

غلظت سرمی لپتین و انسولین و ارتباط آن با پروفایل لیپیدی در گاوهای هلشتاین قبل و بعد از زایمان

پدرام پرورده^۱، سیده ام البنین قاسمیان^{۲*}، لیلا درخشان^۱

۱. گروه دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر- ایران.

۲. گروه دامپزشکی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان- ایران.

پذیرش: ۱۴ بهمن ماه ۱۴۰۳

دریافت: ۸ شهریور ماه ۱۴۰۳

چکیده

از زمان شروع تا میانه آبستنی در دامها، لپتین موجود در خون افزایش می‌یابد و تا انتهای آبستنی بالا باقی می‌ماند. با اینحال، مطالعات بیشتری برای بررسی نقش لپتین در فیزیولوژی ساخت و متابولیسم چربی جهت شناخت مکانیسم‌های موثر آن، باید صورت گیرد. مطالعه حاضر با هدف بررسی غلظت سرمی لپتین و انسولین و ارتباط آن با پروفایل لیپیدی در گاو هلشتاین قبل و بعد از زایمان صورت گرفت. مطالعه حاضر یک تحقیق آزمایشی بنیادی بود که روی ۵۰ رأس گاو هلشتاین آبستن که طی فروردین ۱۴۰۲ تا دی ماه ۱۴۰۲ در گاوداری صنعتی شهرستان باغملک نگهداری می‌شدند، صورت گرفت. نمونه‌های سرم از ۵۰ گاو هلشتاین دو هفته قبل و بعد از زایمان، جمع‌آوری شد و مقادیر لپتین، انسولین، تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL توسط کیت‌های الایزا و تشخیص طبی اندازه‌گیری شد. یافته‌ها حاکی از کاهش میزان لپتین و انسولین در گاوها پس از زایمان و افزایش میزان تری‌گلیسرید، کلسترول و LDL پس از زایمان نسبت به قبل آن بود ($P < 0.05$). تجزیه داده‌ها همبستگی مثبت بالایی بین غلظت لپتین و انسولین خون نشان داد. همچنین، تغییر غلظت لپتین تحت تأثیر تری‌گلیسرید ($r = 0.80$)، کلسترول ($r = 0.67$) و LDL ($r = 0.68$) بود. غلظت انسولین نیز با میزان تری‌گلیسرید ($r = 0.52$)، کلسترول ($r = 0.67$) و LDL ($r = 0.63$) همبستگی معنی‌دار داشت. به نظر می‌رسد که کاهش مقادیر لپتین و انسولین با افزایش مقادیر تری‌گلیسرید، کلسترول و LDL در ارتباط است.

واژه‌های کلیدی: گاو هلشتاین، لپتین، انسولین، تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL، LDL

مقدمه

هورمون لپتین در بافت چربی توسط سلول‌های آدیپوسیت سفید ترشح می‌شود که با افزایش مقادیر بافت چربی مقدار این هورمون نیز افزایش می‌یابد. وظیفه این هورمون تنظیم متابولیسم بدن با مصرف بافت چربی و تولید انرژی است. لپتین بخش مهمی از سیستم خود تنظیمی منفی بدن است و بر تنظیم-کننده‌های مهم متابولیسم از جمله انسولین، گلوکوکورتیکوئیدها و سیستم عصبی سمپاتیک اثرگذار است. علاوه بر این، لپتین در تنظیم خود بافت چربی، تولید شیر، تولید مثل و ایمنی بدن نیز دخالت دارد (۱۷، ۱۸ و ۲۵).

مشخص شده که بافت چربی از طریق ترشح آدیپوکین‌ها مخصوصاً لپتین، به عنوان بافت فعال در

تنظیم فعالیت اندوکرینی نقش دارد. لپتین به عنوان فیدبک تنظیمی تعادل انرژی از طریق گیرنده‌های خود، فعال‌سازی سیگنال‌های میدل و فعال‌کننده بیان ژن عمل می‌کند (۱۱). از آنجایی که ترشح لپتین تحت تأثیر چربی بدن قرار دارد، افزایش یا کاهش ترشح آن روی اشتهای تأثیرگذار است (۵). بر اساس یافته‌ها در طول گرسنگی مقدار لپتین در خون کاهش می‌یابد، در حالی که در موش‌هایی که به آنها کربوهیدرات خورانده شده بود مقدار لپتین افزایش می‌یابد (۳۰).

هم‌راستا با هورمون لپتین، انسولین با اثر بر روی گیرنده خود در هیپوتالاموس سبب مهار خوردن می‌شود. همچنین، این هورمون با اثر بر روی بافت‌های عضلانی، کبد و چربی منجر به افزایش واکنش‌های کاتابولیک نظیر اکسیداسیون چربی و در نتیجه کاهش



ترشح گنادوترپین‌ها می‌شود تایید می‌کند. اهمیت این هورمون به خصوص در دوره‌های مهم مانند آبستنی و زایمان بالاست. از زمان شروع تا میانه آبستنی، لپتین موجود در خون افزایش می‌یابد و تا انتهای آبستنی بالا باقی می‌ماند. در جریان بارداری، میزان لپتین سرم به طور پیش روندهای افزایش می‌یابد؛ به طوری که در سه ماه دوم به بالاترین حد خود می‌رسد و هنگام کامل شدن زمان بارداری به غلظت ۲-۳ برابر رسیده و به سطح ایستایی می‌رسد. لپتین ترشح شده از جفت به جریان خون مادر و نوزاد وارد می‌شود و می‌تواند نقش به سزایی در رشد و تکامل جنین داشته باشد (۲۱) و (۲۴). همچنین بررسی‌ها نشان می‌دهند که افزایش مقادیر لپتین می‌تواند با بهبود سیستم ایمنی گاوها و تقویت سلامت آن‌ها مرتبط باشد. با این حال، جهت بررسی نقش لپتین در فیزیولوژی ساخت آن، مکانیسم‌هایی موثر بر آن نیاز به انجام مطالعات بیشتری می‌باشد (۱۵). با توجه به آنچه گفته شد، مطالعه حاضر با هدف بررسی غلظت سرمی لپتین و انسولین و ارتباط آن با پروفایل لیپیدی در گاو هلشتاین قبل و بعد از زایمان صورت گرفت.

