Iranian Journal of Animal Science
Vol 50, No 3, Autumn 2019 (229-237)
DOI: 10.22059/ijas.2019.289715.653739

علوم دامی ایران
دورۀ ۵۰، شمارۀ ۳، پاییز ۱۳۹۸ (ص ۲۳۷-۲۲۹)

مطالعه ارتباط غلظت پلاسمایی هورمون‌های لپتین و تستوسترون خون در مراحل قبل و بعد از پیوبرتی جوانه گاوهای نر

مرتضی مموییا*، الهام منصوری ۲، خلیل میرزاده۳، آرمین توحیدی۴، صالح طباطبایی وکیلی۳ و امین کاظمی‌زاده۵
۱، ۲، ۳ و ۵. استاد، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشجوی دکتری فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، اهواز، ایران
۴. استاد، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۷/۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۹/۲۷)

چکیده

هدف پژوهش حاضر مطالعه ارتباط بین غلظت پلاسمای هورمون‌های لپتین و تستوسترون خون در مراحل قبل و بعد از پیوبرتی بود. برای این منظور تعداد هشت راس گوساله نر نجدی با میانگین سنی هفت ماه استفاده گردید. از این گوساله‌ها سه مرحله قبل و بعد از رسیدن به بلوغ جنسی خون‌گیری به عمل آمد. در هر دوره خون‌گیری یک نمونه خون به منظور تعیین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین از هر هشت راس و شش نمونه متوالی خون و به فواصل ۲۰ دقیقه از چهار راس از این دام‌ها به منظور تعیین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون جمع‌آوری شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که محدوده سن بلوغ در نژاد نجدی، ۱۵-۱۳ ماهگی و میانگین وزنی ۱۲۰/۰۸±۳۶/۹۱ کیلوگرم می‌باشد. غلظت پلاسمایی هورمون لپتین همبستگی منفی با هورمون تستوسترون (P<۰/۰۵، r= -۰/۴۳)، سن (P<۰/۰۱، r= -۰/۷۷)، وزن بدن (P<۰/۰۱، r= -۰/۳۹)، محیط بیضه (P<۰/۰۱، r= -۰/۶۲) و ارتفاع بیضه (P<۰/۰۱، r= -۰/۷۲) داشت. در کل می‌توان گفت با شروع پیوبرتی و افزایش غلظت تستوسترون، غلظت لپتین کاهش یافته که به دلیل اثر منفی تستوسترون بر تولید هورمون لپتین در بدن می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ابعاد بیضه، سن پیوبرتی، گوساله، همبستگی.

Study of the relationship between blood plasma leptin and testosterone concentration in Pre and post puberty in Najdi male calves

Morteza Mamouei[1*], Elham Mansuri[2], Khalil Mirzadeh[3], Armin Towhidi[4], Saleh Tabatabaei Vakili[3] and Amin Kazemi Zadeh[5]
1, 2, 3, 5. Professor, Former M.Sc. Student, Associate Professor and Ph.D. Candidate, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran
4. Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
(Received: Sep. 28, 2019- Accepted: Dec. 18, 2019)

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the relationship between plasma leptin and blood testosterone concentration before and after puberty. Eight male Najdi calves with mean age of 7 months were used for this purpose. Blood samples were taken three times before and after reaching puberty. At each sampling period, a blood sample was collected to determine the plasma concentration of leptin from all 8 consecutive and 6 consecutive blood samples and at 20 min intervals from 4 animals to determine the plasma level of testosterone. The results of this study showed that the age of puberty in the Najdi race was 13-15 months old and the average weight was 120.08 ± 36.91 kg. Plasma leptin concentration was negatively correlated with testosterone (P <0.05, r = -0.43), age (P <0.01, r = -0.77), body weight (P <0.01, -0.39), testicular environment (r = -0.62, P <0.01) and testicular height (r = -0.72, P <0.01). In general, it can be concluded that with the onset of puberty and the increase in testosterone concentration, leptin concentration decreased due to the negative effect of testosterone on the production of leptin hormone in the body.

Keywords: Age of puberty, calf, correlation, testis dimensions.

* Corresponding author E-mail: mamouei_m@yahoo.com

مقدمه

تمایل به بهبود رشد گاوها، منجر به انتخاب و استفاده از گاوهای نر جوان‌تر به منظور کوتاه کردن فاصله‌های نسلی شده است. البته تنوع در آغاز بلوغ، در بین و داخل نژادها باعث تنوع عملکرد تولیدمثلی درگاوهای نر جوان شده است. عملکرد پایین تولیدمثلی درگاوهای نر یکساله ممکن است تاحدی به دلیل ضعف در توان جفت‌گیری باشد، هرچند کیفیت و کمیت منی عوامل مهم‌تری هستند. درک تغییرات حین بلوغ و عواملی که بر آن اثر می‌گذارد برای استفاده بهینه از گاوهای نر یکساله در اهداف تولیدمثلی ضروری است (Barth, 2004). بلوغ زودرس جنسی مزیت‌های اقتصادی متعددی از جمله افزایش طول عمر تولیدمثلی دام را دارد. بهبود ژنتیکی که به وسیله تلقیح مصنوعی و انتقال جنین حاصل شده، خود به دلیل به کارگیری پدران تایید شده می باشد. هرچه اسپرم‌گیری از این گاوهای نر در سنین پایین‌تری انجام گیرد، پدران برتر سریع‌تر شناسایی می‌شود و از همین رو زودتر می‌توان از آن‌ها به‌عنوان پدران نسل‌های بعدی استفاده کرد؛ و درنهایت، اثر ژنتیکی یک پدر وابسته به میزان اسپرم تولیدی آن است. که خود تابع مستقیم اندازه بیضه‌های است (Penitente-Filho *et al*., 2018).

