

УДК: 636.2.034

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.2.315

КОНЦЕНТРАЦИИ КИССПЕПТИНА, ПРОГЕСТЕРОНА И ТЕСТОСТЕРОНА В КРОВИ У БЫЧКОВ И ТЕЛОЧЕК ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ В ХОДЕ ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ

Ширяев Г.В.^{1*} – канд. с.-х. наук, ст. науч. сотр. группы биохимии (ORCID 0000-0002-4698-3917); **Никиткина Е.В.**¹ – канд. биол. наук, лаборатория биологии развития (ORCID 0000-0002-8496-5277); **Никитин Г.С.**² – канд. ветеринар. наук, доц., доц. кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий; **Племяшов К.В.**² – д-р ветеринар. наук, проф., член-корреспондент РАН, зав. кафедрой генетических и репродуктивных биотехнологий.

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»

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

*GS-2027@yandex.ru

Ключевые слова: *кисспептин, прогестерон, тестостерон, крупный рогатый скот.*

Keywords: *kisspeptin, progesterone, testosterone, cattle*

Финансирование: *Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 21-76-10042.*

Поступила: 05.06.2024

Принята к публикации: 10.06.2024

Опубликована онлайн: 28.06.2024



РЕФЕРАТ

Имеется множество публикаций, раскрывающих физиологическую роль кисспептина в нейрогуморальном аспекте у различных видов диких и домашних животных. Однако уровень кисспептина в ходе полового созревания крупного рогатого скота до сих пор неясны. Цель исследований — изучение концентрации в крови кисспептина, прогестерона и тестостерона у бычков и телочек голштинской породы в ходе полового созревания. Исследования проведены в племенном хозяйстве Ленинградской области. В опыте были 10 бычков и 10 телочек голштинской породы. Условия содержания и кормления соответствовали зооветеринарным требованиям и были одинаковыми для всех животных. Кровь брали ежемесячно на протяжении 10 месяцев из яремной вены с помощью вакуумных пробирок через 4 часа после утреннего кормления. Концентрацию гормонов в сыворотке крови определяли иммуноферментным анализом. Концен-

трация киспептина оставалась одинаковой у бычков и телочек до возраста 4 мес. Далее, начиная с 5 мес концентрация киспептина растет у телочек, как и концентрация прогестерона. В возрасте 9 и 10 месяцев концентрация киспептина достоверно выше, чем у бычков. У бычков с возрастом увеличивалась концентрация тестостерона. Корреляционный анализ показал достоверную связь концентрации киспептина и прогестерона у телочек – коэффициент корреляции 0,797, $P > 0,01$ и концентрации киспептина и тестостерона у бычков – коэффициент корреляции 0,636, $P > 0,05$. Скорее всего киспептин играет роль в половом созревании. Необходимы дальнейшие исследования киспептина в связи с репродуктивной функцией *Bos Taurus*.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В молочном животноводстве для решения важных задач воспроизводства необходимо вырабатывать новые подходы по контролю гормонального статуса животных с самых ранних этапов их роста и развития. Важную роль в этом должен играть, помимо фиксации концентраций важнейших стероидов, поиск новых гормональных маркеров, характеризующих становление репродуктивной функции животных. Одним из таких маркеров может стать киспептин. У крупного рогатого скота ген *kiss1*, располагаясь на 16 хромосоме, кодирует прогормон в виде гидрофобного белка – киспептина, состоящего из 135 аминокислотных остатков (а.о.). За более чем 20 лет продемонстрирована роль киспептина в качестве главного фактора инициации полового созревания, регуляции тонического и циклического высвобождения гонадотропин-рилизинг-гормона, оказывающего существенное влияние на фертильность самок: секрецию гонадотропинов, начало стадии полового созревания, половую дифференциацию мозга, наступление овуляции и метаболическую регуляцию фертильности [1]. В большинстве научно-исследовательских работ по киспептину в основном уделяют внимание самкам. В литературе данных о влиянии киспептина на репродукцию бычков практически не встречается. Можно найти одно исследование, посвященное изучению влияния киспептина на половое поведение и спермопродукцию бычков-буйволов [2]. В данной работе уровень киспептина и тестостерона в сыворотке отрицательно коррелировали друг с другом. В тоже время уровень киспептина влиял на сексу-

альное поведение (время реакции, сексуальную агрессивность и др.) исследуемых бычков. Сывороточный киспептин был выше у бычков-буйволов с более высокой концентрацией сперматозоидов, что указывает на его роль в сперматогенезе.

