

## اثر اندازه فولیکول تخمدانی و چرخه فعلی بر غلظت سرمی و مایع فولیکولی IGF-1، انسولین و گلوکز در گاو دو رگ خوزستان

کمال حسن‌پور<sup>۱\*</sup>، مرتضی ممویی<sup>۲</sup>، مرتضی اصغری مقدم<sup>۳</sup>، سید صالح طباطبایی وکیلی<sup>۴</sup>  
و محمدتقی بیگی نصیری<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۳

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۱۶

### خلاصه

فولیکول‌زایی یکی از مراحل فعالیت‌های تولیدمثلی در دام‌های ماده می‌باشد. طی مراحل رشد فولیکولی، مایع فولیکولی، که ترکیبات آن شامل فاکتورهای رشد، هورمون‌ها و مواد مغذی مختلف می‌باشد، شرایط لازم برای رشد و بلوغ اووسیت را فراهم می‌کند. مطالعه حاضر به منظور مقایسه غلظت IGF-1، انسولین و گلوکز مایع فولیکولی تخمدان در فولیکول‌های با اندازه متفاوت و سرم خون بین مراحل فولیکولار و لوتئال چرخه فعلی گاوهای دورگ انجام شد. نمونه‌های خون و تخمدان‌های ۲۰ رأس از گاوهای کشتار شده (۱۰ رأس در مرحله لوتئال و ۱۰ رأس در مرحله فولیکولار) مورد بررسی قرار گرفتند. مایع فولیکولی از دو گروه فولیکولی کوچک (۶ تا ۹ میلی‌متر) و بزرگ (۱۰ میلی‌متر و بیشتر) اخذ گردید. غلظت IGF-1، انسولین و گلوکز در مایعات فولیکولی و نیز سرم خون تعیین گردید. نتایج نشان داد که غلظت IGF-1 مایعات فولیکولی و سرم خون در مرحله فولیکولار به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بیشتر از مرحله لوتئال بود. در هر دو مرحله جنسی، تفاوت معنی‌داری بین غلظت IGF-1 سرم خون و فولیکول‌ها با اندازه‌های مختلف وجود نداشت. غلظت انسولین در فولیکول‌های بزرگ و کوچک مرحله فولیکولار نسبت به مرحله لوتئال دارای تفاوت معنی‌داری نبود ( $P > 0.05$ )، اما غلظت انسولین سرم خون در مرحله فولیکولار به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بیشتر از مرحله لوتئال بود. در مرحله لوتئال، تفاوت غلظت انسولین بین سرم خون و فولیکول‌های کوچک و بزرگ معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ )، اما در مرحله فولیکولار میزان انسولین سرم خون به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بیشتر از فولیکول‌های بزرگ و کوچک بود. در این مطالعه، غلظت گلوکز سرم خون و مایع فولیکولی فولیکول‌های بزرگ و کوچک در مرحله فولیکولار نسبت به مرحله لوتئال دارای تفاوت معنی‌داری نبود ( $P > 0.05$ ). در هر دو مرحله چرخه فعلی، غلظت گلوکز سرم خون به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بیشتر از فولیکول‌های بزرگ و کوچک بود. به طور کلی نتایج نشان داد که میزان IGF-1، انسولین و گلوکز در مایع فولیکولی و سرم خون گاو بسته به مرحله چرخه جنسی و میزان تکامل فولیکولی در تغییر می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** IGF-1، انسولین، گلوکز، مایع فولیکولی، سرم، چرخه فعلی

### مقدمه

عواملی که در کاهش باروری و ناباروری مؤثر هستند، شناسایی شوند (قجقی و همکاران ۱۳۸۹). چرخه تخمدان، به مجموعه فرآیندهایی گفته می‌شود که به شیوه متناوب در تخمدان یک جانور بالغ غیرآبستن رخ می‌دهد،

از جمله دلایل حذف گاوهای شیری، ناهنجاری‌های تولیدمثلی و کاهش باروری می‌باشند که هزینه‌های زیادی را بر دامداران تحمیل می‌کنند. ارزیابی فاکتورهای تاثیرگذار بر فرایند تولیدمثلی شرایطی را فراهم می‌سازد تا

\*۱ دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین

E-mail: Hasanpoor.kamal@gmail.com (نویسنده مسئول)

