

УДК 636.2.034

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.3.251

КОНЦЕНТРАЦИЯ КИССПЕПТИНА, 17 β -ЭСТРАДИОЛА, ПРОГЕСТЕРОНА И КОРТИЗОЛА В ПЕРВЫЙ ТРИМЕСТР СТЕЛЬНОСТИ КОРОВ

Ширяев Г.В.¹* – канд. с.-х. н., Пригужалова А. О.¹ – мл. науч. сотр., Никитин Г.С.² – канд. вет. н., Ширяева Н. А.¹, Ларкина Т. А.¹ – мл. науч. сотр.

¹ВНИИГРЖ

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* GS-2027@yandex.ru

Ключевые слова: кисспептин, 17 β -эстрадиол, прогестерон, кортизол, молочные коровы.

Key words: kisspeptin, 17 β -estradiol, progesterone, cortisol, dairy cows.

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-76-10042, <https://rscf.ru/project/21-76-10042>

Поступила: 10.07.2023

Принята к публикации: 11.09.2023

Опубликована онлайн: 29.09.2023



РЕФЕРАТ

У клинически здоровых коров голштинской породы (n=25) изучена динамика гормонального обмена в первый триместр стельности коров. С этой целью у коров в сыворотке крови определяли концентрацию кисспептина, 17 β -эстрадиола, прогестерона и кортизола. За животными вели регулярное наблюдение с проведением клинических и акушерско-гинекологических исследований. Уровень кисспептина в первый триместр стельности возрастал практически на протяжении всего рассматриваемого периода с понижением концентрации до 194,23 \pm 23,61 пг/мл на 98 день. Уровень эстрадиола на протяжении первого триместра возрастал с 49,66 \pm 9,68 до 76,20 \pm 17,84 пг/мл, соответственно, что также объясняется включением в его синтез и секрецию фетоплацентарного комплекса. Концентрация прогестерона и кортизола была в среднем на одном уровне. В ходе эксперимента из 25 животных у 14-ти на 30-ый день после осеменения зафиксирована эмбриональная гибель. Вследствие этого было сформировано две группы: 1-ая группа – животные с нормальным течением беременности и 2-ая группа с эмбриональной гибелью. Анализируя данные иммуноферментного анализа у животных 1-й группы, можно отметить снижение уровня кисспептина на 11% на 28-ой день в сравнении с 14-м днем после осеменения. При этом концентрация эстрадиола напротив повысилась на 29%. Во-второй группе напротив уровень кисспептина и эстрадиола не изменился и в среднем остались практически на одном уровне. На 28-й день после осеменения в первой группе концентрация кортизола была достоверно выше по сравнению со второй группой – 15,32 \pm 3,23 и 9,00 \pm 0,89 нмоль/л, соответственно. Данные по кисспептину и эстрадиолу не показали достоверных различий. Однако интерес представляет то, что в первой группе при повышении уровня эстрадиола происходит понижение уровня кисспептина. В частности, это согласуется с ранее проведенными исследованиями, согласно которым подобное взаимовлияние данных гормонов, может регулироваться высокой концентрацией прогестерона.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Снижение воспроизводительной способности высокопродуктивных молочных коров происходит по различным причинам, в том числе из-за нарушения функции яичников, ранней эмбриональной или фетальной смертности и ряда других [1]. Сложность определения точного времени эмбриональной смертности и нахождения ее истинных причин заставляет исследователей обращать внимание на большое количество биомаркеров. В качестве одного из таких биомаркеров может выступить кисспептин. У крупного рогатого скота ген *kiss1*, располагаясь на 16 хромосоме, кодирует прогормон в виде гидрофобного белка, состоящего из 135 аминокислотных остатков (а.о.). Далее этот прогормон гидролизуется в белок кисспептин 53 (КП-53). Большое количество исследований указывает на возможный дальнейший гидролиз КП-53 на короткие пептиды (КП-14, КП-13 и КП-10) по аналогии с другими млекопитающими. Все четыре формы пептида обладают аффинностью и эффективно связываются с рецепторами, обладая высокой устойчивостью у всех видов позвоночных [2].

