

The effect of metformin on production performance and egg quality traits in laying hens

H Hatami ¹, M Ebrahimi ^{2*}, H Daghigh Kia ³, H Janmohammadi ³ and D Kiani Fard ⁴

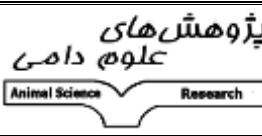

1 PhD Student, Department of Animal Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2 Associate Professor, Department of Animal Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran

3 Professor, Department of Animal Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran

4 Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Iran

*Corresponding author: marzebrahimi@tabrizu.ac.ir

	<p>Journal of Animal Science Research / vol.34 No.3/ 2024/pp 29-39 https://animalscience.tabrizu.ac.ir</p>	
<p>© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/) DOI: 10.22034/as.2023.56549.1707</p>		

Introduction: Metformin is used in the treatment of infertility in women with polycystic ovary syndrome and insulin resistance. Metformin affects the release of GnRh and LH hormones by regulating the reproductive axis (Tosca et al. 2011). It has been shown that patients with polycystic ovaries who ovulate under metformin treatment have an improvement in ovarian artery blood flow and better dominant follicle and corpus luteum angiogenesis (Palumba et al. 2006). Egg laying in chickens is stopped at the end of production for several reasons. External and internal stimuli affect the hormonal levels of the hen's body, which causes changes in the conditions governing the laying organs (ovaries and oviducts), and these changes cause a decrease or stop of egg production. The purpose of using metformin in the diet of laying hens is to reduce the fat around the ovary, so that it can exert its positive effects (Toska et al. 2011). Chen et al. (2011) in Hy-Line laying Leghorn hens that received 30 or 100 mg/kg body weight of metformin significantly reduced egg laying rate, plasma triglyceride, cholesterol and insulin levels, body weight, abdominal fat, and liver fat content (Chen et al., 2011). In order to reduce fat reserves and improve egg laying at the end of production, this study was conducted in order to investigate the effect of metformin on production performance, external and internal quality traits of eggs in laying hens at the end of the production period (choosing the last weeks of production was due to reduced production and accumulation of abdominal fat)

Material and methods: The number of 64 laying hens of Leghorn breed HyLine-W36 at the 73 weeks of age were used in this experiment. The hens were allocated to 4 treatments (levels of 0, 50, 100 and 150 mg/kg body weight of Metformin) and four replicates with four birds in each replicate in a completely random design during 8 weeks of the experiment. In order to adapt to experimental diet and conditions, one week adaptation period was also done. Egg production performance including hen-day egg production, egg weight, egg mass, were recorder daily and feed intake of birds were measured and the feed conversion ratio (FCR) was calculated. At the beginning and end of the experiment, egg quality traits (egg length, egg diameter, shell weight, egg index, haugh unit, egg shell thickness, egg density, albumin weight, albumin pH, yolk height, yolk diameter, yolk weight, yolk pH, and yolk color) were evaluated and reported.

Results and discussion: The results of the experiment indicated that the production performance parameters including egg production, egg mass, egg weight, percentage of soft shell eggs, feed conversion ratio, feed efficiency, final weight of hens and weight gain of hens were not affected by

treatments. Hens in the control group had the lowest percentage of cracked eggs ($P < 0.05$). Egg length, egg width, shell weight, egg index, haugh unit, wide end shell thickness, middle shell thickness and egg density were not differed between treatments at the beginning and end of the experiment. Albumin height, albumin weight, albumin pH, yolk height, yolk width, yolk weight, yolk index, yolk and albumin percentages, yolk pH, and yolk color were not affected by experimental treatments at the end of the experiment. In general, the use of metformin drug in this experiment, could not have a positive effect on the performance and quality characteristics of eggs.

Key words: metformin, production performance, eggs quality traits, laying hens

اثر متفورمین بر عملکرد تولید و صفات کیفی تخم مرغ در مرغان تخمگذار

حاتم حاتمی^۱، مرضیه ابرهیمی*^۲، حسین دقیق کیا^۳، حسین جانمحمدی^۳ و داود کیانی فرد^۴

^۱ دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

^۲ دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

^۳ استاد گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

^۴ دانشیار گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز

*مسئول مکاتبه: Email: marzebrahimi@tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: این مطالعه به منظور بررسی اثر داروی متفورمین بر عملکرد تولید، صفات کیفی خارجی و صفات کیفی داخلی تخم مرغ در مرغان تخم گذار در انتهای دوره تولید انجام شد. تعداد ۶۴ قطعه مرغ تخمگذار نژاد لگهورن سویه های لاین - W36 در سن ۷۳ هفتگی در این آزمایش استفاده شد. روش کار: مرغ‌ها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به ۴ تیمار (سطوح ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن داروی متفورمین) و چهار تکرار و چهار قطعه مرغ در هر تکرار تخصیص یافتند. **نتایج:** نتایج آزمایش نشان داد که شاخص‌های عملکرد تولید شامل میزان تولید تخم مرغ، توده تخم مرغ، وزن تخم مرغ، درصد تخم مرغ‌های لمبه، ضریب تبدیل خوراک، بازدهی خوراک، وزن نهایی مرغ‌ها و افزایش وزن مرغ‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. مرغ‌های گروه شاهد کمترین درصد تخم مرغ‌های شکسته را داشتند ($P < 0.05$). شاخص شکل، وزن پوسته، شاخص تخم مرغ، واحد هاو، ضخامت پوسته، و دانسیته تخم مرغ، بین تیمارها تفاوت نداشت. pH سفیده، واحد هاو، ارتفاع زرده، عرض زرده، وزن زرده، درصد سفیده، درصد زرده، نسبت زرده به سفیده، شاخص زرده، pH زرده و رنگ زرده در انتهای آزمایش تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. **نتیجه گیری نهایی:** به طور کلی استفاده از داروی متفورمین در این آزمایش نتوانست اثر مثبتی روی عملکرد و خصوصیات کیفی تخم مرغ داشته باشد.

