

MICHAŁ FIEDOROWICZ^{1, 2}

¹*Zakład Fizjologii Zwierząt Kręgowych
Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego
Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa*

²*Zakład Farmakologii Doświadczalnej
Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN
Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa
e-mail: mfied@cmdik.pan.pl*

UKŁAD PROLAKTYNERGICZNY? WYTWARZANIE I ROLA PROLAKTYNY W MÓZGU

Najwcześniej poznaną funkcją prolaktyny (PRL) była stymulacja laktacji i kontrola zachowań związanych z rozrodem. Jest ona jednak hormonem o znacznie szerszym spektrum działania. W przeciwieństwie do innych hormonów przysadki jej rola nie została zawężona na wczesnych etapach filogenezy kręgowców. Obecnie znanych jest ponad trzysta jej odrębnych funkcji biologicznych (BOLE-FEYSOT i współaut. 1998), które można podzielić na związane z: utrzymaniem homeostazy wodno-elektrolitowej, wzrostem i rozwojem, wydzielaniem hormonalnym i metabolizmem, mózgiem i zachowaniem, rozmnażaniem oraz immunomodulacją (obszerny przegląd tych funkcji można znaleźć w pracy BOLE-FEYSOT i współaut. 1998).

Wydzielanie PRL przez przysadkę wykazuje rytm okołodobowy, zmienia się w cyklu owulacyjnym oraz wzrasta w odpowiedzi na ssanie

sutków karmiących samic (FREEMAN i współaut. 2000). U niektórych gatunków obserwuje się zmiany sezonowe wydzielania PRL (SANTIAGO-MORENO i współaut. 2000). PRL ma więc prawdopodobnie istotne znaczenie dla przystosowywania zwierzęcia do zmieniających się warunków środowiska.

Jakkolwiek głównym narządem produkującym PRL jest przysadka, istnieje wiele pozaprzysadkowych źródeł PRL, np. tymocyty w grasicy, limfocyty w śledzionie czy fibroblasty w skórze. Hormon wydzielany na obwodzie może działać parakrynnie na sąsiednie komórki, a także autokrynie. Wydzielanie na obwodzie zwiększa też pulę hormonu w krwiobiegu. Komórki na obwodzie mogą transportować PRL (np. do mleka, do płynu mózgowo-rdzeniowego), internalizować ją i gromadzić (FREEMAN i współaut. 2000).

Wykaz stosowanych skrótów: GAS (ang. γ -interferon activated sequence) – sekwencja aktywowana przez γ -interferon, GH (ang. growth hormone) – hormon wzrostu, GH-ir (ang. growth hormone-immunoreactive) – immunoreaktywny względem hormonu wzrostu, GHR (ang. growth hormone receptor) – receptor hormonu wzrostu, PACAP (ang. pituitary adenylate cyclase activating polypeptide) – polipeptyd aktywujący przysadkową cyklazę adenylanową, PL (ang. placental lactogen) – laktogen łożyskowy, PRL (ang. prolactin) – prolaktyna, PRL-bp (ang. prolactin-binding protein) – białko wiążące prolaktynę, PRL-ir (ang. prolactin-immunoreactive) – prolaktyno-immunoreaktywny, PRLR (ang. prolactin receptor) – receptor prolaktynowy, PRLR-ir (ang. prolactin receptor-immunoreactive) – immunoreaktywny względem receptora prolaktynowego, RT PCR (ang. reverse transcriptase polymerase chain reaction) – reakcja łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkryptazą, TRH (ang. thyrotropin-releasing hormone) – hormon uwalniający tyreotropinę, VIP (ang. vasoactive intestinal peptide) – wa-
zoaktywny peptyd jelitowy.

Produkcja PRL pozaprzysadkowej zachodzi też w mózgu – stwierdzono tam zarówno obecność białka PRL, jak i mRNA (EMANUELE i współaut. 1992). Mózg jest ważnym narządem docelowym dla tego hormonu, związanym z wieloma funkcjami PRL. Sprawa jej wytwarza-

nia w mózgu wydaje się więc kluczowa dla zrozumienia roli PRL w regulacji jego funkcjonowania.

GEN *PRL* I REGULACJA JEGO TRANSKRYPCJI

U ssaków występuje pojedynczy gen kodujący PRL, który u ludzi znajduje się na chromosomie 6. Jego sekwencja wykazuje duży stopień homologii do sekwencji genów kodujących hormon wzrostu (GH) i laktogen łożyskowy (PL) (GOFFIN i współaut. 1996).

Gen kodujący PRL składa się z pięciu egzonów i czterech intronów. Transkrypcja w przysadce zaczyna się od promotora egzonu 1b. Istnieje też dodatkowy egzon pierwszy, oznaczany 1a (lub egzon 0), który jest aktywny poza przysadką. Transkrypcja z jego promotora prowadzi do powstania mRNA dłuższego o około 150 nukleotydów (BERWAER i współaut. 1994). Białko powstające z tego transkryptu ma jednak tę samą długość, gdyż miejsce inicjacji translacji znajduje się w obrębie egzonu 1b.

Oba promotory mają różne elementy regulatorowe. Promotor egzonu 1b jest kontrolo-

wany głównie przez czynnik transkrypcyjny Pit-1 (BEN-JONATHAN i współaut. 1996); elementy regulatorowe promotora egzonu 1a nie zostały dobrze poznane.

