



Lokala faktorer som hämmar mjölkbildningen

Local factors that inhibit milk synthesis

av

Jennifer Sundman

**Institutionen för husdjurens
utfodring och vård**

**Examensarbete 344
15 hp C-nivå**

**Swedish University of Agricultural Science
Department of Animal Nutrition and Management**

Uppsala 2011

Lokala faktorer som hämmar mjölkbildningen

Local factors that inhibit milk synthesis

av

Jennifer Sundman

Handledare: Sigrid Agenäs

Examinator: Kjell Holtenius

Nyckelord: Mjölkcor, mjölksyntesreglering, lokal hämmare i mjölken, serotonin, FIL

Key words: Dairy cows, milk synthesis regulation, local inhibitor in milk, serotonin, FIL

Detta arbete har genomförts inom ramen för kursen EX0553, Kandidatarbete i Husdjursvetenskap – C15. Kursen består i huvudsak av en handledd litteraturgenomgång som leder fram till ett examensarbete inom huvudområdet husdjursvetenskap. I kursen ingår undervisning i att söka och värdera vetenskaplig litteratur samt i muntlig och skriftlig presentation.

**Institutionen för husdjurens
utfodring och vård**

**Examensarbete 344
15 hp C-nivå
Kurskod: EX0553**

**Swedish University of Agricultural Science
Department of Animal Nutrition and Management**

Uppsala 2011

Sveriges Lantbruksuniversitet

Abstract

For today's high yielding dairy cows, the drying off and the dry period are risk periods for mastitis. If teats leak at drying off, there is an increased risk that pathogens colonize the udder and cause mastitis. More knowledge about milk synthesis inhibitors and how they interact with other factors that regulate milk secretion could improve dairy cow management, either by achieving faster inhibition of milk synthesis at dry-off or by preventing the inhibitory effect and get longer lactations. The latter would result in fewer dry periods during the lifetime of a cow. Two molecules, "feedback inhibitor of lactation" (FIL) and serotonin, has been found to inhibit milk secretion. Although FIL has been well researched since the late 1980s, little is known about the structure of this compound. After the discovery of a serotonergic system in the udder in the mid-2000s, in which serotonin was observed to have inhibitory effects on milk synthesis, there have been discussions about the possibility that FIL and serotonin may be the same molecule. When comparing the inhibitory effects of FIL and serotonin on milk synthesis many similarities are found while the main difference is that FIL appears to be a larger molecule than serotonin. Their inhibitory properties may be reduced by more frequent milking and effective emptying of the udder during milking. It is easier to affect serotonin levels in the mammary gland by using drugs because it is a known molecule.

Sammanfattning

För dagens högmjölkkande kor är sinläggningen och sinperioden riskperioder för mastit. Om spenarna läcker vid sinläggningen ökar risken för att patogener koloniserar juvret och ger upphov till mastit. Mer kunskap om mjölksynteshämmare och hur de samverkar med andra faktorer som reglerar mjölkbildningen skulle kunna förbättra skötseln av mjölkkor, antingen genom att uppnå snabbare mjölksynteshämning och undvika mjölkkläckage eller genom att hindra hämmarnas verkan och få en längre laktation. Det senare skulle medföra färre sinläggningar under kons livstid. Två molekyler, "feedback inhibitor of lactation" (FIL) och serotonin, har setts hämma mjölkbildningen. Trots att det har forskats om FIL sedan slutet 1980-talet är relativt lite känt om hur molekylerna ser ut. Sedan upptäckten av ett serotoninssystem i juvret i mitten av 2000-talet, där serotonin sågs ha hämmande effekter på mjölkbildningen, har man diskuterat möjligheten att FIL och serotonin kan vara samma molekyl. Det finns många likheter mellan FIL:s och serotonins egenskaper i form av mjölksynteshämmare medan den största skillnaden är att FIL verkar vara en större molekyl än serotonin. Effekten av deras hämmande egenskaper kan minskas genom en mer frekvent mjölkning och en effektiv urmjölkning vid mjölkningstillfällena. Det är lättare att påverka serotoninivåer i juvret med hjälp av läkemedel eftersom det är en känd molekyl.

Introduktion

De mjölkkor i Sverige som var med i kokontrollen år 2010, hade en årlig medelavkastning på 9 221 kg eller 9 468 kg energikorrigerad mjölk (Svensk mjölk, 2011). Dessa siffror kan jämföras med en svensk medelavkastning på omkring 2 500 kg fettkorrigerad (4 %) mjölk i början av 1900-talet (Odensten, 2006). Den ökade mjölmängden innebär många påfrestningar för kon, bl.a. är en högre mjölkavkastning genetiskt korrelerat med ökad risk för mastit (Emanuelsson et al., 1988). En riskperiod för utveckling av mastit är sinläggningen och sinperioden (Dingwell, 2004; Odensten, 2006). Många kor har fortfarande en hög daglig mjölmängd, inte sällan på 30 kg, när det är dags för sinläggning (Stefanon et al., 2002; Odensten, 2006). Detta kan bli ett problem eftersom det har visat sig att ju högre mjölkavkastning kon har vid sinläggningens start, desto större risk löper den för att patogener koloniserar juvret under sintiden. Största orsaken till detta samband är att de mer

högavkastande korna ofta börjar läcka mjölk vid sinläggningen och inte bildar keratinplugg i spenkanalerna i tid. Keratinpluggen förhindrar annars till stor del kolonisering av patogener under sintiden. Att kon har fått en infektion upptäcks oftast först efter kalvningen, då mjölkningen startar igen, och då genom att infektionen har utvecklats till klinisk mastit (Dingwell et al., 2004).

Mer kunskap om faktorer som hämmar mjölkbildningen skulle kunna vara till hjälp vid sinläggningen, eftersom sinlägningsrutiner har stor betydelse för juverhälsan i tidig laktation (Odensten, 2006). Faktorer som hämmar mjölksyntesen är dessutom intressanta eftersom större kännedom om deras funktion skulle kunna leda till fler metoder för att göra laktationen mer uthållig. En planerad förlängd laktation, på så sätt att kalvningsintervallet ökar medan sintiden fortfarande är omkring två månader som idag, skulle ha många fördelar (Capuco et al., 2001, Stefanon et al., 2002). Bland annat skulle gårdsekonomin kunna förbättras eftersom varje ko då får fler mjölkproducerande dagar mellan varje kalvning och därmed mindre andel dagar i sintid under sin livstid och istället större andel mjölkproducerande dagar (Galligan & Lormore, 2001). Även med tanke på kornas hälsa skulle en uthålligare laktation vara positivt jämfört med att försöka få en så hög daglig mjölmängd som möjligt. Detta eftersom kon redan är under metabolisk stress vid dagens mjölkavkastningsnivå och färre dräktigheter skulle vara skonsammare för kon (Stefanon et al., 2002). Färre sintider skulle förhoppningsvis också leda till färre mastiter eftersom sintiden (Odensten et al., 2006; Newman et al., 2010) och den tidiga laktationen är riskperioder för mastit (Erb et al., 1984).

Enligt Fleet och Peaker (1978) var den allmänna uppfattningen länge att mjölksyntesen hämmas av en minskad blodtillförsel till juvret på grund av det ökade juvertrycket som uppstår när juvret inte mjölkas eller dias lika ofta som vanligt. Tucker et al. (1961) diskuterade istället kring att en kemisk hämmare i mjölken kunde vara orsaken, liksom Levy (1963) samt Linzell och Peaker (1971), efter försök som tydde på detta. Hanwell & Linzell (1973) kom därefter med en tredje teori då de gjorde försök på råttor som visade att det var den mindre frekventa juverstimuleringen och frånvaro av det hormonsvar som juverstimuleringen ger som hämmade mjölkbildningen.

Enligt Peakers (1980) experiment på getter spelade uttänjningen av juvret roll i mjölkhämmningen, men inte genom att blodtillförseln begränsades. För att reda ut vad som hämmar mjölksyntesen gjorde Henderson och Peaker (1984) ett annat försök på getter. De mjölkade några getter tre gånger om dagen, istället för två gånger som de andra getterna, och märkte att de som mjölkades en extra gång ökade sin mjölmängd även när den urmjölkade mängden mjölk ersattes med isoton sockerlösning vid det tredje mjölkningstillfället. De kom därför fram till att det inte är det ökade trycket i juvret vid sinläggningen som främst hämmar mjölkbildningen, utan att det måste finnas en kemisk substans i mjölken som hjälper till. Att det var hormonerna som frigörs vid stimuleringen av juvret vid mjölkning, som gav den ökade mjölmängden med tre dagliga mjölkningar istället för två, kunde också uteslutas eftersom Henderson et al. (1983) har gjort försök som visar att en extra mjölkning på ena juverhalvan endast höjer mjölkavkastningen på den juverhalvan. Den andra juverhalvans mjölmängd påverkas inte alls.