واژگان کلیدی: متفورمین، عملکرد تولید، صفات کیفی تخم مرغ، مرغان تخم گذار

مقدمه

محرک‌های خارجی و داخلی سطوح هورمونی بدن مرغ را تحت تأثیر قرار می‌دهند که موجب تغییر شرایط حاکم بر اندام‌های تخم‌گذاری (تخم‌دان و اویدوکت) می‌شود که این تغییرات موجب کاهش و یا توقف تولید تخم می‌گردند. با آغاز فرآیند پیری در مرغ‌های تخمگذار، کاهش سریعی در میزان تخم‌گذاری اتفاق می‌افتد، به طوری که در سن ۸۰ هفتگی، تولید تخم در مرغ‌ها به طور معنی‌داری افت کرده و عملکرد تخمدان آنها به طور قابل

مرغ‌های تخمگذار برای اینکه بتوانند یک توالی (کلاچ) از تخم‌ها تولید کنند، باید گروه کوچکی از فولیکول‌های زنده و تمایز نیافته را داشته باشند و روزانه یک فولیکول تمایز نیافته از این گروه به محل تجمع پیش از تخم‌گذاری فولیکول‌ها وارد شده و قبل از تخم‌گذاری تحت رشد و تمایز سریع قرار می‌گیرد (جانسون ۲۰۱۵). تخم‌گذاری در مرغ در انتهای تولید، به دلایل متعددی قطع می‌گردد.

متفورمین وجود دارد (کین و همکاران، ۲۰۱۹). همچنین گزارش شده است که متفورمین به واسطه ممانعت از مرگ فولیکول‌ها و نگهداری ذخایر فولیکولی، فرآیند پیری تخمدان در موش‌ها را به تأخیر می‌اندازد و علاوه بر آن متفورمین می‌تواند استرس اکسیداتیو تخمدانی و تولید اجسام اکسیژنی و اکشنگر (ROS) در میتوکندری را تخفیف دهد (باتاندر و همکاران، ۲۰۰۶؛ کای و همکاران، ۲۰۲۰). استرس شبکه اندوپلاسمی برای بقاء سلول‌های گرانولوزا در فولیکول زیان آور است (لیو و همکاران، ۲۰۱۸) و توانایی متفورمین در کاهش بیان پروتئین تنظیم کننده گلوکز (GRP78) - که نشانگر وقوع استرس شبکه اندوپلاسمی است - نشان داده شده است (کای و همکاران، ۲۰۲۰).

متفورمین در درمان ناباروری زنان با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و مقاوم به انسولین مورد استفاده قرار می‌گیرد. متفورمین با تنظیم محور تولید مثلی، ترشح هورمون آزاد کننده گنادوتروپین و لوتئینه کننده را تحت تأثیر قرار می‌دهد (توسکا ۲۰۱۱). نشان داده شده است که بیماران با تخمدان پلی‌کیستیک که تحت درمان با متفورمین تخمک‌اندازی می‌کنند، یک بهبود در جریان خون سرخرگی تخمدانی و فولیکول غالب بهتر و رگزایی جسم زرد دارند (پالومبا، ۲۰۰۶).

بعضی مطالعات نشان داده‌اند که درمان با متفورمین می‌تواند با اثر بر روی سلول‌های ترشح کننده گنادوتروپین در هیوفیز، آزادسازی LH را تعدیل نماید (گنازانی و همکاران، ۲۰۰۴) و سبب کاهش ترشح LH در زنان با تخمدان پلی کیستیک شود (بیلا و همکاران، ۲۰۰۹).

عملکرد نوروپین های تنظیم کننده ی تولید مثل) هنگامی که توسط متفورمین فعال می شود، آزاد سازی FSH و LH را در پاسخ به GnRH تحریک می کند و یک مسیر با

توجهی کاهش می‌یابد (مولنار، ۲۰۱۶؛ لیو، ۲۰۱۸). تسریع در از دست دادن فولیکول‌های تمایز نیافته در تخمدان مسن، افزایش زوال فولیکول‌های تمایز نیافته و کاهش ظرفیت تشکیل پیش‌ساز زرده در کبد و در نتیجه کاهش ذخیره زرده در فولیکول‌های تمایز نیافته، دلایلی هستند که سبب کاهش تولید تخم در مرغ‌های مسن می‌شوند (لیلپرز و ویلهلمسون، ۱۹۹۳). از این رو ممانعت از آترزی فولیکولی و یا به تعویق انداختن آن برای حفظ تولید در سطح بالا ضروری است.

