

Znaczenie leptyny w zapoczątkowaniu i utrzymaniu laktacji u owiec

Edyta Molik, Klaudia Hell, Monika Staroń,
Zuzanna Flis

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Biotechnologii Zwierząt

Sezonowość w rozrodzie to przykład ewolucyjnego przystosowania się zwierząt do panujących warunków klimatycznych. Owce są reproduktorami dnia krótkiego, czyli ich aktywność płciowa przypada na okres skracającego się dnia świetlnego. Sezonowość u owiec odnosi się nie tylko do samego rozrodu, lecz także dotyczy laktacji. W wyniku procesu mammogenezы u ssaków zostaje wytworzony gruczoł mlekowy, który jest złożonym gruczolem pęcherzykowo-cewkowym pochodzenia skór nego. Mechanizm endokryny zapoczątkowania i utrzymania laktacji u owiec wymaga udziału wielu hormonów, co wskazuje na podstawową rolę podwzgórza i przysadki mózgowej w tym procesie [20]. Funkcja sekrecyjna gruczołu mlekowego jest niezwykle istotna w procesie odchowu potomstwa, które wymaga stałego dostępu do pełnowartościowego pokarmu. Jest to warunek prawidłowego rozwoju i zapewnienia odporności nowo narodzonych zwierząt. Okres odchowu młodych wymaga właściwego przebiegu procesów fizjologicznych, zwłaszcza w obszarze układu endokrynnego. W procesie laktacji można wyróżnić następujące etapy: mammogenezę – rozwój gruczołu mlekowego, laktogenezę – zapoczątkowanie sekrecji mleka, galaktopoezę – utrzymanie syntezy i wydzielania mleka oraz inwolucję (zasuszenie). Głównym hormonem odpowiedzialnym za zapoczątkowanie i utrzymanie laktacji jest prolaktyna. U zwierząt sezonalnych zapoczątkowanie i utrzymanie laktacji jest procesem złożonym, zależnym od obecności wielu hormonów i czynników wzrostu.

W ostatnim czasie zwraca się uwagę na rolę hormonów metabolicznych, takich jak leptyna, która jest hormonem polipeptydowym, po raz pierwszy opisanym przez Zhanga i wsp. w 1994 roku [27]. Polipeptydowy receptor leptyny jest produktem translacji genu LEPR znajdującego się na chromosomie 1 (1p31). Receptor ten składa się z 20 odcinków kodujących (eksonów) i należy do rodziny receptorów cytokinowych klasy I [2, 24]. Leptyna u ssaków powstaje głównie w dojrzałych komórkach białej tkanki tłuszczowej (WAT), skąd przedostaje się do krwiobiegu, gdzie występuje w formie wolnej lub związanej z albuminami [2]. Synteza leptyny zachodzi w mózgu, żołądku, gruczole mlekowym i łożysku

[14]. Leptyna jako czynnik anoreksygeny uczestniczy w regulacji pobierania pokarmu oraz w regulacji metabolizmu. Za pośrednictwem układu współczulnego wpływa na przemianę lipidów i węglowodanów w różnych tkankach obwodowych [3, 13].

