

ارتباط پروفایل لیپیدی پلازما با شاخص‌های بافت‌شناسی بیضه در خروس‌های مادر گوشتی

امین کاظمی زاده^۱، احمد زارع شحنه^۲، مهدی حیدری^۳، محبوب محمدی^۴، مهدی ژندی^۵ و زریخت انصاری پیرسرای^۵

۱، ۳ و ۴- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشجوی دکتری تخصصی و دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه تهران

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشگاه تهران (نویسنده مسؤول: azareh@ut.ac.ir)

۵- دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۳

تاریخ دریافت: ۹۷/۲/۳۱

چکیدہ

هدف این پژوهش، مطالعه‌ی همبستگی پروفایل لیپیدی پلاسما با شاخص‌های بافت‌شناسی بیشه در خروس‌های مادر گوشتی بود. پژوهش حاضر بر روی ۱۲ قطعه خروس مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ انجام شد. برای اندازه‌گیری غلظت پروفایل لیپیدی پلاسما (کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین با دانسیته کم LDL، لیپوپروتئین با دانسیته بالا HDL و گلوکز)، نمونه خون از سیاهرگ زیر بال جمع‌آوری شد. فراسنجه‌های غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL، HDL با روش اسپکتروفتومتری و همچنین غلظت گلوکز با روش الکتروشیمیایی اندازه‌گیری شد. جهت بررسی شاخص‌های بافت‌شناسی بیشه (شاخص اندوکرینی بیشه)، مقاطع پارافینی پنج میکرومتری بافت بیشه استفاده شد. نتایج این پژوهش نشان داد که مقدار غلظت پلاسمایی HDL با تعداد سلول‌های لایدیدگ ($r = +0.73$, $p < +0.01$)، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی ($r = +0.92$, $p < +0.01$)، ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز ($r = +0.86$, $p < +0.01$) و قطر لوله‌های سمینی‌فر ($r = +0.62$, $p < +0.01$) همبستگی مثبت دارد. اما میزان غلظت پلاسمایی کلسترول و گلوکز به ترتیب با تعداد سلول‌های لایدیدگ ($r = -0.78$, $p < +0.01$ ، $r = -0.69$, $p < +0.01$)، ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز ($r = -0.72$, $p < +0.01$ ، $r = -0.68$, $p < +0.01$)، ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز ($r = -0.80$, $p < +0.01$) و قطر لوله‌های سمینی‌فر ($r = -0.80$, $p < +0.01$ ، $r = -0.82$, $p < +0.01$) همبستگی منفی داشت. LDL نیز با تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی ($r = -0.39$, $p < +0.01$) و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز ($r = -0.69$, $p < +0.01$) همبستگی منفی نشان داد. همچنین تری‌گلیسرید با تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی ($r = -0.79$, $p < +0.01$)، ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز ($r = -0.71$, $p < +0.01$) و قطر لوله‌های سمینی‌فر ($r = -0.76$, $p < +0.01$) همبستگی منفی داشت. به طور کلی، لیپوپروتئین HDL با شاخص‌های هیستولوژی بافت بیشه همبستگی مثبت دارد، اما تری‌گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین LDL و گلوکز رابطه منفی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: بافت‌شناسی، بیضه، پلازما، لیسید، خروس مادر گوشتی

مقدمه

یکی از مشکلات صنعت مرغ مادر، تجمع چربی‌های بطنی و افزایش شاخص‌های چربی پلاسما با پیشرفت دوره‌ی تولید است. این تغییرات، مرغ و خروس‌ها را مستعد ابتلا به بیماری‌های متابولیک و کاهش باروری می‌کند (۲۴). بخش شایان توجهی از فسفولیپیدهای غشای اسپرم خروس را اسیدهای چرب امگا ۶ تشکیل می‌دهد. دوکوزاترانونیک اسید (DHA)، ۱۷ تا ۳۰ درصد و آراشیدونیک اسید، ۱۱ تا ۱۳ درصد کل اسیدهای چرب غشای اسپرم را تشکیل می‌دهند و درصد اسیدهای چرب غیراشباع امگا ۳ اندک (۱-۵ درصد) است (۲). لیپیدهای اسپرم در سوخت و ساز اسپرم، جنابایی، زنده‌مانی، حساسیت اسپرم به کاهش دما و سیالیت غشای اسپرم نقش دارند (۱۵). وجود رابطه منفی بین وزن بدن و سطح چربی‌های ذخیره‌ای با شایستگی تولیدمثل در طیور به تأیید رسیده است و این امر توانایی تولید در گله‌های مرغ مادر گوشتی را به شدت محدود می‌کند (۲۴). پایین بودن کیفیت اسپرماتوزئیدهای موجب ناباروری و کم باروری حیوان شده و بخش عمده‌ای از سرمایه پرورش‌دهنده را هدر می‌دهند. از طرف دیگری شواهدی وجود دارد که افزودن مکمل‌های غذایی حاوی اسیدهای چرب غیراشباع به خوراک دام و طیور موجب افزایش اسپرماتوزن، بهبود کیفیت اسپرماتوزئید و بالا رفتن میزان باروری می‌شود (۲۸). لیپوپروتئین‌ها وظیفه جابه‌جایی از قبیل کلسترول را بین بافت‌های ترشح‌کننده و

