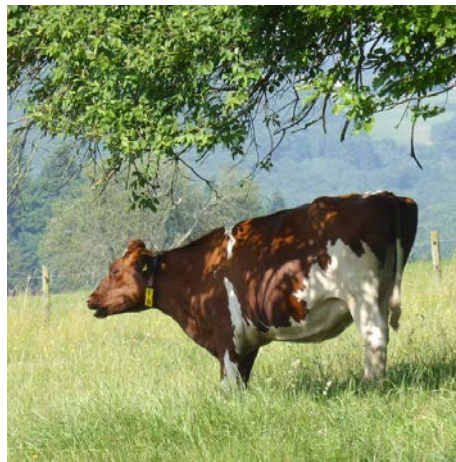




Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Swedish University of Agricultural Sciences
Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science

Effekt av sinläggning, värmestress och olika dagslängd på prolaktin med fokus på mjölkproduktion och immunförsvar hos mjölkkor



Jolin Währn

Examensarbete / SLU, Institutionen för husdjurens utfodring och vård, **535**

Uppsala 2015

Degree project / Swedish University of Agricultural Sciences,
Department of Animal Nutrition and Management, **535**

Examensarbete, 15 hp

Kandidatarbete

Husdjursvetenskap

Degree project, 15 hp

Bachelor Thesis

Animal Science



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Swedish University of Agricultural Sciences
Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science
Department of Animal Nutrition and Management

Effekt av sinläggning, värmestress och olika dagslängd på prolaktin med fokus på mjölkproduktion och immunförsvar hos mjölkkor

Effect of dry-off, heat stress and different photoperiod on prolactin with focus on milk production and immune defence in dairy cows

Jolin Währn

Handledare: Sigrid Agenäs, SLU, Inst. för husdjurens utfodring och vård
Supervisor:

Ämnesansvarig: Emma Ternman, SLU, Inst. för husdjurens utfodring och vård
Subject responsibility:

Examinator: Kerstin Svennersten-Sjaunja, SLU, Inst. för husdjurens utfodring och vård
Examiner:

Omfattning: 15 hp
Extent:

Kurstitel: Kandidatarbete i husdjursvetenskap
Course title:

Kurskod: EX0553
Course code:

Program: Agronomprogrammet - Husdjur
Programme:

Nivå: Grund G2E
Level:

Utgivningsort: Uppsala
Place of publication:

Utgivningsår: 2015
Year of publication:

Serienamn, delnr: Examensarbete / Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård, 535
Series name, part No:

On-line publicering:
On-line published: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: Mjölkkor, prolaktin, sinläggning, värmestress, dagslängd
Key words:

Abstract

It has long been known that prolactin stimulates milk production and recent research has proved that prolactin also is involved in regulating immune functions, such as promoting proliferation and expression of immune cells. The aim of this literature review was to describe how the drying off period, different photoperiod lengths and ambient temperature during the dry period affects the function of prolactin regarding milk production and immune system. Prolactin is produced and secreted from the pituitary gland and stimulates both milk production and the immune defence, but the effect is dependent of the receptor expression. Plasma concentrations of prolactin rise with temperature and photoperiod while it decreases with feed restriction at dry off. These changes in prolactin are observed in parallel to changes in the immune defence and milk production, but more thorough knowledge of how, and if, these variations are actually mediated by prolactin is investigated in this review. The publications studied show that drying off with high plasma prolactin concentrations results in a less effective decrease in milk production. The effect of prolactin on the immune system in this context is unclear; it is possible that the infection incidence can increase during this period. A fast dry off is therefore to prefer. A short photoperiod and low ambient temperature during the dry period decreases the prolactin release and has a favourable influence on production and health in the following lactation due to a rise in prolactin receptor sensitivity.

Sammanfattning

Det har länge varit känt att prolaktin stimulerar mjölkbildning och forskning på senare år har visat att prolaktin även påverkar immunförsvaret, till exempel immuncellers delning och uttryck. Syftet med denna litteraturstudie var därför att undersöka hur sinläggning samt värme och dagslängd under sintiden påverkar prolaktinets funktion på mjölkproduktion och immunförsvaret. Prolaktin bildas och frisätts av hypofysen. Det verkar stimulerande på både mjölkbildning och immunförsvaret, men effekten är beroende av receptoruttrycket. Plasmaprolaktinhalten ökar med temperaturen och dagslängden medan den minskar till följd av sänkt näringsintag vid sinläggning. Prolaktinförändringarna observeras parallellt med förändringar i immunförsvaret och mjölkproduktionen, men mer ingående information om hur, och om, dessa variationer verkligen förmedlas av prolaktin utreds i denna studie. De studerade publikationerna visar att sinläggning med hög plasmaprolaktinhalt endast ger en liten sänkning av mjölkproduktionen. Prolaktinets inverkan på immunförsvaret i detta sammanhang är oklar, eventuellt ökar infektionsincidensen under denna period. En snabb sinläggning är därför att föredra. Kort dagslängd och låg temperatur under sintiden minskar prolaktinfrisättningen och har en förhöjande effekt på mjölkproduktionen och kons hälsostatus i den påföljande laktationen på grund av en ökad känslighet hos prolaktinreceptorerna.