Вследствие недостаточной изученности киспептина в период роста и развития телят нами был заложен опыт с целью изучения концентрации в крови киспептина, прогестерона и тестостерона у бычков и телочек голштинской породы в ходе полового созревания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены в племенном хозяйстве Ленинградской области. В опыте были 10 бычков и 10 телочек голштинской породы. Условия содержания и кормления соответствовали зооветеринарным требованиям и были одинаковыми для всех животных. Кровь брали ежемесячно на протяжении 10 месяцев из яремной вены с помощью вакуумных пробирок через 4 часа после утреннего кормления. Образцы крови немедленно помещали на лед и центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин в течение 1-2 часов после сбора. Сыворотку крови собирали в криопробирки емкостью 1,8 мл и хранили в морозильной камере при -75°C для дальнейшего анализа.

Концентрацию гормонов в сыворотке крови определяли иммуноферментным анализом. Концентрацию киспептина оценивали с использованием набора Cloud-Clone Corp. (КНР) для коров и телят с чувствительностью 5,63 пг/мл в соответствии с инструкцией производителя. CV составлял $<10\%$. Концентрации прогестерона и тестостерона оценивали с

помощью наборов «Алкор-Био» (Россия) согласно инструкции производителя. Чувствительность метода определения концентрации прогестерона составила 0,5 нмоль/л у тестостерона – 0,2 нмоль/л. CV у обоих стероидных гормонов составлял <8%. Определение всех трех гормонов проводили на микропланшетном ридере Infinite F50 (Австрия). Полученные данные обрабатывали с помощью программы IBM SPSS Statistics V26 (США) с применением непараметрического метода Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Доказано, экспрессия гена *kiss1* в гипоталамусе увеличивается в период полового созревания у млекопитающих [3]. В этом отношении скорее всего кисспептин играет роль в активизации полового созревания. Динамика кисспептина и стероидных гормонов представлена в таблице 1, рис. 1, 2 и 3. С 1-го по 4-ый месяц включительно в отношении уровня кисспептина у бычков и телочек сохранялась схожая динамика (табл. 1, рис. 1). Начиная с 5-го месяца и далее, вплоть до 10-го месяца у телок уровень кисспептина был

выше. На 6-ой, 9-ый и 10-ый месяца зафиксирована достоверная разница ($P>0,05$).

Согласно ранее проведенным исследованиям становление и созревание репродуктивной функции происходит под существенным влиянием половых стероидов на центральную нервную систему, и опосредованно – на поведенческую реакцию животных. Половые стероиды проникают через гематоэнцефалический барьер, а также воздействуют на структуры мозга, лежащие вне гипоталамической области (гипокамп, неокортекс, область переднего мозга и др.). Вследствие этого в них модулируются поведенческие реакции, происходят секреция половых стероидов и повышение их концентрации в тканях этих участков мозга, а также активизация рецепторов половых гормонов [4]. Является ли кисспептин одним из триггеров, запускающих гормональный каскад стероидов – этот вопрос остается открытым. Но одним из подтверждений этому являются исследования, проведенные на мышинных моделях с инактивирующими мутациями *kiss1* – введение кис-

Таблица 1– Концентрация кисспептина, тестостерона и прогестерона в сыворотке крови бычков и телочек в разном возрасте

Возраст, мес	Кисспептин, пг/мл		Прогестерон, нмоль/л		Тестостерон, нмоль/л	
	бычки	телочки	бычки	телочки	бычки	телочки
1	90,96±7,72	90,20±2,01	1,48±0,61	1,24±0,78	3,32±0,90	2,16±0,23
2	102,72±0,71	92,13±15,86	1,40±1,2	1,44±0,83	4,54±1,76 ^a	1,70±0,38 ^a
3	125,36±5,67	136,52±30,34	1,55±0,98	1,38±0,69	6,74±1,96 ^a	1,31±0,04 ^a
4	137,60±45,25	112,24±15,45	2,13±1,14	1,36±0,98	21,03±8,23 ^a	2,20±0,37 ^a
5	109,77±6,87	142,43±11,79	0,39±0,32	4,44±2,53	23,68±5,29 ^a	1,23±0,08 ^a
6	103,45±3,98 ^a	146,52±10,47 ^a	0,35±0,33	3,04±2,41	20,59±7,29 ^a	1,81±0,36 ^a
7	105,23±6,41	149,89±30,68	1,70±0,43	6,35±0,92	20,76±14,56	1,80±0,39
8	132,41±34,18	181,22±15,77	0,89±0,45 ^a	3,90±1,85 ^a	34,88±9,90 ^a	2,31±0,50 ^a
9	127,71±12,54 ^a	172,91±3,72 ^a	1,76±0,95	3,57±1,80	24,88±10,90 ^a	1,48±0,02 ^a
10	107,22±20,84 ^a	206,28±4,50 ^a	2,28±1,53	9,29±3,41	52,50±7,82 ^a	1,96±0,55 ^a

