نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۳۸، بهـار ۱۴۰۲
ص‌ص: ۷۷~۸۶

بررسی اثر تزریق ویتامین E/سلنیوم و ویتامین AD3E بر غلظت سرمی پروژسترون و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی، و نرخ آبستنی در شرایط تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی در گوسفندان

امیرسعید صمیمی[۱]، سعید نظیفی[۲]، زهرا اسدی[۳]، فرنوش بخشایی[۲]، علی فرهنگ[۱]، فرزاد کرمی‌زاده[۱]، سید مرتضی آقامیری[۱*]

۱ گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

۲ گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، ایران

۳ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

تاریخ دریافت : بهمن ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش : تیر ۱۴۰۱

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۳۴۳۱۳۲۲۹۰۰
Email: aghamirimorteza@uk.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI):10.22092/ ASJ.2022.357741.2208

چکیده

بررسی تاثیر ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها در میزان بهره‌وری تولیدمثلی واحدهای دامپروری دارای اهمیت است. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تزریق عضلانی ترکیبات ویتامین E/سلنیوم و ویتامین AD3E دو هفته پیش از تلقیح مصنوعی، بر میزان غلظت سرمی پروژسترون، سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و نرخ آبستنی پس از تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی در گوسفندان است. برای انجام پژوهش حاضر از ٦٣ رأس میش ۳ الی ۳/۵ سال با سابقه حداقل یک شکم زایش و با وزن تقریبی ۳±٤٨ کیلوگرم انتخاب شدند. همزمان‌سازی بلند مدت با استفاده از اسفنج پروژسترونی و هورمون eCG انجام شد. میش‌ها در سه گروه ۲۱ رأسی قرار گرفته و همزمان با اسفنج‌گذاری، به گروه شاهد (۵ میلی‌لیتر نرمال سالین)، به گروه تیمار ۱ (۵ میلی‌لیتر ویتامین E/سلنیوم) و گروه تیمار ۲ (۵ میلی‌لیتر ترکیب AD3E) به صورت عضلانی تزریق شد. تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی ۵۸-۵۰ ساعت پس از برداشت اسفنج صورت گرفت. نه روز پس از زمان تلقیح، نمونه خون از ورید وداج جمع-آوری شد. غلظت سرمی سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و هورمون پژوژسترون اندازه‌گیری شد. تفاوت آماری معناداری بین سه گروه در میزان سرمی سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و هورمون پروژسترون یافت نشد (۰/۰۵ < P). نرخ آبستنی در گروه شاهد ۳۳/۳ درصد، در گروه ویتامین E/سلنیوم ۲۸/٦ درصد و در گروه ویتامین AD3E ۳۸/۱ درصد بود که تفاوت معنی‌داری نداشتند (۰/۰۵ < P). به‌نظر می‌رسد تزریق این ویتامین‌ها بایستی با توجه به نیازهای منطقه‌ای، جغرافیایی و فصلی انجام شود تا از تحمیل هزینه اضافی به دامدار و افزایش تنش‌های ناشی از تزریق در دام‌ها جلوگیری شود.

واژه‌های کلیدی: سوپراکسیددیسموتاز؛ گلوتاتیون‌پراکسیداز؛ پروژسترون؛ تلقیح لاپاروسکوپی؛ میش.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 138 pp: 77-86

Effects of vitamin E/selenium and AD3E on progesterone, antioxidant enzymes and pregnancy rate of laparoscopic artificial insemination in sheep

By: Samimi AS[1], Nazifi S[2], Asadi Z[3], Bakhshaei F[2], Farhang A[1], Karamizadeh F[1], Aghamiri SM[1*]
1 Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.
2 Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Iran.
3 Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.
Corresponding author: Seyed Morteza Aghamiri, Assistant Professor (DVM, DVSc), Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Postal code: 7616914111, Tel.: +983431322900, E-mail address: aghamirimorteza@uk.ac.ir,

Received: February 2022 **Accepted: July 2022**

Studying the changes in concentrations of antioxidant enzymes, hormones and vitamins can be provided valuable guidance in better understanding of pathophysiological processes, diagnosis, treatment and prognosis of the diseases. The aim of this study was to investigate the effects of the vitamin E/selenium and AD3E administrations before insemination on serum concentrations of progesterone, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and, also pregnancy rate after laparoscopic insemination in ewes. In this study, sixty-three 3±0.5 years old ewes and weight of 48±3 kg were selected. The ewes were divided into three groups (n=21). At the time of sponging, ewes were received 5 ml normal saline (control), vitamin E/selenium (treatment 1) and vitamin AD3E (treatment 2). Sheep were synchronized by the long-term protocol using the vaginal sponge of progesterone and equine chorionic gonadotrophin (eCG). Artificial insemination was done by laparoscopic method 50 to 58 hours after sponge removal and eCG injection. Blood samples were collected nine days after insemination. There were no significant differences between control, vitamin E/selenium and AD3E groups in serum concentrations of progesterone, superoxide dismutase and, glutathione peroxidase. Pregnancy rates of control, vitamin E/selenium and AD3E groups were 33.3 and 28.6 and 38.1, respectively that have not significant differences. It seems that the administration of vitamin E/selenium and AD3E compounds should be done according to regional needs and season to obtain optimal results and prevent additional costs and unnecessary stresses.