Den föreslagna kemiska substansen började så småningom kallas "feedback inhibitor of lactation" (FIL), men har ännu inte identifierats mer än att det är ett vassleprotein med en viss massa (Wilde et al., 1995). Under de senaste åren har serotonin föreslagits ha liknande effekter som FIL (Hernandez et al., 2008) och på internationella konferenser har det diskuterats kring möjligheten att serotonin och FIL är samma protein. Syftet med denna

litteraturstudie är att med utgångspunkt från aktuell vetenskaplig litteratur diskutera effekten av FIL och serotonin på regleringen av mjölkbildningen. Även andra faktorer och hormoner som är inblandade i mjölksyntesregleringen tas upp i mindre omfattning för att ge en klarare bild av mjölksyntesregleringen och för att mjölksynteshämmarna samspelar med dessa.

Mjölkbildningen

Mjölkbildningen sker i alveolernas epitelceller. De komponenter som idisslarnas epitelceller måste få från blodet för att kunna syntetisera laktos, mjölkprotein och mjölkfett är glukos, aminosyror, flyktiga fettsyror och långa fettsyror. Dessutom transporteras vissa vitaminer och en del proteiner, t.ex. immunoglobuliner och plasma-albumin, intakta rakt genom epitelcellerna in till alveolernas lumen, där alla mjölkkomponenter samlas och bildar mjölken. Ungefär 95 % av proteinerna som förekommer i mjölk finns endast där. Mjölksproteinerna kan delas upp i vassleproteiner och kaseiner. Kaseinerna utgör runt 80 % av proteinerna i komjölk. Vassleproteinerna kan bl.a. vara immunoglobuliner, laktalbumin, laktoglobulin och olika enzymer. De syntetiserade proteinerna transporteras i vesiklar vidare till golgiapparaten där de packas i nya vesiklar som kan transporteras till det apikala membranet och exocyteras ut till alveollumen (Sjaastad et al., 2003).

Laktos är en disackarid bestående av en glukos- och en galaktosmolekyl. Laktos bildas av enzymer i golgiapparaten membran, och exocyteras på samma sätt som proteinerna ut ur cellen. På väg ut till lumen dras vatten in till vesikeln genom osmos. Mängden laktos som syntetiseras påverkar på så sätt mjölmängden, då t.ex. get- och komjölk består av ungefär 87 % vatten. Mjölksfettet består av membrantäckta droppar fett. Bara 2-3 % av mjölksfettet består av fosfolipider och kolesterol och det kommer främst från membranet runt droppen, som blir kvar runt fettets när det exocyteras ut från cellen. Innehållet, alltså 97-98 %, består av triglycerider. Hälften av fettsyrorna som ingår i triglyceriderna kommer från fettsyror i blodet medan andra hälften hos idisslare bildas *de novo* i epitelcellen från acetat och β -hydroxybutyrat (Sjaastad et al., 2003).

Tight junctions

Tight junctions (*Zonula occludens*), är den mest apikala delen av den komplexa tight junction strukturen som bl.a. finns mellan epitelcellerna i juvret (Schneeberger & Lynch, 1992). Tight junctions i juvret mognar snabbt i samband med kalvningen och bildar en barriär mellan mjölken och plasman (Nguyen & Neville, 1998). Barriären är ogenomsläpplig för de flesta molekyler och joner, men en del aktiv transport av små partiklar kan ske genom tight junctions (Schneeberger & Lynch, 1992; Akers, 2002a). Tight junctions förblir vanligtvis täta under laktationen så länge juvret inte drabbas av mastit eller utsätts för högt alveoltryck, t.ex. under sinläggningen. Om tight junctions blir genomsläppliga resulterar det t.ex. i en koncentrationsutjämning av salter mellan mjölk och plasma och att laktos från mjölken läcker ut i plasman (Nguyen & Neville, 1998). Det har visat sig finnas ett samband mellan tight junctions täthet och mjölksynteshastigheten, bl.a. har Stelwagen et al. (1994) visat att tight junctions börjar läcka ungefär samtidigt som mjölksynteshastigheten minskar och detta sker när juvret inte har mjölkats på cirka 20 timmar.

Reglering av mjölkbildningen

Det finns en rad hormoner, men även andra faktorer, som påverkar och styr mjölkbildningen. Både initieringen av mjölkbildningen i slutet av dräktigheten, d.v.s. laktogenesen, och upprätthållandet av mjölkbildningen, d.v.s. galaktopoiesen, är under kontroll av hormoner,

nervsignaler, tillväxtfaktorer och lokala faktorer. Dessa samverkar och bestämmer bl.a. när laktogenesen ska inträffa, hur mycket mjölk som syntetiseras, hastigheten av syntesen, hur många mjölkproducerande epitelceller som ska finnas i juvret och hur uthållig laktationen blir (Akers, 2002b; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005). Viktiga hormoner för upprätthållandet av mjölkbildningen är prolaktin, tillväxthormon, glukokortikoider och tyroideahormon (Akers, 2002b). Oxytocin är viktigt för mjölknedsläppet (Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005). Hormonerna östrogen och progesteron, som ökar under dräktigheten (Peaker & Linzell, 1974; Sjaastad et al., 2003), är intressanta ur den aspekten att dräktiga djur har en mindre uthållig laktation än icke-dräktiga djur. Försök på både getter (Salama et al., 2005) och kor (Olori et al., 1997; Österman & Bertilsson, 2003) bekräftar detta.

Prolaktin och tillväxthormon

Både prolaktin och tillväxthormon bildas i hypofysens framlob. Den äldre synen, att tillväxthormon är det viktigaste hormonet för galaktopoiesen hos idisslare medan prolaktin har den viktigaste rollen hos övriga arter, har visat sig vara en alltför förenklad bild (Flint & Knight, 1997). Numera har försök visat att både tillväxthormon och prolaktin är viktiga i galaktopoiesen hos både idisslare och övriga arter (Accorsi et al., 2002).

Ett positivt samband mellan tillväxthormon och mjölkavkastning har setts (Sorensen & Knight, 2002) och exogent tillväxthormon kan öka laktationsavkastningen med 6-30 % på grund av att laktationen blir uthålligare (Rose & Obara, 2000). Tillväxthormonbehandling är vanligt i USA, men inte tillåtet i Europa (Knight, 1997).

Prolaktin frisätts vid mjölkning. Det är oklart hur viktig denna frisättning är hos kor, men generellt stimulerar prolaktin epitelcellernas metabolism och upprätthåller mRNA-koncentrationerna av mjölkproteinerna, däribland α -laktalbumin. α -laktalbumin är viktig i laktosyntesen och därmed hela mjölkproduktionen. Hos kor verkar tillväxthormon kunna ersätta prolaktin genom att det stimulerar frisättning insulin-like growth factor-1 (IGF-1) som upprätthåller mjölkbildningen (Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005). Det har även föreslagits att prolaktin behövs för att upprätthålla tight junctions funktion (Nguyen & Neville, 1998).

Oxytocin

Ungefär 80 % av den syntetiserade mjölken finns i alveolerna hos kor före mjölkning. För att den ska förflyttas till juvercisternen och bli tillgänglig för avkomman eller mjölkmaskinen krävs att myoepitelcellerna som omsluter alveolerna kontraheras (Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005). Oxytocin frisätts till blodet vid juverstimuleringen och under mjölkningen och gör att myoepitelcellerna pressar ur mjölken från alveolerna (Gorewit et al., 1992).

Glukokortikoider

Kortisol är idisslarnas viktigaste glukokortikoid i mjölkregleringssammanhang. Kortisol frisätts vid mjölkningen (Gorewit et al., 1992) och är viktigt för att upprätthålla mjölkutsöndringen i epitelcellerna, men dess specifika roll är inte känd (Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005). Det är dock känt att antalet kortisolreceptorer i juvret är fler under laktationen, att juvrets upptag av kortisol är dubbelt så högt hos lakterande djur som hos icke lakterande, att upptaget sker som mest under mjölkning/diande samt att de intracellulära halterna av kortisol är förhöjda under laktationen. Under laktogenesen har kortisol en huvudroll i epitelcellsdifferentieringen och stimulerar transkriptionen av kasein- och α -laktalbuminerna (Akers, 2002b). Hos både getter och kor ökar upptaget av glukokortikoider i juvret vid laktogenesen, vilket är positivt korrelerat med glukosupptaget

där (Paterson & Linzell, 1974; Gorewit & Tucker, 1977).