۲ دانشیار گروه فیزیولوژی دام، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین

۳ مربی گروه فیزیولوژی دام، دانشکده علوم دامی، دانشگاه زابل

۴ استادیار گروه فیزیولوژی دام، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین

۵ دانشیار گروه ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین

بیوشیمیایی مایع فولیکولی که بر رشد و نمو فولیکول‌ها و کیفیت اووسیت‌ها مؤثر هستند، ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این تحقیق، اثر اندازه فولیکول و چرخه فحلی بر غلظت سرمی و مایع فولیکولی IGF-I، انسولین و گلوکز در گاو دورگ خوزستان می‌باشد.

### مواد و روش کار

در این مطالعه خون‌گیری از ورید وداج ۴۳ رأس گاو دورگ ۳ تا ۴ ساله در کشتارگاه اهواز، بلافاصله قبل از کشتار دام‌ها انجام شد و نمونه‌های خون داخل لوله‌های بدون ماده ضد انعقاد شماره‌گذاری شده، ریخته شدند. بلافاصله تخمدان راست و چپ جداسازی گردید و داخل فاکون‌های شماره‌گذاری شده، همراه با نمونه‌های خون در دمای تقریبی ۴- درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه دانشگاه کشاورزی رامین خوزستان منتقل شدند. پس از سانتریفیوژ کردن نمونه‌های خون با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه، سرم خون جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. مراحل چرخه فحلی در آزمایشگاه در قالب دو مرحله فولیکولار و لوتئال با بررسی ظاهر تخمدان‌ها (وضعیت رشد فولیکول‌ها و خصوصیات جسم زرد) تعیین گردید (Ali et al. 2003, Tetsuka et al. 2003, Spicer et al. 2005, Ireland et al. 1979). سپس، فولیکول‌های موجود در تخمدان‌های راست و چپ با استفاده از کولیس به دو گروه با اندازه‌های کوچک (۶ تا ۹ میلی‌متر) و بزرگ (بیش از ۱۰ میلی‌متر) طبقه‌بندی شدند (Wise 1987, Echtenkamp 2000, Arshad et al. 2005, Abd Ellah et al. 2010). در هر گروه فولیکولی جفت تخمدان‌ها، مایع فولیکولی به صورت جداگانه توسط سرنگ‌های انسولین جمع‌آوری و داخل میکروتیوب شماره‌گذاری شده قرار داده شد. نمونه‌های سرم خون و مایع فولیکولی مربوط به ۲۰ رأس از گاو‌ها که دارای تخمدان‌های سالم و فعال بودند (۱۰

این فرایندها شامل تخمک‌زایی، رشد و نمو فولیکول‌ها، تخمک‌ریزی، رشد و نمو و پس‌روی جسم زرد می‌باشد. چرخه تخمدانی شامل دو مرحله است، مرحله فولیکولار که دوره رشد و نمو فولیکول همراه با تخمک‌ریزی است و مرحله لوتئال، که دوره رشد و نمو جسم زرد همراه با پس‌روی آن است. طی مراحل رشد فولیکولی، مایع فولیکولی، که ترکیبات آن شامل فاکتورهای رشد، هورمون‌ها و مواد مغذی مختلف می‌باشد، شرایط لازم برای رشد و بلوغ تخمک را فراهم می‌کند (ضمیمه ۱۳۸۵). فاکتور رشد شبه انسولینی-۱ (IGF-1)، هورمونی متابولیکی است که به وسیله هورمون رشد در کبد تولید شده و از طریق خون به درون مایع فولیکولی رفته و بر بلوغ فولیکول‌ها تاثیر می‌گذارد (توحیدی و همکاران ۱۳۸۹). IGF به مقدار زیادی توسط دستگاه تولید مثلی ماده تولید می‌شود که روی رشد و تمایز رویان اثر دارد و توسط بیان ژن گیرنده IGF-I و IGF-BP رویان اثر IGF تعدیل می‌شود (Prelle et al. 2001)، همچنین مشخص شده است که این هورمون از یک سو تقسیم سلولی را تحریک می‌کند، و از طرف دیگر مانع مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌شود (Ellis et al. 1991). غلظت IGF-1 وابسته به میزان انسولین است (Landau et al. 2000). در مطالعاتی که توسط Beam و Butler در سال ۱۹۹۸ انجام شد، کاهش غلظت انسولین، کاهش باروری در گاوهای شیری مشاهده شد. عدم تخمک‌ریزی در طول چرخه جنسی، با غلظت پایین انسولین در سرم خون مرتبط می‌باشد (Landau et al. 2000). متابولیت‌های مایع فولیکولی که متأثر از غلظت متابولیت‌های خون می‌باشند، بر باروری حیوان تاثیر گذارند. گلوکز از جمله متابولیت‌های مؤثر بر باروری می‌باشد (Leroy et al. 2004). میزان گلوکز، یکی از فاکتورهای تنظیم کننده مسیر GH-IGF-1 است (Zulu et al. 2002). لذا بررسی و مطالعه تغییرات هورمونی و