Key words: Superoxide dismutase, Glutathione peroxidase, Progesterone, Laparoscopic insemination, ewe

مقدمه

رادیکال آزاد اکسیداتیو طی فرآیندهای مختلف متابولیسم بدن تولید می‌شود. اگر تولید متابولیت‌های واکنش دهنده اکسیژن بیشتر از پاکسازی آن‌ها توسط سیستم دفاع آنتی اکسیدانی باشد، تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد (Nayyar and Jindal، ۲۰۱۰). در تشکیل سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن آنزیم‌هایی از جمله گلوتاتیون-پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز، ویتامین‌هایی همانند A، E و C و مواد معدنی چون سلنیوم، مس، روی و آهن اهمیت ویژه‌ای دارند (Polycarp و همکاران، ۲۰۱۶). در شرایطی که کاهش یا عدم توازن میزان آنتی‌اکسیدان‌ها وجود داشته باشد، تولید رادیکال‌های آزاد سرعت گرفته و تنش اکسیداتیو تشدید می‌شود (Aydın and Köse، ۲۰۱۵، Mohebbi-Fani و همکاران، ۲۰۱۲). تنش‌های مختلف محیطی، تغذیه‌ای، حمل و نقل، آبستنی و شیرواری می‌توانند زمینه را برای ایجاد تنش‌های اکسیداتیو در حیوانات مزرعه فراهم آورد (Aydın and Köse، ۲۰۱۵، Celi و همکاران، ۲۰۱۰، Da Fonseca و همکاران، ۲۰۱۶، Mohebbi-Fani و همکاران، ۲۰۱۲).در زمان

پیش از فحلی دام‌ها، بالا رفتن میزان متابولیسم و افزایش فعالیت استروییدوژنیک موجب افزایش تولید متابولیت‌های واکنش‌دهنده اکسیژن می‌گردد (Agarwal و همکاران، ۲۰۰۵). افزایش تولید این متابولیت‌ها می‌تواند باعث اختلال در تخمک‌گذاری و کاهش کیفیت اووسیت/رویان و نیز اختلال در تولید پروژسترون توسط جسم زرد گردد (Al-Gubory و همکاران، ۲۰۱۰).

ویتامین E (یا همان آلفاتوکوفرول) و سلنیوم نقش مهمی در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی ایفا می‌کند (Hall و همکاران، ۲۰۱۴). ویتامین E مؤثرترین آنتی‌اکسیدان محلول در چربی موجود در غشاهای زیستی است و ساختار سلولی را در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن و محصولات واکنش‌پذیر پراکسیداسیون لیپیدها محافظت می‌کند (Nayyar and Jindal، ۲۰۱۰). سلنیوم نیز یکی از عناصر ضروری و کلیدی در ساختار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهمی مثل گلوتاتیون پراکسیداز و یدوتیرونین دیودیناز است (Rayman، ۲۰۰۰). آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز در گلبول-های قرمز می‌توانند به‌عنوان شاخص‌های حساس و مهم در ارزیابی وضعیت شرایط دفاعی بدن در مقابله با تنش‌های اکسیداتیو باشد (Mohebbi-Fani و همکاران، ۲۰۱۲).

ویتامین A نقش موثری در حفظ تمام سلول‌های پوششی بدن داشته و در روند بینایی، رشد استخوان، عملکرد بهینه سیستم ایمنی و اسپرم‌زایی نقش دارد (Habeeb و همکاران، ۲۰۱۵). علاوه‌بر اینکه ویتامین A با کمک به نگهداری پوشش داخلی و خارجی برای سلامت دستگاه تناسلی ضروری است، همراه با ویتامین E بر عملکرد تخمدان و رحم نیز تأثیر می‌گذارد (Birdane and Avdatek، ۲۰۲۰، Habeeb و همکاران، ۲۰۱۵). این ویتامین‌ها همچنین در مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی بدن برای مبارزه با تنش-های مختلف همانند فصل جفت‌گیری و دمای بالای محیط نقش دارند (Birdane and Avdatek، ۲۰۲۰).

ویتامین D3 نقش مهمی در افزایش جذب کلسیم و فسفر و در نتیجه معدنی شدن استخوان دارد. این ماده مسئول افزایش جذب روده‌ای کلسیم، آهن، منیزیم، فسفر و روی است (Habeeb و همکاران، ۲۰۱۵). ویتامین D3 همچنین برای رشد و بازسازی استخوان توسط استئوبلاست‌ها و استئوکلاست‌ها مورد نیاز است و در رشد سلولی، عملکرد عصبی-عضلانی و ایمنی نقش دارد (Habeeb و همکاران، ۲۰۱۵). مشخص شده است که ویتامین D3 در شرایط آزمایشگاهی در رشد فولیکول‌ها، تنش اکسیداتیو و تولید هورمون استروئیدی نقش دارد (Birdane and Avdatek، ۲۰۲۰).