Introduktion

Det är viktigt med kunskap om hur mjölkproduktionen regleras då kon fort ska övergå från sin och dräktighet till att producera stora mängder mjölk, eller vid sinläggningen då den höga mjölkproduktionen hos dagens kor ska avstanna på bara några dagar. Dessa perioder präglas

av försämrat immunförsvar, men även stora förändringar i hormonnivåer, bland annat prolaktin (Ollier et al., 2014). Prolaktin är känt för att stimulera mjölkbildning, men även som signalsubstans vid reglering av immunförsvaret (Vangroenweghe et al., 2005). Dessutom har flera hundra andra funktioner kopplade till diverse kroppsfunktioner identifierats, bland annat inom reproduktion och metabolism (Marano & Ben-Jonathan, 2014). Dess roll vid sinläggning och kalvning är värd att beakta eftersom hög infektionsincidens respektive hög mastitincidens infaller samtidigt med de största förändringarna i prolaktinhalten (Tucker, 2000). Under sintiden har flera faktorer, bland annat värme och dagslängd, inverkan på prolaktinproduktionen men sambandet mellan prolaktin under sintid, hälsa och mjölkproduktion är oklart (Vangroenweghe et al., 2005; do Amaral et al., 2010). Syftet med denna litteraturstudie var därför att undersöka hur sinläggning samt värme och dagslängd under sintiden påverkar prolaktinets funktion på mjölkproduktion och immunförsvar.

Litteratursammanställning

Prolaktin

Prolaktin är ett litet peptidhormon som ingår i det endokrina systemet. Hos däggdjur produceras och insöndras hormonet huvudsakligen av adenohipofysen, och produktionen regleras genom hämning av dopamin från hypotalamus (Marano & Ben-Jonathan, 2014). Peptidhormoner fungerar genom att binda till receptorer på den externa ytan i sina målvävnader. Därifrån sänds sedan en budbärare, tyrosinkinaser i prolaktins fall, till cellens inre där transkriptionsfaktorer påverkas som i sin tur påverkar enzymaktiviteten och proteinsyntesen i cellen. På detta sätt påverkar prolaktin mjölkkörtelcellerna vid mjölkproduktion, men även mjölkkörtelutvecklingen och laktationens upprätthållande (Knight, 2001; Tucker, 2000). Hur mycket inverkan hormonet har beror på hormonhalten och hur många receptorer mottagarcellen uttrycker. Receptoruttrycket ökar efter en längre tid av låg hormonhalt och sjunker efter en längre tid av hög halt. För att prolaktinet ska ha effekt måste ett tröskelvärde på receptoruttrycket uppnås, detta värde är dock okänt (Wall et al., 2005). Forskning på senare år har visat att prolaktin även är autokrint, alltså produceras och verkar lokalt. Utöver frisättningen från adenohipofysen produceras det i flera andra vävnader som även uttrycker prolaktinreceptorer, till exempel fett-, lever- och mjölkkörtelvävnad (Marano & Ben-Jonathan, 2014). Det verkar genom att binda till sina specifika prolaktinreceptorer som tillhör cytokinreceptorfamiljen och stimulerar celledelning, -differentiering, -överlevnad och -produktion. Prolaktin har flera hundra kända verkningsområden; det påverkar till exempel reproduktion, dräktighet, nybildning av blodkärl och metabolism. Dessutom reglerar prolaktin immunförsvaret och fungerar i egenskap av cytokin stärkande på immunförsvaret, se mer om detta under stycket Funktion i immunförsvaret (Vangroenweghe et al., 2005; Marano & Ben-Jonathan, 2014). Mer specifikt påverkas bland annat differentiering av sekretoriska vävnader som äggstockarna, prostatan, bukspottskörteln och levern, samt mognad av betaceller i bukspottskörteln, astrocyter, fettceller och T-lymfocyter (Yu-Lee, 2002).

Yttre faktorer som utlöser prolaktininsöndring är inte specifika utan påverkas av flera, ännu delvis okända faktorer. Dels finns en basal säsons- och dygnsbunden nivå som påverkas av

bland annat ljus och temperatur. Men även andra hormoner inverkar, till exempel progesteron, och det finns en ägglossningsbunden rytm. Dessutom ökar insöndringen av prolaktin vid stimulering av spenarna, alltså vid varje mjölkning eller varje gång kalven diar, till följd av att dopamininsöndringen då minskar (Gorewit et al., 1992; Tucker, 2000).

Metoder för att studera effekt av prolaktin

Eftersom prolaktin insöndras från hypofysen bygger många studier som undersöker effekterna av prolaktin (eller avsaknad av effekter) hos djur på att utföra hypofysektomi, alltså förstöra eller avlägsna hypofysen. Andra sätt är att hämma prolaktininsöndringen från hypofysen med hjälp av prolaktinhämmande substanser som bromokriptin och kabergolin, eller genom att avlägsna vissa gener (Yu-Lee, 2002; Fass, 2015). För att endast bestämma halten, och inte effekten, av prolaktin används olika analysmetoder. I samtliga studerade artiklar är den använda mätmetoden för att bestämma prolaktinhalten i till exempel mjölk och blod radioimmunologisk analys (RIA).