## نتایج

در مطالعه حاضر، غلظت IGF-1، انسولین و گلوکز بین دو گروه فولیکولی کوچک و بزرگ و نیز گروه‌های فولیکولی با سرم خون در مراحل فولیکولار و لوتال چرخه فحلی مورد مقایسه قرار گرفت. غلظت IGF-1 سرم خون و نیز مایع فولیکولی فولیکول‌های بزرگ و کوچک در مرحله فولیکولار به طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) بیشتر از مرحله لوتال بود. در مقایسه غلظت IGF-1 بین فولیکول‌های بزرگ و کوچک و نیز سرم خون در هر دو مرحله فولیکولار و لوتال اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید (جدول ۱).

رأس در مرحله لوتال و ۱۰ رأس در مرحله فولیکولار) به آزمایشگاه جهاد دانشگاهی اهواز منتقل گردیدند. برای اندازه‌گیری غلظت هورمون‌های IGF-1 و انسولین سرم خون و مایعات فولیکولی از روش الیزا استفاده شد. اندازه‌گیری هورمون IGF-1 با استفاده از کیت تجاری شرکت IDS با مشخصات (AC-27F1) انجام گرفت. غلظت گلوکز مایع فولیکولی و سرم خون با روش فوتومتریک انجام شد. اطلاعات به دست آمده از آنالیز نمونه‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2، آنالیز دو طرفه ANOVA و آزمون مقایسه‌ای دانکن تجزیه و تحلیل شدند (SAS 1999-2000).

جدول ۱: میانگین غلظت IGF-1 (ng/ml) فولیکول و سرم خون گاو دورگ در مراحل مختلف چرخه فحلی

سرم خون	فولیکول بزرگ (بزرگتر از ۱۰ میلی‌متر)	فولیکول کوچک (۶ تا ۹ میلی‌متر)	تعداد دام	مراحل چرخه فحلی
<sup>a</sup> ۱۲۸/۷۶ ± ۱۹/۸۲	<sup>a</sup> ۱۰۹/۱۱ ± ۲۲/۹	<sup>a</sup> ۱۰۲/۸۶ ± ۱۵/۲۶	۱۰	مرحله فولیکولار
<sup>b</sup> ۷۰/۴۴ ± ۵/۶	<sup>b</sup> ۵۵/۳۷ ± ۵/۸۷	<sup>b</sup> ۴۰/۳۶ ± ۵/۶	۱۰	مرحله لوتال

\* حروف غیر مشابه در ستون و ردیف نشانگر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد.

بین فولیکول‌های کوچک، بزرگ و سرم خون تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید ( $P > 0/05$ ) ولی در مرحله فولیکولار، میزان انسولین سرم خون به طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) بیشتر از فولیکول‌های بزرگ و کوچک بود (جدول ۲).