لپتین، هورمونی است که توسط ژن *ob* تولیدشده در کروموزوم ۷ در انسان، کروموزوم ۶ در موش و کروموزوم ۴ در گاو کدگذاری شده است (Guzman *et al*., 2019). لپتین با ۱۴۶ اسیدآمینه و ۱۶ کیلو دالتون جرم مولکولی، به طور عمده توسط بافت چربی سفید تولید می‌شود (Price *et al*., 2010). این پروتئین ابتدا از ۱۶۷ اسیدآمینه ساخته شده و پس از جدا شدن ۲۱ اسیدآمینه به داخل خون رها می‌شود (Price *et al*., 2010). لپتین از برخی قسمت‌های مختلف مثل مغز، هیپوفیز، ماهیچه های اسکلتی، کبد، معده و جفت نیز ترشح می‌شود. گیرنده‌های این هورمون در بسیاری از بافت‌ها ازجمله نواحی مختلف مغز، بافت چربی قهوه‌ای و سفید، معده، گونادها و ماهیچه‌ها یافت شده است (Guzman *et al*., 2019; Robertson *et al*., 2008 Towhidi, 2002).

انسولین و گلوکوتیکوئیدها به‌طور مستقیم بر بافت چربی اثر می‌گذارند تا سنتز و ترشح لپتین را افزایش دهند و ممکن است به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های طولانی مدت لپتین عمل کنند (Baile *et al*., 2000). افزایش انسولین پلاسما با افزایش لپتین پلاسما همراه است و تزریق انسولین هم میزان لپتین پلاسما و هم میزان mRNA لپتین بافت چربی را افزایش می‌دهد (Baile *et al*., 2000). بعد از غذا خوردن، لپتین به دنبال پیک ترشح انسولین افزایش می‌یابد، در مقابل کمبود انسولین ناشی از کاهش سریع میزان لپتین است (Ahima *et al*., 2000). اثر جنس نیز بر میزان لپتین مهم می‌باشد که ممکن است نتایج متفاوتی برمیزان استروژن یا تستوسترون پلاسما داشته باشد و در گوسفندهای ماده میزان لپتین بالاتری نسبت به نرها با هر سطح معین از چربی وجود دارد (Blache *et al*., 2000). با توجه به اینکه بین غلظت لپتین و تستوسترون و بلوغ جنسی ارتباط وجود دارد، در نتیجه این پژوهش با هدف مطالعه ارتباط غلظت پلاسمایی لپتین و تستوسترون پلاسمای خون در مرحله قبل و بعد از پیوبرتی جوانه گوساله‌های نر نجدی بود و در پی آن ارتباط وزن بدن، سن، اندازه محیط بیضه با غلظت لپتین مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد روش‌ها

مکان آزمایش، حیوانات و تغذیه

این پژوهش در ایستگاه تحقیقاتی گاو نجدی استان خوزستان وابسته به سازمان جهاد کشاورزی استان خوزستان واقع در ۱۵ کیلومتری جاده شوشتر- اهواز ایجاد شده است به مدت ۸ ماه انجام شد.

در این آزمایش از هشت راس گوساله نر نجدی با سن تقریبی هفت ماه با وزن ۱۴/۹۱±۷۲/۰۸ استفاده شد. تمام این گوساله‌ها از فرزندان گاوهای شیری موجود در گله گاوها آن ایستگاه انتخاب شدند. در ابتدا آزمایش حیوانات از نظر وضعیت سلامت عمومی و عدم ابتلا به بیماری یا اختلال بدنی معاینه و پس از تایید سلامتی در جایگاه‌هایی مربوطه قرار داده شدند. تمام شرایط از نظر آفتاب و فضایی باز برای راه رفتن یکسان بود. گوساله طی دوره آزمایش در جایگاه جداگانه از بقیه دام‌های نگه‌داری شدند. گوساله‌ها روزانه دونوبت (نوبت اول ۸ صبح و نوبت

دوم ۸ شب) با جیره تهیه‌شده براساس احتیاجات غذایی مندرج در NRC (1996) خوراک‌دهی شدند.

روش خون‌گیری

خون‌گیری به صورت ماهانه، سه ماه پیش و پس از پیوبرتی صورت گرفت. سپس نمونه‌های خون به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و پلاسمای آن‌ها جدا شد، و در ریزلوله (میکرتیوپ)های یک سی‌سی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس در آزمایشگاه ذخیره شد (در هر دوره هر بار یک نمونه خون به منظور تعیین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین از هشت راس گوساله و همچنین شش نمونه متوالی خون طی دو ساعت به فواصل ۲۰ دقیقه‌ای به‌منظور اندازه‌گیری هورمون تستوسترون از چهار گوساله به‌طور ثابت در کل دوره آزمایش که به‌طور تصادفی از بین این هشت راس گوساله انتخاب شده بودند، از سیاهرگ ورداج گرفته می‌شد). غلظت پلاسمای هورمون تستوسترون توسط کیت تجاری انسانی (AccuBind (Cat. NO: 3625-295 ELISA به‌روش رادیوایمونواسی (RIA) به‌وسیله لوله‌های پوشش‌دار (RIA coated tube) و همچنین غلظت پلاسمای لپتین توسط با روش رادیوایمونواسی دابل آنتی‌بادی با استفاده از کیت تجاری ساخت شرکت میلی پور آمریکا (Milli Pore Leptin- RIA-Kit) تعیین شد.

