

## Adiponektin: Hormon Protein Potensial sebagai Kandidat Biomarka Kesuburan Pejantan

### (Adiponectin: Potential Protein Hormone as a Candidate Biomarker for Male Fertility)

Hafizuddin<sup>1</sup>, NWK Karja<sup>2</sup>, L Praharani<sup>3</sup> dan MA Setiadi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

<sup>2</sup>Bagian Reproduksi dan Kebidanan, Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

<sup>3</sup>Balai Penelitian Ternak

Kontributor utama: setiadi03@yahoo.com

(Diterima 6 November 2019 – Direvisi 26 November 2019 – Disetujui 26 November 2019)

#### ABSTRACT

Reproduction is an important factor that requires attention to increase livestock production. The application of artificial insemination (AI) technology has been developed rapidly in the world, so that availability of fertile superior male is a determinant factor of successful AI. Several recent studies have been aimed to discover male fertility biomarker, by intense research on fertility-associated proteins contained in seminal plasma. This paper describes the role of adiponectin as a biomarker candidate of male fertility. Adiponectin has a positive effect on spermatozoa functionality and steroidogenesis. This has been proven by several studies that found its expression in Sertoli cells and Leydig cells in the reproductive tract. Based on the specific role on spermatozoa functionality and steroidogenesis in supporting male fertility parameter, it is strongly suggested that adiponectin is an excellent candidate biomarker for male fertility.

**Key words:** Adiponectin, biomarker, fertility, male, spermatozoa

#### ABSTRAK

Reproduksi merupakan faktor penting yang memerlukan perhatian khusus untuk peningkatan produksi ternak. Aplikasi teknologi inseminasi buatan (IB) telah berkembang pesat di dunia, sehingga ketersediaan pejantan unggul yang subur merupakan faktor penentu keberhasilan IB. Beberapa penelitian terbaru berusaha untuk menemukan biomarka kesuburan pejantan dengan melakukan kajian yang intens tentang protein terkait dengan kesuburan (*fertility-associated proteins*) yang terdapat dalam plasma semen. Makalah ini menguraikan tentang peran adiponektin pada sistem reproduksi jantan untuk mengetahui potensinya sebagai kandidat biomarka kesuburan pejantan. Adiponektin memiliki efek positif terhadap fungsional spermatozoa dan steroidogenesis. Hal tersebut sudah dibuktikan oleh beberapa studi dengan ditemukannya ekspresi pada sel Sertoli dan sel Leydig pada organ reproduksi. Berdasarkan peran yang spesifik dan nyata pada fungsional spermatozoa dan steroidogenesis, dalam mendukung parameter kesuburan pejantan, maka patut dipertimbangkan adiponektin sebagai kandidat kuat biomarka kesuburan pejantan.

**Kata kunci:** Adiponektin, biomarka, kesuburan, jantan, spermatozoa

#### PENDAHULUAN

Kemampuan seekor ternak pejantan untuk menghasilkan keturunan sangat tergantung pada kualitas kesuburan pejantan tersebut. Deteksi dini kelainan kesuburan dan penggunaan pejantan kualitas tinggi merupakan faktor yang sangat krusial dalam perencanaan pengembangbiakan ternak. Selama ini pendugaan kesuburan pejantan dinilai dari karakteristik fisik, meliputi biometrik non-organ reproduksi, seperti pengukuran tinggi gumba, panjang badan, lebar kepala, tinggi kepala, dan lingkaran pelvis (Parker et al. 1999; Singh et al. 2014), dan biometrik organ reproduksi,

meliputi lingkaran skrotum, panjang skrotum dan volume testis (Abdelrahman et al. 2018; Hedia et al. 2019).

Karakteristik non-organ reproduksi yang berhubungan langsung dengan kualitas semen dan kesuburan yaitu lingkaran pelvis yang merupakan karakteristik yang memiliki pewarisan sifat yang tinggi (Parker et al. 1999). Lingkaran pelvis diduga berkaitan erat dengan lingkaran skrotum, sifat kejantanan, kualitas semen, yang akhirnya berhubungan dengan kesuburan yang diturunkan (Jagir et al. 2010). Parameter biometrik organ reproduksi, masih lebih banyak dijadikan acuan untuk menilai kesuburan seekor ternak pejantan dibandingkan biometrik non organ reproduksi.

Parameter tersebut terutama lingkaran skrotum, dilaporkan memiliki kaitan erat dengan karakteristik semen, seperti yang sudah dilaporkan pada kambing (Agga et al. 2011), domba (Sarlós et al. 2013), sapi (Waite et al. 2019) dan kerbau (Mahmood et al. 2018).

Menurut Utt (2016), parameter penilaian kesuburan pejantan yang paling akurat adalah melalui angka kelahiran. Disamping itu, ada beberapa parameter juga yang bisa digunakan untuk mengukur kesuburan dari perkawinan sampai kelahiran yaitu tingkat fertilisasi, *non return rate* dan angka kebuntingan. Namun, menurut Foote (2003) penilaian dengan metode tersebut tidak praktis karena kesuburan pejantan baru dapat dinilai setelah dikawinkan dan membutuhkan waktu yang lama. Oleh karena itu, diperlukan metode penilaian kesuburan yang lebih cepat dan akurat yang dapat digunakan sebelum hewan dikawinkan.

Penilaian kesuburan pejantan sebelum perkawinan yang paling umum digunakan adalah dengan mengevaluasi kualitas semen (Rodrigues et al. 2013; Boe-Hansen et al. 2015). Kesuburan yang dinilai berdasarkan kualitas semen saja belum dapat menggambarkan kesuburan yang sesungguhnya (de Oliveira et al. 2013; Dogan et al. 2015; Kaya & Memili 2016). Aplikasi metode penilaian kesuburan pejantan yang sudah dilakukan adalah dengan evaluasi hormon utama yang mempengaruhi reproduksi yaitu testosteron (Singh et al. 2014) dan identifikasi protein pada spermatozoa terkait kesuburan (de Oliveira et al. 2013). Namun, penilaian fertilitas pejantan dengan pengukuran testosteron, masih memerlukan kombinasi dengan parameter kualitas semen dan parameter fisik (Singh et al. 2014).