Tyroideahormon

Behandling med tyroideahormonet tyroxin har i försök gett 10-40% högre mjölkproduktion men en kontinuerlig giva behövs för att inte mista effekten och efter behandlingen kan mjölkavkastningen gå ned under den vanliga. Tyroxinbehandling har därför inte använts bland mjölkproducenter, till skillnad från tillväxthormon. Tyroxinets galaktopoietiska effekt grundar sig främst på en ökad metabolism, varför behandlingen inte är effektiv i tidiga laktationen där kon ofta är i negativ energibalans. Utöver sin generella effekt på metabolismen har tyroideahormon även setts förstärka effekten av andra laktogenetiska och galaktopoietiska hormoner, t.ex. prolaktin (Akers, 2002b).

Östrogen och progesteron

Både östrogen och progesteron bildas i äggstockarna och under dräktigheten även i placentan (Hoffmann & Shuler, 2002). Östrogen har stor betydelse i mammogenesen, d.v.s. utvecklingen och tillväxten av juvret tills det är färdigt att producera mjölk, tillsammans med prolaktin, tillväxthormon och olika tillväxtfaktorer. En ökande halt av östrogen ses under dräktigheten och spelar stor roll för att mjölkbildningen ska komma igång, samtidigt som en sänkning av progesteronhalten är nödvändig för laktogenesen (Tucker, 2000). Under galaktopoiesen verkar dock inte östrogen ha någon upprätthållande effekt eftersom ovariectomi, d.v.s. borttagning av äggstockarna, under denna fas inte påverkar mjölkavkastningen (Tucker et al., 1969). Om det däremot tillförs doser av östrogen under galaktopoiesen, kan mjölkbildningen hämmas eller avta (Forbes & Rook, 1970; Peaker & Linzell, 1974). När Herrenkohl (1972) injicerade lakterande råttor med progesteron sågs inga effekter av hormonet på mjölksyntesen.

Hämning av mjölkbildningen

Den avtagande mjölmängden i slutet av laktationen beror framförallt på att antalet mjölkproducerande epitelceller i juvret minskar (Wilde & Knight, 1989; Capuco et al., 2003). Enligt Knight och Peaker (1984) ökar antalet epitelceller i juvret under de tre första veckorna av laktationen, men efter vecka åtta minskar antalet kontinuerligt. Capuco et al. (2001) menar istället att det under hela laktationen dör fler epitelceller än vad det nybildas, fastän det hela tiden bildas nya epitelceller. I början av laktationen är antalet epitelceller som högst, men mjölkproduktionen per cell som lägst. Mjölkproduktionen per cell ökar sedan fram till toplaktationen och hålls därefter konstant. Vid sinläggningen har nästan alla epitelceller bytts ut och antalet celler i juvret är ungefär hälften av vad de var vid kalvningen (Capuco et al., 2001). Celldöden sker genom apoptos, d.v.s. programmerad eller kontrollerad celldöd. Apoptos är kroppens sätt att bli av med oönskade celler utan att det uppstår någon inflammation som i nekrotiska processer (Stelwagen, 2001).

Det finns flera teorier om vad som orsakar och påverkar apoptosen i juvret. Några exempel är utfodringen, mjölkkningsfrekvensen, urmjölkningseffektiviteten, förekomsten av de galaktopoietiska hormonerna och reproduktionsstadium (Stefanon et al., 2002). Angående utfodringen är det känt att den påverkar juverutvecklingen både under dräktighet och laktation hos idisslare. Försök tyder bl.a. på att foder innehållande fria radikaler kan framkalla apoptos i juvret liksom i andra delar av kroppen (Radi et al., 1991) och antioxidanter i fodret påverkar juverhalten av två proteiner, bcl-2 och bax, som är korrelerade med apoptos (Metcalf et al., 1999; Motyl et al., 2000). Accorsi et al. (2002) visade att prolaktin och IGF-1 samarbetar för

att förhindra apoptos i juvret hos kor. IGF-1 är en överlevnadsfaktor för epitelcellerna och frisätts av levern under inverkan av tillväxthormon. Prolaktin hämmar syntesen av IGF-binding proteins (IGFBP) och ökar därmed IGF-1:s verkan i juvret, p.g.a. att IGFBP hindrar IGF-1 från att vara aktiva. Angående reproduktionsstadium har kor en hög avkastning fram till femte eller sjätte månaden i dräktigheten (Bertilsson et al., 1997). I sina studier fann de dock stora individuella skillnader i hur uthållig laktationen blev. Det är inte känt vilka mekanismer kopplade till dräktigheten som hämmar mjölkavkastningen, men det verkar troligt att det är de dräktighetshormonerna progesteron och östrogen som är involverade (Stefanon et al., 2002). En av orsakerna till att en frekvent mjölkning och effektiv urmjölkning kan minska apoptosen är förekomsten av en lokal hämmare i mjölken (Wilde et al., 1987b).

Lokal hämmare i mjölken

Eftersom mjölkkörteln kontinuerligt utsöndrar mjölk och förvarar den extracellulärt, har substanser i mjölken möjlighet att påverka epitelcellerna. Cellerna i mjölkkörteln både syntetiserar endokrina substanser och är mål för hormoner och andra produkter från det endokrina systemet, däribland de galaktopoietiska hormonerna (Peaker & Wilde, 1996). Det finns även faktorer i mjölken som har potential att tävla med, ändra eller förstärka olika endokrina stimuli. Exempel på sådana faktorer är IGF och IGFBP (McGrath et al., 1991), samt α -laktalbumin (Thompson et al., 1992). Tänkbara sätt för mjölksubstanserna att påverka epitelcellerna är genom koncentration och närvaro av en mekanism för upptag genom, eller bindning till, det apikala cellmembranet, varifrån signalen sedan kan gå vidare. Mjölkningsfrekvensen och graden av juvertömning vid mjölkningstillfällena kan påverka koncentrationen av de bioaktiva substanserna i mjölken och därigenom reglera juverfunktionen (Peaker & Wilde, 1996). Det har även föreslagits att graden av alveoluttänjning kan påverka effekten av biokemiska substanser, till exempel att receptorer i alveolepitelet blir mer tillgängliga när epitelet tänjs ut (Stelwagen, 2001).

Flera studier där olika mjölkningsintervall har jämförts hos getter visar att mjölmängden ökar vid en mer frekvent mjölkning (bl.a. Linzell & Peaker, 1971; Henderson et al., 1983; Henderson & Peaker, 1984; Maltz et al., 1984; Wilde et al., 1987b). Även försök på kor visar att mjölkavkastningen ökar när korna mjölkas fler än två gånger per dag, både hos Holstein (bl.a. Allen et al. 1986; Bar-Peled, 1995, Hale et al., 2003) och Svensk röd boskap (Österman & Bertilsson, 2003). Hale et al. (2003) visade dessutom att fyra dagliga mjölkningar under endast de tre första veckorna i laktationen resulterade i en högre avkastning laktationen ut, jämfört med två dagliga mjölkningar.

I de flesta studier där en ökad mjölkningsfrekvens ökar mjölkproduktionen dras slutsatsen att mjölk innehåller en eller flera substanser som hämmar mjölksyntesen och som har starkast effekt på epitelcellerna när alveolerna är utspända, vilket gör att mer frekvent tömning av juvret tillåter högre mjölksynteshastighet under större del av dygnet. Det står även klart att det handlar om en snabbverkande lokal kemisk substans, eftersom en skillnad i mjölmängd kan erhållas efter enbart några timmar och bara i den juverdelen där mjölkningsintervallet förändras. Substansen påverkar syntesen av alla mjölkens komponenter eftersom mjölkningsfrekvensen inte påverkar mjölksammansättningen, bara mängden (Henderson et al., 1983; Maltz et al., 1984).

Det verkar också som att effekten av en lokal hämmare på epitelcellerna påverkas av en tidsfaktor. Kortsiktigt påverkar hämmaren mjölmängden negativt, men utan att påverka epitelcellernas kapacitet eller antal (Peaker & Wilde, 1996). Efter ett par veckor märks dock

en skillnad i kapacitet hos getter, då tre dagliga mjölkningar istället för två, stimulerar celldifferentieringen och varje cell börjar producera mer mjölk. Detta p.g.a. att uttrycket av enzymer, som acetyl-CoA karboxylas, fettsyra-syntetas och galaktosyltransferas, ökar och gör syntesen effektivare. Om den ökade mjölkningsfrekvensen fortsätter ännu längre tid för den ena juverdelen, kan även en skillnad i antalet juverceller ses mellan den juverdelen som mjölkats tre gånger och den som mjölkats två gånger. Den juverdelen som mjölkats tre gånger innehåller då fler celler än den juverdelen som bara mjölkats två gånger per dag. Varje cell har blivit mindre effektiv med tiden, men eftersom fler bildas under laktationens gång minskar ändå inte mjölkängden lika mycket som i den juverdelen som bara mjölkas två gånger per dag (Wilde et al., 1987b).