اندازه‌گیری وزن و ابعاد بیضه

گوساله‌ها هر ماه توزین و در همین زمان ارتفاع و محیط بیضه توسط کولیس اندازه‌گیری شد. به‌منظور اندازه‌گیری محیط و ارتفاع بیضه‌ها پس از مهار حیوان از بالا بند بیضه در دست گرفته شد، به‌صورتی‌که به پایین‌ترین قسمت اسکروتوم رانده شود و سپس با استفاده از کولیس، محیط بیضه در قسمتی که بیشترین عرض را داشت اندازه‌گیری شد و همچنین با در اختیار داشتن بیضه‌ها ارتفاع بیضه سمت راست با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد.

اسپرم‌گیری و ارزیابی کیفیت آن به منظور تعیین شروع پیوبرتی گوساله‌ها

با توجه با این‌که اطلاعات دقیقی در مورد زمان شروع پیوبرتی گاوهای نجدی در دسترس نبود، با آغاز رفتارهای پرش جنسی، اسپرم‌دهی موفقیت‌آمیز و داشتن کیفیت قابل قبول نمونه‌های منی (حجم بین ۶-۳/۵ میلی لیتر، غلظت بیش 1×10^{9} سلول اسپرم در هر میلی‌لیتر، تحرک بیش‌تر از ۷۰ درصد) پیوبرتی دام‌ها تعیین گردید. پیش از شروع عملیات آزمایشی طرح، گاوها به‌مدت یک هفته به اسپرم‌دهی با استفاده از الکترواجاکولاتور، عادت داده شدند.

ارزیابی جنبای اسپرم

برای ارزیابی جنبای اسپرم، بلافاصله بعد از نمونه‌گیری از هر دام، با استفاده از سرم فیزیولوژی به نسبت ۱ به ۲۰ (یک قسمت مایع منی و ۲۰ قسمت سرم فیزیولوژی) رقیق‌سازی شد. برای ارزیابی درصد جنبای اسپرم، مقدار ۱۰ میکرولیتر منی رقیق شده را روی یک لام با دمای ۳۷ °C گذاشته و با قرار دادن لامل روی آن در زیر میکروسکوپ نوری، با بزرگ‌نمایی ۴۰۰× مورد ارزیابی قرار گرفت و به‌صورت درصد گزارش شد.

تعیین غلظت اسپرم

برای تعیین غلظت اسپرم، نمونه منی با نسبت ۱ به ۲۰ با آب مقطر رقیق شد. سپس با استفاده از یک سمپلر یک قطره از مخلوط منی و آب مقطر را به آرامی در زیر فضای بین لامل و لام نئوبار قرار داده و غلظت اسپرم محاسبه شد.

واکاری آماری

تفاوت غلظت هورمون‌های تستوسترون، لپتین و وزن بدن و ابعاد بیضه در مرحله قبل و بعد از بلوغ جنسی به روش آنالیز واریانس اندازه‌گیری مکرر و همبستگی بین غلظت لپتین و سایر فراسنجه‌های از طریق آزمون همبستگی پیرسون و نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از طریق مشاهده رفتارهای جنسی که با نزدیک شدن بلوغ، گوساله‌های نر از خود نشان می‌دهد (پرش، همجنس‌بازی) و با انجام عمل

اسپرم‌گیری و مشاهده اسپرم‌های طبیعی بالای ۷۵ درصد و جنبایی بالای ۷۰ درصد و حداقل غلظت ۶۰۰×۱۰^۶ اسپرم در میلی‌لیتر، سن بلوغ در محدود ۱۵-۱۳ ماهگی میانگین وزنی ۱۲۰/۰۸±۳۶/۹۱ کیلوگرم تعیین گردید. در این تحقیق میانگین غلظت هورمون تستوسترون پلاسما در دوره پیش از پیوبرتی، طی روندی صعودی در زمان بعد از رسیدن به پیوبرتی افزایش یافت (جدول ۱).