Beberapa peneliti menyarankan penilaian kesuburan perlu diarahkan pada analisis protein yang berkaitan erat dengan parameter kualitas semen dan kesuburan. Kandidat protein tersebut seyogyanya dapat menjelaskan peran spermatozoa sekaligus dapat memantau kesehatan reproduksi pejantan. Protein yang berhubungan dengan kesuburan memiliki peran fisiologis terhadap spermatozoa, mulai dari pertumbuhan, perkembangan, pematangan, metabolisme dan motilitas spermatozoa serta modifikasi membran sperma, reaksi akrosom, kapasitas, perlindungan, interaksi dengan epitel oviduk pada saat fertilisasi (Rodríguez-Martínez et al. 2011; Caballero et al. 2012; Boe-Hansen et al. 2015). Disamping perannya terhadap spermatozoa, kemudahan untuk pendeteksian protein tersebut menjadi harapan dalam mengaplikasikan metode penilaian kesuburan.

Salah satu protein terbaru yang berpotensi memiliki peran seperti tersebut di atas adalah

adiponektin. Adiponektin dilaporkan memiliki korelasi positif dengan kesuburan pejantan yang berkaitan dengan steroidogenesis maupun spermatogenesis (Kasimanickam et al. 2013). Penelitian lain, menunjukkan korelasi positif antara adiponektin dengan parameter kualitas semen, meliputi konsentrasi spermatozoa, morfologi dan mortalitas spermatozoa (Thomas et al. 2013; Kadivar et al. 2016), sebagai indikator kesuburan pejantan. Makalah ini menguraikan tentang peran adiponektin sebagai hormon protein yang potensial sebagai kandidat biomarker kesuburan pejantan, melalui pembahasan mekanisme kerja pada proses fisiologis maupun tingkat molekuler.

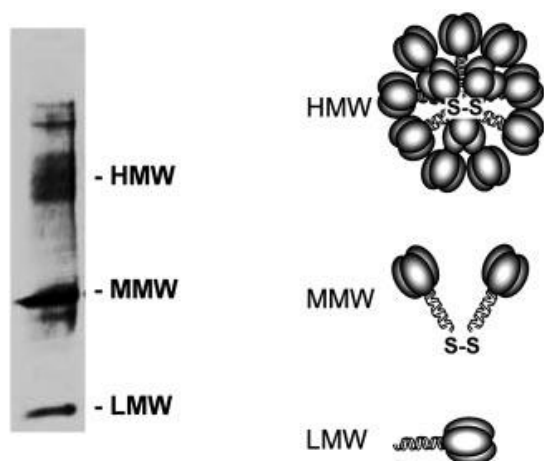
## STRUKTUR, PERAN DAN MEKANISME KERJA ADIPONEKTIN

### Struktur adiponektin

Jaringan adiposa disamping sebagai penyimpan energi juga dapat memproduksi beberapa hormon yang dikenal sebagai adipokin, yang berperan sebagai endokrin, parakrin dan autokrin (Ranjan 2017; Elfassy et al. 2018). Salah satu adipokin yang menjadi perhatian besar saat ini adalah adiponektin; selain leptin, resistin, chemerin, visfatin, vaspin, dan progranulin (Elfassy et al. 2018).

Adiponektin dalam tubuh disintesis dalam bentuk monomer dengan ukuran 28 kDa, tetapi disekresikan setelah mengalami multimerisasi, sehingga adiponektin dikategorikan menjadi tiga tipe berdasarkan berat molekul. Tiga tipe tersebut yaitu, (a) *low molecule weight* (LMW), yang terdiri dari monomer, dimer, dan trimer, (b) *medium molecule weight* (MMW) dalam bentuk heksamer, dan (c) *high molecule weight* (HMW) dalam bentuk multimer (Mielenz et al. 2013). Waki et al. (2003) mendapatkan 3 macam bentuk dengan berat molekul yang berbeda yaitu LMW dengan berat 67 kDa dalam bentuk trimer, MMW dengan berat 136 kDa dalam bentuk heksamer, dan HMW dengan berat >300 kDa dalam bentuk multimer yang terdiri dari 12-18 monomer. Struktur adiponektin tersebut disajikan pada Gambar 1.

Pada sapi, adiponektin dengan ukuran HMW lebih banyak ditemukan pada plasma semen dibandingkan pada serum (Heinz et al. 2015). Adiponektin dengan ukuran HMW dianggap memiliki aktivitas biologis yang paling tinggi (Hada et al. 2007), dan dapat digunakan sebagai biomarker pada kasus sindrom metabolik (de Abreu et al. 2017).



**Gambar 1.** Bentuk-bentuk struktur adiponektin: HMW (*high molecule weight*), MMW (*medium molecule weight*), LMW (*low molecule weight*)

**Sumber:** Kadowaki & Yamauchi (2005)

### Reseptor adiponektin

Reseptor adiponektin terdiri dari reseptor adiponektin 1 dan 2 yang dikenal dengan AdipoR1 dan AdipoR2 (Kadowaki & Yamauchi 2005). Namun, ada yang menyebutkan juga bahwa T-cadherin juga termasuk reseptor adiponektin (Hug et al. 2004). Reseptor-reseptor tersebut memiliki aktivitas biologis antara lain dengan mengikat protein adaptor yang mengandung domain homolog *pleckstrin*, *phosphotyrosine-binding domain* dan *leucine* (APPL), dan memperkuat *signal intraseluler* (Mao et al. 2006).

Reseptor adiponektin AdipoR1 bekerja melalui jalur *adeno monophospat protein kinase* (AMPK), sehingga menghambat oksidasi asam lemak. Sedangkan AdipoR2 bertindak melalui *peroxisome proliferator-activated receptor alpha* (PPAR- $\alpha$ ), yang akan menstimulasi oksidasi asam lemak. Disamping itu, kedua reseptor tersebut dalam aktvitasnya berikatan dan tergantung dari berat molekul adiponektin. AdipoR1 lebih sering berikatan dengan adiponektin dalam bentuk molekul kecil dan sedang (LMW dan MMW). Sedangkan AdipoR2 cenderung berikatan

dengan adiponektin dengan berat molekul tinggi (HMW) (Yamauchi et al. 2007).