Liknande resultat har setts hos ko, där två juverdelar per ko mjölkades två gånger om dagen och två juverdelar mjölkades fyra gånger om dagen. Inga signifikanta ökningarna i enzymuttryck kunde ses, men ändå en trend till ökning. Däremot hade antalet celler i de juverdelarna som mjölkades fyra gånger ökat signifikant jämfört med de juverdelarna som mjölkades två gånger per dag, efter bara fyra veckor (Hillerton et al., 1990). Även i försök av Li et al. (1999) kunde en skillnad i antal juverceller hos getter ses redan efter fyra veckor, då apoptosen i juverdelen som bara mjölkades en gång per dag var större än i den juverdelen som mjölkades tre gånger om dagen.

Feedback inhibitor of lactation (FIL)

Explantat, d.v.s. vävnad från en levande organism som placerats i näringslösning på ett laboratorium, från kaninjuver användes för att gå igenom getmjölkens proteiner för att hitta kandidater till en mjölkhämmare. Det visade sig att ett vassleprotein, med en massa mellan 10 000 och 30 000 Dalton (Da), hade hämmande effekter både i kasein- och laktosyntesen (Wilde et al., 1987a). Detta protein har sedan dess kallats "feedback inhibitor of lactation" (FIL). Även studier *in vivo* på getter av Wilde et al. (1988) visade att vassleprotein med massan 10 000-30 000 Da hämmade mjölkutsöndringen i motsats till vassleprotein med massa över 30 000 Da. I samma studie sågs en förändring i laktos- och jonkoncentration i mjölken efter injiceringen av denna fraktion av vassleprotein. Wilde et al. (1995) kunde i senare försök precisera massan på FIL till ~7 600 Da när de i sin studie undersökte vassleproteiner inom intervallet 6 000-30 000 Da. Enligt ytterligare analyser av Wilde et al. (1995) är FIL ett glykoprotein med en N-terminalsekvens som inte liknar något annat mjölkprotein eller annan känd aminosyrasekvens. De kunde även påvisa att FIL syntetiseras i de sekretoriska epitelcellerna, på vilkas apikala sida FIL senare inverkar. Det innebär att FIL reglerar mjölksyntesen autokrint. Försök gjordes också där olika doser av FIL sprutades in i den ena juverdelen på getter i vecka 25-35 i laktationen och mjölmängden jämfördes sedan mellan de två juverdelarna. Resultatet visade att ju större dos FIL som sprutades in, desto mindre mjölk bildades i den juverdelen. Den största dosen på 750 µg gav en mjölmängd som var 17,4 % lägre jämfört med den andra, obehandlade juverdelen. Effekten av de större doserna varade upp till tre dagar (Wilde et al., 1995).

Eftersom FIL verkar på alveolepitelcellerna är kor med en större juvercistern mindre påverkbara av FIL än kor med liten juvercistern. Det medför också att kor med större juvercistern svarar sämre på en mer frekvent mjölkning och det spelar alltså mindre roll hur ofta de mjölkas med avseende på mjölmängden (Dewhurst & Knight, 1992). Å andra sidan är det möjligt att en mindre juvercistern tänjs ut med tiden om den ofta är full. Till exempel fick getter som mjölkades en gång per dag under de första veckorna i laktationen och sedan två gånger om dagen resten av laktationen högre avkastning än getter som först mjölkades tre gånger om dagen och sedan två gånger om dagen resten av laktationen (Knight et al., 1998).

När lakterande getter blev immuniserade mot FIL under senare skedet av laktationen minskade deras mjölk mängd mindre än hos kontrollgetterna, när getterna började mjölkas en gång om dagen istället för två som de hade mjölkats tidigare. Inga skillnader i fett-, protein-, eller laktoskoncentration sågs i samband med immuniseringen eller efter övergången från två dagliga mjölkningar till en (Wilde et al., 1996).

Serotonin

5-hydroxytryptamin (5-HT) (Serotonin) är ett hormon och neurotransmittor, som syntetiseras från aminosyran L-tryptofan. Serotonins massa är 176,2 Da (PubChemCompound, 2011). Enzymet tryptofanhydroxylas (TPH) omvandlar L-tryptofan till 5-hydroxy-L-tryptofan (5-HTP). Ett annat enzym, aromatiskt aminosyradekarboxylas, gör sedan om 5-hydroxy-L-tryptofan till 5-hydroxytryptamin, d.v.s. serotonin (Hernandez et al., 2008). Serotonin är allmänt involverat i regleringen av sinnesstämning och kognition. Det är en signalmolekyl som bland annat påverkar homeostas, immunfunktioner och tarmarnas rörelser (PubChemCompound, 2011). Det finns många olika serotoninreceptorer (5-HTR), men de kan delas in i sju underfamiljer (5-HTR₁₋₇) beroende på deras fysiologiska roller, strukturer och signalöverföringsmekanismer (Stull et al., 2007).

Upptäckten av ett serotoninssystem i mjölkregleringen

Matsuda et al. (2004) observerade att mjölkkörteln uttryckte det serotonin-biosyntetiska enzymet TPH och efter en rad studier kom de fram till att mjölkkörteln har ett eget serotoninssystem, som är med och kontrollerar att utsöndringen av mjölk sker i ett jämnt flöde under laktationens gång – både med avseende på sammansättning och kvantitet. Detta i samspel med hormoner som prolaktin och oxytocin (Matsuda et al., 2004; Stull et al., 2007). En gen för TPH fördubblade sitt uttryck av mRNA i musjuver efter en dag med tilltäppt spene, vilket sågs störa balansen i den annars jämna mjölkregleringen.

Vidare studier av Matsuda et al. (2004) påvisade att syntes av serotonin sker i juvarepitelceller hos möss och de hittade även serotonin i mjölken och antog därför att serotonin verkar i en autokrin-parakrin loop. Serotonin visade sig hämma mjölkproteinsyntesen, bl.a. av α -laktalbumin och β -kasein, på ett dosberoende sätt eftersom ökande grad av blockering av serotoninreceptorer ledde till ett ökande uttryck av proteiner. Blockeringen ledde även till en ökad mängd fettglobuler och andra mjölkkomponenter i epitelcellerna. På den grunden fastslog forskargruppen att olika gener i epitelcellerna förhindras att ge uttryck när serotoninreceptorer i juvarepitelet aktiveras, men påpekade samtidigt att mer forskning krävs för att reda ut serotoninreceptorernas fulla betydelse i juvervävnaden. Hos möss sågs även serotonin framkalla apoptos i juvret (Matsuda et al., 2004). Zia et al. (1987) analyserade för övrigt serotoninhalten i komjolk vid mastit, Matsuda et al. (2004) var alltså inte först med att upptäcka serotonin i mjölk. Vandeputte-Van Messom et al. (1985) har dessutom visat att serotonin har kärksammandragande verkan på juvervävnaden hos kor och att serotonin påverkar den glatta muskulaturen i spenen.

När Stull et al. (2007) odlade cellkulturer av bröstceller från människa kunde de se att epitelcellerna förutom TPH1 även uttryckte serotonintransportören (SERT) och 5-HTR₇. 5-HTR₇ såg framförallt ut att vara lokaliserade i basalmembranet medan SERT enligt studien särskilt fanns på det apikala cellmembranet. Människobröstets epitelceller verkar alltså, enligt Stull et al. (2007), kapabla att syntetisera, metabolisera, förmedla receptorsignaler från och återuppta serotonin, med hjälp av dessa molekyler och några förekommande enzymer (aromatiskt aminosyradekarboxylas och monoaminoxidas). SERT-mRNA hittades också i

musjuvervävnad, vilket enligt dem tyder på att SERT troligen har en relevant roll i juvarepitelet hos flera arter. Både Stull et al. (2007) och Pai och Horseman (2008) såg att en av serotoninens effekter på mjölkhämningen var att öppna tight junctions.