Sekrecja leptyny jest modulowana przez wiele czynników, takich jak otluszczenie ciała, faza laktacji, liczba odchowywanego potomstwa, bilans energetyczny [6, 7, 12]. Przeprowadzone badania wykazały, że stężenie leptyny wzrasta w drugim trymestrze ciąży, natomiast ulega obniżeniu przed wykotem. Wzrost stężenia leptyny w drugim trymestrze ciąży może wynikać ze zwiększenia intensywności żywienia [9, 23]. Wzrost poziomu leptyny we krwi podczas pierwszej połowy ciąży może być związany ze wzrostem komórek nabłonka gruczołu mlekowego, co sugeruje, że leptyna wpływa na mammogenezę u ssaków. Leptyna w procesie mammogenezы jest określana jako cytokina zdolna do hamowania lub stymulowania proliferacji bydlęcych komórek MAC-T lub komórek ludzkiego raka piersi linii T47D. Wzmoczona ekspresja genu leptyny w gruczole mlekowym obserwowana w połowie ciąży u owiec i myszy występuje równocześnie z początkiem wzrostu stężenia estradiolu. Ponadto, silna ekspresja receptora leptyny w gruczole mlekowym w okresie ciąży sugeruje, że leptyna we krwi może wzmacniać działanie leptyny w gruczole mlekowym lub brać udział w sprzężeniu zwrotnym regulującym syntezę leptyny gruczołu mlekowego poprzez receptory leptyny [4]. W okresie laktacji galaktopoeza jest uzależniona od utrzymania struktur pęcherzyków mlecznych, co jest częściowo modulowane przez czynniki wzrostu, takie jak IGF-1, TGF-alfa i beta, FGF-1, -2, -7, które są syntetyzowane głównie przez komórki mioepitelialne. Stwierdzono również obecność leptyny w komórkach nabłonka gruczołu mlekowego owiec [4]. Podczas pierwszego miesiąca ciąży u owiec leptynemia gwałtownie wzrastała (o 40-80%), a wzrost ten był związany z wydajnością leptynową łożyska, ale ze wzrostem mRNA leptyny tkanki tłuszczowej. Przez pierwsze 3 tygodnie laktacji leptynemia i mRNA leptyny tkanki tłuszczowej były bardzo niskie [8]. Pod koniec ciąży tkanka tłuszczowa gruczołu mlekowego uległa całkowitej regresji, a synteza leptyny nadal następowała w tkance gruczołu mlekowego owiec. Ponadto stwierdzono obecność leptyny w wydzielniczych komórkach nabłonkowych gruczołu mlekowego. Synteza przez komórki nabłonkowe jest prawdopodobna, ponieważ wykazano gwałtowne zmiany ekspresji genu receptora leptyny przez komórki nabłonka oraz niski transfer leptyny z krwi do komórek nabłonka, a następnie do mleka [5]. W kolejnych badaniach stwierdzono gromadzenie się białka leptyny na błonie szczytowej komórek nabłonka i jego późniejsze wydzielanie w siarze, jak zaobserwowano u myszy, świni i krów [4, 8].

Leptyna jako substancja biologicznie czynna została zidentyfikowana w siarze i mleku takich zwierząt gospodarskich, jak świni, krowy i kozy. Istotnie wyższe stężenie leptyny stwierdzono w siarze niż w mleku [8, 10]. Zmiany zawartości leptyny w mleku wykazują duże zależności od gatunku zwierzęcia, fazy laktacji oraz frakcji

mleka. U większości badanych gatunków stężenie leptyny było wyższe (od 2 do 66 razy) w mleku pełnym niż w mleku odtłuszczonym. Badania immunohistochemiczne mleka ludzkiego wykazały, że leptyna jest powiązana z kuleczkami tłuszczowymi mleka [21]. Lönnerdal i Havel w swoich badaniach stwierdziły, że dodanie intralipidu do ludzkiego mleka odtłuszczonego powoduje wzrost stężenia leptyny [16]. Najbardziej dynamiczne zmiany stężenia leptyny w trakcie laktacji obserwowano u myszy. W 2. dniu laktacji stężenie było najwyższe, następnie ulegało obniżeniu o około 50% w 8., 12. i 16. dniu, a ponownie wzrastało w 19. dniu, do poziomu podobnego jak w 2. dniu laktacji [1]. W badaniach Estienne i wsp. [10] przeprowadzonych na mleku loch po opróżnieniu wykazano, że sekrecja leptyny była stabilna. Leptyna w siarze może odgrywać ważną rolę w rozwoju młodego organizmu, zwłaszcza jeżeli chodzi o rozwój układu pokarmowego. Leptyna, poprzez receptor w błonie śluzowej żołądka i jelita, bierze udział w cytoprotekcji błony śluzowej żołądka, w procesach zapalnych jelit i w wydzielaniu hormonów żołądkowych, takich jak gastryna i somatostatyna, w proliferacji komórek jelitowych oraz w transporcie substancji odżywczych [4]. Po pobraniu siary leptyna, jako substancja biologicznie czynna, wpływa na fizjologię noworodków. Wysoko wydajne wchłanianie odnotowano u 9-dniowych szczurów i 20-godzinnych świri [5, 26]. Przeprowadzone badania wykazały, że leptyna wpływa na odporność młodego organizmu, gdyż stymuluje wytwarzanie cytokin, monocytów, makrofagów i przyczynia się do apoptozy limfocytów T oraz wpływa na równowagę limfocytów Th [11, 15]. Badania przeprowadzone warunkach *in vitro* wykazały, że leptyna pobudza wytwarzanie cytokin przez komórki jednojądrzaste krwi wyizolowane od krów [19]. Ponadto leptyna mleka może wpływać na przyjmowanie pokarmu, wzrost i rozwój młodego organizmu [17, 18, 22, 25].