غلظت انسولین در فولیکول‌های بزرگ و کوچک مرحله فولیکولار نسبت به مرحله لوتال معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ) اما غلظت انسولین سرم خون در مرحله فولیکولار به طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) بیشتر از مرحله لوتال بود (جدول ۲). در مرحله لوتال، غلظت انسولین

جدول ۲: میانگین غلظت انسولین (mU/ml) در فولیکول و سرم خون گاو دورگ در مراحل مختلف چرخه فحلی

سرم خون	فولیکول بزرگ (بزرگتر از ۱۰ میلی‌متر)	فولیکول کوچک (۶ تا ۹ میلی‌متر)	تعداد دام	مراحل چرخه فحلی
<sup>b</sup> ۱۱/۷۶ ± ۲/۵۶	<sup>a</sup> ۲/۷ ± ۰/۴۸	<sup>a</sup> ۲/۲ ± ۰/۱۸	۱۰	مرحله فولیکولار
<sup>a</sup> ۵/۰۴ ± ۱/۶۱	<sup>a</sup> ۲/۹ ± ۰/۷	<sup>a</sup> ۲/۱ ± ۰/۱۹	۱۰	مرحله لوتال

\* حروف غیر مشابه در ستون و ردیف نشانگر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد.

و کوچک بود. هرچند غلظت گلوکز فولیکول‌های بزرگ در هر دو مرحله فولیکولار و لوتئال بیشتر از فولیکول‌های کوچک بود، اما این اختلاف معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ )، (جدول ۳).

در مقایسه غلظت گلوکز سرم خون و مایع فولیکولی فولیکول‌های بزرگ و کوچک در مرحله فولیکولار نسبت به مرحله لوتئال تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). در هر دو مرحله چرخه فحلی، غلظت گلوکز سرم خون به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بیشتر از فولیکول‌های بزرگ

جدول ۳: میانگین غلظت گلوکز ( $mg/dl$ ) در فولیکول و سرم خون گاو دورگ در مراحل مختلف چرخه فحلی

سرم خون	فولیکول بزرگ (بزرگتر از ۱۰ میلی متر)	فولیکول کوچک (۶ تا ۹ میلی متر)	تعداد دام	مراحل چرخه فحلی
$98.36 \pm 6.35^b$	$78 \pm 6/4^a$	$63.4 \pm 0.88^a$	۱۰	مرحله فولیکولار
$99.12 \pm 23.4^b$	$70 \pm 6/4^a$	$60 \pm 1.56^a$	۱۰	مرحله لوتئال

\* حروف غیر مشابه در ستون و ردیف نشانگر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد.

### بحث

حاضر، Stewar و همکاران در سال ۱۹۹۵، De la Sota و همکاران در سال ۱۹۹۶ و قجقی و همکاران در سال ۱۳۸۹ تفاوت معنی‌داری بین غلظت IGF-1 مایع فولیکولی فولیکول‌های کوچک و بزرگ مشاهده نکردند. در مقابل، Hammond و همکاران در سال ۱۹۸۵ و Beg و Ginther در سال ۲۰۰۶، غلظت IGF-1 بین این دو گروه فولیکولی را معنی‌دار گزارش کردند. این محققین در بررسی‌های خود، مراحل چرخه را در نظر نگرفته بودند. به نظر می‌رسد افزایش غلظت IGF-1 در فولیکول‌های بزرگ، به دلیل انتشار IGF-1 سرم خون به درون مایع فولیکولی باشد (Spicer et al. 2000).

در مطالعه Landau و همکاران در سال ۲۰۰۰ روی گاوهای هلستاین، غلظت انسولین سرم خون در مرحله فولیکولار به طور معنی‌داری بیشتر از مرحله لوتئال بود. سطح انسولین پلاسما به طور تنگاتنگی با رشد فولیکول‌ها و تخمک‌ریزی مرتبط است که این فرایند از طریق تنظیم ترشح LH انجام می‌شود (Kawashima et al. 2007). زمانی که تخمک‌ریزی انجام می‌شود، غلظت انسولین پلاسما نیز هم زمان با غلیان ترشح استروژن افزایش