За более чем 20 лет продемонстрирована роль кисспептина в качестве главного фактора инициации полового созревания, регулятора тонического и циклического высвобождения гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ), оказывающего существенное влияние на фертильность самок: секрецию гонадотропинов, начало стадии полового созревания, половую дифференциацию мозга, наступление овуляции и метаболическую регуляцию фертильности [3, 4].

В научной литературе имеется множество публикаций, раскрывающих физиологическую роль кисспептина в нейрогуморальном аспекте у различных видов диких и домашних животных [5]. Однако влияние и механизм действия кисспептина в ходе стельности крупного рогатого скота до сих пор неясны. Цель данной работы – изучение концентрации в крови кисспептина, 17 β -эстрадиола, прогестерона и кортизола в первый триместр стель-

ности молочных коров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Исследования проведены в племенном хозяйстве Ленинградской области. Объект изучения – коровы голштинской породы ($n=25$) без клинических признаков заболеваний, со средним уровнем продуктивности за предыдущую лактацию около 11 тыс. кг молока. Условия их содержания и кормления соответствовали зооветеринарным требованиям. Все животные были плодотворно осеменены на 84-89 день после отела ректо-цервикальным способом. Они находились под постоянным наблюдением в течение 100 дней стельности, но на 14, 28, 42, 56, 70, 84 и 98 день опыта проводили более детальное обследование с отбором проб крови. На 30 день после осеменения у 14 коров констатировали эмбриональную смертность. На основании ретроспективного анализа беременности были сформированы две опытные группы: №1 ($n=11$) – коровы с физиологическим течением беременности, №2 (14) – животные, у которых произошла гибель плода (эмбриональная смертность).

Клиническое обследование коров проводили по общепринятой схеме утром за 1-2 часа до кормления. При этом из хвостовой вены в вакуумные пробирки отбирали пробы крови, которые сразу центрифугировали (3000 об/мин), а полученную сыворотку крови замораживали и хранили при -75°C .

С помощью наборов для иммуноферментного анализа в крови определяли содержание кисспептина (*Cloud-Clone Corp*, КНР), прогестерона и эстрадиола («Алкор-Био», Россия). Исследования проводили на микропланшетном ридере *Infinite F50* (Австрия).

Для сбора зооветеринарной информации, характеризующей молочную продуктивность и воспроизводительные качества животных, использованы племенные карточки, журналы амбулаторные и искусственного осеменения.

Полученные данные обрабатывали с помощью программы *IBM SPSS Statistics*

V26 (США) с применением непараметрического метода Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В период первого триместра физиологической стельности у коров наблюдаются значительные изменения в крови уровней гормонов, в первую очередь стероидных, ведущую роль среди которых в течение всего периода внутриутробного развития плода играют вырабатываемые яичниками, надпочечниками и фетоплацентарным комплексом эстра-

диол, прогестерон и кортизол [6]. При этом в ходе развития плаценты как показано на других видах животных происходит повышение уровня кисспептина, выполняющего различные функции, связанные с формированием у плода различных тканей и иммунокоррекцией [7].

Динамика кисспептина и стероидных гормонов представлена в таблице 1, рис. 1, 2.

Таблица 1

Изменение уровня кисспептина, эстрадиола, прогестерона и кортизола в первый триместр стельности у коров и коров-первотелок, n=11

День стельности	Концентрация			
	Кисспептин, пг/мл	Эстрадиол, пг/мл	Прогестерон, нмоль/л	Кортизол, нмоль/л
14	230,57±18,27	49,66±9,68	35,17±4,27	16,42±6,96
28	204,94±38,27	70,26±14,48	26,47±1,11	15,32±3,23
42	253,55±6,67	65,21±19,40	33,52±1,91	13,77±1,65
56	246,86±27,38	65,29±24,51	36,06±5,67	11,75±2,61
70	263±6,41	71,50±23,90	29,00±2,26	19,63±8,65
84	277,4±7,97	73,20±20,95	29,48±2,79	15,68±2,58
98	194,23±23,61	76,20±17,84	30,29±3,00	14,29±5,09