مواد و روش کار

مطالعه حاضر یک تحقیق آزمایشی بنیادی بود که روی ۵۰ راس گاو هلشتاین آبستن که طی فروردین ۱۴۰۲ تا دی ماه ۱۴۰۲ در گاوداری صنعتی نگین فام واقع در ۱۵ کیلومتری شهرستان باغملک با ۵۰۰۰ راس گاو که ۲۰۰۰ راس دوشا هستند، نگهداری می‌شدند، صورت گرفت. گاوها با یک جیره کاملاً مخلوط تغذیه شدند که شامل یونجه، سیلاژ ذرت و کنسانتره بود. این جیره دارای ۱۴/۲ درصد پروتئین و ۱/۵۷ مگا کالری انرژی خالص برای شیردهی در هر روز بود. این ترکیب خوراکی، به خوبی نیازهای تغذیه‌ای گاوها را برآورده کرده و به بهبود عملکرد تولیدی و سلامت آن‌ها کمک می‌کند. خونگیری از ورید دمی حدود دو هفته قبل از زایمان و دو هفته پس از زایمان صورت گرفت. از آنجایی که ساعات‌های صبحانه و بعد از غذا به دلیل تغییرات

وزن می‌گردد. وجود گیرنده‌های لپتین روی سلولهای بتای پانکراس نشان می‌دهد که لپتین از طریق فیدبک منفی بر سنتز انسولین تأثیر می‌گذارد (۲۷). گزارش‌های منتشر شده رابطه متفاوتی بین هورمون انسولین و هورمون لپتین نشان داده‌اند. در برخی از گزارشات، هر گونه ارتباط مستقیم بین انسولین و لپتین رد شده در حالی که برخی شواهد بر ارتباط مستقیم این دو هورمون تأکید کرده‌اند و نشان داده‌اند که ترشح هر دو هورمون بر مقدار چربی ذخیره و بالانس انرژی مؤثرند. از آنجایی که گیرنده انسولین و گیرنده لپتین در هیپوتالاموس در یک محل قرار دارند، به نظر می‌رسد که ترشح لپتین تحت تأثیر انسولین قرار داشته باشد و افزایش انسولین منجر به افزایش لپتین گردد (۱۱ و ۲۶).

در دوره قبل از زایش سطح سرمی لپتین به شدت کاهش می‌یابد که تا بعد از زایش ادامه می‌یابد. این کاهش در لپتین با مقاومت بافت‌ها به انسولین همراه است. شروع فعالیت پستان برای ترشح آغوز، می‌تواند تفسیر روابط بین لپتین و انسولین را پیچیده‌تر کند. گاوهای شیری غالباً بیش از ۶۰٪ چربی بدن خود را در طی مراحل اولیه شیرواری از دست می‌دهند (۲۳). در گاو شیری با افزایش تولید شیر بالانس انرژی منفی در طی اولین شیردهی بیشتر می‌شود و باروری کاهش می‌یابد. از آنجایی که هورمون لپتین در تنظیم حالت تغذیه‌ای و عملکرد تولیدمثلی دخیل است، این هورمون یک پروتئین جالب توجه در دوره‌های قبل و بعد از زایش، زمانی که تغییرات زیادی هم در متابولیسم انرژی و فیزیولوژی تولید مثل اتفاق می‌افتد، می‌باشد (۱۶ و ۱۰).

غلظت لپتین در سرم گاوها بسیار مهم است، زیرا این هورمون در تنظیم متابولیسم بدن و تولید انرژی نقش دارد. لپتین توسط سلول‌های آدیپوسیت سفید در بافت‌های چربی ترشح می‌شود و با افزایش مقادیر بافت چربی، مقادیر این هورمون نیز افزایش می‌یابد (۱). مطالعات روی دام‌ها، این نظریه را که لپتین به طور مستقیم روی هیپوفیز و هیپوتالاموس اثر دارد و موجب



جهت ارزیابی دقت بین سنجش ($CV < 12\%$) آزمایش شد.

مقادیر سرمی هورمون انسولین توسط کیت الایزا (Bio Tek، آمریکا) با روش Sandwich-ELISA اندازه‌گیری شد (۸). Mercodia Bovine Insulin. ELISA یک آنزیم ایمونواسی فاز جامد دو محله است. این روش مبتنی بر روش ساندویچ مستقیم است که در آن دو آنتی بادی مونوکلونال علیه عوامل تعیین کننده آنتی ژنی جداگانه روی مولکول انسولین هدایت می-شوند. نمونه‌های حاوی انسولین گاوی بالا با کالیبراتور ۰ یا با بافر نمونه مرکودیا دیابت رقیق شدند. پس از یک مرحله شستشوی ساده و حذف آنتی‌بادی نشان‌دار آنزیمی، کنژوگه متصل شده با واکنش با تترامیل بنزیدین (TMB) شناسایی گردید. واکنش با افزودن اسید متوقف و یک نقطه پایانی رنگ سنجی به دست آمد که به روش اسپکتروفتومتری (Thechnicon، ساخت ایتالیا) خوانده شد. غلظت انسولین گاو با کاهش داده های کامپیوتری جذب برای کالیبراتورها، به جز کالیبراتور ۰، در مقابل غلظت با استفاده از رگرسیون اسپلاین مکعبی به دست آمد. هر نمونه در ۴ تکرار در ۲۰ نوبت مختلف مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

