

بررسی تغییرات فصلی غلظت تستوسترون سرم در گربه‌های نر منطقه اهواز

بهمن مصلی‌نژاد^{۱*}، سعد گورانی‌نژاد^۱، سیدرضا فاطمی طباطبایی^۲، امیر قاسمی قاسموند^۳

۱- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲- استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: bmosallanejad@scu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۶/۴/۲۹ پذیرش نهایی: ۹۸/۲/۷)

چکیده

دمای محیط و طول روز، از جمله فاکتورهای مهمی هستند که ممکن است سیکل تولیدمثلی گونه‌های مختلف را تحت تاثیر قرار دهند. هدف از انجام مطالعه حاضر، ارزیابی اثر فصول مختلف (سرد=دی و گرم=تیر) و نیز حدواسط بین آن‌ها (فروردین و مهر) بر غلظت تستوسترون سرم، در گربه‌های منطقه اهواز بود. بدین منظور، ۱۲۰ قلاده گربه نر بالغ و از نژاد موکوتاه اهلی مورد بررسی قرار گرفت. در هر فصل، خون‌گیری از ۳۰ قلاده گربه انجام گرفته و غلظت تستوسترون در نمونه‌های سرمی، به روش الایزا (ELISA) اندازه‌گیری شد. میانگین غلظت تستوسترون در گربه‌های مورد مطالعه، $3/0 \pm 42/49$ ng/ml به دست آمد. همچنین حداقل و حداکثر غلظت سرمی تستوسترون هم به ترتیب $0/01$ و $17/2$ ng/ml و مربوط به ماه‌های تیر و دی محاسبه گردید. پایین‌ترین میزان میانگین غلظت تستوسترون در فصل گرم ($0/0 \pm 62/23$ ng/ml) و بیشترین میزان آن در فصل سرد به دست آمد ($9/1 \pm 87/28$ ng/ml). میانگین غلظت تستوسترون در فصول بهار و پاییز هم، به ترتیب $2/0 \pm 26/5$ و $0/94 \pm 0/3$ ng/ml ثبت شد. دمای محیط و طول روز، به شکل منفی با غلظت تستوسترون ارتباط داشتند. ضریب همبستگی بین غلظت تستوسترون با میانگین دمای کمینه، بیشینه و کلی هم به ترتیب برابر با $R = -0/572$ ، $R = -0/615$ و $R = -0/597$ بود. همچنین ضریب همبستگی بین غلظت تستوسترون و طول روز ($R = -0/256$)، نشان‌دهنده وجود همبستگی قابل قبول و بالا از نوع منفی (معکوس) بود. نتیجه نهائی این که مقادیر تستوسترون سرم، تحت تاثیر فصل قرار داشته، به طوری که میانگین غلظت تستوسترون در تابستان به شکل معنی‌داری نسبت به سایر فصول، پایین‌تر بود ($p < 0/05$).

کلیدواژه‌ها: تستوسترون، سرم، فصل، گربه، اهواز.

مقدمه

به گردش خون محیطی، به پروتئین‌های سرمی متصل می‌شود. حدود ۶۰ درصد تستوسترون در گردش خون، به گلوبولین و ۳۸ درصد هم به شکل متصل به آلبومین می‌باشد و حدود ۲ درصد باقی‌مانده نیز به صورت آزاد قابل ردیابی است (Koeppen and Stanton, 2008). تخمک‌گذاری در گربه‌های ماده به روش القایی و تحت تاثیر فصل است (پلی‌استروس فصلی)، به نحوی که سیکل تولید مثلی در ماده‌ها از اواخر بهمن ماه شروع شده و تا اواخر شهریور ماه (هم‌زمان با افزایش طول روز) ادامه می‌یابد، اما گربه‌های نر در تمام طول سال فعال می‌باشند (Chatdarong *et al.*, 2007). به طور معمول، مقدار هورمون‌ها در خون بسیار پایین است، بنابراین برای اندازه‌گیری هورمون‌ها باید از ابزارهای بسیار حساسی استفاده کرد تا بتوان بین مقدار عادی و غیرعادی تفاوت گذاشت. در همه روش‌های اندازه‌گیری هورمون‌ها، آنتی‌بادی‌ها نقش بنیادی دارند. از مزایای روش ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) نسبت به رادیوایمونواسی، می‌توان عدم وجود خطر تشعشع، قیمت ارزان‌تر دستگاه‌ها و معرف‌ها، نیمه‌عمر طولانی کیت‌های آنزیمی، امکان اتوماسیون، سرعت بالا در قرائت نتایج و افزایش حساسیت روش را نام برد (Lequin, 2005; Schmidt *et al.*, 2012).

