

## تغییرات میزان لپتین بر اساس نمره وضعیت بدنی و دوره شیردهی و اثر این تغییرات روی تولید مثل گاو شیری

سمیه شریفی<sup>۱</sup>، حمیدرضا رحمانی<sup>۱\*</sup> و محمود معتمدی<sup>۲</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۳/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۲/۲۹)

### چکیده

افزایش میزان شیر در گاوهای شیری با بالانس منفی انرژی در ابتدای دوره شیردهی و کاهش باروری همراه می‌باشد. یک پروتئین با ۱۶۷ اسید آمینه به وسیله ژن *ob* کد می‌شود که لپتین نامیده می‌شود (برگرفته از لغت یونانی "لپتوز" به معنی لاغر). هورمون لپتین یک پروتئین با وزن ۱۶ کیلو دالتون می‌باشد که به طور عمده توسط بافت چربی سفید تولید می‌گردد و در تنظیم مصرف غذا، بالانس انرژی، باروری و سیستم ایمنی دخالت دارد. بیان لپتین و ترشح این هورمون وابسته به تجمع چربی بدن می‌باشد و تحت تأثیر تغییرات مصرف خوراک قرار دارد. اهداف این طرح، بررسی تغییرات میزان لپتین در انتهای آبستنی و ابتدای شیردهی و تأثیر دوره شیردهی و نمره وضعیت بدنی روی میزان لپتین پلازما و بررسی چگونگی آن تغییرات روی صفات تولیدمثلی می‌باشد. نمونه‌های خونی از ۵۴ گاو هلشتاین در یک زمان ثابت از روز، بعد از شیردوشی و قبل از خوراک‌دهی از ۲ هفته قبل از زایمان تا ۶ هفته پس از زایش جمع‌آوری شد. نمره وضعیت بدنی گاوها و میزان لپتین پلازما به فاصله ۲ هفته اندازه‌گیری شد. میزان لپتین تحت تأثیر دوره شیردهی قرار داشت و تلیسه‌ها و گاوهای شکم اول میزان لپتین بیشتری در مقایسه با گاوهای چند شکم داشتند ( $P < 0/05$ ). میزان لپتین در انتهای آبستنی و ابتدای شیردهی اختلافی را نشان نداد. ارتباط نمره وضعیت بدنی با میزان لپتین منفی بود ( $P < 0/05$ ). میزان لپتین پلازما روی صفات تولید مثلی (روزهای شیردهی در اولین تلقیح، تعداد تلقیح به ازای آبستنی و روزهای باز) تأثیری نداشت.

واژه‌های کلیدی: لپتین، نمره وضعیت بدنی، تولید مثل، دوره شیردهی

### مقدمه

میزان تولید شیر و باروری، انرژی مصرفی می‌باشد که نمی‌تواند احتیاجات هم‌زمان نگه‌داری و شیردهی را در اوایل دوره شیردهی برآورده کند و موجب بالانس منفی انرژی در این دوره می‌گردد (۳۰). در این دوره گاو ذخایر چربی بدن را بسیج می‌کند و به نظر می‌رسد که همه انرژی گاو به سمت تولید شیر می‌رود و سایر اعمال، مثل تولید مثل و ایمنی سهم کمتری

پایه اصلی انتخاب گاوهای نر شیری میزان تولید شیر دختران آنها می‌باشد، ولی افزایش میزان شیر با کاهش باروری همراه گردیده. در مطالعات اخیر، افزایش جدی در وقوع موارد غیر طبیعی چرخه تولید مثلی و کاهش نرخ آبستنی در گاوهای شیری نشان داده شده است (۲۵). یک علت رابطه معکوس بین

۱. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. کارشناس ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hrahmani@cc.iut.ac.ir

به دست می‌آورند (۱۷). مطالعات متعددی اهمیت میزان و مدت بالانس منفی انرژی را در بعد از زایمان روی آغاز و از سرگیری چرخه فحلی نشان داده‌اند (۳) و بعضی مطالعات اثر کاهش نمره وضعیت بدنی را روی از سرگیری چرخه فحلی مهم دانسته‌اند (۹). این نظریه که هورمون‌ها یک نقش مهم در احیای باروری به دنبال انتخاب بر اساس میزان شیر ایفا می‌کنند، در سال‌های اخیر زیاد مورد بحث و بررسی قرار گرفته است. بررسی‌ها و تحقیقات برای یافتن یک هورمون ارتباط دهنده بین تغذیه و باروری در گاو شیری نظرها را به یکی از این هورمون‌ها که لپتین می‌باشد جلب کرده است (۲۰). یک پروتئین با ۱۶۷ اسید آمینه به وسیله ژن *ob* کد می‌شود که لپتین نامیده می‌شود (برگرفته از لغت یونانی "لپتوز" به معنی لاغر). لپتین یک هورمون چند عملکرده می‌باشد، که با تأثیر روی ورود غذا و مصرف انرژی نقش مهمی در همئوستازی وزن بدن دارد (۱ و ۱۰). این که لپتین منحصراً از بافت چربی سفید ترشح می‌شود در اکثر مطالعات اولیه مطرح بود در حالی که مطالعات گسترده سال‌های اخیر بر روی لپتین نشان داده که این هورمون از برخی قسمت‌های دیگر بدن نیز ترشح می‌گردد (۱۷).

