دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

مقایسه ترکیبات بیوشیمیایی سرم خون و مایع فولیکولی تخمدان در فولیکول‌های با اندازه‌های متفاوت در گاوهای شیری

شمشاد قجقی[۱]، فیروز صمدی[۲] و سعید حسنی[۳]

۱ و ۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، (نویسنده مسوول: F.samadi@gau.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۱۶

چکیده

ترکیبات بیوشیمیایی مایع فولیکولی ممکن است تحت تأثیر تغییرات متابولیک سرم خون و فعالیت متابولیک سلول‌های فولیکولی باشند. این پژوهش با هدف بررسی تغییرات متابولیک و هورمونی سرم خون و مایع فولیکولی در فولیکول‌های با اندازه‌های متفاوت در گاوهای شیری هلشتاین انجام شد. مایع فولیکولی از سه گروه فولیکولی، کوچک (کوچکتر از ۵ میلی‌متر)، متوسط (۱۰-۵ میلی‌متر) و بزرگ (بزرگتر از ۱۰ میلی‌متر) به طور جدا استخراج شد. نمونه‌های خون پیش از کشتار از سیاهرگ دمی ۱۰ رأس گاو گرفته شدند. غلظت فراسنجه‌هایی مانند گلوکز، اوره، کلسترول، تری‌گلیسیرید و هورمون‌های استروژن، پروژسترون و IGF-1 سرم خون و مایع فولیکولی با استفاده از کیت‌های تجاری مربوطه اندازه‌گیری شدند. برای مقایسه غلظت متابولیت‌ها و هورمون‌ها در سرم خون و مایع فولیکولی از مدل مختلط استفاده شد. نتایج نشان داد که با افزایش اندازه فولیکول‌ها، غلظت گلوکز، استروژن و IGF-1 مایع فولیکولی به طور معنی‌داری افزایش یافت، اما کاهش معنی‌داری در غلظت اوره، تری‌گلیسیرید و پروژسترون مایع فولیکولی مشاهده شد. افزون بر آن، همبستگی جزیی معنی‌داری بین غلظت‌های IGF-1 (r=۰/۴۸)، پروژسترون (r=۰/۴۷)، اوره (r=۰/۷۶) و کلسترول (r=۰/۷۴)، مایع فولیکولی با سرم خون وجود داشت. نتایج نشان داد که تغییرات بیوشیمیایی مایع فولیکولی تحت تأثیر ترکیبات بیوشیمیایی سرم خون می‌باشد. ارتباط مستقیمی بین غلظت هورمون‌های استرواییدی، IGF-1، گلوکز، اوره، کلسترول و تری‌گلیسیرید مایع فولیکولی با رشد فولیکول‌ها وجود داشت. به طور کلی شناسایی ترکیبات بیوشیمیایی ضروری برای رشد و بلوغ فولیکول، زمینه‌ای را فرآهم می‌کند تا شرایط لازم برای بهبود کیفیت اووسیت در حال رشد و در نهایت تولیدمثل بهینه فراهم شود.

واژه های کلیدی: گاوشیری، اندازه فولیکول، ترکیبات بیوشیمیایی، مایع فولیکولی، سرم خون

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

توجه به تولیدمثل و جنبه‌های آن به لحاظ فنی و مدیریتی برای افزایش بازده تولید برای تمام محصولات دامی دارای اهمیت است (۳۹). بنابراین تولیدمثل نقش اساسی در پویایی و اقتصاد گله‌های شیری دارد. از دیدگاه متخصصین حالت بهینه بازده تولیدمثل گاو را می‌توان به توانایی گاو برای آبستن شدن و تولد گوساله زنده و سالم به ازای هر سال تعریف کرد (۶۱). برای رسیدن به چنین شرایطی، آگاهی از اصول و راهکارهای عملی فرآیند تولیدمثل و کاستن سازه‌های مؤثر بر کاهش عملکرد تولیدمثلی امری ضروری است (۳۹). ناباروری و کاهش باروری تاثیر منفی زیادی بر عملکرد گله‌های شیری دارد. زیان‌های اقتصادی ناشی از ناباروری و کاهش باروری در گله‌های گاو شیری شامل کاهش تولید شیر، کاهش بازدهی غذا، کاهش نرخ گوساله‌زایی و کاهش ارزش گاو است. بنابراین ارزیابی عوامل مؤثر بر تولیدمثل، زمینه‌ای را فرآهم می‌سازد تا عواملی که در کاهش باروری و ناباروری گله مؤثر هستند، شناسایی شوند (۵۸). فولیکول‌سازی مهمترین و اساسی‌ترین گامه فعالیت تولیدمثلی در دام‌های ماده است (۶۱). تخمدان دارای مخزنی از فولیکول‌های مادری است که در دوران جنینی ساخته می‌شوند. در خلال حیات حیوان مرتباً تعدادی از فولیکول‌های مادری شروع به رشد می‌کنند. هر فولیکولی که از مخزن خارج می‌شود رشد خود را تا مرحله تخمک‌ریزی انجام می‌دهد، یا این که در بین راه از بین می‌رود. فرآیند رشد فولیکولی شامل مجموعه منظمی از تغییرات درون سلولی و مولکولی در اجزای مختلف فولیکول مانند تخمک، گرانولوزا و لایه تیکا می‌باشد. این تغییرات، تحت کنترل سازه‌های مختلف درون تخمدانی، درون فولیکولی و فراسنجه‌های هورمونی که منجر به ترشح استروئیدها می‌شوند، صورت می‌گیرد. در خلال رشد فولیکول، سلول‌های تیکا و گرانولوزا تحت تاثیر هورمون‌ها تکثیر و تغییر شکل می‌یابند. در نتیجه توانایی فولیکول‌ها در تولید استروژن و واکنش به گنادوتروپین‌ها افزایش می‌یابد (۱۳). طی مراحل رشد فولیکولی، مایع فولیکولی شرایط لازم برای رشد و بلوغ اووسیت را فرآهم می‌کند (۱۷). مایع فولیکولی بیشتر از پلاسمای خون حاشیه فولیکول به وجود می‌آید که به صورت تراوش از غشای پایه فولیکول عبور کرده و در حفره فولیکول جمع می‌شود. این مایع حاوی اجزای خاصی مانند استروئیدها نیز می‌باشد که توسط سلول های گرانولوزا تراوش می‌شوند. بنابراین مایع فولیکولی محتوی فاکتورهای رشد، هورمون‌ها و مواد مغذی مختلف برای رشد و بلوغ اووسیت می‌باشد (۱). توانایی اووسیت‌ها از راه تنظیم هورمونی که سرانجام باعث بلوغ نهایی اووسیت و تخمک‌ریزی می‌شود، افزایش می‌یابد (۳۱). بنابراین از مهمترین عوامل کنترل کننده رشد و نمو فولیکول‌ها، هورمون‌های استروژن و پروژسترون می‌باشند. در گاوهای شیری، غلظت

