

Wpływ długości dnia na zmiany sekrecji melatoniny i prolaktyny u owiec

Edyta Molik, Beata Kalisz, Anna Matyja

*Katedra Hodowli Owiec i Kóz, Uniwersytet Rolniczy,
al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków*

Owce należą do reproduktorów dnia krótkiego, u których sygnał do rozpoczęcia rui pojawia się po przesileniu letnim i utrzymuje się do zimy. W czasie skracania się dnia obserwujemy u maciorek występowanie cykli płciowych zakończonych owulacją.

Taki model cyklu rozrodczego zapewnia korzystne warunki do odchowu potomstwa w takim czasie, w którym jest dużo pożywienia, a tym samym pozwala na zmagazynowanie tkanki tłuszczowej na okres zimy (Manikowski i in., 2005).



Stado owiec rasy Skudde (fot. B. Borys) – *A flock of Skudde sheep*

Sezonowość cyklu rozrodczego u owiec związana jest z porą roku i długością dnia, gdyż powtarzające się cykle rujowe wyznaczone są przez endogenne rytmy zakodowane genetycznie (Sotowska-Brochocka, 2001). Informacje dotyczące zmiany długości dnia docierają do organizmu zwierząt szlakiem wieloneuralnym.

Bodźce świetlne odbierane przez siatkówkę oka, która jest określana jako główny neurosensoryczny receptor systemu okołodobowego, są przekazywane wzdłuż nerwów wzrokowych do jądra nadskrzyżowaniowego podwzgórza (SCN). Badania wykazały, że głównymi modulatorami pobudzającymi aktywność oscylatora SCN są komórki siatkówki – czopki i pręciki. Udokumentowano, że u zmodyfikowanych genetycznie myszy czopki i pręciki nie są odpowiedzialne za synchronizację aktywności jądra nadskrzyżowaniowego (Foster i in., 1991). Doświadczenia dowiodły, że w neuronach zwojowych siatkówki jest obecny światłoczuły pigment zwany melanopsyną, która jest odpowiedzialna za regulację rytmów biologicznych, gdyż wchodzi w skład aksonów tworzących szlak siatkówkowo-podwzgórzowy. Szlak ten łączy siatkówkę z SCN. Sygnał świetlny pobudza zwojowe komórki siatkówki, które indukują dalszy impuls przez wydzielenie neurotransmiterów: kwasu glutaminowego i PACAP (peptyd stymulujący przysadkową cyklazę adenylnową) szlaku siatkówkowo-podwzgórzowego do jądra nadskrzyżowaniowego, które uważa się za główny endogenne generator rytmów (Hannibal i in., 2002). W fazie jasnej SCN zwiększa aktywność sekrecyjną neuronów przez zwiększenie potencjałów czynnościowych, natomiast w fazie ciemnej melatonina hamuje aktywność neuronów SCN (Sotowska-Brochocka, 2001). Zarówno w SCN, jak i *pars tuberalis* (PT – części guzowatej przysadki) zlokalizowanych jest siedem genów zegara biologicznego (*Bmal1*, *Clock*, *Per1*, *Per2*, *Cry1*, *Cry2* i *CK1ε*) (Lincoln i in., 2002; Sweeney i in., 1999). W ciągu 24 godzin obserwowano rytmiczne zmiany w ekspresji tych genów, a tym samym różne ilości mRNA w PT i SCN. Maksymalna ekspresja genu *Cry* następuje podczas zmierzchu wraz ze wzrostem melatoniny, natomiast ekspresję genu *Per1* pobudza nastanie świtu (Lincoln, 2006). W wyniku transkrypcji i translacji genów *Per* i *Cry* powstaje kompleks białek PER i CRY.

Kompleks ten ulega translokacji do jądra komórkowego, gdzie pełni funkcję czynnika regulującego transkrypcję. Białko PER/CRY hamuje transkrypcję genów *Bmal1* i *Clock* opartą na negatywnym sprzężeniu zwrotnym (Lincoln, 2006). Ekspresja *Per1* jest zależna od melatoniny, gdyż pinealektomia wpływa na zablokowanie rytmu genu *Per1* w PT, ale nie ma wpływu na ekspresję w SCN. Badania donoszą, że dopiero powtarzalne, dzienne iniekcje melatoniny pinealektomizowanym zwierzętom przywracają cykliczną transkrypcję genu *Per1* w PT (Lincoln i in., 2002). Wyniki badań genów zegara biologicznego w SCN u gryzoni wykazały, że kompleks białkowy BMAL1/CLOCK powoduje transaktywację genów *Per* i *Cry* (Lincoln i in., 2002).