سیر صعودی ترشح تستوسترون از بیضه‌ها ناشی از افزایش پالس‌های ترشحی LH از غده هیپوفیز در پی افزایش بسامد پالس‌ها GnRH از هیپوتالاموس می‌باشد (Romeo *et al*., 2002). اصلی‌ترین تغییر هورمونی طی پیوبرتی در گوساله‌های نر، افزایش تدریجی تستوسترون از حدود ۴ ماهگی (پیش از بلوغ) تا حدود یک‌سالگی (پس از بلوغ) است (McCarthy *et al*., 1979; Amann & Walker, 1983; Chandolia *et al*., 2010). در تحقیقی که روی گوساله‌های نر نژاد برون سوئیس، ردبول و هرفورد انجام شد گزارش کردند که غلظت هورمون تستوسترون به‌طور متوسط در گوساله‌های همه نژادها در محدوده سنی ۱۳-۷ افزایش خطی داشت. میانگین سن بلوغ در گوساله‌های برون سوئیس ۲۶۴±۹ روز، ردبول ۲۸۳±۹ روز و هرفورد ۲۹۵±۹ روز تعیین شد (Lunstra *et al*., 1978). در پژوهشی دیگر، غلظت هورمون تستوسترون در دوره پیش از بلوغ، طی روندی صعودی در زمان بلوغ افزایش یافت (Gholami *et al*., 2010)، همچنین، در مطالعه حاضر غلظت هورمون تستوسترون پس از بلوغ (۱۵-۱۳ ماهگی) افزایش یافت که در این دام‌ها با توجه به بومی بودن و به‌دلیل آن که انتخابی در جهت اصلاح نژادی روی آنها صورت نگرفته و هم‌چنین به‌دلیل تفاوت‌های فردی هر دام و نیز محدودیت‌های تغذیه‌ای و نیز مدیریت‌های غیر علمی، سن بلوغ در مقایسه با نژادهای ثبت‌شده جهانی، دیرتر می‌باشد. افزایش غلظت تستوسترون خون در زمان بلوغ را می‌توان به افزایش حساسیت گیرنده‌های تستوسترون در سطح سلول‌های لایدیگ و هم‌چنین افزایش شمار سلول‌های لایدیگ نسبت داد. آغاز ترشح تستوسترون در اثر تحریک LH منجر به افزایش تستوسترون داخل بیضه‌ای می‌شود (Rawlings *et al*., 1972 Egwurugwu *et al*., 2011;). میانگین غلظت هورمون لپتین در مراحله پیش و پس از پیوبرتی در جدول ۱ آورده شده است. میانگین غلظت هورمون لپتین در مراحل پیش از پیوبرتی (۴۵/۷۰±۲/۶۱ نانوگرم در میلی‌لیتر) بیشتر از میانگین غلظت این هورمون مرحله پس از پیوبرتی (۳۵/۴۳±۳/۹۰ نانوگرم در میلی‌لیتر) بود (P<۰/۰۵).

در جدول ۲ مشاهده می‌شود، که بین غلظت پلاسمایی لپتین و تستوسترون همبستگی منفی (P<۰/۰۵، r= -۰/۴۳) وجود دارد. به‌عبارتی، افزایش غلظت هورمون تستوسترون با کاهش غلظت هورمون لپتین همراه هست.

جدول ۱. میانگین غلظت هورمون تستوسترون و لپتین در مراحل پیش و پس از پیوبرتی جوانه گاوهای نر نجدی

Table 1. The Mean concentration of testosterone and leptin hormones in the pre and post-pubertal stage of in Najdi male calves

	Before puberty (7-12 months)	After puberty (13-15 months)
Plasma concentration of testosterone (ng/mL)	1.95±0.80[b]	3.00±1.42[a]
Plasma concentrations of leptin (ng/mL)	45.70±2.61[a]	35.43±3.90[b]

Numbers with significant alphabets have a significant difference (n = 8, P <0.05).
Average is based on SD.

جدول ۲. همبستگی بین غلظت پلاسمایی لپتین، تستوسترون، وزن بدن، سن و محیط و ارتفاع بیضه در مراحل قبل و پس از پیوبرتی جوانه گاوهای نر نجدی

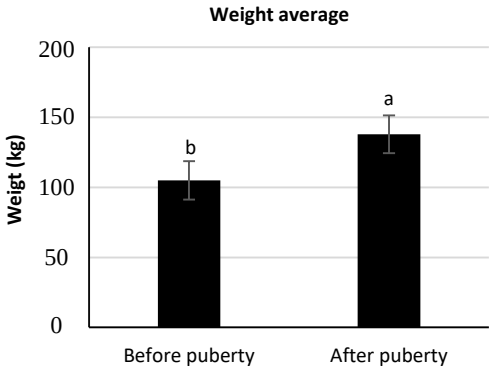
Table 2. The correlation between plasma leptin and testosterone, body weight, age and testicular circumference and height in the before and after maturity in Najdi male calves

	Plasma concentrations of leptin (ng/ml)	Body weight (kg)	Age (month)	Testicular environment (cm)	Testicular height (cm)
Plasma concentrations of leptin (ng/mL)	-0.43*	-0.39**	-0.77**	-0.62**	-0.72**

* The star sign indicates a significant correlation of 0.05.
The numbers inside the table are the correlation coefficient (r).

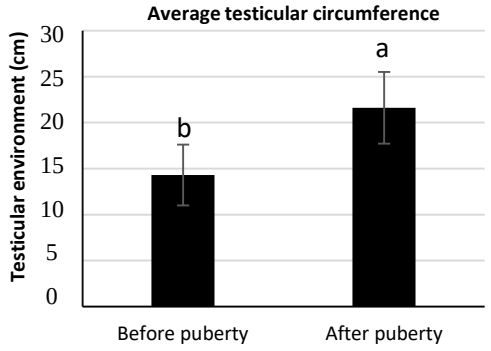
در جوندگان ماده، لپتین سرم طی دوران بلوغ به صورت خطی افزایش می‌یابد (Ahima *et al*., 1997). نتایج مشابهی هم در مورد تلیسه‌ها مشاهده شده است (Garcia *et al*., 2002). در آزمایش اخیر سیر نزولی در غلظت لپتین مشاهده شد که با مطالعه Gholami *et al*. (2010) موافق است. افزایش وزن بدن، تغییرات فصلی در فتوپریود و پروتئین‌های متصل‌شونده با لپتین سرم متغیرهای هستند که بر غلظت لپتین خون اثر می‌گذارند (Houseknecht *et al*., 1996; Bocquier *et al*., 1998; Guzman *et al*., 2019).