Efter upptäckten om ett serotoninssystem i juvervävnaden testade Marshall et al. (2010) vilka effekter vanligt förekommande serotoninpåverkande antidepressiva läkemedel har på alveolepitelet. Mer specifikt undersökte de antidepressiva läkemedel innehållande en substans som hämmar SERT, och därmed återupptag av serotonin från mjölken. Läkemedlen som innehåller denna substans kallas ”selective serotonin reuptake inhibitor” (SSRI). Det var redan känt att kvinnor som medicineras med SSRI kring förlossningen löper ökad risk att drabbas av fördröjd laktogenes II, d.v.s. att den rikliga mjölkbildningen kommer igång senare än tre dygn efter förlossningen (Hurst, 2007). De antidepressiva medlen kan dessutom innehålla hämmare till monoaminoxidas som bryter ner serotonin. Både SSRI och monoaminoxidas-hämmare ger alltså ökade serotoninnivåer (Marshall et al., 2010). I ett av försöken av Marshall et al. (2010) odlades kulturer av alveolepitelceller från både människor och kor. När dessa behandlades med SSRI observerades att tight junctions gick sönder. Vidare försök av samma grupp, denna gång *in vivo* på lakterande möss som fick en liten dos som utsöndrade SSRI inopererad i ena mjölkkörteln, visade att den behandlade mjölkkörteln undergick involution, t.ex. fick alveolerna allt mindre diameter för varje dag.

Serotoninsystemet i kojuvret

Hernandez et al. (2008) undersökte serotoninens roll i juvarepitelceller hos kor. De visade att TPH1-genen uttrycks i juvarepitelceller även hos kor och att uttrycket ökade i närvaro av prolaktin i deras cellkulturer, medan det minskade i närvaro av en TPH1-hämmare vid namn paraklorofenylalanin (PCPA). Uttrycket av β -kasein och α -laktalbumin hämmades av serotonin medan den största ökningen av de båda proteinerna erhöles i kulturer innehållande både PCPA och prolaktin, vilket indikerar att både en hämning av serotonin syntesen och stimulering av prolaktin är av betydelse för en ökad proteinsyntes. Mjölkmängden hos kor som hade lakterat i över ett år och 2 månader (430 dagar och mer) ökade med 11 % när metysergid, en icke-selektiv serotoninreceptorblockare, injicerades i juvret medan mjölkmängden minskade med 11 % när serotonin injicerades i juvret hos dem. Försöket var upplagt på sådant sätt att ena juverhalvan behandlades med metysergid eller serotonin medan den andra bara fick saltlösning, för att det sedan skulle gå att jämföra de båda juverhalvorna med varandra. Detta misslyckades emellertid då ingen skillnad mellan juverhalvorna erhöles under behandlingen, utan jämförelsen fick bli mellan behandlingarna och en tid utan behandling. Hernandez et al. (2008) trodde orsaken var en för hög dos av både metysergid och serotonin som resulterade i att substanserna läckte ut i blodet och gav effekt på hela juvret. En dos på 10 mg/juverfjärdedel 2 mg/ml metysergid eller 25 mg/juverfjärdedel 17 mg/ml serotonin sprutades in efter de två mjölkningarna i tre dagar. Mjölksammansättningen ändrades inte signifikant under någon av behandlingarna, även om en tendens till minskad laktoshalt i mjölken sågs av serotoninbehandlingen (Hernandez et al., 2008).

För att utreda vilka serotoninreceptorer som finns i juvervävnaden hos kor, togs juvervävnad från en slaktad mjölkko som var dräktig och lakterande vid slakttilfället samt epitelcellsprov från fyra icke-lakterande men dräktiga kor. mRNA för 5-HTR_{1B}, 5-HTR_{2A}, 5-HTR_{2B}, 5-HTR₄ och 5-HTR₇ hittades i både juvervävnaden från den slaktade kon och i epitelcellerna från de fyra andra korna med hjälp av PCR. Flera serotoninreceptorer möjliggör en komplex och lokal mjölksyntesreglering av serotonin hos kon. Försök visade att 5-HTR_{1B}, 5-HTR_{2A} och 5-HTR₇ var direkt inblandade i mjölkproteinsyntesen. När cellkulturer av epitelceller behandlades med serotonin kunde dock ingen signifikant ökning av kaspas-3 ses, vilket brukar vara fallet om det sker någon apoptos (Hernandez et al., 2009). Enligt Akers (2002b)

sker inte apoptos av juverepitelceller hos kor i lika stor omfattning som hos möss och människor under sintiden. Däremot sker en mer omfattande cellförnyelse under laktationens gång hos kor än hos möss och människor (Capuco et al., 1997).

SSRI-försöken av Marshall et al. (2010) ledde vidare till en studie om hur SSRI påverkar kors mjölkbildning av Hernandez et al. (2011), vilka kunde se fördelar vid sinläggningen av kor om mjölkbildningen kunde fås att upphöra snabbare än vad som är möjligt med dagens metoder. Dels odlades olika cellkulturer upp av alveolepitelceller från kor som behandlades med olika doser av SSRI och dels sinlades 30 kor ur en stor besättning med tre olika behandlingar. I försöken med cellkulturer visades att SERT framförallt fanns på apikala cellmembranet även hos kor och att epitelet blev allt mer permeabelt, inom ett dygn, med ökande dos av SSRI samt att mRNA uttrycket av α -laktalbumin och β -kasein sjönk med ökande dos SSRI. Alla 30 kor som sinlades under försöket var friska och befann sig i senare delen av laktationen, men alla producerade minst 20 kg mjölk per dag och hade mjölkats tre gånger om dagen före försöket. Korna delades slumpvis in i tre grupper, där alla övergick till att mjölkas en gång per dag under tre dagar för att sedan inte mjölkas förrän kalven föddes. Den första gruppen var en kontroll, den andra gruppen fick SSRI i juvret och den tredje gruppen 5-HTP i juvret. Resultatet visade att både SSRI- och 5-HTP-behandlade kor fick signifikant lägre mjölkproduktion dag två än kontrollgruppen men SSRI-behandlade allra lägst och det också dag två som den största skillnaden sågs. SSRI-gruppen hade dag tre 6,5 kg i mjölkavkastning medan 5-HTP-gruppen hade 7,3 kg och kontrollen 7,5 kg. Även koncentrationen av natrium- och kaliumjoner i mjölken samt plasmalaktos uppmättes under dessa tre dagar för att kontrollera hur täta tight junctions var. Både jonkoncentrationen och plasmalaktoskoncentrationen ökade signifikant för SSRI-gruppen, vilket stämmer överens med hypotesen att en av serotonins uppgifter i mjölkregleringen är att öppna tight junctions (Hernandez et al., 2011).

Diskussion

Mjölkbildningen och regleringen av den är ett mycket komplext system som inkluderar både upprätthållande och hämmande substanser. Vid stimuleringen av juvret frisätts oxytocin och under mjölkningen frisätts prolaktin och kortisol (Gorewit et al., 1992). Oxytocin gör att mjölken kramas ur alveolerna och rinner ner till juvercisternen så att den bildade mjölken blir åtkomlig och prolaktin stimulerar fortsatt mjölksyntes, precis som kortisol (Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005). Förutom dessa hormoner spelar även tyroideahormoner och tillväxtfaktorer som IGF-1 stor roll i galaktopoiesen. Tyroideahormon ökar metabolismen (Akers, 2002b) medan IGF-1 är en överlevnadsfaktor för de mjölkbildande epitelcellerna (Accorsi et al., 2002). När juvret inte dias eller mjölkas lika ofta eller mycket som vanligt och alveolerna blir utspända finns mjölksynteshämmare i mjölken som minskar mjölkbildningen (bl.a. Peaker & Wilde, 1996) och här är också tight junctions inblandade (Stelwagen et al., 1994). Det är mjölksynteshämmare denna litteraturstudie har fokuserat mest på.

Under 1980- och 1990-talet forskades det mycket kring en mjölkhämmande substans eftersom försök tydligt visade att det måste finnas en lokal kemisk mjölkhämmare i mjölken, men dess utseende och inverkan på syntesen var okänd. Dessa studier ledde fram till att ett tidigare okänt vassleprotein, som småningom började kallas FIL, sågs hämma mjölksyntesen (Wilde et al., 1995). I mitten av 2000-talet kom dock upptäckten om serotoninsystemet i juvret och att serotonin har en hämmande effekt på mjölksyntesen (Matsuda et al., 2004). Sedan dess har en hel del studier gjorts kring serotonins mjölksynteshämmande egenskaper. Funderingar kring om serotonin kan vara det relativt ospecificerade FIL har efter det uppkommit.