با توجه به عدم بروز علایم بالینی بارز در نتیجه بروز تنش اکسیداتیو و همچنین بهره نبردن از روش‌های ارزیابی اختصاصی (در جهت تشخیص آن‌ها برای ارزیابی مکانیسم‌های دفاعی بدن) و اثرات مخرب آن‌ها، کمبود این عوامل می‌تواند برای دام‌ها مشکل‌ساز شود (Da Fonseca و همکاران، ۲۰۱۶، Mohebbi-Fani و همکاران، ۲۰۱۶). بررسی تغییر در غلظت ویتامین‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در راستای افزایش بهره‌وری تولیدمثلی و باروری کمک کننده باشد (Celi و همکاران، ۲۰۱۰، Mohebbi-Fani و همکاران، ۲۰۱۲). در مطالعه حاضر اثر تجویز عضلانی ترکیبات ویتامین E/سلنیوم و ویتامین AD3E دو هفته پیش از تلقیح، بر کارایی جسم زرد تشکیل شده پس از تلقیح (از طریق ارزیابی میزان غلظت پروژسترون) و نیز مقدار آنتی‌اکسیدان‌ها بررسی گردید. پیش‌بینی می‌شود که تجویز این ویتامین‌ها می‌تواند بر روی غلظت سرمی آنتی‌اکسیدان‌ها و به‌دنبال آن بر روی نرخ آبستنی در گوسفندان تلقیح شده به روش لاپاروسکوپی تاثیرگذار باشد.

مواد و روش کار

انتخاب گوسفندان و همزمان سازی

انجام این مطالعه توسط کمیته اخلاق حیوانات، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان مورد تایید قرار گرفته است (IR.UK.VETMED.REC.1398.035). پژوهش حاضر در یکی از دامداری‌های شهرستان مهریز، استان یزد، ایران (با طول و عرض جغرافیایی ۳۱/۵۴،۴۰۴۰/۳۳۴۶) و در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۸ انجام شد. برای انجام این پژوهش ۶۳ رأس میش ۳ الی ۳/۵

سال با سابقه حداقل یک شکم زایش (بدون هیچگونه سابقه‌ای از مشکل تولید مثلی) و با وزن ۳±۴۸ کیلوگرم انتخاب شدند. دو ماه پیش از انجام همزمان سازی و شروع آزمایش، پشم‌چینی و درمان ضدانگل (با داروهای وسیع‌الطیف) همه حیوانات انجام پذیرفت. مدیریت و تغذیه تمام گله در بازه زمانی پژوهش یکسان در نظر گرفته شد.

میش‌ها در سه گروه ۲۱ رأسی شامل گروه شاهد (نرمال سالین)، گروه تیمار ۱ (ویتامین E/سلنیوم) و گروه تیمار ۲ (ترکیب AD3E) قرار گرفتند. پژوهش حاضر در بازه زمانی خارج از فصل تولیدمثلی نشخوارکنندگان کوچک (فصل بهار) انجام گرفت. به منظور القای تخمک‌گذاری روش همزمان‌سازی بلند-مدت استفاده شد که شامل قراردادن اسفنج داخل واژنی پروژسترون (Espongavet, HIPRA, Spain) به مدت ۱۳ روز، تزریق میزان ۴۰۰ واحد بین الملل هورمون eCG (Gonaser, HIPRA, Spain) هنگام برداشتن اسفنج بود. تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی در بازه زمانی ۵۰ تا ۵۸ ساعت پس از تزریق هورمون eCG صورت پذیرفت. به هنگام اسفنج‌گذاری به گوسفندان گروه شاهد، ۵ میلی‌لیتر نرمال سالین (به جهت مشابهت‌سازی تنش تزریق در دام‌ها)، به گروه تیمار ۱ مقدار ۵ میلی‌لیتر مکمل ویتامین E/سلنیوم شرکت رویان دارو، ایران (هر میلی‌لیتر حاوی ۵۰ میلی‌گرم ویتامین E و ۰/۵ میلی‌گرم سلنیوم) و به گروه تیمار ۲ مقدار ۵ میلی‌لیتر مکمل ویتامین AD3E شرکت رویان دارو، ایران (هر میلی‌لیتر حاوی ۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3 و ۲۰ میلی‌گرم ویتامین E) به صورت عضلانی (در عضله پشت ران) با رعایت شرایط استریلیتی تزریق گردید. لازم به ذکر است که هیچگونه داروی دیگری در روند تلقیح و یا پس از آن استفاده نشد.

تلقیح مصنوعی لاپاروسکوپی

به منظور انجام مناسب تلقیح مصنوعی ۲۴ ساعت پرهیز از غذا و ۱۲ ساعت پرهیز از آب به گوسفندان داده شد. گوسفندان به پشت روی تخت‌های مخصوص مهار شده و با زاویه ۴۵ درجه قرار گرفتند. دو سوراخ به قطر ۷ میلی‌متر در حدود ۸ سانتی‌متر زیر پستان‌ها ایجاد شد. از طریق یکی از این سوراخ‌ها، میزان مناسب از گاز دی‌اکسیدکربن وارد شده و شاخ‌های رحم با اندوسکوپ سخت ۷ میلی‌متری مشاهده شدند. از سوراخ دیگر، اسپرم ذوب شده نژاد رومانوف تولید مرکز اصلاح نژاد دام کشور (ABC, Iran) به وسیله پیپت مخصوص به طور مستقیم به مجرای هر دو تا شاخ رحم تزریق شد. تشخیص آبستنی میش‌ها، ۴۵ روز پس از تلقیح مصنوعی با استفاده از دستگاه اولتراسونوگرافی (V8, EMP, China) صورت گرفت.