مطالعات نسبتاً محدودی در زمینه تاثیر فصل بر چرخه تولید مثلی گربه‌های نر در مناطق مختلف دنیا انجام شده است، از جمله تسوتسوئی و همکاران در سال ۲۰۰۹، با مطالعه بر روی ۵ قلاده گربه نر، نشان دادند که میانگین غلظت سرمی تستوسترون در فصل تولید مثلی، به شکل معنی‌داری بیشتر از فصل غیر تولید

یکی از هورمون‌های استروئیدی مهم در بدن، تستوسترون است که ساختمان اصلی سازنده آن را کلسترول تشکیل می‌دهد. این هورمون دارای اثرات آندروژنیک و آنابولیک مهم در بدن می‌باشد. تستوسترون که به وسیله سلول‌های میان بافتی لیدینگ ترشح می‌شود، نقش کلیدی مهمی در رشد بافت‌های تولیدمثلی جنس نر دارد. هورمون آزادکننده گنادوتروپین‌ها به صورت طبیعی در بدن از نورون‌های هیپوتالاموس ترشح می‌شود. این هورمون باعث آزاد شدن هورمون محرکه فولیکولی و هورمون لوتهینه کننده از غده هیپوفیز می‌شود که این هورمون‌ها، سطح خونی تستوسترون را تنظیم می‌کنند. آنزیم ۵-آلفا-ردوکتاز در برخی بافت‌ها باعث تبدیل تستوسترون به دی‌هیدروتستوسترون می‌شود، که متابولیت فعال‌تری است. دمای محیط و طول روز، دو فاکتور مهم به شمار می‌روند که ممکن است چرخه تولید مثلی را در گونه‌های مختلف تحت تاثیر خود قرار دهند و به عنوان یک عامل محرک اولیه، در آزادسازی هورمون‌ها از هیپوتالاموس نقش بازی کنند (Berning *et al.*, 2004; Etienne, 2007). به نظر می‌رسد که در دمای زیر ۳۰ درجه سلسیوس طول روز تاثیری بر چرخه تولید مثلی نداشته باشد، اما در مناطقی که دمای محیط بالای ۳۰ درجه و میزان بارندگی بالا باشد (نظیر مناطق استوایی و نیمه استوایی)، اثر محیط بر روند تولید مثل معنی‌دار است. گنادوتروپین‌های مترشحه از غده هیپوفیز قدامی، سنتز تستوسترون و روند اسپرماتوژنز را در بیضه تحریک می‌کنند (Villaverde *et al.*, 2010; Nunez-). تستوسترون بلافاصله بعد از ورود

نگهداری می‌شدند و سپس خون‌گیری در هر فصل از گربه‌ها به عمل می‌آمد.

- روش نمونه‌گیری: خونگیری از ۳۰ قلاده گربه نر در فصل سرد (دی ماه)، ۳۰ قلاده در فصل گرم (تیر ماه)، ۳۰ قلاده در فروردین ماه (اوج فعالیت تولید مثلی گربه‌ها) و ۳۰ قلاده دیگر در مهرماه (حد واسط بین فصل گرم و سرد) صورت گرفت. نمونه‌برداری در فاصله زمانی بین ۸/۳۰ تا ۱۱/۳۰ قبل از ظهر (حداقل ۲ میلی‌لیتر) و از ورید وداچ صورت می‌گرفت. بلافاصله نمونه‌های خون سانتریفیوژ شده و سرم حاصله تا زمان بررسی نهایی در دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس فریز می‌شدند. بدین منظور در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی، نمونه‌های خون لخته‌شده با استفاده از اپلیکاتور از دیواره لوله آزمایش جدا گردیده، سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ می‌شد. در نهایت هم نمونه‌های سرمی شفاف و فاقد همولیز با استفاده از سمپلر به میکروتیوب‌های شماره‌گذاری شده، انتقال داده می‌شد.

- اندازه‌گیری هورمون تستوسترون: سنجش هورمون تستوسترون سرم‌های تهیه‌شده به روش الایزا (ELISA) و توسط دستگاه قرائت گر الایزا (شرکت تیساطب نوین آزما، ایران)، با استفاده از کیت‌های تجاری اندازه‌گیری تستوسترون (شرکت ایده‌آل تشخیص آتیه، ایران) انجام گردید. سنجش هورمون‌ها، بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. جذب نوری مورد استفاده در این مطالعه، ۴۵۰ nm بود و حداکثر تا ۱۵ دقیقه بعد از متوقف کردن واکنش، نتیجه قرائت می‌گردید. در نهایت جهت تعیین مقدار هورمون تستوسترون در هر نمونه، با ترسیم نمودارهای استاندارد در نرم‌افزار اکسل

مثلی می‌باشد (Tsutsui et al., 2009). نتایج تحقیق گورانی‌نژاد و همکاران در سال ۱۳۹۴، در سگ‌های بومی منطقه اهواز هم نشان داد که تغییرات سطح تستوسترون سرم در سگ، به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر ماه نمونه‌گیری قرار دارد (Gooraninejad et al., 2017).

با توجه به این‌که درجه حرارت محیط در ماه‌های گرم استان خوزستان به مرز ۵۰ درجه سلسیوس و حتی بیشتر می‌رسد، بنابراین هدف از انجام مطالعه حاضر، ارزیابی اثر فصول سرد (دی ماه)، گرم (تیر ماه) و نیز حدواسط بین آن‌ها یعنی فروردین ماه (که اوج فعالیت تولید مثلی گربه‌ها است) و نیز مهرماه، بر غلظت تستوسترون سرم در گربه‌های نر بومی منطقه اهواز به روش ELISA بوده است. به عبارتی، در بررسی حاضر ارتباط بین درجه حرارت محیط (دما) و طول روز (روشنایی) با تغییرات میزان تستوسترون سرم در گربه بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر طی یک سال از زمستان سال ۱۳۹۴ لغایت پاییز سال ۱۳۹۵ در شهرستان اهواز روی ۱۲۰ قلاده گربه نر بومی سالم از نظر بالینی و بالغ، در محدوده سنی ۱/۵ تا ۲ سال و محدوده وزنی ۴/۴۵۰-۲/۳۵۰ کیلوگرم انجام گرفت (۳۰ قلاده در هر فصل). تمامی گربه‌های مورد مطالعه به‌صورت آزاد در محیط بودند که به‌صورت تصادفی و از مناطق مختلف اهواز تهیه شده بودند. جهت اطمینان از سلامتی حیوانات و برطرف شدن استرس از آن‌ها، گربه‌ها حداقل ۴۸ ساعت در بیمارستان دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