### Peran adiponektin pada sistem reproduksi jantan

Adinopektin berperan sebagai pengatur sensitivitas insulin, oksidasi lemak, memodulasi respon inflamasi, dan metabolisme energi sehingga berfungsi sebagai anti-inflamasi, anti-aterosklerosis, anti-diabetes, anti-aterogenik, anti-hipertensi dan kardioprotektif (Tilg & Wolf 2005). Selain peran yang sudah disebutkan, adiponektin juga punya peran penting pada sistem reproduksi dan berdasarkan ekspresi *messenger ribonucleic acid* (mRNA) adinopektin ditemukan mulai dari *hypothalamic-pituitary-gonad axis* (sumbu HPG), organ reproduksi dan kelenjar assesoris. Sumbu HPG merupakan pusat sistem reproduksi mamalia, yang mengatur berbagai fungsi reproduksi (Michalakis & Segars 2010). Sekresi *gonadotropin-releasing hormone* (GnRH) oleh hipotalamus akan merangsang pelepasan *follicle-stimulating hormone* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH), yang masing-masing berfungsi sebagai pengatur spermatogenesis dan steroidogenesis pada testis. Adiponektin mempengaruhi sistem reproduksi melalui aksinya pada pusat di sumbu HPG. Ekspresi adiponektin dan reseptornya ditemukan di otak dan pituitari pada berbagai spesies, termasuk manusia, tikus, babi, dan ayam (Rodriguez-Pacheco et al. 2007; Rato et al. 2012; Ramachandran et al. 2013). Adiponektin menjadi faktor utama yang memodulasi fungsi reproduksi (Rak et al. 2017), dan memiliki peran yang sangat strategis dalam mengatur fungsional spermatozoa yang berkaitan erat dengan kesuburan pejantan.

Hasil pengamatan menggunakan *real-time polymerase chain reaction* (RT-PCR) menunjukkan bahwa ekspresi mRNA adiponektin banyak ditemukan di bagian ekor sperma. Sementara itu, AdipoR1 ditemukan di daerah ekuator dan akrosom, sedangkan AdipoR2 terdapat di kepala dan ekuator sperma. Data lebih lanjut, menunjukkan bahwa mRNA adiponektin dan reseptornya diekspresikan sebelum dan sesudah kapasitas spermatozoa. Adiponektin diduga memiliki

**Tabel 1.** Konsentrasi adiponektin pada ternak jantan

Jenis ternak	Lokasi	Konsentrasi	Pustaka
Kuda dewasa	Serum darah	7,15 $\mu\text{g/mL}$	Pearson (2015)
Kuda prapubertas	Serum darah	7,50 $\mu\text{g/mL}$	Pearson (2015)
Sapi	Serum darah	178-654 $\text{ng/mL}$	Kasimanickam et al. (2013)
	Serum darah, Plasma semen	31,1 $\mu\text{g/mL}$ , 0,18 $\mu\text{g/mL}$	Heinz et al. (2015)
Kambing	Plasma darah	14,10-20,38 $\text{mg/L}$	Hafizuddin et al. (2019)

peran pada proses kapasitas spermatozoa (Kasimanickam et al. 2013). Selain itu, transkrip reseptor adiponektin pada domba ditemukan pada testis, epididimis, kelenjar vesikula seminalis dan kelenjar Cowper (Rahmanifar & Tabandeh 2012).

Dibandingkan dengan adipokin lainnya, adiponektin merupakan adipokin yang paling melimpah dalam sirkulasi darah (Pardo et al. 2012). Namun, konsentrasi adiponektin pada ternak jantan yang pernah dilaporkan baru pada kuda, sapi dan kambing (Tabel 1).

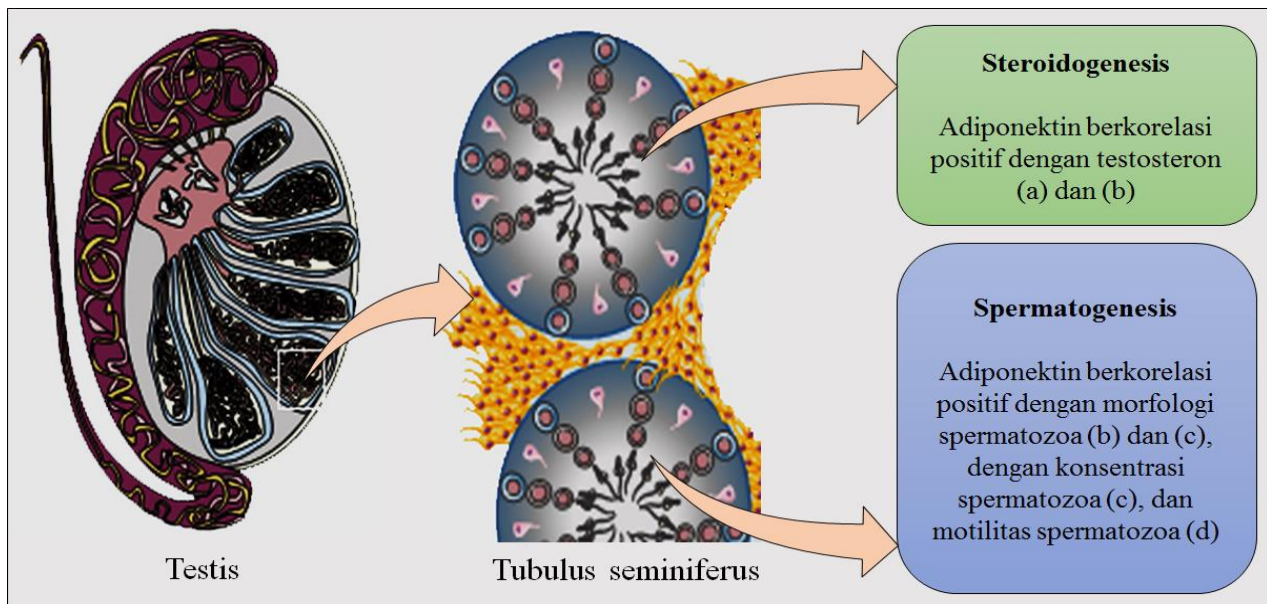
**Mekanisme molekuler adiponektin pada sistem reproduksi jantan**