Przeprowadzone dotychczas badania wykazały, że proces laktacji u ssaków wymaga obecności wielu hormonów i czynników wzrostu. Szczególnie ważne jest rozpoznanie procesu zapoczątkowania i utrzymania laktacji u owiec sezonalnych, u których długość dnia jest istotnym czynnikiem wpływającym na parametry laktacji. Leptyna, jako hormon wykazujący cechy rytmu sezonowego, może mieć istotny wpływ na rozwój gruczołu mlekowego i sekrecję mleka w zależności od długości dnia. Poznanie roli leptyny w procesie laktacji i określenie zmian sekrecji tego hormonu w mleku owiec może przyczynić się do poprawy parametrów odchowu potomstwa w zróżnicowanych warunkach długości dnia.

Literatura: 1. Aoki N., Kawamura M., Matsuda T., 1999 – Lactation-dependent down regulation of leptin production in mouse mammary gland. *Acta Biochimica et Biophysica* 1427, 298-306. 2. Baumann H., Morella K.K., White D.W., Dembski M., Bailon P.S., Kim H., Lai C.F., Tartaglia L.A., 1996 – The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93 (16), 8374-8378. 3. Belgardt B.F., Brüning J.C., 2010 – CNS leptin and insulin action in the control of energy homeostasis. *Annals of the New York Academy of Sciences* (ISSN 0077-8923). 4.