فصل زمستان ($9/87 \text{ ng/ml}$) و کمترین میانگین غلظت تستوسترون در فصل تابستان ($0/62 \text{ ng/ml}$) ثبت شده است. همچنین مطابق نمودارهای ۱ و ۲ مشخص می‌گردد که در فصل بهار سطح تستوسترون سرم، $2/0 \pm 26/5 \text{ ng/ml}$ بوده ولی سپس در تابستان یک کاهش معنی‌دار داشته و به سطح $0/0 \pm 62/23 \text{ ng/ml}$ رسیده است ($p < 0/05$). اما در ادامه با یک افزایش اندک و غیرمعنی‌دار در فصل پاییز به $0/0 \pm 94/3 \text{ ng/ml}$ افزایش یافته و در نهایت با یک افزایش معنی‌دار، به سطح $9/1 \pm 87/28 \text{ ng/ml}$ در زمستان رسیده است ($p < 0/05$).

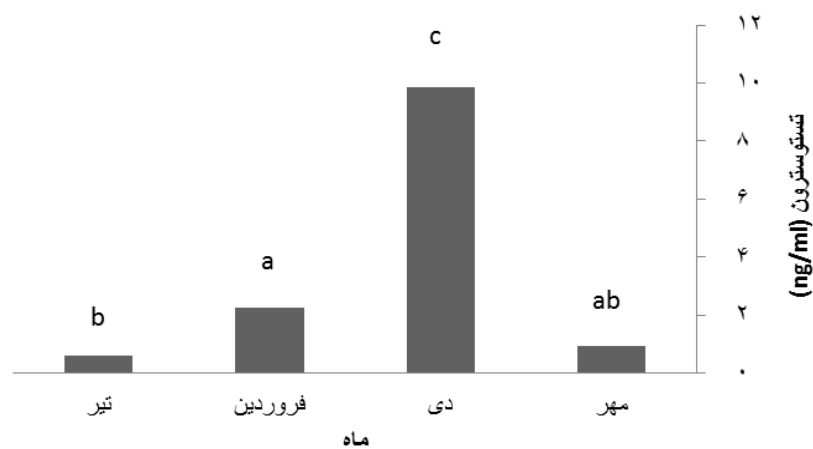
از طرف دیگر، با توجه به دمای ماه‌های مختلف سال، که در آن خون‌گیری از گربه‌ها به عمل آمد، آنالیز دما و ارتباط آن با میزان تستوسترون سرم هم بررسی شد، به طوری که با استفاده از نرم‌افزار SPSS، ضریب همبستگی بین میانگین غلظت تستوسترون و میانگین دماهای کمینه، بیشینه و کلی محاسبه گردید و مقادیر آن‌ها به ترتیب برابر با $R = -0/572$ ، $R = -0/615$ و $R = -0/597$ به دست آمد. همچنین مقدار ضریب همبستگی بین میانگین غلظت تستوسترون و طول روز ($R = -0/256$)، نشان‌دهنده وجود همبستگی قابل قبول و بالا از نوع منفی (معکوس) است. به بیان دیگر، مشخص گردید که کاهش دمای محیط به میزان قابل ملاحظه‌ای با افزایش سطح تستوسترون خون گربه‌ها در ارتباط می‌باشد.

و با تعیین فرمول نمودار، میزان آن اندازه‌گیری گردید. حساسیت قابل قبول کیت مذکور، جهت تشخیص حداقل غلظت هورمون تستوسترون، $0/038 \text{ ng/ml}$ بود.

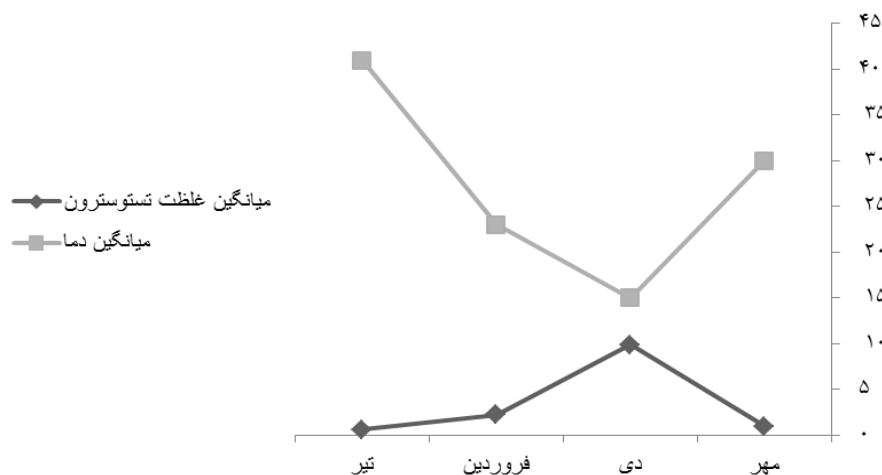
- **تحلیل آماری داده‌ها:** اطلاعات مربوط به غلظت سرمی تستوسترون پس از دسته‌بندی داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و به روش تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) مورد واکاوی آماری قرار گرفت. نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۰ رسم گردید. کلیه نتایج هم به صورت میانگین \pm خطای استاندارد و با استفاده از آزمون p diff ارائه شده است. همچنین همبستگی، با استفاده از روش آزمون پیرسون انجام گردید. مقادیر $p < 0/05$ از نظر آماری، معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج به دست آمده از نمونه‌های سرمی اخذشده از گربه‌های مورد مطالعه، در طول یک‌سال نشان داد که میانگین غلظت تستوسترون در سرم گربه‌های مذکور به میزان $3/0 \pm 2/49 \text{ ng/ml}$ بود. حداقل و حداکثر غلظت سرمی هورمون مذکور هم به ترتیب $0/01 \text{ ng/ml}$ و $17/2$ محاسبه گردید که حداقل غلظت، در تیر ماه و حداکثر غلظت در دی ماه به دست آمد. نتایج حاصله مطابق جدول ۱ نشان می‌دهد که تغییرات میزان تستوسترون سرم، تحت تأثیر فصل قرار گرفته است، به طوری که بیشترین میانگین غلظت تستوسترون سرم در