مقادیر تری‌گلیسیرید و کلسترول توسط کیت‌های تجاری (SL-TRIGLYCERIDES و SL-CHOLESTEROL، Bio Tek، آمریکا) و روش کالریمتریک در طول موج ۵۰۵ نانومتر و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری شد (۴ و ۸). جهت اندازه‌گیری تری‌گلیسیرید، محلول کلستروفنول، ATP، آمینوآنتی پیرین گلیسرول کیناز، پراکسیداز و فسفات اکسیداز تهیه و در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. نتایج با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\frac{\text{abs Sample}}{\text{abs Standard}} \times \text{Conc. Std/Cal (mg/dL)} = \text{Conc. Triglycerides (mg/dL)}$$

$$\text{Triglycerides [mg/dL]} \times 0.0113 = \text{Triglycerides [mmol/L]}$$

و پراکسیداز به صورت آماده تهیه شد. نتایج با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

متابولیسمی که در طول روز رخ می‌دهد، بهترین زمان‌ها برای نمونه‌گیری هستند، خونگیری در این زمان صورت گرفت. نمونه‌های خون در لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد ریخته شد. پس از جمع آوری کامل خون، اجازه داده شد خون لخته شود و در دمای اتاق برای ۱۰ تا ۲۰ دقیقه نگهداری شد. سپس، نمونه‌های خونی سرم به وسیله دستگاه سانتریفیوژ (TAT-J12، ساخت انگلیس) در ۲۵۰۰ دور به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه جدا شد. در صورت وجود رسوب، سانتریفیوژ تکرار شد. نمونه‌های سرمی به لوله‌های آزمایش منتقل شد و در دمای ۱۹- درجه سانتیگراد فریز و سپس جهت انجام آزمایشات، به آزمایشگاه ارسال شد (۴ و ۸).

مقادیر سرمی هورمون لپتین توسط کیت الایزا (Bio Tek، آمریکا) با روش Sandwich-ELISA اندازه‌گیری شد (۴ و ۸). ده چاهک برای استانداردها در نوار Microelisa تنظیم و رقیق سازی با استفاده از محلول بافر صورت گرفت. پس از رقیق سازی، حجم کل در همه چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر و غلظت آن به ترتیب ۱۸۰۰، ۱۲۰۰، ۶۰۰، ۳۰۰ و ۱۵۰ pg/ml بود. یک آنتی بادی کونژوگه با پراکسیداز ترب (HRP) مخصوص LEP به هر چاهک نواری Microelisa اضافه و انکوبه شد. اجزای آزاد شسته و محلول سوپسترا TMB به هر چاهک اضافه گردید. چگالی نوری (OD) به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. مقدار OD متناسب با غلظت LEP در نظر گرفته شد. جهت ارزیابی دقت درون سنجش ($CV < 10\%$)، ۳ نمونه با سطح پایین، متوسط و بالا لپتین گاوی به ترتیب ۲۰ بار روی یک صفحه آزمایش شدند. همچنین، ۳ نمونه با سطح پایین، متوسط و بالا لپتین گاوی روی ۳ صفحه مختلف با ۸ تکرار در هر پلِت

جهت اندازه‌گیری کلسترول معرف بافر، فنول، آمینوآنتی پیرین، کلسترول استراز، کلسترول اکسیداز



$$\frac{\text{abs Sample}}{\text{abs Standard}} \times \text{Conc. Std/Cal (mg/dL)} = \text{Conc. Cholesterol (mg/dL)}$$

$$\text{Cholesterol [mg/dL]} \times 0.0259 = \text{Cholesterol [mmol/L]}$$

کلسترول استراز، کلسترول اکسیداز، اتیل هیدروکسی سولفو پروپیل دی متوکسی فلوروآنیلین تهیه و در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. از آب مقطر به عنوان بلانک استفاده و جذب آن قرائت شد. نتایج با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{HDL-C (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Cal}} \times \text{Conc. Cal (mg/dl)}$$

$$\text{HDL-C (mg/dl)} \times 0.02586 = \text{HDL-C (mmol/l)}$$

آسکوربات اکسیداز و آمینو آنتی پیرین و محلول شماره ۲ شامل بافر MES، دترجنت ۲ و بیس سولفوبوتیل تولوئیدین دیسودیوم (DSBmT) بود که در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. از آب مقطر به عنوان بلانک استفاده و جذب آن قرائت شد. نتایج با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\frac{\Delta \text{abs Sample}}{\Delta \text{abs Calibrator}} \times \text{Conc. Cal (mg/dL)} = \text{Conc. LDL (mg/dL)}$$

$$\text{Cholesterol LDL [mg/dL]} \times 0.0259 = \text{Cholesterol LDL [mmol/L]}$$

یافته‌ها حاکی از وجود اختلاف معنی‌داری بین میزان لپتین، انسولین، تری‌گلسیرید، کلسترول و LDL قبل و بعد از زایمان بود ($P < 0.05$). با این حال تفاوتی در میزان HDL قبل و بعد از زایمان مشاهده نشد. میزان لپتین و انسولین در گاوها پس از زایمان کاهش یافت، در حالی که میزان تری‌گلسیرید، کلسترول و LDL پس از زایمان نسبت به قبل آن کاهش یافت ($P < 0.05$).