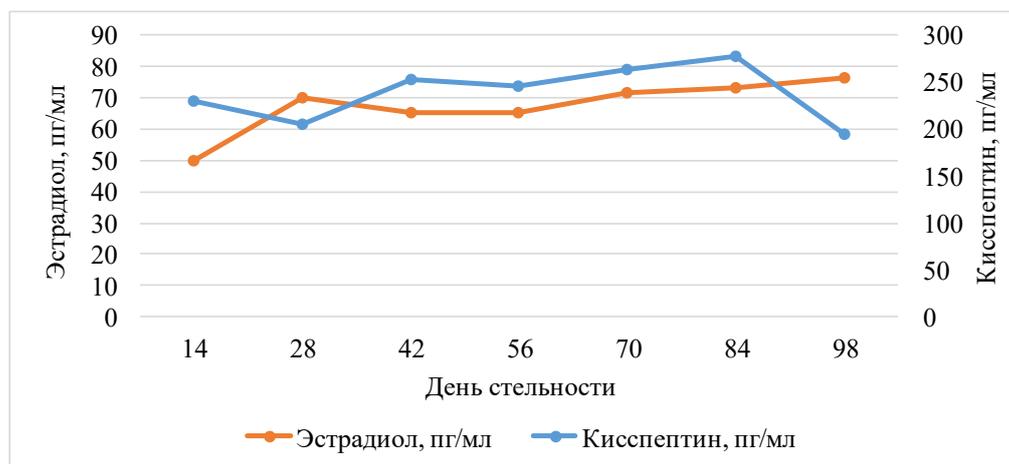


Рис. 1 – Динамика кисспептина и эстрадиола в первый триместр стельности молочных коров

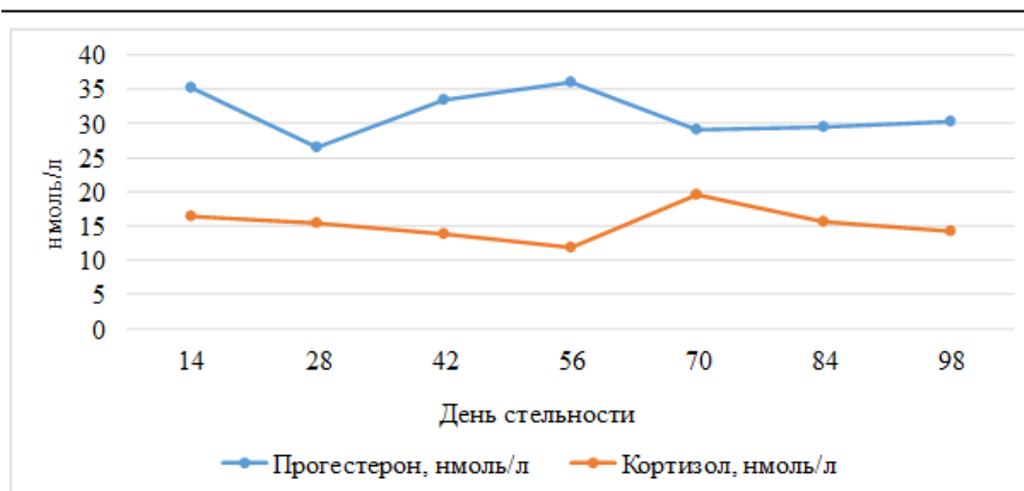


Рис. 2 – Динамика прогестерона и кортизола в первый триместр стельности молочных коров

Таблица 2
Концентрация кисспептина, 17β-эстрадиола, прогестерона и кортизола

Гормон	Группа 1		Группа 2 (эмбриональная смерть)	
	14 день после осеменения	28 день после осеменения	14 день после осеменения	28 день после осеменения
Кисспептин, пг/мл	230,57±18,27	204,94±38,27	245,84±12,92	245,29±9,31
Эстрадиол, пг/мл	49,66±9,68	70,26±14,48	60,37±16,26	61,71±14,23
Прогестерон, нмоль/л	35,17±4,27 ^a	26,47±1,11	17,50±2,09 ^a	23,97±4,72
Кортизол, нмоль/л	16,42±6,96	15,32±3,23 ^a	20,45±4,27	9,00±0,89 ^a

Примечание: ^a $P \leq 0,05$.

