابل توجه می باشد (۲۴، ۲۱).

آجیت کومار و همکاران در سال ۲۰۱۰ کارایی سه داروی کابریگولین، بروموکریپتین و تیروکسین در ایجاد فحلی سگ‌های آنستروس را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق ۵۰ درصد از دام های تحت درمان با دوز ۵۰ میکروگرم بروموکریپتین (۵ قلاده از ۱۰ قلاده سگ)، ۹۰ درصد از دام های تحت درمان با گابریگولین با دوز ۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم (۹ از ۱۰ قلاده سگ) و نیز ۸۰ درصد از دام های تحت درمان (۸ قلاده از ۱۰ قلاده سگ) با تیروکسین با دوز ۱۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن علائم پرواستروس را نشان دادند. مدت زمان شروع پرواستروس متعاقب درمان در گروه‌های یاد شده به ترتیب $3/39 \pm 28$ ، $3/12 \pm 13/44$ و $3/18 \pm 24/5$ روز گزارش گردید. که در مقایسه با گروه درمان با گابریگولین پایین بوده است. متوسط طول مدت پروستروس و استروس و نیز میزان آبستنی متعاقب درمان برای گروه های یاد شده بین ۷۵-۵۰ درصد و معنی دار گزارش نگردید (۲). به نظر می‌رسد نتایج میانگین فاصله زمانی تجویز دارو تا شروع درمان و نیز میزان بروز فحلی و آبستنی برای گروه کابریگولین در بررسی اخیر با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

سیریت و همکاران در سال ۲۰۰۷ تأثیر کابریگولین با دوز بسیار پایین یعنی $0/6$ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دام در مقایسه با دوز معمول یعنی ۵ میکروگرم را در ایجاد استروس در سگ های آنستروس نژادهای مختلف مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق استفاده از دوز پایین کابریگولین نتایج معمول ایجاد استروس و آبستنی را مشابه دوز توصیه شده در پی داشته است. متوسط فاصله شروع پرواستروس متعاقب درمان به ترتیب $14/33 \pm 23/63$ و $14/31 \pm 24/41$ روز گزارش گردیده است. در این تحقیق تزریق 500 واحد بین المللی از هورمون HCG در فاصله

ایجاد استروس با استفاده از ترکیب کابریولین و HCG در سگ های آنستروس نژاد تبر

اواخر مرحله آنستروس و نیز در سگهای با آنستروس غیر نرمال و طولانی گزارش گردیده است. در یک بررسی تجویز کابریولین به سگهای ماده اواسط یا اواخر آنستروس به ترتیب باعث ایجاد پرواستروس در عرض ۲۰-۱۰ و ۴۰-۱۰ روز گردیده است (۱۴). بررسی های مشابه توسط یوکل و همکاران در سال ۱۹۸۹ برای ایجاد استروس در سگهای آنستروس نژاد بیگل (به فاصله ۶-۴ ماه پس از زایش) با استفاده از دوز 5µg/ml کابریولین نشان داده است که ۹۰ درصد سگها علائم استروس را نشان داده و ۸۰ درصد سگها متعاقباً آبستن شدند. در این تحقیق ۱۲ قلاده سگ آنستروس نژاد بیگل کابریولین از طریق خوراکی و با دز 5µg/ml تا زمان شروع استروس حداکثر به مدت ۳۰ روز تجویز گردید. ۱۰ قلاده از ۱۲ قلاده سگ تحت درمان استروس را نشان داده و آبستن شدند (۱۶). به نظر می رسد تجویز کابریولین تاثیر مستقیمی روی رسپتورهای لاکتوتروف در هیپوفیز دارد (۲۷). اثرات اصلی آگونیستهای دوپامین بر روی تخمدانها گزارش گردیده است. چنین به نظر می رسد که کابریولین گیرنده های گنادوتروفینی تخمدانها را تکمیل نموده و غلظت این هورمونها را بالا می برد، (۲۰، ۱۴).