Pada reproduksi jantan, adiponektin berperan sebagai pengatur berbagai fungsi sel pada testis (Martin 2014). Adiponektin mempengaruhi produksi steroid melalui aksinya pada kaskade signal LH/siklus adenosin monofosfat (cAMP)/protein kinase A (PKA) pada sel Leydig (Ouedraogo et al. 2006). Keterlibatan adiponektin pada steroidogenesis gonad ditunjukkan oleh hubungan positif dan signifikan antara plasma adiponektin dan kolesterol *high-density* lipoprotein sebagai pembentuk testosteron (Pfaehler et al. 2012). Pada spermatozoa, adiponektin berperan penting terhadap peningkatan konsentrasi dan morfologi spermatozoa (Thomas et al. 2013), peningkatan motilitas spermatozoa (Kadivar et al. 2016), dan

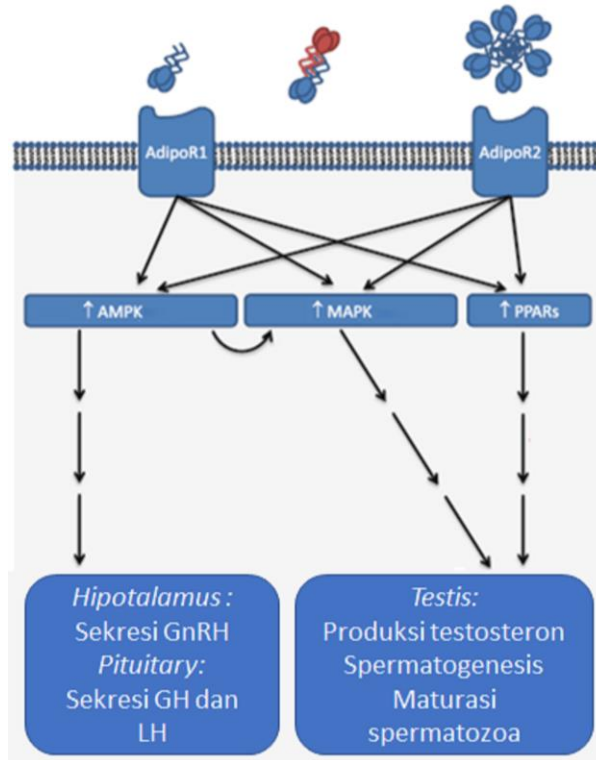
morfologi normal spermatozoa (Kasimanickam et al. 2013; Thomas et al. 2013). Peran adiponektin pada steroidogenesis dan spermatogenesis diilustrasikan pada Gambar 2.

*Messenger ribonucleic acid* adiponektin ditemukan pada testis dan sel Leydig dan spermatosit (Gregoraszczyk et al. 2016). Reseptor adiponektin ditemukan di tubulus seminiferus (Kasimanickam et al. 2013; Kawwass et al. 2015), sel Sertoli, sel Leydig, sel germinal (Kawwass et al. 2015) dan pada spermatozoa (Kasimanickam et al. 2013; Kawwass et al. 2015). Adiponektin bersifat multifungsi dan pleiotropik (pengaruh yang menguntungkan bagi tubuh), sehingga mampu menggunakan jalur ganda dalam menginduksi sel. Oleh karena itu, adiponektin disamping berikatan dengan reseptornya juga dapat berinteraksi dengan hormon lain untuk menginduksi gen target. Adiponektin berinteraksi dengan hormon lain menjadi zat aditif khususnya dengan insulin, *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), dan *luteinizing hormone* (LH) yang meningkatkan respon seluler (Campos et al. 2008) (Gambar 3).

Berdasarkan Gambar 3, kerja adiponektin dalam peningkatan kualitas semen dilakukan melalui ikatannya dengan reseptor. Ikatan tersebut mengaktifkan APPL dan selanjutnya *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK) menghasilkan beberapa molekul dalam mengaktifkan gen target (Kadivar et al. 2016; Elfassy et al. 2018).

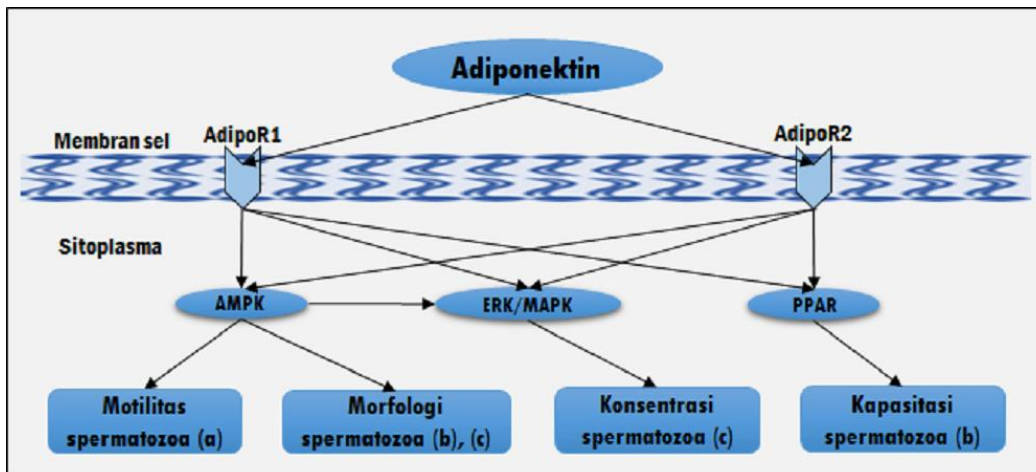


**Gambar 2.** Peran adiponektin pada steroidogenesis dan spermatogenesis, (a) Pfaehler et al. (2012), (b) Kasimanickam et al. (2013), (c) Thomas et al. (2013), dan (d) Kadivar et al. (2016) (Modifikasi dari Rak et al. (2017))