Po zainicjowaniu impulsu szlak noradrenergiczny kieruje informację świetlną do receptorów adrenergicznych szyszynki. Noradrenalina wpływa na powstawanie cyklicznego adenylozomonofosforanu (cAMP) w pinealocytach, którego sekrecja jest uwarunkowana długością dnia. Stężenie cAMP jest niskie w dzień, a wysokie w nocy. Pobudza on aktywność N-acetylotransferazy, przekształcającej serotoninę w N-acetyloserotoninę, a następnie w melatoninę (Jonhson, 2004). Synteza melatoniny w mniejszym stopniu niż w szyszynce zachodzi w siatkówce oka, przewodzie pokarmowym, centralnym układzie nerwowym oraz skórze (Houghton, 1997; Manikowski i in., 2005). Hormon ten dzięki swej lipofilności oraz rozwiniętej sieci naczyń krwionośnych jest szybko rozprowadzany po organizmie. Receptory melatoniny są rozmieszczone przede wszystkim w ośrodkowym układzie nerwowym, głównie w części guzowatej przysadki, jądrze nadskrzyżowaniowym podwzgórza, siatkówce, korze mózgowej oraz hipokampie. W *pars tuberalis* obecna jest duża liczba receptorów melatoninowych MT1, co wskazuje, że melatonina może modulować sekrecje hormonów wydzielanych jedynie w *pars tuberalis* (Jonhston, 2004; Misztal, 1996; Morgan, 2000).

Pinealektomia szyszynki powoduje zahamowanie sekrecji melatoniny, co świadczy o tym, że szyszynka jest głównym źródłem melatoniny i zarazem jest odpowiedzialna za wewnętrzny biochemiczny impuls informujący organizm o zmianach zachodzących w środowi-

sku zewnętrznym (Molik i Ciuryk, 2003). U zwierząt wrażliwych na zmiany długości dnia profil melatoniny jest biochemicznym sygnałem regulującym procesy rozrodu i laktacji.

U owiec, które zaliczane są do zwierząt dnia krótkiego, biochemicznym sygnałem informującym płód o zmianie długości dnia jest synteza melatoniny, która wpływa na płodową koncentrację PRL u maciorek (Houghton, 1997; Nowak i in., 2004). Wzrost sekrecji melatoniny następuje już w ciągu jednej lub dwóch godzin po zachodzie słońca i utrzymuje się aż do zapoczątkowania fazy jasnej (Misztal i Molik, 2005). Według Misztala i in. (1999) modulujące działanie melatoniny na sekrecję prolaktyny może odbywać się poprzez dwa różne mechanizmy. Jeden odnosi się do rytmu dobowego, kiedy to bezpośrednio lub za pośrednictwem czynnika nazywanego umownie tuberaliną, melatonina stymuluje uwalnianie prolaktyny. Jest to jednak działanie krótkotrwałe i dotyczy prawdopodobnie tylko prolaktyny zmagazynowanej w komórkach laktotropowych przysadki. Prawdopodobnie tuberalina aktywuje ekspresję genu prolaktyny w komórkach laktotropowych (Johnson, 2004). W specyficznych komórkach *pars tuberalis* bydła zidentyfikowano dwa rodzaje białka tuberaliny: tuberalina I o masie cząsteczkowej 21 kDa oraz tuberalina II o masie 72 kDa (Guerra i Rodriguez, 2001).

Drugi mechanizm regulacji sekrecji melatoniny związany jest z rytmem jej rocznej sekrecji, kiedy to dzięki swej lipofilności wywiera bezpośredni wpływ na komórki laktotropowe przysadki, a tym samym na sekrecję prolaktyny (Morgan, 2000).

