

Mgr Natalia Chmielewska

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Stresogenny wpływ wczesnego odsadzenia na czynności układu podwzgórzowo-somatotropowego u jagniąt zależnie od płci”

STRESZCZENIE

Prawidłowy przebieg ontogenezy postnatalnej zależy jest od czynników środowiska zewnętrznego oraz czynników środowiska wewnętrznego rozwijającego się ssaka. Wśród czynników wewnętrznych szczególną rolę przypisuje się hormonom produkowanym przez rozwijające się gonady, których działanie związane jest z modulacją funkcji układów hormonalnych. Wpływ czynników środowiska zewnętrznego zależy przede wszystkim od podtrzymania, a następnie zerwania więzi psychoemocjonalnej oraz fizjologicznej pomiędzy matką, a potomstwem. Przerwanie odchowu przy matce jest istotnym wydarzeniem w trakcie postnatalnej ontogenezy. Może być sytuacją stresogenną oraz przyczynić się do zmian w fizjologii rozwijającego się organizmu.

Sformułowano hipotezę badawczą zakładającą, że wczesne przerwanie odchowu przy matce zmienia czynności wydzielnicze układu podwzgórze–przysadka–nadnercza (*ang. hypothalamic–pituitary–adrenal axis; HPA*) i układu somatostatyna–hormon wzrostu (*ang. growth hormone; GH*) oraz wzrost somatyczny u jagniąt. Założono ponadto, że wpływ ten jest długotrwały, a reakcja jest zależna od płci.

Przeprowadzono doświadczenie na 36 jagniętach rasy polska długowiełnista. Jagnięta przydzielono do trzech grup doświadczalnych z uwzględnieniem podziału na płcie: grupa I. jagnięta 5–tygodniowe (40. dzień życia) w stanie normy fizjologicznej, pozostające przy matce (♀ n=6; ♂ n=6); grupa II. jagnięta 16–tygodniowe (112. dzień życia) kontrolne, odsadzone w 9. tygodniu życia (64. dzień życia) (♀ n=6; ♂ n=6), grupa III. jagnięta 16–tygodniowe stresowane, wczesnie odsadzone, tj. w 6. tygodniu (40. dzień życia) (♀ n=6; ♂ n=6). Analizy laboratoryjne wykonano przy pomocy metod immunohistochemicznych oraz radioimmunologicznych na materiale pozyskanym w wyniku dysekcji podwzgórz oraz przysadek mózgowych, a także seryjnej zbiórki krwi od jagniąt. Jagnięta ważono w dniach poprzedzających kolekcje krwi obwodowej.

Wykazano zwiększenie populacji neuronów immunoreaktywnych dla kortykoliberyny (*ang. corticotropin–releasing factor; CRF*) w jądrze przykomorowym podwzgórz (*ang. paraventricular nucleus; PVN*) oraz zmniejszenie populacji zakończeń neuronów immunopozytywnych dla CRF w wyniosłości pośredkowej

(*ang. median eminence*; ME) u 16-tygodniowych samców w odpowiedzi na wczesne przerwanie odchowu przy matce. Obserwowano zmniejszenie populacji komórek zawierających hormon adrenokortykotropowy (*ang. adrenocorticotropic hormone* ACTH) w przysadce mózgowej 16-tygodniowych stresowanych samców. Stymulujący wpływ wczesnego odsadzenia na wydzielanie kortyzolu u 9-tygodniowych samców zmienił się na hamujący wpływ u 12- oraz 16-tygodniowych jagniąt. Z kolei, u stresowanych 16-tygodniowych samic obserwowano zwiększenie ilości CRF w PVN. Ponadto, wykazano stymulujący wpływ wczesnego odsadzenia na wydzielanie kortyzolu u 9- oraz 12-tygodniowych jagniąt. U 16-tygodniowych jagniąt obu płci obserwowano wyższą w porównaniu do jagniąt w 6. tygodniu życia populację perykarionów zawierających CRF w PVN, populację zakończeń neuronów zawierających CRF w ME oraz populację komórek adrenokortykotropowych w przysadce mózgowej. U samic wykazano wyższą, w porównaniu do samców, zawartość CRF w PVN oraz ME w 6. tygodniu życia. Populacja komórek adrenokortykotropowych w przysadce mózgowej 5-tygodniowych samic była wyższa w porównaniu do samców. Wykazano wzrastające wraz z wiekiem uwalnianie kortyzolu u jagniąt obu płci. Stężenie średnie kortyzolu było wyższe u samic w porównaniu do samców we wszystkich badanych okresach rozwojowych.