اندام‌های هدف را برعهده دارند (۱۱). بنابراین جذب لیبید در اندام هدف عمدتاً با واسطه‌ای گیرنده‌های لیپوپروتئین صورت می‌گیرد (۱۲). بالا بودن سطح لیپیدی سرم خون منجر به بروز تنش اکسیداتیو، تغییرات ساختاری گسترده در بافت بیضه در موش صحرایی می‌شود (۶). در نتیجه پیشنهاد کردند که با مکمل‌سازی مواد خوراکی از جمله پودر دارچین می‌توان ظرفیت آنتی اکسیدانی را بهبود بخشید و از این طریق بخشی از آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو را کاهش داد (۳۰، ۱۰). همچنین بالا بودن میزان تری‌گلیسرید و کلسترول می‌تواند سبب ایجاد تغییرات غیرطبیعی در مروفولوژی سلول‌های جنسی مختلف در لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه انسان شود (۲۴). مورگان و همکاران (۲۰) گزارش نموده‌اند که افزایش میزان کلسترول موجب نارسایی ساختار بافت‌شناسی بیضه و فیزیولوژیکی سد خونی - بیضه‌ای می‌شود و این امر به نوبه خود منجر به ناباروری می‌شود. میزان و نوع لیپیدهای موجود در ساختار دم اسپرم، نقش بسیار مهمی در باروری دارد (۲۸)، به‌طوری که تغییرات غیرقابل برگشت غشای فسفولیپیدی اسپرم در اثر پراکسیدسیون لیپیدها از عوامل اصلی کاهش باروری به شمار می‌آید (۱۶). مطالعات قبلی اثبات کرده‌اند که در طول روند اسپرماتوژنز در حیوانات نر، تبدیل سلول نابالغ جنسی به اسپرماتوزئید، به‌طور مستقیم وابسته به حضور مقادیر بالای اسیدهای چرب غیراشباع در ساختار بیضه است (۲۸). افزایش غیرطبیعی سطح تری‌گلیسرید سرم موجب

1- Docosatetraenoic acid

کاهش تحرک اسپرماتوزئید در انسان (۷) و اختلال در انجام واکنش آکروزمی در سر اسپرماتوزئید خرگوش می شود (۴). بنابراین، با توجه به اینکه در مورد ارتباط پروفایل لیپیدی پلاسما با شاخص های بافت شناسی بیضه در خروس های مادر گوشتی مطالعه جامع های صورت نگرفته و مطالعه در این مورد می تواند بخش قابل توجهی از مشکلات باروری را شناسایی و کاهش دهد، هدف از این پژوهش، بررسی ارتباط پروفایل لیپیدی پلاسما با شاخص های بافت شناسی بیضه در خروس های مادر گوشتی راس ۳۰۸ است.

مواد و روش ها پرنده ها، شرایط محیطی

این پژوهش، در مهر ماه سال ۱۳۹۵ در ایستگاه آموزشی و پژوهشی علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی

دانشگاه تهران انجام شد. ۱۲ قطعه خروس مادر گوشتی با میانگین وزن اولیه $5/46 \pm 0/23$ کیلوگرم از یک گله ی تجاری که تا ۴۷ هفتگی بر اساس راهنمای مدیریتی راس ۳۰۸ پرورش داده شده بودند، انتخاب و به صورت تصادفی به چهار گروه سه تایی تقسیم شدند، سپس هر گروه به صورت جداگانه در پن های $4 \times 1/25$ متری و تحت شرایط محدودیت غذایی و در دمای ۲۱-۱۸ درجه سلسیوس با دوره نوری ۱۴ ساعت روشنایی ۱۰ ساعت تاریکی نگهداری شدند. جیره پایه بر اساس توصیه میزان مواد مغذی پیشنهادی تدوین کاتولوگ راس ۳۰۸، (۲۰۱۶) تنظیم شده و ترکیبات خوراکی و احتیاجات مواد مغذی از NRC طيور ۱۹۹۴ با استفاده از نرم افزار WUFFDA انجام شد (جدول ۱). آب به صورت آزاد در دسترس آنها قرار گرفت.

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره استاندارد خروس

ترکیب جیره (%)	
ذرت	۶۹/۰۰
سویا	۸/۵۰
سیوس گندم	۱۹/۵۰
دی کلسیم فسفات	۱/۲۵
کربنات کلسیم	۰/۸۰
سدیم کلراید	۰/۳۳
مکمل ویتامینی [†]	۰/۲۵
مکمل معدنی ^{††}	۰/۲۵
درصد مواد مغذی جیره	
انرژی سوخت و سازی (kcal/kg)	۳۷۵۴/۵
پروتئین خام	۱۲/۰۰
کلسیم	۰/۷۰
فسفر	۰/۳۵
سدیم	۰/۱۵
کلر	۰/۱۵

[†] هر کیلوگرم جیره دارای ۱۵۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۱۰۰ واحد بین المللی ویتامین E، ۴ میلی گرم ویتامین K3، ۲۵ میکروگرم ویتامین B12، ۳۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D3، ۷/۵ میلی گرم B2، ۵۰ میلی گرم B3، ۱۸ میلی گرم B5، ۵/۵ میلی گرم B6 و ۵۰ میکروگرم B7 بود. ^{††} هر کیلوگرم جیره دارای ۵۰ میلی گرم آهن، ۱۲۰ میلی گرم منگنز، ۱۱۰ میلی گرم روی، ۲ میلی گرم ید و ۰/۳ میلی گرم سلنیوم بود.

اندازه گیری فراسنجه های خونی

خون گیری از پرندگان از سیاهرگ بال (ساعت شش صبح قبل از مصرف خوراک) انجام گرفت. پس از خون گیری، سریعاً غلظت گلوکز با روش الکتروشیمیایی و با استفاده از دستگاه گلوکزسنج (Glucocard 01, Arkway, Japan) اندازه گیری و نمونه های خون در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد (EDTA) ریخته و سپس سانتریفوژ (۲۰ دقیقه $3500 \times g$) شد. نمونه های پلاسما به میکروتیوپ های ۰/۵ میلی لیتری ریخته شده و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. در نهایت غلظت کلسترول (ضریب پراکنش: ۰/۱۳)، تری گلیسرید (ضریب پراکنش: ۰/۱۴)، لیپوپروتئین های با دانسیته کم (LDL، ضریب پراکنش: ۰/۱۳) و لیپوپروتئین های با دانسیته بالا (HDL، ضریب پراکنش: ۰/۱۶) با روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از کیت های تجاری شرکت پارس آزمون اندازه گیری و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده اندازه گیری شد.