Prolaktyna jest polipeptydowym hormo-
nem, którego synteza zachodzi w komórkach laktotropowych przysadki. Hormon ten przede wszystkim wpływa na rozwój gruczołu mlekowego, utrzymanie laktacji oraz syntezę białek mleka: β -kazeiny, α -laktoalbuminy i laktozy (Dusza i in., 2007). Doświadczenia przeprowadzone na owcach wykazały, że podobnie jak melatonina, profil prolaktyny cechuje się rytmem dobowym i rocznym (Morgan, 2000). Dobowy profil prolaktyny generowany jest przez oscylator zlokalizowany w SCN; jest również kontrolowany przez szyszynkę, gdyż pinealektomia hamuje wzrost sekrecji prolaktyny w godzinach wieczornych. Ponadto, dobowa sekrecja

prolaktyny jest również kontrolowana przez układ dopaminergiczny, gdyż nawet krótkotrwały wzrost prolaktyny pod wpływem melatoniny występuje tylko wówczas, gdy osłabione jest działanie układu dopaminergicznego. Należy zaznaczyć, że rytm dobowy prolaktyny cechuje się dużą zmiennością sezonową – wiosną wyższe stężenie tego hormonu obserwuje się w godzinach rannych i wieczornych, natomiast latem szczyt dobowej sekrecji następuje w nocy. Jesienią rytm ten ma podobnie jak wiosną charakter dwufazowy, przy czym wzrost stężenia następuje w godzinach przedpołudniowych oraz wieczornych. Zimą z kolei dochodzi do całkowitego zaniku wyraźnych wyrzutów prolaktyny (Misztal i in., 1997).

Skracanie się dnia przyczynia się do obniżenia sekrecji prolaktyny u owiec, jednak wysoka koncentracja melatoniny wpływa progonadotropowo i powoduje wzrost aktywności jajników (Misztal i in., 1999). Infuzje melatoniny do trzeciej komory mózgu w późnej fazie folikularnej powodowały wzrost koncentracji prolaktyny, ale nie wpływały na wzrost prolaktyny w fazie lutealnej. U overiekтомizowanych owiec infuzje melatoniny pobudzały wzrost prolaktyny mimo braku estradiolu. Świadczy to o tym, że hormony steroidowe nie uczestniczą w sekrecji prolaktyny (Misztal i in., 1999).

Rytm roczny prolaktyny u zwierząt dnia krótkiego charakteryzuje się tym, że w okresie jesienno-zimowym długi sygnał melatoninowy (> 10 godzin/dzień) wpływa na obniżenie sekrecji prolaktyny, natomiast w okresie wiosenno-letnim krótki sygnał melatoniny (4–8 godzin/dzień) nie hamuje syntezy prolaktyny (Lincoln i in., 2002).

Badania na owcach przetrzymywanych przez 35 dni w warunkach dnia długiego, a następnie krótkiego wykazały, że wydłużanie dnia w warunkach dnia krótkiego nie wpływa na zwiększenie sekrecji prolaktyny. Zainicjowany krótkotrwały wzrost stężenia prolaktyny spowodowany symulowaniem dnia długiego wracał do rytmu endogenego (Sweeney i in., 1999). Tak więc, sekrecja prolaktyny jest zależna od warunków długości dnia i sygnału melatoniny. Należy jednak pamiętać, że u zwierząt o cechach sezonowych ważnym elementem rytmów endogenych jest rola genów zegara biologicznego (Sweeney i in., 1999). Przeprowadzone badania wykazały, że podawanie egzogennej melatoniny

do brzuszno-przysiódkowej części podwzgórza (MBH) moduluje sekrecję prolaktyny, gdyż iniekcja w tym obszarze w okresie dnia długiego doprowadza do znacznego spadku prolaktyny (Misztal i Molik, 2005). U tryków, mimo chirurgicznego rozdzielania połączenia przysadki i podwzgórza (HPD – ang. Hypothalamo-Pituitary Disconnected) nadal utrzymywana była roczna sekrecja prolaktyny, podobnie jak w przypadku tryków grupy kontrolnej. Wzrost poziomu prolaktyny następował w okresie dnia długiego, a obniżeniu ulegał w okresie dnia krótkiego. Brak zahamowania rytmu sezonowego prolaktyny u tryków z HPD wskazuje, że melatonina oddziałuje bezpośrednio na *pars tuberalis* przysadki, gdzie zlokalizowana jest największa liczba receptorów dla melatoniny (Curlewis i in., 1995). Czynnikiem, za pośrednictwem którego melatonina moduluje sekrecję prolaktyny, jest dopomina. Dopomina, oddziałując poprzez receptor dopaminergiczny D2, hamuje sekrecję prolaktyny, natomiast poprzez receptor D1 stymuluje wydzielanie prolaktyny. Doświadczenia przeprowadzone na owcach HPD wykazały, że konieczne jest połączenie pomiędzy podwzgórzem i przysadką, aby receptor D1 wpływał na sekrecję prolaktyny (Curlewis i in., 1995). Melatonina jest w stanie aktywować chwilowe wydzielanie prolaktyny u anestralnych owiec, pomimo farmakologicznego zablokowania receptorów dopaminowych i opioidowych (Misztal i in., 2001). Tak więc, u anestralnych owiec paradoksalnie wysokie stężenie prolaktyny jest równoznaczne ze wzrostem aktywności dopaminergicznego systemu w podwzgórzcu (Misztal i in., 1997).