Dłuższy mRNA PRL odnaleziono w doczesnej (błonie śluzowej macicy w czasie ciąży) i tkance limfoidalnej (BERWAER i współaut. 1994). mRNA PRL w mózgu jest identyczny z przysadkowym (WILSON i współaut. 1992). Doniesienia o występowaniu tam krótszej formy mRNA, powstającej w wyniku alternatywnego cięcia i składowania (EMANUELE i współaut. 1992), nie zostały później potwierdzone (BREDOW i współaut. 1994). Prawdopodobnie regulacja ekspresji genu *PRL* na poziomie transkrypcyjnym w mózgu i w przysadce jest podobna.

PRL I JEJ MODYFIKACJE

PRL powstaje z prohormonu ulegającego cięciu proteolitycznemu. Główna forma PRL u ssaków ma masę cząsteczkową 23 kDa (FREEMAN i współaut. 2000).

Znane są różne formy PRL powstające w wyniku modyfikacji postranslacyjnych, ale też alternatywnego cięcia i składowania mRNA. U ryb źródłem zmienności jest też transkrypcja różnych genów kodujących PRL (SINHA 1995).

W wyniku działania proteazy podobnej do katepsyny D powstaje fragment o masie cząsteczkowej 16 kDa, który ma aktywność mniejszą niż natywna PRL. Przypisuje mu się odrębne funkcje: hamuje wzrost komórek śródbłonna *in vitro* i *in vivo*, w których występuje receptor specyficzny dla tego fragmentu. W wyniku proteoliznego cięcia przez kalikre-

inę powstaje fragment 22 kDa. Nie stwierdzono jednak specyficznych funkcji tego białka. Znane są też inne fragmenty prolaktyno-immunoreaktywne (PRL-ir), ale ich znaczenie nie zostało poznane.

Białko PRL ulega często glikozylacji, co wydaje się zmniejszać jego aktywność biologiczną. Podobnie dzieje się w przypadku fosforylacji. Deamidacja także obniża aktywność biologiczną w klasycznych testach (FREEMAN i współaut. 2000).

PRL może tworzyć dimery, polimery i agregaty. Formy te mają obniżoną aktywność biologiczną. Przypuszczalnie odgrywają one rolę w przechowywaniu, modyfikowaniu i uwalnianiu PRL (SINHA 1995).

RECEPTORY WIAŻĄCE PRL

PRL wiąże się z PRLR. Badania powinowactwa i analiza miejsc wiążących ludzką PRL wy-

kazały, że nie wiąże się ona z receptorem GH (GHR) (GOFFIN i współaut. 1996). Nie można

wykluczyć, że u innych gatunków PRL wiąże się z GHR, ale wydaje się mało prawdopodobne, aby mogła oddziaływać z innymi receptorami.

GEN PRLR, REGULACJA JEGO TRANSKRYPCJI I BUDOWA RECEPTORA

U człowieka gen PRLR jest położony na chromosomie 5. i zawiera 11 egzonów. Znaanych jest pięć alternatywnych pierwszych egzonów, oznaczanych od E1₁ do E1₅. Każdy z nich posiada swój tkankowo specyficzny promotor. Promotor egzonu E1₄ jest specyficzny dla mózgu, a E1₅ – dla mózgu, wątroby i nerek. Translacja rozpoczyna się w obrębie trzeciego egzonu, a więc wykorzystanie różnych promotorów oznacza tylko odmienną regulację transkrypcji i prowadzi do powstania takiego samego białka (TANAKA 2002).

PRLR należy do klasy I nadrodziny receptorów cytokinowych. Do tej samej rodziny należą GHR i jest on białkiem o najwyższej homologii do PRLR. Wskazuje na to porównanie sekwencji białka z bazami Swissprot i TREMBL programem localblast z pakietu GCG.

Znanych jest kilka form PRLR, które powstają w wyniku alternatywnego cięcia i składania oraz obróbki proteolitycznej. Najbardziej rozpowszechnione są trzy – krótka, średnia i długa. Formy te mają jednakowe domeny zewnątrzkomórkowe i śródbłonowe, a różnią domenami wewnątrzkomórkowymi (FREEMAN i współaut. 2000). Istnieje też rozpuszczalna forma PRLR (czyli PRL-bp), pozbawiona domeny śródbłonowej i wewnątrzkomórkowej.

Różne formy PRLR nie są prawdopodobnie równocenne pod względem funkcjonalnym. Mogą uczestniczyć w różnych szlakach przekazywania sygnału i powodować silniejszą aktywację jednej z tych dróg (CLEVINGER i KLINE 2001).

PRL-bp nie pośredniczy w przekazywaniu sygnału, ale może wiązać ligand (CLEVINGER i KLINE 2001). Przypisuje się mu rolę w transportowaniu PRL, np. do mleka czy do płynu mózgowo-rdzeniowego poprzez splot naczyniówkowy (BOLE-FEYSOT i współaut. 1998). PRL-bp jest obecne w krwi i wiąże około jednej trzeciej PRL we krwi (CLEVINGER i KLINE 2001). Możliwe, że podobnie jak białko wiążące GH (CLARK i współaut. 1996), PRL-bp potęguje działanie PRL poprzez zwiększanie jej czasu półtrwania.

LIGANDY ŁĄCZĄCE SIĘ Z PRLR

Niewiele wiadomo o tym, jakie inne niż PRL ligandy mogą wiązać się efektywnie z PRLR. Na podstawie homologii sekwencji można wytypować dwa pokrewne PRL hormony – GH i PL. Ludzki GH ma zdolność wiązania się z PRLR. Z PRLR wiąże się też PL. Brak dowodów, że przekazywanie sygnału zależy od rodzaju liganda (GOFFIN i współaut. 2002). Prawdopodobnie GH i PL mogą kompensować niedobór PRL u zwierząt pozbawionych operacyjnie przysadki mózgowej (hipofizektomizowanych). Obserwacja, że u nokautów pod względem genu PRL niedobory są słabiej zarysowane niż u nokautów PRLR jest zgodna z tą hipotezą. Nie ma informacji o specyficzności PRLR i GHR u innych zwierząt, ale porównania sekwencji miejsc wiążących tych receptorów u różnych gatunków ssaków sugerują, że interakcje te zależą od gatunku (GOFFIN i współaut. 2002).