Funktion vid mjölkbildning

Höga progesteron- och östrogenhalter under dräktigheten förhindrar dels en prolaktininsöndring i blodet och dels en ökning av antalet prolaktinreceptorer i juvret. Både halten av progesteron och östrogen avtar vid kalvning med följd att prolaktinnivåerna ökar snabbt. Just den här snabba ökningen av prolaktin bidrar till igångsättningen av laktationen. Hormonet binder till prolaktinreceptorer i juvrets sekretoriska celler, mjölkörtelcellerna, vilket aktiverar tyrosinkinaser i receptorerna. Dessa går in i cellkärnan där de fungerar som transkriptionsfaktorer för gener som producerar mjölkkomponenter, nämligen proteinerna α -laktalbumin och kasein. Halten prolaktin avtar igen under dagarna som följer efter kalvning, men basalnivån motsvarar en kurva liknande laktationskurvan (Tucker, 2000). I en studie av Gorewit *et al.* (1992) undersöktes halten av plasmaprolaktin vid mjölkning. Resultaten visade att prolaktinet ökar tillfälligt vid varje mjölkning till följd av spenstimuli och når vid maskinmjölkning en topp på omkring 15,5 ng/ml i plasma inom 10 minuter efter påbörjad mjölkning, med mindre efterföljande toppar. En timme senare har halten sjunkit till basalnivån den låg på innan mjölkningen (Gorewit et al., 1992). Dock avtar denna reaktion ju längre laktationen fortskrider, parallellt med sänkningen i basalnivån. Då laktationen är etablerad verkar prolaktin för dess upprätthållande genom att motverka mjölkörtelcellapoptos, och uppehåller koncentrationerna av mRNA för mjölkproteinsyntes (Tucker, 2000; Vangroenweghe et al., 2005). Prolaktin verkar dock sällan ensamt utan oftast i samarbete med andra hormoner, främst tillväxthormon. Detta bidrar till komplexiteten vid försök att utreda dess roll i olika sammanhang (Knight, 2001).

Funktion i immunförsvaret

Både det specifika och ospecifika immunförsvaret påverkas, men är inte beroende, av prolaktin under normala förhållanden. Hormonet fungerar som signalsubstans mellan immunsystemet och det neurosekretoriska systemet. Flera vävnader som deltar i immunförsvaret producerar prolaktin, till exempel brässen, levern, lymfknutor och immunceller som T-lymfocyter. Dessa och ännu fler immuncelltyper uttrycker

prolaktinreceptorer, till exempel B-lymfocyter, NK-celler, makrofager, neutrofiler, CD34+ och dendritceller (Yu-Lee, 2002; Marano & Ben-Jonathan, 2014). Att dessa celler uttrycker prolaktinreceptorer betyder att de påverkas direkt av prolaktin, både när prolaktin cirkulerar i blodet och vid autokrin reglering; prolaktin stimulerar bland annat celldelningen hos leukocyter samt mognad av CD34+ och T-celler (Yu-Lee, 2002).

Prolaktin kan fungera både anti- och proinflammatoriskt. Vid stress utsöndras bland annat glukokortikoider som ökar celldöd hos lymfocyter och på så sätt försämrar immunförsvaret. Vid dessa tillfällen verkar prolaktin antiinflammatoriskt genom att förhindra celldöd hos lymfocyterna. Vid en inflammation i juvret verkar prolaktin proinflammatoriskt då hormonet stimulerar proteinkomplexet NF- κ B som styr gentranskription av cytokiner, vilket ökar tillströmning av immunceller till juvret (Yu-Lee, 2002).

Tvetydiga effekter på immunförsvaret

I en *in vitro* studie av Gutierrez *et al.* (2008) utsattes mjölkkörtelepitelceller från lakterande kor för *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) för att undersöka effekten av prolaktin i olika serumkoncentrationer vid en infektion. *S. aureus* har förmåga att genom endocytos överleva i cytosolen under lång tid och på så sätt kolonisera vävnader vilket kan orsaka kronisk mastit. Graden av bakterieendocytos i epitelcellerna mättes genom räkning av antalet CFU (Colony-forming unit) per epitelcell. Epitelcellkulturen reagerade inte särskilt vid den högsta och lägsta koncentrationen av prolaktin men vid den som låg däremellan (5 ng/mL), vilket även ligger närmast den fysiologiska koncentrationen vid laktation, ökade endocytosen trefaldigt jämfört med om inget prolaktin närvarande. För att försäkra sig om att detta verkligen var en effekt av prolaktin motverkades prolaktin med antikroppar, vilket hade motsatt effekt. Därutöver studerades inverkan av prolaktin och bakterieväggskomponenter på några immunförsvargener som regleras av proteinkomplexet NF- κ B genom att mäta mRNA för dessa (bland andra TNF- α och IL-1 β). mRNA-uttrycket ökade i närvaro av både prolaktin och bakterieväggskomponenten var för sig. Dock var uttrycket opåverkat eller rentav lägre vid samtidig bakterieinfektion och prolaktinnärvaro. Detta tolkar forskarna som att prolaktin tillsammans med en bakterieinfektion hämmar delar av det ospecifika immunförsvaret och därigenom öppnar för endocytos av bakterierna i epitelcellerna (Gutierrez *et al.*, 2008).