نمودار ۱- میانگین غلظت سرمی تستوسترون (ng/ml) طی فصول مختلف سال، در گربه‌های مورد مطالعه در شهرستان اهواز. abc: حروف متفاوت، نشان‌دهنده اختلافات معنی‌دار در مقادیر تستوسترون می‌باشد.



نمودار ۲- مقایسه میانگین غلظت سرمی تستوسترون (ng/ml) و میانگین دما (درجه سلسیوس)، طی فصول مختلف سال در گربه‌های مورد مطالعه در شهرستان اهواز. مقدار ضریب همبستگی بین میانگین غلظت تستوسترون و طول روز (R = -۰/۲۵۶)، نشان‌دهنده وجود همبستگی قابل قبول و بالا از نوع منفی (معکوس) است.

جدول ۱- میانگین \pm خطای استاندارد غلظت تستوسترون سرم (ng/ml) طی فصول مختلف سال، در گربه‌های مورد مطالعه در شهرستان اهواز

فصل	میانگین غلظت تستوسترون سرم
بهار	$2/26 \pm 0/5^a$
تابستان	$0/62 \pm 0/23^b$
پاییز	$0/94 \pm 0/3^{ab}$
زمستان	$9/87 \pm 1/28^c$

abc: حروف متفاوت، نشان‌دهنده اختلافات معنی‌دار در مقادیر تستوسترون می‌باشد ($p < 0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر که روی ۱۲۰ قلاده گربه نر بالغ و سالم از نظر بالینی انجام شد، غلظت تستوسترون سرم خون در محدوده $0/17-0/12$ ng/ml (با دامنه نسبتاً وسیع) تعیین گردید، که این مقادیر در مقاطع زمانی و شرایط محیطی متفاوت از فصول مختلف سال به دست آمد. در این ارتباط گزارش شده است که دامنه طبیعی هورمون تستوسترون در گربه‌ها به خاطر تفاوت‌های فردی و نژادی و نیز تأثیر فصول و شرایط محیطی، دارای نوسانات زیادی است (Berning et al., 2004; Etienne, 2007). همچنین در بررسی حاضر، میانگین غلظت تستوسترون سرم در گربه‌های مورد آزمایش در شهرستان اهواز به میزان $3/0 \pm 2/49$ ng/ml به دست آمد که حداقل غلظت هورمون مذکور در تیر ماه ($0/01$ ng/ml) و حداکثر آن در دی ماه ($17/2$ ng/ml) بود. تحلیل نتایج به دست آمده نشان داد که تغییرات غلظت تستوسترون سرم، تحت تأثیر فصل قرار گرفته است، به طوری که بیشترین میانگین غلظت تستوسترون سرم در فصل زمستان و کمترین میانگین غلظت تستوسترون، در فصل تابستان ثبت شده است. در این خصوص ممکن است که کاهش میزان تستوسترون در فصل تابستان (تیر ماه) تحت تأثیر استرس گرمایی ایجاد شده باشد. همچنین نتایج پژوهش حاضر مطابق جدول ۱ نشان می‌دهد که در فصل بهار میانگین سطح هورمون تستوسترون $2/0 \pm 26/5$ ng/ml بود، سپس در تابستان یک کاهش معنی‌دار داشت و به $0/0 \pm 62/23$ ng/ml رسید و در ادامه با یک افزایش اندک و غیرمعنی‌دار در فصل پاییز به $0/0 \pm 94/3$ ng/ml افزایش یافت و در نهایت با یک افزایش معنی‌دار، به سطح ng/ml