Heterodimer PRLR i GHR jest prawdopodobnie receptorem dla PL. PL łączy się z domenami zewnątrzkomórkowymi GHR i PRLR w stosunku 1:1 i tworzy z nimi kompleks. PL w komórkach kotransfekowanych GHR i PRLR aktywuje transkrypcję genu reporterowego (HERMAN i współaut. 2000). Przy pomocy mikroskopii FRET (ang. fluorescence resonance energy transfer) udowodniono, że PL stymuluje heterodimeryzację GHR i PRLR na powierzchni błon komórkowych żywych komórek. Heterodimeryzacja GHR i PRLR wywołuje fosforylację białek Stat1 i Stat3 (BIENER i współaut. 2003). Dotychczas nie udało się wyizolować ani sklonować specyficznego receptora dla PL.

PRZEKAZYWNICTWO SYGNAŁU

W wyniku przyłączenia liganda do receptora powstaje kompleks ligand-receptor. Aktywację kompleksu powoduje dołączenie się drugiego receptora. Związane konstytutywnie z podjednostkami receptora cząsteczki kinazy tyrozynowej Jak2 ulegają fosforylacji. Powoduje to aktywację Jak2 i fosforylację reszt tyrozynowych wewnątrzkomórkowej domeny długiej formy PRLR (CLEVINGER i KLINE 2001).

Długa forma receptora, aktywowana przez fosforylację reszt tyrozynowych, łączy się z białkami Stat. W przypadku krótkiej formy receptora nie dochodzi do fosforylacji reszt tyro-

zynowych. Białka z liczącej pięciu członków rodziny Stat są głównymi uczestnikami transdukcji sygnału receptorów cytokinowych. Ulegają one fosforylacji i mogą tworzyć homo- (dwa ufosforylowane białka) lub heterodimery (białko ufosforylowane wiąże się z nieufosforylowanym). Dimery białek Stat są przenoszone do jądra, gdzie regulują transkrypcję różnych genów łącząc się z tzw. sekwencjami aktywowanymi przez γ -interferon (GAS) (FREEMAN i współaut. 2000).

PRLR może też uczestniczyć w innych drogach transdukcji sygnału. Ufosforylowane tyrozyny mogą służyć jako miejsca przyłączenia białek adaptorowych (Shc/Grb2/SOS) łączących receptor z kaskadą kinazy białka aktywowanego przez mitogen (MAPK). Możliwe jest też uczestnictwo w kaskadach kinaz c-src i Fyn (FREEMAN i współaut. 2000).

ROZMIESZCZENIE PRL W MÓZGU

Dane o obecności PRL w mózgu pochodzą niemal wyłącznie z badań na szczurach. W mózgu samic i samców ciała neuronów zawierające materiał PRL-ir obserwowano jedynie w podwzgórzu (HARLAN i współaut. 1989, SIAUD i współaut. 1989, PAUT-PAGANO i współaut. 1993). Występują one przede wszystkim w jego grzbietowo-bocznej części. Barwią się głównie okolice sklepienia podwzgórza: jądro okołosklepieniowe, jądra grzbietowo-pośrodkowe i boczne podwzgórze (PAUT-PAGANO i współaut. 1993).

We włóknach nerwowych materiał PRL-ir jest obecny w wielu obszarach mózgu (Tabela 1). U szczura nie znaleziono go tylko w nielicznych strukturach. Włókna PRL-ir dochodzą do prawie wszystkich jąder podwzgórza, najwięcej jest ich w przednim i bocznym podwzgórzu (PAUT-PAGANO i współaut. 1993). Dochodzą też do wyniosłości pośredkowej (SIAUD i współaut. 1989, PAUT-PAGANO i współaut. 1993).

We wzgórzu włókna prolaktynowe biegną przyśrodkowo, unerwiają jądra przykomorowe i okołokomorowe. Brzusznie wchodzi do śródmózgowia przez jądra przedspoidłowe, jądra przedpokrywowe oliwkowe i jądra przypęczkowe (PAUT-PAGANO i współaut. 1993).

Od przedniego podwzgórza włókna PRL-ir biegną do pola przedwzrokowego bocznego i jądra łożyskowego prążka krańcowego w kresomózgowiu. Stąd rozchodzą się w trzech kierunkach: (1) przednim do przyśrodkowych obszarów przedczołowych przez jądra węchowe i korę obręczy, (2) bocznym do ciała migdałowatego i kory gruszkowatej, (3) grzbietowym przez przyśrodkowy obszar przedwzrokowy do jąder przegrody. Bardzo nieliczne barwiące się włókna występują w grzbietowym i

brzusznym hipokampie (PAUT-PAGANO i współaut. 1993).

W pniu mózgu projekcja włókien immunoreaktywnych ze wzgórza przechodzi do śródmózgowia i gęsto unerwia obszar wewnątrz-wzgórkowy, istotę szarą okołowodociągową i okołokomorową czwartej komory. Bardzo gęste unerwienie mają niektóre struktury pnia mózgu (grzbietowe jądro szwu, miejsce sinawe). Barwi się wiele włókien w jądrze pasma samotnego, które w warstwie ependymalnej (wyściółce) zwartej komory kontaktują się z płynem mózgowo-rdzeniowym. Nieliczne włókna występują w tworze siatkowatym (PAUT-PAGANO i współaut. 1993).

