

Hormonski nadzor nad razvojem mliječne žlijezde i proizvodnjom mlijeka

Nikolić, Kristian

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:502525>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-01**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

KRISTIAN NIKOLIĆ

**Hormonski nadzor nad razvojem mliječne žlijezde
i proizvodnjom mlijeka**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2021.

Diplomski rad je izrađen u Zavodu za fiziologiju i radiobiologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Predstojnik: prof. dr. sc. Marinko Vilić

Mentorice:

Prof. dr. sc. Jasna Aladrović

Doc. dr. sc. Lana Pađen

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Izv. prof. dr. sc. Martina Lojkić
2. Prof. dr. sc. Jasna Aladrović
3. Doc. dr. sc. Lana Pađen

Zahvala

Veliku zahvalnost dugujem mentoricama, prof. dr. sc. Jasni Aladrović i doc. dr. sc. Lani Pađen na strpljenju, pomoći, susretljivosti i ugodnoj atmosferi za vrijeme pisanja diplomskog rada.

Zahvaljujem također prijateljima i kolegama koji su bili tu za mene u vrijeme studentskih dana i činili mi život boljim, lakšim i ugodnijim.

Posebno zahvaljujem svojim roditeljima koji su uvijek bili tu za mene, podupirali me za vrijeme cjelokupnog školovanja i podržavali me u odabiru mog životnog puta i struke koja me interesira.

Popis slika i tablica

Tablica 1. Položaj sisa u nekih vrsta sisavaca (SJAASTAD i sur., 2016)

Slika 1. Prikaz razvoja tkiva mliječne žlijezde (SJAASTAD i sur., 2016)

Slika 2. Molekula prolaktina

(https://www.google.com/search?q=prolactin%20molecule&client=ms-android-dt-hr-revc&source=lnms&prmd=ivn&sxsrf=ALeKk00SDRYQkvnOspO-dhwxcp4L_1fI1A%3A1624534268504&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwj-hf_flbDxAhW7gf0HHeuOD9gQ_AUoAXoECAIQAQ&biw=412&bih=682&dpr=3.5#imgrc=o7J3GDDehCPvq8M)

Slika 3. Molekula oksitocina

https://www.google.com/search?q=oxytocin%20molecule&client=ms-android-dt-hr-revc&source=lnms&prmd=ivn&sxsrf=ALeKk00V_zE6KxIhuc-a2XpWxwjqsycFWw%3A1624534442076&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEw7OCylrDxAhXEhv0HHbuHAj4Q_AUoAXoECAIQAQ&biw=412&bih=682#imgrc=k2dcr0G8LciivM

Slika 4. Prikaz koncentracije oksitocina u plazmi za vrijeme stimulacije sisa i sisanja (SJAASTAD i sur., 2016)

Tablica 2. Hormoni bitni za razvoj mliječne žlijezde (NEVILLE i sur., 2002)

Tablica 3. Sastav mlijeka raznih vrsta životinja (GARTNER i sur., 2015)

Tablica 4. Omjer bjelančevina u mlijeku različitih vrsta životinja (ROY i sur., 2020)

Tablica 5. Koncentracija imunoglobulina u kolostrumu i mlijeku (MEHRA i sur., 2006)

Slika 5. Prikaz refleksa istjecanja mlijeka u deve (KASKOUS, 2018)

Sadržaj:

1. UVOD	1
2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA	2
2.1. Razvoj mliječne žlijezde	2
2.1.1. Razvoj tijekom embrionalnog i fetalnog života	2
2.1.2. Razvoj od rođenja do odrasle dobi	3
2.1.3. Razvoj tijekom graviditeta i laktacije	4
2.2. Promjene u tkivu mliječne žlijezde tijekom laktacije	5
2.3. Involicija mliječne žlijezde nakon odbića	5
2.4. Hormonska kontrola stvaranja i izlučivanja mlijeka	5
2.4.1. Prolaktin	6
2.4.2. Oksitocin	8
2.4.2.1. Načini otpuštanja hormona kao odgovor na sisanje	8
2.4.3. Ostali hormoni bitni za laktaciju	11
2.5. Održavanje proizvodnje mlijeka	12
2.6. Sinteza sastojaka mlijeka	14
2.6.1. Epitelne stanice mliječne žlijezde	15
2.6.2. Sastojci mlijeka	16
2.6.2.1. Laktoza	16
2.6.2.2. Mliječna mast	16
2.6.2.2.1. Stvaranje acetil-CoA	18
2.6.2.2.2. Produljivanje ugljikova lanca	18
2.6.2.2.3. Stvaranje dvostrukih veza	19
2.6.2.2.4. Stvaranje triacilglicerola	19
2.6.2.3. Bjelančevine	19
2.6.2.3.1. Kazeini	20
2.6.2.3.2. Laktalbumin i laktoglobulin	21
2.6.2.3.3. Imunoglobulini	21
2.6.2.3.4. Enzimi	22
2.6.2.4. Ioni mlijeka	22
2.7. Otpuštanje mlijeka iz mliječne žlijezde	23
2.8. Laktacijska krivulja	24
2.9. Metabolizam tijekom laktacije	24
3. ZAKLJUČCI	26
4. LITERATURA	27
6. SUMMARY	32
7. ŽIVOTOPIS	33