همبستگی بین سطح سرمی لپتین و انسولین و شاخص‌های لیپیدی سرم خون در جدول ۱ نمایش داده شده است.

مقادیر HDL توسط کیت تجاری (HDL-C) (Bio Tek، آمریکا) در طول موج ۶۰۰ نانومتر و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری شد محلول شماره ۱ شامل آمینو آنتی پیرین، پراکسیداز، آسکوربات اکسیداز، لیپوپروتئین و آنتی‌بادی و محلول شماره ۲ شامل

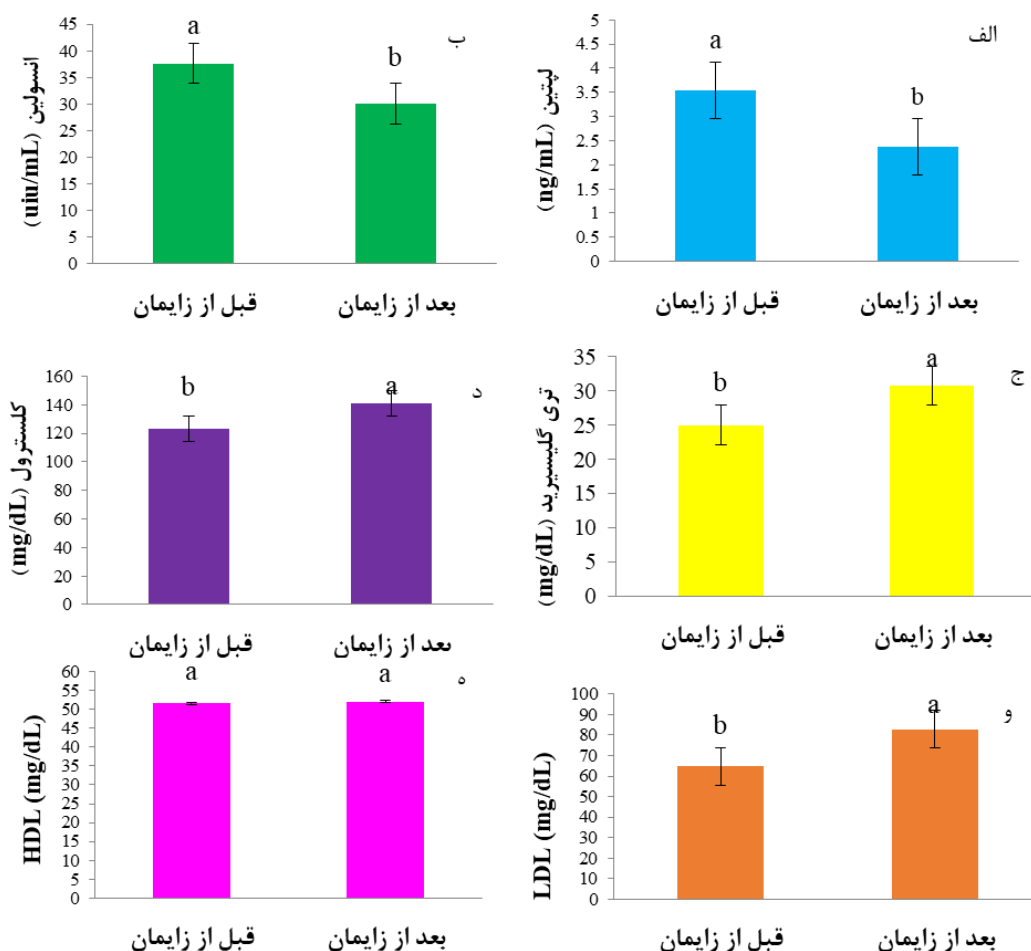
مقادیر LDL توسط کیت تجاری (SL-) (Bio Tek، آمریکا) و روش کالری متریک در طول موج ۵۷۸ نانومتر و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری شد (۴ و ۸). محلول شماره ۱ شامل بافر MES، دترجنت ۱، کلسترول استراز، کلسترول اکسیداز، پراکسیداز،

در این تحقیق، کلیه آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و در دو تکرار انجام و مقایسه میانگین داده‌ها با برنامه نرم‌افزاری SPSS و آزمون دانکن در سطح ($p < 0.05$) انجام شد. از ضریب همبستگی اسپیرمن برای تعیین ارتباط بین سطح سرمی لپتین و انسولین با شاخص‌های لیپیدی استفاده شد.

نتایج

شکل ۱ میزان لپتین، انسولین، تری‌گلسیرید، کلسترول، HDL و LDL در نمونه‌های سرمی گاوهای هلشتاین را قبل و بعد از زایمان نشان می‌دهد.





شکل ۱- تغییرات لیپیدین (الف)، انسولین (ب)، تری گلیسیرید (ج)، کلسترول (د)، HDL (و) و LDL (ه) نمونه‌های سرمی گاوهای هلشتاین قبل و بعد از زایمان
حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).^{a,b}

جدول ۱- همبستگی بین سطح سرمی لیپیدین و انسولین و شاخص‌های لیپیدی سرم خون

انسولین		لیپیدین		شاخص‌های لیپیدی
P-value	r	P-value	r	
۰/۰۱۱	۰/۵۲۴	۰/۰۳	۰/۸۰۲	تری گلیسیرید (mg/dL)
۰/۰۱۳	۰/۴۳۶	۰/۰۲	۰/۶۷۷	کلسترول (mg/dL)
۰/۰۷	۰/۱۱۲	۰/۰۷	۰/۱۰۴	HDL (mg/dL)
۰/۰۱۱	۰/۵۱۲	۰/۰۲	۰/۶۳۲	LDL (mg/dL)