بافت شناسی بیضه

پس از نمونه گیری، جهت تثبیت نمونه ها، بافت ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول بوئن و سپس به مدت ۷۲ ساعت در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. در ادامه، هر نمونه به سه قسمت مساوی تقسیم شده و از قسمت میانی آنها جهت فرآیند آماده سازی بافت و تهیه بلوک های پارافینی استفاده گردید. به طور خلاصه، نمونه ها تهیه شده به درون دستگاه پردازش گر بافت (Model: DS 2080، ساخت کشور ایران) منتقل شدند. ترتیب محلول های دستگاه شامل محلول ۱ و ۲ دارای فرمالین ۱۰ درصد، محلول ۳ دارای الکل ۷۰ درصد، محلول ۴ دارای الکل ۸۰ درصد، محلول ۵ الکل ۹۰ درصد و محلول ۶ الکل ۹۶ درصد بود. افزایشی بودن درصد الکل ها برای آبگیری آهسته بود. محلول ۷ و ۸ دارای الکل مطلق یا ۱۰۰ درصد و محلول ۹ و ۱۰ گزبلول بود، که شفاف سازی بافت و خروج الکل از آن را بر عهده داشتند و در نهایت محلول های ۱۱ و ۱۲ پارافین بود. پس از پایان مراحل

فرآیندسازی بافت، نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری و با استفاده از دستگاه میکروتوم دوار (Model: DS4055، ساخت کشور ایران)، برش‌های ۵ میکرومتری تهیه شد. از هر نمونه بافت بیضه چهار اسلاید تهیه و برای رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین استفاده شد. بدین منظور، اسلایدها را در گیره رنگ آمیزی قرار داده شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه درون آن (Model: BMS55، ساخت کشور ایران) با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس گیره‌های حاوی اسلایدها به ترتیب به درون محلول‌هایی که در ادامه ذکر شده است، انتقال یافتند. (۱) گزیلول (۵ دقیقه)، (۲) گزیلول (۱۰ دقیقه)، (۳) الکل ۱۰۰ درصد (۳ دقیقه)، (۴) الکل ۹۰ درصد (۳ دقیقه)، (۵) الکل ۸۰ درصد (۳ دقیقه)، (۶) الکل ۷۰ درصد (۳ دقیقه)، (۷) شستشو با آب جاری (۱ دقیقه)، (۸) رنگ هماتوکسیلین (۱۵ دقیقه)، (۹) شستشو با آب جاری (۱ دقیقه)، (۱۰) محلول اسید الکل (یکبار غوطه‌ورسازی)، (۱۱) شستشو با آب جاری (۱ دقیقه)، (۱۲) رنگ اتوزین (۵ دقیقه)، (۱۳) الکل ۷۰ درصد (۳ دقیقه)، (۱۴) الکل ۸۰ درصد (۳ دقیقه)، (۱۵) الکل ۹۰ درصد (۳ دقیقه)، (۱۶) الکل ۱۰۰ درصد (۳ دقیقه)، (۱۷) گزیلول (۵ دقیقه) و (۱۸) گزیلول (۵ دقیقه). محلول‌های ۱ و ۲ برای پارافین‌زدایی، محلول‌های ۳ تا ۶ برای آب‌دهی، محلول ۱۰ برای تمایز، محلول‌های ۱۳ - ۱۶ برای آب‌گیری و محلول‌های ۱۷ و ۱۸ برای شفاف‌سازی استفاده شد. سپس بر روی اسلایدهای تهیه شده، لامل چسبانده شد (مونت کردن) و تا زمان ارزیابی درون جعبه نگهداری لام قرار گرفتند.

ریخت‌شناسی بافت بیضه

۲۰ عکس گرفته شده از هر اسلاید با میکروسکوپ نوری (Labomed Inc., Los Angeles, USA) بزرگ‌نمایی $\times 100$ به دست آمد و با نرم‌افزار (National Image J Institutes of Health, Bethesda, MD) ارزیابی شد. برای هر نمونه، قطر لوله اسپرم‌ساز، ضخامت بافت پوششی لوله اسپرم‌ساز و شمار سلول‌های اسپرماتوگونی با شمارش مقاطع عرضی ۲۰ لوله اسپرم‌ساز به‌طور تصادفی و میانگین‌گیری از آن‌ها به دست آمد (۱۴). تعداد سلول‌ها لایدیگ و رگ‌های خونی نیز در هر عکس در (مساحت 0.39 میلی‌متر مربع) شمارش و میانگین گرفته شد.

واکوی آماری

برای میانگین و انحراف معیار مقادیر لیپیدهای پلاسما و هم چنین شاخص‌های هیستولوژی بافت بیضه از آمار توصیفی استفاده شد. و سپس از آزمون Shapiro-Wilk برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها استفاده گردید. برای بررسی ارتباط بین مقادیر پروفیل‌های لیپیدی با شاخص‌های بافت‌شناسی بیضه از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد.