در پستانداران، کنترل ترشح گنادوتروپین‌ها توسط هیپوتالاموس با میانجیگری GnRH صورت می‌گیرد. موش‌های *ob/ob* که فاقد ژن لپتین فعال می‌باشند، نابارور هستند و ارگان‌های تولید مثلی تحلیل رفته دارند و تیمار کردن با لپتین، از طریق ترشح گنادوتروپین‌ها موجب فعال شدن سیستم تولید مثلی در این موش‌ها می‌شود و هم‌چنین موجب رشد و فعالیت ارگان‌های تولید مثلی و باروری می‌گردد و موجب مطرح شدن این نظریه که لپتین یک نقش مهم در تنظیم ترشح GnRH دارد و در نتیجه کنترل تولید مثل بازی می‌کند، گردید (۴). مطالعات روی گاو این نظریه را که لپتین به طور مستقیم روی هیپوفیز و هیپوتالاموس اثر دارد و موجب ترشح به ترتیب LH و GnRH در این ارگان‌ها می‌گردد تأیید می‌کند (۳۲). در سیستم عصبی مرکزی، محل اصلی عمل لپتین

هیپوتالاموس می‌باشد (۲۴)، لپتین وارد سد مغزی-خونی شده و با نورون‌های تولید کننده GnRH، نوروپپتید-Y (NPY) و هورمون آزاد کننده هورمون رشد (GHRH) باند می‌شود. لپتین از طریق نورون‌های GnRH در هیپوتالاموس، تأثیر مثبت روی ترشح هورمون‌های LH و FSH در هیپوفیز پیشین دارد، هم‌چنین لپتین به طور مستقیم روی هیپوفیز عمل می‌کند و موجب تحریک ترشح FSH و LH می‌شود. لپتین از طریق تحریک ساخت استروئیدها به وسیله گیرنده لپتین موجود روی سلول‌های گرانولوزا، تأثیر موضعی بر روی تخمدان‌ها نیز دارد (۱۲). در یک دامنه مقاداری، بیشترین میزان لپتین که حدود  $20 \text{ ng/ml}$  بود روی ترشح LH در گاوهای شیری تخمدان برداری شده گرسنه تأثیری نداشت در حالی که در دامنه  $0/2$  تا  $2$  نانوگرم در میلی‌لیتر لپتین موجب تحریک ترشح LH به ترتیب  $1/41\%$  و  $1/22\%$  شد (۳۳). تأثیر مخصوص لپتین روی ترشح گنادوتروپین‌ها ممکن است وابسته به سن (بلوغ، قبل از بلوغ)، گونه (گاو، گوسفند)، میزان اعمال لپتین و این‌که آیا روی حیوان عمل‌های خاص صورت گرفته یا نه (تخمدان برداری شده یا نه) باشد (۱۷). از زمان شروع تا میانه آبستنی، لپتین موجود در خون افزایش می‌یابد و تا انتهای آبستنی در سطح بالا باقی می‌ماند (۸). ملیک و همکاران، برای اثبات نقش لپتین در طی حاملگی و شیردهی مطالعه‌ای روی موش‌های طبیعی و *ob/ob* انجام دادند و نشان دادند که لپتین برای لانه‌گزینی جنین در ابتدای آبستنی ضروری بوده، هم‌چنین برای توسعه طبیعی غده پستان در هفته‌های پایانی آبستنی ضروری می‌باشد (۱۹).

چندین مسیر تحقیقاتی ثابت کرده است که لپتین به طور مستقیم در سطح تخمدان نیز عمل می‌کند. سلول‌های گرانولوزای تخمدان گاو (۲۸) و سلول‌های تکا (۲۹) دارای گیرنده لپتین هستند.

نمره وضعیت بدنی و وزن بدن با میزان لپتین ارتباط مثبت دارد هر چند این ارتباط زیاد قوی نمی‌باشد (۱۵). به علاوه لئون و همکاران نشان دادند که میزان لپتین در یک نمره وضعیت بدنی یکسان تحت تأثیر وزن بدن قرار می‌گیرد (۱۵).

۱۵ گاو شکم اول (تلیسه)، ۱۶ گاو شکم دوم و سوم، ۱۵ گاو شکم چهارم و پنجم و به علت کم بودن گاوهای مسن، ۸ گاو در گروه آخر یعنی گاوهای بالاتر از ۵ شکم زایش قرار گرفتند. گاوها از دو هفته قبل از تاریخ زایمان احتمالی (با فرض ۲۷۸ روز آبستنی) در طرح قرار گرفتند و تا ۶ هفته پس از زایش در طرح بودند. در طول ۸ هفته‌ای که گاوها در طرح بودند ۵ مرحله خونگیری صورت گرفت. مرحله اول ۲ هفته قبل از تاریخ زایمان احتمالی، مرحله دوم هنگام زایمان و ۳ مرحله خونگیری به فاصله ۲ هفته بعد از زایش انجام گرفت. خونگیری با لوله ونونجکت و از ناحیه زیر دم حیوان و در زمان ثابتی در روز، بعد از شیردوشی وعده صبح و قبل از خوراک‌دهی وعده عصر صورت می‌گرفت و در هر مرحله خونگیری، نمره وضعیت بدنی دام‌ها نیز ثبت می‌گردید. بلافاصله پس از خونگیری، پلاسماهای خون‌ها بوسیله سانتریفیوژ (۳۰۰۰ RPM) به مدت ۲۰ دقیقه جدا شده و سریعاً در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  - منجمد می‌گردیدند. میزان لپتین پلاسماهای نمونه‌ها به روش RIA با استفاده از کیت چندگونه‌ای لپتین (Leptin Multi-species RIA 1874) شرکت DRG تعیین گردید. این کیت در انسان، سگ، خوک، موش و رت مورد استفاده قرار گرفته است و در این آزمایش برای اولین بار روی گاو استفاده گردید.