1. UVOD

Razvoj mladunčadi sisavaca u neonatalnom razdoblju ovisi o mlijeku koje se počinje proizvoditi u mliječnoj žlijezdi krajem bređosti. Endokrini sustav koordinira razvoj mliječne žlijezde s reproduktivnim razvojem i potrebom potomaka za mlijekom. Rast i razvoj mliječne žlijezde počinje u prenatalnom razdoblju. Tijekom puberteta, pod utjecajem cikličnih promjena na jajnicima, raste brže nego drugi dijelovi tijela ženke. U većine domaćih životinja razvoj vimena postaje vidljiv sredinom bređosti, a proizvodnja mlijeka počinje krajem bređosti i rezultira sekrecijom kolostruma. Hormoni koji reguliraju rast i razvoj mliječne žlijezde, proizvodnju i otpuštanje mlijeka su reproduktivni, metabolički hormoni i hormoni mliječne žlijezde (NEVILLE i sur., 2002). Hormoni koji reguliraju mamogenezu su hormon rasta, inzulinu sličan čimbenik rasta 1 (eng. *Insulin-like growth factor-1*, IGF-1), glukokortikoidi, hormoni štitaste žlijezde i spolni hormoni. Rast i razvoj mliječne žlijezde tijekom bređosti pod utjecajem je progesterona, estrogena, prolaktina, hormona rasta, placentalnog laktogena, inzulina i hormona probavnog sustava gastrina, sekretina i kolecistokinina (SVENNERSTEN-SJAUNJA i OLSSON, 2005). Proizvodnja mlijeka pod utjecajem je prolaktina, hormona rasta i čimbenika rasta, inzulina i kortikosteroida. U hormone mliječne žlijezde ubrajamo hormon rasta, prolaktin, hormon sličan paratireoidnom hormonu (eng. *Parathyroid hormone-related protein*, PTHrP) i leptin (NEVILLE i sur., 2002).

Hormoni djeluju na tkiva mliječne žlijezde koja proizvode, pohranjuju i otpuštaju mlijeko stoga je cilj rada dati pregled hormonske regulacije rasta i razvoja mliječne žlijezde i proizvodnje mlijeka tijekom laktacije.

2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. Razvoj mliječne žlijezde

Razvoj mliječne žlijezde do početka stvaranja mlijeka (laktacije) zove se mamogeneza. Kad laktacija jednom počne, traje sve dok se mliječna žlijezda prazni. Izrazito brz razvoj mliječne žlijezde možemo uočiti u prenatalnom razvoju, pubertetu i zrelosti.

2.1.1. Razvoj tijekom embrionalnog i fetalnog života

Tijekom embrionalnog života, razvoj mliječne žlijezde počinje kao zadebljanje ektoderma, u obliku mliječnih pruga koje se protežu od pazušnog do preponskog područja na ventralnoj tjelesnoj stijenci embrija (HENS i WYSOLMERSKI, 2005). Nakon njihove pojave kontinuitet samog nabora biva prekinut određenim brojem mliječnih pupoljaka, ovisno o vrsti (Tablica 1), koji rastu i naposljetku oblikuju funkcionalni dio mliječne žlijezde (MCGEADY i sur., 2014). Nakon toga sise započinju razvoj na površini životinje, razvijaju se sisni kanali, u vezivnom tkivu formiraju se masni jastučići u kojima se razvijaju mliječni kanalići, a naposljetku i alveole (MACIAS i HINCK, 2012). Sam ekskretorni provodni sustav, nastao od ektoderma, je potpuno razvijen do kraja druge trećine graviditeta (HURLEY, 2019). Kako je vidljivo iz Tablice 1 kod goveda razvijaju se dvije mliječne žlijezde na svakoj mliječnoj pruzi, kod ovaca i koza po jedna, kod krmača do 7 sisnih pupoljaka, kod kuja pet, a kod mačaka četiri (MCGEADY i sur., 2014).

Kod mužjaka isto možemo uočiti alveole i kratke ekskretorne kanaliće, osim kod konja, štakora i miševa. Kod njih te strukture involuiraju pa mužjaci nemaju sise (SJAASTAD i sur., 2016).

Za mamogenezu su izuzetno bitni prolaktin i hormon rasta, bez kojih mamogeneza u potpunosti izostaje (TUCKER, 2000).

Tablica 1. Položaj sisa u nekih vrsta sisavaca (SJAASTAD i sur., 2016).

Tablica 20.1 Položaj vimena u nekih vrsta sisavaca. Prsne sise smještene su između prednjih nogu, ingvinalno vime smješteno je između stražnjih nogu. U slučaju prsno-trbušnog rasporeda sise počinju između prednjih nogu i protežu se do ingvinalne regije.