پژوهش‌های مختلفی در مورد نقش پیام‌های هورمونی-عصبی بر تخم‌ریزی انجام شده است (وزینا و همکاران، ۲۰۰۳؛ پراسد و همکاران، ۲۰۰۷؛ ابید و همکاران، ۲۰۰۸). در پرندگان و سایر مهره‌داران تخمگذار، هورمون‌های محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گونادها اعمال تخمدان را تنظیم می‌کنند (پراسد و همکاران، ۲۰۰۷). باروری توسط نوروپین‌های هیپوتالاموسی ترشح کننده هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) کنترل می‌شود. ترشح هورمون آزاد کننده گنادوتروپین از این نوروپینها موجب تحریک آزاد سازی هورمون لوتئینه کننده^۲ (LH) و هورمون محرک فولیکولی^۳ (FSH) از هیپوفیز می‌شود. نوروپین‌های هورمون آزاد کننده گنادوتروپین به محرک‌های بی-شمار از جمله سیگنال‌های متابولیک محیطی مانند گلوکز و لپتین پاسخگو هستند (پال و همکاران، ۲۰۰۷، گامبا و همکاران، ۲۰۰۶).

متفورمین دارویی است که برای درمان لاکتون دام‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (بایلی و دی، ۲۰۰۴). گزارش‌هایی در مورد آهسته شدن سرعت پیری تحت تأثیر مطالعات متعددی اثرات متفورمین را در استروئیدورژنز سلول گرانولوزا و بلوغ تخمک پیشنهاد کرده اند (توسکا و همکاران ۲۰۰۷). AMPK^۴ (دارای نقش کلیدی در

⁴ Adenosine monophosphate activated protein kinase

¹ Gonadotropin releasing hormone

² Luteinizing hormone

³ Follicle stimulating hormone

همکاران ۲۰۰۷، توسکا و همکاران ۲۰۰۶). متفورمین تأثیر خود را بر بیان ژن پروتئین‌های درگیر در تولید استروئید (CYP11A1, β HSD β ، آروماتاز)، یا در سطح فعالیت پروتئین در سلول‌های گرانولوزا می‌گذارد (توسکا و همکاران ۲۰۰۷، توسکا و همکاران ۲۰۰۶). با توجه به موارد بیان شده، این مطالعه به منظور بررسی اثر داروی متفورمین بر عملکرد تولید، صفات کیفی خارجی و صفات کیفی داخلی تخم مرغ در مرغان تخم‌گذار در انتهای دوره تولید (انتخاب هفته‌های آخر تولید به دلیل کاهش تولید و تجمع چربی محوطه شکمی) انجام شد.

با توجه به گزارش مطالعات، متفورمین به عنوان یک دارو تأثیر مثبتی روی هورمون‌های تولید مثلی و جلوگیری از پیری تخمدان در گونه‌های حیوانی از خود نشان داده است و مطالعات محدودی درباره اثر آن در مرغ‌های تخمگذار انجام گرفته است. از این رو، این مطالعه، به منظور بررسی اثر متفورمین در جلوگیری از کاهش تخمگذاری مرغان تخمگذار و صفات کیفی تخم مرغ در سنین بالا انجام گرفت.

مواد و روش

برای انجام این آزمایش، ۶۴ قطعه مرغ تخمگذار نژاد لگهورن سویه‌های لاین W36 در سن ۷۳ هفته‌گی، در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۴ تیمار (سطوح ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن داروی متفورمین)، ۴ تکرار و چهار قطعه مرغ در هر تکرار اختصاص یافتند. محل اجرای طرح، مرغداری ایستگاه آموزشی تحقیقاتی خلعت پوشان تبریز بود. تنظیم فرمول جیره‌های غذایی مطابق جداول احتیاجات نژاد لگهورن سویه‌های لاین W36 صورت گرفت. پرندگان با مقدار ۱۰۰ گرم در روز خوراک تغذیه شدند و در تمام طول دوره آزمایش (۱ هفته دوره آدپتاسیون و ۸ هفته دوره آزمایش)،

واسطه MAPK3/1^۱ و انتشار FSH تحریک شده با محرک توسط یک مسیر وابسته به SMAD2 مهار می‌کند (توسکا و همکاران ۲۰۱۱). این کاهش در ترشح گنادوتروپین موجب کاهش سنتز استروئید در تخمدان خواهد شد. همچنین متفورمین می‌تواند چربی محوطه بطنی را کاهش دهد که این عمل را به واسطه تغییر در بیان پروتئین لیپاز تری‌گلیسرید کبدی^۲ (ATGL) و پروتئین اسید چرب سنتاز کبدی^۳ (FAS) انجام می‌دهد (چن و همکاران ۲۰۱۱). بنابراین هدف از بکارگیری متفورمین در جیره مرغان تخم‌گذار، کاهش چربی اطراف تخمدان است، که از این طریق بتواند اثرات مثبت خود را اعمال کند.