Уровень кисспептина в период от 14 до 84 дня стельности увеличился на 20,3%, но в последующие 14 дней он снизился на 30,0%. Постепенное повышение кисспептина объяснимо развитием плаценты, которая вносит свой вклад в синтез и секрецию кисспептина [Tena-Sempere M. Review GPR54 and kisspeptin in reproduction. Hum. Reprod. Update. 2006; 12(5): 631–9.], однако понижение концентрации гормона требует дальнейших исследований.

Уровень эстрадиола на протяжении

первого триместра увеличился на 53,4%, что также объясняется включением в его синтез и секрецию фетоплацентарного комплекса. Уровень прогестерона и кортизола был в среднем на одном уровне.

В таблице №2 представлены результаты анализа гормонального профиля коров с физиологической беременностью и, у которых отмечена гибель эмбриона. Выявлено, что в норме в период от 14 до 28 дня беременности уровень кисспептина снизился на 11,0%, в то время при патологии – достоверно не изменился.

Уровень прогестерона в первой группе на 14-й день после осеменения в первой группе достоверно оказался на 50,2% выше, чем у коров, у которых в дальнейшем произойдет эмбриональная смертность. В последующие 14 дней отмечен разнонаправленный тренд данного показателя. При физиологической беременности наблюдается его уменьшение (на 24,7%), но при патологии – увеличение (на 37,0%).

Интересные данные получены по кортизолу. Вырабатываемый корой надпочечников кортизол стимулирует глюконеогенез в печени и запасаение в ней гликогена, катаболизм белков в периферических тканях, при этом снижает в них утилизацию глюкозы. Гормон способствует мобилизации жирных кислот и росту содержания липидов в печени, экскреции калия, кальция, креатинина, задержке натрия и хлора [8]. Наши исследования показали, что на 14 день беременности отмечена не достоверная тенденция к увеличению (на 24,5%) кортизола у животных, у которых прервется беременность, но через 14 дней у них отмечено существенное его увеличение до уровня превышающий показатели в сопоставимой группе на 41,3%.

Данные по кисспептину и эстрадиолу не показали достоверных различий. Однако интерес представляет то, что в первой группе при повышении уровня эстрадиола происходит понижение уровня кисспептина. В частности, это согласуется с ранее проведенными исследованиями, согласно которым подобное взаимовлияние данных гормонов, может регулироваться высокой концентрацией прогестерона [9].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В ходе исследований у коров голштинской породы изучена динамика гормонального обмена в первый триместр стельности коров. Концентрация кисспептина в первый триместр стельности возрастала на протяжении всего рассматриваемого периода с понижением концентрации на 98-ой день. Концентрация эстрадиола на протяжении первого тримест-

ра возрастала. Концентрация прогестерона и кортизола была в среднем на одном уровне. У животных, у которых на 30-ый день была зафиксирована эмбриональная смертность, уровни кисспептина и эстрадиола не изменялись и в среднем оставались практически на одном уровне. У животных с нормальным течением стельности к 28 дню происходило снижение концентрации кисспептина, при одновременном повышении уровня эстрадиола. В сравнении с группой без эмбриональной смертности концентрация кортизола была достоверно ниже, что может свидетельствовать о снижении необходимости мобилизации организма к последующему развитию плода.

Данные об уровне гормонов в крови могут быть использованы для оценки функционального состояния эндокринной системы с целью сохранения здоровья коров и их потомства, а также коррекции условий содержания и эксплуатации.

THE CONCENTRATION OF KISSPEPTIN, 17 β -ESTRADIOL AND PROGESTERONE IN THE LUTEAL PHASE OF THE ESTROUS CYCLE OF A COW DUE TO REPRODUCTIVE INDICATORS

Shiryayev G.V.¹ – Candidate of Agricultural Sciences, Prituzhalova A. O.¹ – ml.scientific.collaborator, Nikitin G.S.² – Candidate of Vet. n., Shiryayeva N. A.¹, Larkina T. A.¹ – ml.scientific.co-worker.