در پایان اطلاعات تولید مثلی مانند نحوه زایش (سخت زا و آسان زا) و روزهای شیردهی در اولین تلقیح و روزهای شیردهی در تلقیح منجر به آبستنی (روزهای باز) و تعداد تلقیح به ازای آبستنی و هم‌چنین میانگین شیر تولیدی دام‌ها در ۵ رکوردگیری متوالی به فاصله ۱ ماه ثبت گردید و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

در این تحقیق اثر عواملی مثل دوره شیردهی، فصل زایش و مرحله نمونه‌گیری (مرحله اول ۲ هفته قبل از تاریخ احتمالی زایمان، مرحله دوم هنگام زایمان و ۳ مرحله خونگیری به فاصله ۲ هفته بعد از زایش) و عوامل دیگری مثل سن در هنگام زایش و نمره وضعیت بدنی و میانگین تولید شیر روی صفت

این تأثیر تغییر وزن بدن روی میزان لپتین به وسیله مشاهده لئون و همکاران مورد تأیید قرار گرفت که نشان دادند میزان لپتین در حیواناتی که نمره وضعیت بدنی یکسان داشتند ولی غذای مصرفی آنها یکسان نبود متفاوت می‌باشد (در نمره وضعیت بدنی ۳، میزان لپتین در گاوهایی که در شرایط محدودیت غذایی بودند،  $1/53 \pm 0/05$  نانوگرم در میلی‌لیتر و این میزان در گاوهایی که در شرایط افزایش وزن بودند  $2/15 \pm 0/07$  بود) از طرف دیگر میزان لپتین در گاوهایی که در نمره وضعیت بدنی ۳ تحت شرایط محدودیت غذایی قرار گرفته بودند بیشتر از گاوهایی که با نمره وضعیت بدنی ۲ در شرایط افزایش وزن قرار داشتند بود (۱۵). تحقیقات نشان داده‌اند که میزان لپتین پلاسما ممکن است براساس تغییر در خصوصیات چربی بین نژادهای مختلف تغییر کند، مثلاً در گوسفند (۵) و انسان (۱) گزارش شده که چربی شکمی میزان کمتری mRNA لپتین نسبت به چربی سطحی یا زیر پوستی دارد. در شرایط یکسان نمره وضعیت بدنی نشان داده شده که گاوهای هلشتاین میزان لپتین بیشتری نسبت به گاوهای نژاد شاروله دارند (۱۳/۷ نانوگرم در میلی‌لیتر در مقابل ۶/۶) (۶). جنتری و همکاران نیز نشان دادند که فاکتورهای زیادی تعیین کننده میزان لپتین در شرایط نمره وضعیت بدنی یکسان می‌باشد (۹).

لنتس و همکاران نشان دادند که سطح مصرف خوراک در گاوها بیشترین تأثیر را روی میزان IGF-I، انسولین و لپتین پلاسما دارد و نمره وضعیت بدنی سهم کمی در تغییرات میزان این فاکتورها دارد (۱۴).

## مواد و روش‌ها

این آزمایش از دی ماه ۱۳۸۴ به مدت ۶ ماه در شرکت کشت و دام‌داری گلشهر، وابسته به سازمان تأمین اجتماعی، واقع در شهر گلدشت، از توابع شهرستان نجف آباد استان اصفهان انجام گردید.

در این آزمایش از ۵۴ راس گاو ماده نژاد هلشتاین، در رده‌های آبستنی و شیردهی متفاوت استفاده گردید. به طوری که

آزمون نرمالیته روی باقیمانده‌ها صورت گرفت. در مورد صفات تولید مثلی، باقیمانده‌ها در صفت تعداد تلقیح به ازای آبستنی دارای توزیع نرمال نبودند و بنابراین ابتدا تبدیل لگاریتمی روی داده‌های این صفت انجام شد و سپس آنالیز نهایی روی داده‌های تبدیل شده صورت گرفت.

## نتایج

اثر عوامل ثابت و کمکی بر میزان لپتین پلاسما و تفاوت میانگین‌ها در تمام فاکتورها در سطح ۰/۰۵ بررسی شده است. با توجه به جدول ۱ میزان لپتین در شکم‌های مختلف و در سنین مختلف و در شرایط تفاوت در نمره وضعیت بدنی تفاوت معنی‌داری نشان داده است (به ترتیب  $P < 0/05$ ،  $P < 0/01$ ،  $P < 0/05$ ) و همان‌طور که در جدول ۲ مشخص شده است میزان لپتین در تلیسه‌ها و گاوهای شکم ۱ و ۲ بیشترین مقدار را دارد و نشان می‌دهد که در این شکم‌ها میزان لپتین به هم نزدیک‌تر می‌باشد و اختلافی را نشان نمی‌دهد (البته نزدیک به معنی دار شدن بود) و به ترتیب افزایش شکم کاهش یافته و در گاوهای بالای ۵ شکم زایش کمترین مقدار را نشان داده است.

جدول ۲ نشان می‌دهد که هم‌بستگی سن با میزان لپتین مثبت بوده و با هر واحد افزایش در سن دام ۰/۰۰۸۱ افزایش در میزان لپتین نشان داده شده است. علت این تناقض را می‌توان به این صورت توضیح داد که شکم زایش یا دوره شیردهی یک عامل ساده نمی‌باشد بلکه یک عامل ترکیبی است که سن نیز یکی از اجزای آن است و اجزای دیگر آن شامل وزن بدن، میزان چربی ذخیره‌ای، میزان تولید، میزان مصرف خوراک و ... می‌باشد، که اثر برآورد شده برای شکم، برآیندی از این اجزا می‌باشد. در اینجا چون ما از روش LSMEANS برای مقایسه میانگین‌ها استفاده کرده‌ایم، در واقع شکم زایش برای سایر عوامل موجود در مدل مثل سن در هنگام زایش، فصل زایش و ... تصحیح شده است. بنابراین اثر مستقیم سن در هنگام زایش روی میزان لپتین پلاسما تصحیح شده ولی اثر عوامل دیگر مثل

میزان لپتین مورد بررسی قرار گرفت. در رابطه با این صفت، به دلیلی که به ازای هر حیوان بیش از یک مشاهده وجود دارد و به عبارت دیگر اندازه‌گیری مکرر داشتیم، بر اساس دستورالعمل ارائه شده توسط لیتل و همکاران، ابتدا با استفاده از رویه GLM مدل آماری انتخاب گردید و آزمون نرمالیته روی باقیمانده‌ها صورت گرفت، لازم به ذکر است که توزیع باقیمانده‌ها در هر کدام از آنالیزهای انجام شده، با استفاده از آماره Shapiro-Wike آزمون شد و در صفاتی که باقیمانده‌ها دارای توزیع نرمال نبودند ابتدا تبدیل لگاریتمی روی داده‌ها صورت گرفت و سپس آنالیز نهایی روی داده‌های تبدیل شده انجام گرفت. در این صفت باقیمانده‌ها دارای توزیع نرمال نبودند، بنابراین از لگاریتم میزان لپتین استفاده گردید و در انتها با رویه MIXED و ساختار واریانس کوواریانس UN (Unstructured)، آنالیز نهایی انجام گردید (۱۸).