Rytmiczne zmiany poziomu melatoniny i prolaktyny w ciągu roku obserwowano głównie u owiec jałowych i tryków, dopiero badania przeprowadzone na owcach użytkowanych mlecznie potwierdziły obecność rytmu sezonowego. Badania te wykazały zdecydowany wpływ długości dnia na parametry mleczności maciorek. Matki

rozpoczynające laktację w okresie skracania się dnia wyprodukowały o 50% mleka mniej w porównaniu z maciorkami dojonymi w okresie długiego dnia. Spadek mleczności w okresie skracania się fotoperiodu był wynikiem zmiany w sekrecji prolaktyny. W okresie skracania się dnia stężenie melatoniny wzrastało, natomiast sekrecja prolaktyny ulegała obniżeniu, co mogło przyczynić się do obniżenia syntezy mleka. Również w grupie owiec użytkowanych mlecznie w okresie krótkiego dnia, ale utrzymywanych w warunkach sztucznie wydłużanego dnia (16L:8D) od września do listopada, obserwowano obniżenie mleczności. Ze względu na warunki świetlne, w jakich przebywały maciorki, poziom melatoniny uległ obniżeniu, co wynika z mechanizmu syntezy tego hormonu w szyszynce, jednak obniżeniu ulegał również poziom prolaktyny i zarazem mleczność owiec. Badania przeprowadzone po raz pierwszy na owcach laktujących wykazały, że wprowadzenie reżimów świetlnych u owiec o sezonowym charakterze rozrodu nie umożliwia utrzymania laktacji w okresie skracania się dnia (Molik i Ciury, 2003; Molik i in., 2007).

Przeprowadzone badania wykazują, że proces zapoczątkowania i utrzymania laktacji u owiec jest zależny od wielu czynników. Jednym z głównych hormonów odpowiedzialnych za laktację u owiec jest prolaktyna. Wyniki tych badań wskazują także, że u owiec może istnieć inny od PRL endogenne mediator wpływu długości dnia na produkcję mleczną. Nie wiadomo, czy funkcję taką można przypisać hormonom układu somatotropowego, np. hormonowi wzrostu (GH) oraz insulinopodobnemu czynnikowi wzrostu – IGF₁.

Poznanie fizjologicznych czynników decydujących o profilu laktacji i syntezy mleka u owiec sezonowych stwarza możliwości sterowania terminem mlecznego użytkowania i być może przyczyni się do utrzymania produkcji mleka na opłacalnym poziomie w okresie jesienno-zimowym.

Literatura

Curlewis J.D., Thiery J.-C., Malpoux B. (1995). Effect of hypothalamic infusion of a dopamine D1 receptor antagonist on prolactin secretion. *Brain Res.*, 697: 48–52.

Dusza L., Ciereszko R., Krzymowski T. (2007). *Biologia rozrodu zwierząt. Fizjologiczne regulacje pro-*

cesów rozrodczych samicy. Wyd. UWM, Olsztyn, ss. 95–131.

Foster R., Provencio I., Hudson D., Fiske S., De Grip W., Menaker M. (1991). Circadian photoreception in the retinally degenerate mouse. *J. Phys.*, 169: 39–50.