نتایج و بحث

میانگین و انحراف معیار مقادیر غلظت پروفیل‌های لیپیدی پلاسما و مقادیر فراسنجه‌های بافت‌شناسی بیضه در خروس مادر گوشتی راس ۳۰۸ مورد مطالعه در جدول (۲ و ۳) نشان داده شده است، بر این اساس گلوکز بیش‌ترین غلظت را نشان

داد، به‌علاوه HDL بیشترین میزان لیپوپروتئین‌ها پلاسما بوده و LDL در سطح خیلی پایین‌تری قرار داشت. تغییراتی که در متابولیت‌های خونی مانند پروفیل چربی‌های پلاسمایی صورت می‌گیرد می‌تواند با افزایش وزن بدن و کاهش تولید مرتبط باشد. اندازه‌گیری این ترکیبات نمایانگر وضعیت متابولیکی و سطح ذخیره‌ی چربی‌های بدن می‌باشد و از این طریق می‌توان تصمیمات مدیریتی بهتری جهت بهبود وضعیت متابولیسم و تولیدمثل خروس‌های مادر گوشتی اتخاذ نمود. نتایج مربوط به ارتباط پروفیل‌های لیپیدی با فراسنجه‌های بافت‌شناسی بیضه و میزان همبستگی بین آن‌ها در جدول (۴) آورده شده است. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مقادیر مربوط به فراسنجه‌های پروفایل لیپیدی پلاسما می‌تواند با شاخص‌های بافت‌شناسی بیضه ارتباط مثبت و منفی داشته باشد؛ به طوری که میزان غلظت پلاسمایی کلسترول با تعداد سلول‌های لایدیگ ($r = -0.78, p < 0.001$)، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی ($r = -0.68, p < 0.001$)، ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم ساز ($r = -0.80, p < 0.001$) و قطر لوله‌های سمینی فر ($r = -0.80, p < 0.001$) همبستگی منفی نشان داد؛ کلسترول یک ماده ضروری در تشکیل سلول است و در بیوستنز هورمون‌های استروئیدی نقش دارد، اما بالا بودن میزان آن در بدن می‌تواند همواره به عنوان یک فاکتور خطرناک باشد (۵). از آنجایی که جیره غذایی نقش مهمی در تنظیم کلسترول خون دارد و به عنوان مثل، جذب بیش از حد انرژی، تولید VLDL را افزایش می‌دهد که به عنوان پیش‌ساز LDL در گردش خون عمل می‌نماید (۲۵). محققین نشان دادند افزایش کلسترول در بدن موجب افزایش وزن بدن می‌شود، که این افزایش چربی در کیسه اسکروتوم انباشته می‌شود و اسپرماتوژنز و عملکرد سیستم تولیدمثلی نر را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۹). در راستای نتایج پژوهش حاضر، فرخی و همکاران (۹) گزارش کردند که هیپرکلسترومی ضخامت اپیتلیوم منی‌ساز و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز را کاهش می‌دهد که ممکن است به دلیل کاهش در تعداد سلول‌های سرتولی و جنسی در اثر آپوپتوزیس که منجر به اختلال در ساختار بیضه و روند فرآیند اسپرماتوژنز می‌شود. غلظت پلاسمایی تری‌گلیسرید با وزن بیضه، تعداد سلول‌های لایدیگ و تعداد رگ‌خونی همبستگی نداشت، ولی با تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی ($r = -0.79, p < 0.001$)، ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز ($r = -0.71, p < 0.001$) و قطر لوله‌های سمینی فر ($r = -0.76, p < 0.001$) همبستگی منفی نشان داد. در توافق با پژوهش حاضر، در مطالعه‌ای لوئی منفرد و همکاران (۱۸) روی موش آزمایشگاهی که به بررسی ارتباط بین مقادیر تستوسترون، اندیس‌های آناتومیک و هیستومورفومتریک بیضه با میزان لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرم خون بود، نشان دادند از بین لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها مختلف تنها میزان HDL با قطر سلول‌های لایدیگ، ضخامت اپیتلیوم اسپرم‌ساز همبستگی مثبت داشت؛ ولی مقادیر تری‌گلیسرید با قطر سلول لایدیگ و میزان ضخامت اپیتلیوم و قطر لوله‌های سمینی فر همبستگی منفی داشت. از مهم‌ترین دلایل این ارتباط منفی این است که لیپیدهای غیرقطبی مانند

HDL می‌باشد. در این مورد، برخی محققین تعداد گیرنده‌های HDL موجود در بافت‌های مختلف را مورد مطالعه قرار داده‌اند و اثبات نموده‌اند که ورود HDL به سلول‌های کورتکس آدرنال (۱۰) و همچنین سلول‌های گرانولوزای تخمدان (۱) عمدتاً بر اساس آندوسیتوز وابسته به گیرنده می‌باشد. بنابراین می‌توان گفت که ممکن است تعداد گیرنده‌های HDL در بافت بیضه بیشتر از گیرنده‌های سایر لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها باشد. ج- مطالعات قبلی نشان داده‌اند که سلول‌های سرتولی نقش تغذیه سلول‌های جنسی موجود در بیضه با مواد مغذی مختلف از جمله لیپیدها را بر عهده دارند (۲۱،۲۸)، همچنین سد موجود در بین لوله‌های اسپرم‌ساز و مویرگ‌های خونی بیضه، از عبور لیپوپروتئین LDL جلوگیری نموده و تنها اجازه تبادل ذرات HDL و تحویل کلسترول موجود در آن را به سلول‌های سرتولی می‌دهد (۱۷). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در ساختار بیضه، کلسترول موجود در HDL در مقایسه با سایر ترکیبات لیپیدی پلاسما، جهت تغذیه سلول‌های جنسی در حال ساخت نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. در راستای پژوهش حاضر، پدرون و همکاران (۲۲) گزارش کردند که در انسان بین HDL با ساختار بافت بیضه و اسپرماتوژنز همبستگی مثبت وجود دارد. بنابراین می‌توان گفت با توجه به پژوهش حاضر و مطالعات قبلی نتیجه گرفت که در ساختار بیضه، کلسترول موجود در HDL در مقایسه با سایر لیپوپروتئین و لیپیدها، برای بهبود ساختار بیضه و تعدیل سلول‌های جنسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. غلظت پلاسمایی لیپوپروتئین LDL با تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی ($r = -0.39$, $p < 0.001$) و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز ($r = -0.69$, $p < 0.001$) همبستگی منفی داشته، ولی با تعداد سلول‌های لایدیگ، ضخامت اپیتلیوم لوله اسپرم‌ساز، تعداد رگ‌های خونی و وزن بیضه همبستگی نداشت. در این رابطه لوئی منفرد و همکاران (۱۹) گزارش کردند که در موش آزمایشگاهی بین غلظت پلاسمایی LDL و شاخص بافت‌شناسی بیضه ارتباط معنی‌داری وجود ندارد؛ این عدم هم‌خونی با نتایج مطالعه حاضر ممکن است ناشی از تفاوت گونه‌ای و تغذیه‌ای باشد.