در این تحقیق هم‌چنین اثر میزان لپتین قبل از زایش (۲ هفته قبل از زایمان) و میزان لپتین بعد از زایش (از هنگام زایمان تا ۴۲ روز پس از زایش به فاصله ۲ هفته) بر صفات تولیدمثلی مانند روزهای شیردهی در اولین تلقیح، روزهای شیردهی در تلقیح منجر به آبستنی (روزهای باز) و تعداد تلقیح به ازای آبستنی مورد بررسی قرار گرفت.

از آنجا که پراکنش صفات تولید مثلی مورد بررسی، علاوه بر میزان لپتین خون تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند، شکم زایش، فصل زایش، نحوه زایش و عوامل دیگری مثل سن دام در هنگام زایش و نمره وضعیت بدنی در هنگام زایش قرار دارد، بنابراین در مدل آماری مورد استفاده تأثیر تمام عوامل محیطی گنجانده شد تا بتوان با دقت بالایی به بررسی تأثیر احتمالی میزان لپتین بر این صفات پرداخت. هم‌چنین از آنجا که بین صفات تولیدی و راندمان تولید مثل رابطه معکوس وجود دارد و همواره با افزایش تولید شیر، راندمان تولید مثلی کاهش می‌یابد، بنابراین میانگین تولید شیر در ۵ ماه نخست بعد از زایش به عنوان یک عامل کوواریت (کمکی) در مدل قرار داده شد. ابتدا با استفاده از رویه GLM مدل آماری انتخاب گردید و

جدول ۱. جدول معنی‌داری عوامل مؤثر بر میزان لپتین

متغیر	درجه آزادی	لگاریتم میزان لپتین
شکم زایش	۳	۳*
فصل زایش	۱	۰/۰۲
مرحله نمونه‌گیری	۴	۰/۷
سن (روز)	۱	۱۰/۶**
نمره وضعیت بدنی	۱	۵/۳۹*
میانگین تولید شیر (kg)		۰/۷

\*: تفاوت میانگین‌ها در سطح  $P < 0/05$  معنی‌دار است.

\*\* : تفاوت میانگین‌ها در سطح  $P < 0/01$  معنی‌دار است.

جدول ۲. میانگین حداقل مربعات سطوح اثرات ثابت و ضرایب رگرسیونی عوامل کمکی مؤثر بر میزان لپتین

متغیر	تعداد مشاهده	لگاریتم میزان لپتین (ng/ml)
کل	۲۷۰	۱/۸۴
شکم زایش		
۰	۷۵	$2/4 \pm (0/195)^a$
۲و۱	۸۰	$1/9 \pm (0/102)^a$
۴و۳	۷۵	$1/47 \pm (0/13)^b$
بالای ۵	۴۰	$0/9 \pm (0/27)^c$
فصل زایش		
۱	۱۲۲	$1/76 \pm (0/17)^a$
۲	۱۴۸	$1/70 \pm (0/06)^a$
مرحله نمونه‌گیری		
۱	۵۴	$1/78 \pm (0/126)^a$
۲	۵۴	$1/61 \pm (0/096)^a$
۳	۵۴	$1/73 \pm (0/09)^a$
۴	۵۴	$1/67 \pm (0/10)^a$
۵	۵۴	$1/64 \pm (0/10)^a$
سن (روز) = $b_1$	۱	۰/۰۰۰۸۱
نمره وضعیت بدنی = $b_2$	۱	-۰/۲۳۸
میانگین تولید شیر (kg) = $b_3$	۱	۰/۰۰۷۴

تفاوت میانگین‌ها در تمام فاکتورها در سطح  $0/05$  بررسی شده است.

در این جدول تنها اثر میانگین تولید شیر روی روزهای باز معنی دار شده ( $P < 0/05$ ) و هم‌چنین سن در هنگام زایمان روی تعداد روزهای شیردهی در اولین تلقیح معنی دار گشته است ( $P < 0/05$ ).

همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود تلیسه‌ها بیشترین روزهای باز و بیشترین روز شیردهی در اولین تلقیح را نشان می‌دهند و این صفات به ترتیب افزایش شکم کاهش یافته و در گاوهای بالاتر از ۵ شکم کمترین میزان را دارد. در مورد تعداد تلقیح به ازای آبستنی تلیسه‌ها کمترین تعداد را داشته و به ترتیب افزایش شکم افزایش یافته و گاوهای بالای ۵ شکم بیشترین تعداد تلقیح به ازای آبستنی را نشان دادند ولی همان‌طور که در جدول ۳ نشان داده شده این تغییرات معنی دار نشده است که علت این موضوع پراکندگی داده‌های تولید مثلی و ضریب پراکنش بالای این صفات ذکر گردید.