نمونه گیری خون و آماده سازی نمونه‌ها

نه روز پس از تلقیح، از تمامی دام‌ها از طریق سیاهرگ وداج نمونه خون اخذ و در لوله آزمایش بدون ماده ضد انعقاد نگهداری شد. پس از لخته شدن، سرم نمونه‌ها (با سانتریفیوز در دور ۴۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه) جدا شده و تا زمان انجام آزمایشات به منظور سنجش پروژسترون، سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز در فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه گیری پروژسترون، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز

از کیت‌های تجاری برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های سوپر-اکسیددیسموتاز (KSOD96 kit, Kiazist, Iran) و گلوتاتیون‌پراکسیداز (KGPX96 kit, Kiazist, Iran) و با درنظر گرفتن دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. سنجش میزان پروژسترون با استفاده از کیت تجاری (BXE0661A kit, Biorexfars, Iran)، با روش ایمونواسی آنزیمی رقابتی و با استفاده از آنتی‌بادی‌های خاص استروئیدی انجام شد.

تحلیل آماری داده‌ها

مقادیر داده‌ها به صورت میانگین (± خطای استاندارد) بیان شدند. برای مقایسه داده‌های کمی (غلظت سرمی سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و پروژسترون) در بین گروه‌های مختلف در زمان مشخص از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و برای مقایسه میزان نرخ آبستنی بین گروه‌های مختلف از آزمون آماری مربع کای استفاده شد. تمام آزمون‌های

آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه شماره ۲۰ (SPSS for Windows, SPSS Inc, Chicago, Illinois) انجام شد. سطح معنی‌داری آزمون (P) کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد..

نتایج

تمامی میش‌ها پس از تلقیح، از تخت مخصوص آزاد شده و در حالت ایستاده قرار گرفتند. هیچگونه مشکلی در علایم بالینی دام‌ها پس از تلقیح مشاهده نشد. همچنین نفخ شدید یا ریفلاکس مایعات شکمبه پس از تلقیح در دام‌ها مشاهده نشد. تغییرات غلظت سرمی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (سوپر اکسیددیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز)، پروژسترون و نرخ آبستنی در هر سه گروه در تصویر ۱ نشان داده شده است. طبق نتایج به‌دست آمده در مقایسه با گروه شاهد، میزان غلظت سرمی هورمون پروژسترون در گروه‌های E/سلنیوم و AD3E تفاوت معناداری نداشت. تفاوت آماری معناداری در غلظت سرمی گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسیددیسموتاز و هورمون پروژسترون بین گروه‌های E/سلنیوم و AD3E وجود نداشت ($P > ۰/۰۵$). نرخ آبستنی در گروه شاهد ۳۳/۳ درصد، در گروه ویتامین E/سلنیوم ۲۸/۶ درصد و در گروه ویتامین AD3E ۳۸/۱ درصد بود. تفاوت آماری معناداری در نرخ آبستنی دام‌ها بین گروه‌های مختلف مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$).

بحث

پژوهش حاضر به بررسی اثر تجویز عضلانی ترکیبات ویتامین E/سلنیوم و AD3E دو هفته پیش از تلقیح، بر میزان پروژسترون (جهت ارزیابی عملکرد جسم زرد) پس از تلقیح و نیز میزان آنتی‌اکسیدان‌های سرمی سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون-پراکسیداز پرداخته است. آنتی‌اکسیدان‌ها در سلامتی و روندهای فیزیولوژیک به‌ویژه در زمان تنش‌های مختلف محیطی، تغذیه‌ای، حمل و نقل، آبستنی و شیرواری در حیوانات مختلف اهمیت دارند (Celi و همکاران، ۲۰۱۰، Polycarp و همکاران، ۲۰۱۶).

سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن شامل تعدادی از آنزیم‌ها (از قبیل گلوتاتیون‌پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز) و برخی از ویتامین‌ها (از جمله A، E و C) از ارزش ویژه‌ای برخوردار می-باشد (Polycarp و همکاران، ۲۰۱۶). بررسی‌ها نشان داده است که تنش اکسیداتیو به دنبال کاهش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها (آنزیمی و غیر آنزیمی) و یا عدم توازن بین آنها برای مقابله با تولید رادیکال‌های آزاد رخ می‌دهد (Aydın and Köse، ۲۰۱۵، Mohebbi-Fani و همکاران، ۲۰۱۲).

اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها در تنظیم فعالیت چرخه‌ای تولید مثلی نقش دارند. آنتی‌اکسیدان‌ها نقش موثری در محافظت سلول‌ها از اثرات منفی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در فرآیند تولید هورمون-های استروژنی ایفا می‌کنند (Da Fonseca و همکاران، ۲۰۱۶). چنانچه گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر به دیواره سلول لوتئال آسیب وارد کرده و سبب کاهش تولید پروژسترون نیز می‌شوند (Mohebbi-Fani و همکاران، ۲۰۱۶). از آنجا که پروژسترون در روز ۹ چرخه فحلی میش‌ها (گامه دایستروس) در بیشترین مقدار خودش می‌باشد (Youngquist. and Threlfall، ۲۰۰۶)، در این پژوهش به مقایسه غلظت سرمی پروژسترون بین گروه‌های مختلف در این روز پرداخته شد. فرح‌آور و همکاران در سال ۲۰۲۰، به منظور بررسی اثر تزریق ویتامین E و سلنیوم، اندازه-گیری پروژسترون را ۱۰ روز پس از جفت‌گیری انجام داده بودند (Farahavar و همکاران، ۲۰۲۰). تحلیل و از بین رفتن جسم زرد توسط $PGF_{2\alpha}$ همگام و توسط افزایش گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر و کاهش آنزیم‌ها و ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان است (Polycarp و همکاران، ۲۰۱۶). چنانچه جسم زرد تازه‌تشکیل در اوایل آبستنی ممکن است توسط فعالیت آنتی‌اکسیدانی از لوتئولیز نجات پیدا کند (Nayyar and Jindal، ۲۰۱۰) که این موضوع در گوسفند که حفظ و بقای آبستنی از زمان شناسایی رویان به مادر و لانه‌گزینی وابسته به پروژسترون تولیدی از جسم زرد است، به طور ویژه اهمیت دارد. چنانچه نقص در سیستم آنتی‌اکسیدانی ممکن است یک مولفه‌اصلی در از دست دادن آبستنی اولیه باشد (Aydın and Köse، ۲۰۱۵). تخمک و