$9/1 \pm 87/28$ در زمستان رسید. شهر اهواز در موقعیت جغرافیایی ۳۱ درجه و ۲۰ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۴۰ دقیقه طول شرقی، در بخش جلگه‌ای استان خوزستان و با ارتفاع ۱۸ متر از سطح دریا واقع شده است. میانگین بارندگی سالیانه در این استان حدود ۲۶۶ میلی‌متر و دوره بارندگی معمولاً بین مهر ماه تا اردیبهشت ماه می‌باشد. میانگین درجه حرارت در فصل گرما، در حدود $31/2$ درجه سلسیوس و حداکثر آن گاهی به بیش از ۵۰ درجه سلسیوس در تیرماه می‌رسد. در طول زمستان میانگین درجه حرارت حدود $14/9$ درجه سلسیوس و حداقل آن به ندرت ممکن است به چند درجه زیر صفر در دی ماه برسد. در این شهر، طول روز در یکم تیرماه به‌عنوان بلندترین روز سال (انقلاب تابستانه)، ۱۴ ساعت و ۹ دقیقه و همچنین طول روز در یکم دی ماه به‌عنوان کوتاه‌ترین روز سال (انقلاب زمستانه)، ۱۰ ساعت و ۹ دقیقه می‌باشد (Weather Underground, 2016). لذا با توجه به این‌که فصل زمستان در شهرستان اهواز نسبتاً متعادل بوده و بنابراین گربه‌ها از فعالیت تولید مثلی مناسبی برخوردار هستند، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مناسب‌ترین فصل تولید مثلی برای گربه‌ها در منطقه اهواز، فصل زمستان می‌باشد. اما مقالات نسبتاً محدودی در زمینه تأثیر فصل بر چرخه تولید مثلی گربه‌های نر، در مناطق مختلف دنیا ارائه شده است، از جمله تسوتسوئی و همکاران در سال ۲۰۰۹، با مطالعه روی ۵ قلاده گربه نر، نشان دادند که میانگین غلظت تستوسترون سرم در فصل تولید مثلی، به شکل معنی‌داری بیشتر از فصل غیر تولید مثلی بود. در مطالعه ایشان یک اثر فصلی آشکار بر ترشح هورمون و کیفیت

می‌تواند به تفاوت گونه‌ای، جمعیت مورد مطالعه و زمان‌های مختلف نمونه‌برداری برگردد.

گزارش‌های مختلف نشان می‌دهد که میزان غلظت تستوسترون سرم و مایع منی در ارتباط با وزن و حجم بیضه (Blotner and Jewgenow, 2007)، دما و میزان بارندگی (Martins *et al.*, 2006)، تغذیه (Newell-Fugate *et al.*, 2012)، سن، فصل و بلوغ (El-Harairy and Attia, 2010) می‌باشد. برخلاف نتایج مطالعه حاضر، کرک‌پاتریک در سال ۱۹۸۵، بیان داشت که فعالیت جنسی در گربه‌های نر، وابسته به فصل نیست و همچنین تعداد و کیفیت اسپرم‌ها در گربه‌های نر با افزایش و یا کاهش طول روز تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد (Kirkpatrick, 1985). اما نونز فاور و همکاران در سال ۲۰۱۲، بیان داشتند که میزان غلظت تستوسترون خون، در فصول مختلف سال در گربه‌های نر متفاوت است (Nunez Favre *et al.*, 2012) که این نتیجه با یافته پژوهش حاضر همخوانی دارد (جدول ۱)، اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود، که این بخش از نتایج پژوهش مذکور با نتایج بررسی ما هم‌خوانی ندارد چرا که مطابق جدول ۱ مشخص گردید که غلظت تستوسترون خون گربه‌های مورد آزمایش به طور معنی‌داری در فصل زمستان نسبت به فصول دیگر بالاتر می‌باشد ($p < 0/05$). اما نتایج تحقیق نول فوگات و همکاران که در سال ۲۰۰۷، بر روی گربه‌های نر منطقه پالاس (*Otocolobus manul*) انجام شد و میزان هورمون تستوسترون در ماه‌های مختلف سال اندازه‌گیری شده و بالاترین غلظت تستوسترون، در ماه فوریه (بهمن ماه) ثبت شد (Newell-Fugate *et al.*,

2009). برخلاف نتایج به‌دست آمده از تحقیق فوق، در مطالعه حاضر حداقل غلظت هورمون در تیرماه به‌دست آمد که از جمله دلایل احتمالی تفاوت مشاهده شده، ممکن است ویژگی‌های منطقه جغرافیایی که تحقیق در آن انجام گرفته، به‌عنوان یک عامل استرس گرمایی باشد (گرمای حدود ۵۰ درجه سلسیوس در منطقه اهواز) که به‌نحوی بر ترشح غلظت تستوسترون در فصل تابستان اثرگذار بوده است. البته علاوه بر شرایط آب و هوایی متفاوت (دمای محیط، طول روز و میزان رطوبت)، حجم نمونه نیز می‌تواند عامل ایجاد تفاوت در نتایج دو تحقیق باشد به طوری که مطالعه تسوتسویی و همکاران در سال ۲۰۰۹، تنها روی ۵ قلاده گربه انجام شده بود، در حالی که در تحقیق حاضر مجموعاً روی ۱۲۰ قلاده گربه بررسی صورت گرفته است، که از این نظر نیز با مطالعه حاضر متفاوت بود.