با توجه به جدول ۵ در می‌یابیم که هم‌بستگی میزان لپتین قبل و بعد از زایش با صفات روزهای باز و روزهای شیردهی در اولین تلقیح منفی بوده، یعنی با افزایش میزان لپتین کاهش در روزهای باز و کاهش در روزشیردهی در اولین تلقیح را خواهیم داشت ولی هم‌بستگی میزان لپتین قبل از زایش روی صفت تعداد تلقیح به ازای آبستنی منفی بوده و میزان لپتین بعد از زایش روی صفت تعداد تلقیح به ازای آبستنی مثبت می‌باشد، البته همان‌طور که در جدول ۳ نشان داده شده است تأثیر این عوامل معنی دار نشده است. هم‌چنین سن در هنگام زایمان هم‌بستگی مثبت با صفات روزهای باز و روزهای شیردهی در اولین تلقیح دارد ولی این ارتباط با صفت تعداد تلقیح به ازای آبستنی منفی می‌باشد.

هم‌بستگی نمره وضعیت بدنی در هنگام زایمان با هر سه صفت تولید مثلی منفی بوده در صورتیکه میانگین تولید شیر با این صفات هم‌بستگی مثبت نشان داده و تنها هم‌بستگی میانگین شیر تولیدی روی تعداد روزهای باز معنی دار شده است.

وزن بدن، میزان چربی ذخیره‌ای و ... در داخل صفت شکم زایش باقی می‌ماند.

هم‌بستگی نمره وضعیت بدنی با میزان لپتین منفی به دست آمده و نشان‌دهنده این است که به ازای هر واحد افزایش در نمره وضعیت بدنی، ۰/۲۳۸ نانوگرم کاهش در میزان لپتین پلاسما مشاهده می‌شود ( $P < 0/05$ ).

هم‌بستگی میزان تولید شیر با میزان لپتین مثبت نشان داده شده و به ازای هر واحد افزایش در میزان شیر تولیدی ۰/۰۰۷۴ نانوگرم افزایش در میزان لپتین پلاسما مشاهده می‌شود هر چند این ارتباط همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است معنی دار نگردیده و هم‌چنین میزان لپتین در فصل زمستان با بهار یکسان می‌باشد و تفاوتی را نشان نمی‌دهد و همان‌طوری که ملاحظه می‌شود میزان لپتین در مراحل مختلف نمونه‌گیری نیز یکسان بوده و اختلافی را نشان نمی‌دهند.

#### رابطه بین میزان لپتین خون و صفات تولید مثلی

صفات تولید مثلی مورد بررسی عبارت بودند از: تعداد روزهای باز، تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی و تعداد روزهای بین زایش تا اولین تلقیح.

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود اثر عوامل مختلف روی صفات تولید مثلی مورد بررسی در این تحقیق روند قابل توجهی طی می‌کنند ولی به دلیل پراکندگی زیاد داده‌ها و ضرایب پراکنش بالای این صفات (۴۷/۵، ۲۹/۷۸، ۲۷/۰۵) که به دلیل وجود عوامل محیطی مختلف که غیرقابل مدل‌سازی می‌باشند و هم‌چنین عوامل ژنتیکی ایجاد شده‌اند، نسبت واریانس اشتباه مدل‌ها و متعاقباً میانگین مربعات اشتباه بالا بوده و مدل استفاده شده در این آنالیز اثر بیشتر عوامل موجود در مدل را روی این صفات معنی دار نشان نداده است. همان‌طور که می‌دانیم این صفات نسبت به صفات تولیدی به میزان زیادتری تحت تأثیر عوامل محیطی غیرقابل مدل‌سازی مانند دمای محیط، چگونگی تلقیح، تشخیص فحلی، بیماری‌های تولید مثلی، لنگش و ... قرار دارند.

جدول ۳. میانگین مربعات عوامل مؤثر بر صفات تولید مثلی

متغیر	درجه آزادی	روزهای باز	لگاریتم تعداد تلقیح به ازای آبستنی	روز شیردهی در اولین تلقیح
شکم زایش	۳	۷۶۷۶	۰/۰۹۸	۳۰۴/۱۱
فصل زایش	۱	۱۳۰۳/۵	۰/۱۹۹	۲۱/۳۶
نوع زایش	۱	۴۵۰۶/۱۵	۰/۱۰۵	۴/۵۳
میزان لپتین قبل از زایش (ng/ml)	۱	۶۰۰۳	۰/۰۰۶	۱۸۵/۶۲
میزان لپتین بعد از زایش (ng/ml)	۱	۲۷۵۰	۰/۸۷۸	۶۹/۵۳
سن در هنگام زایش (روز)	۱	۱۴۷۵۷	۰/۰۶۶	۱۰۰۹/۱۷*
نمره وضعیت بدنی در هنگام زایش	۱	۱۱۴۰۴	۰/۰۰۲۹	۲/۸۵
میانگین تولید شیر (kg)	۱	۴۲۳۵۸*	۰/۳۵	۱۴

\*: تفاوت میانگین‌ها در سطح  $P < 0/05$  معنی‌دار است.

جدول ۴. میانگین حداقل مربعات سطوح اثرات ثابت مؤثر بر صفات تولید مثلی

متغیر	تعداد مشاهده	تعداد روزهای باز	لگاریتم تعداد تلقیح به ازای آبستنی	روزهای شیردهی در اولین تلقیح
کل	۵۴	۱۶۶/۳۸	۲/۰۱	۵۷/۵۸
شکم زایش				
۰	۱۵	$265/04 \pm (65/5)^a$	$1/976 \pm (0/509)^a$	$79/78 \pm (13/16)^a$
۲و۱	۱۶	$130/82 \pm (41/9)^a$	$2/195 \pm (0/309)^a$	$56/65 \pm (6/9)^a$
۳و۳	۱۵	$58 \pm (84/8)^a$	$2/138 \pm (0/59)^a$	$36/87 \pm (13/65)^a$
بالای ۵	۸	$-18/61 \pm (133/327)^a$	$2/62 \pm (1/067)^a$	$13/36 \pm (24/48)^a$
فصل زایش				
۱	۹	$95/09 \pm (65/6)^a$	$2/409 \pm (0/523)^a$	$44/94 \pm (12/58)^a$
۴	۴۵	$122/66 \pm (33/27)^a$	$2/057 \pm (0/229)^a$	$48/38 \pm (5/62)^a$
نوع زایش				
۱	۳۶	$121/80 \pm (45/17)^a$	$2/303 \pm (0/351)^a$	$47/05 \pm (8/42)^a$
۲	۱۸	$95 \pm (44/7)^a$	$2/162 \pm (0/354)^a$	$46/27 \pm (8/26)^a$

تفاوت میانگین‌ها در تمام فاکتورها در سطح  $0/05$  بررسی گردیده.