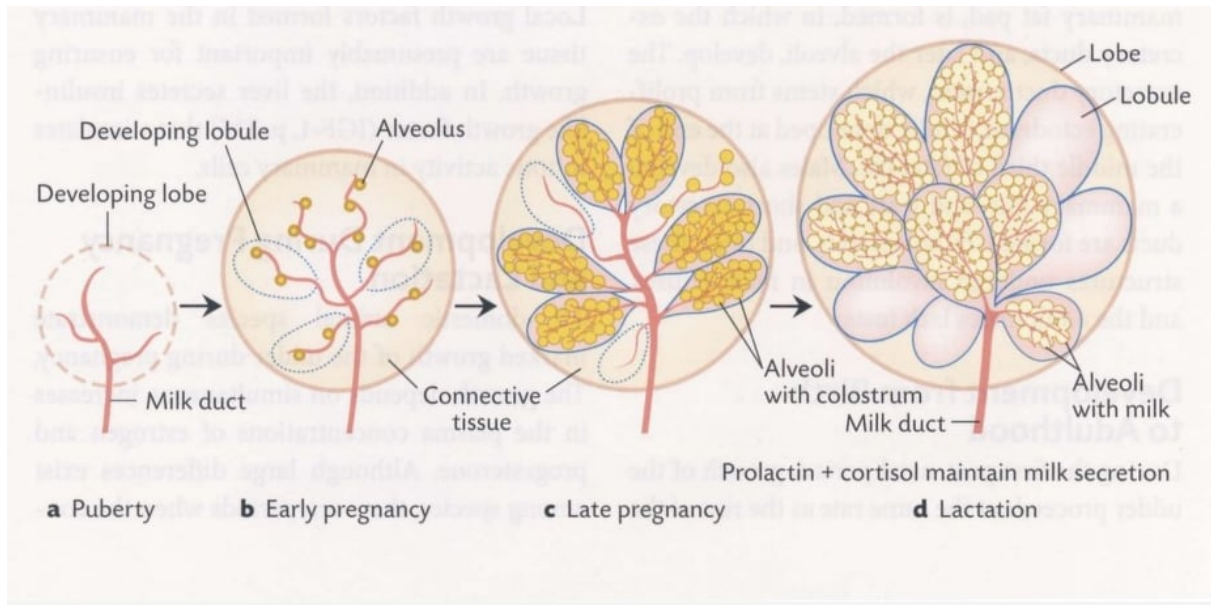
Vrsta	Položaj	Broj sisa	Broj žlijezda po sisi
Govedo	Ingvinalni	4	1
Koza, ovca	Ingvinalni	2	1
Mačka	Prsno-trbušni	8	3-7
Pas	Prsno-trbušni	10-12	7-20
Konj	Ingvinalni	2	2
Svinja	Prsno-trbušni	12-14	2
Kunić	Prsno-trbušni	10	8-10
Štakor	Prsno-trbušni	12	1
Čovjek	Prsni	2	10-25

2.1.2. Razvoj od rođenja do odrasle dobi

Tijekom prvog postnatalnog razvoja mliječna žlijezda se razvija otprilike jednakom brzinom kao i ostatak tijela. Takav tip rasta se zove izometrični rast. U dobi od 3 mjeseca do jedne godine starosti vime krave raste 2-4 puta brže od ostatka tijela. Kad organ raste brže od ostatka tijela, takav prioritetni rast nazivamo alometrični rast. U vrijeme tog rasta možemo uočiti oblikovanje masnog tkiva i ekskretornih kanalića, a u masnom tkivu se razvija i sekretorno tkivo (SJAASTAD i sur., 2016). U predpubertetnom razvoju krave, intenzivna hranidba uzrokuje intenzivniji rast masnog tkiva u odnosu na rast sekretornog tkiva što dovodi do smanjenog potencijala za proizvodnju mlijeka.

U pubertetu jajnici počinju izlučivati hormone estrogen i progesteron, a tkivo mliječne žlijezde ima receptore za te hormone. Kad se ciklička aktivnost jajnika uspostavi, tijekom folikularnog razdoblja estradiol ima povišenu koncentraciju u krvi, pa pod utjecajem estrogena povećavaju se mliječni kanalići i završne alveolarne grane (Slika 1). Za razvoj mliječnih kanalića od hormona potrebni su još hormoni rasta i glukokortikoidi (MACIAS i HINCK, 2012). Uz njih, za razvoj alveolarnog tkiva potrebni su i progesteron i prolaktin. Izlučivanje estradiola ograničeno je na folikularno razdoblje spolnog ciklusa, a progesteron se izlučuje u lutealnoj fazi. Iz tog razloga utjecaji hormona se ne mogu međusobno potencirati, pa se zato mliječna žlijezda ne razvija dok životinja ne zabređa (MACIAS i HINCK, 2012). Rast samih ekskretornih kanalića i sekretornog tkiva povezan je s masnim tkivom vimena, ako se ono ukloni ili nedostaje sama žlijezda se neće razviti normalno, jer su bitni lokalni čimbenici rasta

iz masnog tkiva. Također, potreban je još i IGF-1 jer on povećava mitotičku aktivnost stanica mliječne žlijezde (SJAASTAD i sur., 2016).



Slika 1. Prikaz razvoja tkiva mliječne žlijezde (SJAASTAD i sur. 2016).

2.1.3. Razvoj tijekom graviditeta i laktacije

U svih domaćih životinja razvoj mliječne žlijezde je brz tijekom graviditeta, zbog istovremenog porasta koncentracije estrogena i progesterona u plazmi. Tijekom tog razdoblja znatno je povećan rast i diferencijacija sekretornog tkiva (MACIAS i HINCK, 2012). Lučenje prolaktina iz prednjeg režnja hipofize se znatno povećava tijekom kasne bređosti i on je potreban za potpun razvoj vimena. Kod nekih vrsta (glodavci, čovjek i preživači) posteljica proizvodi placentarni laktogen, koji je po djelovanju somatotropina. Ovaj hormon veže se za receptore za prolaktin i time pojačava rast i diferencijaciju epitelnih stanica vimena, istim mehanizmom kao i prolaktin (SQUIRES, 2003). U svinje hormon relaksin (proizvodi ga žuto tijelo) ima istu funkciju. Koncentracije navedenih hormona su veće kod životinja koje nose veći broj plodova nego kod životinja koje ih nose manje, i to služi da se kapacitet vimena prilagodi broju potomaka koji će se poroditi (SJAASTAD i sur., 2016).