^a $P>0,05$

спептина-10 способно вызывать преждевременную активацию репродуктивной функции у неполовозрелых самок крыс [5], в то время как блокада кисспептиновой сигнализации ее задерживала [6]. В наших исследованиях у телок и бычков значимые изменения в гормональном фоне в отношении кисспептина и половых стероидов происходило, начиная с 5-го месяца. В отношении концентрации прогестерона тенденция была схожей с уровнем кисспептина – до 4-го месяца различий не наблюдалось, затем начиная с 5-го месяца уровень прогестерона значительно вырос у телок. Достоверное различие отмечено на 8-ой месяц ($P>0,05$).

Концентрация же тестостерона у телок сохранялась на протяжении всех 10 меся-

цев на низком уровне 1,31-2,31 нмоль/л, при том, что у бычков начиная с 3-его месяца уровень тестостерона начал расти. Начиная со 2-го месяца концентрация тестостерона достоверно отличалась между бычками и телками ($P>0,05$).

Корреляционный анализ показал достоверную связь концентраций кисспептина и прогестерона у телок – коэффициент корреляции 0,797 ($P>0,01$). В нашей работе выявлена достоверная корреляционная связь концентрации кисспептина и тестостерона у бычков, равная 0,636 ($P>0,05$), что возможно показывает его значимость для репродукции самцов. Было бы интересно в дальнейшем изучить влияние кисспептина на спермопродукцию быков.

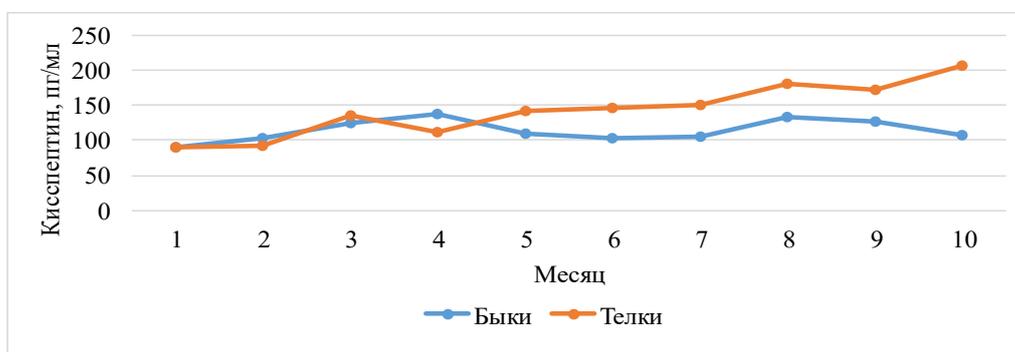


Рисунок 1 – Динамика кисспептина (пг/мл) по месяцам с момента рождения у бычков и телок.

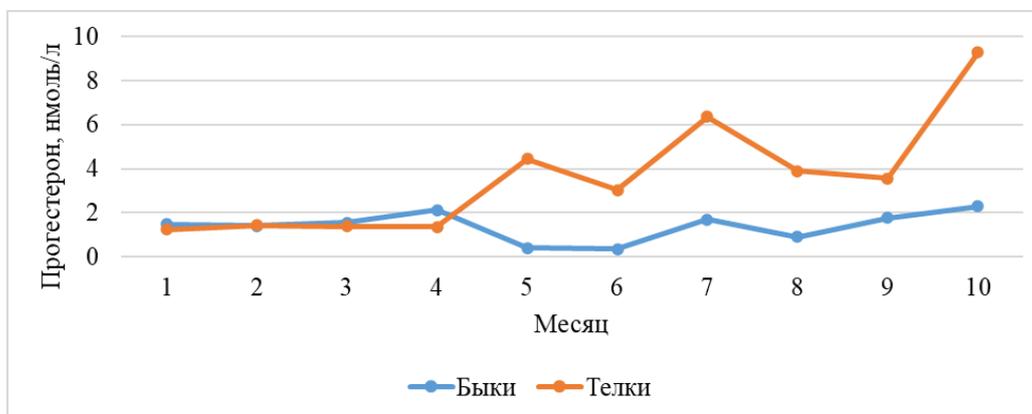


Рисунок 2 – Динамика прогестерона (нмоль/л) по месяцам с момента рождения у бычков и телок.

