

Streszczenie

Kisspeptyna to neurohormon odkryty w 2001 roku. Od tego czasu w światowych laboratoriach prowadzone są na szeroką skalę badania nad składem aminokwasowym tego neurohormonu u różnych gatunków zwierząt czy też badania identyfikujące obszary w mózgu, w których zlokalizowane są neurony kisspeptynowe. Wiele już wiadomo na temat roli kisspeptyny w hormonalnej regulacji rozrodu u zwierząt i ludzi, jednakże badania skupiają się, w dużej mierze, na molekularnych mechanizmach działania tego neurohormonu. Znacznie mniej prowadzonych badań ma aspekt praktyczny, szczególnie jeśli są to badania na tzw. niższych kręgowcach, do których zalicza się ryby. Najczęściej doświadczenia takie przeprowadzane są głównie z wykorzystaniem kisspeptyny specyficznej dla badanego gatunku, dostępnej do badań laboratoryjnych. Badania przeprowadzone w niniejszej pracy mają zasadniczo charakter podstawowy, a uzyskane wyniki poszerzają wiedzę na temat hormonalnej regulacji rozrodu u ryb. Wykorzystanie ludzkiej kisspeptyny w doświadczeniach przeprowadzonych na karasiu srebrzystym pozwoliło na potwierdzenie obserwacji wskazujących na kisspeptynę jako hormon konserwatywny w obrębie kręgowców, który oddziałuje na różnych poziomach osi podwzgórzowo-przysadkowo-gonadowej (oś PPG). Ponadto uzyskane wyniki o modulującym działaniu kisspeptyny na sekrecję LH z przysadki mózgowej w zależności od fazy cyklu płciowego poszerzają naszą wiedzę dotyczącą kontroli rozrodu, który jest u ryb procesem o wybitnie sezonowym charakterze.

Wykazano interakcję pomiędzy aktywnością układu dopaminergicznego a działaniem kisspeptyny na uwalnianie LH u karasia srebrzystego, która wyraża się w tym, że:

- a) zniesienie hamującego działania dopaminy przez pimozyd (antagonistę receptorów dopaminowych) w okresie odbudowy gonad wzmacnia stymulujące działanie egzogennej kisspeptyny na spontaniczną sekrecję LH
- b) działanie kisspeptyny na oś podwzgórze-przysadka-gonady jest maskowane/blokowane poprzez działanie układu dopaminergicznego. W okresie odbudowy gonad, w czasie słabszego, hamującego działania dopaminy na sekrecję LH, kisspeptyna silniej manifestuje swoje stymulujące oddziaływanie na spontaniczną sekrecję LH niż w okresie okołotarłowym, a nawet potęguje stymulowaną przez GnRH_a sekrecję LH. W okresie okołotarłowym (okres silniejszego hamowania sekrecji LH przez dopaminę) nie stwierdza się istotnego wpływu samej kisspeptyny na spontaniczne uwalnianie LH, natomiast zniesienie hamującego działania

dopaminy skutkuje tak silnym wzrostem sekrecji LH, że ewentualny, stymulujący wpływ kisspeptyny jest zamaskowany.

c) bez zablokowania *in vivo* receptorów dopaminowych przez pimozyd nie obserwowano oddziaływania kisspeptyny na uwalnianie LH z komórek przysadki mózgowej w warunkach *in vitro*. Dopiero obniżenie hamującego tonu dopaminy spowodowało, iż egzogenna kisspeptyna, obecna w medium inkubacyjnym, wywołała wzrost poziomu LH uwolnionego z komórek gonadotropowych przysadki mózgowej do medium inkubacyjnego. Zjawisko to obserwowano w obu badanych okresach roku.