Navedeni endokrini uvjeti uzrokuju brz razvoj režnjića, dok se količina masnog tkiva smanjuje. Hormoni od značaja za metabolizam mliječne stanice su inzulin, hormon rasta, hormoni štitne žlijezde i kortizol.

2.2. Promjene u tkivu mliječne žlijezde tijekom laktacije

Broj sekretornih epitelnih stanica i proizvodnja mlijeka u uskoj su korelaciji. Alveolarne stanice se nastavljaju razvijati u prvom dijelu laktacije. Proizvodnja mlijeka se smanjuje nakon vrhunca laktacije, ali laktacija sama po sebi se može nastaviti i nekoliko godina ukoliko životinja ne ostane gravidna i mlijeko se prazni iz mliječne žlijezde. Dok laktacija traje stalno se gube alveolarne stanice koje prolaze apoptozu i odvajaju se od bazalne membrane (SJAASTAD i sur., 2016). Nakon samog vrhunca laktacije više stanica prolazi apoptozu nego što ih se stvara. Ako životinja zabređa, porast estrogena i progesterona smanji proizvodnju mlijeka, međutim laktacija se nastavlja dokle god se mliječna žlijezda prazni. Preporučeno vrijeme prestanka mužnje u krava je 40-60 dana prije teljenja, jer ukoliko se ne dopusti mliječnoj žlijezdi da se odmori, proizvodnja mlijeka će biti manja u idućoj laktaciji. Kod svinja je drukčije, kod njih sama laktacija koči pojavu estrusa, posljedično tome kad se prasad odbije krmača se vraća u spolni ciklus (SJAASTAD i sur., 2016).

2.3. Involucija mliječne žlijezde nakon odbića

U intenzivnom uzgoju životinja novorođene životinje odbijamo naglo prije nego laktacija prirodno završi. Kao i drugi aspekti laktacije, i involucija mliječne žlijezde je pod endokrinom kontrolom (QUARRIE i sur., 1996). Kod svinja cilj proizvodnje je proizvesti što više prasadi u jednoj godini, i samim time prasad se odvoja dok su krmače još u vrhuncu laktacije. Kod krmača samo mlijeko nije ekonomski bitno u proizvodnji. Kad mliječna žlijezda nije prazna pritisak u samoj žlijezdi na stanice uzrokuje da sise narastu i omekšaju, a epitelne stanice involuiraju 1 do 2 dana nakon posljednjeg pražnjenja zbog smanjenja lučenja prolaktina, hormona rasta i IGF-1. Manjak prolaktina je primarni signal koji uzrokuje apoptozu epitelnih stanica (ACCORSI i sur., 2002). U žljezdanom tkivu nakupljaju se upalne stanice, točnije neutrofili i makrofazi koji fagocitiraju epitelne stanice alveola i kanalića. Voda i laktoza koji su ostali u tkivu difuzijom prelaze natrag u krv, nakon što dođe do prekida čvrstih veza epitelnih stanica sekretornog tkiva (SJAASTAD i sur., 2016).

2.4. Hormonska kontrola stvaranja i izlučivanja mlijeka

Laktacijski ciklus može se podijeliti u nekoliko uzastopnih faza: mamogeneza, laktogeneza, galaktopoeza i involuciju te je svaka pod utjecajem hormonske regulacije. Od važnosti su tri kategorije hormona. Reproductivni hormoni (estrogen, progesteron, placentalni

laktogen, prolaktin i oksitocin) koji djeluju izravno na mliječnu žlijezdu. Metabolički hormoni (hormon rasta, kortikosteroidi, hormoni štitaste žlijezde, inzulin) imaju brojne funkcije u tijelu i često imaju izravne učinke i na mliječnu žlijezdu. Te na kraju, lokalno proizvedeni hormoni uključuju hormon rasta, prolaktin, paratireoidnom hormonu sličan peptid (PTHrP) i leptin (SVENNERSTEN-SJAUNJA i OLSSON, 2005).

Početak proizvodnje mlijeka naziva se laktogeneza. Za vrijeme laktogeneze epitelno tkivo se diferencira u aktivne sekretorne stanice i sami proces se odvija pred kraj graviditeta. Prvi sekret koji te stanice proizvode naziva se kolostrum ili mljezivo, koji je od iznimno bitnog značaja za rast i razvoj mladunčadi te se njegova kemijska struktura razlikuje od zrelog mlijeka (SJAASTAD i sur., 2016). U ovom razdoblju kod nekih životinja možemo uočiti kako kolostrum spontano izlazi iz sisa.

Galaktopoeza, odnosno održavanje proizvodnje mlijeka u korelaciji je sa zadovoljavajućim pražnjenjem vimena. Hormonski signali su neophodni za diferencijaciju i održavanje sekretorne funkcije alveolarnog tkiva, dakle laktogenezu i galaktopoezu. Postoje vrsno specifične razlike s obzirom na utjecaj pojedinih hormona na laktogenezu i galaktopoezu.