Archive of SID

www.SID.ir

استروژن مایع فولیکولی، همزمان با بزرگ‌تر شدن اندازه فولیکول‌ها افزایش می‌یابد (۲، ۴، ۵). استروژن دارای سه نوع فعالیت است: ۱) شروع رفتارهای فحلی ۲) آماده‌سازی مجرای تولیدمثل برای فرآیندهای مرتبط با لقاح ۳) شروع تراوش LH که برای تخمک‌ریزی لازم است (۱۷). بنابراین همزمان با رشد فولیکول‌ها میزان تراوش استروژن به داخل مایع فولیکولی افزایش می‌یابد (۴۱) و استروژن تولید شده به وسیله سلول‌های گرانولوزای تخمدان در بهبود رشد و بلوغ اووسیت مهم است (۳۲، ۵۰). به همان نحو که غلظت پروژسترون در پلاسما نمایانگر فعالیت جسم زرد می‌باشد، مقدار آن نوعی شاخص دقیق فعالیت تخمدانی بوده و تعیین غلظت آن برای پایش آبستنی، چرخه تولیدمثلی و فعالیت تخمدان‌ها پس از زایمان مورد استفاده قرار گرفته است (۱۷). بنابراین عامل کلیدی مؤثر در رشد و نمو اووسیت‌ها، تفاوت در غلظت هورمون‌های استرویيدی است (۵۰). علاوه بر عوامل درون‌ریز و گنادوتروپین‌های ضروری برای فولیکول‌سازی تخمدان، وجود هورمون‌های تولید شده موضعی و فاکتورهای رشد نیز ضروری به نظر می‌رسد (۲۰). عواملی مانند اندازه فولیکول غالب، فراوانی ضربان‌های LH، غلظت انسولین و IGF-1 خون، زمان تخمک‌ریزی اولین فولیکول غالب را تعیین می‌کنند. بنابراین رشد فولیکول‌های تخمک‌ریزی کننده به وسیله هورمون‌های متابولیک نیز کنترل می‌شود (۲۹). فاکتورهای متابولیکی که ممکن است وضعیت تغذیه‌ای را با عملکرد تخمدان و هیپوتالاموس مرتبط کنند، شامل انسولین و IGF-1 می‌باشد (۱۱، ۱۸). بنابراین، علاوه بر هورمون‌های استرویيدی و گنادوتروپین‌ها، فاکتورهای متابولیک مانند IGF-1 و هورمون انسولین نیز در فولیکول‌سازی نقش دارند (۶۰). مطالعات سلولی نشان دادند که سلول‌های گرانولوزا به عنوان سلول‌های اصلی تخمدانی با تولید و بیان ژن IGF-1 ارتباط دارند (۵۲).

این هورمون‌ها همراه با گنادوتروپین‌ها می‌توانند رشد و نمو فولیکول‌های تخمدان را تحریک کنند (۲۰). همچنین IGF-1 و انسولین، تولید استروژن و پروژسترون را افزایش می‌دهند و افزایش فعالیت آنزیم آروماتاز با FSH همکاری می‌کند (۳۸). بنابراین فولیکول‌های بالغ تحت تاثیر مقادیر زیاد IGF-1 و انسولین و با تراوش استروژن به مرحله تخمک‌ریزی می‌رسند (۲۹). غلظت‌های IGF-1 مایع فولیکولی در طی رشد و نمو فولیکول‌ها و همچنین توسط گنادوتروپین‌ها و هورمون رشد افزایش می‌یابد (۶۲). در گاو ماده، میش و مادیان، غلظت IGF-1 در فولیکول‌های سالم و بزرگ همبستگی مثبتی با غلظت‌های سرمی دارند (۳۵).

عدم تخمک‌ریزی در اولین موج فولیکولی، با غلظت کم انسولین در سرم خون مرتبط می‌باشد (۳۴). گیرنده‌های انسولین در تمام قسمت‌های تخمدان، مانند بافت گرانولوزا، تیکا

Archive of SID

www.SID.ir

و استروما پراکنده‌اند (۱۰). مطالعات آزمایشگاهی نشان دادند که انسولین به طور مستقیم میتوز و تولید استروئید سلول‌های گرانولوزا را تحریک می‌کند (۳۴). انسولین از راه افزایش گیرنده‌های LH، واکنش تخمدان به گنادوتروپین‌ها را افزایش داده و اثر مثبتی بر گزینش آغازین فولیکول‌های کوچک و نیز رشد بهتر فولیکول دارد (۱۹). در خلال فرآیند فولیکول‌سازی، به سبب تراوش‌های سلول‌های گرانولوزا به درون مایع فولیکولی، مواد مغذی و فاکتورهای لازم برای رشد و بلوغ اووسیت فرآهم می‌شود (۶۱). مایع فولیکولی منعکس کننده فعالیت‌های بیوشیمیایی و هورمونی فولیکول‌ها در اندازه‌های متفاوت است (۱۵). به طور کلی بخشی از مایع فولیکولی تراوش شده از سرم خون و همچنین ترکیبی ویژه از مواد تولید شده موضعی داخل فولیکول است که با فعالیت متابولیک سلول‌های فولیکولی مرتبط می‌باشد (۲۲). مطالعات نشان دادند که توانایی رشد و بلوغ اووسیت‌ها در گاوهای شیری تحت تاثیر اندازه فولیکول‌ها (۷، ۲۱، ۳۱، ۴۴، ۵۴) و ترکیبات مایع فولیکولی است (۳۱) و همزمان با افزایش اندازه فولیکول‌ها، فعالیت متابولیک فولیکول‌ها و ترکیبات بیوشیمیایی مایع فولیکولی تغییر می‌کند (۱، ۲۴، ۴۲، ۵۸). با توجه به این که منبع بخشی از ترکیبات مایع فولیکولی، سرم خون است، بنابراین رشد و بلوغ فولیکول و در نهایت تخمک‌ریزی تحت تاثیر غلظت متابولیت‌های خون نیز می‌باشد (۲۴). متابولیت‌های سرم خون، خود تحت تأثیر جیره غذایی و نیز شرایط فیزیولوژیک حیوان هستند (۶). گلوکز، اوره، کلسترول و تری‌گلیسرید از جمله متابولیت‌های مهم خون هستند که بر باروری حیوان تأثیر دارند. برای مثال، کاهش قند خون و غلظت زیاد اوره خون سبب کاهش باروری در گاوهای شیری می‌شوند (۳۶). همچنین اختلال در فرآیند متابولیسم تری‌گلیسیریدها و کاهش تولید کلسترول، سنتز هورمون‌های استرویيدی را مختل می‌سازد (۴۷). بنابراین تغییر در ترکیبات بیوشیمیایی خون از شاخص‌های مهم شرایط فیزیولوژیک در حیوان است و تغییرات متابولیک سرم خون ممکن است بر ترکیبات بیوشیمیایی مایع فولیکولی و به طور غیرمستقیم بر رشد و نمو اووسیت مؤثر باشد. از این رو قبل از بحث در مورد اثرات احتمالی تغییرات متابولیک و هورمونی مایع فولیکولی بر کیفیت اووسیت، بررسی غلظت فیزیولوژیک بیشتر متابولیت‌ها و هورمون‌های مایع فولیکولی در فولیکول‌های با اندازه‌های متفاوت، ضروری به نظر می‌رسد (۱، ۵۸). بنابراین پژوهش کنونی با هدف بررسی غلظت هورمون‌های IGF-1، استروژن، پروژسترون، گلوکز، اوره، کلسترول و تری‌گلیسیرید سرم خون و مایع فولیکولی تخمدان در فولیکول‌های با اندازه‌های مختلف در گاوهای شیری هلشتاین انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در کشتارگاه جلین واقع در پنج کیلومتری شهر گرگان اجرا شد. در این پژوهش از ۱۰ رأس گاو شیری نژاد هلشتاین استفاده شد. گاوها پیش از کشتار از نظر سلامت و بیوگرافی مورد بررسی قرار گرفتند و حدود ۱۰ میلی‌لیتر نمونه خون از سیاهرگ دمی گاوها، با استفاده از لوله‌های بدون ماده ضد انعقاد، گرفته شد. سپس نمونه‌های خون در داخل فلاسک یخ قرار داده شده و به آزمایشگاه منتقل شدند. سرم‌های مربوطه با سانتریفوژ کردن استخراج شدند (۳۰۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه). سرم‌های به دست آمده تا زمان اندازه‌گیری فاکتورهای مورد بررسی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تخمدان‌های گاوهای کشتار شده، پس از بررسی فولیکول‌های موجود در آن و اطمینان از دارا بودن هر سه گروه فولیکولی، با قرار دادن در داخل کیسه‌های پلاستیکی دارای سرم فیزیولوژیک و در جعبه یخ، طی زمان یک ساعت پس از کشتار به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس قطر فولیکول‌های مختلف تخمدان‌های چپ و راست با کمک کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شدند. فولیکول‌ها براساس قطرشان به سه گروه فولیکولی با اندازه‌های کوچک‌تر از ۵ میلی‌متر (گروه۱)، ۱۰-۵ میلی‌متر (گروه ۲) و بزرگ‌تر از ۱۰ میلی‌متر (گروه ۳) طبقه‌بندی شدند (۳۱). مایع فولیکولی از گروه‌های سه‌گانه فولیکولی به طور جداگانه و به وسیله سرنگ یک میلی‌لیتری جمع‌آوری شد. برای هر گاو (تخمدان‌های چپ و راست) و هر گروه فولیکولی از سرنگ و سرسوزن جدا استفاده شد. مایع فولیکولی به دست آمده برای هر گروه فولیکولی در هر تخمدان، مخلوط و پس از جدا کردن سلول‌های گرانولوزا با سانتریفوژ کردن (۱۰۰۰۰ دور به مدت ۷ دقیقه) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شد. غلظت‌های گلوکز، اوره، کلسترول و تری‌گلیسیرید نمونه‌های مایع فولیکولی و سرم خون با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون و به روش فتومتریک و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Auto Analyzer) اندازه‌گیری شدند. غلظت هورمون‌های استروژن، پروژسترون و IGF-1 نمونه‌های سرم خون و مایع فولیکولی با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی اندازه‌گیری شدند. استروژن با کیت (DE2693) از شرکت DEMEDITE و پروژسترون با کیت (RE52231) شرکت IBL، با روش الایزا اندازه‌گیری شدند. غلظت IGF-1 نیز به وسیله کیت‌تجاری شرکت IDS (Immunodiagnostic Systems) (AC-27F1) به روش آزمایشگاهی IEMA (Immunoenzymometric assay) در آزمایشگاه لاندا گرگان اندازه‌گیری شد. داده‌های به دست آمده از آنالیز نمونه‌ها پس از مرتب کردن در نرم‌افزار EXCEL، با استفاده از نرم‌افزار SAS (۴۹) تجزیه و تحلیل شدند. مقادیر میانگین حداقل مربعات (± خطای استاندارد) برای غلظت‌های متفاوتی از IGF-1،