نتایج تحقیق گورانی‌نژاد و همکاران در سال ۱۳۹۴، در سگ‌های بومی منطقه اهواز نشان داد که تغییرات سطح تستوسترون سرم در سگ، به طور قابل توجهی تحت تاثیر ماه نمونه‌گیری قرار داشت، به طوری که پایین‌ترین غلظت تستوسترون به میزان $1/7 \text{ ng/ml}$ در ماه‌های اردیبهشت و خرداد و حداکثر آن به ترتیب به‌میزان $6/7 \text{ ng/ml}$ و $6/8 \text{ ng/ml}$ در ماه‌های دی و مرداد بود (Gooraninejad *et al.*, 2017). نتایج تحقیق حاضر هم نشان داد (نمودارهای ۱ و ۲) که حداقل غلظت ثبت شده برای هورمون مذکور در تیر ماه ($0/01 \text{ ng/ml}$) و حداکثر آن در دی ماه ($17/2 \text{ ng/ml}$) می‌باشد. علت تفاوت در مقادیر غلظت تستوسترون بین سگ و گربه،

در مناطق معتدل، غلظت تستوسترون سرم در سگ‌ها، نوسان معنی‌داری در ماه‌ها و فصول مختلف سال ندارد و بیان نمودند که شرایط محیطی اعم از فتوپریود، دما و رطوبت بر غلظت تستوسترون سرم تأثیر چندانی ندارند، در حالی که فصل، تأثیر معنی‌داری بر میزان تستوسترون مایع منی داشته است (Albrizio *et al.*, 2013)، هر چند در تحقیق حاضر، میزان تستوسترون مایع منی در گربه‌ها مشخص نگردید ولی یافته‌های مطالعه حاضر هم، حکایت از تفاوت معنی‌دار غلظت تستوسترون سرم در ماه‌ها و فصول سال داشته و نیز موید تأثیرگذاری شرایط محیطی اعم از دما، رطوبت و تابش نور بر غلظت سرمی تستوسترون بود. در تحقیق طاها و همکاران در سال ۱۹۸۱، در منطقه هرتفورد شایر واقع در کشور انگلستان، روی پنج قلاده سگ از نژاد بیگل مشخص شد که مقادیر تستوسترون سرم، در میان سگ‌ها دارای نوسانات زیادی است، ولی آثاری مبنی بر تنوع فصلی معنی‌دار، در غلظت تستوسترون خون وجود نداشت (Taha *et al.*, 1981). در تحقیق حاضر، مقادیر غلظت تستوسترون دارای نوسان بودند و برخلاف یافته‌های طاها و همکاران در سال ۱۹۸۱، اثر تفاوت فصل بر میزان تستوسترون معنی‌دار بود. در تحقیق پاچکو و همکاران در سال ۲۰۰۶، که روی ۲۲۰ قلاده سگ ولگرد در شهر مریدا واقع در مکزیک انجام شده، میانگین غلظت تستوسترون، در حدود $5 \pm 7/5$ ng/ml به‌دست آمد. نامبردگان نیز بیان داشتند که غلظت سالانه تستوسترون، دارای نوساناتی است، ولی اثر فصل بر غلظت تستوسترون سرم معنی‌دار نبوده و این نوسانات می‌تواند نتیجه الگوی ترشح تستوسترون و یا اختلافات فردی باشد (Pacheco *et al.*, 2006). میترو و دلبریتو در

(2007)، با یافته‌های مطالعه حاضر (جدول ۱) همخوانی بالایی نشان می‌دهد.

مطالعه مارتینس و همکاران در سال ۲۰۰۶، روی ۷ قلاده سگ بالغ، نشان داد که در یک منطقه استوایی با طول جغرافیایی ۵۹:۴۸ شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵:۲۳ جنوبی، غلظت تستوسترون سرم خون سگ‌ها، تحت تأثیر فصل قرار گرفته است، به‌طوری‌که در تابستان ۲۰۰۳ دارای کمترین مقادیر ($1/31$ ng/ml) نسبت به ماه‌های زمستان ۲۰۰۲ ($1/81$ ng/ml)، زمستان ۲۰۰۳ ($1/93$ ng/ml) و بهار ۲۰۰۲ ($1/93$ ng/ml) و پاییز ۲۰۰۳ ($2/02$ ng/ml) بوده و البته تفاوت مشاهده شده در فصول مختلف، معنی‌دار نبوده است. همچنین در مطالعه این محققین، هر چند مشخص گردید که متوسط غلظت تستوسترون سرم با دمای محیط و میزان بارش دارای همبستگی منفی است، ولی این همبستگی معنی‌دار نبوده است. نامبردگان علت کاهش غلظت تستوسترون را در ارتباط با تغییرات قابل توجه در شرایط زیست محیطی دانستند (Martins *et al.*, 2006). به نظر می‌رسد که دو شاخص دما و بارش به تنهایی عامل این کاهش نیستند، ولی اثر ترکیبی آن دو مهم می‌باشد، به‌طوری‌که درجه حرارت بالا و زیاد بودن میزان بارندگی، باعث افزایش رطوبت می‌شود که می‌تواند به‌عنوان عامل استرس‌زای بالقوه عمل کند. بنابراین نتایج متفاوت پژوهش مذکور با یافته‌های تحقیق حاضر، ممکن است علاوه بر ارتباط با تفاوت‌های گونه‌ای بین سگ و گربه، به شرایط آب و هوایی منطقه جغرافیایی هر پژوهش هم مرتبط باشد.

همچنین آلبریزو و همکاران در سال ۲۰۱۳، در مطالعه‌ای روی سگ‌های بومی در ایتالیا نشان دادند که

تحت تأثیر فصل قرار گرفته است، به طوری که میانگین غلظت تستوسترون سرم در فصل تابستان، به‌طور قابل توجهی نسبت به سایر فصول، پایین‌تر بوده و اختلاف بین آن‌ها معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر از نظر بالینی، در روند تولید مثل حیوانات خانگی از جمله گربه‌ها، جایگاه خاص خود را دارد.