هورمون رشد (GH) از هیپوفیز ترشح می‌شود و سپس روی گیرنده‌های خود در کبد و تخمدان اثر می‌گذارد. GH در کبد باعث سنتز و ترشح IGF-I می‌شود. IGF-I از طریق خون به تخمدان رفته و همچنین تخمدان IGF-I و IGF-II را تولید می‌کند. بالانس منفی انرژی، زایش، بیماری و پیری با اثرگذاری بر کبد باعث کاهش IGF-I اندوکرینی می‌شوند (Lucy 2000). میزان IGF-1 مایع فولیکولی در طی رشد و نمو فولیکول‌ها افزایش می‌یابد. این نتایج موافق با نتایج Hammond و همکاران در سال ۱۹۸۵ و Weber و همکاران در سال ۱۹۹۹ بود. Spicer و همکاران در سال ۲۰۰۵ با مطالعه‌ای که روی مادیان انجام دادند، غلظت IGF-1 بالایی را در مایع فولیکولی فولیکول‌های با اندازه‌های مختلف در مرحله فولیکولار نسبت به مرحله لوتئال گزارش دادند ( $P < 0.05$ ). این احتمال وجود دارد که انتشار هورمون‌ها از خون به درون مایع فولیکولی بین انواع فولیکول‌ها در طول چرخه استروس متفاوت باشد. در مرحله فولیکولار با افزایش اندازه فولیکول قابلیت نفوذپذیری دیواره فولیکول افزایش می‌یابد (Spicer et al. 2000). مطابق با نتایج مطالعه

از افزایش قابلیت نفوذ گلوکز سرم خون از دیواره سلول‌های فولیکولی در طی رشد آنها باشد (فجقی و همکاران ۱۳۸۹). این احتمال وجود دارد که متابولیسم گلوکز (در هر واحد از حجم فولیکول) در فولیکول‌های بزرگتر نسبت به فولیکول‌های کوچکتر شدت کمتری داشته باشد که در نتیجه باعث مصرف کمتر گلوکز مایع فولیکولی به وسیله سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌ها می‌باشد. به نظر می‌رسد وجود گلوکز کافی در مایع فولیکولی به عنوان پیش نیاز بلوغ و باروری اووسیت مهم باشد (Leroy et al. 2004). Etgen و همکاران در سال ۲۰۰۶ گزارش دادند، که کاهش گلوکز، حتی در حضور غلظت بالای هورمون رشد باعث کاهش ساخت IGF-1 می‌شود. Taylor و همکاران در سال ۲۰۰۶ گزارش دادند، که کاهش گلوکز احتمالاً از طریق القاء کاهش رونویسی این ژن عمل می‌کند. در نتیجه، رونویسی ژن IGF-1 تحت تأثیر مقدار گلوکز است.

به طور کلی با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه و مقایسه آن با یافته‌های سایر محققان، غلظت IGF-1 با افزایش اندازه فولیکول‌ها در مرحله فولیکولار چرخه فحلی نسبت به مرحله لوتئال افزایش می‌یابد. بنابراین مشخص می‌شود که غلظت IGF-1 از عوامل تأثیرگذار در رشد فولیکول‌ها می‌باشد و متناسب با رشد فولیکول‌ها افزایش می‌یابد، اگر چه در مقایسه بین فولیکول‌های کوچک و بزرگ تغییرات آنها معنی‌دار نبود. غلظت انسولین سرم خون در مرحله فولیکولار بیشتر از مرحله لوتئال بود. همچنین در مرحله فولیکولار، غلظت انسولین سرم خون بیشتر از فولیکول‌های بزرگ و کوچک بود، اما غلظت این هورمون در فولیکول‌های بزرگ در مقایسه با فولیکول‌های کوچک و سرم خون مربوط به مرحله لوتئال معنی‌دار نبود. در هر دو مرحله فولیکولار و لوتئال، غلظت گلوکز سرم خون به طور معنی‌داری بیشتر از فولیکول‌های بزرگ و متوسط بود. اما تفاوت معنی‌داری بین غلظت گلوکز در فولیکول‌های بزرگ و متوسط هر دو مرحله چرخه جنسی وجود نداشت. نتایج

می‌یابد. در این مکانیسم، انسولین از طریق تحریک سلول‌های گرانولوزا باعث افزایش ترشح استروژن می‌شود (Butler et al. 2004).