I en senare studie av Lara-Zárate *et al.* (2011) visades att prolaktin ökade aktiveringen av NF- κ B hos icke-infekterade cellkulturer, alltså att prolaktin indirekt ökade transkriptionen av cytokiner. Det motsatta skedde då epitelcellerna infekterades och NF- κ B istället hämmades av prolaktin. Dock sjönk endocytosgraden i närvaro av prolaktin när NF- κ B-aktiveringen blockerades med en antiinflammatorisk syra (ASA). Detta tolkade författarna som att NF- κ B-aktivering inducerad av prolaktin kan vara inblandad i endocytos hos infekterade epitelceller och att detta påverkas av aktiveringsstadiet hos NF- κ B (Lara-Zárate *et al.*, 2011).

Sinläggning

Sinläggningen innebär stora strukturella förändringar i juvret; mjölkkörteln tillbakabildas, det sker en markant sänkning i prolaktinhalt och det föreligger dessutom en hög infektionsrisk.

En bakterieinfektion i juvret vid sinläggning kan i den påföljande laktationen orsaka mastit. Trenden förstärks i och med att kor idag har en hög mjölkproduktion, vilket förlänger tiden det tar för tillbakabildningen av juvret. Även om mjölken inte avlägsnas fortsätter mjölkörteln till en början att bilda mjölk, som är ett utmärkt medium för bakterietillväxt, och som dessutom kan läcka ur spenarna vilket ger en ingång för bakterier (Ollier et al., 2014). Spenkanalen sluts snabbare med en keratinpropp vid lägre mjölkproduktion och en snabbare tillbakabildning gör att mjölken i juvret snabbare ändrar sammansättning och sänker pH. Ett lågt pH hämmar bakterietillväxt (Ollier et al., 2015). Allvarlig klinisk mastit påvisas framför allt av en ökning i antalet och funktionsdugligheten hos de leukocyter som strömmar till juvret vid inflammation (Vangroenweghe et al., 2005). Men denna tillströmning ska inte förväxlas med tillströmningen av immunceller som neutrofiler, lymfocyter och makrofager vid tillbakabildningen för att rensa döda celler och mjölkkomponenter (Ollier et al., 2013). Dessa celler ger även en ökning i antalet celler i mjölken, SCC, men är alltså ett tecken på juvervävnadens tillbakabildning och inte på en inflammation.

Effekter av foderbegränsning på immunförsvaret och mjölkproduktion

Skötselrutinen att kraftigt minska fodergivan och/eller näringsvärdet i fodret och/eller utesluta kraftfodret gör att korna hamnar i negativ näringsbalans och metabol stress vilket bidrar till försämrat immunförsvaret (Ollier et al., 2013). Därför jämförde Ollier *et al.* (2013; 2014) effekterna av två olika sinläggningsfoderstater på metabolismen och immunförsvaret hos 24 Holsteinkor i sen laktation: korna gavs endast hö eller laktationsfoderstat samt injektion i blodet av en prolaktinhämmande substans (quinagolide 4mg/dag). Kontrollkorna fick laktationsfoderstat utan injektioner. Samma tid varje morgon togs blod- och mjölkprover för att bestämma prolaktinhalten. Båda behandlingarna gjorde så att foderintag, basal prolaktinhalten och mjölmängd minskade gentemot kontrollkorna. Hos korna som fick injektion sjönk plasmaprolaktinet mer, den mjölkkningsframkallade prolaktinökningen minskade och mjölmängden sjönk mer effektivt. Korna på höfoderstat hade högre blodplasmanivåer av BHBA och NEFA och lägre glukosnivå mot de andra grupperna. Detta tyder på större metabol påfrestning och forskarna föreslår därför att prolaktinhämmare kan vara ett alternativ till kraftig foderminskning vid sinläggning. Gruppen med höfoderstat visade lägre PBMC-celldelning och lägre produktion av cytokinet IL-4, båda viktiga komponenter i immunsystemet (Ollier et al., 2013; 2014). I en delstudie (Ollier et al., 2015) doppades kornas spenar dagligen i en vecka i lösningar med *Streptococcus agalactiae*, som är en vanlig mastitpatogen. Forskarna tog mjölkprover före och efter kalvning för bakteriologisk analys. Färre bakterier observerades i mjölken från korna som fick injektioner än de med höfoderstat, vilket forskarna relaterar till kornas goda metabola status. SCC var högst hos korna som fick injektioner, detta berodde enligt forskarna på den snabba tillbakabildningen av juvervävnaden, dock gick korna med höfoderstat om denna mängd mot slutet (Ollier et al., 2014; 2015).