Archive of SID

www.SID.ir

استروژن، پروژسترون، گلوکز، اوره، تری‌گلیسیرید و کلسترول مایع فولیکولی در گروه‌های سه‌گانه فولیکولی و سرم خون تعیین شدند. بررسی غلظت این ترکیبات بین گروه‌های فولیکولی و سرم خون به وسیله مدل خطی مختلط، انجام شد. مدل مختلط یک مدل آماری در برگیرنده هر دو اثر ثابت و تصادفی است. در این روش اندازه‌های فولیکولی به عنوان اثرات ثابت و حیوان به عنوان اثر تصادفی در نظر گرفته شد. برای مقایسه میانگین‌های حداقل مربعات غلظت ترکیبات بیوشیمیایی سرم خون و مایع فولیکولی در اندازه‌های مختلف فولیکولی، از آزمون توکی-کرامر در سطح پنج درصد خطای آماری استفاده شد. از ضریب همبستگی ساده با استفاده از رویه Corr برنامه SAS و همچنین ضریب همبستگی جزئی[1] برای تعیین رابطه غلظت هورمون‌ها و متابولیت‌های سرم خون با مایع فولیکولی استفاده شد. در همبستگی جزئی متغیر اندازه فولیکول کنترل شد.

فرم ماتریسی مدل مختلط به صورت زیر می‌باشد: $y=x\beta+Zu+\varepsilon$

y: بردار مشاهدات، β: بردار اثر ثابت اندازه فولیکول و سرم خون، u: بردار اثر تصادفی حیوان، ε: بردار اثر تصادفی خطا، x و Z: به ترتیب ماتریس‌های ضرایب مرتبط کننده مشاهدات y با β و u هستند.

نتایج و بحث

میانگین حداقل مربعات (± خطای استاندارد) غلظت گلوکز، اوره، کلسترول، تری‌گلیسیرید و IGF-1، استروژن و پروژسترون سرم خون و مایع فولیکولی در فولیکول‌های کوچک‌تر از ۵ میلی‌متر (گروه ۱)، ۱۰-۵ میلی‌متر (گروه ۲)، بزرگ‌تر از ۱۰میلی‌متر (گروه ۳) و سرم خون در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است. این مطالعه نشان داد که غلظت استروژن بین گروه‌های سه‌گانه فولیکولی، با هم و نیز گروه‌های فولیکولی فوق با سرم خون، تفاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) دارند (جدول ۱). غلظت استروژن مایع فولیکولی به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) با افزایش اندازه فولیکول‌ها افزایش یافت. هماهنگ با نتایج این مطالعه، رناویل و همکاران (۴۶)، طباطبایی و همکاران (۵۴)، گینتر و همکاران (۲۳)، وایس (۶۰) و اینسپانیر و همکاران (۱۶) در گاوهای شیری و کولکارنی و همکاران (۳۳) و هودا و یاداو (۲۸) در بوفالو نشان دادند که غلظت استروژن مایع فولیکولی، همزمان با رشد فولیکول‌ها بیشتر می‌شود و رابطه مستقیمی بین افزایش غلظت استروژن و اندازه فولیکول‌ها وجود دارد. کلامپ (۳۱) نیز بیشترین غلظت استروژن را در فولیکول‌های با قطر حدود ۱۵ میلی‌متر گزارش کرد. در پژوهشی دیگر، افزایش ناگهانی استروژن در فولیکول‌های بزرگ‌تر از ۸

1- Partial correlation

Archive of SID

www.SID.ir

میلی‌متر گزارش شد که این افزایش با بزرگ‌تر شدن اندازه فولیکول‌ها همراه بود (۴۳). خدایی و همکاران (۳۰) نیز تفاوت معنی‌داری را بین میانگین غلظت استروژن در اندازه‌های مختلف فولیکولی نشان دادند که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد. آنها نشان دادند که اثر تیمار (اندازه‌های فولیکولی) بر غلظت پارامترهای اندازه‌گیری شده مؤثر است، به شیوه‌ای که با افزایش اندازه فولیکول بر غلظت استروژن افزوده می‌شود. به نظر می‌رسد که سلول‌های گرانولوزا به طور عمده محل فعالیت آروماتازی آندروژن داخل فولیکول می‌باشند و هورمون FSH فعالیت آروماتازی سلول‌ها را تحریک کرده و در نتیجه باعث افزایش تولید استروژن می‌شود (۵۹).