Materiał PRL-ir w cytoplazmie ciał neuronów występuje w granulach. Badania z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronicznej wykazały obecność immunoreaktywnego materiału w aksonach, co sugeruje, że PRL jest transportowana aksonalnie. Materiał PRL-ir jest gromadzony w zakończeniach nerwowych (NISHIZUKA i współaut. 1990). Natomiast niewiele wiadomo o obecności PRL w komórkach glejowych.

W literaturze brak informacji o rozmieszczeniu PRL w mózgu innych ssaków, a dane o pozostałych kręgowcach opierają się na pojedynczych doniesieniach. Wstępne obserwacje prowadzone w Zakładzie Fizjologii Zwierząt Kręgowych UW na chomiku dżungarskim (*Phodopus sungorus*) wykazały szersze rozmieszczenie PRL-ir ciał komórek niż u szczura (LASKOWSKA 2003).

WYTWARZANIE CZY GROMADZENIE?

Obecność PRL w danym narządzie czy obszarze mózgu nie oznacza, że została ona tam

wyprodukowana. W mózgu PRL może być transportowana z krwi – poprzez spłot naczyńiówkowy (z udziałem PRL-bp) – do płynu mózgowo-rdzeniowego i tam pobierana przez neurony. Może też być przenoszona w przeciwną stronę: z płynu mózgowo-rdzeniowego do krwi. Tłumaczyć to może obfite występowanie materiału PRL-ir w splocie naczyńiówkowym (PAUT-PAGANO i współaut. 1993).

Bardziej miarodajne są badania obecności mRNA dla PRL opierające się na technice RT PCR. Użycie tej bardzo czułej metody jest konieczne ze względu na niewielką ilość wystę-

pującego w mózgu mRNA. RT PCR jest jednak metodą o znacznie mniejszej rozdzielczości niż np. hybrydyzacja *in situ*.

U szczura mRNA dla PRL jest znajdowane w podwzgórzu (Tabela 1), gdzie obserwowano immunoreaktywne ciała komórek. Jest także obserwowane w wielu innych rejonach mózgu szczura, gdzie znaleziono jedynie włókna PRL-ir (np. we wzgórzu). Sugeruje to, że nie tylko białko PRL, ale i mRNA może być transportowane aksonalnie (EMANUELE i współaut. 1992).

Tabela 1. Rozmieszczenie PRL, PRLR i ich mRNA w mózgu szczura (wg BEN-JONATHAN i współaut. 1996, EMANUELE i współaut. 1992, OUHTITA i współaut. 1993).

Obszar mózgu	PRL		PRLR	
	mRNA	białko	mRNA	białko
Kresomózgowie:				
Opuszka węchowa			0 R	
Kora mózgowa	0	0-1 B,I,R	1P,S	0-1 A
Hipokamp		1-2 B,I,R,W		0-1 A
Ciało migdałowe	1 P	1-2 I,R		
Przegroda		0-1 I,R		
Skorupa jądra ogoniastego	1 P	0-1 B,I		0-1 A
Międzymózgowie:				
Wzgórze	2 P	0-1 B,I,R		
Podwzgórze	2-3 N,P,S	3 B,I,R,W	2 P,S	1-2 A
Pień mózgu:				
Śródmózgowie	0 P	0-1 I		
Most	2 N	1-2 B,I,R,W		
Mózdzek	2 P	0-1 B,R		0-1 A
Rdzeń kręgowy		1-2 B,I,R		0-1 A
Narządy okołokomorowe:				
Pole najdalsze		2-3 I		
Narząd naczyniowy prążka krańcowego		2-3 I		
Narząd podspoidłowy		2-3 I		
Narząd podsklepieniowy		1-2 I		0-1 A
Splot naczyńiówkowy		2-3 I	2-3 P,S	3 A,I,W

Skróty: B – test biologiczny, I – immunocytochemia, N – hybrydyzacja Northern, P – RT-PCR, R – test radioimmunologiczny, S – Southern blot, W – Western blot, A – wiązanie znakowanej PRL. Poziomy wykrywalności: 0 – niewykrywalne, 1 – niskie, 2 – średnie, 3 – silne. Pusta komórka oznacza brak danych.

CHARAKTERYSTYKA PRL WYTWARZANEJ W
MÓZGU I REGULACJA JEJ PRODUKCJI

mRNA PRL wytwarzane w mózgu jest identyczne z przysadkowym (WILSON i współaut. 1992). Nie wyklucza to jednak posttranslacyjnych modyfikacji i powstawania różnych wariantów białka PRL. Warianty te mogą mieć różne funkcje biologiczne (SINHA 1995), a modyfikacje posttranslacyjne mogą uczestniczyć w modulacji aktywności PRL w mózgu. Nie są znane odrębne mechanizmy regulacji produkcji tych form. Niewiele też wiadomo o ich rozmieszczeniu w mózgu.