**Gambar 3.** Jalur aktivitas molekuler adiponektin pada proses spermatogenesis dan steroidogenesis

Sumber: Modifikasi dari Martin (2014)

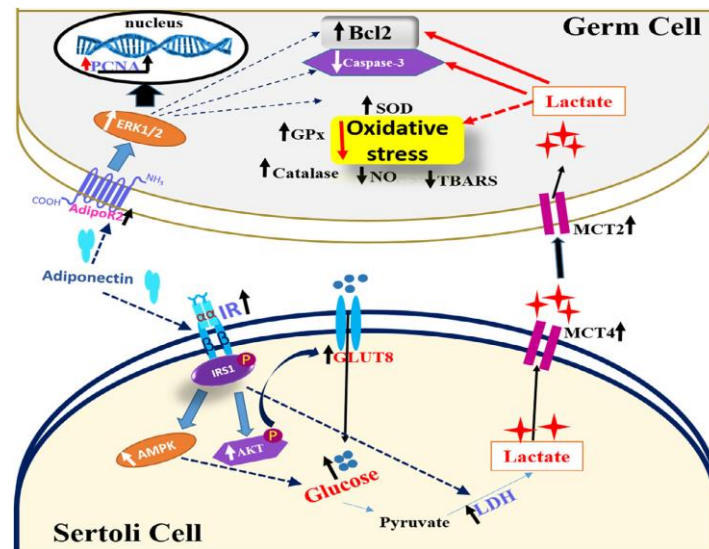


**Gambar 4.** Fungsional adiponektin pada spermatozoa (a) Kadivar et al. (2016), (b) Kasimanickam et al. (2013), dan (c) Thomas et al. (2013)

Pada sel Sertoli, adiponektin menstimulasi laktat sel germinal dengan mengaktifkan AMPK yang akan bekerjasama untuk pemeliharaan integritas fungsional kompleks antara sel Sertoli dengan sel germinal dan berkontribusi dalam menjaga lingkungan mikro yang optimal untuk spermatogenesis (Galardo et al. 2010; Achari & Jain 2017; Choubey et al. 2019). Selanjutnya, pada sel Leydig, adiponektin dapat meningkatkan steroidogenesis dengan mengaktifkan *mitogen-*

*activated protein kinase* (MAPK) (Azamar-Llamas et al. 2017). Berdasarkan hasil penelitian, ekspresi AdipoR1 dan AdipoR2 pada seluruh bagian organ reproduksi jantan pada domba (Rahmanifar & Tabandeh 2012), disimpulkan bahwa adiponektin yang diproduksi secara lokal di testis dan sel epitel organ reproduksi jantan memiliki peran dalam proses pematangan spermatozoa (Martin 2014) (Gambar 3).





Gambar 5. Peran adiponektin terhadap metabolisme dan morfologi spermatozoa

Sumber: Choubey et al.(2019)

**Peran langsung adiponektin terhadap parameter kualitas spermatozoa**

Gambar 4. menunjukkan peran langsung adiponektin terhadap beberapa parameter kualitas spermatozoa. Peran adiponektin dalam peningkatan motilitas spermatozoa diduga melalui jalur ikatan antara AdipoR1 maupun AdipoR2 pada membran sel. Selanjutnya jalur *second messenger* yang digunakan adalah AMPK, sehingga terjadi peningkatan *uptake* glukosa dan aktivitas laktat dehidrogenase (LDH) (Choubey et al. 2019), sebagai sumber energi.

Peran adiponektin pada proses pembentukan morfologi normal spermatozoa berhubungan dengan produksi laktat yang berperan untuk mempertahankan daya hidup spermatosit dan mencegah apoptosis selama proses normal spermatogenesis (Choubey et al. 2019), seperti terlihat pada Gambar 5.

Mekanisme adiponektin dalam peningkatan konsentrasi spermatozoa berhubungan erat dengan terjadinya proliferasi sel. Secara molekuler, proses ini dapat terjadi melalui aktivasi jalur AMPK, yang berfungsi meningkatkan *uptake* glukosa (Deepa & Dong 2009). Publikasi oleh Bertoldo et al. (2015) menyimpulkan bahwa protein kinase AMPK merupakan pengatur energi utama pada gonad. Oleh karena itu, jalur AMPK disamping terlibat pada proliferasi sel, terlibat juga dalam pematangan sel germinal dan kelangsungan hidup sel (Bertoldo et al. 2015). Disamping itu, jalur AMPK dapat menstimulasi secara langsung peningkatan hormon-hormon yang menstimulasi proses spermatogenesis. Oleh karena itu, AMPK sering disebut sebagai pengatur energi utama gonad (Bertoldo et al. 2015). Selanjutnya, adiponektin berperan pada proliferasi sel dapat juga dengan

mengaktifkan jalur *extracellular signal-regulated kinase* (ERK) (Liu et al. 2017). Protein kinase ERK akan memfasilitasi terjadinya adhesi sel germinal ke sel Sertoli, yang selanjutnya akan meningkatkan pelepasan spermatozoa (Shupe et al. 2011).

Peran adiponektin pada proses kapasitasi spermatozoa terjadi melalui pengaktifan *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR- $\gamma$ ) oleh AdipoR1 dan AdipoR2. Reseptor PPAR- $\gamma$  ini menyebabkan elevasi spermatozoa yang matang ditandai dengan terjadinya *efflux* kolesterol (Naseer et al. 2014), peningkatan fluiditas membran, peningkatan konsentrasi  $Ca^{2+}$  intraseluler, dan terjadinya polimerisasi *actin* sebagai indikator terjadinya kapasitasi spermatozoa (Liu et al. 2015). Hal ini telah dibuktikan dengan ekspresi PPAR- $\gamma$  pada spermatozoa ejakulasi babi, yang menunjukkan peningkatan motilitas, kapasitasi, reaksi akrosom, kelangsungan hidup dan metabolisme (Santoro et al. 2013; Mousavi et al. 2019).