تری‌گلیسرید به میزان ناچیز در ساخت اسپرماتوژنید مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۸). مطابق با نتایج پژوهش حاضر، رانا و همکاران (۲۳) نشان داده‌اند که در انسان افزایش تری‌گلیسرید اثرات زیان باری بر روی عملکرد بیضه و روند اسپرماتوژنز دارد. علاوه بر این لوئی منفرد و همکاران (۲۰) در مطالعه‌ای بر روی موش صحرایی گزارش کرده‌اند که میزان تری‌گلیسرید با قطر سلول‌های لایدیگ و ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه همبستگی منفی دارد؛ ولی میزان HDL با قطر سلول لایدیگ و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز همبستگی مثبت دارد، که با نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر مطابقت داشت. همچنین در یک مطالعه‌ای که در آن ارتباط بین پروفیل‌های لیپیدی سرم خون با مقادیر تستوسترون و ساختار بافتی بیضه در بز بررسی شد، به این نتیجه رسیدند که مقادیر HDL با تعداد سلول لایدیگ همبستگی مثبتی داشته، ولی مقادیر تری‌گلیسرید با میزان ضخامت اپیتلیوم زایای بیضه همبستگی منفی دارد (۱۹). میزان غلظت پلاسمایی لیپوپروتئین HDL با تعداد سلول‌های لایدیگ ($r = 0.73$, $p < 0.001$)، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی ($r = 0.92$, $p < 0.001$)، ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز ($r = 0.86$, $p < 0.001$) و قطر لوله‌های سمینی فر ($r = 0.62$, $p < 0.001$) همبستگی مثبت نشان داد، و با تعداد رگ‌های خونی و وزن بیضه همبستگی نداشت. در راستای نتایج حاضر، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که در موش سلول‌های لایدیگ بیضه برای استروئیدوژنز عمدتاً کلسترول موجود در HDL را مورد استفاده قرار می‌دهد (۱۳)، مهم‌ترین دلایلی که در مورد به کارگیری HDL در مقایسه با سایر لیپوپروتئین‌های پلاسما در بافت بیضه می‌توان گفت: الف- ساختار بیوشیمیایی HDL به گونه‌ای است که در مقایسه با سایر لیپوپروتئین‌ها دارای بیشترین درصد فسفولیپید و کمترین درصد تری‌گلیسرید است (۱۹). بنابراین هیدرولیز HDL توسط لیپوپروتئین لیپاز منجر به تولید مقادیر فراوانی فسفولیپید می‌شود. فسفولیپید حاصله به راحتی از سدهای لیپیدی اکثر بافت‌ها از جمله بیضه عبور می‌نماید (۱). ب- یکی دیگر از علل قابل طرح برای اثرات مستقیم میزان HDL بر روی فعالیت آندوکرینی بافت بیضه، تعداد گیرنده‌های بافتی و تئوری آندوسیتوز وابسته به گیرنده

جدول ۲- میانگین $\pm$ انحراف معیار فراسنجه‌های پروفایل لیپیدی خروس‌های مادر گوشتیTable 2. The mean $\pm$ SD of lipid profiles parameters in broiler breeder roosters

میانگین $\pm$ انحراف معیار	فراسنجه‌ها
۱۳۱/۸ $\pm$ ۳/۰۱	کلسترول (mg/dL)
۳۹/۶۶ $\pm$ ۴/۰۳	تری‌گلیسرید (mg/dL)
۱۰۰/۵۰ $\pm$ ۴/۱۸	کلسترول با چگالی بالا (mg/dL)
۱۶/۲۳ $\pm$ ۱/۸۵	کلسترول با چگالی پایین (mg/dL)
۱۷۷/۹۱ $\pm$ ۴/۱۲	گلوکز (mg/dL)

جدول ۳- میانگین $\pm$ انحراف معیار فراسنجه‌های بافت‌شناسی بیضه در خروس‌های مادر گوشتی

Table 3. The mean $\pm$ SD of histological parameters in broiler breeder roosters

فراسنجه‌ها	میانگین $\pm$ انحراف معیار
وزن بیضه (kg)	۲۱/۹۱ $\pm$ ۴/۶۲
قطر لوله اسپرم‌ساز (μm)	۲۱۲/۴۵ $\pm$ ۲۱/۰۷
ضخامت اپیتلیوم لوله اسپرم (μm)	۵۵/۵۳ $\pm$ ۳/۸۷
شمار اسپرماتوگونی $\pm$ (n)	۱۹۲/۷۹ $\pm$ ۱۱/۲۳
شمار سلول‌های لایدیگ $\pm$ (n)	۱۷۷/۹۱ $\pm$ ۴/۱۲
شمار رگ‌های خونی $\pm$ (n)	۲/۱۱ $\pm$ ۰/۱۰

$\dagger$ بر پایه میانگین مقطع عرضی ۲۰ لوله اسپرم‌ساز در هر پرنده محاسبه شده است.
 $\dagger\dagger$ بر پایه میانگین ۲۰ تصویر (۰/۳۹ میلی‌متر مربع) محاسبه شده است.

در نتیجه چاقی، مقاومت به انسولین ایجاد می‌شود و برای تنظیم گلوکز انسولین بیشتری ترشح می‌شود انسولین ترشح شده اضافی، باعث تجمع چربی در بافت چربی می‌شود. بنابراین حساس نبودن به انسولین سبب بروز چاقی و دیابت می‌شود (۳۱). با توجه به موارد ذکر شده به طور خلاصه می‌توان گفت گلوکز بالا و متعاقب آن افزایش سطح انسولین ممکن است با افزایش لیپوژنز و تجمع چربی در بافت چربی (توده چربی به عنوان یک غده درون ریز عمل کرده) باعث تضعیف تولیدمثل شود. همچنین مقطع بافتی از بیضه خروس‌های مورد مطالعه برای مشاهده جزئیات ساختاری در شکل ۱ (A، B و C) نشان داده شده است.