Za główny czynnik biorący udział w regulacji syntezy PRL w mózgu jest uważany estradiol. Samce mają niższy poziom PRL w pod-

wzgórzu. Po hipofizektomii poziom ten obniża się jedynie u samic (DE VITO 1988). W mózgu zwiększoną produkcję mRNA dla PRL powodują wazoaktywny peptyd jelitowy (VIP) i polipeptyd aktywujący przysadkową cyklazę adenylanową (PACAP) (BREDOW i współaut. 1994). Uwalnianie PRL jest stymulowane przez czynniki wywołujące depolaryzację oraz przez angiotensynę II, ale nie przez hormon uwalniający tyreotropinę (TRH) (DE VITO i współaut. 1991). Tak więc nie wszystkie czynniki wpływające na uwalnianie PRL przysadkowej mają takie działanie również w mózgu, co sugeruje istnienie odrębnych mechanizmów regulacji. Na poziomie molekularnym takie mechanizmy nie są jednak znane.

ROZMIESZCZENIE I CHARAKTERYSTYKA PRLR W MÓZGU

U szczura obszary zawierające PRLR są znacznie mniej liczne niż regiony zawierające materiał PRL-ir. W splocie naczyniówkowym wykryto najwięcej materiału immunoreaktywnego względem PRLR (PRLR-ir) (PI i GRATTAN 1998). Występowało tam też najsilniejsze wiązanie znakowanej PRL (MUSTAFA i współaut. 1995). Materiał PRLR-ir był obserwowany w jądrach podwzgórza: łukowatym, okołokomorowym, jądrze nadwzrokowym i nadskrzyżowaniowym oraz w obszarze przedwzrokowym – w jądrach przysadkowych przednim i brzuszynym (PI i GRATTAN 1998).

mRNA dla PRLR odnaleziono w splocie naczyniówkowym, obszarze przedwzrokowym, brzuszno-przysadkowym podwzgórzu, korze mózgowej i w moście – rdzeniu przedłużonym (PI i VOOGT 2002).

Wyniki dotyczące rozmieszczenia długiej i krótkiej formy PRLR w mózgu są rozbieżne. OUHTIT i współaut. (1993) stwierdzili, za pomocą hybrydyzacji *in situ* w splocie naczyniówkowym i podwzgórzu, obecność równych ilości mRNA obu form. Wyniki innego zespołu (NAGANO i KELLY 1994) z użyciem RT-PCR wskazują na dominację mRNA formy długiej w korze mózgowej, splocie naczyniówkowym, podwzgórzu i przysadce. Uzyskane za pomocą tej samej techniki wyniki PI i GRATTAN (1998) pokazują jednak, że w splocie naczyniówkowym jest więcej mRNA długiej formy receptora, a zbadane przez nich jądra podwzgórza różniły się pod tym względem między

sobą. Według najnowszych doniesień (BAKOWSKA i MORRELL 2003) w mózgu występuje więcej formy długiej receptora, a w poszczególnych strukturach mózgu krótka i długa forma PRLR występuje w różnych proporcjach. Zróżnicowana ekspresja form receptora ma prawdopodobnie wpływ na jego funkcję w mózgu.

Rozmieszczenie receptorów jest podobne u samców i samic, choć u samic ich gęstość jest większa (MUCCIOLI i współaut. 1991). Gęstość PRLR w mózgu wzrasta w czasie ciąży i laktacji. Rośnie immunoreaktywność w strukturach, w których występuje ona u samców i samic nie będących w ciąży. Barwienie pojawia się także w dodatkowych strukturach, np. korze mózgowej, istocie czarnej i wielu jądrach podwzgórza (PI i GRATTAN 1999). Jednym z regulatorów może być PRL, na co wskazywałyby wyniki uzyskane na limfocytach (DI CARLO i współaut. 1996). Ilość receptorów zmniejsza się w wyniku usunięcia jajników (owariektomii), a podanie estradiolu przywraca pierwotną gęstość PRLR (MUCCIOLI i współaut. 1991). Na poziomie transkrypcyjnym regulacja odbywa się prawdopodobnie dzięki elementom regulatorowym alternatywnych egzonów pierwszych, a zwłaszcza specyficznych dla mózgu egzonów E1₅ i E1₄. Regulacja ta może w zróżnicowany sposób zachodzić w różnych strukturach, co wykazano na przykładzie stymulacji transkrypcji genu PRLR wywołanej przez estrogen *in vivo* i *in vitro* (PI i współaut. 2003).

FUNKCJE PRL W MÓZGU

PRL JAKO NEUROMODULATOR

Istnieją dowody świadczące, że PRL pełni funkcje neuromodulacyjne. Duże jej ilości występują w zakończeniach nerwowych (NISHIZUKA i współaut. 1990). Substancje wywołujące depolaryzację błon powodują jej uwalnianie *in vitro* (BEN-JONATHAN i współaut. 1996). Wreszcie PRL moduluje aktywność pojedynczych neuronów i ma wpływ na zachowanie zwierząt.

Wpływ PRL dotyczy głównie zachowań związanych z rozmnażaniem. Podawanie dokomorowe PRL do ośrodkowego układu nerwowego zmniejsza libido u samców i samic, a wzmacnia zachowania służące opiece nad potomstwem. PRL podana obwodowo stymuluje wachlowanie jaj u ryb, zachowania gniazdowe i inkubację jaj u ptaków, karmienie młodych i wzmacnia pobieranie pokarmu (BEN-JONATHAN i współaut. 1996, GOFFIN i współaut. 2002). U samców trzech gatunków małp zaobserwowano wyższy poziom PRL u ojców niż u pozostałych samców, a różnice w czasie wydzielania PRL były związane z różnymi rolami samców tych gatunków w opiece nad młodymi (SCHRADIN i współaut. 2003).