Likheterna mellan de båda molekylerna är många. Både FIL och serotonin syntetiseras av alveolepitelcellerna, utsöndras i mjölken och inverkar därifrån tillbaka på epitelcellerna (Wilde et al., 1995; Matsuda et al., 2004). Det handlar alltså om en autokrin reglering för båda molekylerna. Båda har setts hämma laktos- och kaseinsyntesen samt verka på ett dosberoende sätt. En hämmande effekt ses redan några timmar efter injicering av både FIL och serotonin (Wilde et al., 1995; Matsuda et al., 2004). Mjölksammansättningen ändrades inte signifikant i varken försöket av Hernandez et al. (2008) vid behandling med serotonin och serotoninblockaren eller i försöket av Wilde et al. (1995). Jonkoncentrationen i mjölken samt plasmalaktoskoncentrationen ändras dock vid SSRI-behandlingen som blockerar serotonintransportören i det apikala epitelmembranet (Hernandez et al., 2011). Också koncentrationerna av laktos och joner ändras i mjölken efter FIL-injektioner (Wilde et al. 1988). Det sistnämnda tyder på att också FIL kan vara inblandad i öppnande av tight junctions, inte bara serotonin som redan visats av både Stull et al. (2007) och Pai och Horseman (2008).

Skillnader som kommer fram är att FIL:s massa är uppskattad till 7600 Da medan serotonin bara har en massa på omkring 176 Da. Serotonin har dessutom setts hämma α -laktalbuminsyntesen utöver laktos- och kaseinsyntesen som även FIL setts hämma.

Många av de tidiga försöken som gjordes för att komma underfund med hur den kemiska mjölksynteshämmaren i mjölken inverkade på mjölkbildningen, gör inte skillnad på vilken molekyl som gör vad, utan bara vad som händer generellt. Resultaten av dessa försök, som ofta handlade om att ändra mjölkningfrekvensen, kan bero både på FIL och serotonin. I försöken där serotonin eller SSRI används borde det vara ganska säkert att det är serotonin som ger effekten eftersom det är en känd molekyl. Den litteratur som beskriver FIL är däremot mindre specifik, eftersom ett spektrum av vassleproteiner har använts i de experimentella studierna. Angående försöken med FIL kan det spekuleras i om forskarna lyckats isolera FIL eller om det finns möjlighet att en del av serotoninet har kommit med och påverkat resultaten. Om forskarna har bra metoder för att isolera bara FIL:s molekylstorlek är det inte troligt att serotonin är FIL, medan om möjligheten att mindre partiklar kommer med finns, ökar chanserna för att FIL och serotonin är samma molekyl.

Det som talar för att FIL och serotonin är samma molekyl är att dels alla likheter men också att fastän det skett forskning kring FIL i tiotal år, har ingen säkert kunna bevisa vad det är för molekyl annat än att det är ett glykoprotein men en viss massa och en N-terminalaminosyrasekvens som inte liknar något annat känt protein. Inga FIL-receptorer har heller identifierats. Det som däremot talar emot att FIL och serotonin är samma molekyl är, förutom den uppenbara storleksskillnaden, immuniseringsstudien av Wilde et al. (1996), eftersom antikroppar mot den specifika aminosyrasekvensen på FIL som Wilde et al. (1995) fick fram, faktiskt gav effekt då den behandlade juverdelen inte minskade lika mycket i mjölmängd som den obehandlade när getterna började mjölkas en gång om dagen istället för två.

Om man antar att FIL och serotonin är två olika mjölksynteshämmare blir frågan hur stor del av hämningen de står för vardera. Både immunisering mot FIL, som förhindrar FIL:s inverkan på juvret, och serotoninblockering med hjälp av metysergid, visar ju att båda blockare hade effekt (Wilde et al., 1996; Hernandez et al., 2008). Dessa försök var dock upplagda på lite olika sätt. Medan immuniseringsstudien mot FIL jämförde getter som blev immuniserade mot FIL med kontrollgetter vid en övergång från två dagliga mjölkningar till en, ändrades inte

mjölkningsfrekvensen vid metysergidbehandlingen som dessutom gjordes på kor. Det är därför svårt att avgöra vilken av de båda molekylerna som ger mest effekt utifrån de försöken.

Angående hur kunskapen om mjölksynteshämmare kan användas för en uthålligare laktation, verkar kunskapen om hur hämmarna bidrar till apoptosen i juvret vara den viktigaste frågan. Det är allmänt accepterat att det är ett minskat antal epitelceller som är den främsta orsaken till den minskade mjölkavkastningen i senare delen av laktationen (Capuco et al, 2003). Här verkar dock finnas svårigheter att reda ut hur stor del av apoptosen som orsakas av vad, för det finns många olika förslag till vad som orsakar celldöden (Stefanon et al., 2002). Antagligen är det ett samspel av många olika faktorer. För att förhindra mjölkhämmarnas, FIL:s och serotoninens, del i apoptosen, har den behandlade litteraturen inte gett några andra förslag än att mjölka juvret fler än två gånger per dag och då försöka få en så effektiv urmjolkning som möjligt, vilket inte alls är ny vetenskap. Juverstimuleringen verkar dock spela en nyckelroll, då det vid den sker en frisättning av flera galaktopoietiska hormoner, och av oxytocin som bidrar till att tömma alveolerna där mjölkhämmaren verkar. Angående reproduktionsstadium finns det flera studier som tyder på att östrogen har hämmande effekter på mjölkbildningen under dräktigheten (bl.a. Olori et al., 1997; Österman & Bertilsson, 2003) och en lite uthålligare laktation skulle därför fås automatiskt genom att inseminera kon längre fram i laktationen än vad som görs idag. Hur uthållig laktationen kan bli är däremot individuellt för varje ko (Bertilsson, 1997). Om ett medvetet förlängt kalvningsintervall blir populärt bland mjölkproducenterna i framtiden, skulle säkert avel också kunna förbättra resultatet.

Hur kunskap om mjölksynteshämmare kan användas för att få mjölkbildningen att upphöra snabbare vid sinläggningen, för att undvika läckande juver och ökad risk för utveckling av mastit under sintiden, gavs det förslag på i studien av Hernandez et al. (2011). De visade att det var möjligt att använda ett vanligt antidepressivt läkemedel som ökar serotoninhalten i juvret, s.k. SSRI, för att minska mjölksynteshastigheten. SSRI var effektivare i sin hämning av mjölkbildningen än 5-HTP, förmolekylen till serotonin, fastän båda gav signifikant lägre mjölkavkastning (Hernandez et al., 2011). Eftersom denna studie var från detta år, kan det bara spekuleras i om och i så fall hur mycket detta kommer att användas i framtiden. Eftersom USA redan accepterar en användning av tillväxthormon i sin produktion (Knight, 1997), är steget för användning av SSRI vid sinläggningen möjligtvis närmare där.

Slutsats

Denna litteraturstudie kan inte säkert avgöra om FIL och serotonin är samma molekyl, men det verkar som om båda hämmar mjölksyntesen. De har många likheter i sin hämmande verkan, men skillnader mellan dem har också beskrivits. Den mest uppenbara skillnaden är molekylernas storlek, då FIL är mycket större. I praktiken spelar det dock mindre roll vilken av molekylerna som gör vad, eftersom forskningen hittills visar att de har mycket likartade hämningsmekanismer. Däremot är det lättare att med läkemedel påverka serotoninivåer i juvret eftersom det är en känd molekyl. Det är inte bara de lokala hämmarna som orsakar den avtagande mjölkbildningen i slutet av laktationen, utan flera faktorer bidrar.