جنین با سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی از گونه‌های اکسیژن واکنش-پذیر محافظت می‌شوند (Nayyar and Jindal، ۲۰۱۰). چنانچه در مطالعه ناویتو و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان داده شد که خطر بروز تنش اکسیداتیو در گوسفند و بز در طول آبستنی بیشتر از دوره غیرآبستنی می‌باشد. همچنین در بین گروه‌های آبستن، گروهی که از طریق مرتع و چرا تغذیه می‌کرد با تنش اکسیداتیو بیشتری روبه‌رو بودند (Nawito و همکاران، ۲۰۱۶). بنابراین توجه به وضعیت آنتی‌اکسیدان‌ها در طی آبستنی (و به خصوص اوایل آن که تولید پروژسترون وابستگی کامل به جسم زرد دارد) و به ویژه در گوسفندان تغذیه شده از مرتع اهمیت فراوانی دارد.

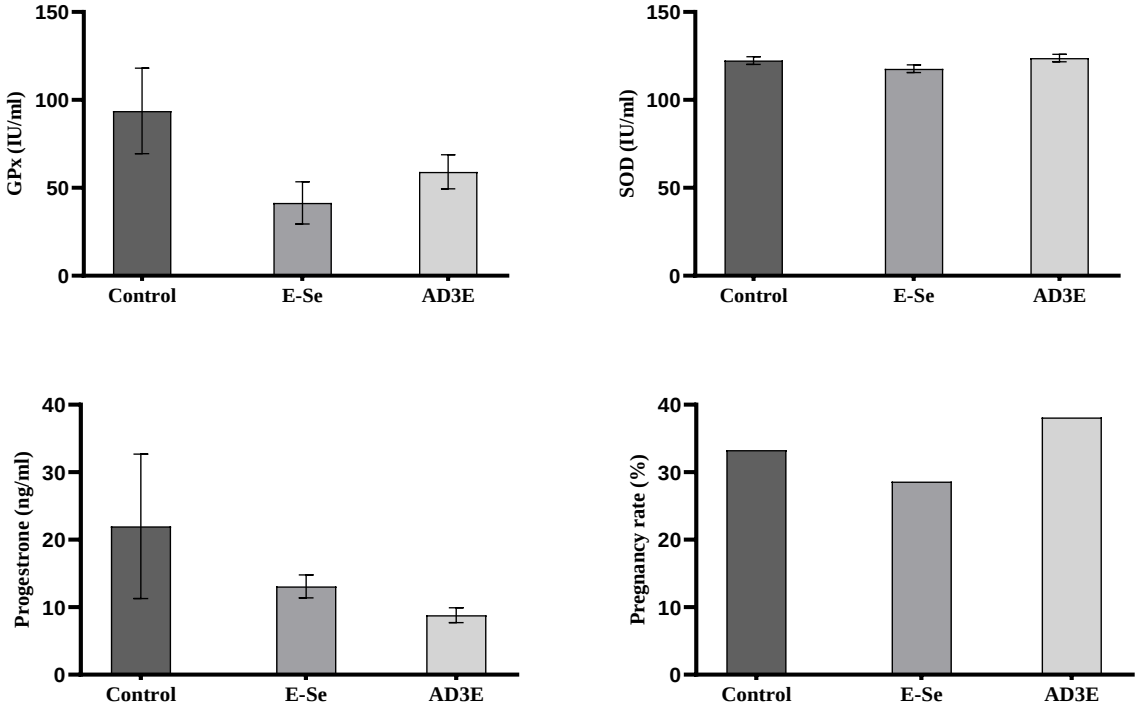
در پژوهش حاضر، میزان سوپراکسیددیسموتاز در گروه شاهد، ویتامین E/سلنیوم و AD3E به ترتیب ۱۲۲/۴، ۱۱۷/۷ و ۱۲۳/۷ واحد در میلی‌لیتر بود که تفاوت معناداری نداشتند (تصویر ۱). میزان سوپراکسیددیسموتاز در مطالعه قریشی و همکاران در سال ۲۰۱۷، در گروه شاهد ۸۰/۷۶ و در گروه ویتامین E/سلنیوم ۱۰۹/۴۳ واحد در میلی‌لیتر گزارش شد (Qureshi و همکاران، ۲۰۱۷). در مطالعه صمیمی و همکاران (۲۰۲۱) سطح سرمی سوپراکسیددیسموتاز در دوره‌ی "غیرآبستن غیرشیرده" در بزها ۱۱/۱۸±۲۳۳ واحد در میلی‌لیتر گزارش شده بود (Samimi و همکاران، ۲۰۲۱). سطح آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گروه شاهد، ویتامین E/سلنیوم و AD3E به ترتیب ۹۳/۷۱، ۴۱/۴۹ و ۵۹/۰۶ واحد در میلی‌لیتر به‌دست آمد (تصویر ۱). سطح این آنزیم در مطالعه قریشی و همکاران، در گروه شاهد ۴۲/۰۵ و در گروه ویتامین E/سلنیوم ۵۷/۵ واحد در میلی‌لیتر به دست آمده بود (Qureshi و همکاران، ۲۰۱۷). در مطالعه صمیمی و همکاران در سال ۲۰۲۱ نیز سطح سرمی گلوتاتیون‌پراکسیداز در دوره‌ی غیرآبستن غیرشیرده در بزها ۰/۱۵±۲۲/۶ واحد در میلی‌لیتر اندازه گیری شده بود (Samimi و همکاران، ۲۰۲۱).