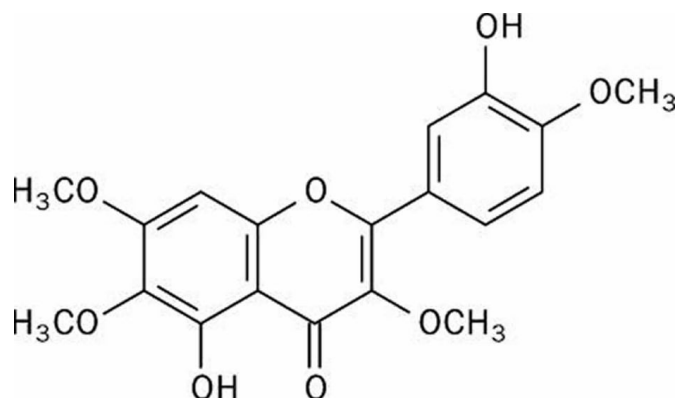
Za početak laktogeneze bitne su dvije vrste hormonalnih promjena. Prva od njih je prestanak inhibicije hormonima čija se aktivnost smanjuje pri porođaju, a druga stimulacija hormonima čija aktivnost raste pri porođaju (SJAASTAD i sur., 2016). Laktogenezu primarno kontrolira prolaktin, dok otpuštanje mlijeka potiče oksitocin.

2.4.1. Prolaktin

Raspon biološkog djelovanja prolaktina u različitim vrstama je širok te prolaktin ima važnost i u osmoregulaciji, metabolizmu općenito te imunološkim funkcijama (CROWLEY, 2015). Prolaktin se izlučuje iz stanica laktotrofa (ili mamotrofa) prednjeg režnja hipofize kao i iz populacije stanica koje luče i prolaktin i hormon rasta (somatomamotrofi). Izvorni prolaktin je protein od 23 K molekularne težine (Slika 2), ali prolaktin također cirkulira u mnogim izoformama, uključujući i one koji imaju posttranslacijske modifikacije (npr. fosforilacija i glikozilacija), a koje mogu utjecati na biološku aktivnost (CROWLEY, 2015). Važnost prolaktina tijekom laktogeneze veže se za strukturne promjene mliječne žlijezde i za ekspresiju bjelančevina mlijeka. Posebice vezano uz ekspresiju bjelančevina mlijeka, uz prolaktin djeluju i glukokortikoidi i inzulin, dok estradiol, progesteron, placentalni laktogen i hormon rasta pokazuju različite učinke ovisno o vrsti životinja (NEVILLE, 2006).

Receptor za prolaktin pripadnik je porodice citokina i vezanje prolaktina za receptor je stupnjevito, preko dva monomera prolaktinskog receptora, što zatim potiče njihovu dimerizaciju i zauzvrat inicira prijenos signala povezanih s ekspresijom gena (NEVILLE, 2006). Područja istraživanja koja se intenziviraju usredotočena su na učinke prolaktina na mozak a time i na laktaciju. Ti učinci uključuju indukciju majčinog ponašanja, stimulaciju unosa hrane, pojačavanje sekrecije oksitocina, stimulaciju neurogeneze, suzbijanje reakcije na stres i inhibiciju osi hipotalamus-hipofiza-jajnici. Neki od ovih učinaka pod utjecajem su prolaktina iz prednjeg režnja hipofize, dok drugi mogu biti posredovani prolaktinom sintetiziranim u samom mozgu (CROWLEY, 2015).

Koncentracija prolaktina u plazmi se drastično povećava pred kraj graviditeta, tako da se u krava njegova koncentracija povećava 5-10 puta u razdoblju oko porođaja. Sam prolaktin je peptidni hormon koji se veže na membranske receptore koji aktiviraju unutarstaničnu tirozin kinazu (SJAASTAD i sur., 2016). Tirozin kinaza uzrokuje fosforilaciju transkripcijskih faktora i posljedično aktivira kodirajuće gene za proteine u epitelnom tkivu mliječne žlijezde. Dok je životinja još bređa, progesteron kojeg tada ima puno, inhibira transkripciju gena za receptore prolaktina i time koči njegovo djelovanje (SJAASTAD i sur., 2016). Tijekom porođaja koncentracija progesterona naglo pada, a time nestaje i inhibitorski učinak na receptore prolaktina. Tada dolazi do povećane transkripcije gena za proizvodnju mliječnih proteina, a tako i za kazein i alfa-laktalbumin. Alfa-laktalbumin ima ključnu ulogu u početku laktacije (SJAASTAD i sur., 2016).



Slika 2. Molekula prolaktina

(https://www.google.com/search?q=prolactin%20molecule&client=ms-android-dt-hr-revc&source=lnms&prmd=ivn&sxsrf=ALeKk00SDRYQkvnOspO-dhwxcp4L_lf1A%3A1624534268504&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwj-hf_flbDxAhW7gf0HHeuOD9gQ_AUoAXoECAIQAQ&biw=412&bih=682&dpr=3.5#imgrc=o7J3GDehCPvq8M)

2.4.2. Oksitocin

Oksitocin je nonapeptidni hormon (Slika 3) koji se sintetizira u velikim neuronima, smještenima u paraventrikularnim i supraoptičkim te nekoliko "pomoćnih" hipotalamičkih jezgara i oslobađa se djelovanjem akcijskih potencijala živčanih završetaka u neurohipofizi u opću cirkulaciju (WAKERLEY, 2006). Stimulacija oksitocinskih receptora dovodi do kontrakcija mioepitelne stanice koje su lokalizirane na površini alveola i duž kanalića mliječne žlijezde. Kad se mioepitelne stanice ne kontrahiraju, dolazi do povećanja intraalveolarnog tlaka, dok kontrakcija mioepitelne stanice duž kanalića rezultira skraćivanjem i širenjem kanala, smanjujući otpor prolazu mlijeka (CROWLEY i sur., 1992). Poput prolaktina, oksitocin također može djelovati centralno, na taj način utječući na laktaciju, primjerice olakšavanjem lučenja prolaktina i poticanjem majčinskog ponašanja (CROWLEY, 2015).