Obniżanie ekspresji genu PRLR w mózgu poprzez podawanie dokomorowo antysensownego oligodeoksynukleotydu zwiększało zachowania sygnalizujące niepokój u szczurów. Dokomorowe podawanie PRL obniżało poziom tych zachowań (TORNER i współaut. 2001), co sugeruje, że PRL i inne ligandy oddziałujące z PRLR modulują odpowiedź na stres. U ludzi poddawanych różnym emocjom w stanie hipnozy obserwowano negatywną korelację między wydzielaniem PRL a wydzielaniem kortyzolu (SOBRINHO i współaut. 2003). Sugeruje to, że wydzielanie tych dwóch hormonów stanowi alternatywną odpowiedź na stres.

PRL przypisuje się też szereg innych funkcji związanych z zachowaniem, np. kontrola cyklu snu i czuwania (FREEMAN i współaut. 2000).

REGULACJA WYDZIELANIA
NEUROTANSMITERÓW I NEUROPEPTYDÓW

Jedną z najlepiej opisanych funkcji PRL wytwarzanej w mózgu jest regulacja wydzielania PRL przez przysadkę. Oddziałuje na tuberoinfundibularne neurony w jądrze łukowatym, które wydzielają dopaminę. Wzrost stężenia

PRL wzmacnia, a jej spadek hamuje wytwarzanie dopaminy (ARBOGAST i VOOGT 1991).

PRL stymuluje wydzielanie wazopresyny przez neurony jąder przykomorowych i nadwzrokowych podwzgórza na drodze auto- i parakrynej (MEJIA i współaut. 2003).

PRL hamuje także wydzielanie GnRH i wywiera efekt antygonadotropowy, co objawia się obniżeniem częstotliwości pulsów wydzielania LH (BEN-JONATHAN i współaut. 1996).

INNE FUNKCJE

PRL ma prawdopodobnie wpływ na skład płynu mózgowo-rdzeniowego analogicznie do osmoregulacyjnych funkcji, które pełni u niższych kręgowców. Zarówno PRL i PRLR są znajdowane w splocie naczyniówkowym, który odpowiada za wydzielanie i kontrolę składu płynu mózgowo-rdzeniowego (Tabela 1).

Dobrze udokumentowana jest mitogenna aktywność PRL. Dotyczy ona także astrocytów, które są najliczniejszymi komórkami w mózgu i zachowują zdolność do namnażania u dorosłych zwierząt (BEN-JONATHAN i współaut. 1996).

ZABURZENIA WYDZIELANIA PRL

Głównym zaburzeniem związanym z wydzielaniem PRL jest hiperprolaktynemia, która może być spowodowana przez gruczolaki przysadki mózgowej, choroby podwzgórza, niedoczynność tarczycy lub kory nadnercza. Przyczyną mogą być też inne schorzenia, a także stres. Hiperprolaktynemia rozwija się także jako efekt uboczny działania leków. Przede wszystkim są to typowe neuroleptyki stosowane w leczeniu psychoz (np. schizofrenii), gdyż hamują receptory dopaminowe. Obszerny przegląd tego zagadnienia można znaleźć w pracy MEANEY i O'KEANE (2002).

Hiperprolaktynemia wpływa przede wszystkim na dysfunkcję układu rozrodczego – powoduje m. in. zanik miesiączki u kobiet, impotencję i bezpłodność u mężczyzn (GOFFIN i współaut. 2002). Obserwuje się też zaburzenia dotyczące układu nerwowego – zanik popędu płciowego czy skłonność do lęków i depresji. Więcej informacji na temat tego schorzenia można znaleźć w pracy MATUSZEK i NOWAKOWSKIEGO (2003).

JAKA JEST RZECZYWISTA ROLA PRL W MÓZGU?

Mnogość istotnych funkcji biologicznych przypisywanych PRL budzi wątpliwości. Skoro PRL bierze udział w regulacji licznych kluczowych dla organizmu procesów, to zwierzęta pozbawione PRL lub PRLR powinny ginąć we wczesnych stadiach rozwoju lub przejawiać poważne zaburzenia. Tymczasem, zarówno nokauty genetyczne pod względem genu PRL, jak i PRLR nie są w poważny sposób upośledzone, rozwijają się i funkcjonują normalnie (GOFFIN i współaut. 2002). Nie istnieją też poważne choroby spowodowane niedoborem PRL – jedynym znanym zaburzeniem związanym z PRL jest hiperprolaktynemia.

Z drugiej strony możliwa jest kompensacja braku PRL przez inne hormony oddziałujące z PRLR – GH i PL. Prawdopodobnie kompensacja taka nie może zachodzić u dorosłego zwie-

rzęcia, gdyż pozbawienie szczurów PRL przez hipofizektomię i jednoczesne podawanie przeciwciał przeciwko PRL powoduje śmierć (NAGY i BERCZI 1991).

Wszystkie te czynniki powodują, że niezwykle trudno ocenić fizjologiczne znaczenie PRL. Trudności te dotyczą również mózgu i wskazują, że do opisywanych funkcji PRL w mózgu należy podchodzić z dużą ostrożnością. Być może fizjologiczne funkcje PRL są mniej liczne niż pierwotnie przypuszczano. Możliwe też, że regulacja przez PRL wielu procesów jest bardzo subtelna i trudno będzie ją poznać.

Serdecznie dziękuję Pani prof. dr hab. Jolancie Sotowskiej-Brochockiej z Zakładu Fizjologii Zwierząt Kręgowych UW za pomoc w przygotowaniu tego artykułu i wiele cennych uwag.