در مطالعات مختلف به بررسی اثر استفاده از مکمل‌های حاوی ویتامین‌ها و مواد معدنی در بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدان‌های گوسفند و بز و نیز اثر آن بر تولیدمثل پرداخته شده است. به نظر می‌رسد که تغذیه و سطح عناصر معدنی در میزان آنزیم‌های اکسیداتیو و فعالیت آنها نقش داشته باشند. چنانچه در پژوهشی سطح سرمی آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با تغذیه بزها با سلنومتیونین تغییر کرده و از ۱۱۵/۴۹ تا ۲۸۹/۱۹ در گروه‌های مختلف رسیده بود (Yue و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین در پژوهش شی و همکاران در سال ۲۰۱۱ در بزها، تغذیه با ترکیبات سلنیوم سبب افزایش سطح سرمی آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در سرم نسبت به گروه شاهد از ۱۸۱/۴۲ به ۲۵۲/۱۰ واحد در میلی‌لیتر شده بود (Shi و همکاران، ۲۰۱۱). در مطالعه کین و همکاران در سال ۲۰۱۱ تجویز سلنیوم در جیره روزانه باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش قابل توجه فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز به عنوان دو آنزیم مورد استفاده جهت سنجش وضعیت اکسیدانی گشت (Qin و همکاران، ۲۰۱۱). نتایج به دست آمده در مطالعه ما نشان داد که تزریق ترکیبات ویتامین E/سلنیوم یا AD3E در دو هفته پیش از تلقیح سبب افزایش میزان گلوتاتیون‌پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز ۹ روز پس از تلقیح (در میانه فاز دایستروس)، نسبت به گروه شاهد نشده است (تصویر ۱). به نظر می‌رسد که تجویز آنتی اکسیدان‌ها از جمله ویتامین E/سلنیوم در زمان تنش‌های شدید اکسیداتیو و در جبران کمبود آنتی‌اکسیدان‌ها موثر باشد نسبت به زمانی که تنش‌های شدید وجود ندارد. ازهمین‌رو شاید دام‌های پژوهش حاضر نیز تحت تنش اکسیداتیو قرار نداشتند (Al-Gubory و همکاران، ۲۰۱۰). دراین میان از اثر فصل هم نباید غفلت نمود. مطالعه حاضر در فصل بهار (خارج از فصل تولیدمثل گوسفندان) انجام شده است. در این فصل گوسفندان در مرتع تغذیه می‌کنند، علوفه تازه سبز در دسترس است و احتمالا میزان کافی از ویتامین‌ها در بدن دریافت می‌گردد که می‌تواند سطح مناسب آنتی‌اکسیدان‌ها را فراهم کند به گونه‌ای که افزایش بیشتر در عوال موثر بر آنتی-اکسیدان‌ها، اثرگذاری چندانی نداشته باشد. در عین حال تنش گرمایی نیز در این فصل کمتر از فصل تابستان مطرح است که خود می‌تواند بر میزان تنش اکسیداتیو موثر باشد.

با توجه به اثرات رادیکال‌های آزاد بر تولید هورمون‌های

استروئیدی و نقش آنتی‌اکسیدان‌ها در تحلیل و یا بقای جسم زرد (Dennery، ۲۰۰۷، Nayyar and Jindal، ۲۰۱۰)، در این مطالعه به بررسی اثر تجویز ترکیبات ویتامین E/سلنیوم و AD3E بر عملکرد جسم زرد از طریق اندازه گیری میزان پروژسترون پرداخته شد که تفاوت معناداری در سطح سرمی آن‌ها با گروه شاهد مشاهده نگردید (تصویر ۱). درحالی که آرلانو و همکاران در سال ۲۰۰۷ با استفاده کوتاه‌مدت از بتا-کاروتن در بز اثر مثبت آن را بر عملکرد فعالیت تخمدانی با بررسی فولیکول‌ها و تعداد جسم زردها گزارش نمودند (Arellano-Rodriguez و همکاران، ۲۰۰۷). ضیایی در سال ۲۰۱۵ دریافتند که اگر چه استفاده از مکمل‌های ویتامین E/سلنیوم باعث بهبود وزن بزغاله هنگام تولد می‌گردد اما تاثیر قابل‌توجهی بر متابولیت‌های بیوشیمیایی یا صفات تولیدمثلی ندارد (Ziaei، ۲۰۱۵). در تحقیقات فرح‌آور و همکاران در سال ۲۰۲۰ مشخص شد که استفاده از مکمل ویتامین E/سلنیوم پیش از تلقیح در گوسفندان بر روی زنده‌مانی بره‌ها موثر بود اما بر روی میزان باروری، زایش و وزن هنگام تولد بره‌ها تاثیری نداشت. همچنین ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم در روز ۵ و غلظت پروژسترون سرم در روز ۱۰، در گروه آزمایش بیشتر از گروه شاهد بود (Farahavar و همکاران، ۲۰۲۰) که نتایج این مطالعه با پژوهش حاضر در میزان پروژسترون متفاوت بود. در این باره نباید از تفاوت‌های تغذیه‌ای، فصل مطالعه، نژاد گوسفندان، منطقه جغرافیایی و میزان اولیه آنتی‌اکسیدان‌های موجود در جیره غذایی غفلت نمود.