### بحث

افزایش سطح لپتین، مصرف غذا کاهش نمی‌یابد و لپتین نمی‌تواند وارد هیپوتالاموس شود (۱۳)، بنابراین در این دوره سیگنال‌های خود تنظیمی منفی در بافت چربی وجود ندارد و بیان لپتین محدود نمی‌گردد.

گاوهای آبستن تغذیه طبیعی دارند و نشان‌دهنده این است که احتمالاً در طی حاملگی در سطح هیپوتالاموس نسبت به لپتین مقاومت وجود داشته باشد. در بعضی افراد چاق با وجود

جدول ۵. جدول ضرایب رگرسیونی عوامل محیطی بر صفات تولید مثلی

تعداد مشاهده		صفات مورد مطالعه		متغیر
تعداد روزهای باز	لگاریتم تعداد تلقیح به ازای آبستنی	روزهای شیردهی در اولین تلقیح	صفات مورد مطالعه	
ضرایب رگرسیونی				
۵۴	-۴/۷۳	-۰/۷۵۹	میزان لپتین قبل از زایش (ng/ml)	$b_1$
۵۴	-۳/۱۹	-۰/۴۶۶	میزان لپتین بعد از زایش (ng/ml)	$b_2$
۵۴	۰/۱۲	۰/۳۰۷	سن در هنگام زایمان (روز)	$b_3$
۵۴	-۶۱/۴۸	-۰/۸۵	نمره وضعیت بدنی در هنگام زایمان	$b_4$
۵۴	۵/۷۶	۰/۱۲۳	میانگین تولید شیر (kg)	$b_5$

تفاوت میانگین‌ها در کلیه فاکتورها در سطح ۰/۰۵ بررسی شده است.

لثوری و همکاران در مطالعاتی روی گاو تأثیر انسولین و GH روی میزان لپتین در نزدیکی زمان زایمان را به اثبات رساندند. آنها نشان دادند که انسولین موجب افزایش لپتین پلازما در پایان آبستنی (۲ تا ۵ هفته قبل از زایمان) و ابتدای شیر دهی (۱ تا ۵ هفته پس از زایمان) می‌گردد (۱۶).

همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شد، میزان لپتین در تلیسه‌ها بیشترین مقدار بود و در گاوهای بالای ۵ شکم زایش کمترین میزان را نشان داد.

واتس و همکاران نیز در سال ۲۰۰۶ چنین نتیجه‌ای را نشان دادند. آنها چنین بیان کردند که میزان لپتین در قبل از زایمان در گاوهای شکم اول نسبت به گاوهای چند شکم به طور معنی‌داری بیشتر می‌باشد (۳۱) و میکِل و همکاران نشان دادند که سرعت کاهش لپتین پس از زایمان در گاوهای یک شکم نسبت به گاوهای چند شکم بیشتر است (۲۱).

انسولین یکی از هورمون‌های مهم تنظیم‌کننده فعالیت تخمدانی می‌باشد که حساسیت تخمدان را به گنادوتروپین‌ها تنظیم می‌کند و نشان داده شده است که این هورمون از طریق واسطه‌های IGF-I و IGF-II عمل می‌کند و جالب این

هم‌چنین میزان لپتین در دوره شیردهی تحت تأثیر میزان شیر تولیدی (MY) قرار می‌گیرد. تولید شیر بالا هم‌زمان با کاهش لپتین است، مخصوصاً زمانی که تصحیح بر اساس وزن زنده (LW) و ماده خشک مصرفی (DMI) صورت گرفته باشد. به دلیل این‌که DMI در گاوهایی با وزن زیاد و کم متفاوت می‌باشد یک عامل مهم در تصحیح به شمار می‌رود (۱۷).

کاهش لپتین در نزدیک زایمان به دلیل کاهش در بافت چربی، کاهش بیان لپتین در سلول‌های چربی و کاهش در انسولین بوده و به نظر می‌رسد که GH فقط در ابتدای آبستنی موجب کاهش لپتین می‌شود (۱۷).

لیفرز و همکاران نشان دادند که لپتین بازتابی از بالانس انرژی گاو است (۱۷). هم‌چنین در مطالعاتی نشان داده شده که انسولین و هورمون رشد تنظیم‌کننده بیان لپتین می‌باشند. بالانس منفی انرژی نزدیک زایمان، هم‌زمان با کاهش انسولین و افزایش هورمون رشد می‌باشد (۲). تصور می‌شود که این دو هورمون می‌توانند میانجی بخشی از تأثیرات بالانس انرژی روی لپتین پلازما باشند.



دیگر در افزایش میزان لپتین باشد و سانتوس و همکاران نشان دادند که در قبل از زایمان میزان گلوکز در گاوهای شکم اول نسبت به گاوهای چند شکم زایمان کرده بیشتر می باشد (۲۶) و همان طور که گاوهای شکم اول شیر کمتری تولید می کنند بنابراین گلوکز کمتری برای تولید شیر نیاز دارند و میزان بیشتری به سایر بافت ها می رسد و همان طور که در قسمت قبل توضیح داده شد، ارتباط میزان لپتین و گلوکز نیز مثبت می باشد، که این هم می تواند یکی از علل دیگر افزایش لپتین در گاوهای شکم اول باشد.