¹ RRIFAGB

² St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* GS-2027@yandex.ru

ABSTRACT

In clinically healthy Holstein cows (n=25), the dynamics of hormonal metabolism in the first trimester of cow pregnancy was studied. For this purpose, the concentration of kisspeptin, 17 β -estradiol, progesterone and cortisol was determined in the blood serum of cows. The animals were regularly monitored with clinical and obstetric-gynecological studies. The level of kisspeptin in the first trimester of pregnancy increased almost throughout the entire period

under consideration with a decrease in concentration to 194.23 ± 23.61 pg/ml on day 98. The level of estradiol during the first trimester increased from 49.66 ± 9.68 to 76.20 ± 17.84 pg/ml, respectively, which is also explained by the inclusion of the fetoplacental complex in its synthesis and secretion. Progesterone and cortisol levels were on average at the same level. During the experiment, out of 25 animals, embryonic death was recorded in 14 on the 30th day after insemination. As a result, two groups were formed: the 1st group - animals with a normal course of pregnancy and the 2nd group with embryonic death. Analyzing the data of enzyme immunoassay in animals of the 1st group, one can note a decrease in the level of kisspeptin by 11% on the 28th day compared to the 14th day after insemination. At the same time, the concentration of estradiol, on the contrary, increased by 29%. In the second group, on the contrary, the level of kisspeptin and estradiol did not change and, on average, remained almost at the same level. On the 28th day after insemination in the first group, the cortisol concentration was significantly higher compared to the second group - 15.32 ± 3.23 and 9.00 ± 0.89 nmol/l, respectively. Data for kisspeptin and estradiol showed no significant differences. However, it is of interest that in the first group, with an increase in the level of estradiol, a decrease in the level of kisspeptin occurs. In particular, this is consistent with previous studies, according to which such an interaction of these hormones can be regulated by a high concentration of progesterone.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Соломахин А. А. Обмен веществ и гормональный статус в первый триместр лактации у коров-первотелок при длительном бесплодии / А. А. Соломахин, О. С. Митяшова, И. В. Гусев, И. Ю. Лебедева // Достижения науки и техники АПК. – 2016. – Т. 30. – № 10. – С. 105-108.
2. Tomikawa, J. Molecular characterization and estrogen regulation of hypothalamic KISS1 gene in the pig / J. Tomikawa, T. Homma, S. Tajima, T. Shibata, Y. Inamoto, K. Takase, N. Inoue, S. Ohkura, Y. Uenoya-

ma, K.-I. Maeda, H. Tsukamura // Biology of Reproduction. – 2010. – № 82 (2). – Pp. 313-319. DOI: 10.1095/biolreprod.109.079863.

3. Hu, K.-L. Kisspeptin/Kisspeptin Receptor System in the Ovary / K.-L. Hu, H. Zhao, H.-M. Chang, Y. Yu, J. Qiao // Frontiers in Endocrinology. – 2018. – No. 8. – 365 p. DOI: 10.3389/fendo.2017.00365.

4. Prashar, V. Hypothalamic kisspeptin neurons: integral elements of the GnRH system / V. Prashar, T. Arora, R. Singh, A. Sharma, J. Parkash // Reprod Sci. – 2023. – No. 30 (3). – Pp. 802-822. DOI: 10.1007/s43032-022-01027-5.

5. Caraty, A. Kisspeptins and the reproductive axis: potential applications to manage reproduction in farm animals / A. Caraty, C. Decourt, C. Briant, M. Beltramo // Domestic Animal Endocrinology. – 2012. – No. 43 (2). – Pp. 95-102. DOI: 10.1016/j.domaniend.2012.03.002.

6. Shenavai S. Investigations into the mechanisms controlling parturition in cattle / S. Shenavai, S. Preissing, B. Hoffmann et. al // Reproduction. – 2012. – № 144(2). – Pp. 279–292. DOI: 10.1530/rep-11-0471.