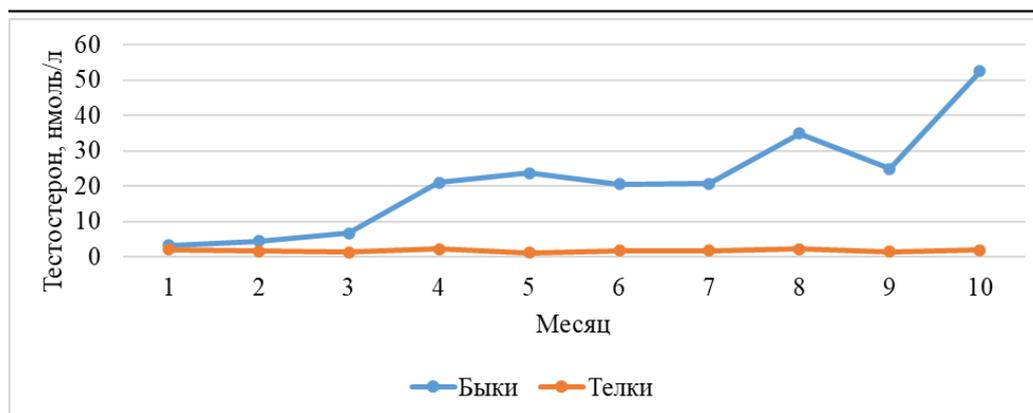


Рисунок 3 – Динамика тестостерона (нмоль/л) по месяцам с момента рождения у бычков и телок.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

На разных этапах полового созревания телят в препубертатный и пубертатный периоды происходит генетически запрограммированное нарушение стабильности внутренней среды. Это выражается в существенном сдвиге гормонального статуса животных [4, 7]. В наших исследованиях подобный сдвиг в отношении концентраций кисспептина и прогестерона отмечен с 5 месяца после рождения телят. Причем уровень этих гормонов, начиная с этого возраста, был выше у телок в сравнении с бычками. Концентрация тестостерона с 3-го месяца стала повышаться у бычков. У телок данный показатель оставался практически на одном уровне, вплоть до 10-го месяца. При этом отмечена высокая положительная корреляция концентрации кисспептина с концентрацией прогестерона у телок и с концентрацией тестостерона у бычков. Необходимы дальнейшие исследования кисспептина в связи с репродуктивной функцией *Bos Taurus*.

CONCENTRATIONS OF KISSPEPTIN, PROGESTERONE AND TESTOSTERONE IN BLOOD SERUM IN HOLSTEIN BREED CARES AND HEIFERS DURING PUBERTY

Shiryayev G.V.^{1*} – PhD (Agr. Sci.); Nikitkina E.V.* – PhD (Biol. Sci.); Nikitin G.S. – PhD (Vet. Sci.), Associate Professor,

Associate Professor of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies; **Plemyashov K.V.** – Dr. Habil (Vet. Sci.), Prof., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies.

¹RRIFAGB

² St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*GS-2027@yandex.ru

Funding: The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation, project No. 21-76-10042

ABSTRACT

There are many publications revealing the physiological role of kisspeptin in the neurohumoral aspect in various species of wild and domestic animals. However, kisspeptin levels during puberty in cattle are still unclear. The purpose of the research was to study the concentrations of kisspeptin, progesterone and testosterone in the blood serum of Holstein bulls and heifers during puberty. Kisspeptin concentrations remained the same in bulls and heifers until the age of 4 months. Further, starting from 5 months, the concentration of kisspeptin increases in heifers, as does the concentration of progesterone. At the age of 9 and 10 months, the concentration of kisspeptin was significantly higher than in bulls. In bulls, testosterone