چن و همکاران (۲۰۱۱) در مرغ‌های تخم‌گذار لگهورن از نوع Hy-Line که ۳۰ یا ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن متفورمین دریافت کردند کاهش قابل توجه در میزان تخمگذاری، سطح تری‌گلیسرید، کلسترول و انسولین پلاسما، وزن بدن، وزن چربی شکمی، و محتوای چربی کبدی گزارش کردند. همچنین نشان دادند که متفورمین می‌تواند موجب کاهش ذخایر توسکا و همکاران (۲۰۱۱) در موش شاهد کاهش FSH و LH در اثر استفاده از متفورمین بودند (توسکا و همکاران ۲۰۱۱). لو و همکاران کاهش ترشح LH در پاسخ به مصرف متفورمین را مشاهده کرده‌اند (لو و همکاران ۲۰۰۸). در شرایط مطالعه بر روی موجود زنده و یا در مدل‌های کشت سلول تخمدان در گونه‌های مختلف (انسان، جوندگان، گاو و بز) نشان داده شده است که کاهش استرادیول و پروژسترون از گرانولوزا و آندروژن توسط سلول‌های تکا مشاهده شده است (توسکا و همکاران ۲۰۰۷، آتیا و همکاران ۲۰۰۱). کاهش سنتز پروژسترون در حضور متفورمین تنها در اثر تحریک سلولها با FSH، فاکتور رشد شبه انسولین^۴ (IGF-1) به تنهایی یا با هم اتفاق می‌افتد (توسکا و

³ Fatty acid synthase

⁴ Insulin-like growth factor

¹ Mitogen-activated protein kinase

² Adipose triglyceride lipase

α : ضریب تابعیت خطی Y از اندازه گیری اولیه مشاهده i ام
 \bar{W}_{ij} : میانگین شاخص اندازه گیری شده مشاهده i ام
 e_{ij} : اثر عوامل ناشناخته i ام (اثر اشتباه آزمایشی)

نتایج و بحث

یافته‌های مربوط به اندازه‌گیری عملکرد مرغ‌ها شامل میزان تولید تخم، وزن تخم‌مرغ، توده تخم‌مرغ تولید، درصد تخم‌مرغ‌های شکسته، درصد تخم مرغ‌های لمبه، ضریب تبدیل خوراک، وزن نهایی مرغ‌ها و افزایش وزن مرغ‌ها در جدول ۱ آمده است. براساس اطلاعات جدول، تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری روی میزان تولید تخم، وزن تخم‌مرغ، توده تخم‌مرغ تولید و درصد تخم مرغ‌های لمبه نداشت. درصد تخم‌مرغ‌های شکسته، بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0.05$) و کمترین درصد تخم‌مرغ‌های شکسته مربوط به گروه شاهد بود. ضریب تبدیل خوراک، وزن نهایی مرغ‌ها و افزایش وزن مرغ‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

برخلاف نتایج پژوهش حاضر، ویور و رام‌چانداران (۲۰۲۳) با تیمار سطوح مختلف متفورمین (۲۵، ۵۰ و ۷۰ میلی گرم در کیلوگرم) در جیره مرغان تخم‌گذار به مدت ۴۰ هفته، وزن پایین تر مرغان به همراه چربی شکمی پایین تر مرغان در هفته ۶۵ آزمایش به همراه تعداد تخم بیشتر و باروری بالاتر را با افزایش سطح متفورمین مشاهده کردند. همچنین یائو و همکاران (۲۰۲۰) مهار زوال فولیکولی در مرغان مسن با تجویز متفورمین را گزارش کردند. این در حالی است که افزودن سطوح مختلف متفورمین (۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خوراک) در جوجه‌های تخم‌گذار ۷ روزه به مدت ۱۴ روز نتوانست اثری بر روی افزایش وزن، مصرف

دسترسی آزادانه به آب آشامیدنی داشتند. تمام تیمارها (متفورمین) به صورت هر روز در یک وعده، در مقدار ۵۰ گرم خوراک مخلوط و به مرغ‌ها تغذیه شد. در طول مدت انجام آزمایش (۸ هفته)، تخم‌مرغ‌ها روزانه در یک نوبت مشخص جمع آوری، توزین، شمارش و اطلاعات آن‌ها ثبت شد و در پایان دوره، برای محاسبات دوره‌ای صفات عملکردی شامل درصد تخم‌گذاری، وزن تخم‌مرغ، توده تخم‌مرغ تولیدی، درصد تخم مرغ‌های شکسته، درصد تخم مرغ‌های لمبه، مصرف خوراک بر اساس روز مرغ، افزایش وزن نهایی مرغ‌ها و ضریب تبدیل خوراک مورد استفاده قرار گرفت.