جدول ۱- مقایسه غلظت‌های استروژن، پروژسترون و IGF-1 در گروه‌های سه‌گانه فولیکولی و سرم خون (میانگین ± خطای استاندارد)

	استروژن (pg/ml)	پروژسترون (ng/ml)	IGF-1 (µg/L)
فولیکول‌های کوچک (کوچکتر از ۵ میلی‌متر)	۷۳۳/۶۷±۲۲۱/۶۳^{c}	۷۰/۵۵±۵/۳۰^{a}	۸/۰۱±۳/۲۸^{b}
فولیکول‌های متوسط (۱۰- ۵ میلی‌متر)	۱۶۳۸/۹۷±۲۲۱/۶۳^{b}	۵۸/۳۲±۵/۳۰^{a}	۹/۵۴±۳/۲۸^{b}
فولیکول‌های بزرگ (بزرگتر از ۱۰ میلی‌متر)	۲۸۵۲/۹۶±۲۲۱/۶۳^{a}	۳۱/۴۶±۵/۳۰^{b}	۲۵/۹۹±۲۸^{a}
سرم خون	۱۵۷±۲۲۱/۶۳^{d}	۲۶/۲۵±۵/۳۰^{b}	۱۴/۹۳±۳/۲۸^{b}
خطای میانگین (SEM)	۱۶۶/۸۹	۵/۷۷	۳/۲۶

حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۲- مقایسه غلظت‌های گلوکز، اوره، کلسترول و تری‌گلیسرید در گروه‌های سه‌گانه فولیکولی و سرم خون (میانگین ± خطای استاندارد)

	گلوکز (mg/dl)	اوره (mg/dl)	کلسترول (mg/dl)	تری‌گلیسرید (mg/dl)
فولیکول‌های کوچک (کوچکتر از ۵ میلی‌متر)	۲/۹۷±۳۱^{b}	۲/۳۷±۲۶/۵^{a}	۵/۷۳±۴۵/۵^{b}	۱/۵۸±۴۳^{a}
فولیکول‌های متوسط (۱۰-۵ میلی‌متر)	۲/۹۷±۳۸/۲^{b}	۲/۳۷±۲۲/۶^{bc}	۵/۷۳±۵۰/۵^{b}	۱/۵۸±۳۹/۲^{ab}
فولیکول‌های بزرگ (بزرگتر از ۱۰ میلی‌متر)	۲/۹۷±۵۸/۸^{a}	۲/۳۷±۲۰/۷^{c}	۵/۷۳±۵۸/۲^{b}	۱/۵۸±۳۴/۱^{c}
سرم خون	۲/۹۷±۵۴/۵^{a}	۲/۳۷±۲۵/۱^{ab}	۵/۷۳±۸۱/۳^{a}	۱/۵۸±۳۸^{bc}
خطای میانگین (SEM)	۲/۶۱	۲/۳۷	۵/۷	۱/۸۷

حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

در این مطالعه همبستگی مثبتی بین غلظت استروژن همه گروه‌های سه‌گانه فولیکولی با سرم خون مشاهده شد. بیشترین غلظت مربوط به گروه ۲ فولیکولی با سرم خون بود (r=۰/۲۶). همبستگی جزیی مثبتی نیز بین استروژن مایع فولیکولی و سرم خون مشاهده شد (جدول ۳). بنابر این محیط استروژنیک داخل فولیکول، با رشد مطلوب فولیکول‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

مرتبط می‌باشد. به نظر می‌رسد افزایش غلظت استروژن خون که از مرحله قبل از تخمک‌ریزی فولیکول‌ها شروع می‌شود، در رشد و نمو اووسیت مؤثر باشد (۶۱).

جدول ۳- همبستگی بین غلظت‌های استروژن، پروژسترون و IGF-1 مایع فولیکولی در گروه‌های سه‌گانه فولیکولی و سرم خون

	استروژن (pg/ml)	پروژسترون (ng/ml)	IGF-1 (µg/L)
فولیکول‌های کوچک (کوچکتر از ۵ میلی‌متر)	۰/۲۲	۰/۳۴	۰/۴۰
فولیکول‌های متوسط (۱۰-۵ میلی‌متر)	۰/۳۷	۰/۴۳	۰/۴۳
فولیکول‌های بزرگ (بزرگتر از ۱۰ میلی‌متر)	۰/۲۰	۰/۶۳*	۰/۷۰*
همبستگی جزئی مایع فولیکولی- سرم خون	۰/۲۶	۰/۷۴*	۰/۴۸*

*: (P<۰/۰۵).

در این پژوهش رابطه معکوسی بین غلظت پروژسترون مایع فولیکولی با اندازه فولیکول یافت شد، به طوری که غلظت پروژسترون مایع فولیکولی با افزایش اندازه فولیکول‌ها به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کاهش یافت. اگرچه در مقایسه آماری غلظت پروژسترون، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های فولیکولی ۱ با ۲ و گروه ۳ با سرم خون مشاهده نشد (جدول ۱)، بین غلظت پروژسترون (r=۰/۴۷) مایع فولیکولی با سرم خون همبستگی جزیی مثبتی وجود داشت. همچنین همبستگی معنی‌داری (P<۰/۰۵) نیز بین غلظت پروژسترون گروه ۳ (r=۰/۶۳) با سرم خون مشاهده شد (جدول ۳). در این مورد، نتایج این مطالعه با گزارش نیشیماتو و همکاران (۴۳) هم خوانی داشت. این پژوهشگران غلظت‌های متفاوتی از پروژسترون را در اندازه‌های مختلف فولیکولی گزارش کردند و غلظت پروژسترون مایع فولیکولی با افزایش اندازه فولیکول‌ها کاهش یافت. در مطالعه‌ای دیگر، رناویل و همکاران (۴۶) غلظت پروژسترون بیشتری را در فولیکول‌های کوچک‌تر گزارش کردند. همچنین همسو با نتایج این مطالعه، کاهش معنی‌داری در غلظت پروژسترون فولیکول‌های بزرگ‌تر به وسیله طباطبایی و همکاران (۵۴) و کلامپ (۳۱) گزارش شد. بنابراین تفاوت در غلظت استروئیدهای مایع فولیکولی در مراحل مختلف رشد فولیکولی نشان می‌دهد که سلول‌های فولیکول توانایی زیادی برای تغییر در مقدار تولید هورمون‌ها دارند و افزایش یا کاهش هورمون‌های استروئیدی تاثیر زیادی بر توانایی رشد و بلوغ اووسیت‌ها دارد (۳۱).

غلظت پلاسمایی IGF-1 با رشد و نمو فولیکول‌ها و در نهایت بلوغ اووسیت در ارتباط است (۲۹). بر این اساس، تغییر در سیستم IGF-1 داخل تخمدانی باعث انتخاب یک

Archive of SID

www.SID.ir

فولیکول چیره از بین فولیکول‌های هم اندازه و آماده‌سازی برای رشد و تخمک‌ریزی می‌شود (۴۶). در این مطالعه، غلظت IGF-1 مایع فولیکولی با بزرگ‌تر شدن قطر فولیکول‌ها افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) یافت (جدول ۱). مطابق با نتایج مطالعه حاضر، کلامپ (۳۱)، هاموند و همکاران (۲۶)، و بگ و گینتر (۴) افزایش غلظت IGF-1 را همزمان با افزایش اندازه فولیکول‌ها گزارش کردند. این عمل می‌تواند به توانایی IGF-1 برای تنظیم تمایز و افزایش فعالیت سلول‌های فولیکولی نسبت داده شود (۲). بنابراین IGF-1 از راه تحریک سنتز هورمون‌های استروئیدی سلول‌های گرانولوزا باعث افزایش فعالیت فولیکول‌های تخمدان، طی رشد و نمو فولیکولی می‌شود (۵۲). این موضوع نشان دهنده افزایش تولید غلظت استروژن فولیکولی به وسیله IGF-1 می‌باشد (۲۳). لذا IGF-1 از راه تقویت فراسنجه‌های داخلی FSH، برای افزایش تولید استروژن در فولیکول‌های بالغ عمل می‌کند (۲۹).