THE PROLACTINERGIC SYSTEM? PRODUCTION AND ROLE OF PROLACTIN IN THE BRAIN

S u m m a r y

Prolactin is a polypeptide hormone that undergoes many posttranslational modifications which modulate its biological functions. Functions of prolactin can be also modulated by different forms of the prolactin receptor. Although the main source of the hormone is the anterior pituitary gland, it is produced in many tissues, e.g. in the immune system and brain. Both the hormone and its mRNA were detected in many regions of the rat brain but prolactin-immunoreactive neuronal cell bodies were observed only in the hypothalamus. Prolactin receptors were also de-

tected in many brain regions but, surprisingly, were not as widely distributed as prolactin. Brain regions differ in proportions of prolactin receptor forms. These observations may explain why prolactin play many functions in the brain (e.g. neuromodulation, regulation of neurotransmitter release). As prolactin and prolactin receptor knockout mice do not develop any serious defects in the brain functioning, it is hypothesized that prolactin regulation is subtle and also may be partially compensated by growth hormone and placental lactogen.

LITERATURA

- ARBOGAST L. A., VOOGT J. L., 1991. *Hyperprolactinemia increases and hypoprolactinemia decreases tyrosine hydroxylase messenger ribonucleic acid levels in the arcuate nuclei, but not substantia nigra or zona incerta*. Endocrinology 128, 997–1005.
- BAKOWSKA J. C., MORRELL J. I., 2003. *The distribution of mRNA for the short form of the prolactin receptor in the forebrain of the female rat*. Mol. Brain Res. 116, 50–58.
- BEN-JONATHAN N., MERSHON J. L., ALLEN D. L., STEINMETZ R. W., 1996. *Extrapituitary prolactin: distribution, regulation, functions, and clinical aspects*. Endocrine Rev. 17, 639–669.
- BERWAER M., MARTIAL J. A., DAVIS J. R. E., 1994. *Characterization of an up-stream promoter directing extrapituitary expression of the human prolactin gene*. Mol. Endocrinol. 8, 635–642.
- BIENER E., MARTIN C., DANIEL N., FRANK S. J., CENTZONE V. F., HERMAN B., DJANE J., GERTLER A., 2003. *Ovine placental lactogen-induced heterodimerization of ovine growth hormone and prolactin receptors in living cells is demonstrated by FRET microscopy and leads to prolonged phosphorylation of STAT1 and STAT3*. Endocrinology 144, 3532–3540.
- BOLE-FEYSOT CH., GOFFIN V., EDERY M., BINART N., KELLY P. A., 1998. *Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice*. Endocrine Rev. 19, 225–268.
- BREDOW S., KACSOH B., OBAL Jr F., FANG J., KRUEGER J. M., 1994. *Increase of prolactin mRNA in the rat hypothalamus after intracerebroventricular injection of VIP or PACAP*. Brain Res. 600, 301–308.
- CLARK R. G., MORTENSEN D. L., CARLSON M. L. S., SPENCER S. A., SPENCER S. A., MULKERRIN M., MOORE J., CUNNINGHAM B. C., 1996. *Recombinant human growth hormone (GH)-binding protein enhances the growth-promoting activity of human GH in the rat*. Endocrinology 137, 4308–4315.
- CLEVENGER C. V., KLINE J. B., 2001. *Prolactin receptor signal transduction*. Lupus 10, 706–718.