در مجموع، تحقیق حاضر نشان داد که غلظت تستوسترون موجود در سرم گربه‌های مورد مطالعه، تحت تأثیر دمای محیط و طول روز قرار می‌گیرد. در منطقه اهواز، درجه حرارت در فصل تابستان به بالای ۵۰ درجه سلسیوس نیز ممکن است برسد که این افزایش درجه حرارت می‌تواند به عنوان یک عامل استرس‌زا، در کاهش هورمون تستوسترون نقش بازی کند. البته در تحقیق ما، گربه‌ها تنها مدت محدودی (حدود ۴۸ ساعت) در بیمارستان دامپزشکی نگهداری شده و تحت نظر قرار گرفتند و بلافاصله پس از خون‌گیری در محیط رها شدند که در این مدت، تظاهرات بالینی خاصی در گربه‌ها مشاهده نگردید. اما کاهش غلظت تستوسترون می‌تواند عوارضی بر کیفیت اسپرم در گربه‌ها بر جا گذارد که نیاز به مطالعات بیشتر دارد. با توجه به این‌که در مطالعه حاضر، امکان بررسی اثرات هورمون‌ها بر روند اسپرماتوژنز فراهم نگردید، عوارض جانبی احتمالی بر دستگاه تولید مثلی گربه‌های نر نیز مشخص نشد، لذا بررسی‌های بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

سال ۲۰۰۸، در مطالعه‌ای در ایستگاه میلیویل ایالات متحده بر روی کایوت که پستانداری با تولیدمثل فصلی است، گزارش نمودند که فصل، دارای اثر معنی‌دار بر غلظت سرمی تستوسترون می‌باشد، به‌گونه‌ای که حداکثر آن در ژانویه (دی) به‌میزان $9.31-0.73$ ng/ml و کمترین مقدار آن در ماه اکتبر (مهر) به‌میزان $0.0-0.44/7$ ng/ml بوده است (Minter and Deliberto, 2008)، که با نتایج تحقیق حال حاضر، از نظر تأثیرگذار بودن فصل مطابقت نسبتاً بالایی دارد. البته در مطالعه حاضر بیشترین مقادیر سرمی تستوسترون در دی‌ماه و کمترین آن در تیرماه به‌دست آمد. ویلاورد و همکاران در سال ۲۰۱۰، گزارش کردند که در مناطق معتدل، غلظت تستوسترون سالانه گربه‌ها، تحت تأثیر شرایط محیطی قرار نمی‌گیرد و بین غلظت سرمی تستوسترون و غلظت آن در مایع منی، ارتباط مستقیم و مثبتی وجود دارد که این غلظت با حجم بیضه در ارتباط است (Villaverde et al., 2010). نونز فاوور و همکاران در سال ۲۰۱۲، گزارش کردند که هر چند طول روز، در گربه باعث القاء تغییرات فصلی در کیفیت اسپرماتوزوئید می‌گردد ولی بر غلظت تستوسترون سرم، تأثیری ندارد (Nunez-Faver et al., 2012). کرک‌پاتریک در سال ۱۹۸۵، گزارش کرد که غلظت تستوسترون گربه در فصول تولید مثلی و غیر تولیدمثلی، تفاوت چندانی نداشته و مشابه هم می‌باشد (Kirkpatrick, 1985)، در حالی که جانسون و همکاران در سال ۱۹۸۴، گزارش کردند که سطوح غلظت تستوسترون گربه تا حد زیادی تحت تأثیر فصل تولیدمثلی قرار می‌گیرد (Johnstone et al., 1984). نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر هم نشان داد که مقادیر تستوسترون سرم گربه‌های مورد آزمایش،

سپاسگزاری

تعارض منافع

نویسندگان مقاله، مراتب تشکر و قدردانی خود را از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز، در تامین هزینه پژوهشی پایان‌نامه مزبور در قالب پژوهانه ابراز می‌دارند.