مطابق با این مطالعه، Armstrong و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش دادند، سطح انسولین سرم طی رشد فولیکول‌ها به طور چشم‌گیری افزایش می‌یابد. توانایی فولیکول غالب در تولید استرادیول، تحریک غلیان LH و تخمک‌گذاری به فراوانی پالس‌های LH در مدت رشد فولیکول و غلظت‌های خونی انسولین و IGF-1 بستگی دارد که هر دو هورمون به طور هم‌کنش‌افزایی با گنادوتروپین‌ها در استروئیدسازی فعالیت می‌کنند (Butler et al. 2004). غلظت پایین انسولین ترشح IGF-1 را کاهش می‌دهد، اما بالا رفتن غلظت انسولین افزایش آن را به دنبال ندارد. اگر میزان انسولین کافی نباشد، فعالیت IGF-1 متوقف می‌شود (McCusker 1998). تداخل اثرات زیست‌شناختی مشترک IGF-1 و انسولین نه تنها ناشی از تشابه مولکولی آنها است (توالی اسید آمینه‌های آنها ۳۰ درصد یکسان است)، بلکه به دلیل ماهیت مولکولی مشترک و واکنش متقابل لیگاند‌هایی است که به گیرنده‌های IGF-1 و انسولین متصل می‌شوند (توحیدی و همکاران ۱۳۸۹).

رشد و بلوغ اووسیت‌ها تحت تأثیر ترکیبات مایع فولیکولی است. لذا هر گونه تغییر در ترکیبات بیوشیمیایی مایع فولیکولی می‌تواند بر کیفیت اووسیت مؤثر باشد (Leroy et al. 2004). از جمله این ترکیبات مؤثر گلوکز می‌باشد که در طی رشد فولیکول‌ها تغییر می‌کند (Beam and Butler 1998). با بزرگتر شدن اندازه فولیکول‌ها غلظت گلوکز نیز افزایش می‌یابد (Chang et al. 1976, Leroy et al. 2004, Tabatabaei et al. 2010, Tabatabaei and Mamoei 2010). افزایش میزان غلظت گلوکز همزمان با افزایش اندازه فولیکول‌ها ممکن است به دلیل افزایش میزان مایع فولیکولی در فولیکول‌های غالب باشد (Arshad et al. 2005). بالا بودن غلظت گلوکز در فولیکول‌های بزرگ، می‌تواند ناشی

اندازه فولیکول‌های تخمدان در یک محیط بیوشیمیایی متغیر رشد کرده و بالغ می‌شوند، که این محیط با تغییرات سطح گلوکز خون در ارتباط است.

نشان داد که میزان IGF-1 مایع فولیکولی در طی رشد و نمو فولیکول‌ها افزایش می‌یابد. سطح انسولین پلاسما به طور تنگاتنگی با رشد فولیکول‌ها ارتباط دارد، همچنین

## منابع

- Beg M.A. and Ginther O.J. (2006). Follicle selection in cattle and horses: role of intra follicular Factors. *Reproduction*, 132: 365-377.
- Butler S.T., Pelton S.H. and Butler W.R. (2004). Insulin increases  $17\beta$ -estradiol production by the dominant follicle of the first postpartum follicle wave in dairy cows. *Reproduction*, 127: 537-545.
- Chang S.C. S., Jones J.D., Ellefson R.D. and Ryan R.J. (1976). The porcine ovarian follicle: selected chemical analysis of follicular fluid at different developmental stages. *Biology of Reproduction*, 15:321-328.
- De la Sota R.L., Simmen F.A., Diaz T. and Thatcher W.W. (1996). Insulin-like growth factor system in bovine first wave-dominant and subordinate follicles. *Biology of Reproduction*, 55: 803-812.
- Echternkamp S.E. (2000). Endocrinology of increased ovarian folliculogenesis in cattle selected for twin births. *Journal of Animal Science*, 77: E1-E20.
- Ellis R.E., Yuan J. and Horvitz H.R. (1991). Mechanisms and functions of cell death. *Cell and Development Biology*, 7: 663-698.
- Etgen A.M., Gonzalez-flores O. and Todd B.J. (2006). The role of insulin-like growth factor-I and growth factor-associated signal transduction pathways in estradiol and progesterone facilitation of female reproductive behaviors. *Science Direct*, 27:363-375.
- Hammond J.M., Lino J.L., Baranao S., Skaleris D., Knight A.B., Romanus J.A. et al. (1985). Production of insulin-like growth factors by ovarian granulosa cells. *Endocrinology*, 117 (6): 2553-2555.
- Ireland J.J., Coulson P.B. and Murphree R.L. (1979). Follicular development during four stages of the estrous cycle of beef cattle. *Journal of Animal Science*, 49 (5):1261-1269.
- Kawashima C., Fukihara S., Maeda M., Kaneko E., Montoya C.A., Matusi M. et al. (2007). Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-producing dairy cows. *Reproduction*, 133 (1): 155-163.
- ضمیری محمدجواد (۱۳۸۵). فیزیولوژی تولید مثل. انتشارات حق شناس، چاپ دوم، صفحات ۴۴۸-۴۴۹.
- قجقی شمشاد، صمدی فیروز، حسنی سعید و جعفری آهنگری یوسف (۱۳۸۹). مقایسه بین غلظت‌های گلوکز و اوره مایع فولیکولی تخمدان در فولیکول‌های با اندازه‌های متفاوت و سرم خون در گاوهای شیری. چهارمین کنگره علوم دامی ایران، دانشگاه تهران، صفحات ۴۰۲۸-۴۰۲۵.
- توحیدی آرمین، دیرنده عیسی و صابری‌فر تناز (۱۳۸۹). تنظیم هورمون رشد در دام. تالیف هاسنر کی آل. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ اول، صفحات ۱۵۴-۱۵۱.
- Abd Ellah M.R., Hussein H.A. and Derar D.R. (2010). Ovarian Follicular Fluid Constituents in Relation to Stage of Estrus Cycle and Size of the Follicle in Buffalo. *Veterinary World*, Vol. 3 (6): 263-267.
- Ali A., Abdel-Razek A.K., Abdel-Ghaffar S. and Glatzel P.S. (2003). Ovarian follicular dynamics in buffalo cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 38: 214-218.
- Armstrong D.G., Gong J.G. and Webb R. (2003). Interactions between nutrition and ovarian activity in cattle: physiological, cellular and molecular mechanisms. *Reproduction*, 61: 403-414.
- Arshad H.M., Ahmad N., Samad H.A., Akhtar N. and Ali S. (2005). Studies on some biochemical constituents of ovarian follicular fluid and peripheral blood in buffaloes. *Pakistan Veterinary Journal*, 25 (4):189-193.
- Beam S.W. and Butler W.R. (1998). Energy balance metabolic hormones and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *Journal of Dairy Science*, 81 (1): 121-131.