در روز شروع آزمایش (روز ۱): به منظور در نظر گرفتن کواریت و پایان دوره آزمایش (پایان هفته هشتم) صفات کیفی داخلی تخم مرغ شامل وزن سفیده، وزن زرده، درصد سفیده، درصد زرده، نسبت زرده به سفیده، ارتفاع سفیده، ارتفاع زرده، واحد هاو، pH سفیده، pH زرده، شاخص زرده و رنگ زرده و همچنین صفات کیفی خارجی تخم‌مرغ نیز شامل شاخص شکل (نسبت عرض به طول تخم مرغ)، وزن پوسته، ضخامت پوسته و دانسیته یا چگالی تخم مرغ (وزن تخم مرغ بخش بر حجم تخم مرغ با کمک استوانه مدرج) ارزیابی شدند. صفات کیفی ابتدای آزمایش به صورت کواریت در نظر گرفته شدند. در پایان داده‌ها با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و برای مقایسه تفاوت بین میانگین‌ها از آزمون توکی کرامر استفاده گردید. مدل آماری مورد استفاده در این مطالعه به صورت زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \alpha \bar{W}_{ij} + e_{ij}$$

$$Y_{ij} = \text{مشاهده } i \text{ ام}$$

μ = میانگین جمعیت (میانگین مشاهدات)

T_i = سطوح مختلف داروی متفورمین (۱۵۰ و ۱۰۰ و ۵۰ و ۰)

خوراک و یا ضریب تبدیل خوراک داشته باشد (مکینو و همکاران ۲۰۲۱).

Table 1- Effect of different levels of Metformin on egg production performance in laying hens

	Metformin Levels (mg/kg Body Weight)				P Value
	control	50	100	150	
Egg production (%)	40.71±3.14	37.95±3.10	43.85±3.10	39.32±3.18	0.595
Egg mass (g/d)	26.18±2.10	25.01±2.07	29.30±2.45	25.38±2.14	0.595
Egg weight (g)	64.20±0.66	65.46±0.73	66.03±0.72	64.45±0.66	0.343
Soft shell egg (%)	0.083±0.800	0.627±0.681	1.288±0.676	1.046±0.670	0.710
Cracked egg (%)	^b 0.060±0.711	^a 4.00±0.591	^a 4.24±0.515	^a 3.80±0.582	0.014
Feed conversion ratio(g/g)	4.02±0.321	4.10±0.312	3.42±0.362	3.98±0.331	0.519
Hen final weigh (kg)	1.44±0.069	1.56±0.069	1.57±0.069	1.49±0.069	0.541
Hen weight gain (kg)	-0.046±0.087	0.049±0.087	0.069±0.087	-0.0290±0.087	0.744

^{a,b}Means with different letters in each column are significantly different (P < 0.05).

است، اما بیشتر از همه وابسته به استروژن است. به طوری که استروژن سنتز آپولیپوپروتئین و ویتلوژنین در کبد را به واسطه باند شدن با گیرنده α استروژن تحریک می‌کند (لی و همکاران، ۲۰۱۴؛ بیلماز و همکاران، ۲۰۱۵) و کاهش استروژن، توانایی تشکیل زرده را کاهش می‌دهد (دوپونت و همکاران، ۲۰۰۱). به نظر می‌رسد تأثیر منفی متفورمین بر تولید زرده توانسته است تأثیر مثبت آن در ممانعت از مرگ زودرس فولیکول‌ها و نگهداری ذخایر فولیکولی را خنثی کرده و تفاوت معنی‌داری در عملکرد تولید تخم مرغ مشاهده نشود.

نتایج این مطالعه، با نتایج مطالعه چن و همکاران (۲۰۱۱) همسو نبود. چن و همکاران (۲۰۱۱) از سطوح مختلف متفورمین را به صورت تزریق داخل وریدی در مرغ‌های تخمگذارهای لاین با سن ۴۴ هفته استفاده کرده و کاهش میزان تخمگذاری را مشاهده نمودند و دلیل کاهش تولید تخم را به کاهش سنتز لیپید در کبد و کاهش ذخایر زرده نسبت دادند. همسو نبودن نتایج احتمالاً به دلیل تفاوت سن مرغ‌ها باشد (۷۳ هفته در مقابل ۴۴ هفته).

مطابق گزارش مطالعات، متفورمین از طریق مکانیسم‌های مختلف از جمله تخفیف استرس اکسیداتیو تخمدانی و کاهش تولید اجسام اکسیژنی و اکشنگر در میتوکندری، خاصیت ممانعت از مرگ فولیکول‌ها و حفظ ذخایر فولیکولی دارد (باتاندر و همکاران، ۲۰۰۶؛ کایلی و همکاران، ۲۰۲۰). همچنین بهبود جریان خون سرخرگ تخمدانی، رگ‌زایی جسم زرد و فولیکول غالب بهتر نیز در پاسخ به مصرف متفورمین گزارش شده است (پالموبا، ۲۰۰۶). با در نظر گرفتن اثرات فیزیولوژیک مثبت گزارش شده در نتیجه مصرف متفورمین، انتظار می‌رود متفورمین تأثیر مثبت روی عملکرد تولید تخم مرغ داشته باشد از طرف دیگر متفورمین با اثر مستقیم روی تخمدان، از تولید استرادیول و پروژسترون توسط سلولهای گرانولوزا، ممانعت نماید (مانسفیلد و همکاران، ۲۰۰۳؛ توسکا و همکاران، ۲۰۰۶).