Receptor za oksitocin je transmembranski receptor od sedam podjedinica, koji putem fosfolipaze C i sekundarnog glasnika inositol 1, 4, 5- trifosfata, dovodi do oslobađanja kalcija iz unutarstaničnih depoa te do kontrakcije mioepitelne stanice (CROWLEY, 2015).

Kada se receptori u sisama stimuliraju, signali se prenose u mozak pa u supraoptičke i paraventrikularne jezgre hipotalamusa. U tim se jezgrama oksitocin sintetizira, a zatim transportira u neurohipofizu iz koje se otpušta u cirkulaciju. Refleks otpuštanja mlijeka vrlo je osjetljiv i može se inhibirati tijekom stresnih ili neugodnih situacija (BRUCKMAIER i BLUM, 1998).

2.4.2.1. Načini otpuštanja hormona kao odgovor na sisanje

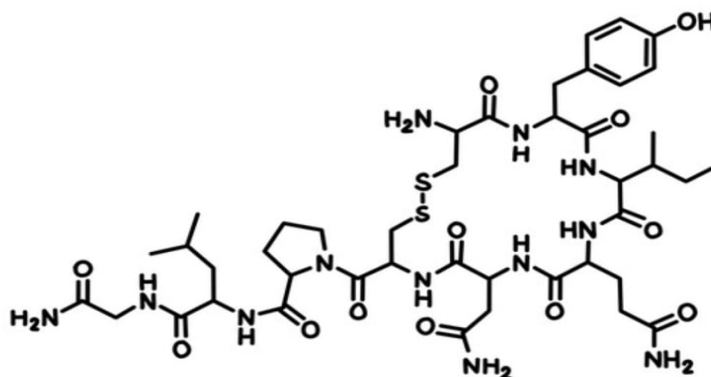
Iako mehanička stimulacija mliječne žlijezde (kao i njušni, slušni i vizualni podražaji) koju pruža mladunče koje siše, izaziva oslobađanje prolaktina i oksitocina, načini otpuštanja ova dva hormona prilično su različiti.

Kao što je uočeno tijekom istraživanja (CROWLEY i sur., 1992, GROSVENOR i MENA, 1982) na ženama štakorica, koncentracija prolaktina u plazmi počinje se povećavati gotovo odmah tijekom sisanja nakon razdoblja razdvojenosti od mladunaca te postiže vršne razine kroz 10-15 minuta. Ove povišene razine održavaju se tijekom razdoblja sisanja, pri čemu učestalo uzorkovanje krvi pokazuje postojanje pulzatornog obrazca oslobađanja prolaktina, gdje su utvrđene najniže razine tijekom sisanjakoje su još uvijek povišene u usporedbi s razinama utvrđenim u razdoblju prije sisanja (HIGUCHI i sur., 1983). Povišene koncentracije prolaktina u plazmi mogu se održati neko vrijeme i nakon prestanka sisanja, djelomično oviseći

i o trajanju prethodnoga sisanja. Sličan je odgovor uočen u zečeva, koza i ljudi (GROSVENOR i MENA, 1982).

Za razliku od brzog početka i održivo visoke razine oslobađanja prolaktina iz prednjeg režnja hipofize kao odgovora na sisanje, oslobađanje oksitocina iz neurohipofize može se odgoditi za 15 do 20 minuta u svjesnih štakorica u laktaciji i do 60 min u anestetiziranih štakorica, usprkos intenzivnom sisanju legla (CROWLEY i sur., 1992, GROSVENOR i sur., 1990). Postoje vrsne razlike u izlučivanju oksitocina tijekom sisanja, gdje u krava, krmača, zečica i žena dolazi do oslobađanja hormona unutar nekoliko minuta od sisanja (HIGUCHI i sur., 1983). Način oslobađanja oksitocina kao odgovor na sisanje, u svih ovih vrsta je pulzatoran, međutim značajno se razlikuje od onoga opisanog kod oslobađanja prolaktina (Slika 4). Primjerice, razine oksitocina u krvi tijekom sisanja uglavnom ostaju na početnoj razini, ali se prekidaju pojedinačnim pulzacijama otpuštanja koje se javljaju u intervalima od 5 do 10 minuta, pri čemu se svaka pulzacija sastoji od naglog povećanja koncentracije u krvi dva do tri puta, nakon čega slijedi povratak do niske početne vrijednosti nakon samo nekoliko minuta (HIGUCHI i sur., 1983). Pulzacijski valovi otpuštanja oksitocina funkcioniraju na način da gotovo cijela populacija neurona koji oslobađaju oksitocin okida brze akcijske potencijale sinkronizirano tijekom nekoliko sekundi (CROWLEY i sur., 1992). Tijekom svake sekretorne epizode, oksitocin dolazi do tkiva mliječne žlijezde, rezultira kratkim povišenjem intramamarnog tlaka te otpuštanjem mlijeka (GROSVENOR i MENA, 1982, HIGUCHI i sur., 1983). Na taj je način mlijeko dostupno mladunčadi samo privremeno (HIGUCHI i sur., 1983). Između ovih epizodnih otpuštanja mlijeka, razine cirkulirajućeg oksitocina i obrazac okidanja oksitocinskih neurona, na niskoj su početnoj razini, iako je sisanje kontinuirano prisutno. Ovaj obrazac pulzatornog oslobađanja oksitocina uočava se samo tijekom laktacije i porođaja (BURBACH i sur., 2006).