concentration increased with age. Correlation analysis showed a significant relationship between the concentrations of kisspeptin and progesterone in heifers - a correlation coefficient of 0.797, $P > 0.01$, and the concentrations of kisspeptin and testosterone in bulls - a correlation coefficient of 0.636, $P > 0.05$. Kisspeptin most likely plays a role in puberty. Further research is needed on kisspeptin in relation to reproductive function in *Bos Taurus*.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ширяев Г. В. Репродуктивная функция коров (*Bos Taurus*) под влиянием различных кисспептинов (обзор) / Г. В. Ширяев, А. О. Притужалова, Г. С. Никитин, Е. В. Никиткина, А. А. Мусидрай, А. Ю. Алексеева // Сельскохозяйственная биология. – 2023. – Т. 58. – № 6. – С. 974-989.
2. Bhardwaj S. Serum kisspeptin: New possible biomarker for sexual behaviour and sperm concentration in buffalo bulls / S. Bhardwaj, P. Kumar, A. Jerome, S. Ravesh, C. Patil, P. Singh, P. C. Lailier // *Reprod Domest Anim.* – 2020. – №55 (9) – С. 1190-1201.
3. Daniel J. A. Reproduction and beyond, kisspeptin in ruminants / J. A. Daniel, C. D. Foradori, B. K. Whitlock, J. L. Sartin // *J. Anim Sci Biotechnol.* – 2015. – № 6(1). – С. 23.
4. Прохоров И. П. Динамика гормонального статуса молодняка симментальской породы в условиях различных систем содержания / И. П. Прохоров, М. М. Эртуев, А. Н. Пикуль, В. Н. Лукьянов // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2022. – № 2. – С. 100-108.
5. Kastin A. J. Differential metabolism of Tyr-MIF-1 and MIF-1 in rat and human plasma / A. J. Kastin, K. Hahn, J. Erchegyi, J. E. Zadina, L. Hackler, M. Palmgren, W. A. Banks // *Biochemical Pharmacology.* – 1994. – № 47 (4). – С. 699-710.
6. Khan R. S. Brain Activation by Peptide Pro-Leu-Gly-NH(2) (MIF-1). / R. S. Khan, C. Yu, A. J. Kastin, Y. He, R. H. Ehrensing, H. Hsuchou, K. P. Stone, W. Pan // *International journal of peptides.* – 2010. – Article ID 537639.
7. Племяшов К. В. О лечебно-

профилактическом кормлении в "доминантные" периоды развития функциональных систем организма / К. В. Племяшов, Б. И. Протасов, В. И. Волгин, И. М. Комиссаров // *Генетика и разведение животных.* – 2016. – № 3. – С. 25-34.

REFERENCES

1. Shiryayev G. V. Reproductive function of cows (*Bos Taurus*) under the influence of various kisspeptins (review) / G. V. Shiryayev, A. O. Prutuzhalova, G. S. Nikitin, E. V. Nikitkina, A. A. Musidrai, A. Yu. Alekseeva // *Agricultural Biology.* – 2023. – Vol. 58. – № 6. – P. 974-989.
2. Bhardwaj S. Serum kisspeptin: New possible biomarker for sexual behaviour and sperm concentration in buffalo bulls / S. Bhardwaj, P. Kumar, A. Jerome, S. Ravesh, C. Patil, P. Singh, P. C. Lailier // *Reprod Domest Anim.* – 2020. – №55 (9) – C. 1190-1201.
3. Daniel J. A. Reproduction and beyond, kisspeptin in ruminants / J. A. Daniel, C. D. Foradori, B. K. Whitlock, J. L. Sartin // *J. Anim Sci Biotechnol.* – 2015. – № 6(1). – C. 23.
4. Prokhorov I. P. The dynamics of the hormonal status of young Simmental breed in the conditions of various systems of content / I. P. Prokhorov, M. M. Ertuev, A. N. Pikul, V. N. Lukyanov // *News of the Timiryazevsky Agricultural Academy.* – 2022. – № 2. – P. 100-108.
5. Kastin A. J. Differential metabolism of Tyr-MIF-1 and MIF-1 in rat and human plasma / A. J. Kastin, K. Hahn, J. Erchegyi, J. E. Zadina, L. Hackler, M. Palmgren, W. A. Banks // *Biochemical Pharmacology.* – 1994. – № 47 (4). – C. 699-710.
6. Khan R. S. Brain Activation by Peptide Pro-Leu-Gly-NH(2) (MIF-1). / R. S. Khan, C. Yu, A. J. Kastin, Y. He, R. H. Ehrensing, H. Hsuchou, K. P. Stone, W. Pan // *International journal of peptides.* – 2010. – Article ID 537639.
7. Plemyashov K. V. About therapeutic and preventive feeding in the "dominant" periods of the development of the functional systems of the body / K. V. Plemyashov, B. I. Protasov, V. I. Volgin, I. M. Komissarov // *Genetics and breeding of animals.* – 2016. – № 3. – P. 25-34.