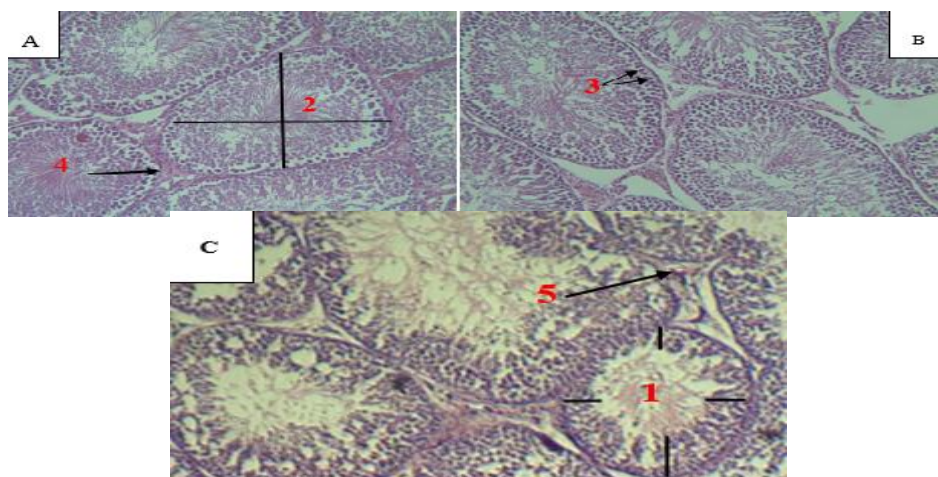
میزان غلظت پلاسمایی گلوکز با تعداد سلول‌های لایدیگ ($r = -0.69$, $p < 0.01$)، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی ($r = -0.72$, $p < 0.01$)، ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم ساز ($r = -0.83$, $p < 0.01$) و قطر لوله‌های سمینی فر ($r = -0.82$, $p < 0.01$) همبستگی منفی و با تعداد رگ‌های خونی و وزن بیضه همبستگی نداشت. شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد تغییر گلوکز خون و در پی آن تغییر سطوح انسولین پلاسما تنظیم کننده‌های مهمی بر میزان مصرف خوراک و چربی بدن هستند. حیوانات و انسان‌های چاق سطوح انسولین پلاسمای بالاتری دارند و در پاسخ به مصرف خوراک انسولین بیشتری در مقایسه با افراد لاغر از خود ترشح می‌کنند. وقتی

جدول ۴- مقادیر ضریب همبستگی بین متغیرهای پروفایل لیپیدی خون و شاخص‌های بافت بیضه

Table 4. The correlation coefficient between blood lipid profile variables and testis tissue indexes

متغیرها	وزن بیضه (mg)	تعداد سلول لایدیگ	تعداد رگ خونی	اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز (μm)	قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (μm)	تعداد اسپرماتوگونی (μm)
کلسترول (mg/dL)	-۰/۵۳ ^{ns}	-۰/۷۸ ^{**}	-۰/۳۶ ^{ns}	-۰/۸۰ ^{***}	-۰/۸۰ ^{**}	-۰/۶۸ ^{***}
تری گلیسرید (mg/dL)	-۰/۰۳ ^{ns}	-۰/۵۰ ^{ns}	-۰/۲۳ ^{ns}	-۰/۷۱ ^{**}	-۰/۷۶ ^{**}	-۰/۷۹ ^{***}
لیپوپروتئین با چگالی بالا (mg/dL)	-۰/۲۸ ^{ns}	-۰/۷۳ ^{**}	-۰/۴۰ ^{ns}	-۰/۸۶ ^{***}	-۰/۶۲ ^{**}	-۰/۹۲ ^{***}
لیپوپروتئین با چگالی پایین (mg/dL)	-۰/۴۴ ^{ns}	-۰/۴۲ ^{ns}	-۰/۳۴ ^{ns}	-۰/۴۷ ^{ns}	-۰/۶۹ ^{**}	-۰/۳۹ ^{***}
گلوکز (mg/dL)	-۰/۵۲ ^{ns}	-۰/۶۹ ^{**}	-۰/۲۳ ^{ns}	-۰/۸۳ ^{**}	-۰/۸۲ ^{***}	-۰/۷۲ ^{**}

*: معنی‌دار در سطح، $p < 0.05$; **: معنی‌دار در سطح $p < 0.01$; ***: معنی‌دار در سطح $p < 0.001$; ns: غیرمعنی‌دار



شکل ۱ (A، B و C) - مقاطع بافتی بیضه خروس‌های مادر گوشتی مورد آزمایش. ۱- ضخامت بافت پوششی اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز ۲- قطر لوله اسپرم‌ساز ۳- اسپرماتوگونی ۴- سلول لایدیگ ۵- سلول خونی. بزرگ نمای ۱۰۰ $\times$ ، نوار مقیاس: ۵۰ میکرومتر

Figure 1. (A, B and C): Tissue sections of testes of broiler breeder roosters Tested. 1: Seminiferous tubule epithelium thickness, 2: Seminiferous tubule diameter, 3: Spermatogonia, 4: Lydig cells, 5: vessel blood. Magnification: 100 X. Scale bar: 50 μm .

مطالعه کیفیت اسپرماتوزئید به ویژه تحرک و زنده‌مانی بود، دلیل این امر عدم دسترسی به امکانات در محل انجام پژوهش حاضر بود. بنابراین در آینده مطالعات بیش‌تری لازم است تا با استفاده از آن بتوان در مورد ارتباط احتمالی پروفایل لیپیدی پلازما با حجم، تحرک اسپرم و زنده‌مانی اسپرم اظهارنظر نمود.