Referenser

- Accorsi, P.A., Pacioni, B., Pezzi, C., Forni, M., Flint, D.J., Seren, E. 2002. Role of Prolactin, Growth Hormone and Insulin-like Growth Factor 1 in Mammary Gland Involution in the Dairy Cow. *Journal of Dairy Science* 85, 507-513.
- Akers, R.M. 2002a. Functional development of the mammary gland. In: *Lactation and the mammary gland*, 66-87. Blackwell Publishing, Iowa.
- Akers, R.M. 2002b. Endocrine, Growth Factor, and Neural Regulation of Mammary Function. In: *Lactation and the mammary gland*, 165-198. Blackwell Publishing, Iowa.
- Allen, D.B., DePeters, E.J., Laben, R.C. 1986. Three times a day milking: effects on milk production reproduction, efficiency, and udder health. *Journal of Dairy Science* 69, 1441-1446.
- Bar-Peled, U., Maltz, E., Bruckental, I., Folman, Y., Kali, Y., Gacitua, H., Lehrer, A.R. 1995. Relationship Between Frequent Milking or Suckling in Early Lactation and Milk Production of High Producing Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 78, 2726-2736.
- Bertilsson, J., Berglund, B., Ratnayake, G., Svennersten-Sjaunja, K., Wiktorsson, H. 1997. Optimising lactation cycles for the high-yielding dairy cow. A European perspective. *Livestock Production Science* 50, 5-13.
- Capuco, A.V., Akers, R.M., Smith, J.J. 1997. Mammary growth in Holstein cows during the dry period: quantification of nucleic acids and histology. *Journal of Dairy Science* 80, 477-487.
- Capuco, A.V., Ellis, S.E., Hale, S.A., Long, E., Erdman, R.A., Zhao, X., Paape, M.J. 2003. Lactation persistency: Insights from mammary cell proliferation studies. *Journal of Animal Science* 81(suppl 3), 18-31.
- Capuco, A.V., Wood, D.L., Baldwin, R., McLeod, K., Paape, M.J. 2001. Mammary cell number, proliferation, and apoptosis during a bovine lactation: relation to milk production and effect of bST. *Journal of Dairy Science* 84, 2177-2187.
- Dewhurst, R.D., Knight, C.H. 1992. The response to thrice daily milking and its relationship to cisternal storage capacity in dairy cows. *Animal Production* 54, 459.
- Dingwell, R. T., Leslie, K. E., Schukken, Y., Sargeant, J. M., Timms, L. L., Duffield, T. E., Keefe, G. P., Kelton, D. E., Lissemore, K. D., Conklin, J. 2004. Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. *Preventive Veterinary Medicine* 63, 75-89.
- Emanuelsson, U., Danell, B., Philipsson, J. 1988. Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell counts, and milk production estimated by multiple-trait restricted maximum likelihood. *Journal of Dairy Science* 71, 467-476.
- Erb, H.N., Smith, R.D., Hillman, R.B., Powers, P.A., Smith, M.C., White, M.E., Pearson, E.G. 1984. Rates of diagnosis of six diseases of Holstein cows during 15-day and 21-day intervals. *American Journal of Veterinary Research* 45, 333-335.
- Fleet, I.R., Peaker, M. 1978. Mammary function and its control at the cessation of lactation in the goat. *Journal of Physiology* 279, 491-507.
- Flint, D.J., Knight, C.H. 1997. Interactions of Prolactin and Growth Hormone (GH) in the Regulation of Mammary Gland Function and Cell Survival. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 2, 41-48.
- Forbes, J.M., Rook, J.A.F. 1970. The effect of intravenous infusion of 17β -estradiol on lactation in the goat. *Journal of Physiology*, 207, 79-80.
- Galligan, D., Lormore, L. 2001. Economics of atypical milk production. *Journal of Dairy Science* 84 (Electronic supplement), E212-E215.
- Gorewit, R.C., Svennersten, K., Butler, W.R., Uvnäs-Moberg, K. 1992. Endocrine responses in cows milked by hand and machine. *Journal of Dairy Science* 75, 443-448.

- Gorewit, R.C., Tucker, H.A. 1977. Lactational events related to glucocorticoid binding in bovine mammary tissue. *Journal of Dairy Science* 60, 889-1896.
- Hale, S.A., Capuco, A.V., Erdman, R.A. 2003. Milk Yield and Growth Effects Due to Increased Milking Frequency During Early Lactation. *Journal of Dairy Science* 86, 2061-2071.
- Hanwell, A, Linzell J.L. 1973. The effects of engorgement with milk and of suckling on mammary blood flow in the rat. *Journal of Physiology* 233, 111-125.
- Henderson, A.J., Blatchford D.R., Peaker, M. 1983. The effects of milking thrice instead of twice daily on milk secretion in the goat. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 68, 645-652
- Henderson, A.J., Peaker, M. 1984. Feed-back control of milk secretion in the goat by a chemical in milk. *Journal of Physiology* 351, 39-45.
- Hernandez, L.L., Collier, J.L., Vomachka, A.J., ., Collier, R.J., Horseman, N.D. 2011. Suppression of lactation and acceleration of involution in the bovine mammary gland by a selective serotonin reuptake inhibitor. *Journal of Endocrinology* 209, 45-54.
- Hernandez, L.L., Limesand, S.W., Collier, J.L., Horseman, N.D., Collier, R.J. 2009. The bovine mammary gland expresses multiple functional isoforms of serotonin receptors. *Journal of Endocrinology* 203, 123-131.
- Hernandez, L.L., Stiening, C.M., Wheelock, J.B., Baumgard, L.H., Parkhurst, A.M, Collier, R.J. 2008. Evaluation of Serotonin as a Feedback Inhibitor of Lactation in the Bovine. *Journal of Dairy Science* 91, 1834-1844.
- Herrenkohl, L.R. 1972. Effects on lactation of progesterone injections administered after parturition in the rat. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 140, 1356-1359.
- Hillerton, J.E., Knight, C.H., Turvey, A., Wheatley, S.D., Wilde, C.J. 1990. Milk yield and mammary function in dairy cows milked four times daily. *Journal of Dairy Research* 57, 285-294.
- Hoffmann, B., Schuler, G. 2002. The bovine placenta; a source and target of steroid hormones: observations during the second half of gestation. *Domestic Animal Endocrinology* 23, 309-320.
- Hurst, N.M. 2007. Recognizing and treating delayed or failed lactogenesis II. *Journal of Midwifery Womens Health* 52, 588-594.
- Knight, C.H. 1997. Biological control of lactation length. *Livestock Production Science* 50, 1-3.
- Knight, C.H., Peaker, M. 1984. Mammary development and regression during lactation in goats in relation to milk secretion. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 69, 165-177.
- Knight, C.H., Peaker, M., Wilde, C.J. 1998. Local control of mammary development and function. *Reviews of Reproduction* 3, 104-112.
- Levy, R. 1963. Inhibition of Mammary Gland Acetyl CoA Carboxylase by Fatty Acids. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 13, 267-272.
- Li, P., Rudland, P.S., Fernig, D.G., Finch, L.M.B., Wilde, C.J. 1999. Modulation of mammary development and programmed cell death by the frequency of milk removal in lactating goats. *Journal of Physiology* 519, 885-900.
- Linzell, J.L., Peaker, M. 1971. The effects of oxytocin and milk removal on milk secretion in the goat. *Journal of Physiology* 216, 717-734.
- Maltz, E., Blatchford, D.R., Peaker, M. 1984. Effects of frequent milking on milk secretion and mammary blood flow in the goat. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 69, 127-132.
- Marshall, A.M., Nommsen-Rivers, L.A., Hernandez, L.L., Dewey, K.G., Chantry, C.J., Gregerson, K.A., Horseman, N.D. 2010. Serotonin Transport and Metabolism in the Mammary Gland Modulates Secretory Activation and Involution. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 95, 837-846.
- Matsuda, M., Imaoka, T., Vomachka, A.J., Gudelsky, G.A., Hou, Z., Mistry, M., Bailey, J.P., Nieport, K.M., Walther, D.J., Bader, M., Horseman, N.D. 2004. Serotonin Regulates Mammary Gland Development via an Autocrine-Paracrine Loop. *Developmental Cell* 6, 193-203.