7. Горбунова О. Л. Роль кисспептина в формировании иммунологической толерантности при беременности / О. Л. Горбунова, С. В. Ширшев // Доклады Академии наук. – 2014. – Т. 457. – № 4. – С. 494.

8. Фирсов Г. М. Метаболические изменения в организме коров больных метритом в ранний послеродовой период / Г. М. Фирсов, Н. В. Родин, А. С. Рыхлов, В. С. Авдеев, В. Т. Ахмадов // Генетика и разведение животных. – 2021. – № 2. – С. 16-21.

9. Ширяев Г. В. Концентрация кисспептина, 17 α -эстрадиола и прогестерона в лютеиновую фазу эстрального цикла в связи с репродуктивными показателями коровы / Г. В. Ширяев, А. О. Притужалова, Г. С. Никитин, Н. А. Ширяева, Т. А. Ларкина // Молочное и мясное скотоводство. – 2023. – № 2. – С. 51-54.

REFERENCES

1. Solomakhin A. A. Metabolism and hor-

- monal status in the first trimester of lactation in first-calf heifers with prolonged infertility / A. A. Solomakhin, O. S. Mityashova, I. V. Gusev, I. Yu. Lebedeva // Achievements science and technology agro-industrial complex. – 2016. – Vol. 30. – No. 10. – P. 105-108.
2. Tomikawa, J. Molecular characterization and estrogen regulation of hypothalamic KISS1 gene in the pig / J. Tomikawa, T. Homma, S. Tajima, T. Shibata, Y. Inamoto, K. Takase, N. Inoue, S. Ohkura, Y. Uenoyama, K.-I. Maeda, H. Tsukamura // *Biology of Reproduction*. – 2010. – № 82 (2). – Pp. 313-319. DOI: 10.1095/biolreprod.109.079863.
3. Hu, K.-L. Kisspeptin/Kisspeptin Receptor System in the Ovary / K.-L. Hu, H. Zhao, H.-M. Chang, Y. Yu, J. Qiao // *Frontiers in Endocrinology*. – 2018. – No. 8. – 365 p. DOI: 10.3389/fendo.2017.00365.
4. Prashar, V. Hypothalamic kisspeptin neurons: integral elements of the GnRH system / V. Prashar, T. Arora, R. Singh, A. Sharma, J. Parkash // *Reprod Sci*. – 2023. – No. 30 (3). – Pp. 802-822. DOI: 10.1007/s43032-022-01027-5.
5. Caraty, A. Kisspeptins and the reproductive axis: potential applications to manage reproduction in farm animals / A. Caraty, C. Decourt, C. Briant, M. Beltramo // *Domestic Animal Endocrinology*. – 2012. – No. 43 (2). – Pp. 95-102. DOI: 10.1016/j.domaniend.2012.03.002.
6. Shenavai S. Investigations into the mechanisms controlling parturition in cattle / S. Shenavai, S. Preissing, B. Hoffmann et. al // *Reproduction*. – 2012. – № 144(2). – P. 279–292. DOI:10.1530/rep-11-0471.
7. Gorbunova O. L. The role of kisspeptin in the formation of immunological tolerance during pregnancy / O. L. Gorbunova, S. V. Shirshov // *Reports of the Academy of Sciences*. – 2014. – Vol. 457. – No. 4. – Pp. 494.
8. Firsov G. M. Metabolic changes in the body of cows with metrite in the early postpartum period / G. M. Firsov, N.V. Rodin, A. S. Rykhlov, V. S. Avdeenko, V. T. Akhmadov // *Genetics and animal breeding*. – 2021. – No. 2. – P. 16-21.
9. Shiryaev G. V., Prituzhalova A. O., Nikitin G. S., Shiryaeva N. A. Concentration of kisspeptin, 17 α -estradiol and progesterone in the luteal phase of the estrous cycle in connection with the reproductive performance of the cow., T. A. Larkina // *Dairy and meat cattle breeding*. – 2023. – No. 2. – P. 51-54.