در بررسی حاضر، غلظت IGF-1 در فولیکول‌های گروه ۳ به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) افزایش یافت که مشابه نتایج مطالعات گینتر و همکاران (۲۳) و سانتیاگو و همکاران (۴۸) است. به نظر می‌رسد افزایش غلظت IGF-1 در فولیکول‌های غالب، به دلیل افزایش انتشار IGF-1 سرم خون به درون مایع فولیکولی است (۵۱). در مقابل استوارت و همکاران (۵۳) و دلاسوتا و همکاران (۱۴) تفاوتی در غلظت‌های IGF-1 مایع فولیکولی، بین فولیکول‌های بزرگ و کوچک مشاهده نکردند. در این مطالعه همبستگی جزیی مثبتی بین IGF-1 مایع فولیکولی با سرم خون (r=۰/۴۸) وجود داشت. همچنین همبستگی معنی‌داری (P<۰/۰۵) نیز بین غلظت IGF-1 مایع فولیکولی گروه ۳ با سرم خون (r=۰/۷۰) مشاهده شد (جدول ۳). بنابراین بر اساس پیشنهاد سانتیاگو و همکاران (۴۸)، مقدار انتشار IGF-1 خون به داخل مایع فولیکولی طی رشد فولیکول‌ها متفاوت است، در نتیجه تغییر در غلظت IGF-1 مایع فولیکولی در اثر تغییر غلظت و فشار خون و افزایش قابلیت نفوذ غشای سلول‌های فولیکولی می‌باشد (۴۶).

بر اساس یافته‌های این پژوهش، غلظت گلوکز به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) با افزایش اندازه فولیکول‌ها افزایش یافت (جدول ۲). از آنجایی که رشد و بلوغ اووسیت‌ها تحت تاثیر ترکیبات مایع فولیکولی است، بنابراین هر گونه تغییر در ترکیبات بیوشیمیایی مایع فولیکولی می‌تواند بر کیفیت اووسیت‌ها مؤثر باشد (۳۷). یکی از ترکیبات بیوشیمیایی مؤثر بر رشد و نمو اووسیت‌ها گلوکز است که طی رشد فولیکول‌ها به طور معنی‌داری تغییر می‌کند (۱). گلوکز نقش مهمی در فعالیت‌های متابولیسمی تخمدان دارد، زیرا به عنوان منبع اصلی انرژی است و از راه مسیرهای بی‌هوازی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴۲). هماهنگ با یافته‌های پژوهش کنونی، لاندا و همکاران (۳۴)، لروی و همکاران

Archive of SID

www.SID.ir

(۳۶) و طباطبایی و همکاران (۵۴) در گاوهای شیری، چانگ و همکاران (۱۲) در گاوها و تاکور و همکاران (۵۶) در بزها نشان دادند که با بزرگ‌تر شدن اندازه فولیکول‌ها غلظت گلوکز نیز افزایش می‌یابد. افزایش مقدار گلوکز همزمان با افزایش اندازه فولیکول‌ها ممکن است به سبب افزایش مقدار مایع فولیکولی در فولیکول‌های غالب باشد (۲۴). این احتمال وجود دارد که سوخت و ساز گلوکز (در هر واحد از حجم مایع فولیکولی) در فولیکول‌های بزرگ‌تر نسبت به فولیکول‌های کوچک شدت کمتری داشته باشد که در نتیجه باعث مصرف کمتر گلوکز مایع فولیکولی به وسیله سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌ها می‌شود (۳۶). دلیل دیگر زیاد بودن غلظت گلوکز در فولیکول‌های بزرگ، افزایش قابلیت نفوذ گلوکز سرم خون از دیواره سلول‌های فولیکولی در طی رشد فولیکول‌ها است (۳).

بر اساس یافته‌های ارشاد و همکاران (۱)، در پژوهش کنونی مقدار گلوکز سرم خون به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بیشتر از گلوکز مایع فولیکولی گروه ۱ و ۲ بود (جدول ۲). از این رو، ممکن است منبع اصلی گلوکز مایع فولیکولی سرم خون باشد و غلظت کمتری از آن به طور موضعی در داخل فولیکول سنتز شود. در این پژوهش همبستگی جزیی مثبتی ($r=۰/۲۴$) بین غلظت گلوکز سرم خون با مایع فولیکولی مشاهده شد (جدول ۴). همبستگی ساده مثبتی هم بین گلوکز هر یک از گروه‌های سه‌گانه فولیکولی به طور جدا با سرم خون وجود داشت که با نتایج لروی و همکارانش (۳۶) هم خوانی داشت و بیشترین میزان همبستگی مربوط به گلوکز مایع فولیکولی گروه ۳ با سرم خون بود ($r=۰/۵۱$).

جدول ۴- همبستگی بین غلظت‌های گلوکز، اوره، کلسترول و تری‌گلیسیرید در گروه‌های سه‌گانه فولیکولی و سرم خون

	گلوکز (mg/dl)	اوره (mg/dl)	کلسترول (mg/dl)	تری‌گلیسیرید (mg/dl)
فولیکول‌های کوچک (کوچکتر از ۵ میلی‌متر)- سرم خون	۰/۰۹۵	۰/۷۸*	۰/۷۸*	۰/۲۶
فولیکول‌های متوسط (۱۰- ۵ میلی‌متر)- سرم خون	۰/۰۲	۰/۷۶*	۰/۷۱*	۰/۳۲
فولیکول‌های بزرگ (بزرگتر از ۱۰ میلی‌متر)- سرم خون	۰/۵۱	۰/۷۵*	۰/۸۲*	۰/۳۸
همبستگی جزئی مایع فولیکولی- سرم خون	۰/۲۴	۰/۷۶*	۰/۷۴*	۰/۳۲

*: ($P<۰/۰۵$).

علت اصلی عدم آبستنی (یا مرگ و میر آغازین رویان) سمی بودن محصولات فرعی کاتابولیسم پروتئین (آمونیاک و اوره) برای اووسیت و رویان است. بنابراین کیفیت اووسیت در حال رشد تحت تاثیر غلظت زیاد اوره است و مقادیر زیاد اوره در مایع فولیکولی، کلیواژ و

Archive of SID

www.SID.ir

تشکیل بلاستوسیست را مختل می‌کند (۳۶). کاهش غلظت اوره، باعث رشد مناسب اووسیت‌ها همزمان با افزایش قطر فولیکول‌ها می‌شود (۴۲). در این پژوهش رابطه معکوس بین غلظت اوره مایع فولیکولی با اندازه فولیکول وجود داشت. به طوری که غلظت اوره مایع فولیکولی به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) با افزایش اندازه فولیکول‌ها، کاهش یافت (جدول ۲). مقایسه آماری غلظت اوره در مایع فولیکولی، تفاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) را بین گروه‌های ۱ با ۲، ۱ با ۳ و نیز گروه ۳ با سرم خون نشان داد (جدول ۲). در این مورد، نتایج این پژوهش با گزارش ناندی و همکارانش (۴۲) و لروی و همکاران (۳۶) هماهنگی داشت. آنها غلظت‌های متفاوتی از اوره را در اندازه‌های مختلف فولیکولی گزارش کردند و غلظت اوره با افزایش اندازه فولیکول‌ها کاهش یافت. از سوی دیگر، طباطبایی و همکاران (۵۴)، غلظت یکنواختی از اوره را در طی رشد فولیکول‌ها نشان دادند. همبستگی جزیی مثبتی ($r=۰/۷۶$) بین غلظت اوره سرم خون با مایع فولیکولی وجود داشت. در مقایسه بین گروه‌های فولیکولی به طور جداگانه نیز همبستگی معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بین غلظت اوره مایع فولیکولی در گروه ۱ ($r=۰/۷۸$)، گروه ۲ ($r=۰/۷۶$) و گروه ۳ ($r=۰/۷۵$) با سرم خون مشاهده شد (جدول ۴). مشابه با نتایج پژوهش حاضر، لروی و همکاران (۳۶) همبستگی معنی‌داری بین غلظت اوره سرم خون و مایع فولیکولی گزارش کردند. همبستگی زیاد سرم خون با مایع فولیکولی نشان می‌دهد که غلظت‌های اوره ارزیابی شده در سرم خون، غلظت اوره مایع فولیکولی و در نهایت کیفیت اووسیت را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