مهاری ترشح پرولاکتین توسط آگونیستهای دوپامین برای ایجاد استروس در سگهای آنستروس مهم می باشد و به دنبال تجویز آگونیستهای دوپامین نظیر کابریولین میزان پرولاکتین پایین می آید که توسط اندازه گیری پرولاکتین در تحقیقات انجام گرفته مورد تایید قرار گرفت ولی این امر به تنهایی برای ایجاد استروس کافی نیست و به نظر می رسد سایر راههای تنظیم عملکرد دوپامین نیز مهم باشند (۱۱، ۱۲). معهذا مهار پرولاکتین به تنهایی نمی تواند منجر به خاتمه آنستروس در سگ شود. چرا که تجویز آنتاگونیست سروتونین (مترگولین) که باعث کاهش غلظت پرولاکتین مشابه آگونیستهای دوپامین (بروموکریپتین و کابریولین) می گردد معهذا باعث ایجاد فحلی در سگ نمی شود، (۱۷، ۱۹).

روزهای ۱ و ۳ از شروع استروس هیچگونه تأثیری بر روی طول مدت علائم استروس، تخمک گذاری و نیز میزان آبستنی نداشته است و فقط باعث افزایش طول مدت استروس در سگهای تحت درمان گردیده است (۵/۲ ± ۱۷/۵ در مقابل ۴/۷ ± ۱۱/۲). به نظر میرسد نتایج تحقیق اخیر با نتایج تحقیق حاضر همخوانی کامل دارد (۸).

کازوما و همکاران در سال ۱۹۹۳ گزارش دادند که تزریق ۵۰۰ واحد بین المللی از هورمون HCG در دوره پرواستروس سگ های نژاد بیگل تحت درمان با متوگولین باعث افزایش طول مدت پرواستروس در ۴ قلاده از ۸ قلاده سگ های ماده که هورمون HCG را دریافت نکرده بودند شده است (۱۷). در یک بررسی مشابه که توسط ورستگن و همکاران در سال ۱۹۹۸ انجام شد تاثیر کابریولین با دوز 5µg/kg به طریق خوراکی بر روی ایجاد استروس در مراحل مختلف مرحله آنستروس اوائل (۱۰۸-۹۳) اواسط (۱۵۶-۱۳۳) و اواخر (۱۹۲-۱۶۱) آن مورد بررسی قرار گرفته است. در این بررسی طول مدت درمان حدود ۴۰ روز و تا شروع علائم پرو استروس ادامه داشته است. نتایج بدست آمده نشان داده که شروع پرواستروس به ترتیب در سگهای اوایل، اواسط، اواخر آنستروس به ترتیب ۲ ± ۲۰، ۳ ± ۱۴ و ۱ ± ۶ روز پس از شروع درمان بوده است. در این بررسی ۱۴ قلاده از ۱۵ قلاده سگ تحت درمان ظرف مدت ۳۰ الی ۴۰ روز پس از شروع درمان علائم پرواستروس و استروس و باروری را نشان دادند (۲۹).

معهذا در یک بررسی مشابه دیگر توسط فیلیپس و همکاران در سال ۲۰۰۲ تجویز کابریولین با دوز 5µg/kg/day به صورت خوراکی باعث ایجاد استروس در ۲ قلاده از ۶ قلاده سگ تحت آزمایش که دارای آنستروس طولانی بودند در فاصله ۳۰-۲۵ روز گردیده است. که به نظر می رسد این نتایج با نتایج بدست آمده در تحقیق ما همخوانی دارد. همچنین شروع پرواستروس در فاصله ۹-۳ روز و نیز ۱۵-۵ روز متعاقب درمان با دز یاد شده کابریولین به ترتیب در سگهای