Wpływ stresu wczesnego odsadzenia na układ somatotropowy 16-tygodniowych samców przejawia się zwiększeniem zawartości somatostatyny w jądrze okołokomorowym podwzgórza (*ang. periventricular nucleus*; PEV) oraz ME. Na poziomie przysadki mózgowej obserwuje się zmniejszenie populacji komórek somatotropowych podczas etapu juwenilnego ontogenezy samców. W osoczu krwi wykazano wzrost stężenia GH w wieku 9 tygodni oraz obniżenie stężenia GH w wieku 16 tygodni u samców będących pod wpływem stresu wczesnego odsadzenia. Wykazano stymulujący wpływ wczesnego odsadzenia na amplitudę GH u 9- oraz hamujący wpływ u 16-tygodniowych samców. Obserwowano hamujący wpływ stresu na częstotliwość pulsów oraz stymulujący wpływ na amplitudę pulsów GH u samców 9-tygodniowych. Działanie stresu na układ somatotropowy samic polega na zwiększeniu populacji perykarionów immunoreaktywnych dla somatostatyny w PEV oraz zmniejszeniu populacji zakończeń neuronów zawierających somatostatynę w ME. W komórkach przysadki mózgowej wcześnie odsadzonych 16-tygodniowych samic obserwowano zwiększenie zawartości GH. W osoczu krwi wykazano wzrost stężenia GH w wieku 9 tygodni oraz obniżenie stężenia GH w wieku 16 tygodni u samic

będących pod wpływem stresu wczesnego odsadzenia. Wczesne odsadzenie zwiększało amplitudę pulsów GH u 12-tygodniowych samic. Masy ciała jagniąt wczesnie odsadzonych nie różniły się od mas ciała jagniąt kontrolnych u obu płci. Dzielne przyrosty masy ciała były wyższe u jagniąt wczesnie odsadzonych w porównaniu do jagniąt kontrolnych, w okresie infanlynym i juwenilnym, a niższe podczas rozpoczęcia okresu juwenilnego.

W okresie juwenilnym ontogenezy różnicowanie płciowe reakcji układu HPA na wczesne odsadzenie zaznacza się na wszystkich badanych poziomach układu, poza PVN. W układzie somatotropowym, wpływ stresu na uwalnianie GH u samców i samic, stymulujący podczas okresu infanlynego, a później hamujący, jest wywierany poprzez różne dla samców i samic zmiany w uwalnianiu somatostatyny do wrotnego krążenia przysadkowego oraz syntezie i akumulacji GH w komórkach przysadki mózgowej po okresie infanlynym. Zmiany w uwalnianiu GH pod wpływem stresu, które mają podobny przebieg u samców i samic, są bardziej zaznaczone u samców z powodu dymorfizmu płciowego dotyczącego wydzielania GH u rosnących owiec. Wynikiem tego dymorfizmu są większe, niż u samic, masy ciała u dojrzewających samców. Stres w okresie infanlynym nie przyczynia się do zmian w masie ciała jagniąt, ale zwiększa dzielne przyrosty masy ciała w okresie infanlynym i juwenilnym u samców i samic. Zmniejszenie dziennych przyrostów masy ciała pod wpływem stresu podczas rozpoczęcia okresu juwenilnego, obserwowane u obu płci, tylko u samców jest wynikiem zmniejszonego uwalniania GH. Okres infanlyny i juwenilny ontogenezy jest czasem rozwoju morfologicznego i czynnościowego układu HPA. Opisano dymorfizm płciowy czynności układu HPA, który silniej zaznacza się we wczesnym okresie infanlynym, niż w okresie juwenilnym ontogenezy. Wynikiem tego dymorfizmu jest silniejsza reakcja na działanie czynników stresogennych u samic, niż u samców

Otrzymaane wyniki w dużej mierze potwierdzają założenia hipotezy badawczej. Wczesne przerwanie odchowu przy matce wpływa na aktywność wydzielniczą układu HPA i układu somatostatyna–GH oraz dzielne przyrosty masy ciała rosnących jagniąt. Wpływ ten jest długotrwały, ale różnicowany płciowo tylko w przypadku układu HPA. Wyniki sugerują, że stresogenny wpływ wczesnego odsadzenia uczestniczy w zaznaczeniu dymorfizmu płciowego dotyczącego uwalniania GH i wzrostu somatycznego u owcy po okresie infanlynym ontogenezy. Podsumowując, czynności układu somatostatyna–GH są długotrwale modulowane przez zależną od płci reakcję stresową u wczesnie odsadzonych jagniąt podczas postnatalnej ontogenezy.