**PEMANFAATAN ANALISIS ADIPONEKTIN UNTUK MEMPERCEPAT PRODUKTIVITAS TERNAK DI INDONESIA**

Metode pengukuran konsentrasi adiponektin saat ini menggunakan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Sampel untuk pengukuran konsentrasi adiponektin dapat dilakukan dari beberapa sumber seperti cairan tubuh, yaitu; plasma darah, serum, plasma semen, cairan uterus dan saliva.

Kit ELISA komersial untuk pengukuran adiponektin telah tersedia untuk beberapa jenis hewan dan manusia (Smolinska et al. 2017; Menzies-Gow et al. 2019; Moradi et al. 2019), bahkan kit ELISA juga

tersedia untuk adiponektin yang spesifik berdasarkan berat molekul (Ebinuma et al. 2011). Disamping itu, telah dilakukan validasi analitik dan validasi biologis, seperti validasi biologis berdasarkan *body condition score* (BCS) pada anjing (Tvarijonaviciute et al. 2010), dan berdasarkan status reproduksi dan laktasi pada sapi perah (Mielenz et al. 2013).

Studi untuk analisis biomarka adiponektin pada ternak pejantan perlu dilakukan di Indonesia bersamaan dengan pemeriksaan kualitas spermatozoa. Pemeriksaan adiponektin memiliki peluang untuk dikembangkan menjadi biomarka tunggal dalam penilaian kesuburan pejantan ternak dengan kualitas semen yang memenuhi standar sangat menentukan keberhasilan IB (Petherick 2005).

### KESIMPULAN

Adiponektin memiliki prospek yang kuat sebagai kandidat biomarka kesuburan pejantan, berdasarkan kajian peran yang spesifik dan nyata pada fungsional spermatozoa dan steroidogenesis yang mendukung parameter kesuburan pejantan untuk mensukseskan program IB.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi atas Hibah Penelitian Disertasi Doktor dengan Nomor Kontrak: 18/UN11.2/PP/SP3/2018, dan Balai Penelitian Ternak atas izin penggunaan hewan percobaan dan fasilitas lainnya.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abdelrahman SS, Abdalla MSE, Darderi TM, Ali EAE. 2018. Association of body weight, scrotal circumference, heart girth and penile development with spermatogenesis in the Nubian bucks. *J Vet Med Anim Health*. 10:217-223.
- Achari A, Jain S. 2017. Adiponectin, a therapeutic target for obesity, diabetes, and endothelial dysfunction. *Int J Mol Sci*. 18:1-17.
- Agga GE, Udala U, Regassa F, Wudie A. 2011. Body measurements of bucks of three goat breeds in Ethiopia and their correlation to breed, age and testicular measurements. *Small Rumin Res*. 95:133-138.
- Azamar-Llamas D, Hernández-Molina G, Ramos-Ávalos B, Furuzawa-Carballeda J. 2017. Adipokine contribution to the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediat Inflamm*. 2017:1-26.
- Bertoldo M, Faure M, Dupont J, Froment P. 2015. AMPK: a master energy regulator for gonadal function. *Front Neurosci*. 9:1-11.
- Boe-Hansen GB, Rego JPA, Crisp JM, Moura AA, Nouwens AS, Li Y, Venus B, Burns BM, McGowan MR. 2015. Seminal plasma proteins and their relationship with percentage of morphologically normal sperm in 2-year-old Brahman (*Bos indicus*) bulls. *Anim Reprod Sci*. 162:20-30.
- Caballero I, Parrilla I, Almiñana C, del Olmo D, Roca J, Martínez E, Vázquez J. 2012. Seminal plasma proteins as modulators of the sperm function and their application in sperm biotechnologies. *Reprod Domest Anim*. 47:12-21.
- Campos DB, Palin MF, Bordignon V, Murphy BD. 2008. The 'beneficial' adipokines in reproduction and fertility. *Int J Obes*. 32:223-231.
- Choubey M, Ranjan A, Bora PS, Baltazar F, Krishna A. 2019. Direct actions of adiponectin on changes in reproductive, metabolic, and anti-oxidative enzymes status in the testis of adult mice. *Gen Comp Endocrinol*. 279:1-11.
- de Abreu VG, Martins CJdM, de Oliveira PAC, Francischetti EA. 2017. High-molecular weight adiponectin/HOMA-IR ratio as a biomarka of metabolic syndrome in urban multiethnic Brazilian subjects. *PLoS One*. 12:1-12.
- de Oliveira RV, Dogan S, Belser LE, Kaya A, Topper E, Moura A, Thibaudeau G, Memili E. 2013. Molecular morphology and function of bull spermatozoa linked to histones and associated with fertility. *Reproduction*. 146:263-272.
- Deepa SS, Dong LQ. 2009. APPL1: role in adiponectin signaling and beyond. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 296:E22-E36.
- Dogan S, Vargovic P, Oliveira R, Belser LE, Kaya A, Moura A, Sutovsky P, Parrish J, Topper E, Memili E. 2015. Sperm protamine-status correlates to the fertility of breeding bulls. *Biol Reprod*. 92:1-9.
- Ebinuma H, Yago H, Akimoto Y, Miyazaki O, Kadowaki T, Yamauchi T, Hara K. 2011. Method of selectively assaying adiponectin multimers. Google Patents.
- Elfassy Y, Bastard J-P, McAvoy C, Fellahi S, Dupont J, Levy R. 2018. Adipokines in semen: physiopathology and effects on spermatozoa. *Int J Endocrinol*. 2018:1-11.
- Foote RH. 2003. Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. *Anim Reprod Sci*. 75:119-139.
- Galardo MN, Riera MF, Pellizzari EH, Sobarzo C, Scarcelli R, Denduchis B, Lustig L, Cigorraga SB, Meroni SB. 2010. Adenosine regulates Sertoli cell function by activating AMPK. *Mol Cell Endocrinol*. 330:49-58.