- McGrath, M.F., Collier, R.J., Clemmons, D.R., Busby, W.H., Sweeney, C.A., Krivi, G.G. 1991. The direct in vitro effect of insulin-like growth factors (IGFs) on normal bovine mammary cell proliferation and production of IGF binding proteins. *Endocrinology* 129, 671-678.
- Metcalf, A.D., Gilmore, A., Kilnowska, T., Oliver, J., Valentijn, A.J., Brown, R., Ross, A., MacGregor, G., Hickman, J.A., Streuli, C.H. 1999. Developmental regulation of Bcl-2 family protein expression in the involuting mammary gland. *Journal of Cell Science* 112, 1771-1783.
- Motyl, T., Gajkowska, B., Ploszaj, T., Wareski, P., Skierski, J., Zimowska, W. 2000. Expression and subcellular redistribution of Bax during TGF-beta(1)-induced programmed cell death of HC11 mouse mammary epithelial cells. *Cellular and Molecular Biology* 46, 175-185.
- Odensten, M. 2006. *Drying Off the Dairy Cow*. Doctoral Thesis. Dept. of Animal Nutrition and Management, Swedish University of Agricultural Sciences. SLU Repro, Uppsala, Sweden.
- Olori, V.E., Brotherstone, S., Hill, W.G., McGuirk, B.J. 1997. Effect of gestation stage on milk yield and composition in Holstein Friesian dairy cattle. *Livestock production science* 52, 167-176.
- Newman, K.A., Rajala-Schultz, P.J., DeGraves, F.J., Lakritz, J. 2010. Association of milk yield and infection status at dry-off with intramammary infections at subsequent calving. *Journal of Dairy Science* 77, 99-106.
- Nguyen, D-A.D., Neville, M.C. 1998. Tight Junction Regulation in the Mammary Gland. *Journal of Mammary Gland and Neoplasia* 3, 233-246.
- Pai, V.P., Horseman, N.D. 2008. Biphasic Regulation of Mammary Epithelial Resistance by Serotonin through Activation of Multiple Pathways. *Journal of Biological Chemistry* 283, 30901-30910.
- Paterson, J.Y.F., Linzell, J.L. 1974. Cortisol secretion rate, glucose entry rate and the mammary uptake of cortisol and glucose during pregnancy and lactation in dairy cows. *Journal of Endocrinology* 62, 371-383.
- Peaker, M. 1980. The effect of raised intramammary pressure on mammary function in the goat in relation to the cessation of lactation. *Journal of Physiology* 301, 415-428.
- Peaker, M., Linzell, J. L. 1974. The effect of oestrus and exogenous 17β -estradiol s on milk secretion in the goat. *Journal of endocrinology* 61, 231-240.
- Peaker M., Wilde, C.J. 1996. Feedback Control of Milk Secretion from Milk. *Journal of Mammary Gland and Neoplasia* 1, 307-315.
- PubChemCompound. May 2011.
http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=5202&loc=ec_rcs
- Radi, R., Beckman, J.S., Bush, K.M., Freeman, B.A. 1991. Peroxynitrite induced membrane lipid peroxidation. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 228, 481-487.
- Rose, M.T., Obara, Y. 2000. The manipulation of milk secretion in lactating dairy cows: review. *Asian-Australian Journal of Animal Science* 13, 236-243.
- Salama, A.A.K., Caja, G., Such, X., Casals, R., Albanell, E. 2005. Effect of pregnancy and extended lactation on milk production in dairy goats milked once daily. *Journal of dairy science* 88: 3894-3904.
- Schneeberger, E.E., Lynch, R.D. 1992. Structure, function, and regulation of cellular tight junctions. *American Journal of Physiology* 262, L647-L661.
- Sjaastad, Ø.V., Hove, K., Sand, O. 2003. Lactation. In: *Physiology of Domestic Animals*, 671-694. Scandinavian Veterinary Press, Oslo.
- Sorensen, A., Knight, C.H. 2002. Endocrine profiles of cows undergoing extended lactation in relation to the control of lactation persistency. *Domestic Animal Endocrinology* 23, 111-123.
- Stefanon, B., Colitti, M., Gabai, G., Knight, C.H., Wilde, C.J. 2002. Mammary apoptosis and lactation persistency in dairy animals. *Journal of Dairy Research* 65, 37-52.
- Stelwagen, K. 2001. Effect of Milking Frequency on Mammary Functioning and Shape of the Lactation Curve. *Journal of Dairy Science* 84 (Electronic supplement), E204-E211.

- Stelwagen, K., Davis, S.R., Farr, V.C., Prosser, C.G., Sherlock, R.A. 1994. Epithelial cell tight junction integrity and mammary blood flow during extended milking intervals in goats. *Journal of Dairy Science* 77, 426-432.
- Stull, M.A., Vaibhav, P., Vomachka, A.J., Marshall, A.M., Jacob, G.A., Horseman, N.D. 2007. Mammary gland homeostasis employs serotonergic regulation of epithelial tight junctions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104, 16708-16713.
- Svennersten-Sjaunja, K., Olsson, K. 2005. Endocrinology of milk production. *Domestic Animal Endocrinology* 29, 241-258.
- Svensk mjölk. April 2011. <http://www.svenskmjolk.se/Statistik/Mjolkforetaget/Koantal-och-mjolkavkastning/>
- Thompson, M.P., Farrell, H.M., Mohanam, S., Liu, S., Kidwell, W.R., Bansal, M.P., Cook, R.G., Medina, D., Kotts, C.E., Bano, M. 1992. Identification of α -lactalbumin as a cell growth inhibitor. *Protoplasma* 167, 134-14
- Tucker, H.A. 2000. Symposium: Hormonal regulation of milk synthesis. Hormones, mammary growth, and lactation: a 41-year perspective. *Journal of Dairy Science* 83, 874-884.
- Tucker, H.A., Paape, M.J., Sinha, Y.N. 1969. Ovariectomy and suckling intensity effects on mammary nucleic acid, prolactin and ACTH. *American Journal of Physiology* 213, 262-266.
- Tucker, H.A., Reece, R.P., Mather R.E. 1961. Udder capacity estimates as affected by rate of milk secretion and intramammary pressure. *Journal of Dairy Science* 44, 1725-1732.
- Vandeputte-Van Messom, G., Burvenich, C., Peeters, G. 1985. Effect of serotonin on the motility of smooth muscles in teats of lactating cows. *Journal of Dairy Research* 52, 347-353.
- Wilde, C.J., Addey, C.V.P., Boddy, L.M., Peaker M. 1995. Autocrine regulation of milk secretion by a protein in milk. *Biochemical Journal* 305, 51-58.
- Wilde, C.J., Addey, C.V.P., Casey, M.J., Blatchford, D.R., Peaker, M. 1988. Feed-back inhibition of milk secretion: The effect of a fraction of goat milk on milk yield and composition. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 73, 391-397.
- Wilde, C.J., Addey, C.V.P., Peaker, M. 1996. Effects of immunization against an autocrine inhibitor of milk secretion in lactating goats. *Journal of Physiology* 491, 465-469.
- Wilde, C.J., Calvert, D.T., Daly A., Peaker, M. 1987a. The effect of goat milk fractions on synthesis of milk constituents by rabbit mammary explants and on milk yield *in vivo*: evidence for autocrine control of milk secretion. *Biochemical Journal* 242, 285-288.
- Wilde, C.J., Henderson, A.J., Knight C.H., Blatchford, D.R., Faulkner, A., Vernon, R.G. 1987b. Effects of Long-Term Thrice-Daily Milking on Mammary Enzyme activity, Cell Population and Milk Yield in the Goat. *Journal of Animal Science* 64, 533-539.
- Wilde, C.J., Knight C.H. 1989. Metabolic adaptations in mammary gland during the declining phase of lactation. *Journal of Dairy Science* 72, 1679-1692.
- Zia, S., Giri, S.N., Cullor, J., Emau, P., Osburn, B.I., Bushnell, R.B. 1987. Role of eicosanoids, histamine and serotonin in the pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*-induced bovine mastitis. *American Journal of Veterinary Research* 48, 1617-1625.
- Österman, S., Bertilsson, J. 2003. Extended calving interval in combination with milking two or three times per day: effects on milk production and milk composition. *Livestock Production Science* 82, 139-49.

Nr	Titel och författare	År
336	Mjölkföretag i Skåne och Halland – Management, produktion och ekonomi Dairy farms in Skåne and Halland – Management, production and economy 30 hp E-nivå Rebecca Nilsson	2011
337	Magnesium chloride in dry cow silage to prevent hypocalcaemia 30 hp E-nivå Mikaela Jardstedt	2011
338	Nutrient digestibility of wheat wet and dried distillers' grain in growing pigs 30 hp E-nivå Kishor Kumar Gautam	2011
340	Celltal som mått på mjölkens kvalitet med avseende på mjölkens sammansättning Somatic cell count as a marker of milk quality with focus on milk composition 15 hp C-nivå Sandra Gustavsson	2011
341	Hur beroende är de enskilda juverdelarna hos en mjölkko? Independence between udder quarters in dairy cows 15 hp C-nivå Therese Östlund	2011
342	Deltidsbete – effekt på mjölkornas foderintag och avkastning Restricted grazing for dairy cows – effects on feed intake and milk yield 15 hp C-nivå Emma Henström	2011
343	Betydelsen av utfodring under sintiden, sintidens längd och och kalvningsintervallet med avseende på kons hälsa under kommande laktation The importance of dry cow feeding, the length of the dry period and the calving interval with regard to the cow's health during the following lactation 15 hp C-nivå Matilda Birgersson	2011

I denna serie publiceras examensarbeten (motsvarande 15 eller 30 högskolepoäng) samt större enskilda arbeten (15-30 högskolepoäng) vid Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges Lantbruksuniversitet. En förteckning över senast utgivna arbeten i denna serie återfinns sist i häftet. Dessa samt tidigare arbeten kan i mån av tillgång erhållas från institutionen.

DISTRIBUTION:
Sveriges Lantbruksuniversitet
Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Box 7024
750 07 UPPSALA
Tel. 018-67 28 17