- DE VITO W. J., 1988. *Distribution of immunoreactive prolactin in the male and female rat brain: effects of hypophysectomy and intraventricular administration of colchicine*. *Neuroendocrinology* 47, 284–289.
- DE VITO W. J., STONE S., AVAKIAN C., 1991. *Stimulation of hypothalamic prolactin release by veratridine and angiotensin II in the female rat: effect of ovariectomy and estradiol administration*. *Neuroendocrinology* 54, 391–398.
- DI CARLO R., BOLE-FEYSOT CH., GUALILLO O., MELI R., NAGANO M., KELLY P. A., 1996. *Regulation of prolactin receptor mRNA expression in peripheral lymphocytes in rats in response to changes in serum concentrations of prolactin*. *Endocrinology* 136, 4713–4716.
- EMANUELE N. V., JURGENS J. K., HALLORAN M. M., TENTLER J. J., LAWRENCE A. M., KELLEY M. R., 1992. *The rat prolactin gene is expressed in brain tissue: detection of normal and alternatively spliced prolactin messenger RNA*. *Mol. Endocrinol.* 6, 35–42.
- FREEMAN M. E., KANYICSKA B., LERANT A., NAGY G., 2000. *Prolactin: structure, function and regulation of secretion*. *Physiol. Rev.* 80, 1523–1631.
- GOFFIN V., SHIVERICK K. T., KELLY P. A., MARTIAL J. A., 1996. *Sequence-function relationships within the expanding family of prolactin, growth hormone, placental lactogen and related proteins in mammals*. *Endocrine Rev.* 17, 385–410.
- GOFFIN V., BINART N., TOURAINE P., KELLY P. A., 2002. *Prolactin: the new biology of an old hormone*. *Annu. Rev. Physiol.* 64, 47–67.
- HARLAN R. E., SHIVERS B. D., FOX S. R., KAPLOVE K. A., SCHACHTER B. S., PFAFF D. W., 1989. *Distribution and partial characterization of immunoreactive prolactin in the rat brain*. *Neuroendocrinology* 49, 7–22.
- HERMAN A., BIGNON C., DANIEL N., GROSCLAUDE J., GERTLER A., DJIANE J., 2000. *Functional heterodimerization of prolactin and growth hormone receptors by ovine placental lactogen*. *J Biol. Chem.* 275, 6295–6301.
- LASKOWSKA M., 2003. *Występowanie prolaktyny w ośrodkowym układzie nerwowym u samic chomików dzungarskich (Phodopus sungorus) hodowanych w różnych fotoperiodach (16L:8D i 8L:16D)*. Praca magisterska wykonana w Zakładzie Fizjologii Zwierząt Kęgowych UW.
- MATUSZEK B., NOWAKOWSKI A., 2003. *Hiperprolaktynemia – częsty problem kliniczny*. *Medycyna Rodzinna* 22.
- MEANEY A. M., O'KEANE V., 2002. *Prolactin and schizophrenia: clinical consequences of hyperprolactinaemia*. *Life Sci.* 71, 979–992.
- MEJIA S., TORNER L., JEZIORSKI M. C., GONZALEZ C., MORALES M. A., DE LA ESCALERA G. M., CLAPP C., 2003. *Prolactin and 16K prolactin stimulate release of vasopressin by a direct effect on hypothalamo-neurohypophyseal system*. *Endocrine* 20, 155–162.
- MUCCIOLI G., GHÉ C., DI CARLO R., 1991. *Distribution and characterization of prolactin binding sites in the male and female rat brain: effects of hypophysectomy and ovariectomy*. *Neuroendocrinology* 53, 47–53.
- MUSTAFA A., NYBERG F., BOGDANOVIC N., ISLAM A., SULIMAN I., LINDGREN U., ROOS P., ADEM A., 1995. *Prolactin binding sites in rat brain and liver: effects of long-term ovariectomy and ovarian steroids*. *Neurosci. Lett.* 200, 179–182.
- NAGANO M., KELLY P. A., 1994. *Tissue distribution and regulation of rat prolactin receptor gene expression – quantitative analysis by polymerase chain reaction*. *J Biol. Chem.* 269, 13337–13345.
- NAGY E., BERCZI I., 1991. *Hypophysectomized rats depend on residual prolactin for survival*. *Endocrinology* 128, 2776–2784.
- NISHIZUKA M., SHIVERS B. D., LERANTH C., PFAFF D., 1990. *Ultrastructural characterization of prolactin-like immunoreactivity in rat medial basal hypothalamus*. *Neuroendocrinology* 51, 249–254.
- OUHTIT A., MOREL G., KELLY P. A., 1993. *Visualization of gene expression of short and long forms of prolactin receptor in the rat*. *Endocrinology* 133, 135–144.
- PAUT-PAGANO L., ROKY R., VALATX J.-L., KITAHAMA K., JOUVET M., 1993. *Anatomical distribution of prolactin-like immunoreactivity in the rat brain*. *Neuroendocrinology* 58, 682–695.
- PI X. J., GRATAN D. R., 1998. *Differential expression of the two forms of prolactin receptor mRNA within microdissected hypothalamic nuclei of the rat*. *Mol. Brain Res.* 59, 1–12.
- PI X. J., GRATAN D. R., 1999. *Increased prolactin receptor immunoreactivity in the hypothalamus of lactating rats*. *J Neuroendocrinol.* 11, 693–705.
- PI X., VOOGT J. L., 2002. *Sex difference and estrous cycle: expression of prolactin receptor mRNA in rat brain*. *Mol. Brain Res.* 103, 130–139.
- PI X., ZHANG B., LI J., VOOGT J. L., 2003. *Promoter usage and estrogen regulation of prolactin receptor gene in the brain of the female rat*. *Neuroendocrinology* 77, 187–197.
- SANTIAGO-MORENO J., GONZÁLEZ-BULNES A., GÓMEZ BRUNET A., DEL CAMPO A., PICAZO R., LÓPEZ SEBASTIÁN A., 2000. *Nocturnal variation of prolactin secretion in the Mouflon (Ovis gmelini musimon) and domestic sheep (Ovis aries): seasonal changes*. *Anim. Reprod. Sci.* 64, 211–219.
- SCHRADIN C., REEDER D. M., MENDOZA S. P., ANZENBERGER G., 2003. *Prolactin and paternal care: comparison of three species of monogamous new world monkeys (Callicebus cupreus, Callithrix jacchus, and Callimico goeldii)*. *J Comp. Psychol.* 117, 166–175.
- SIAUD P., MANZONI O., BALMFREZOL M., BARBANEL G., ASSENMACHER I., ALONSO G., 1989. *The organization of prolactin-like-immunoreactive neurons in the rat central nervous system*. *Cell Tiss. Res.* 255, 107–115.
- SINHA Y. N., 1995. *Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance*. *Endocrine Rev.* 16, 354–369.
- SOBRINHO L. G., SIMOES M., BARBOSA L., RAPOSO J. F., PRATAS S., FERNANDES P. L., SANTOS M. A., 2003. *Cortisol, prolactin, growth hormone and neurovegetative responses to emotions elicited during an hyp-*

- noidal state*. Psychoneuroendocrinology 28, 1–17.
- TANAKA M., 2002. *Brain-specific control of prolactin receptor gene expression correlated with induction of maternal behavior in the rat*. J Reprod. Dev. 48, 103–110.
- TORNER L., TOSCHI N., POHLINGER A., LANDGRAF R., NEUMANN I. D., 2001. *Anxiolytic and anti-stress effects of brain prolactin: improved efficacy of antisense targeting of the prolactin receptor by molecular modeling*. J Neurosci. 21, 3207–3214.
- WILSON D. M., EMANUELE N. V., JURGENS J. K., KELLEY M. R., 1992. *Prolactin message in brain and pituitary of adult male rats is identical: PCR cloning and sequencing of hypothalamic prolactin cDNA from intact and hypophysectomized adult male rats*. Endocrinology 131, 2488–2490.