- Gregoraszczyk E, Slupecka M, Wolinski J, Hejmej A, Bilinska B, Fiedor E, Piwnicka N, Rak A. 2016. Maternal high-fat diet during pregnancy and lactation had gender difference effect on adiponectin in rat offspring. *J Physiol Pharmacol.* 67:543-553.
- Hada Y, Yamauchi T, Waki H, Tsuchida A, Hara K, Yago H, Miyazaki O, Ebinuma H, Kadowaki T. 2007. Selective purification and characterization of adiponectin multimer species from human plasma. *Biochem Biophys Res Commun.* 356:487-493.
- Hafizuddin H, Karja N, Praharani L, Setiadi M. 2019. Adiponectin and testosterone levels and its correlation with fertility in Anglo-Nubian x Etawah Grade crossbred bucks. *Trop Anim Sci J (In Review)*.
- Hedia MG, El-Belely MS, Ismail ST, Abo El-Maaty AM. 2019. Monthly changes in testicular blood flow dynamics and their association with testicular volume, plasma steroid hormones profile and semen characteristics in rams. *Theriogenology.* 123:68-73.
- Heinz JF, Singh SP, Janowitz U, Hoelker M, Tesfaye D, Schellander K, Sauerwein H. 2015. Characterization of adiponectin concentrations and molecular weight forms in serum, seminal plasma, and ovarian follicular fluid from cattle. *Theriogenology.* 83:326-333.
- Hug C, Wang J, Ahmad NS, Bogan JS, Tsao T-S, Lodish HF. 2004. T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. *Proc Nat Acad Sci USA.* 101:10308-10313.
- Jagir S, Ajeet K, Dhaliwal G. 2010. Pelvic area and scrotal circumference in relation to libido in breeding bulls. *Indian Vet J.* 87:396-397.
- Kadivar A, Khoei HH, Hassanpour H, Golestanfar A, Ghanaei H. 2016. Correlation of adiponectin mRNA abundance and its receptors with quantitative parameters of sperm motility in rams. *Int J Fertil Steril.* 10:127-135.
- Kadowaki T, Yamauchi T. 2005. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev.* 26:439-451.
- Kasimanickam VR, Kasimanickam RK, Kastelic JP, Stevenson JS. 2013. Associations of adiponectin and fertility estimates in Holstein bulls. *Theriogenology.* 79:766-777.
- Kawwass JF, Summer R, Kallen CB. 2015. Direct effects of leptin and adiponectin on peripheral reproductive tissues: a critical review. *Mol Hum Reprod.* 21:617-632.
- Kaya A, Memili E. 2016. Sperm macromolecules associated with bull fertility. *Anim Reprod Sci.* 169:88-94.
- Liu L-L, Xian H, Cao J-C, Zhang C, Zhang Y-H, Chen M-M, Qian Y, Jiang M. 2015. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma signaling in human sperm physiology. *Asian J Androl.* 17:942-947.
- Liu Z, Xiao T, Peng X, Li G, Hu F. 2017. APPLs: More than just adiponectin receptor binding proteins. *Cell Signal.* 32:76-84.
- Mahmood S, Kumar A, Singh R, Sarkar M, Singh G, Verma M, Kumar G. 2018. Scrotal circumference: A predictor of testosterone concentration and certain attributes of seminal vesicles influencing buffalo male fertility. *Vet World.* 11:739-747.
- Mao X, Kikani CK, Riojas RA, Langlais P, Wang L, Ramos FJ, Fang Q, Christ-Roberts CY, Hong JY, Kim R-Y et al. 2006. APPL1 binds to adiponectin receptors and mediates adiponectin signalling and function. *Nat Cell Biol.* 8:516-523.
- Martin LJ. 2014. Implications of adiponectin in linking metabolism to testicular function. *Endocrine.* 46:16-28.
- Menzies-Gow N, Knowles E, Rogers I, Rendle D. 2019. Validity and application of immunoturbidimetric and enzyme-linked immunosorbent assays for the measurement of adiponectin concentration in ponies. *Equine Vet J.* 51:33-37.
- Michalakis KG, Segars JH. 2010. The role of adiponectin in reproduction: from polycystic ovary syndrome to assisted reproduction. *Fertil Steril.* 94:1949-1957.
- Mielenz M, Mielenz B, Singh SP, Kopp C, Heinz J, Häussler S, Sauerwein H. 2013. Development, validation, and pilot application of a semiquantitative Western blot analysis and an ELISA for bovine adiponectin. *Domest Anim Endocrin.* 44:121-130.
- Moradi M, Doustimotlagh AH, Dehpour AR, Rahimi N, Golestani A. 2019. The influence of TRAIL, adiponectin and sclerostin alterations on bone loss in BDL-induced cirrhotic rats and the effect of opioid system blockade. *Life Sci.* 233:116706.
- Mousavi MS, Shahverdi A, Drevet J, Akbarinejad V, Esmaeili V, Sayahpour FA, Topraggaleh TR, Rahimizadeh P, Alizadeh A. 2019. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) levels in spermatozoa of normozoospermic and asthenozoospermic men. *Syst Biol Reprod Med.* 2019:1-11.
- Naseer Z, Ahmad E, Aksoy M. 2014. Cholesterol efflux from sperm: approaches and applications. *Turk J Vet Anim Sci.* 38:653-659.