References

- 1- Ajitkumar, G., Praseeda, R. (2010) Induction of fertile oestrus in dogs using cabergoline Online Veterinary journal, 5 (1) 56
- 2- Ajitkumar, G., Sreekumaran, T., Praseeda, R., Mercy, K.A., Ghosh, K.N. (2010) Comparative efficacy of bromocriptine, cabergoline and thyroxine in inducing oestrus in bitches, Vet Res Commun 34(1) 65-69
- 3- Arnold, S., Arnold, P., Concannon, P.W., Weilenmann, R., Hubler, M., Casal, M., Doheli, M., Fairburn, A., Eggenberger, E., Rusch, P. (1989). Effect of duration of PMSG treatment on induction of estrus, pregnancy rates and the Complication of hyper – oestrogenism in dogs, J. reprod. Fertile. Suppl., 39:115-122
- 4- Arthur, G.H., Noakes, D.E., Pearson, H., Parkinson, T. (1996) Veterinary Reproduction and Obstetrics, seventh Edition. W.B Saunders. C.L., 30-35
- 5- Bouchard, G.F., Gross, S., Ganjam, V.K., Younquist, R.S., Concannon, P.W. (1993) Oestrus induction in the bitch with the synthetic Oestrogen , J.Reprod. Fertile. Suppl., 47:515-516
- 6- Cain, J.L., Davidson, A.P., Cain, G.R., Stabenfeldt, G.H., Feldman, E.C., and lasley, B.L., (1990) Induction of ovulation in bitches using subcutaneous injection of GnRH analog, J. vet. Intern. Med., 4(2)124
- 7- Cancannon, P.W. (1992) Methods for rapid induction of fertile estrus in dogs, In Kirk, R.W, Bonagura, J.D.(ed): Current Veterinary Therapy XI. WB Saunders, Philadelphia, 960
- 8- Cirit, U., Bacinoglu, S., Cangul, T., Horoz Kay, T., Muzaffer, H., Aka, K. (2007) The effects of a low dose of cabergoline on induction of estrus and pregnancy rates in anestrous bitches, Animal Reproduction Science, 101:134–144.

اونکلین و همکاران در سال ۱۹۹۳ گزارش کردند که رشد فولیکولی و در نتیجه ایجاد استروس با آگونیست های دوپامین مثل بروموکریپتین در ارتباط با افزایش غلظت FSH بدون افزایش همزمان LH می باشد. برخی از محققین گزارش دادند که در سگ تجویز کابریگولین در اواخر مرحله آنستروس تاثیری بر روی LH ندارد (۲۵).

کابریگولین اثرات جانبی کمتری نسبت به بروموکریپتین دارد و استفاده از این آگونیست امروزه بیشتر مد نظر قرار گرفته است. به طور کلی آگونیستهای دوپامین باعث ایجاد استروس در بیشتر سگهای تحت درمان می گردند. معهدا در خیلی از کشورها این دارو ها به آسانی قابل دسترس نیستند (۲۸). همچنین نکته دیگر طولانی بودن مدت درمان حتی تا بیش از ۳۰ روز و نیز مهم بودن مرحله درمان (اوایل، اواسط و یا اواخر) آنستروس می باشد (۲۴،۲۱).

اثر مرحله آنستروس در پاسخ به کابریگولین نشان دهنده این مطلب می باشد که در طول مرحله آنستروس تغییرات مهم و پیشرونده ای در عملکرد هیپوتالاموس، هیپوفیز و گنادها در پاسخ به درمان با آگونیستهای دوپامین ایجاد می شوند و نیز حساسیت هیپوفیز نسبت به ترشح GnRH در طی آنستروس افزایش می یابد (۱۵). به نظر می رسد تحقیقات کامل و جامعی به خصوص از لحاظ تعداد دام مورد آزمایش بایستی در خصوص استفاده از آگونیستهای دوپامین نظیر کابریگولین در ارتباط با ایجاد استروس باروردر سگ های ماده آنستروس انجام گیرد.. به طور کلی نتایج حاصل تحقیق حاضر نشان داد که استروس نرمال و باروری در مراحل مختلف دوره ی آنستروس سگ های ماده نژاد تریر با استفاده از ترکیب تجاری و قابل دسترس کابریگولین که برای مصارف پزشکی زنان به کار برده می شود بدست می آید و تزریق هورمون HCG در روزهای اول و سوم مرحله ی استروس هیچ گونه تاثیر قابل توجهی بر روی میزان آبستنی دام های تحت درمان ندارد.