میانگین وزن بدن در مراحله پیش و پس از پیوبرتی در شکل ۱ آورده شده است اختلاف معنی‌داری بین میانگین وزنی پیش از پیوبرتی (۸۵/۸۷±۲۵/۸۳ کیلوگرم) و پس از پیوبرتی (۱۲۰/۰۸±۳۶/۹۰کیلوگرم) مشاهده شد.



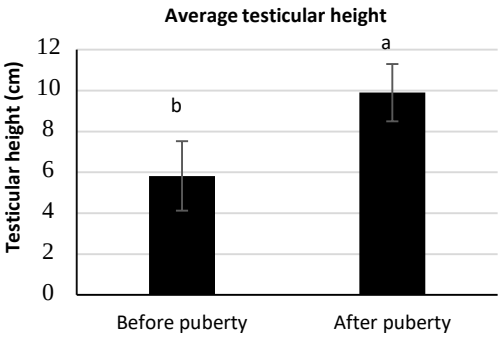
شکل ۱. مقایسه میانگین وزنی قبل و بعد از پیوبرتی
Figure 1.Comparison of weighted mean before and after sexual maturity

همان‌طورکه در جدول ۲ آورده شده است، بین غلظت پلاسمایی لپتین و سن همبستگی منفی معنی‌داری (P<۰/۰۱، r= -۰/۷۷) وجود دارد. همچنین، بین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین و وزن بدن همبستگی منفی (P<۰/۰۱، r= -۰/۳۹) مشاهده شد. به‌عبارتی با افزایش سن و وزن دام، غلظت لپتین پلاسما کاهش می‌یابد. گزارش شده است که در انسان میزان لپتین پلاسما با چاقی رابطه مثبت دارد (Maffei *et al*., 1995). چنین رابطه‌ای نیز بین چربی و لپتین در نشخوارکننده‌گان در حال رشد و شیرده نیز دیده شده است (Blache *et al*., 2000; Thomas *et al*., 2001). میزان لپتین ترشح شده به وسیله بافت چربی هم به حجم و هم به تعداد سلول‌های چربی بستگی دارد (Guzman *et al*., 2019). با افزایش وزن دام، به‌طبع توده بافت چربی بدن افزایش می‌یابد در نتیجه لپتین که از بافت چربی ترشح می‌شود افزایش می‌یابد. اما در جنس نر، تستوسترون سنتز لپتین در بافت چربی را هم در محیط برون‌تنی و هم محیط برون‌تنی متوقف می‌کنند (Farooq *et al*., 2013; Kiess *et al*., 1999). لپتین رابطه‌ای منفی با تستوسترون دارد (Farooq *et al*., 2013). نشان داده شده است که آندروژن‌ها مانع ترشح لپتین و تولید mRNA لپتین در شرایط آزمایشگاهی می‌شود (Pilcova *et al*., 2003). در جنس نر، تستوسترون ترشح می‌شود که این آندروژن باعث افزایش گیرنده‌های بتا آدرنال و تحریک لیپولیز شده و در نتیجه ترشح لپتین کاهش می‌یابد. میانگین محیط بیضه در مراحله پیش یا پس از بلوغ جنسی در شکل ۲ آورده شده است. میانگین محیط بیضه در مراحل پس از پیوبرتی (۲۱/۶۱±۳/۹۰ سانتی‌متر) به‌طور معنی‌داری بیشتر از میانگین آن در مراحله پیش از پیوبرتی (۱۴/۳۳±۳/۳۰ سانتی‌متر) می‌باشد.



شکل ۲. مقایسه میانگین محیط بیضه قبل و بعد از پیوبرتی
Figure 2. Comparison of mean testicular circumference before and after puberty

میانگین ارتفاع بیضه در مراحله پس از پیوبرتی (۹/۹۰±۱/۴۰ سانتی‌متر) بیشتر از میانگین آن در مرحله پیش از پیوبرتی (۵/۸۲±۱/۷۰ سانتی‌متر) می‌باشد (P<۰/۰۱، شکل ۳).



شکل ۳. مقایسه میانگین ارتفاع بیضه قبل و بعد از پیوبرتی
Figure 3. Comparison of mean testicular height before and after puberty