غلظت لیپیدین تحت تأثیر تری گلیسیرید ($r=0.80$)، کلسترول ($r=0.67$) و LDL ($r=0.63$) بود، به طوری که همبستگی بسیار بالایی میان کاهش لیپیدین و افزایش مقادیر تری گلیسیرید و ارتباط متوسطی بین کاهش لیپیدین و افزایش کلسترول و LDL مشاهده شد ($P < 0.05$). تغییر

بررسی همبستگی بین سطح سرمی لیپیدین و انسولین و شاخص‌های لیپیدی حاکی از وجود ارتباط معنی‌داری بین تری گلیسیرید، کلسترول و LDL و غلظت لیپیدین و انسولین بود. تجزیه داده‌ها همبستگی مثبت بالایی بین غلظت لیپیدین و انسولین خون نشان داد. همچنین، تغییر



غلظت انسولین نیز تحت تأثیر تری‌گلیسیرید ($r=0/52$)، کلسترول ($r=0/67$) و LDL ($r=0/63$) بود، به طوری که کاهش در مقادیر لپتین با افزایش متوسط و معنی‌دار تری‌گلیسیرید، کلسترول و LDL در ارتباط بود ($P<0/05$).

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که بین میزان لپتین، انسولین، تری‌گلیسیرید، کلسترول و LDL قبل و بعد از زایمان اختلاف معنی‌داری وجود دارد. همچنین، بین سطح سرمی لپتین و انسولین و شاخص‌های لیپیدی ارتباط معنی‌داری وجود داشت. قوی‌ترین ارتباط بین تری‌گلیسیرید و کلسترول با لپتین بود.

در همین راستا مطالعه Pandey و همکاران با هدف مطالعه نقش هورمون لپتین در حین زایمان و ارزیابی ارتباط آن با سایر مشخصات بیوشیمیایی در گاوهای هندی نخست‌زای پرمحصول، صورت گرفت. یافته‌ها نشان داد که بالاترین سطح لپتین در اواخر بارداری بود که ۳۰ روز پس از زایمان به سطوح قبل از زایمان افزایش یافت. همچنین، مطالعه فوق‌الذکر نشان داد که غلظت اسیدهای چرب غیر اشباع از بارداری تا زایمان افزایش یافت و در طول شیردهی کاهش یافت. سطوح لپتین با سطح تری‌گلیسیرید، کلسترول، HDL و LDL همبستگی مثبت داشت. تغییرات هورمون لپتین و سایر پروفایل‌های بیوشیمیایی از بارداری تا شیردهی، و ارتباط هورمون لپتین با مشخصات بیوشیمیایی نشان‌دهنده نقش فیزیولوژیکی قابل توجه آن در متابولیسم انرژی، توده بدن و ایمنی گاوهای شیری در این دوره حیاتی است (۲۱). یافته‌های یک مطالعه دیگر که تغییرات مقادیر سرمی هورمون لپتین، گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسیرید را در گاوهای مبتلا به کتوز تحت بالینی قبل و بعد از زایش مورد ارزیابی قرار داد حاکی از کاهش معنی‌دار مقادیر هورمون لپتین در دام‌های زایمان کرده در مقایسه با قبل از زایش بود (۴). این یافته‌ها در مطالعه حاضر نیز مورد تایید قرار گرفت، بطوری‌که شاهد کاهش میزان لپتین پس از زایمان بودیم. یافته‌های دیگر مطالعات نیز کاهش غلظت هورمون لپتین را در گاوهای زایمان کرده تایید کرد (۶ و ۱۲).

لپتین توسط بافت چربی سفید ترشح و به عنوان سیگنال ذخیره‌کننده انرژی روی مناطق خاصی از هیپوتالاموس که کنترل‌کننده رفتارهای تغذیه‌ای، متابولیسمی و اندوکرینی است، به منظور حفظ هومئوستاز انرژی تأثیر می‌گذارد (۴). میزان لپتین تحت تأثیر دوره شیردهی و دوره بعد و قبل از زایمان قرار دارد. افزایش تولید شیر در گاوهای شیری منجر به ایجاد بالانس منفی انرژی در طی مراحل اولیه تولید شیر و متعاقباً کاهش میزان باروری دام می‌گردد. بیان ژن لپتین و گیرنده آن به طور قابل‌توجهی در طول بارداری و شیردهی تغییر می‌کند، سطح آن در نیمه اول بارداری بالا و در هنگام زایمان کاهش می‌یابد (۲۲). علت افزایش لپتین قبل از زایمان می‌تواند به دلیل مصرف زیاد انرژی باشد که برای دوره شیردهی لازم است. همچنین تصور می‌شود جفت می‌تواند لپتین تولید کرده و منجر به افزایش لپتین در دوره آبستنی گردد؛ در حالی‌که، متعاقباً زایمان جفت دفع شده و میزان لپتین نیز کم می‌شود (۴). با این حال، این یافته توسط برخی مطالعات رد شده است (۱۳).

