

STRESZCZENIE

Dojrzewanie płciowe to wieloczynnikowy i złożony proces, warunkowany między innymi osiągnięciem odpowiedniej masy ciała oraz krytycznej masy tkanki tłuszczowej a także właściwym funkcjonowaniem endokrynnych mechanizmów regulacyjnych. W przypadku przeżuwaczy terminowe osiągnięcie dojrzałości płciowej przyczynia się do zwiększenia wydajności rozrodczej stada oraz ekonomicznej efektywności hodowli. Jednym z problemów, obserwowanych w pierwszym roku życia zwierząt, jest opóźnienie dojrzewania, które wiąże się z zaburzeniami metabolicznymi i neurohormonalnymi.

KNDy (K – kisspeptyna, N – neurokinina B, Dy – dynorfina) to neuropeptydy produkowane i wydzielane m.in. przez jądro łukowate podwzgórza, uczestniczące w neuroendokrynniej regulacji rozwoju i funkcjonowania układu rozrodczego. Kisspeptyny, w tym kisspeptyna-10 (KiSS-10), odgrywają ważną rolę w inicjowaniu procesu dojrzewania, aktywują neurony GnRH, pobudzając produkcję i wydzielanie gonadoliberyny, a w konsekwencji sekrecję LH oraz FSH z przysadki mózgowej. Nieliczne doniesienia dowodzą, że neurokinina B (NKB) i dynorfina A (Dyn A) również mogą uczestniczyć w regulacji procesów rozrodczych u przeżuwaczy. Dotychczas brakowało jednak danych nt. zależności pomiędzy układem neurohormonów KiSS, NKB i Dyn A a czasem inicjacji dojrzewania płciowego u owiec. Ponadto, dostępne doniesienia na temat wpływu NKB i Dyn A na wydzielanie gonadotropin przez komórki przysadki mózgowej *in vitro* są nieliczne, niejednoznaczne i nie odnoszą się do owiec. Brak też danych o bezpośrednim oddziaływaniu NKB i Dyn A na sekrecję KiSS-10 na poziomie przysadki mózgowej owiec w okresie dojrzewania płciowego.

Doświadczenie zostało przeprowadzone w dwóch etapach. W pierwszym, zrealizowanym w warunkach *in vivo*, zostały wykorzystane dwadzieścia cztery jarki rasy Uhruska. Pierwsza grupa składała się z jagniąt pochodzących z ciąży pojedynczej (S; n = 13), natomiast druga grupa z jarek pochodzących z ciąży bliźniaczej i tym samym predysponowanych do opóźnionego dojrzewania płciowego (T; n = 11). Celem pracy było określenie zmian stężeń KiSS-10, NKB, Dyn A w osoczu krwi jarek w okresie od czwartego do dziesiątego miesiąca życia jak również analiza zależności pomiędzy stężeniem tych neuropeptydów a terminem pierwszej owulacji obu badanych grup owiec. Celem drugiego etapu doświadczenia, przeprowadzonego w warunkach *in vitro*, było

z kolei zbadanie wpływu KiSS-10, NKB i Dyn A na wydzielanie LH oraz FSH oraz analiza oddziaływania NKB i Dyn A na wydzielanie KiSS - 10 przez komórki przysadki gruczołowej jarek.