همبستگی بالای بین سن، ابعاد بیضه (محیط و ارتفاع بیضه) و تولید اسپرم وجود دارد (Oliveira *et al*., 2015). سلول‌های سرتولی در پاسخ به افزایش تستوسترون داخل بیضه‌ای افزایش می‌یابد و تعداد آنها تا ۵ برابر می‌رسد (McCarthy *et al*., 1979; Amann & Walker, 1983). در نرهای یکساله همان طور که محیط بیضه بزرگ می‌شود تحرک، درصد اسپرم‌های طبیعی، حجم، غلظت اسپرم و به‌طورکلی بازده تولید اسپرم زیاد می‌شود درحالی‌که درصد اسپرم‌های غیرطبیعی کمتر می‌شود. سن نرها بیشترین اثر را بر توسعه بیضه از سن ۶ تا ۳۶ ماهگی دارد، رشد سریع بیضه در گاوهای نر جوان از ۶ تا ۱۶ ماهگی صورت می‌گیرید. بنابراین، رشد بیضه به‌صورت خطی است. اندازه بیضه یا مقدار بافت تولیدکننده اسپرم با استفاده از اندازه محیط بیضه تخمین زده می‌شود (Amstalden *et al*., 2002). در تحقیقی که در مورد توسعه بلوغ گاومیش نر نژاد نیلی رابی در شرایط تغذیه‌ای و مدیریتی یکسان انجام شد، گزارش شد که رشد بدن و اندازه بیضه از تولد تا بلوغ افزایش می‌یابد این محققین همبستگی بالایی بین سن، وزن بدن و حجم بیضه مشاهده کردند (Ahmad *et al*., 1989). در تحقیقی گزارش شد که محیط و وزن بیضه‌ها در هنگام کشتار همبستگی مثبتی با تعداد اسپرم‌های به‌دست‌آمده از انزال مکرر و ذخایر گونادی دارد (Amann & Almquist, 1962). همچنین، همبستگی بالای بین سن، وزن بدن و ابعاد بیضه گزارش کردند (Gholami *et al*., 2010).

همان‌طور که در جدول (۲) آورده شده است بین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین و محیط بیضه همبستگی منفی (P<۰/۰۱، r= -۰/۶۲) وجود دارد. همچنین، بین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین به ارتفاع بیضه همبستگی منفی (P<۰/۰۱، r= -۰/۷۲) مشاهده شد. Amstalden *et al*. (2002) در آزمایش‌هایی که در زمان بلوغ روی تلیسه‌ها، انجام دادند مشاهده کردند که محرومیت غذایی به مدت دو روز باعث کاهش mRNA لپتین در بافت چربی و همچنین میزان لپتین خون می‌شود و در پی آن LH هم در مقایسه با حیوانات شاهد کاهش می‌یابد (Garcia *et al*., 2002). هم‌چنین، بیان mRNA لپتین در بافت چربی را مطالعه نموده و مقادیر سرمی لپتین را طی بلوغ تلیسه‌ها اندازه گرفتند و دریافتند وزن بدن بیش‌ترین تنوع را در شروع بلوغ دارد و به شدت لپتین خون همبستگی دارد. هرچند آزمایش‌ها مختلف بیان نمودند که لپتین در انتقال جوندگان به دوره بلوغ نقش دارند (Ahima *et al*., 1997).

در این مطالعات، تزریق طولانی مدت زیر پوستی لپتین روی جوانه گاوها تحت خوراک‌دهی طبیعی (Maciel *et al*., 2004) و تزریق آنی داخل بطنی تلیسه‌های تحت محدودیت غذایی یا خوراک‌دهی طبیعی (Zieba *et al*., 2004) قادر به تسریع روند بلوغ جنسی در الگو ترشح گونادوتروپین‌ها نبود. مشاهدات دیگر روی بره‌های نر نتایج مشابهی داشت و بیانگر این بود که در این بره نرها که به دلیل کامل نشدن بلوغ جنسی قادر به تولید پالس‌های GnRH نمی‌باشد، لپتین نمی‌تواند ترشح آن را تحریک کنند.

در بسیاری از پستانداران از جمله گاو محدودیت غذایی اصلی‌ترین عامل بازدارنده فعالیت تولید مثلی است. در حیوانات در حال رشد، تغذیه کمتر ازحد مطلوب باعث تغییر در رشد و بلوغ می‌باشد (Foster & Nagatani, 1999). بر مبنای این مشاهدات فرضیه‌ای بنا نهاده شد که براساس آن لپتین سیگنال اولیه برای آغاز بلوغ است (Foster & Nagatani, 1999). براساس این مدل سطح لپتین پلاسما حیوانات در وضعیت پیش از بلوغ بیشتر از حیواناتی است که به مرحله بلوغ نرسیده‌اند که این نتایج با یافته‌های این تحقیق

هم‌خوانی دارد. این نتایج با نتایج Gholami *et al.* (2010) که مطرح نمودند غلظت لپتین در گوساله‌های نر طی بلوغ کاهش می‌یابد مطابقت دارد. شاید افزایش غلظت لپتین خون در پیش از بلوغ و پس از آن که توسط Garcia *et al.* (2002) در جوانه گاوهای گزارش شده است ناشی از افزایش ذخایر چربی و نیز اثر محرک استروژن بر تولید لپتین باشد، ولی به هر حال نمی‌تواند شرط اصلی بلوغ در گاوهای شیری باشد. بنابراین، این احتمال می‌رود افزایش لپتین پلاسما نمی‌تواند عامل آغازگر بلوغ در نشخوارکنندگان باشد. فرضیه دیگر این است که لپتین عامل زمینه‌ساز وقوع بلوغ است. در این مدل کاهش لپتین پلاسما به دلیل ناکافی بودن مواد مغذی یا ذخایر چربی بدن توانایی سایر سیگنال‌های بلوغ را ضعیف می‌کنند یا حتی ممکن است به‌عنوان سازگار مطلق عمل نمایید.