Sintiden

Ju längre dagslängd och ju högre omgivande temperatur desto mer prolaktin insöndras i blodet hos kor (Wall et al., 2005; do Amaralet al., 2010). Eftersom prolaktin har kopplingar

både till immunförsvaret och till mjölkproduktionen har flera studier undersökt huruvida det är prolaktin som förmedlar förändringar i miljöfaktorer till kroppens olika system (Vangroenweghe et al., 2005; do Amaral et al., 2010).

Temperaturens inverkan under sintiden

Do Amaral *et al.* (2010; 2011) tilldelade 21 sinkor av Holsteinras antingen svalka i form av sprinkler och fläkt eller ingen svalka vid temperaturer mellan 21 °C och 29 °C för att undersöka immunförsvaret och mjölkproduktionen. Att korna påverkades av behandlingen bekräftades genom mätningar av rektaltemperaturen som visade att korna utan tillgång till svalka var värmestressade. Blodprover togs vid samma klockslag varje morgon och analysresultaten visade en högre prolaktinhalt i blodet hos de värmestressade korna jämfört med de svalkade korna, vilket hämmade prolaktinreceptoruttrycket på lymfocyterna. Lymfocyterna hos de värmestressade korna hade dessutom lägre celledelning och lägre TNF- α -produktion samt högre mRNA för Socs-1 och Socs-3. Socs är substanser som hämmar cytokinsignalering genom att binda till cytokinreceptorerna och deras mängd är beroende av cytokinmängden, alltså fungerar de genom negativ feedback. Även IgG-produktionen var sämre hos de värmestressade korna fram till kalvningen, och efter kalvning observerades en försämring i neutrofilfunktionen. De hade även lägre mjölmängd jämfört mot de svalkade korna. Leverbiopsier av de värmestressade korna visade ett lägre prolaktinreceptoruttryck och lägre mängd Socs-3 mRNA hos de värmestressade korna jämfört mot de svalkade korna (do Amaral et al., 2011).

Dagslängdens inverkan under sintiden

I en studie av Auchtung *et al.* (2004) undersöktes hur grundläggande cellulära immunfunktioner hos 39 sinlagda Holsteinkor påverkades av olika dagslängd. Blodprover togs inom en timme från samma klockslag varje morgon och kväll och analysresultaten visade att korna i gruppen för korta dagar om 8 timmar hade lägre prolaktinhalt i blodet, högre lymfocytcelldelning, högre neutrofilkemotaxis (neutrofilers rörelse mot ett infektionsområde) och en ökad mjölkproduktion i den påföljande laktationen jämfört med korna i gruppen med långa dagar om 16 timmar. De fann inga skillnader i totala leukocyter mellan behandlingarna. I en delstudie undersökte Wall *et al.* (2005) genom juverbiopsier hur Socs förändrades hos sinkorna. Överlag ökade Socs vid båda behandlingarna ju längre dräktigheten framskred. Korna med korta dagar hade dock en något lägre mängd Socs, framför allt Socs-2, jämfört med korna med långa dagar. En låg Socsmängd tros bidra till mjölkkörtelutvecklingen under sintiden eftersom det ger en effektivare prolaktinsignalering i juvret, vilket i sin tur även ökar mjölkproduktionen (Wall et al., 2005).

Diskussion

Prolaktinets effekt är starkt beroende av receptoruttrycket hos målcellerna (Wall et al., 2005), varför receptorernas status måste tas i beaktande vid undersökningar av prolaktin. Det finns tydliga samband mellan receptoruttrycket och kons laktationsstadium samt säsongsfaktorer som temperatur och dagslängd. Det är dock svårt att bestämma påverkan av det prolaktin som frisätts autokrint, eftersom det förbrukas snabbt och inte kan mätas i blodet, och detta utgör

därför en felkälla vid värdering av till exempel prolaktinets påverkan på mjölkkörtelcellerna, alltså indirekt mjölkproduktionen. Utgår man från att det endast är det prolaktin som frisätts autokrint och återfinns i mjölken som påverkar mjölkkörtelcellerna kan man eventuellt komma runt problemet. En annan situation där det autokrina prolaktinet försvårar studier av prolaktinets effekt är hos immunceller eftersom de, enligt Marano och Ben-Jonathan (2014) och Yu-Lee (2002), producerar prolaktin men ingen mjölk att mäta i.

Att studera påverkan av prolaktin är inte helt enkelt eftersom prolaktinets verkan inte entydigt är positiv, dess spektra av verkningsområden kanske gör att det indirekt kan motverka sin egen effekt på ett annat område. Hade till exempel epitelcellerna i studien av Gutierrez *et al.* (2008) varit fagocyter istället hade prolaktinets förhöjande inverkan på bakterieendocytosen varit positiv. Det är dock inte klarlagt exakt hur prolaktinet medverkar i en sådan situation: förutom den påvisade sänkningen i NF- κ B-aktivering i samband med infektion är det inte ingående visat hur prolaktinets normalt stimulerande effekt på NF- κ B försvinner i bakterienärvaro, bara att aktiveringsgraden minskar (Lara-Zárate *et al.*, 2011). Dessutom skedde detta endast vid den för laktation fysiologiska halten av prolaktin i plasma, inte vid lägre eller högre halter. Att prolaktin endast påverkade vid den fysiologiska halten kan förklaras av det omvända förhållandet mellan prolaktin och prolaktinreceptorer; reaktionen på prolaktin avtrubbades av den höga prolaktinhalten medan den låga inte nådde över tröskelvärdet. Intressant är att blockering av NF- κ B-aktivering med ASA hämmade bakterieendocytosen även i närvaro av prolaktin, som om det var NF- κ B som drev endocytosen och inte så mycket just prolaktin (som bara stimulerar NF- κ B). En annan möjlighet är att ASA inte bara blockerar NF- κ B utan innehar andra egenskaper som kanske påverkar bakterierna direkt. Mer ingående studier på hur dessa faktorer hänger ihop vore att föredra för att bättre kunna utreda prolaktins egentliga roll.