- 9- Concannon, P.W., Veastegen, J. (1997) Oestrus induction in dogs: Use of gonadotrophins, GnRH therapies and dopamine agonists, Proc. Ann. Meet. Soc. Theriogenology Montreal, 245-247
- 10- Cowell. R.L., Tyler, R.D, Meinkoth, J.H. (1999) Diagnostic Cytology and Hematology of the dog and cat, Second Edition, Mosby Inc., 240-248
- 11- De Coster, R. (1983). A homologous radioimmunoassay for canine prolactin-plasma levels during the reproductive cycle, Acta. Endocrinol., 103:477
- 12- Di Salle, E., Giudici, D., Ovnati, G., Carfagna, N., Caccia, C., Moretti, A., Pegrassi, L., Rossi, A. (1984) Prolactin lowering and central dopaminergic activities of the new caberergoline derivative FCE 21336 in vivo and in vitro in the rat, Proc. Symp. Euro. Neuroendo. Assn., 122
- 13- Feldman, E.C., Nelson, R.W. (1998) Canine and Feline Endocrinology and Reproduction, W.B. Saunders-Philadelphia, 525-546
- 14- Gobello, C., Scaglia, H., Collombani, M., De la Sota, L., Goya, R.G. (2000) characterization of prolactin molecular variants in pseudopregnant bitches, In: Proceedings of the 14th International congress on animal Reproduction, Stoch Kolm, Sweden, 177
- 15- Hoffmann, B., Riesenbeck, A., Klein, R. (1996) Reproductive Endocrinology of bitches, Animal. Rep. Sci., 42:275-288
- 16- Jochle, W., Arbeiter, k., Post, k., Balladio, R., D'VeR, A.S. (1989) J. Reprod. Fertil. Suppl., 39:199-207
- 17- Kusuma, P.S., Tainturier, D. (1993) Comparison of induction of oestrus in dogs using metergoline, metergoline plus human chorionic gonadotrophin, or pregnant mares' serum gonadotrophin, J. Reprod. Fertil. Suppl., 47:363- 370
- 18- Linde, C., Karlsson, I. (1984) The correlation between the cytology of the vaginal smear and the time of ovulation in the bitch, J. Small Anim. Pract., 25:77
- 19- Muller, E.E., Nistice, G. (1998) Neurotransmitter regulation of the anterior pituitary, In: Muller EG(ed), Brain messengers and the pituitary, Academic Press, San Diego, 488-513
- 20- Okkens, M., Bevers, M., Dieleman, S.J., Willemsse, A.H. (1985) Shortening of the interoestrous interval and the lifespan of the corpus luteum of the cyclic dog by bromocriptine, Treatment Vet. Q., 7:173-6
- 21- Okkens, A.C., Kooistra, H.S., Dieleman, S.J., Bevers, M.M. (1997) Dopamine agonistic effects as apposed to prolactin concentrations in plasma as the influencing factor on the duration of anestrus in bitches. J. Reprod. Fertil. 51(Suppl.):55-58
- 22- Olson, P.N. (1989) Exfoliative cytology of the canine reproductive tract, in: Proceeding of the society for Theriogenology, 259
- 23- Olson, P.N., Bowen, R.A., Behrendt, M., Olson, J.D. (1982) Concentrations of the reproductive hormones in canine serum throughout late anestrus, proestrus and estrus, Biol. Reprod. 27:1196
- 24- Onclin, K., Silva, L.D.M, Donnay, I., Verstegen, J. (1993) Luteotrophic action of prolactin in dogs and the effects of a dopamine agonist-cabergoline, J. Reprod. Fertile., 47 (suppl): 403-409
- 25- Persiani, S., Sassolas, G., Piscitelli, G., Bizolton, C.A., Poggesi, I., Pianezzola, E., Edwards, D.M., Strolin-Benedetti, M. (1994) Pharmacodynamics and relative bioavailability of cabergoline tablets Vs. solution in healthy volunteers, J.Pharm. Sci. 83 (10)1421-1424
- 26- Phillips, T.C., Larsen, R.E., Hernandez, J., Strachen, L., Samuelson, D., Shille, V.M. , Archbald, L.F. (2003) Selective control of oestrous cycle of the dog through the suppression of oestrus and reduction of the length of anoestrus, Theriogenology 59: 1441-1448

27- Rains, C.P., Bryson, H.M., Fitton, A. (1995) Cabergoline: a review of its pharmacological properties and therapeutic potential in the treatment of hyperprolactinemia and in inhibition of lactation, *Drugs*, 49:255-280

28- Rota, A., Mollo, A., Marinelli, L., Gabai, G., Vincenti, L. (2003) Evaluation of cabergolin and buserelin efficacy for oestrus induction in the bitch, *Reproduction in Domestic Animals.*, 38:440-443

29- Verstegen, J.P., Onclin, K., Silva, L.D.M., Concannon, P.W. (1999) Effect of stage of anoestrus on the induction of estrus by the dopamine agonist cabergoline in dogs, *Theriogenology*, 51: 597-611