همچنین برخی شواهد، افزایش هورمون لپتین را در گاوهای زایمان کرده و گاوهای پر تولید گزارش کردند (۱۴). به طور کلی، وضعیت بدنی در طی زایمان روی مقادیر لپتین موثر است به طوری که مقادیر لپتین در گاوهایی با وضعیت بدنی مطلوب، در طی اواخر مراحل آبستنی و ۲ هفته بعد از زایمان، کاهش نمی‌یابد (۱۹). همچنین، گرسنگی منجر به القا کاهش لپتین در خون می‌گردد. این امر می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت سمپاتیک، کتون‌بادی‌ها و اسیدهای چرب افزایش یافته و یا ناشی از کاهش مقادیر انسولین و گلوکز باشد (۱۲). لپتین بخش مهمی از سیستم خودتنظیمی منفی است که در تنظیم‌کننده‌های کلیدی متابولیسم از جمله انسولین دخالت دارد (۴). دیگر یافته مطالعه حاضر حاکی از ارتباط قوی بین هورمون انسولین و هورمون لپتین بود. با این حال، برخی گزارش‌ها، هرگونه ارتباط مستقیم بین انسولین و لپتین را رد کرده‌اند؛ در حالیکه، گروهی دیگر از مطالعات بر ارتباط مستقیم این دو هورمون تأکید دارند (۸ و ۲۰). با این حال در مطالعه حاضر، میزان سرمی لپتین و انسولین در گاوها، قبل از



کلسترول و LDL بعد از زایمان بیشتر بود. در همین راستا، عصری رضایی و همکاران (۲۰۱۲) افزایش کلسترول پس از زایمان را در دام‌ها گزارش کردند. پس از زایمان به ویژه در گاوهای چند شکم زا که مقدار زیادی گلوکز جهت سنتز قند شیر مصرف می‌کنند تعادل منفی انرژی ایجاد می‌شود و در نتیجه ذخایر چربی، آزاد شده و افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع و تری‌گلیسیرید را به دنبال خواهد داشت (۴). پس از زایمان دام‌ها، تری‌گلیسیرید در سلول‌های کبدی و خون افزایش می‌یابد و برخی از اسیدهای چرب به اجسام کتونی تبدیل شوند. تجمع چربی در سلول‌های کبدی باعث کاهش فعالیت کبد و کاهش عملکرد سلول‌های کبدی برای تولید گلوکز می‌شود (۳ و ۲۸).

یافته‌های یک مطالعه دیگر نشان داد که مقادیر لپتین و انسولین سرم در گاوهای مبتلا به کتوز بیشتر از گروه شاهد است. استرس متابولیک در گاوهای هلاشتاین با گلوکز پایین تر و غلظت لپتین و کلسترول ارتباط داشت (۸). همچنین، لپتین با غلظت پروتئین شیر، غلظت چربی شیر، تولید شیر، دشواری زایمان و طول بارداری و مرگ و میر پری‌ناتال گوساله هلاشتاین-فریزین مرتبط است (۷). لپتین که از بافت چربی ترشح می‌شود، می‌تواند اثرات متنوعی داشته باشد. یکی از این اثرات، کاهش وزن بدن است که از طریق ارسال سیگنال به مغز برای افزایش احساس سیری و کاهش اشتها حاصل می‌شود. این فرآیند نه تنها متابولیسم را افزایش می‌دهد، بلکه به کاهش وزن نیز منجر می‌گردد. همچنین لپتین می‌تواند سطح گلوکز پلاسما را تنظیم کند. با بهبود حساسیت به انسولین، این هورمون به تنظیم سطح گلوکز خون کمک می‌کند که برای کنترل دیابت و سلامت متابولیکی بسیار اهمیت دارد. افزون بر این، لپتین به افزایش محتوای گلیکوژن و تری‌گلیسیرید کبدی نیز کمک می‌کند، به گونه‌ای که این هورمون به ذخیره‌سازی انرژی در کبد یاری می‌رساند. در نهایت، لپتین باعث افزایش تحمل انسولین می‌شود. با افزایش حساسیت به انسولین، این هورمون می‌تواند به کنترل بهتر سطح قند خون و بهبود سلامت متابولیکی کمک کند. این ویژگی‌ها نشان می‌دهند که لپتین یک هورمون کلیدی در مدیریت وزن، تنظیم متابولیسم و بهبود سلامت متابولیکی است (۹). عصری و همکاران نیز نشان دادند که میانگین میزان سرمی

زایمان افزایش داشت که پس از زایش رو به کاهش گذاشت. شروع فعالیت پستان برای ترشح آغوز، می‌تواند تفسیر روابط بین لپتین و انسولین را پیچیده‌تر کند. ترشح هر دو هورمون بر مقدار چربی ذخیره و تغییر در تعادل انرژی مؤثر است. به علاوه گیرنده انسولین در هیپوتالاموس و در همان محلی است که گیرنده لپتین قرار دارد، وجود دارد. به نظر می‌رسد که انسولین قادر است تا لپتین پلاسما را در گاوهای شیری افزایش دهد، اما زمانی که گاوها در اوایل دوره‌ی شیردهی در بالانس منفی انرژی هستند تأثیر اندکی دارد. کاهش انسولین پلاسما در طول دوره بالانس منفی انرژی می‌تواند مسئول کاهش غلظت لپتین پلاسما باشد (۲۰). در اوایل شیردهی، زمانی که گاو تعادل منفی انرژی را تجربه می‌کند، کاهش ترشح این هورمون‌ها یک مکانیسم فیزیولوژیک برای تنظیم بالانس انرژی جهت افزایش اشتها است (۶).

از آنجائی که در دسترس‌ترین عامل برای تولید انرژی گلوکز می‌باشد، به دلیل نیاز به انرژی زیاد جهت تولید شیر، گلوکز مواد غذایی نمی‌تواند انرژی مورد نیاز بدن را تامین کند. بنابراین بدن از ذخایر چربی برای تامین انرژی استفاده کرده و این خود می‌تواند دلیلی بر کاهش گلوکز بعد زایمان و به خصوص زمانی که میزان تولید شیر در حداکثر میزان خود است، باشد. کاهش گلوکز خون در گاوها در اوایل دوره زایش و شیرواری به دلیل وجود محدودیت در میزان غذا و تامین انرژی از طریق چربی است. به طور متوسط ۲۰ تا ۳۰ درصد کاهش دریافت مواد غذایی، از چند روز مانده به زایمان ایجاد می‌شود و تا چند روز بعد از زایمان ادامه دارد (۲۹).