به طور کلی نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که HDL نقش موثری بر بهبود عملکرد و توسعه ساختار بافت بیضه دارد، ولی افزایش غلظت گلوکز، تری‌گلیسرید، LDL ممکن است از طریق اختلال در عملکرد و نیز ساختار بافت بیضه، قدرت باروری و عملکرد تولیدمثلی خروس‌های مادر گوشتی را کاهش دهد.

هرچند نتایج این تحقیق بیانگر ارتباط پروفایل‌های لیپیدی با شاخص‌های بافت شناسی بیضه در خروس مادر گوشتی است، اما از جمله از کاستی‌ها این پژوهش، عدم کنترل کافی بر روی نوع ترکیبات تغذیه‌ای به ویژه اجزاء ویتامینی جیره خوراکی پرندگان مورد مطالعه قبل از بلوغ می‌باشد؛ به عبارتی دیگر نویسندگان این تحقیق نمی‌توانند به طور قطع و یقین در مورد تمام نیازهای تغذیه‌ای پرندگان مورد مطالعه در طول دوران قبل از بلوغ، زمان بلوغ و بعد از بلوغ تولیدمثلی اظهار نظر کنند؛ بهتر بود جیره خوراکی پرندگان مورد آزمایش از اولین روز پس از تولد تا هنگام بلوغ و تولید مثل جنسی کاملاً تحت نظارت دقیق قرار می‌گرفت. محدودیت دیگر این مطالعه عدم اخذ نمونه منی از پرندگان تحت بررسی مطالعه و عدم

منابع

1. Bauchart, D. 1993. Lipid absorption and transport in ruminants. *Journal of Dairy Science*, 76(12): 3864-3881.
2. Cerolini, S., P. Surai, A. Maldjian, T. Gliozzi and R. Noble. 1997. Lipid composition of semen in different fowl breeders. *Poultry and Avian Biology Reviews*, 8(3-4): 141-148.
3. Chitra, K.C. and P.P. Mathur. 2004. Vitamin E prevents nonylphenol-induced oxidative stress in testis of rats. *Indian Journal Experimental Biology*, 42(2): 220-223.
4. Diaz-Fontdevila, M. and E. Bustos-Obregon. 1993. Cholesterol and polyunsaturated acid enriched diet: effect on kinetics of the acrosome reaction in rabbit spermatozoa. *Molecular Reproduction and Development*, 35(2): 176-180.
5. Davis, H.R.P., K.B. Alton, R.E. Burrier and R.W. Watkins. 2001. The synergistic hypocholesterolemic activity of the potent cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, in combination with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors in dogs. *Metabolism-Clinical and Experimental*, 50(10): 1234-1241.
6. Erdemir, F., D. Atilgan, F. Markoc, O. Boztepe, B. Suha-Parlakas and S. Sahin. 2012. The effect of diet induced obesity on testicular tissue and serum oxidative stress parameters. *Actas Urologicas Espanolas (English Edition)*, 36(3): 153-159.
7. Ergun, A., S.K. Köse, K. Aydos, A. Ata and A. Avci. 2007. Correlation of seminal parameters with serum lipid profile and sex hormones. *Archives of Andrology*, 53(1): 21-23.
8. Fazelipour, S. 2013. Correlation of serum levels of testosterone, and anatomical and histomorphometrical indices of the testis with lipids and lipoproteins profile in the mice. *Medical Science Journal of Islamic Azad University-Tehran Medical Branch*, 23(2): 100-106 (In Persian).
9. Farah, F. and R. Samira. 2018. The effect of alcoholic extract of anethum graveolens seed on the changes of testis tissue, sperm parameters in hypercholesterolemic male rats. *Arak Medical University Journal (AMUJ)*. 20(127): 74-89 (In Persian).
10. Fathi, M., A. Nik Guo and M. Mehri. 2016. Effects of cinnamon powder levels on performance, antioxidant status, meat oxidative stability, enzymes activity and some blood parameters in broiler chickens. *Research on Animal Production*, 8(17): 18-25 (In Persian).
11. Gwynne, J.T., B. Hess, T. Hughes, R. Rountree and D. Mahaffee. 1984. The role of serum high density lipoproteins in adrenal steroidogenesis. *Endocrine Research*, 10(3-4): 411-430.
12. Havel, Richard J. 1995. Introduction: structure and metabolism of plasma lipoproteins. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 1841-1851.
13. Huang, F., H. Ning, Q.Q. Xin, Y. Huang, H. Wang, Z.H. Zhang and D.Q. Ye. 2009. Melatonin pretreatment attenuates 2-bromopropane-induced testicular toxicity in rats. *Toxicology*, 256(1-2): 75-82.
14. Islam, M.N, Z.B. Zhu, M. Aoyama and S. Sugita, 2010. Histological and morphometric analyses of seasonal testicular variations in the Jungle Crow (*Corvus macrorhynchos*). *Anatomical Science International*, 85(3): 121-129.
15. Kelso, K.A., S. Cerolini, B.K. Speake, L.G. Cavalchini and R.C. Noble. 1997. Effects of dietary supplementation with α -linolenic acid on the phospholipid fatty acid composition and quality of spermatozoa in cockerel from 24 to 72 weeks of age. *Journal of Reproduction and Fertility*, 110(1): 53-59.
16. Khan, R.U. 2011. Antioxidants and poultry semen quality. *World's Poultry Science Journal*, 67(2): 297-308.
17. Maboundou, J.C., M. Fofana, J. Fresnel, J. Bocquet and D. Le Goff. 1995. Effect of lipoproteins on cholesterol synthesis in rat sertoli cells. *Biochemistry and Cell Biology*, 73(1-2): 67-72.
18. Monfared, A.L. and A. Nooraei. 2016. Correlation of Serum Lipids Profile with Anatomical and Histomorphometrical Parameters of the Testes in the Rat. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 24(3): 59-69 (In Persian).
19. Monfared, A.L., A.J. Zadeh, J. Yadi and R. Hooshmandfar. 2012. Correlation of Serum Lipid Profile with Testosterone Levels and Histological Structure of the Testes in the Goat. *Journal of Experimental Animal Biology*, 2(1): 33-41.