Kraftig foderbegränsning vid sinläggning ger i första hand negativ näringsbalans, vilket kan ses på blodmetaboliterna i studierna av Ollier *et al.* (2013; 2014), men det ger även försämrat immunförsvar (Ollier *et al.*, 2015). Teorin att försämringarna i immunförsvaret delvis kan förmedlas av prolaktin baseras på att insöndringen av hormonet förändras lika drastiskt som, och i takt med, mjölkproduktionen och fodersänkningen samt att prolaktinets inverkan på immunförsvaret i andra sammanhang har påvisats (Yu-Lee, 2002). Som Ollier *et al.* (2014) visade kan en injektion av substansen quinagolide sänka prolaktinhalten hos kon och därmed minska mjölkproduktionen mer än höfoderstat, dessutom utan de ofördelaktiga metabola effekterna. Dock är prolaktinets positiva verkningar på immunförsvaret knappast del i att korna som fick quinagolideinjektioner även hade färre infektioner av *S. agalactiae* och bättre PBMC-funktion än korna som fick höfoderstat eftersom prolaktinhalten hos dem var lägre. Prolaktinsänkningen hade ingen försämrande verkan på metabolismen och ingen ökande verkan på infektionsgraden, alltså kan det tolkas att uteblivet prolaktin i denna studie, liksom i den av Gutierrez *et al.* (2008), vara positivt för immunförsvaret. Sambandet som Ollier *et al.* (2015) satte mellan de höga glukokortikoidnivåerna och den högre infektionsgraden vid höfoderstaten stämmer inte överens med prolaktinets förmildrande funktion på glukokortikoiderna (Yu-Lee, 2002), eftersom prolaktinhalten hos dessa kor var högre än hos korna som fick injektioner. Dock kan det ha berott på att dessa kor fick en drastiskt

annorlunda foderstat som ökade glukokortikoiderna till en nivå som var ohanterbar för det cirkulerande prolaktinet. Detsamma gäller den uteblivna försämrande effekten på metabolismen hos korna med laktationsfoderstat: deras foderstat var bättre anpassad för deras metabola status varför deras goda immunförsvaret och metabola balans inte bör tillskrivas prolaktinet utan foderstaten. Forskarna själva nämner inget om prolaktins förstärkande effekter på immunförsvaret utan hänvisar i fallet med höfoderstaten till metaboliternas undertryckande effekter på immunförsvaret.

Att kombinera prolaktinhämmare med andra hormonreglerare för en mindre stressande sinläggning är ett ämne som kräver vidare forskning. Den ultimata kombinationen av hormoner och hormonhämmare skulle kunna ge stora positiva förändringar för kornas metabola och immunologiska status. Innan denna forskning kommit längre och bieffekter studerats bör dock dessa inte tas i kommersiellt bruk. Dessutom bör de etiska aspekterna tas i beaktande; vill vi ha kor som måste medicineras för att komma i sin? Slutligen måste påpekas att SCC var högre hos korna som fick quinagolide, enligt forskarna på grund av den snabba tillbakabildningen, men detta kan även ha bidragit till att förhindra infektion av *Streptococcus agalactiae* hos dessa kor (Ollier et al., 2015).

Studierna på värmestress visade att värmestress och prolaktin orsakar samma typ av förändringar på immunförsvaret (do Amaral et al., 2010; 2011). Detta stärker teorin att prolaktin kan förmedla förändringar i temperatur till immunförsvaret. Att värmestressen påverkade lymfocyterna innan kalvning medan neutrofilerna påverkades först efter kalvning är intressant. I studierna befann sig dock alla försökskorna i samma varma miljö, skillnaden bestod endast i de värmereducerande faktorerna. Eventuella effekter av värmen kan antas ha påverkat resultaten hos de svalkade korna även om de inte var lika varma som korna utan svalka. Trots att behandlingarna hade viss effekt på rektaltemperaturen hade resultaten varit mer entydiga om försöket utförts under mer kontrollerade former, förslagsvis ett temperatur- och fuktreglerat stall.