Razlike u načinima oslobađanja prolaktina i oksitocina izazvanog sisanjem, povezane se s funkcijom ovih hormona na mliječnu žlijezdu. Održivo oslobađanje hormonskog signala tijekom sisanja, kao što je slučaj za prolaktin, čini se prikladno za kontinuiranu stimulaciju sinteze različitih komponenata mlijeka. Suprotno tome, mladunčad koja sisa treba se hraniti s prekidima, a ne kontinuirano. Stoga je način oslobađanja oksitocina u količinama potrebnim za pojavu refleksa otpuštanja mlijeka prikladan za postizanje ovog cilja.



Slika 3. Molekula oksitocina

(https://www.google.com/search?q=oxytocin%20molecule&client=ms-android-dt-hr-revc&source=lnms&prmd=ivn&sxsrf=ALeKk00V_zE6KxIhuc-a2XpWxwjqsycFWw%3A1624534442076&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjw7OCylrDxAhXEhv0HHbuHAj4Q_AUoAXoECAIQAQ&biw=412&bih=682#imgcr=k2dcr0G8LciivM).



Slika 4. Prikaz koncentracije oksitocina u plazmi za vrijeme stimulacije sisa i sisanja (SJAASTAD i sur., 2016).

2.4.3. Ostali hormoni bitni za laktaciju

Ostali hormoni koji imaju primarnu funkciju u laktogenezi su: kortizol, progesteron, hormon rasta i estrogeni.

Kortizol ima opći učinak na metabolizam u životinja u laktaciji, ali također je potreban i za održavanje sekretorne aktivnosti stanica epitela. Tijekom peripartalnog razdoblja koncentracija kortizola u plazmi je visoka. Kortizol je bitan za rast zrnatog endoplazmatskog retikuluma i Golgijevog aparata, što je od iznimne važnosti za djelotvornost prolaktina na početak laktacije. Progesteron i kortizol se natječu u vezanju za unutarstanične receptore. Kod porođaja, učinak kortizola na epitelne stanice mliječne žlijezde bit će povećan, jer dolazi do opadanja koncentracije progesterona (SJAASTAD i sur., 2016). Međutim, uloga kortizol u sintezi mlijeka nije utvrđena (KNIGHT, 2001).

Uloga progesterona je izrazita jer stimulira razvoj vimena tijekom bređosti, a također je i glavni čimbenik održavanja bređosti i laktogeneze (SJAASTAD i sur., 2016). Progesteron je esencijalan za alveolarnu proliferaciju i laktogenezu tijekom gravidnosti, a smanjenje koncentracije potiče laktogenezu nakon porođaja (NEVILLE i sur., 2002). Uloga progesterona je značajna za proliferativnu fazu alveolarne morfogeneze kao i inhibiciju sekrecije mlijeka tijekom laktogeneze u gravidnosti. U svih vrsta dolazi do porasta koncentracije progesterona tijekom rane gravidnosti te naglog pada nakon poroda, osim u ljudi gdje koncentracija progesterona ne započinje s padom dok se ne ukloni posteljica nakon poroda (MARTIN i sur., 1980) pa je laktogeneza odgođena za oko 48 sati i nije potpuna do oko 4 dana nakon poroda.

Hormon rasta neophodan je za promjene u tkivu mliječne žlijezde iz proliferativnih u laktacijske. Hormon rasta dominantan je tijekom galaktogeneze u preživača (FLINT i KNIGHT, 1997) za razliku od situacije kod glodavaca i ljudi. Nije u potpunosti poznat način djelovanja hormona rasta na mliječnu žlijezdu, bilo da se radi o direktnom utjecaju ili indirektnom putem lokalno stvorenog IGF-1 ili putem IGF-1 stvorenog u jetri (FLINT i KNIGHT, 1997). Sintaza IGF-1 u mliječnoj žlijezdi potvrđena je kod mnogih vrsta, dok je pojava IGF-2 rjeđa. Stanice mliječne žlijezde goveda eksprimiraju receptore za IGF-1 i 2, receptore za inzulin i proteine koji vežu IGF. Među ovim posljednjima dominira vežući protein 3 za IGF (BAUMRUCKER i ERONDU, 2000). Koncentracija IGF-1 se smanjuje i broj njegovi receptora opada nakon poroda, dok IGF-2 i receptori za IGF-2 ostaju uglavnom nepromijenjeni.

Čimbenici rasta IGF skupine nisu jedini lokalni čimbenici rasta odgovorni za promjene u mliječnoj žlijezdi. Nekoliko važnih bjelančevina i polipeptida su također i citokini, kao što su epidermalni čimbenik rasta (EGF) i transformirajući čimbenik rasta β (TGF - β). Čimbenici

rasta EGF ustanovljeni su u tkivu mliječne žlijezde krava i ovaca dok je većina istraživanja njihove funkcije napravljena na glodavcima (FORSYTH, 1996). Hormon rasta također utječe i na postojanost laktacije. Pretpostavlja se da je u glodavaca postojanost laktacije rezultat interakcija između hormona rasta, IGF-1 i prolaktina. Ova interakcija također se pretpostavlja kod preživača (SVENNERSTEN-SJAUNJA i OLSSON, 2005).