براساس نتایج حاصل از این پژوهش غلظت کلسترول بین گروه‌های سه‌گانه فولیکولی تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲). با این وجود غلظت کلسترول با بزرگ‌تر شدن اندازه فولیکول‌ها افزایش یافت. همچنین تفاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بین غلظت کلسترول سرم خون با هریک از گروه‌های سه‌گانه فولیکولی مشاهده شد (جدول ۲). یافته‌های پژوهش حاضر، مطابق با نتایج حاصل از پژوهش‌های لروی و همکاران (۳۶) و برانتمیر و همکاران (۹) در گاوهای شیری، ارشاد و همکاران (۱) و ناندی و همکاران (۴۲) در گاومیش، صابری‌وند (۴۷) در گوسفند و بوردولوی و همکاران (۸)، تاکور و همکاران (۵۶)، میشرا و همکاران (۴۰) در بزها است. همچنین برخلاف نتایج این پژوهش طباطبایی و همکاران (۵۴) در گاوهای شیری و تانگاول و نایم (۵۷) در گاومیش، کاهش معنی‌دار در غلظت کلسترول مایع فولیکولی، طی رشد فولیکول‌ها، گزارش کردند. براساس نتایج حاصل از مطالعات ارشاد و همکاران (۱) و لروی و همکاران (۳۷)، غلظت کلسترول سرم خون به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بیشتر از غلظت آن در فولیکول‌های بزرگ، متوسط و کوچک بود که مشابه با نتایج حاصل از پژوهش حاضر است. کلسترول نقش مهمی در فیزیولوژی تخمدان

Archive of SID

www.SID.ir

ایفا می‌کند و به عنوان پیش‌ساز سنتز هورمون‌های استروییدی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱). کلسترول مایع فولیکولی به صورت باند شده با لیپوپروتئین‌های با چگالی زیاد (HDL) یافت می‌شود، زیرا دیگر لیپوپروتئین‌ها (LDL) به دلیل بزرگ بودن نمی‌توانند از دیواره فولیکولی عبور کنند (۲۵، ۴۵). زیاد بودن مقدار کلسترول مایع فولیکولی در فولیکول‌های چیره نشان دهنده انتقال بیشتر کلسترول از خون به داخل مایع فولیکولی است (۴۷) که به وسیله افزایش قابلیت نفوذ دیواره فولیکول‌ها برای ورود (HDL) صورت می‌گیرد (۳، ۵۵). همبستگی جزیی مثبتی (r=۰/۷۴) بین غلظت کلسترول مایع فولیکولی و سرم خون وجود داشت. همچنین همبستگی ساده معنی‌داری (P<۰/۰۵) هم به طور جداگانه بین غلظت کلسترول فولیکول‌های گروه ۱ (r=۰/۷۸)، گروه ۲ (r=۰/۷۱) و گروه ۳ (r=۰/۸۲) با سرم خون مشاهده شد (جدول ۴). لروی و همکاران (۳۶) هم مشابه با نتایج پژوهش حاضر، همبستگی معنی‌داری را بین غلظت کلسترول سرم خون و مایع فولیکولی فولیکول‌های متوسط و بزرگ گزارش کردند.

بر خلاف کلسترول، غلظت تری‌گلیسیرید مایع فولیکولی با افزایش اندازه فولیکول‌ها، به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کاهش یافت. از نظر آماری غلظت تری‌گلیسیرید تفاوت معنی‌داری را بین فولیکول‌های گروه‌های ۱ با ۳، گروه ۱ با سرم خون و گروه ۲ با ۳ نشان داد (جدول ۲).

نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج مطالعات هارلو و همکاران (۲۷)، لروی و همکاران (۳۶) و طباطبایی و همکاران (۵۴) مطابقت داشت. این پژوهشگران بیان کردند که غلظت تری‌گلیسیرید مایع فولیکولی در فولیکول‌های کوچک‌تر بیشتر است. زیرا تری‌گلیسیرید منبع متناوبی از انرژی برای سلول‌های فولیکولی است. همچنین در این پژوهش غلظت تری‌گلیسیرید به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) در فولیکول‌های کوچک نسبت به سرم خون بیشتر بود که با نتایج لروی و همکاران (۳۶) مطابقت داشت. غلظت زیاد تری‌گلیسیریدها در فولیکول‌های کوچک به دلیل عبور نکردن آن از غشای سلول‌های فولیکولی است، زیرا آنها به وسیله اتصال با (VLDL) منتقل می‌شوند که به دلیل حجم زیاد نمی‌توانند از دیواره فولیکولی عبور کنند (۲۵، ۳۶). بنابراین تری‌گلیسیرید مایع فولیکولی به طور عمده نتیجه فرآیند متابولیک موضعی فولیکول است و غلظت ثابتی از تری‌گلیسیرید در مایع فولیکولی، بدون توجه به افزایش آن در سرم بر اثر شرایط فیزیولوژیک یا جیره مصرفی وجود دارد (۳۶). مشابه با نتایج این پژوهش صابری‌وند (۴۷) بیان کرد که غلظت تری‌گلیسیرید در فولیکول‌های بزرگ‌تر کاهشی نسبی را نشان می‌دهد که این رابطه معکوس می‌تواند به دلیل متابولیزه شدن تری‌گلیسیریدها به کلسترول برای ساخت هورمون‌های استروییدی باشد. همبستگی مثبتی (r=۰/۳۸) هم بین تری‌گلیسیرید هریک از گروه‌های سه‌گانه فولیکولی، به طور جداگانه با

Archive of SID

www.SID.ir

سرم خون وجود داشت که بیشترین مقدار مربوط به گروه ۳ با سرم خون بود. علاوه بر آن، همبستگی جزیی مثبتی (r=۰/۳۲) نیز بین تری‌گلیسیرید مایع فولیکولی با سرم خون مشاهده شد (جدول۴) که مطابق با نتایج لروی و همکاران (۳۶) بود.

نتایج این مطالعه و گزارش‌های سایرین نشان می‌دهد که غلظت هورمون‌ها، به ویژه هورمون‌های استرویید‌ی و متابولیک، طی رشد فولیکول‌ها متفاوت است. علاوه بر آن، بین غلظت این هورمون‌ها در سرم خون با هورمون‌های اشاره شده در مایع فولیکولی همبستگی وجود دارد. وجود رابطه معنی‌دار بین اندازه فولیکولی و غلظت هورمون‌ها در پی بردن به نقش این هورمون‌ها در رشد و بلوغ اووسیت‌ها مفید به نظر می‌رسد. همچنین اووسیت و سلول‌های گرانولوزا در فولیکول‌های تخمدان گاو شیری در یک محیط بیوشیمیایی در اندازه‌های مختلف فولیکولی رشد کرده و بالغ می‌شوند و این محیط با تغییرات غلظت فراسنجه‌های خون در ارتباط است. به طور کلی، شناسایی ترکیبات بیوشیمیایی ضروری برای رشد و بلوغ فولیکول زمینه‌ای را فرآهم می‌کند تا شرایط لازم برای بهبود کیفیت اووسیت در حال رشد و در نهایت تولیدمثل بهینه فراهم شود.