De observerade ogynnsamma effekterna av dagar om 16 timmar på immunförsvaret under sintid och den samtidiga prolaktinökningen i studien av Auchtung *et al.* (2004) styrker ytterligare att prolaktin förmedlar dagslängdsförändringar till immunförsvaret. Under sintid bör prolaktinhalten vara låg eftersom en ökning i prolaktinreceptoruttrycket under sintid inte bara ger ökad mjölmängd i efterföljande laktation utan också bättre kohälsa. I studien undersöktes dock inte skillnaderna i fördelningen mellan olika lymfocyter, hade de gjort det hade det kanske stämt överens med resultaten i studien av do Amaral *et al.* (2010) där lymfocyterna hade lägre celledelning och TNF- α -produktion, samt högre mRNA för två Socstyper. Intressant är att Auchtung *et al.* (2004) fann en förändring i neutrofilkemotaxis under sintiden medan do Amaral *et al.* (2011) inte fann någon skillnad på neutrofilernas fagocytosiseller oxidativa aktivitet under sintiden. Visserligen har studierna mätt olika funktioner hos neutrofilerna och under olika behandlingar, men behandlingarna bär på likheter, dels i effekt av prolaktin och dels i att båda studierna tar hänsyn till säsongsvariationer. Därmed skulle det vara av intresse att studera vidare på om och hur

prolaktin verkar under olika omständigheter på neutrofilfunktionerna. Alla funktioner kanske inte berörs av prolaktin medan andra bara gör det under vissa förhållanden.

Wall *et al.* (2005) talade för att en lägre Socs mängd har gynnsam inverkan på mjölkkörteln och därigenom på mjölkproduktionen, eftersom prolaktinsignaleringen då inte hämmas av Socs. Detta stämmer med publikationer av Knight (2001) och Tucker (2000) som talar för prolaktinets stimulering av mjölkkörtelutveckling. Dock förutsätts prolaktin, i egenskap av cytokin, stimulera Socsproduktion vilket innebär att låg mängd Socs bör indikera låg prolaktinhalt. Detta visar på det komplicerade förhållande som råder mellan cirkulerande prolaktin, prolaktinreceptorer och Socs. Hur låg mängd Socs som är tillräckligt för att inte störa prolaktinsignaleringen och om Socs måste uppnå ett tröskelvärde för att binda till receptorerna behöver klargöras i vidare studier. Dessutom var skillnaden i Socs mängd mellan kort dag och lång dag inte alls entydig i studien av Wall *et al.* (2005). Detta tyder på att Socs inte följer samma mönster som prolaktin, vilket forskarna i studierna verkar ha utgått från.

De lika förändringarna hos prolaktinhalten vid ökad temperatur och dagslängd (Wall *et al.*, 2005; do Amaral *et al.*, 2010) är intressanta ur ett evolutionärt perspektiv eftersom kor naturligt kalvar på våren. Det ger bättre förutsättningar för överlevnad eftersom det är varmare och kon får mycket bete fram på sommaren vilket ger underlag för en högre mjölkproduktion. Därmed befinner sig kor under sintiden och dräktigheten i mer mörker och kyla än efter kalvningen, då prolaktininsöndringen passande nog ökar till följd av ökning i temperatur och dagslängd. Eftersom en hög prolaktininsöndring korrelerar med en minskning i receptoruttrycket bör sorkor ges korta dagar och svalka så receptorerna får möjlighet att öka. Om sommaren kan sinlagda kor erbjudas skugga, fläkt och avkylning med vatten (do Amaral *et al.*, 2010), och vid inhysning vintertid kan de ges ett eget ljusprogram med korta ljusperioder (Auchtung *et al.*, 2004). Detta kan både öka mjölkproduktionen i den kommande laktationen och förstärka kornas immunförsvar (Auchtung *et al.*, 2004; Wall *et al.*, 2005; do Amaralet *et al.*, 2010; 2011). När prolaktininsöndringen efter kalvning väl kommer igång reagerar cellerna starkare på hormonet och producerar mer mjölk, samtidigt som kons immunförsvar fungerar bättre under denna tid som präglas av hög mastitförekomst.

I de studerade artiklarna har forskarna mätt prolaktin med mer än en halv dags mellanrum. Visserligen tog Auchtung *et al.* (2004), Wall *et al.* (2005), do Amaral *et al.* (2010; 2011) och Ollier *et al.* (2014; 2015) blodproverna vid en bestämd tidpunkt på dagen, men fortfarande kan fel lätt uppstå eftersom prolaktininsöndringen sker kontinuerligt och interaktivt. Halten hormoner i blod kan variera drastiskt med bara någon minuts mellanrum, och påverkas av yttre faktorer, vilket kan ge stora felmarginaler vid mätning och direkta missbedömningar vid resultattolkning. Detta kan till viss del kringgås genom att utföra upprepade provtagningar som kan ge stöd åt varandra. Därutöver bör man ha i åtanke att halterna av många fler hormoner också förändras under dessa perioder och kan, fristående eller i samverkan med prolaktin, påverka både mjölkproduktionen och immunförsvaret (Knight, 2001).