سطوح لپتین توسط عوامل زیادی تنظیم می‌شوند که عبارتند از انسولین، گلوکوکورتیکوئیدها، تستوسترون، آگونیست‌های بتا آدرینرژیک، تیزاوالیدین دیون‌ها، هورمون تیروئید، گلوکز آمین، گلوکز، چربی‌ها، سیستم عصبی مرکزی اینترلوکین ۲ و TNF (۲). گاوهای شیرده برای برآوردن نیازهای خود به شدت به چربی بدن متکی هستند. کاهش لپتین در نزدیک زایمان به دلیل کاهش بافت چربی و کاهش انسولین می‌باشد. بیان لپتین و ترشح این هورمون وابسته به تجمع چربی بدن است و تحت تأثیر مصرف خوراک قرار دارد. در این مطالعه، مقادیر تری‌گلیسیرید،



4. Asri RS, Amouoghli TB, Saber MB. Evaluation of the levels of Leptin, Beta hydroxyl butyrate, Glucose, Cholesterol and Triglyceride in serum of Holstein cows with sub clinical ketosis. 2012.
5. Barrios-Correa AA, Estrada JA, Contreras I. Leptin signaling in the control of metabolism and appetite: lessons from animal models. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2018;66(3):390-402.
6. Block S, Butler W, Ehrhardt R, Bell A, Van Amburgh M, Boisclair Y. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *Journal of Endocrinology*. 2001;171(2):339-48.
7. Clempson A, Pollott G, Brickell J, Bourne N, Munce N, Wathes D. Evidence that leptin genotype is associated with fertility, growth, and milk production in Holstein cows. *Journal of dairy science*. 2011;94(7):3618-28.
8. Eğritağ HE, Merhan O, Bozukluhan K, Varol K, Atcalı T. Investigation of serum leptin, ghrelin, irisin, insulin levels and their correlations in cattle with subclinical ketosis. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*. 2022;7(3):223-8.
9. Ehrhardt RA, Foskolos A, Giesy SL, Wesolowski SR, Krumm CS, Butler WR, et al. Increased plasma leptin attenuates adaptive metabolism in early lactating dairy cows. *J Endocrinol*. 2016;229(2):145-57.
10. El-Koly MA, Tag El-Din HA, Mansour MK. Leptin in farm animals: Productive and reproductive effects. *Egyptian Journal of Chemistry and Environmental Health*. 2015;1(1):588-612.
11. Friedman JM. Leptin and the endocrine control of energy balance. *Nature metabolism*. 2019;1(8):754-64.
12. Holtenius K, Agenäs S, Delavaud C, Chilliard Y. Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *Journal of Dairy Science*. 2003;86(3):883-91.
13. Huszenicza G, Kulcsar M, Nikolic J, Schmidt J, Korodi P, Katai L, et al. Plasma leptin concentration and its interrelation with some blood metabolites, metabolic

کلسترول و تری گلیسیرید بعد از زایمان و در گاوهای مبتلا به کتوز تحت بالینی افزایش می‌یابد. قبل از زایمان نیز ارتباط معنی‌داری بین لپتین و گلوکز مشاهده شد (۴). پس از زایمان، به ویژه در گاوهای پر تولید که مقادیر زیادی گلوکز برای سنتز قند شیر مصرف می‌کنند، تعادل منفی انرژی به وجود می‌آید. این وضعیت منجر به افزایش آزادسازی ذخایر چربی و در نتیجه افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع و تری گلیسیرید می‌شود. به عبارت دیگر، کاهش میزان گلوکز در دسترس برای سنتز شیر باعث می‌شود که بدن گاوها از چربی‌های ذخیره شده به عنوان منبع انرژی جایگزین استفاده کند، که این فرآیند منجر به افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع و تری گلیسیرید در بدن می‌شود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان سرمی لپتین و انسولین در گاوهای هلشتاین قبل از زایمان بیشتر از مقادیر سرمی بعد از زایمان بود، درحالی‌که مقادیر تری گلیسیرید، کلسترول و LDL بعد از زایمان بیشتر بود. این نتایج نشان می‌دهد که غلظت پلاسمایی لپتین در گاوهای شیری در اوایل دوره پس از زایمان کاهش می‌یابد. همچنین، ارتباط مثبت بین غلظت سرمی لپتین و انسولین و پروفایل لیپیدی در گاو هلشتاین قبل و بعد از زایمان مشاهده شد.

منابع

1. Alahyari S, Chaji M, Mamouei M. Effect of high levels of zinc supplementation in feed on blood serum leptin concentration in late gestation cows, calves serum immunoglobulin G and total protein and their health. *Journal of Ruminant Research*. 2018;6(1):117-26.
2. Allahyari S, Chaji M, Mamouei M. The effect of high levels of zinc supplementation on concentration of leptin, insulin and some blood parameters of Holstein cow during transition period. 2020.
3. Arfuso F, Fazio F, Levanti M, Rizzo M, Di Pietro S, Giudice E, Piccione G. Lipid and lipoprotein profile changes in dairy cows in response to late pregnancy and the early postpartum period. *Archives Animal Breeding*. 2016;59(4):429-34.