کاهش فعالیت چند آنزیم استروئیدوژنیک توسط متفورمین گزارش شده است (وربیکووا و همکاران، ۲۰۰۱). تشکیل و ذخیره سازی زرده عمدتاً وابسته به محور کبد-خون-تخمدان و تحت تنظیم چندین هورمون

شاخص تخم‌مرغ در انتهای آزمایش تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نداشت. همچنین ضخامت پوسته و دانسیته تخم مرغ تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت.

اطلاعات مربوط به اندازه‌گیری خصوصیات کیفی خارجی تخم‌مرغ‌ها در انتهای آزمایش در جدول ۲ ارائه شده است. طول تخم‌مرغ، عرض تخم مرغ، وزن پوسته و

Table 2- Effect of different levels of Metformin on egg external quality in laying hens at the end of experiment

	Metformin Levels (mg.kg Body Weight)				P Value
	control	50	100	150	
Egg Length (cm)	5.93±0.076	5.91±0.076	5.96±0.090	5.98±0.082	0.927
Egg Diameter (cm)	4.51±0.039	4.56±0.039	4.42±0.047	4.53±0.042	0.173
Shell weight (g)	5.34±0.284	5.08±0.284	4.87±0.336	5.10±0.307	0.760
Egg index (Shape index)	76.19±0.99	77.15±0.99	74.20±1.17	75.80±1.07	0.315
Egg shell thickness (mm)	0.348±0.014	0.367±0.014	0.373±0.016	0.344±0.015	0.458
Egg density	1.08±0.002	1.07±0.002	1.08±0.002	1.07±0.002	0.302

^{a,b}Means with different letters in each column are significantly different ($P < 0.05$).

می‌کند (ویستد و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین سختی پوسته تخم مرغ پس از استفاده از پروژسترون مشاهده شده است (لیو و پاکون، ۲۰۰۵). از این رو می‌توان نتیجه‌گیری کرد که هر عاملی که اثر منفی بر میزان استروژن و پروژسترون پلاسمایی داشته باشد، می‌تواند اثر منفی روی استحکام و کیفیت پوسته داشته باشد.

داده‌های حاصل از اندازه‌گیری خصوصیات کیفی داخلی تخم‌مرغ‌های تولیدی در انتهای دوره آزمایش، در جدول ۳ نشان داده شده است. خصوصیات کیفی داخلی تخم مرغ شامل ارتفاع سفیده، وزن سفیده، pH سفیده، واحد هاو، ارتفاع زرده، عرض زرده، وزن زرده، درصد سفیده، درصد زرده، نسبت زرده به سفیده، شاخص زرده، pH زرده و رنگ زرده تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. متناسب با افزایش میزان متفورمین، واحد هاو از نظر عددی افزایش یافت ولیکن تفاوت‌ها بین تیمارها معنی‌دار نبود.

به طور کلی به نظر می‌رسد به دلیل استفاده کوتاه مدت متفورمین در انتهای آزمایش پاسخ‌های مثبت ارایه شده

افزایش درصد تخم مرغ‌های شکسته احتمالاً مرتبط با اثر منفی متفورمین بر استروژن و پروژسترون پلاسمایی (مانسفیلد و همکاران، ۲۰۰۳) باشد. هورمون‌های استروئیدی در تنظیم متابولیسم کلسیم و فسفر در مرغ‌های تخمگذار دخیل بوده و می‌توانند کیفیت پوسته را تحت تأثیر قرار دهند. تزریق عضلانی استرادیول افزایش معنی‌داری در غلظت کلسیم باند شده به ویتلوژنین و کلسیم باند شده با پروتئین نشان داده است (کورل و همکاران، ۱۹۸۵). نشان داده شده است که استروژن، جذب کلسیم و فسفر از روده را به واسطه افزایش تراکم گیرنده‌های هورمون‌های پاراتیروئیدی در کلیه و تشکیل ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسیفرول - که میانجی جذب روده‌ای کلسیم و فسفر است - افزایش می‌دهد (فرانکو و بک، ۲۰۰۵). و نیز گزارش شده است که استروژن کاشتنی، جذب کلسیم از روده را بهبود می‌بخشد (بک و هانس، ۲۰۰۴) و ترشح ناکافی کربنات کلسیم، سبب کاهش ضخامت پوسته می‌شود (فرانکو و بک، ۲۰۰۵) و تزریق پروژسترون، دوره تشکیل پوسته را طولانی‌تر

استفاده شده نتوانست پاسخ های مثبتی در تولید و یا کیفیت تخم مرغ داشته باشد.