در مطالعه‌ای میزان تولید mRNA لپتین در بافت چربی حین بلوغ بررسی گردید و نشان داده شد که میزان لپتین در گاوها شیری از هفته ۱۶ قبل تخمک‌گذاری تا هفته شروع تشکیل تخمک بالغ به صورت خطی افزایش می‌یابد و ارتباط بین این اندازه‌گیری با وزن بدن و چاقی و نسبت لپتین باند شده با لپتین آزاد و میزان IGF-1 در سرم بررسی گردید و نشان دادند وزن بدن بر افزایش فاکتورهای مؤثر در شروع بلوغ اهمیت دارد که وابستگی بالایی با میزان لپتین در پلاسما دارد و هم‌چنین نشان دادند که میزان لپتین و IGF-1 سرم و بیان ژن آن در نزدیکی بلوغ افزایش می‌یابد ولی افزایش میزان لپتین سرم در حین بلوغ به علت افزایش فعالیت باند شدن لپتین نمی‌باشد (Garcia *et al.*, 2002).

بنابراین، با توجه به تحقیقات در گوساله‌های نر و آزمایش حاضر که روی گوساله‌های نر نجدی در حال رشد صورت گرفته به‌نظر می‌رسد که لپتین عامل زمینه‌ساز بلوغ در گاوها باشد که کاهش لپتین در مراحله بعد از بلوغ می‌تواند به‌دلیل اثر منفی تستوسترون بر تولید لپتین در بدن باشد از سوی دیگر احتمال می‌رود که نقش لپتین در نوروانددوکرینولوژی بلوغ در گوساله‌ها نر متفاوت از آن چیزی باشد که در تلیسه‌ها دیده می‌شود (Gholami *et al.*, 2010; Behlke, 2003; Garcia *et al.*, 2002).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر و با درنظرگرفتن رفتار جنسی در زمان پیوبرتی گوساله‌های نر نجدی و هم‌زمان با تولید اسپرم بارور، سن بلوغ در گوساله‌های نر توده نجدی، ۱۵-۱۳ ماهگی می‌باشد. با شروع پیوبرتی و افزایش غلظت تستوسترون، غلظت لپتین کاهش یافت که به‌دلیل اثر منفی تستوسترون بر تولید لپتین در بدن می‌باشد. همچنین، با شروع بلوغ، محیط و ارتفاع بیضه نسبت به قبل افزایش یافته و همبستگی منفی با غلظت لپتین داشت. در این رابطه نیاز است که همین پارامترها در بلوغ گاو نر نجدی نیز مورد تحقیق قرار گیرد.

REFERENCES

1. Ahima R. S., Dushay, J., Flier, S. N., Prabakaran, D. & Flier, J. S. (1997). Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. *The Journal of clinical investigation*, 99 (3), 391-395.
2. Ahima, R. S. & Flier, J. S. (2000). Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 11 (8), 327-332.
3. Ahmad, N., Shahab, M., Khurshid, S. & Arslan, M. (1989). Pubertal development in the male buffalo: longitudinal analysis of body growth, testicular size and serum profiles of testosterone and oestradiol. *Animal Reproduction Science*, 19 (3-4), 161-170.
4. Amann, R. P. & Almquist, J. O. (1962). Reproductive capacity of dairy bulls. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. *Journal of Dairy Science*, 45 (6), 774-781.
5. Amann, R. P. & Walker, O. A. (1983). Changes in the pituitary-gonadal axis associated with puberty in Holstein bulls. *Journal of Animal Science*, 57 (2), 433-442.
6. Amstalden, M., Garcia, M. R., Stanko, R. L., Nizielski, S. E., Morrison, C. D., Keisler, D. H. & Williams, G. L. (2002). Central infusion of recombinant ovine leptin normalizes plasma insulin and stimulates a novel hypersecretion of luteinizing hormone after short-term fasting in mature beef cows. *Biology of Reproduction*, 66(5), 1555-1561.
7. Barth, A. (2004). Pubertal development of Bos Taurus beef bulls. *Medecin Vwterinaire DU Quebec* 34, p. 54.