Slutsats

En kort sinläggning sänker mer effektivt prolaktinhalten i blod jämfört med en utdragen sinläggning, med följden att mjölkproduktionen också minskar mer effektivt. Prolaktinets effekt på immunförsvaret är dock i sammanhanget oklar. Sinkor med låg omgivande temperatur och kort dagslängd kommer att mjölka mer och upprätthålla ett starkare immunförsvaret i den efterföljande laktationen. Värmestress och lång dagslängd (16 timmar ljus per dag), ökar prolaktininsöndringen och minskar känsligheten hos målcellerna. I laktationen som följer reagerar de då mindre på prolaktininsöndring.

Litteraturförteckning

- Auchtung, T.L., Salak-Johnson, J.L., Morin, D.E., Mallard, C.C. & Dahl, G.E. (2004). Effects of photoperiod during the dry period on cellular immune function of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, vol. 87 (11), ss. 3683–3689.
- Do Amaral, B.C., Connor, E.E., Tao, S., Hayen, M.J., Bubolz, J.W. & Dahl, G.E. (2010). Heat stress abatement during the dry period influences prolactin signaling in lymphocytes. *Domestic Animal Endocrinology*, vol. 38 (1), ss. 38-45.
- Do Amaral, B.C., Connor, E.E., Tao, S., Hayen, M.J., Bubolz, J.W. & Dahl, G.E. (2011). Heat stress abatement during the dry period influences metabolic gene expression and improves immune status in the transition period of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, vol. 94 (1), ss. 86–96.
- Farmaceutiska specialiteter i Sverige (Fass) (2015-04-20). *Galastop®vet*.
<http://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=19941125000019> [2015-04-20]
- 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*, vol. 75 (2), ss. 443-448.
- Gutiérrez-Barroso, A., Anaya-López, J., Lara-Zárate, L., Loeza-Lara, P., López-Meza, J. & Ochoa-Zarzosa, A. (2008). Prolactin stimulates the internalization of *Staphylococcus aureus* and modulates the expression of inflammatory response genes in bovine mammary epithelial cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 121 (1-2), ss. 113-122.
- Knight, C.H. (2001). Overview of prolactin's role in farm animal lactation. *Livestock Production Science*, vol. 70, ss. 87-93.
- Lara-Zárate, L., López-Meza, J.E. & Ochoa-Zarzosa, A. (2011). *Staphylococcus aureus* inhibits nuclear factor kappa B activation mediated by prolactin in bovine mammary epithelial cells. *Microbial Pathogenesis*, vol. 51 (5), ss. 313-318.
- Marano, R.J. & Ben-Jonathan, N. (2014). Extrapituitary prolactin: an update on the distribution, regulation, and functions. *Molecular Endocrinology*, vol. 28 (5), ss. 622-633.
- Ollier, S., Zhao, X. & Lacasse, P. (2013). Effects of prolactin-release inhibition on milk production and mammary gland involution at drying-off in cows. *Journal of Dairy Science*, vol. 96 (1), ss. 335-343.

- Ollier, S., Zhao, X. & Lacasse, P. (2014). Effects of feed restriction and prolactin-release inhibition at drying off on metabolism and mammary gland involution in cows. *Journal of Dairy Science*, vol. 97 (8), ss. 4942-4954.
- Ollier, S., Zhao, X. & Lacasse, P. (2015). Effects of feed restriction and prolactin-release inhibition at drying-off on susceptibility to new intramammary infection in cows. *Journal of Dairy Science*, vol. 98 (1), ss. 221-228.
- Tucker, H.A. (2000). Hormones, mammary growth, and lactation: a 41-year perspective. *Journal of Dairy Science*, vol. 83 (4), ss. 874-884.
- Vangroenweghe, F., Lamote, I. & Burvenich, C. (2005). Physiology of the periparturient period and its relation to severity of clinical mastitis. *Domestic Animal Endocrinology*, vol. 29 (2), ss. 283-293.
- Wall, E.H., Auchtung-Montgomery, T.L., Dahl, G.E. & McFadden, T.B. (2005). Short-day photoperiod during the dry period decreases expression of suppressors of cytokine signaling in mammary gland of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, vol. 88 (9), ss. 3145-3148.
- Yu-Lee, L.Y. (2002). Prolactin modulation of immune and inflammatory responses. *Recent Progress in Hormone Research*, vol. 57, ss. 435-455.

I denna serie publiceras examensarbeten (motsvarande 15, 30, 45 eller 60 högskolepoäng) vid Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges lantbruksuniversitet. Institutionens examensarbeten finns publicerade på SLUs hemsida www.slu.se.

In this series Degree projects (corresponding 15, 30, 45 or 60 credits) at the Department of Animal Nutrition and Management, Swedish University of Agricultural Sciences, are published. The department's degree projects are published on the SLU website www.slu.se.

<p>Sveriges lantbruksuniversitet Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap Institutionen för husdjurens utfodring och vård Box 7024 750 07 Uppsala Tel. 018/67 10 00 Hemsida: www.slu.se/husdjur-utfodring-varld</p>	<p><i>Swedish University of Agricultural Sciences Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science Department of Animal Nutrition and Management PO Box 7024 SE-750 07 Uppsala Phone +46 (0) 18 67 10 00 Homepage: www.slu.se/animal-nutrition-management</i></p>
--	--