Badania przeprowadzone w warunkach *in vivo* wykazały, iż wiek, w którym jarki osiągają dojrzałość płciową, zależy od typu ciąży, z której pochodzą (pojedyncza/mnoga), tempa przyrostów masy ciała oraz stężenia analizowanych neuropeptydów w osoczu krwi. U owiec pochodzących z ciąży pojedynczej pierwszą owulację stwierdzono w wieku 8 miesięcy, natomiast z ciąży bliźniaczej 2 miesiące później. Średnia masa ciała owiec pochodzących z ciąży pojedynczej przez cały okres badań była wyższa niż w grupie owiec pochodzących z ciąży bliźniaczej. Zarówno u owiec z grupy S jak i T wykazano dodatnią korelację między zmianami stężeń KiSS-10 i NKB w osoczu krwi wraz z wiekiem (S: $r = 0.86$, T: $r = 0.89$). Równocześnie, w tych samych warunkach, stwierdzono ujemną korelację między KiSS-10 a Dyn A (S: $r = -0.55$, T: $r = -0.98$) oraz między NKB a Dyn A (S: $r = -0.89$, T: $r = -0.94$). U owiec pochodzących z ciąży pojedynczej zapoczątkowanie aktywności jajników związane było z istotnym statystycznie ($P \leq 0,05$) wzrostem stężeń KiSS-10 (S: $95,28 \pm 5,21$ ng/l) oraz NKB (S: $384,19 \pm 38,36$ ng/l) po ukończeniu 8. miesiąca życia, natomiast u owiec pochodzących z ciąży bliźniaczej ze znaczącym wzrostem stężenia KiSS-10 (T: $95,80 \pm 7,4$ ng/l) w 10. miesiącu życia, poprzedzonym wzrostem stężenia NKB (T: $364,70 \pm 47,52$ ng/l) po ukończeniu 9. miesiąca życia. Opóźnienie dojrzewania płciowego u owiec pochodzących z grupy T powiązane było z utrzymującym się do ukończenia 8. miesiąca życia wyższym poziomem Dyn A przy równocześnie niższych stężeniach KiSS-10 i NKB w osoczu krwi w porównaniu do grupy S (publikacja nr 3).

W drugim etapie badań przeprowadzonych w warunkach *in vitro* wykazano bezpośredni wpływ KiSS-10, NKB i Dyn A na wydzielanie gonadotropin przez komórki przysadki gruczołowej owiec. Po 4, 12 i 24 godzinach ekspozycji na KiSS-10 stwierdzono wzrost wydzielania LH (10^{-11} - 10^{-8} M KiSS-10) oraz FSH (10^{-11} - 10^{-7} M KiSS-10) w porównaniu z kontrolą. Najwyższy poziom wydzielania LH odnotowano po 24-godzinnej ekspozycji komórek na 10^{-8} M KiSS-10. Statystycznie istotny ($P \leq 0,05$) wzrost wydzielania FSH zaobserwowano po 12 i 24 godzinach przy stężeniu 10^{-9} M KiSS-10 w porównaniu z kontrolą. NKB i Dyn A we wszystkich zastosowanych stężeniach (10^{-11} - 10^{-7} M) pobudzały wydzielanie zarówno LH, jak i FSH. Najsilniejsze działanie stymulujące ($P \leq 0,05$) na wydzielanie LH zaobserwowano po 12- i 24-godzinnej ekspozycji na 10^{-8} M NKB. Wydzielanie FSH osiągnęło maksimum po 12 i 24 godzinach

ekspozycji komórek na najwyższe stężenie (10^{-7} M) NKB. Wartości te były statystycznie istotnie ($P \leq 0,05$) wyższe w porównaniu z kontrolą. Dyn A w stężeniach 10^{-10} - 10^{-7} M istotnie statystycznie ($P \leq 0,05$) zwiększała wydzielanie LH, natomiast w stężeniach 10^{-11} - 10^{-9} M ($P \leq 0,05$) wydzielanie FSH w porównaniu do kontroli (publikacja nr 1). Wpływ NKB na wydzielanie KiSS-10 przez komórki przysadki gruczołowej zależał od czasu ekspozycji i jej stężenia w podłożu hodowlanym. NKB, w przeciwieństwie do Dyn A, miała znaczący ($P \leq 0,05$) wpływ na wydzielanie KiSS-10 z komórek przysadki gruczołowej owiec po 6, 12, 18, 24 godzinach w stężeniu 10^{-8} M oraz po 24 godzinach w stężeniu 10^{-7} M. Dyn A we wszystkich zastosowanych stężeniach (10^{-11} - 10^{-7} M) przez cały okres trwania doświadczenia nie miała znaczącego wpływu na wydzielanie KiSS-10 (publikacja nr 2).

Uzyskane pionierskie wyniki wskazują na znaczącą rolę badanych neuropeptydów w kontroli inicjacji aktywności rozrodczej u owiec. Stwierdzono bezpośrednie oddziaływanie KiSS-10, NKB i Dyn A na sekrecję gonadotropin na poziomie przysadki gruczołowej. Ponadto pobudzający wpływ NKB na wydzielanie KiSS-10 z komórek przysadki świadczy o możliwości pośredniego oddziaływania tego neuropeptydu na wydzielanie gonadotropin (głównie LH).

Słowa kluczowe: dojrzewanie płciowe, dynorfina A, gonadotropiny, kisspeptyna-10, neurokinina B