8. Behlke, E. J. (2003). *Effects of GnRH agonist treatment and genetic selection on the pubertal process in beef bulls*. Ohio State University.
9. Blache, D., Tellam, R. L., Chagas, L. M., Blackberry, M. A., Vercoe, P. E. & Martin, G. B. (2000). Level of nutrition affects leptin concentrations in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. *Journal of Endocrinology*, 165 (3), 625-637.
10. Baile, C. A., Della-Fera, M. A. & Martin, R. J. (2000). Regulation of metabolism and body fat mass by leptin. *Annual Review of Nutrition*, 20(1), 105-127.
11. Bocquier, F., Bonnet, M., Faulconnier, Y., Guerre-Millo, M., Martin, P. & Chilliard, Yves (1998). Effects of photoperiod and feeding level on perirenal adipose tissue metabolic activity and leptin synthesis in the ovariectomized ewe. *Reproduction Nutrition Development*, 38 (5), 489-498.
12. Chandolia, R. K., Honaramooz, A., Bartlewski, P. M., Beard, A. P. & Rawlings, N. C. (1997). Effects of treatment with LH releasing hormone before the early increase in LH secretion on endocrine and reproductive development in bull calves. *Reproduction*, 111 (1), 41-50.
13. Egwurugwu, J. N., Nwafor, A., Chike, C. P. R., Ufearo, C. S., Uchefuna, R. C. & Iwuji, S. C. *et al*. (2011). The relationship between body mass index, semen and sex hormones in adult male. *Nigerian Journal of Physiological Sciences*, 26 (1), 029-034.
14. Farooq, R., Ullah, L. & Ishaq, H. (2013). Relation of serum leptin with sex hormones of obese infertile men and women. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3 (1), 060-0.65.
15. Foster, D. L. & Nagatani, S. (1999). Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. *Biology of Reproduction*, 60 (2), 205-215.
16. Garcia, A. M., Williams, S. W., Stanko, R. L., Morrison, C. D. & Keisler, D. H. *et al*. (2002). Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. *Journal of Animal Science*, 80 (8), 2158-2167.
17. Guzman, A., Hernández-Coronado, C. G., Rosales-Torres, A. M. & Hernandez-Medrano, J. H. (2019). Leptin regulates neuropeptides associated with food intake and GnRH secretion. *Annales d'endocrinologie*, 80 (1), 38-46.
18. Gholami, H., Towhidi, A., Zare Shahneh, A. & Dirandeh, E. (2010). The relationship of plasma leptin concentration and puberty in Holstein bull calves (*Bos taurus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94 (6), 797-802.
19. Houseknecht, K. L., Mantzoros, C. S., Kuliawat, R., Hadro, E., Flier, J. S. & Kahn, B. B. (1996). Evidence for leptin binding to proteins in serum of rodents and humans: modulation with obesity. *Diabetes*, 45 (11), 1638-1643.
20. Kiess, W., Reich, A., Meyer, K., Glasow, A., Deutscher, J., Klammt, J., Yang, Y., Müller, G. & Kratzsch, J. (1999). A role for leptin in sexual maturation and puberty. *Hormone Research in Paediatrics*, 51 (3), 55-63.
21. Lunstra, D. D., Ford, J. J. & Echternkamp, S. E. (1978). Puberty in beef bulls: hormone concentrations, growth, testicular development, sperm production and sexual aggressiveness in bulls of different breeds. *Journal of Animal Science*, 46 (4), 1054-1062.
22. Maciel, M. N., Zieba, D. A., Amstalden, M., Keisler, D. H., Neves, J. P. & Williams, G. L. (2004). Chronic administration of recombinant ovine leptin in growing beef heifers: effects on secretion of LH, metabolic hormones, and timing of puberty. *Journal of Animal Science*, 82 (10), 2930-2936.
23. Maffei, M., Halaas, J., Ravussin, E., Pratley, R. E., Lee, G. H. & Zhang, Y. *et al*. (1995). Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Medicine*, 1(11), 1155.
24. McCarthy, M. S., Hafs, H. D. & Convey, E. M. (1979). Serum hormone patterns associated with growth and sexual development in bulls. *Journal of Animal Science*, 49 (4), 1012-1020.
25. Oliveira, C. H. A., Am S., Silva, L. M., van Tilburg, M. F., Fernandes, C. C. L. & Velho, A. *et al*. (2015). Growth, testis size, spermatogenesis, semen parameters and seminal plasma and sperm membrane protein profile during the reproductive development of male goats supplemented with de-oiled castor cake. *Reproductive Toxicology*, 53, 152-161.
26. Pilcova, R., Sulcova, J., Hill, M., Bláha, P. & Lisa, L. (2003). Leptin levels in obese children: effects of gender, weight reduction, and androgens. *Physiological Research*, 52 (1), 53-60.
27. Price, T. O., Farr, S. A., Yi, X., Vinogradov, S., Batrakova, E., Banks, W. A. & Kabanov, A. V. (2010). Transport across the blood-brain barrier of pluronic leptin. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 333 (1), 253-263.
28. Penitente-Filho, J. M., Silva, F. F., Guimaraes, S. F., Waddington, B., da Costa, E. P., Leon, V. G. & Guimaraes, J. D. (2018). Relationship of testicular biometry with semen variables in breeding soundness evaluation of Nellore bulls. *Animal Reproduction Science*, 196, 168-175.

29. Rawlings, N. C., Hafs, H. D. & Swanson, L. V. (1972). Testicular and blood plasma androgens in Holstein bulls from birth through puberty. *Journal of Animal Science*, 34 (3), 435-440.
30. Robertson, S. A., Leinninger, G. M. & Myers, M. G. (2008). Molecular and neural mediators of leptin action. *Physiology & Behavior*, 94 (5), 637-642.
31. Romeo, R. D., Richardson, H. N. & Sisk, C. L. (2002). Puberty and the maturation of the male brain and sexual behavior: recasting a behavioral potential. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 26(3), 381-391.
32. Thomas, L., Wallace, J. M., Aitken, R. P., Mercer, J. G., Trayhurn, P. & Hoggard, N. (2001). Circulating leptin during ovine pregnancy in relation to maternal nutrition, body composition and pregnancy outcome. *Journal of Endocrinology*, 169 (3), 465-476.
33. Towhidi, A. (2002). *Effects of energy and the lepitin hormone on the secretion of sex and metabolic hormones and egg laying in the ewe*. Ph.D. thesis. Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University.
34. Zieba, D. A., Amstalden, M., Morton, S., Maciel, M. N., Keisler, D. H. & Williams, G. L. (2004). Regulatory roles of leptin at the hypothalamic-hypophyseal axis before and after sexual maturation in cattle. *Biology of Reproduction*, 71 (3), 804-812.