Wykazanie zależności w działaniu dopaminy i kisspeptyny na sekrecję LH u karasia, nie podejmowane przez innych autorów wydaje się być istotne (układ dopaminergiczny u wielu gatunków ryb odgrywa kluczową rolę w kontroli rozrodu) i badany u ryb po raz pierwszy. Może mieć w przyszłości znaczenie w kontroli rozrodu w akwakulturze różnych gatunków ryb. Do chwili obecnej tylko u ssaków wykazano istnienie powiązania pomiędzy tymi dwoma układami. Wyniki doświadczeń przeprowadzonych zarówno *in vivo* jak i *in vitro* pokazują, że interakcja pomiędzy układem dopaminergicznym a kisspeptyną samic karasia srebrzystego ma związek z fazami cyklu płciowego i związaną z nimi zmienną siłą dopaminowego hamowania sekrecji gonadotropiny LH, jednakże dokładny mechanizm tej interakcji nie jest znany i wymaga dalszych badań. Ich wyniki mogą być ważne dla kontrolowania sezonowo rozradzających się gatunków ryb, a szczególnie tych, u których stosowane powszechnie w akwakulturze metody stymulowanego rozrodu są nieskuteczne. Postęp w tej dziedzinie wiedzy, uwzględniający zastosowanie kisspeptyny lub/i jej analogów, może w znaczący sposób przelożyć się na odkrycie nowszych, skuteczniejszych preparatów wykorzystywanych w akwakulturze do przeprowadzania kontrolowanego tarła ryb, a przez rozwój akwakultury przyczynić się do ochrony naturalnych zasobów ichtiofauny.

Summary

Since kisspeptin has been discovered in 2001 many papers were published on amino acid sequence of the peptide in different animal species, as well as on kisspeptin neuron localization in the brains of animals. Until now we have plenty of data on the role of this hormone in the regulation of animal reproduction. To a large extent, the study focused on the molecular mechanisms of kisspeptin action in mammals and humans. Still less research is carried out on fish (so called, lower vertebrates). Existing ones are performed with the use of species specific peptides, available for laboratory testing. This type of studies have basic character and their results increased our knowledge on the hormonal regulation of reproduction in fish. The use of human kisspeptin in the experiments conducted on Prussian carp allowed to confirm the observations recognizing kisspeptin as conservative hormone within vertebrates and demonstrated its ability to affect the various levels of the hypothalamo-pituitary-gonadal axis (PPG axis). Furthermore, the results showing modulatory effects of human kisspeptin on LH secretion from Prussian carp pituitary, dependent on the phase of sexual cycle significantly expand our understanding of the hormonal control of reproduction, which has highly seasonal character. It has also been demonstrated that there is an interaction between the activity of the dopaminergic system and kisspeptin in the control of LH secretion in Prussian carp. This aspect seems to be quite important as dopaminergic system in many species of fish (among others in cyprinids) plays a key role in the control of reproduction and, according to our knowledge, this aspect was considered in fish for the first time. This interaction is expressed in the fact that:

a) removal of dopamine inhibitory tone, achieved by the administration of pimozide (dopamine receptor antagonist) potentiates stimulatory action of exogenous kisspeptin on the spontaneous LH secretion at the time of gonad recrudescence

b) the effects of kisspeptin action on PPG axis can be masked/blocked by dopaminergic system. At the time of gonad recrudescence, when dopamine inhibition on LH release is weaker, kisspeptin stronger manifests its stimulatory action on the spontaneous LH secretion and potentiates GnRH α -stimulated LH secretion than at the time of spawning. At the time of stronger dopamine inhibition on LH secretion (spawning period) kisspeptin does not affect the spontaneous LH release, but in case of pimozide administration, removing this inhibition, the spontaneous as well as GnRH α -stimulated LH secretion is so strong that masks potential stimulatory effects of kisspeptin

c) without *in vivo* removal of dopamine inhibition on LH secretion by pimozide, no effects of kisspeptin on LH release from pituitary cells incubations *in vitro* were observed. In both

investigated seasons, pimozide administrated *in vivo*, caused significant increase of LH concentrations in *in vitro* incubations of pituitary cells in the presence of kisspeptin.

The investigation of dopamine and kisspeptin interaction in the process of fish maturation and reproduction, not yet undertaken by other authors, seem to be important for the fisheries practice, especially in these species (like cyprinids) in which dopamine has a great impact on gonadotropin release. Until recently only in mammals the existence of the relationship between dopamine and kisspeptin was demonstrated.

In vivo and *in vitro* experiments on Prussian carp females demonstrated that the interaction between dopamine and kisspeptin is connected to the phases of gonad maturation and variable strength of dopamine inhibition on LH secretion observed in different phases of gonadal maturity. The mechanism of this interaction should be investigated as the results are important, especially for the stimulation of reproduction of these species which do not reproduce in captivity, with the use of commercially available method of spawning induction. The progress in the field of fish propagation, taking into account the use of kisspeptins or their analogues can significantly result in the discovery of more efficient preparations used for the control of fish spawning in captivity, leading to the further development of aquaculture by which contribute to the protection of natural resources of ichthyofauna.