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

منابع

- Albrizio, M., Siniscalchi, M.S.R. and Quaranta, A. (2013). Effects of the environment on dog semen parameters and testosterone concentration. *Theriogenology*, 80(7): 800-804.
- Berning, J.M., Adams, K.J. and Stamford, B.A. (2004). Anabolic steroid usage in athletics: Facts, fiction, and public relations. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 18(4): 908-917.
- Blottner, S. and Jewgenow, K. (2007). Moderate seasonality in testis function of domestic cat. Institute for Zoo and Wildlife Research, Berlin, Germany, *Reproduction in Domestic Animal*, 42(5): 536-540.
- Chatdarong, K., Axner, E., Manee-In, S., Thuwanut, P. and Linde-Forsberg, C. (2007). Pregnancy in the domestic cat after vaginal or transcervical insemination with fresh and frozen semen. *Theriogenology*, 68(9): 1326-1333.
- Etienne, C. (2007). *Clinical Veterinary Advisor: Dogs and cats*. 1st ed., St. Louis: Missouri, Elsevier, pp: 1495-1496.
- Gooraninejad, S., Mosallanejad, B., Barati, F. and Shahi Khesht, M. (2017). Changes of testosterone serum concentration in two seasons warm and cold in dogs of Ahvaz district. *Iranian Veterinary Journal*, 13(2): 69-77.
- Johnstone, I., Bancroft, B.J. and McFarlane, J.R. (1984). Testosterone and androstenedione profiles in the blood of domestic tom-cats. *Animal Reproduction Science*, 7(4): 363-375.
- Kirkpatrick, J.F. (1985). Seasonal testosterone levels, testosterone clearance, and testicular weights in male domestic cats. *Canadian Journal of Zoology*, 63(6): 1285-1287.
- Koeppen, B. and Stanton, B. (2008). *Berne and Levy Physiology*. Vol. 6, Canada: Mosby Elsevier, pp: 758-765.
- Lequin, R. (2005). Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Clinical Chemistry*, 51(12): 2415-2418.
- Martins, M.I., de Souza, F.F., Oba, E. and Lopes, M.D. (2006). The effect of season on serum testosterone concentrations in dogs. *Theriogenology*, 66(6-7): 1603-1605.
- Minter, L.J. and Deliberto, T.J. (2008). Seasonal variation in serum testosterone, testicular volume, and semen characteristics in the coyote (*Canis latrans*). *Theriogenology*, 69(8): 946-952.
- Newell-Fugate, A., Kennedy-Stoskopf, S., Brown, J.L., Levine, J.F. and Swanson, W.F. (2007). Seminal and endocrine characteristics of male Pallas' Cats (*Otocolobus manul*) maintained under artificial lighting with simulated natural photoperiods. *Zoo Biology*, 26(3): 187-199.
- Newell-Fugate, A.E., nOthling, J.O. and Bertschinger, H.J. (2012). Seasonal changes in steroid hormone profiles, body weight, semen quality, and the reproductive tract in captive African wild dogs (*Lycaon pictus*) in South Africa. *General and Comparative Endocrinology*, 178(2): 272-281.

- Nunez Favre, R., Bonaura, M.C., Tittarelli, C.M., Mansilla Hermann, D., de la Sota, R.L. and Stornelli, M.A. (2012). Effect of natural photoperiod on epididymal sperm quality and testosterone serum concentration in domestic cat (*Felis catus*). *Reproduction in Domestic Animals*, 47(6): 232-234.
- Pacheco, A.O., Correa, J.C.S., Gonzalez, M.E.B., Coello, M.J. and Forsberg, C.L. (2006). Reproductive patterns of stray male dogs in the tropics. *Theriogenology*, 66(9): 2084-2090.
- Schmidt, S.D., Mazzella, M.J., Nixon, R.A. and Mathews, P.M. (2012). A β measurement by enzyme-linked immunosorbent assay. *Methods in Molecular Biology*, 849: 507-527.
- Taha, M.B., Noakes, D.E. and Allen, W.E. (1981). The effect of season of the year on the characteristics and composition of dog semen. *Journal of Small Animal Practice*, 22(4): 177-184.
- Tsutsui, T., Onodera, F., Oba, H., Mizutani, T. and Hori, T. (2009). Plasma hormone levels and semen quality in male cats during non-breeding and breeding seasons. *Reproduction in Domestic Animals*, 44(2): 291-293.
- Villaverde A.I.S.B., Fioratti E.G., Ramos R.S., Ferreira J.C.P., Balieiro J.C.C. and Lopes M.D. (2010). Relationship of testosterone concentration in blood and seminal plasma to sperm production in domestic cat. *Biology of Reproduction*, 83(1): 536.
- Weather Underground, Inc. (2016). Historic global weather condition. <http://www.wunderground.com/history/airport/Ahvaz>. [In Persian]

A survey on seasonal changes of serum testosterone concentration in male cats of Ahvaz region

Mosallanejad, B.^{1*}, Gooraninejad, S.¹, Fatemi Tabatabaei, S.R.², Ghasemi Ghasemvand, A.³

1- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2- Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

3- D.V.M. Graduate, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author's email: bmosallanejad@scu.ac.ir.

(Received: 2017/7/20 Accepted: 2019/4/27)

Abstract

Environmental temperature and photoperiod are among the important factors that may influence the reproductive cycle of various species. The aim of the present survey was to evaluate the different seasonal influences (cold= January and warm= July) and their intermediate seasons (April and October) on serum testosterone concentration in cats of Ahvaz region. For this purpose, one hundred and twenty adult male cats (domestic short hair breed) were examined. Blood samples were taken of thirty cats in each season, and testosterone concentration was measured using ELISA technique in serum samples. The average testosterone concentration of 3.42 ± 0.49 ng/ml was detected in the studied cats. The minimum and maximum of serum testosterone level was also 0.01 and 17.2 ng/ml, in July and January respectively. The minimum of mean testosterone concentration was obtained in the warm season (0.62 ± 0.23 ng/ml), while the maximum mean level was detected in the cold season (9.87 ± 1.28 ng/ml). The mean testosterone concentration in spring and autumn was 2.26 ± 0.5 and 0.94 ± 0.3 ng/ml respectively. Environmental temperature and photoperiod correlated negatively with the testosterone concentration. The correlation coefficient between testosterone concentration with the average of minimum, maximum and total temperature, was calculated as $R = -0.572$, $R = -0.615$ and $R = -0.597$ respectively. The correlation coefficient indicated an acceptable and high correlation of the negative (inverse) type, between testosterone concentration and photoperiod ($R = -0.256$). In conclusion, testosterone concentration is under the influence of season, with the mean testosterone concentration significantly lower in summer than the other seasons ($p < 0.05$).

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Testosterone, Serum, Season, Cat, Ahvaz.