- A, Avanzi D, Motta M, et al. Comparison between plasma and milk levels of leptin during pregnancy and lactation in cow, a relationship with β -lactoglobulin. *Journal of animal physiology and animal nutrition*. 2007;91(5-6):240-6.
23. Peiter M, Caixeta L, Endres MI. Association between change in body weight during early lactation and milk production in automatic milking system herds. *JDS Commun*. 2023;4(5):369-72.
 24. Priyadarshini L, Yadav AK, Singh HS, Mishra A, Jain AK, Ahirwar MK. Role of leptin in physiology of animal reproduction-A review. *Agricultural Reviews*. 2015;36(3):235-40.
 25. Stern JH, Rutkowski JM, Scherer PE. Adiponectin, leptin, and fatty acids in the maintenance of metabolic homeostasis through adipose tissue crosstalk. *Cell metabolism*. 2016;23(5):770-84.
 26. Thon M, Hosoi T, Ozawa K. Possible integrative actions of leptin and insulin signaling in the hypothalamus targeting energy homeostasis. *Frontiers in endocrinology*. 2016;7:138.
 27. Timper K, Brüning JC. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. *Disease models & mechanisms*. 2017;10(6):679-89.
 28. Useni B, Muller C, Cruywagen C. Pre-and postpartum effects of starch and fat in dairy cows: A review. *South African Journal of Animal Science*. 2018;48(3):413-26.
 29. Zarrin M, Grossen-Rösti L, Bruckmaier R, Gross JJ. Elevation of blood β -hydroxybutyrate concentration affects glucose metabolism in dairy cows before and after parturition. *Journal of dairy science*. 2017;100(3):2323-33.
 30. Zhao S, Li N, Zhu Y, Straub L, Zhang Z, Wang M-Y, et al. Partial leptin deficiency confers resistance to diet-induced obesity in mice. *Molecular Metabolism*. 2020; 37: 100995.
- hormones and the resumption of cyclic ovarian function in postpartum dairy cows supplemented with Monensin or inert fat in feed. *BSAP Occasional Publication*. 2001;26(2):405-9.
14. Kadokawa H, Blache D, Yamada Y, Martin G. Relationships between changes in plasma concentrations of leptin before and after parturition and the timing of first postpartum ovulation in high-producing Holstein dairy cows. *Reproduction, Fertility and Development*. 2000;12(8):405-11.
 15. Khorrami Z, Aliarabi H, Farahavar A, Fadayifar A. Effect of pre and postpartum maternal supplementation of zinc and selenium via slow-release glass bolus or the element salts on feed intake and some blood parameters in ewes and their lambs. *Animal Feed Science and Technology*. 2024;311:115949.
 16. Kızıl M, Rışvanlı A, Abay M, Şafak T, Kılınç MA, Yılmaz Ö. Effect of calf delivery mode on İrisin, Asprosin, leptin, adiponectin, and İnsulin-like growth Factor-1 levels in dairy cattle and their calves. *Turk J Vet Anim Sci*. 2022;55:1527.
 17. Luo L, Liu M. Adipose tissue in control of metabolism. *Journal of endocrinology*. 2016;231(3):R77-R99.
 18. Martínez-Sánchez N. There and back again: leptin actions in white adipose tissue. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(17):6039.
 19. Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D, Chilbroste P. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*. 2004;127(6):727-37.
 20. Niswender KD, Schwartz MW. Insulin and leptin revisited: adiposity signals with overlapping physiological and intracellular signaling capabilities. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2003;24(1):1-10.
 21. Pandey V, Nigam R, Rambachan SP, Singh SP, Madan A. Plasma leptin and biochemical profile around parturition in primiparous Sahiwal cows. *Ruminant Science*. 2016;5(2):227-33.
 22. Parola R, Macchi E, Fracchia D, Sabbioni



Serum Leptin and Insulin Concentration and its Relationship with Lipid Profile in Holstein Cows during the Prepartum and Postpartum

Pedram Parvardeh¹; Seyedeh Ommolbanin Ghasemian^{2*}; Leila Derakhshan¹

1. Department of Veterinary, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar- Iran.

2. Department of Veterinary, Behbahan Branch, Islamic Azad University, Behbahan- Iran.

Summary

Received: 30 August 2024

Accepted: 3 February 2025

From early to mid-pregnancy in cattle, blood leptin levels increase and remain elevated until the end of pregnancy. However, further studies are needed to understand leptin's role in fat production and metabolism. This study aimed to investigate the serum concentrations of leptin and insulin and their relationship with the lipid profile in Holstein cows before and after parturition. This basic experimental research was conducted on 50 pregnant Holstein cows kept in industrial cattle farm in Bagmalek from April 1402 to January 1402. Serum samples were collected from these cows two weeks before and after calving. The levels of leptin, insulin, triglycerides, cholesterol, HDL, and LDL were measured using ELISA kits and medical diagnostics. The findings indicated a decrease in leptin and insulin levels in cows after calving, along with an increase in triglyceride, cholesterol, and LDL levels compared to pre-calving levels ($P < 0.05$). Data analysis showed a strong positive correlation between blood leptin and insulin concentrations. Additionally, changes in leptin concentration were influenced by triglyceride ($r = 0.80$), cholesterol ($r = 0.67$), and LDL ($r = 0.63$). Insulin concentration was also significantly correlated with triglyceride ($r = 0.52$), cholesterol ($r = 0.67$), and LDL ($r = 0.63$). The reduction in leptin and insulin levels appears to be related to the increase in triglyceride, cholesterol, and LDL levels.

Keywords: Holstein cow, leptin, insulin, triglyceride, cholesterol, HDL, LDL

* Corresponding author: Ghasemian1249@yahoo.com