- Ouedraogo R, Wu X, Xu S-Q, Fuchsel L, Motoshima H, Mahadev K, Hough K, Scalia R, Goldstein BJ. 2006. Adiponectin suppression of high-glucose-induced reactive oxygen species in vascular endothelial cells: evidence for involvement of a cAMP signaling pathway. *Diabetes*. 55:1840-1846.
- Pardo M, Roca-Rivada A, Seoane LM, Casanueva FF. 2012. Obesidomics: contribution of adipose tissue secretome analysis to obesity research. *Endocrine*. 41:374-383.
- Parker R, Mathis C, Hawkins D. 1999. Evaluating the breeding soundness of beef bulls. Washington (USA): Cooperative Extension Service, College of Agriculture and Home Economics Washington State University. p. 1-4.
- Pearson L. 2015. Adiponectin in equine reproduction. Washington (USA): Washington State University.
- Petherick JC. 2005. A review of some factors affecting the expression of libido in beef cattle, and individual bull and herd fertility. *Appl Anim Behav Sci*. 90:185-205.
- Pfaehler A, Nanjappa MK, Coleman ES, Mansour M, Wanders D, Plaisance EP, Judd RL, Akingbemi BT. 2012. Regulation of adiponectin secretion by soy isoflavones has implication for endocrine function of the testis. *Toxicol Lett*. 209:78-85.
- Rahmanifar F, Tabandeh MR. 2012. Adiponectin and its receptors gene expression in the reproductive tract of ram. *Small Rumin Res*. 105:263-267.
- Rak A, Mellouk N, Froment P, Dupont J. 2017. Adiponectin and resistin: potential metabolic signals affecting hypothalamo-pituitary gonadal axis in females and males of different species. *Reproduction*. 153:R215-R226.
- Ramachandran R, Maddineni S, Ocón-Grove O, Hendricks III G, Vasilatos-Younken R, Hadley JA. 2013. Expression of adiponectin and its receptors in avian species. *Gen Comp Endocrinol*. 190:88-95.
- Ranjan A. 2017. Adipokines as a modulator of reproductive function. *J Sci Res*. 61:131-140.
- Rato L, Alves MG, Socorro S, Duarte AI, Cavaco JE, Oliveira PF. 2012. Metabolic regulation is important for spermatogenesis. *Nat Rev Urol*. 9:330-338.
- Rodrigues M, Souza C, Martins J, Rego J, Oliveira J, Domont G, Nogueira F, Moura A. 2013. Seminal plasma proteins and their relationship with sperm motility in Santa Ines rams. *Small Rumin Res*. 109:94-100.
- Rodríguez-Martínez H, Kvist U, Ernerudh J, Sanz L, Calvete JJ. 2011. Seminal plasma proteins: what role do they play?. *Am J Reprod Immunol*. 66:11-22.
- Rodríguez-Pacheco F, Martínez-Fuentes AJ, Tovar S, Pinilla L, Tena-Sempere M, Dieguez C, Castano JP, Malagon MM. 2007. Regulation of pituitary cell function by adiponectin. *Endocrinology*. 148:401-410.
- Santoro M, Guido C, De Amicis F, Sisci D, Vizza D, Gervasi S, Carpino A, Aquila S. 2013. Sperm metabolism in pigs: a role for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ). *J Exp Biol*. 216:1085-1092.
- Sarlós P, Egerszegi I, Balogh O, Molnár A, Cseh S, Rátky J. 2013. Seasonal changes of scrotal circumference, blood plasma testosterone concentration and semen characteristics in Racka rams. *Small Rumin Res*. 111:90-95.
- Shupe J, Cheng J, Puri P, Kostereva N, Walker WH. 2011. Regulation of Sertoli-Germ cell adhesion and sperm release by FSH and nonclassical testosterone signaling. *Mol Endocrinol*. 25:238-252.
- Singh A, Brar P, Cheema R. 2014. Relationships among frozen-thawed semen fertility, physical parameters, certain routine sperm characteristics and testosterone in breeding Murrah buffalo (*Bubalus bubalis*) bulls. *Vet World*. 7:644-651.
- Sinha MK, Songer T, Xiao Q, Sloan JH, Wang J, Ji S, Alborn WE, Davis RA, Swarbrick MM, Stanhope KL. 2007. Analytical validation and biological evaluation of a high-molecular-weight adiponectin ELISA. *Clin Chem*. 53:2144-2151.
- Smolinska N, Kiezun M, Dobrzym K, Szeszko K, Maleszka A, Kaminski T. 2017. Adiponectin, orexin A and orexin B concentrations in the serum and uterine luminal fluid during early pregnancy of pigs. *Anim Reprod Sci*. 178:1-8.
- Tanita T, Miyakoshi H, Nakano Y. 2008. Performance of ELISA for specific measurement of high-molecular-weight (HMW) adiponectin. *J Immunol Methods*. 333:139-146.
- Thomas S, Kratzsch D, Schaab M, Scholz M, Grunewald S, Thiery J, Paasch U, Kratzsch J. 2013. Seminal plasma adipokine levels are correlated with functional characteristics of spermatozoa. *Fertil Steril*. 99:1256-1263.
- Tilg H, Wolf AM. 2005. Adiponectin: a key fat-derived molecule regulating inflammation. *Expert Opin Ther Targets*. 9:245-251.
- Tvarijonaviciute A, Martínez-Subiela S, Ceron JJ. 2010. Validation of 2 commercially available enzyme-linked immunosorbent assays for adiponectin determination in canine serum samples. *Can J Vet Res*. 74:279-285.
- Utt MD. 2016. Prediction of bull fertility. *Anim Reprod Sci*. 169:37-44.

- Waite R, Dwyer C, Beggs D, Mansell P, Stevenson M, Pyman M. 2019. Scrotal circumference, bodyweight and semen characteristics in growing dairy-breed natural-service bulls in Tasmania, Australia. *New Zeal Vet J.* 67:109-116.
- Waki H, Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Uchida S, Kita S, Hara K, Hada Y, Vasseur F, Froguel P *et al.* 2003. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem.* 278:40352-40363.
- Wilkinson M, Brown R, Imran SA, Ur E. 2007. Adipokine gene expression in brain and pituitary gland. *Neuroendocrinology.* 86:191-209.
- Yamauchi T, Nio Y, Maki T, Kobayashi M, Takazawa T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Kawamoto S, Kubota N, Kubota T, *et al.* 2007. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat Med.* 13:332-339.