منابع:

1. Arshad, H.M., N. Ahmad, H.A. Samad, N. Akhtar and S. Ali. 2005. Studies on some biochemical constituents of ovarian follicular fluid and peripheral blood in buffaloes. Pakistan Journal of Veterinary Physiology, 25: 189-193.
2. Austin, E.J., M. Mihm, A.C. Evans, P.G. Knigth, J.L. Ireland, J.J. Ireland and J.F. Roche. 2001. Alterations in intra-follicular regulatory factors and apoptosis during selection of follicles in the first follicular wave of bovine estrous cycle. Biology Reproduction, 64: 839-848.
3. Bagavandoss, P., A.R. Midgley and M. Wicha. 1983. Developmental changes in the ovarian follicular basal lamina detected by immunofluoresence and electron microscopy. Journal of Histology Cytochem, 31: 633-640.
4. Beg, M.A. and O.J. Ginther. 2006. Follicle selection in cattle and horses: Role of intra-follicular factors. Journal of Reproduction, 132: 365-377.
5. Beg, M.A., D.R. Bergfelt, K. Kot, M.C. Wiltbank and O.J. Ginther. 2001. Follicular fluid factors and granulosa-cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. Biology Reproduction, 64: 432-441.
6. Bertoni, G., E. Trerisi, R. lombardelli and F. Picciolo capelli. 2003. Factors affecting level and post-feeding behaviour of insulin in dairy cows. Journal of Animal Science, 80 (Suppl. 1): Abstract.
7. Blondin, P. and M.A. Sirard. 1994. The influence of oocyte and follicular morphology on developmental competence in superovulated heifers. Theriogenology, 41: 164-170.

Archive of SID

www.SID.ir

8. Bordoloi, P.K., B.C. Sarmah, D.J. Dutta and B.C. Deka. 2000. Follicular fluid cholesterol in goat ovary. Indian Journal of Veterinary.77: 638-639.
9. Brantmeier, S.A., R.R. Grummer and R.L. Ax. 1987. Concentrations of highdensity lipoproteins vary among follicular sizes in the bovine. Journal of Dairy Science. 70: 2145-2149.
10. Butler, S.T., S.H. Pelton and W.R. Butler. 2004. Insulin increases 17β-esteradiol production by the dominant follicle of the first postpartum follicle wave in dairy cows. Reproduction. 127: 537-545.
11. Butler, W.R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. Animal Reproductive Science. 60/61: 449-57.
12. Chang, S.C.S., J.D. Jones, R.D. Ellefson and R.J. Ryan. 1976. The porcine ovarian follicle: selected chemical analysis of follicular fluid at different developmental stages. Biology Reproduction. 15: 321-328.
13. Daghigh-Kia, H., Gh. Moghadam and Gh. Vafai Sayah. 2006. Reproductive physiology in farm animals (pirated Hafez and Hafez B, spatial, S.). Tabriz University Press, Volume 1, First Edition. 564 pp. (In Persian).
14. De la Sota, R.L., F.A. Simmen, T. Diaz and W.W. Thatcher. 1996. Insulin-like growth factor system in bovine first wave-dominant and subordinate follicles. Biology Reproduction. 55: 803-812.
15. Edwards, R.G. 1974. Follicular fluid. Journal of Reproduction Fertility. 37: 189-219.
16. Einspanier, R., H. Schuster and D. Schams. 1993. A comparison of hormone levels in follicle lutein cyst and in normal bovine ovarian follicles. Theriogenology. 40: 181-188.
17. Falah-Rad, A. 2008. Reproduction in cattle. Mashhad University Press. Third Edition. 340 pp. (In Persian).
18. Fergusen, J.D. 2005. Nutrition and reproduction in dairy herds. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 21: 325-347.
19. Formigoni, A. and F. Trevisi. 2003. Transation cow: Intraction with fertility. Veterinary Research Communications. 27: 143-152.
20. Fortune, J.E., G.M. Rivera and M.Y. Yang. 2004. Follicular development: The role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. Animal Reproduction Science. 82-83: 109-126.
21. Fouladi Nashta, A.A., D. Waddington and K.H. Campbell. 1998. Maintenance of bovine oocytes in meiotic arrest and subsequent development *in vitro*: A comparative evaluation of antral follicle culture with other methods. Biology Reproduction. 59: 255-262.
22. Gerard, N., S. Loiseau, G. Duchamp and F. Seguin. 2002. Analysis of the variations of follicular fluid composition during follicular growth and maturation in the mare using proton nuclear magnetic resonance (HNMR). Reproduction. 124: 241-248.
23. Ginther, O.J., D.R. Bergfelt, M.A. Beg and K. Kot. 2001. Follicle selection in cattle: relationships among growth rate, diameter ranking, and capacity for dominance. Biology Reproduction. 65: 345-350.

Archive of SID

www.SID.ir

24. Gosden, R.G., R.H.F. Hunter, E. Telfer, C. Torrance and N. Brown. 1988. Physiological factors underlying the formation of ovarian follicular fluid. Journal of Reproduction Fertility, 82: 813-825.
25. Grummer, R.R. and D.J. Carroll. 1988. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. Journal of Animal Science, 66: 3160-3173.
26. Hammond, J.M., J. Lion, S. Branao, D. Skaleris, A.B. Knight, J.A. Romanus and M.M. Rechler. 1985. Production of insulin-like growth factors by ovarian granulose cells. Endocrinology, 117: 2553-2555.
27. Harlow, C.R., R.M.L. Winston, R.A. Margara and S.G. Hillier. 1987. Gonadotrophic control of human granulosa cell glycolysis. Human Reproduction, 2: 649-653.
28. Hooda, O.K. and P.S. Yadav. 2002. Concentration of some reproductive hormones in buffalo follicular fluid. Indian Journal of Animal Science, 72: 971-972.
29. Kawashima, C., S. Fukihara, S. Maeda, M. Kaneko, C.A. Montoya, M. Matusi, K. Kida and A. Miyomota. 2007. Relationship between metabolic hormones ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-producing dairy cows. Reproduction, 133: 155-163.
30. Khodaei, H., M. Ghoreashi and H. Hejazi. 2007. Relationship as normal and cystic bovine ovarian follicles with levels of nitric oxide and estradiol in follicular fluid. Journal of Fertility and Infertility, 8(1): 17-22.
31. Klumpp, A.M. 2004. The effect of holding bovine oocytes in follicular fluid on subsequent fertilization and embryonic development. MSc Thesis. Luisiana State University of Agricultural and Mechanical College, 131 pp.
32. Kruip, T. 1985. Steroid hormone concentration in the fluid of bovine follicles relative to size, quality and stage of the oestrous cycle. Theriogenology, 24: 395-408.
33. Kulkarni, B.A., B.T. Deshmukh, R.R. Katkam and C.P. Puri. 1994. Follicular fluid steroid hormone level of Indian buffaloes. Journal of Buffalo, 10:71-74.
34. Landau, S., R. Braw-Tal, M. Kaim, A. Bor and I. Bruckental. 2000. Preovulatory follicular status affects the insulin and glucose content of the follicles in high yielding dairy cows. Journal of Animal Reproduction Science, 64: 299-314.
35. Leeuwenberg, B.R., N.L. Hudson, L.G. Moore, P.R. Hurst and K.P. McNatty. 1996. Peripheral and ovarian IGF-1cocentrations during the ovine oestrous cycle. Endocrinology, 148: 281-289.
36. Leroy, J.L.M.R., T. Vanholder, J.R. Delanghe, G. Opsomer, A. Van Soom, P.E.J. Bols, J. Dwulf and A. De Kruif. 2004. Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicular and their relationship to serum concentrations in dairy cows. Journal of Animal Reproduction Science, 80: 201-211.
37. Leroy, J.L.M.R., T. Vanholder, J.R. Delanghe, G. Opsomer, A. Van Soom, P.E.J. Bols, J. Dwulf and A. De Kruif. 2004. Metabolic change in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early postpartum. Theriogenology, 62: 1131-1143.
38. Liu, Z. 2006. Gene expression profiling of bovine ovarian follicular selection. PhD Thesis. University of Missouri-Colombia. 150 pp.