در سایر مقالات (یائو و همکاران ۲۰۲۰ و ویور و راماپانداران ۲۰۲۳) در آزمایش حاضر مشاهده نشد و متفورمین در سطوح مورد استفاده و دوره زمانی

Table 3- Effect of different levels of Metformin on egg internal quality in laying hens

	Metformin Levels (mg/kg Body Weight)				P Value
	control	50	100	150	
Albumin height (mm)	7.65±0.503	8.42±0.482	9.06±0.666	8.76±0.606	0.334
Albumin weight (g)	43.20±0.900	44.41±0.900	41.84±1.070	43.24±1.060	0.358
Albumin pH	8.48±0.091	8.53±0.091	8.51±0.111	8.71±0.109	0.435
Haugh unit	86.65±2.58	88.54±2.58	91.41±3.05	92.00±2.79	0.481
Albumin percentage (%)	68.06±2.08	64.39±2.08	62.61±2.46	62.77±2.25	0.281
Yolk height (mm)	18.36±0.477	18.95±0.460	19.16±0.637	19.26±0.572	0.595
Yolk diameter (cm)	4.1±0.069	4.17±0.068	4.04±0.076	4.23±0.076	0.334
Yolk weight (g)	18.65±0.456	18.67±0.475	18.46±0.609	19.36±0.531	0.638
Yolk percentage (%)	29.27±1.225	26.66±1.225	28.35±1.449	28.91±1.323	0.468
Yolk index	4.47±0.098	4.57±0.098	4.69±0.115	4.63±0.105	0.514
Yolk to albumin ratio (%)	0.429±0.016	0.414±0.016	0.454±0.019	0.462±0.017	0.191
Yolk pH	6.2±0.041	6.17±0.042	6.20±0.050	6.16±0.049	0.896
Yolk color	7.26±0.330	7.35±0.345	6.88±0.402	7.28±0.402	0.830

ازاء هر کیلوگرم وزن بدن در سن ۷۳ هفتگی، نه تنها تأثیر مثبتی روی عملکرد تولیدی مرغها و خصوصیات کیفی تخم مرغ داشته نداشت، بلکه درصد تخم مرغهای شکسته را نیز افزایش داد.

نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج این آزمایش، استفاده از داروی متفورمین در سطوح صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم به

منابع مورد استفاده

- Attia GR, Rainey WE and Carr BR, 2001. Metformin directly inhibits androgen production in human thecal cells. *Fertility and sterility* 76: 517-24.
- Bailey CJ and Day C, 2004. Metformin: its botanical background. *Practical diabetes international*. 21:115-117.
- Batandier C, Guigas B, Detaille D, El-Mir MY, Fontaine E, Rigoulet M and Leverve XM, 2006. The ROS production induced by a reverse-electron flux at respiratory-chain complex 1 is hampered by metformin. *Journal of bioenergetics and biomembranes* 38:33-42.
- Beck, MM and KK Hansen, 2004. Role of Estrogen in Avian Osteoporosis. *Poultry Science* 83: 200-206.
- Billa E, Kapolla N, Nicopoulou SC, Koukkou E, Venaki E, Milingos S, Antsaklis A and Adamopoulos DA, 2009. Metformin administration was associated with a modification of LH, prolactin and insulin secretion dynamics in women with polycystic ovarian syndrome. *Gynecological Endocrinology* 25:427-434.