- Landau S., Braw-Tal R., Kaim M. and Bor A. (2000). Preovulatory follicular status and diet affect the insulin and glucose content of follicles in high-yielding dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 64 (3): 181-197.
- Leroy J.L. M.R., Vanholder T., Delanghe J.R., Opsomer G., Van Soom A., Bols P.E. et al. (2004). Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum. *Theriogenology*, 62 (6): 1131-1143.
- Leroy J.L. M.R., Vanholder T., Delanghe J.R., Opsomer G., Vansom A., Bols P.E. et al. (2004). Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicular and their relationship to serum concentration in dairy cows. *Journal of Animal Reproduction Science*, 80:201-211.
- Lucy M.C. (2000). Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *Journal of Dairy Science*. 83 (7): 1635-1647.
- McCusker R.H. (1998). Controlling insulin-like growth factor activity and the modulation of insulin-like growth factor binding protein and receptor binding. *Journal of Dairy Science*, 81 (6): 1790-1800.
- Prelle K., Stojkovic M., Boxhammer K., Motlik J., Ewald D., Arnold G.J. et al. (2001). Insulin-like growth factor I (IGF-I) and long R(3)IGF-I differently affect development and messenger ribonucleic acid abundance for IGF-binding proteins and type I IGF receptors in in vitro produced bovine embryos. *Endocrinology*, 142 (3): 1309-1316.
- SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. (1999-2000). On line manual for users. <http://statdist.its.uu.se/sas/SASOnlinedocV9/sasdoc/sashtml/onldoc>.
- Spicer L.J., Davidson T.R., Chamberlain C.S. and Payton M.E. (2005). Relationship Between Follicle Size and Concentrations of Steroids and Insulin-like Growth Factor (IGF)-I in Mares. *Journal of Animal Science*, 29:573-581.
- Spicer L.J., Alvarez P., Prado T.M., Morgan G.L. and Hamilton T.D. (2000). Effects of intraovarian infusion of insulin-like growth factor-I on ovarian follicular function in cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, 18 (2): 265-278.
- Stewart R.E., Spicer L.J., Hamilton T.D. and Keefer B.E. (1995). Effects of insulin-like growth factor I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-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 (2): 3719-31.
- Tabatabaei S., Mamoei M. and Aghaei A. (2010). Dynamics of ovarian follicular fluid in cattle. *Springer*, 20 (6): 591-595.
- Tabatabaei S. and Mamoei M. (2010). Biochemical composition of blood plasma and follicular fluid in relation to follicular size in buffalo. *Springer*, 20 (5): 441-445.
- Taylor V.J., Beever D.E., Bryant M.J. and Wathes D.C. (2006). Pre-pubertal measurements of the somatotrophic axis as predictors of milk production in Holstein-Friesian dairy cows. *Domestic Animal Endocrinology*, 31 (1): 1-18.
- Tetsuka M., Yamamoto S., Hayashida N., Hayashi K.G., Hayashi M., Acosta T.J. et al. (2003). Expression of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenases in bovine follicle and corpus luteum. *Journal of Endocrinology*, 177: 445-452.
- 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.
- Weber M.S., Purup S., Vestergaard M., Ellis S.E., Andersen J.S., Akers R.M. et al. (1999). Contribution of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3 to mitogenic activity in bovine mammary extracts and serum. *Journal of Endocrinology*, 161: 365-373.
- Zulu V.C., Sawamukai Y., Nakada K., Kida K. and Moriyoshi M. (2002). Relationship among insulin-like growth factor-I, blood metabolites and postpartum ovarian function in dairy cows. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64 (10): 879-885.