در مطالعه حاضر تزریق ویتامین E/سلنیوم یا AD3E باعث تغییر معنادار باروری در نرخ آبستنی نشد (تصویر ۱). گزارش شده است که تزریق ترکیب ویتامین E/سلنیوم به‌طور معناداری شیوع فحلی، نرخ باروری، وزن بره‌ها در روز ۶۰ و میزان وزن‌گیری روزانه میش‌ها در ۶۰ روز بعد از زایمان را افزایش می‌دهد (Koyuncu and Yerlikaya، ۲۰۰۷). در مطالعه موسی و همکاران (در سال ۲۰۱۸)، نرخ آبستنی و بره‌زایی در گروه‌های دریافت کننده ویتامین E و دریافت کننده ترکیب ویتامینE/سلنیوم به طور معناداری بالاتر از گروه شاهد بود (Musa و همکاران، ۲۰۱۸). اواوده و همکاران در سال ۲۰۱۹ با تزریق ویتامین E/سلنیوم در میش همزمان‌سازی شده تغییر چندانی در باروری مشاهده نکردند، اما تعداد میش‌هایی که با یک نوبت تلقیح زایش انجام دادند از ۶۴ درصد به ۹۳/۳ درصد افزایش پیدا کرد (Awawdeh و همکاران، ۲۰۱۹). البته باید توجه داشت که در نرخ آبستنی تلقیح مصنوعی عوامل مختلف چون سن و نژاد میش، مدیریت دامداری و تغذیه، کیفیت داروی همزمانی و اسپرم دخیل هستند (Aké Villanueva و همکاران، ۲۰۱۷) که البته در این مطالعه ثابت بودند. علاوه بر این، فصل هم در نرخ گیرایی تلقیح مصنوعی می‌تواند تاثیر بسزایی داشته باشد (Aké-Villanueva و همکاران، ۲۰۱۷). پژوهش حاضر در خارج از فصل تولیدمثل صورت پذیرفته که می‌تواند به عنوان یکی از دلایل کاهش نرخ آبستنی تلقیح مصنوعی لاپاروسکوپی در این پژوهش باشد.



تصویر ۱. غلظت (میانگین ± انحراف از معیار) آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز)، هورمون پروژسترون و نرخ آبستنی در گروه‌های شاهد، دریافت کننده ویتامین E/سلنیوم و دریافت کننده ویتامین AD3E.

نتیجه‌گیری کلی

در پژوهش حاضر با تجویز ویتامین E/سلنیوم و AD3E دو هفته پیش از تلقیح، در مقایسه با گروه شاهد، تغییرات معناداری در مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز مشاهده نشد. همچنین در مقایسه با گروه شاهد، میزان غلظت سرمی هورمون پروژسترون در گروه‌های E/سلنیوم و AD3E تفاوت معناداری نداشت و نرخ آبستنی نیز تفاوتی نشان نداد. به‌نظر می‌رسد تزریق این داروها بایستی با توجه به نیازهای منطقه‌ای و فصلی انجام شود. چنانچه استفاده از آن در زمانی که احتمال کمبود آنتی‌اکسیدان‌ها وجود ندارد، نمی‌تواند اثر مثبت داشته باشد و موجب تحمیل هزینه اضافی به دامدار و افزایش تنش‌های ناشی از تزریق در دام می‌شود.

منابع

Agarwal. A. Gupta. S. and Sharma. R.K. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive biology and endocrinology*. 3(1):28.

Aké-Villanueva. J.R. Aké-López. J.R. Segura-Correa. J.C. Magaña-Monforte. and Aké-Villanueva. N.Y. (2017). Factors affecting conception rate of hair ewes after laparoscopic insemination with chilled semen under tropical conditions. *Small Ruminant Research*. 153:114-117.

Al-Gubory. K.H. Fowler. P.A. and Garrel. C. (2010). The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 42(10):1634-1650.

Arellano-Rodriguez. G. Meza-Herrera. C.A. Rodriguez-Martinez. R. Velazquez-Mendez. G. Mellado. M. Salinas. H. and et al. (2007). Short-term betacarotene supplementation positively affects ovarian follicular development and ovulation rate in goats. *Journal of Applied Animal Research.* 32(2):177-180.

Awawdeh. M.S. Eljarah. A.H. and Ababneh. M.M. (2019). Multiple injections of vitamin E and selenium improved the reproductive performance of estrus-synchronized Awassi ewes. *Tropical Animal Health and Production*. 51(6):1421-1426.

Aydın. İ. and Köse. A.M. (2015). Serum oxidative status and biochemical parameter levels during in Saanen goats. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences.* 31(4):197-203.