Bonnet M., Delavaud C., Laud K., Gourdou I., Leroux C., Djiane J., Chilliard Y., 2002 – Mammary leptin synthesis, milk leptin and their putative physiological roles. *Reproduction Nutrition Development* 42 (5), 399-413. 5. Casabiell X., Pineiro V., Tome M.A., Peino R., Dieguez C., Casanueva F.F., 1997 – Presence of leptin in colostrum and/or breast milk from lactating mothers: a potential role in the regulation of neonatal food intake. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 82, 4270-4273. 6. Casanueva F.F., Dieguez C., 1999 – Neuroendocrine regulation and actions of leptin. *Neuroendocrinology* 20, 317-363. 7. Chilliard Y., 1987 – Bibliographic review: quantitative variations and metabolism of lipids in adipose tissue and liver during the gestation-lactation cycle. 2. In the ewe and the cow. *Reproduction Nutrition Development* 27, 327-398. 8. Chilliard Y., Delavaud C., Bonnet M., 2005 – Leptin expression in ruminants: nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. *Domestic Animal Endocrinology* 29, 3-22. 9. Ehrhardt R.A., Slepatis R.M., Bell A.W., Boisclair Y.R., 2001 – Maternal leptin is elevated during pregnancy in sheep. *Domestic Animal Endocrinology* 21, 85-96. 10. Estienne M.J., Harper A.F., Barb C.R., Azain M.J., 2000 – Concentrations of leptin in serum and milk collected from lactating sows differing in body condition. *Domestic Animal Endocrinology* 19, 275-280. 11. Fantuzzi G., Faggioni R., 2000 – Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *Journal of Leukocyte Biology* 68, 437-446. 12. Friedman J.M., Halaas J.L., 1998 – Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395, 763-770. 13. Keung W., Cadete V.J., Palaniyappan A., Jablonski A., Fischer M., Lopaschuk G.D., 2011 – Intracerebroventricular leptin administration differentially alters cardiac energy metabolism in mice fed a low-fat and high-fat diet. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 57 (1), 103-113. 14. Kochan Z., Karbowska J., Meissner W., 2006 – Leptin is synthesized in the liver and adipose tissue of the dunlin (*Calidris alpina*). *General of Comparative Endocrinology* 18 (3), 336-339. 15. Lord G.M., Matarese G., Howard J.K., Baker R.J., Bloom S.R., Lechler R.I., 1998 – Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 394, 897-901. 16. Lönnerdal B., Havel P.J., 2000 – Serum leptin concentrations in infants: effects of diet, sex, and adiposity. *American Journal of Clinical Nutrition* 72, 484-489. 17. Mostyn A., Bird J.A., Clarke L., Stephenson T., Symonds M.E., 2000 – Effect of postnatal age and beta(3)-adrenergic agonist (Zeneca D7114) administration on uncoupling protein-1 abundance in the lamb. *Early Human Development* 58, 71. 18. Mostyn A., Keisler D.H., Webb R., Stephenson T., Symonds M.E., 2001 – The role of leptin in the transition from fetus to neonate. *Proceedings of the nutrition Society*. 60, 187-194. 19. Pighetti G.M., 2001 – Impact of leptin on *in vitro* cytokine production during early and mid lactation. *Journal of Animal Science* 79, Suppl. 1, 151. 20. Peaker M., Neville M.C., 1991 – Hormons in milk: chemical signals to the offspring's. *Journal of Endocrinology* 131, 1-3. 21. Smith-Kirwin S.M., O'Connor D.M., De Johnston J., Lancey E.D., Hassink S.G., Funanage V.L., 1998 – Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 83, 1810-1813. 22. Stephenson T., Budge H., Mostyn A., Pearce S., Webb R., Symonds M., 2001 – Fetal and neonatal adipose maturation: a primary site of cytokine and cytokine-receptor action. *Biochemical Society Transaction*. 29, 80-85. 23. Thomas L., Wallace J.M., Aitken R.P., Mercer J.G., Trayhurn P., Hoggard N., 2001 – Circulating leptin during ovine pregnancy in relation to maternal nutrition, body composition and pregnancy outcome. *Journal of Endocrinology* 169,

465-476. 24. Thompson D.B., Ravussin E., Bennett P.H., Bogardus C., 1997 – Structure and sequence variation at the human leptin receptor gene in lean and obese Pima Indians. *Human Molecular Genetics* 6 (5), 675-679. 25. Villarroya F., Brun S., Giralt M., Camara Y., Solanes G., Iglesias R., 2001 – Gene expression of leptin and uncoupling proteins: molecular end-points of fetal development. *Biochemical Society Transac-*

tions 29, 76-80. 26. Whitley N.C., McFadin-Buff E.L., Buff P.R., Keisler D.H., 2001 – Leptin in neonatal pigs: effects of oral versus intramuscular administration. *Journal of Animal Science* 79, Suppl. 1, 429. 27. Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.M., 1994 – Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1, 372 (6505), 425-432.

Dogoterapia w percepcji społecznej – jak postrzegamy rolę psów w niesieniu pomocy

Martyna Kotyśko¹, Kinga Powierża²

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie; ¹Wydział Nauk Społecznych, Katedra Psychologii Rozwoju i Edukacji; ²Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska

Dogoterapia czy też kynoterapia to określenia odnoszące się do interwencji podejmowanych z udziałem zwierzęcia (AAI – *Animal-Assisted Intervention*). Według International Association of Human-Animal Interaction Organizations (IAHAIO), AAI obejmuje cztery typy działań [6]. Są to:

- *Animal Assisted Therapy* (AAT) – terapia z udziałem zwierząt,
- *Animal Assisted Education* (AAE) – edukacja z udziałem zwierząt,
- *Animal Assisted Activity* (AAA) – aktywności z udziałem zwierząt,
- *Animal Assisted Coaching/Counselling* (AAC) – coaching/poradnictwo z udziałem zwierząt.