در این مطالعه هیچ ارتباطی بین میزان لپتین قبل و بعد از زایش با فاکتورهای تولیدمثلی دیده نشد. لیفرز و همکاران هیچ ارتباطی بین لپتین و اولین فعالیت تخمدانی و پس روی جسم زرد (FPLA) مشاهده نکردند. اما بین میزان لپتین در اولین فحلی مشاهده شده (FE) اختلاف معنی دار مشاهده گردید (۱۷). تصور می شود که احتمالاً افزایش میزان لپتین موجب ظهور بهتر فحلی در حیوانات گردیده و در نتیجه درصد تشخیص فحلی که از بخش های اساسی و مهم تولید مثل می باشد بهتر می گردد. مورد اول به وسیله هولتینوس و همکاران مورد تأیید قرار گرفته است که نشان دادند، میزان لپتین پس از زایش ارتباطی با زمان از سرگیری فعالیت تخمدانی ندارد (۱۱). هم چنین اسکاپر و همکاران ارتباط بین افزایش میزان شیر تولیدی و بیان فحلی ضعیف را نشان دادند (۲۷).

بعد از مصرف مقدار کافی غذا، میزان I6F-I در اثر افزایش حساسیت گیرنده GH در پاسخ به افزایش هورمون انسولین افزایش می یابد (۲۲).

است که گیرنده های این دو فاکتور در سلول های تکا و گرانولوزا وجود دارد. حضور گیرنده های انسولین موجب تسهیل ورود گلوکز و تحریک انتقال گلوکز به داخل سلول های فولیکول می شود و می دانیم که گلوکز تنها منبع انرژی تخمدان است (۱۷).

IGF-I نیز موجب افزایش حساسیت فولیکول ها به گنادوتروپین می شود (۲۳) و فرایند خودکشی سلولی را نیز در فولیکول های تخمدان مهار می کند و در نتیجه فولیکول های تخمک شانس بیشتری پیدا می کنند. این فاکتور به طور موضعی سنتز نمی شود و بیشتر به دنبال تحریک هورمون رشد در کبد ساخته می شود ولی به میزان جزعی در رحم نیز ساخته می شود (۱۹ و ۲۰). میزان IGF-I در گاوهای یک شکم بیشتر از گاوهای چند شکم زایمان کرده می باشد (۳۱). در شرایط افزایش وزن میزان لپتین و IGF-I با هم وابستگی مثبت دارند (۱۵). بعد از مصرف مقدار کافی غذا، میزان I6F-I در اثر افزایش حساسیت گیرنده GH در پاسخ به افزایش هورمون انسولین افزایش می یابد (۲۲).

پس می توان گفت یک علت برای افزایش میزان لپتین در گاوهای شکم اول بیشتر بودن IGF-I در این گاوها نسبت به گاوهای چند شکم زایمان کرده می باشد.

واتس و همکاران نشان دادند که در گاوهای شکم اول هیچ ارتباطی بین میزان انسولین و تولید شیر وجود ندارد در حالی که در گاوهای چند شکم زایمان کرده، ارتباط منفی بالایی بین تولید شیر و میزان انسولین پلاسما وجود دارد. هم چنین گاوهای شکم اول شیر کمتری نسبت به شکم های بالاتر تولید می کنند (۳۱). میزان شیر با میزان لپتین رابطه عکس نشان داده است (۱۷) و بنابراین تولید کمتر در این گاوها می تواند علتی

## منابع مورد استفاده

1. Ahima, R. S. and S. M. Hileman. 2000. Postnatal regulation of hypothalamic neuropeptide expression by leptin: implications for energy balance and body weight regulation. *Regul. Pept.* 92: 1-7.
2. Barash, I. A., C. C. Cheung, D. S. Weigle, H. Ren, E. B. Kabigting, J. L. Kuijper, D. K. Clifton and R. A. Steiner. 1996. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology* 137:3144-3147.
3. Beam, S.W. and W. R. Butler. 1999. Effect of energy balance on follicular development and first ovulation in

- postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 54 (Suppl.): 411-424.
4. Block, S. S., W. R. Butler, R. A. Ehrhardt, A. W. Bell, M. E. van Amburgh and Y. R. Boisclair. 2001. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *Endocrinology* 171:339-348.
  5. Chilliard, Y., M. Bonnet, C. Delavaud, Y. Faulconnier, C. Leroux, J. Djiane and F. Bocquier. 2001. Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland and regulation of plasma concentration. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21:271-295.
  6. Delavaud, C., A. Ferlay, Y. Falconnier, F. Bocquier, G. Kann, and Y. Chilliard. 2002. Plasma leptin concentration in adult cattle: Effect of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. *J. Anim. Sci.* 80:1317-1328.
  7. Downing, J. A. J. Joss and R. J. Scaramuzzi. The effect of a direct arterial infusion of insulin and glucose on the ovarian secretion rates of androstenedione and oestradiol in ewes with an autotransplanted ovary. *Endocrinology* 163: 531-541.
  8. Forhead, A. J., L. Thomas, J. Crabtree, N. Hoggard, D. S. Gardner, D. A. Giussani and A. L. Fowden. 2002. Plasma leptin concentration in fetal sheep during late gestation: ontogeny and effect of glucocorticoids. *Endocrinology* 143:1166-1173.
  9. Gentry, L. R., D. L. Thompson, Jr., G. T. Gentry, Jr., K. A. Davis, R. A. Godke and J. A. Cartmill. 2002. The relationship between body condition, leptin, and reproductive and hormonal characteristics of mares during the seasonal anovulatory period. *J. Anim. Sci.* 80:2695-2703.
  10. Halaas, J. L., K. S. Gajiwala, M. Maffei, S. L. Cohen, B. T. Chait, D. Rabinowitz, R. L. Lallone, S. K. Burley and J. M. Friedman. 1995. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269:543-546.
  11. Holtenius, K., S. Agenas, H. Gustafsson, C. Delavaud and Y. Chilliard. 2002. The effect of feeding intensity during the dry period on plasma leptin and time to return to cyclicity in dairy cows. *Proc. Brit. Soc. Anim. Sci.* p1 (abstract).
  12. Jang, M., A. Mistry, A. G. Swick and D. R. Romsos. 2000. Leptin rapidly inhibits hypothalamic neuropeptide Y secretion and stimulates corticotropin-releasing hormone secretion in adrenalectomized mice. *J. Nutr.* 130:2813-2820.
  13. Kastin, A. J., W. Pan, L. M. Maness, R. J. Koletsky and P. Ernsberger. 1999. Decreased transport of leptin across the blood-brain barrier in rats lacking the short form of the leptin receptor. *Peptides.* 20:1449-1453.
  14. Lents, C.A., R.P. Wettemann, F.J. White, I. Rubio, N.H. Ciccioli, L. J. Spicer, D.H. Keisler and M.E. Payton. 2005. Influence intake and body fat on concentrations of insulin-like growth factor-I, Insulin, thyroxine and leptin in Plasma of gestating beef Cow. *J. Anim. Sci.* 83:586-596.
  15. Leon, H. V., J. Hernandez-ceron, D. H. Keisler and C. G. Gutierrez. 2004. plasma concentrations of leptin, insulin-like growth factor-I, and insulin in relation to changes in body condition score in heifers. *J. Anim. Sci.* 82:445-451.
  16. Leury, B. J., L. H. Baumgard, S. S. Block, N. Segoale, R. A. Ehrhardt, R. P. Rhoads, D. E. Bauman, A. W. Bell, and Y. R. Boisclair. 2003. Effect of insulin and growth hormone on plasma leptin in the periparturient dairy cow. *Am. J. Physiol.* 285:R1107-R1115.
  17. Liefers, S. C., R. F. Veerkamp, M. F. W. te Pas, C. Delavaud, Y. Chilliard and T. van der Lende. 2003. Leptin Concentrations in Relation to Energy Balance, Milk Yield, Intake, Live Weight, and Estrus in Dairy Cows. *J. Dairy. Sci.* 86:799-807.
  18. Littele, R. C., P. R. Henry and C. B. Ammerman. 1998. Statistical Analysis of Repeated Measures Data Using SAS Procedures I. *J. Anim. Sci.* 76:1216-1231.
  19. Malik, N. M., N. D. Carter, J. F. Murray, R. J. Scaramuzzi, C. A. Wilson and M. J. Stock. 2001. Leptin requirement for conception, implantation, and gestation in the mouse. *Endocrinology* 142:5198-202.
  20. Mann, G. E., S. J. Mann, D. Blache and R. Webb. 2005. Metabolic variables and plasma leptin concentrations in dairy cows exhibiting reproductive cycle abnormalities identified through milk progesterone monitoring during the post partum period. *Anim. Reprod. Sci.* 88: 191-202
  21. Meikle, A., M. Kulcsar, Y. Chilliard, H. Febel, C. Delavaud and D. Cavestany, et al. 2004. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction* 127:727-37.
  22. Pao, C.I., P.K. Farmer, S. Begovic, B. C. Villafuerte, G. Wu. D. G. Robertson and L. gen transcription by hormones and provision of amino acids in rat hepatocytes. *Mol.*
  23. Poretsky, L. N. A. Cataldo, Z. Rosenwaks and L. C. Giudice. The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocrine Rev.* 1999. 20:535-582.
  24. Ren, M. Q., J. Wegner, O. Bellmann, G. A. Brockmann, F. Schneider, F. Teuscher and K. Ender. 2002. Comparing mRNA levels of genes encoding leptin, leptin receptor and lipoprotein lipase between dairy and beef cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 23:371-381.

25. Royal, M.D., A. O. Darwash, A.P.F. Flint, R. Webb, J.A. Wooliams and G.E. Lamming. 2000. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine variables of fertility. *Anim. Sci.* 70: 487–501.
26. Santos, J. E., E. J. DePeters, P. W. Jardon and J. T. Huber. 2001. Effect of prepartum dietary protein level on performance of primigravid and multiparous Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:213–24.
27. Schopper, D., R. Schemer, U. Weiler and R. Claus. 1993. Influence of milk yield on the fertility of dairy cows postpartum: evaluation of progesterone profiles. *Repr. Dom. Anim.* 28:225-235.
28. Spicer, L. J. and C. C. Francisco. 1997. The adipose obese gene product, leptin: evidence of a direct inhibitory role in ovarian function. *Endocrinology* 138:3374-3379.
29. Spicer, L. J. and C. C. Francisco. 1998. Adipose obese gene product, leptin, inhibits bovine ovarian thecal cell steroidogenesis. *Biol. Reprod.* 58:207-212.
30. Van der Lende, T. 1998. Physiological aspects of reproduction and fertility in dairy cows. Proceedings International Workshop on Genetic Improvement of Functional Traits in Cattle, Fertility and Reproduction. Grub, Germany. *Interbull Bull.* 18:33-39.
31. Wathes, D. C., Z. Cheng, N. Bourne, V. J. Taylor, M. P. Coffey and S. brotherstone. 2006. differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. *Domest. Anim. Endocrinol.* 33:203-225..
32. Zieba, D. A., M. Amstalden and G. L. Williams. 2005. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: A comparative review. *Domst. Anim. Endocrinol.* 29:166-185.
33. Zieba, D. A., M. Amstalden, M. N. Maciel, D. H. Keisler, N. Raver, A. Gertler and G. L. Williams. 2003. Divergent effects of leptin on luteinizing hormone and insulin secretion are dose dependent. *Exp. Biol. Med.* (Maywood) 228:325-330.