Archive of SID

www.SID.ir

39. Miraei Ashtiani, R. and M. Shakeri. 2001. Practical guide in dairy cattle reproduction. Jihad University Publishing Institute, Department of Natural Resources, Tehran University. First Edition. 99 pp.
40. Mishra, O.P., J.N. Pandey and P.G. Gawande. 2003. Study on biochemical constituents of caprine ovarian follicular fluid after super ovulation. Asian-Aust Focus, 16: 1711-1715.
41. Moghimi, A. and A. Riasi. 1958. Infertility and infertility in dairy cows. Jehad University of Mashhad. First Edition, 156 pp.
42. Nandi, S., V. Girish Kumar, B.M. Manjunatha and P.S.P. Gupta. 2007. Biochemical composition of ovine follicular fluid in relation to follicle size. Journal of Development Growth and Differentiation, 49: 61-66.
43. Nishimoto, H., S. Hamano, G.A. Hill, A. Miyamoto and M. Tetsuka. 2009. Classification of bovine follicle based on the concentrations of steroids, glucose and lactate in follicular fluid and the status of accompanying follicles. Journal of Reproduction and Development, 55: 219-224.
44. Pavlok, A., A. Lucas-Hahn and H. Niemann. 1992. Fertilization and developmental competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicle. Mol Reproduction Development, 31: 63-67.
45. Puppione, D.L. 1977. Implications of unique features of blood lipid transport in lactating cow. Journal of Dairy Science, 61: 651-659.
46. Renaville, B., A. Comin, U. Fazzini, E. Marchini, S. Maiero, V. Marchi and A. Prandi. 2007. Estrogen to progesterone ratio affects hormonal and lipid follicular fluid profiles in dairy cows. Reproductive Medicine and Biology, 6: 45-51.
47. Saberivand, A. 2002. Triglycerides and cholesterol concentrations of follicular fluid in relation to the size of ovarian follicles in female sheep. Proceedings of the Third Meeting veterinarians Clinical Sciences, University of Mashhad. Iran. 63 pp.
48. Santiago, C.A., J.L. Voge and P.Y. Aad. 2005. Pregnancy-associated plasma protein-A and insulin-like growth factor binding protein mRNAs in granulosa cells of dominant and subordinate follicles of preovulatory cattle. Domestic Animal Endocrinology, 28: 46-63.
49. SAS. 2002. User's Guide, Statistics. Version 9.0. Statistical Analysis System Institute Inc. Cary, NC.
50. Sirard, M.A. 2001. Resumption of meiosis: Mechanism involved in meiotic progression and its relation with developmental competence. Theriogenology, 55: 1241-1254.
51. Spicer, L.J., P. Alvarez, T.M. Prado, G.L. Morgan and T.D. Hamilton. 2000. Effects of intraovarian infusion of insulin-like growth factor-I on ovarian follicular function in cattle. Domestic Animal Endocrinology, 18: 265-278.
52. Spiser, L.J., E. Alpizar and S.E. Echternkamp. 1993. Effect of insulin, insulin-like growth factor 1 and gonadotropins on bovine granulose cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and(or) insulin-like growth factor 1 production in vitro. Journal of Animal Science, 71: 1232-1241.
53. Stewart, R.E., L.J. Spicer, T.D. Hamilton and B.E. Keefer. 1995. Effects of insulin-like growth factor-I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-

Archive of SID

www.SID.ir

induced steroidogenesis of bovine thecal cells: involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor I and luteinizing hormone. Journal of Animal Science, 73: 3719-3731.
54. Tabatabaei, S., M. Mamoei and A. Aghaei. 2011. Dynamics of ovarian follicular fluid in cattle. Comparative Clinical Pathology, 20:591-595.
55. Tan, S.J. and K.H. Lu. 1990. Effects of different oestrous stages of ovaries and sizes of follicles on generation of bovine embryos in vitro. Theriogenology, 33: 335.
56. Thakur, R.S., R.A.S Chauhan and B.K Singh. 2003. Studies on biochemical constituents of caprine follicular fluid. Indian Journal of Veterinary, 80: 160-162.
57. Thangavel, A. and M. Nayeem. 2004. Studies on certain biochemical profile of the buffalo follicular fluid. Journal of Indian Veterinary, 81: 25-27.
58. Thatcher, W.W., J.A. Bartolome, A. Sozzi, F. Silverster and J.E.P. Santes. 2004. Munipulation of ovarian function for the reproductive management of dairy cows. Veterinary Research Communications, 28: 111-119.
59. Tsonis, C.G., R.S.C. Carson and J.K. Findlay. 1984. Relationship between aromatase activity, follicular fluid oestradiol 17β and testosterone concentration and diameter and atresia of individual ovine follicle. Journal of Reproduction Fertility, 72: 153-163.
60. Wise, T. 1987. Biochemical analysis of bovine follicular fluid: albumin, total protein, lysosomal enzymes, ions, steroids and ascorbic acid content in relation to follicular size, rank, atresia classification and day of estrous cycle. Journal of Animal Science, 64: 1153-1169.
61. Zamiri, M.J. 2006. Reproductive Physiology. Collect and compile, Haghshenas Publications. 448 pp. (In Paersian)
62. Zulu, V.C., T. Nakao and Y. Sawamukai. 2002. Insulin-like growth factor 1 as a possible hormonal mediator of nutritional regulation of reproduction in cattle. Journal of Veterinary Medicine Science, 64: 657-665.

Archive of SID

www.SID.ir

Comparison of Blood Serum Biochemical Compositions and Ovarian Follicular Fluid of Different-Sized Follicles in Dairy Cows

Shemshad Ghojoghi[1], Firooz Samadi[2] and Saeed Hasani[3]

1 and 3- Former MSc Student and Associate Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

2- Associate Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

(Corresponding author: F.samadi@gau.ac.ir)

Received: August 15, 2010 Accepted: June 6, 2011

Abstract

Biochemical compositions of ovarian follicular fluid may be influenced by blood serum metabolic changes and metabolic function of follicular cells. This study was performed to investigate some metabolic and hormonal changes of blood sera and ovarian follicular fluid of different-sized follicles in dairy cows. Follicular fluid from three groups of different-sized follicles; small (< 5 mm), medium (5-10 mm) and large (> 10 mm) in diameter were extracted, separately. Tail vein blood samples were obtained from 10 cows before slaughtering. Concentrations of hormones including IGF-1, estrogen, progesterone and concentrations of metabolites such as glucose, urea, cholesterol and triglyceride of blood sera and follicular fluid were determined using related commercial kits. For comparison metabolites and hormones concentration in blood sera and follicular fluid the linear mixed model, was used. This study showed a significant increase in glucose, estrogen and IGF-1concentrations of follicular fluid by increasing of follicular size, but a significant decrease in urea, triglyceride and progesterone concentrations by increasing of follicular size. In addition, this study indicated a significant partial correlation for IGF-1(r=0.48), progesterone (r=0.47), urea (r=0.76) and cholesterol (r=0.74) concentrations between blood sera and follicular fluid. The results of this study showed that, biochemical compositions of follicular fluid is influenced by biochemical compositions of blood sera. Moreover, This study revealed a clear relationship between the follicular fluid concentrations of stradiol hormones, IGF-1, glucose, urea, cholesterol and triglyceride with follicle growth. Overall, the identification of essential biochemical compounds for growth and maturation of follicles, provides background to the requirement for enhancing the oocyte growth and ultimately to provide optimal reproduction.

Keywords: Dairy cow, Follicle size, Biochemical compositions, Follicular fluid, Blood serum

Archive of SID

www.SID.ir