## The effect of ovarian follicular size and estrous cycle on IGF-1, insulin and glucose levels of follicular fluid and blood serum in Khuzestan hybrid cattle

Hasanpoor K.<sup>1</sup>, Mamoei M.<sup>2</sup>, Asghari Moghadam M.<sup>3</sup>, Tabatabaei S.<sup>4</sup>  
and Begi Nasiri M.T.<sup>5</sup>

Received: 23.05.2012

Accepted: 4.02.2013

### Abstract

Folliculogenesis is the important process in the female reproduction. During the follicular development, follicular fluid with growth factor, hormones and various nutrients, provides the conditions for growth and maturation of oocyte. The present study was performed to evaluation the IGF-1, insulin and glucose concentrations in ovarian follicular fluid of different sized follicles and blood serum during follicular and luteal phases of estrous cycle in hybrid cattle. The blood samples and ovaries of 20 slaughtered cattle (10 animals in follicular and others in luteal phases of estrous cycle) were studied. In laboratory, the follicular fluid was aspirated from small (6-9 mm) and large ( $\geq 10$  mm) follicles. The concentrations of IGF-1, insulin and glucose in follicular fluids and blood serum were determined. The follicular fluid and serum levels of IGF-1 in follicular fluid was significantly ( $p < 0.05$ ) higher than luteal phase. In the both phases of estrous cycle, there was no significant difference in IGF-1 level of serum and different sized follicles ( $p > 0.05$ ). But, the serum level of insulin in follicular phase was significantly higher than that in luteal phase ( $P < 0.05$ ). In luteal phase, the difference of insulin level between blood serum and small as well as large follicles was not significant ( $P > 0.05$ ). However, in follicular phase, the concentration of blood serum insulin was significantly ( $p < 0.05$ ) higher than that in small and large follicles. In this study, the concentration of glucose of blood serum and follicular fluids of small and large follicles in follicular and luteal phases was not different ( $p > 0.05$ ). In general, the results showed that IGF-1, insulin and glucose in follicular fluid and blood serum of cattle depending on the stage of the sexual cycle and follicular development is changing.

**Key words:** IGF-1, Insulin, Glucose, Follicular fluid, Serum, Estrous cycle

---

1- MSc. Student of Faculty of Animal Sciences, Agriculture and Natural Resources University of Ramin, Khuzestan, Iran

2- Associate Professor, Department of Physiology Faculty of, Animal Sciences, Agriculture and Natural Resources University of Ramin, Khuzestan, Iran

3- MSc. in Animal Physiology, Faculty of Animal Sciences, University of Zabol, Iran

4- Assistant Professor, Department of Animal Physiology, Faculty of Animal Sciences, University of Agricultural Sciences and Natural Resources Ramin, Khuzestan, Iran

5- Assistant Professor, Department of Genetic and Animal Breeding, Faculty of Animal Sciences, Agriculture and Natural Resources University of Ramin, Khuzestan, Iran