- Cai H, Han B, Hu Y, Zhao X, He Z, Chen X, Sun H, Yuan J, Li Y, Yang X and Kong W, 2020. Metformin attenuates the D-galactose-induced aging process via the UPR through the AMPK/ERK1/2 signaling pathways. *International Journal of Molecular Medicine* 45: 715-730.
- Chen WL, Wei HW, Chiu WZ, Kang CH, Lin TH, Hung CC, Chen MC, Shieh MS, Lee CC and Lee HM, 2011. Metformin regulates hepatic lipid metabolism through activating AMP-activated protein kinase and inducing ATGL in laying hens. *European journal of pharmacology* 67: 107-112.
- Curl JS, Thayer R, Wettemann RP and Morrison R, 1985. Preovulatory concentrations of progesterone and estradiol in plasma and their relationships with eggshell quality in the laying hen. *Poultry Science* 64: 2383-2387.
- Dupont J, Fernandez AM, Glackin CA, Helman L and LeRoith D, 2001. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1)-induced twist expression is involved in the anti-apoptotic effects of the IGF-1 receptor. *Journal of Biological Chemistry* 276: 26699-26707.
- Ebeid TA, Eid YZ, El-Abd EA and El-Habbak MM, 2008. Effects of catecholamines on ovary morphology, blood concentrations of estradiol-17 β , progesterone, zinc, triglycerides and rate of ovulation in domestic hens. *Theriogenology*, 69: 870-8766.
- Franco-Jimenez DJ and Beck MM, 2005. Intestinal calcium uptake, shell quality and reproductive hormones levels of three laying hen varieties after prolonged egg production. *International Journal of Poultry Science* 4: 518-522.
- Gamba M and Pralong FP, 2006. Control of GnRH neuronal activity by metabolic factors: the role of leptin and insulin. *Molecular and cellular endocrinology* 254:133-139.
- Genazzani AD, Battaglia C, Malavasi B, Strucchi C, Tortolani F and Gamba O, 2004. Metformin administration modulates and restores luteinizing hormone spontaneous episodic secretion and ovarian function in nonobese patients with polycystic ovary syndrome. *Fertility and sterility* 81:114-119.
- Johnson AL, 2015. Ovarian follicle selection and granulosa cell differentiation. *Poultry science* 94: 781-785.
- Li J, Leghari IH, He B, Zeng W, Mi Y and Zhang C, 2014. Estrogen stimulates expression of chicken hepatic vitellogenin II and very low-density apolipoprotein II through ER- α . *Theriogenology* 82:517-524.
- Lillpers K and Wilhelmson M 1993. Age-dependent changes in oviposition pattern and egg production traits in the domestic hen. *Poultry Science* 72: 2005-2011.
- Liu HK and Bacon WL, 2005. Changes in egg production rate induced by progesterone injection in broiler breeder hens. *Poultry science* 84: 321-327.
- Liu X, Lin X, Zhang S, Guo C, Li J, Mi Y and Zhang C, 2018. Lycopene ameliorates oxidative stress in the aging chicken ovary via activation of Nrf2/HO-1 pathway. *Aging (Albany NY)* 10: 2016.
- Lu M, Tang Q, Olefsky JM, Mellon PL and Webster NJ, 2008. Adiponectin activates adenosine monophosphate-activated protein kinase and decreases luteinizing hormone secretion in L β T2 gonadotropes. *Molecular Endocrinology* 22:760-771.
- Makino R, Uda M, Shuto S, Kita K, Tachibana T. 2021. Influence of dietary metformin on the growth performance and plasma concentrations of amino acids and advanced glycation end products in two types of chickens. *The Journal of Poultry Science* 58(2): 110-118.
- Mansfield R, Galea R, Brincat M, Hole D and Mason H, 2003. Metformin has direct effects on human ovarian steroidogenesis. *Fertility and sterility* 2003.79: 956-962.
- Molnár A, Maertens L, Ampe B, Buyse J, Kempen I, Zoons J, Delezie E, 2016. Changes in egg quality traits during the last phase of production: is there potential for an extended laying cycle?. *British Poultry Science* 57:842-847.
- Pal L, Chu HP, Shu J, Topalli I, Santoro N and Karkanias G, 2007. In vitro evidence of glucose-induced toxicity in GnRH secreting neurons: high glucose concentrations influence GnRH secretion, impair cell viability, and induce apoptosis in the GT1-1 neuronal cell line. *Fertility and sterility* 88: 1143-1149.
- Palomba S, Orio Jr F, Falbo A, Russo T, Tolino A and Zullo F, 2006. Effects of metformin and clomiphene citrate on ovarian vascularity in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertility and sterility* 86:1694-1701.
- Prasad SK, Qureshi TN, Saxena S, Qureshi S, Mehar M and Thakur SK, 2007. L-Dopa feeding induces body growth and reproductive conditions in Japanese quail, *Coturnix coturnix Japonica*. *International Journal of Poultry Science* 6:560-566.
- Qin X, Du D, Chen Q, Wu M, Wu T, Wen J, Jin Y, Zhang J and Wang S, 2019. Metformin prevents murine ovarian aging. *Aging (Albany NY)* 11: 3785.

- Tosca L, Froment P, Rame C, McNeilly JR, McNeilly AS, Maillard V and Dupont J, 2011. Metformin decreases GnRH-and activin-induced gonadotropin secretion in rat pituitary cells: potential involvement of adenosine 5' monophosphate-activated protein kinase (PRKA). *Biology of reproduction* 84: 351-362.
- Tosca L, Solnais P, Ferré P, Fougelle F and Dupont J, 2006. Metformin-induced stimulation of adenosine 5' monophosphate-activated protein kinase (PRKA) impairs progesterone secretion in rat granulosa cells. *Biology of reproduction* 75: 342-351.
- Tosca L, Uzbekova S, Chabrolle C and Dupont J, 2007. Possible role of 5' AMP-activated protein kinase in the metformin-mediated arrest of bovine oocytes at the germinal vesicle stage during in vitro maturation. *Biology of Reproduction* 77: 452-465.
- Vézina F, Salvante KG and Williams TD, 2003. The metabolic cost of avian egg formation: possible impact of yolk precursor production?. *Journal of Experimental Biology* 206:4443-4451.
- Vrbikova J, Hill M, Starka L, Cibula D, Bendlova B, Vondra K, Sulcova J and Snajderova M, 2001. The effects of long-term metformin treatment on adrenal and ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome. *European Journal of Endocrinology* 144: 619-628.
- Weaver EA, Ramachandran R. 2023. Metformin improves ovarian function and increases egg production in broiler breeder hens. *Reproduction* 165(3): 289-300.
- Wistedt A, Ridderstråle Y, Wall H and Holm L, 2014. Exogenous estradiol improves shell strength in laying hens at the end of the laying period. *Acta veterinaria scandinavica* 56:1-11.
- Yao J, Ma Y, Zhou S, Bao T, Mi Y, Zeng W, Li J, Zhang C. 2020. Metformin prevents follicular atresia in aging laying chickens through activation of PI3K/AKT and calcium signaling pathways. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2020: 3648040.
- Yilmaz O, Prat F, Ibañez AJ, Amano H, Koksoy S and Sullivan CV, 2015. Estrogen-induced yolk precursors in European sea bass, *Dicentrarchus labrax*: Status and perspectives on multiplicity and functioning of vitellogenins. *General and comparative endocrinology* 221:16-22.