Wymienione powyżej formy AAI mają przede wszystkim być pomocne dla człowieka i odznaczają się wspólną charakterystyką, która dotyczy działań ustrukturyzowanych i zorientowanych na cel oraz posiadania przez osobę interweniującą niezbędnej wiedzy na temat zwierząt biorących w niej udział. Chodzi w szczególności o znajomość specyfiki zachowania, potrzeb, zdrowia i oznak stresu zwierzęcia. Jednak to, co je od siebie odróżnia, to m.in. kwalifikacje niezbędne do prowadzenia poszczególnych form interwencji [6].

Psy są zwierzętami bardzo często wykorzystywanymi w AAI. Właśnie względem działań z udziałem tych zwierząt Maria Czerwińska w 1996 roku użyła

określenia „dogoterapia”. Niedługo potem, bo w 1998 roku, powstała Fundacja CZE-NE-KA, której celem stała się popularyzacja i praktyka dogoterapii w Polsce [3]. Jak podają Drwięga i Pietruczuk [5] „(...) w zajęciach dogoterapii mogą brać udział nie tylko ludzie posiadający deficyty rozwojowe w sferze fizycznej, umysłowej bądź emocjonalnej, ale również osoby zdrowe”. Jak wskazuje Boruta [2], w przypadku wykorzystania dogoterapii do wspomaganie rehabilitacji „pies daje możliwość wykonania ćwiczeń w naturalny sposób i jednocześnie okazania uczuć”, natomiast w odniesieniu do emocji uczestników dogoterapii pozwala ona na „przełamanie bariery niepewności przed kontaktem z psem, akceptowanie obecności psa w bliskim otoczeniu, eliminowanie agresji i autoagresji u dziecka, kształtowanie pozytywnych emocji, rozwój empatii i poprawę samooceny”. Boruta [2] podkreśla również rolę dogoterapii w rozwoju umiejętności społecznych. Nie można także pominąć edukacyjnej roli zajęć, które uczą uczestników bezpiecznego kontaktu z psem i prawidłowych form zabawy ze zwierzęciem.

Do tej pory opublikowano wiele doniesień na temat potencjalnych efektów stosowania AAI. Są one na tyle liczne, że ich rezultaty są analizowane w postaci artykułów obejmujących formę systematycznych przeglądów oraz metaanaliz, dotyczących interwencji podejmowanych względem osób między innymi z depresją [14], traumą [12], zaburzeniami ze spektrum autyzmu [10, 11], demencją [16], czy adolescentów oraz osób dorosłych z problemami w zakresie zdrowia psychicznego [7, 8, 9]. Rezultaty wspomnianych przeglądów i metaanaliz wskazują w większości na pozytywne efekty prowadzonych oddziaływań choć przy zróżnicowanej wielkości efektu [10, 14], jednak ich autorzy podkreślają, że badania uwzględniane w tych opracowaniach nierzadko mają znaczące braki metodologiczne [8, 9, 11, 14], co nakazuje traktować je z ostrożnością. Autorzy przeglądów, m.in. Maujean i wsp. [9], zachęcają do opracowywania badań z użyciem *Randomized Control Trials* (RCT), gdzie dobrze zaplanowana procedura prowadzonych badań pozwoli uzyskać dokładną odpowiedź na pytanie dotyczące efektów stosowania interwencji z udziałem zwierząt (AAI), ale również na to, jak powinna być ona dobierana względem poszczególnych grup odbiorców.

Biorąc pod uwagę powyższe informacje dotyczące wykorzystania AAI do pomocy osobom z różnymi