- Guerra M., Rodriguez E.M. (2001). Identification, cellular and subcellular distribution of 21 and 72 kDa proteins secreted by specific cells of the *pars tuberalis*. *J. Endocrinol.*, 168: 363–379.
- Hannibal J., Hindersson P., Knudsen S.M., Georg B., Fahrenkrug J. (2002). The photopigment melanopsin is exclusively present in pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-containing retinal ganglion cells of the retinohypothalamic tract. *J. Neurosci.*, 22: 1–7.
- Houghton D.C., Young I.R., Mcmillen I.C. (1997). Photoperiodic history and hypothalamic control of prolactin secretion before birth. *Endocrinology*, 138: 1506–1511.
- Johnston J.D. (2004). Photoperiodic regulation of prolactin secretion: changes in intra-pituitary signaling and lactotroph heterogeneity. *J. Endocrinol.*, 180: 351–356.
- Lincoln G., Messenger S., Andersson H., Hazlerigg D. (2002). Temporal expression of seven clock genes in the suprachiasmatic nucleus and the pars tuberalis of the sheep: Evidence for an internal coincidence timer. *PANS*, 99 (21): 13890–13895.
- Lincoln G. (2006). Decoding the nightly melatonin signal through circadian clockwork. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 252: 69–73
- Manikowski W., Weidner S. (2005). *Biochemia kręgowców*. Wyd. Nauk. PWN, ss. 696–699.
- Misztal T. (1996). Melatonina – hormon sezonowości rozrodu u owiec. *Post. Nauk Rol.*, 6: 43–55.
- Misztal T., Romanowicz K., Barcikowski B. (1997). Natural and melatonin-stimulated changes in the circadian rhythm of prolactin secretion in the ewe during seasonal anestrus. *Neuroendocrinology*, 66: 360–367.
- Misztal T., Romanowicz K., Barcikowski B. (1999). Melatonin modulation of the daily prolactin secretion in intact and ovariectomized ewes. *Neuroendocrinology*, 69: 105–112
- Misztal T., Romanowicz K., Barcikowski B. (2001). Short-term modulation of prolactin secretion by melatonin in anestrus ewes following dopamine- and opiate receptor blockade. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 109: 174–180.
- Misztal T., Molik E. (2005). Aktualny stan wiedzy na temat mechanizmów kontrolujących aktywnością płciową i laktacją u owiec. *Biologiczne i kulturowe aspekty gospodarki owczarskiej*. AR Kraków, Instytut Botaniki PAN, Kraków, ss. 51–59.
- Molik E., Ciuryk S. (2003). Rola melatoniny w regulacji poziomu prolaktyny u owiec. *Med. Wet.*, 59 (2): 104–106.
- Molik E., Misztal T., Romanowicz K., Wierzchoś E. (2007). Dependence of the lactation duration and efficiency on the season of lambing in relation to the prolactin and melatonin secretion in ewes. *Liv. Sci.*, 107: 220–226.
- Morgan P.J. (2000). The pars tuberalis: The missing link in the photoperiodic regulation of prolactin secretion. *J. Neuroendocrinol.*, 12: 287–295.
- Nowak J.Z., Zawilska J.B. (red.). (2004). *Receptory i mechanizmy przekazywania sygnału*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa. ss. 414–436.
- Sotowska-Brochocka J. (2001). *Fizjologia zwierząt. Zagadnienia wybrane*. UW, ss. 81–89.
- Sweeney T., Kelly G., O’Callaghan D. (1999). Seasonal variation in long-day stimulation of prolactin secretion in ewes. *Biol. Reprod.*, 60: 128–133.

INFLUENCE OF DAY LENGTH ON CHANGES IN SECRETION OF MELATONIN AND PROLACTIN IN SHEEP

Summary

The effect of light on the behaviour of animals has been common knowledge for a long time. In most of the animals studied to date, the biosynthesis of melatonin was shown to follow the rhythm depending on changes in the light conditions. The highest concentrations of this hormone, often dubbed “the hormone of darkness” are found at night. The role of melatonin was mostly associated with its effects on the reproductive system. The most recent studies have proven, however, that melatonin can also modulate the concentrations of prolactin, which is one of the principal hormones responsible for triggering and maintaining lactation in mammals. Earlier views espoused the fact that it was genetic and environmental factors that acted as regulators of the level of milk production in mammals. In the most recent years, the role of light as a prolactin concentration modulator has attracted particular attention. The changes in the prolactin secretion in the course of lactation undoubtedly affect the quantity of milk produced. In order to maintain continuous milk production throughout the year, lambing in summer months is suggested. The body of available references does not offer any reports on the effect of melatonin, as the studies on the latter compound have been conducted to date only on barren ewes and rams. The hormonal status of these animals, so different from that of lactating females, cannot help in elucidating precisely the relationships that exist in a light-lactation-milk production system.



W Borach Tucholskich (fot. D.D.) – *In the Tuchola Forest*