Birdane. M.K. and Avdatek. F. (2020). Effect of vitamin A, D3, E treatment on fertility in the Pırlak sheep. *Kocatepe Veterinary Journal*. 13(2):179-184.

Celi. P. Di Trana. A. and Claps. S. (2010). Effects of plane of nutrition on oxidative stress in goats during the peripartum period. *The Veterinary Journal*. 184(1):95-99.

Da Fonseca. L.A. Gonçalves. R.C. Ribeiro Filho. J.D. Girardi. F.M. Carvalho Filho. W.P. Dias. D.C. and et al. (2016). Influence of selenium and vitamin E supplementation on energy metabolism in horses used in policing activity. *Comparative Clinical Pathology*. 25(2):351-355.

Dennery. P.A. (2007). Effects of oxidative stress on embryonic development. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*. 81(3):155-162.

Farahavar. A. Rostami. Z. Alipour. D. and Ahmadi. A. (2020). The effect of pre-breeding vitamin E and selenium injection on reproductive performance, antioxidant status, and progesterone concentration in estrus-synchronized Mehraban ewes. *Tropical Animal Health and Production.* 3:1-8.

Hall. J.A. Bobe. G. Vorachek. W.R. Kasper. K. Traber. M.G. Mosher. W.D. and et al. (2014). Effect of supranutritional organic selenium supplementation on postpartum blood micronutrients, antioxidants, metabolites, and inflammation biomarkers in selenium-replete dairy cows. *Biological Trace Element Research*. 161(3):272-287.

Habeeb. A.A.M. AbdelHafez. M.A.M. ELGohary. E.S.H. Fathala. M.M. and Salama. O.A. (2015). Effect of vitamin AD3E injection on age and weight of weaning and reproductive activity of goats. 1-Physiological response and reproductive performance of goat bucks during different seasons in egypt. *Journal of Animal and Poultry Production.* 6(12):719-739.

Koyuncu. M. and Yerlikaya. H. (2007). Effect of selenium-vitamin E injections of ewes on reproduction and growth of their lambs. *South African Journal of Animal Science*. 37(4):233-236.

Mohebbi-Fani. M. Ansari-Lari. M. Nazifi. S. Abbasi. F. and Shabboie. Z. (2016). Oxidative status and acute phase response in post-transition early-and mid-lactation Holstein cows and their correlations with some performance records. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 42(1):65-73.

Mohebbi-Fani. M. Mirzaei. A. Nazifi. S. and Tabandeh. M.R. (2012). Oxidative status and antioxidant enzyme activities in erythrocytes from breeding and pregnant ewes grazing natural pastures in dry season. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 163(10):454-460.

Musa. S.I. Bitto. I.I. Ayoade. J.A. and Oyedipe. O.E. (2018). Effects of vitamin E and selenium on fertility and lamb performance of Yankasa sheep. *Open Journal of Veterinary Medicine*. 8(09):167.

Nawito. M.F. El Hameed. A.R. Sosa. A.S. and Mahmoud. K.G. (2016). Impact of pregnancy and nutrition on oxidant/antioxidant balance in sheep and goats reared in South Sinai, Egypt. *Veterinary World*. 9(8):801.

Nayyar. S. and Jindal. R. (2010). Essentiality of antioxidant vitamins for ruminants in relation to stress and reproduction. *Iranian Journal of Veterinary Research.* 11(1):1-9.

Polycarp. T.N. Obukowho. E.B. and Yusoff. S.M. (2016). Changes in haematological parameters and oxidative stress response of goats subjected to road transport stress in a hot humid tropical environment. *Comparative Clinical Pathology*. 25(2):285-293.

Qin. F. Zhu. X. Zhang. W. Zhou. J. Zhang. S. and Jia. Z. (2011). Effects of dietary iodine and selenium on nutrient digestibility, serum thyroid hormones, and antioxidant status of Liaoning cashmere goats. *Biological Trace Element Research.* 143(3):1480-1488.

Qureshi. M.S. Akhtar. S. and Khan. R.U. (2017). The effect of vitamin E and selenium on physiological, hormonal and antioxidant status of Damani and Balkhi sheep submitted to heat stress. *Applied Biological Chemistry*. 60(6):585-590.

Rayman. M.P. (2000). The importance of selenium to human health. *The Lancet.* 356:233-241.

Samimi. A.S. Aghamiri. S.M. Nazifi. S. and Asadi. Z. (2021). Changes in ghrelin, microminerals, antioxidants and vitamins A, E and C levels during different physiological status in high yielding Saanen goats subjected to heat stress. *Journal of Thermal Biology.* 100:103014.

Shi. L. Xun. W. Yue. W. Zhang. C. Ren. Y. Shi. L. and et al. (2011). Effect of sodium selenite, Se-yeast and nano-elemental selenium on growth performance, Se concentration and antioxidant status in growing male goats. *Small Ruminant Research.* 96(1):49-52.

Youngquist. R.S. and Threlfall. W.R. (2006). Current therapy in large animal theriogenology. Elsevier Health Sciences.

Yue. W. Zhang. C. Shi. L. Ren. Y. Jiang. Y. and Kleemann. D.O. (2009). Effect of supplemental selenomethionine on growth performance and serum antioxidant status in Taihang black goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.* 22(3):365.

Ziaei. N. (2015). Effect of selenium and vitamin E supplementation on reproductive indices and biochemical metabolites in Raieni goats. *Journal of Applied Animal Research.* 43(4):426-430.