20. Morgan, D.H., O. Ghribi, L. Hui, J.D. Geiger and X. Chen. 2014. Cholesterol-enriched diet disrupts the blood-testis barrier in rabbits. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 307(12): 1125-1130.
21. Orth, J.M., G.L. Gunsalus, A.A. Lampertl. 1988. Evidence from Sertoli cell-depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during perinatal development. *Endocrinology*, 122(3): 787-794.
22. Padron, R.S., J. Mas, R. Zamora, F. Riverol, M. Licea, L. Mallea and J. Rodriguez. 1989. Lipids and testicular function. *International Urology and Nephrology*, 21(5): 515-519.
23. Rana, A.P.S., G.C. Majumder, S. Misra and A. Ghosh. 1991. Lipid changes of goat sperm plasma membrane during epididymal maturation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1061(2): 185-196.
24. Robinson, F.E., J.L. Wilson, M.Y. Yu, G.M. Fasenko and R.T. Hardin, 1993a. The relationship between body weight and reproductive efficiency in meat-type chickens. *Poultry Science*, 72(5): 912-922.
25. Rifai, N.B.P. and J.J. Albers. 1999. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company, 809-861
26. Røder, M.E., J.D. Porte, R.S. Schwartz and S.E. Kahn. 1998. Disproportionately elevated proinsulin levels reflect the degree of impaired B cell secretory capacity in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 83(2): 604-608.
27. Schisterman, E.F., S.L. Mumford, Z. Chen, R.W. Browne, D. Boyd Barr, S. Kim and G.M. Buck Louis. 2014. Lipid concentrations and semen quality: the life study. *Andrology*, 2(3): 408-415.
28. Speake, B.K., P.F. Surai, J.A. Rooke, S.D. Vriese and A. Christophe. 2003. Regulation of avian and mammalian sperm production by dietary fatty acids. *Male Fertility and Lipid Metabolism*, 96-117.
29. Sanaa, R., W.G. Galaly, H. Kamal and A. Amin. 2014. Effects of orlistat and herbal mixture extract on brain, testes functions and oxidative stress bio markers in a rat model of high fat date. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(2): 93-105.
30. Valavi, M., H. Sarir, H. Farhang Far, A. Zarban, S.J. Hosseini-Vashan and H.N. Younosi. 2016. Evaluation the effect of garlic and cinnamon powder on performance, antioxidant system, blood parameters of broilers under heat stress conditions. *Research on Animal Production*, 7(14): 20-10 (In Persian).
31. Woods, S.C., R.J. Seeley, D. Porte and M.W. Schwartz. 1998. Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science*, 280(5368): 1378-1383.

Correlation of Plasma Lipids' Profile with Testicular Histology Parameters in Broiler Breeder Roosters

Amin Kazemizadeh¹, Ahmad Zare Shahneh², Mehdi Heidari³,
Mahbub Mohammadi³, Mahdi Zhandi⁴ and Zarbakh Ansari Pirsaraei⁵

1, 3 and 4- Graduated M.Sc. Student, Ph.D. Students and Associated Professor, Department of Animal Science, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran

2- Professor, Department of Animal Science, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran (Corresponding author: azareh@ut.ac.ir)

5- Associated Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Received: May 21, 2018 Accepted: May 25, 2018

Abstract

The aim of this study was to determine correlation of plasma lipids profile with testicular histology parameters in Ross-308 broiler breeder roosters. This study was performed on 12 male ross 308 broiler breeder. Blood samples were collected from a wing vein to measure plasma lipid profiles (cholesterol, triglyceride, LDL and HDL lipoproteins, cholesterol, and glucose). The concentrations of cholesterol, triglyceride, LDL, HDL were measured by spectrophotometric method using commercial kits of pars azmoon co. though, glucose concentration was measured by electrochemical method using glucose monitoring system. For testicular histology study (endocrine parameters of the testis); the 5 μ m paraffin cross sections of testis tissue was used. The data were analyzed by the Pearson correlation test. Our results showed that the plasma HDL values were positively correlated with the number of leydig cells ($r=0.73$; $p<0.01$), the number of spermatogonia cells ($r=0.92$; $p<0.001$), seminiferous epithelium thickness ($r=0.86$; $p<0.001$) and diameter of seminiferous tubules ($r=0.62$; $p<0.001$). Also, plasma cholesterol and glucose values were negatively correlated with the number of the leydig cells ($r=-0.78$; $p<0.01$; $r=-0.69$; $p<0.001$), spermatogonia cells number ($r=-0.68$; $p<0.001$; $r=-0.72$; $p<0.01$), seminiferous epithelium thickness ($r=-0.80$; $p<0.01$; $r=-0.82$; $p<0.001$), and diameter of seminiferous tubules ($r=-0.80$; $p<0.01$; $r=-0.82$; $p<0.001$). Plasma LDL value also had a negative correlation with the number of spermatogonia cells ($r=-0.39$; $p<0.001$), and also, diameter of seminiferous tubules ($r=-0.69$; $p<0.01$). Plasma triglyceride values was negatively correlated with the number of spermatogonia cells ($r=-0.79$; $p<0.001$), and seminiferous epithelium thickness ($r=-0.76$; $p<0.01$). In conclusion, HDL lipoprotein had a positive correlation with testicular histology indexes, on the other hand, triglyceride, cholesterol, lipoprotein LDL, and glucose showed a negative correlation with that.

Keywords: Histology, Testis, Lipid, Plasma, Breeder roosters