Uloga estrogena nakon morfogeneze kanalića mliječne žlijezde nije u potpunosti jasna, ali se smatra kako je hormon odgovoran za indukciju receptora progesterona u luminalnim epitelnim stanicama (HOVEY i sur., 2002). Estrogeni pojačavaju izlučivanje prolaktina iz hipofize i stvaranje prolaktinskih receptora u mliječnoj žlijezdi kako bi se potakla diferencijacija epitelnih stanica i početak proizvodnje mlijeka (SJAASTAD i sur., 2016). Kod glodavaca žuto tijelo tijekom gravidnosti luči estrogen te razina raste u kasnoj gravidnosti (MIZOGUCHI i sur., 1997). U žena žuto tijelo izlučuje estrogene tijekom prvog tromjesečja trudnoće, nakon čega fetalna nadbubrežna žlijezda i jetra te placenta zajedno proizvode estradiol-17 β , estron i estriol. Neke od funkcija estrogena provode se djelovanjem na mioepitelne stanice, pa je tako poznato da estrogeni mijenjaju morfologiju mioepitelnih stanica tijekom odbića (JIN i sur., 2000).

U krava i koza, indukcija sekrecije mlijeka može se izazvati hormonskim tretmanima. Krave u suhostaju i životinje koje nisu bređe, nakon tretmana kombinacijom estrogena i progesterona postižu i do 70% normalne proizvodnje mlijeka u samo 7 dana.

2.5. Održavanje proizvodnje mlijeka

Galaktopoeza je održavanje laktacije nakon uspostavljanja laktacije. Galaktopoetski hormoni, čimbenici rasta (humoralni i lokalni) te redovito uklanjanje mlijeka, esencijalni su za regulaciju i održavanje laktacije (CAPUCO i AKERS, 2002). Inhibicija izlučivanja ključnih galaktopoetskih hormona inhibirat će proizvodnju mlijeka. Prolaktin se oslobađa u vrijeme uklanjanja mlijeka kod preživača i nepreživača, i ostaje ključni sistemski modulator izlučivanja mlijeka tijekom laktacije (Tablica 2). Suprotno tome, smatra se da je hormon rasta pretežno galaktopoetski hormon kod preživača. Nakon početka laktacije kontinuirano izlučivanje mlijeka regulirano je od strane koncentracije hormona u krvi i lokalnim stanjem u alveolama. Ako se životinje ne muzu, laktacija će prestati unatoč hormonskoj aktivnosti. Isto tako, ako se koncentracija hormona smanji unatoč prisutnoj mužnji, proizvodnja mlijeka će postupno opadati i na kraju prestati (SJAASTAD i sur., 2016). Mužnja na laktaciju utječe tako što potiče izlučivanje prolaktina i oksitocina iz hipofize. Prolaktin stimulira porast metabolizma stanica

epitela mliječne žlijezde, i posljedično, epitelne stanice nastavljaju proizvoditi mlijeko dokle god traju sisanje i/ili mužnja. U preživača hormon rasta stimulira sekreciju IGF-1 koji svojom funkcijom zamjenjuje prolaktin i podržava daljnju sekreciju mlijeka (SJAASTAD i sur., 2016).





Stvaranje mlijeka je pod neizravnom kontrolom drugih hormona. pri tome su inzulin i hormon rasta bitni za metabolizam i pravilnu opskrbu vimena supstratima za sintezu sastojaka mlijeka (Tablica 2). Kortizol i trijodtironin održavaju sekretornu aktivnost epitelnih stanica, iako specifična uloga ovih glasnika u stvaranju mlijeka nije poznata (SJAASTAD i sur., 2016). Osim generalnog utjecaja na metabolizam, hormoni štitaste žlijezde potenciraju aktivnost drugih laktogenih i galaktopoetskih hormona (CAPUCO i AKERS, 2002). U svinja, pasa i mačaka laktacija inhibira izlučivanje hormona koji oslobađa gonadotropine iz hipotalamusa, pa su prisutne niske koncentracije folikulostimulirajućeg i luteinizirajućeg hormona kao i progesterona i etrogena. Kod čovjeka i muznih krava spolni ciklus se uspostavlja unatoč laktaciji (SJAASTAD i sur., 2016).

Lokalni uvjeti u mliječnoj žlijezdi također utječu na regulaciju lučenja mlijeka u mnogih vrsta. Nakupljanje mlijeka u alveolama povećava intramamarni tlak i koncentraciju bjelančevine mlijeka nazvane povratni inhibitor laktacije (eng *Feedback Inhibitor of Lactation*, FIL). Ovu bjelančevinu stvaraju sekrecijske stanice mliječne žlijezde inhibirajući na taj način sintezu mlijeka. Akumulacija FIL-a u alveolama koje proizvode mlijeko rezultira povratnom inhibicijom sinteze i sekrecije mlijeka. Otpuštanje mlijeka putem sisanja ili mužnje dovodi do uklanjanja FIL-a i tako smanjuje njegov inhibitorski učinak i povećava izlučivanje mlijeka (SJAASTAD i sur., 2016).

Nakon svakog pražnjenja vimena događa se sljedeće: stimulira se otpuštanje prolaktina, FIL se uklanja iz alveola i snižava se intramamarni hidrostatski tlak. Prvih par sati nakon mužnje mliječna žlijezda je pod utjecajem sustavnih čimbenika laktacije i tad je sama proizvodnja mlijeka na svom vrhuncu. Što je žlijezda punija, lokalni čimbenici preuzimaju glavnu ulogu smanjujući izlučivanje mlijeka. Ako se potpuno prestane s pražnjenjem mliječne žlijezde, laktacija će postupno prestati (SJAASTAD i sur., 2016).

Tablica 2. Hormoni bitni za razvoj mliječne žlijezde (NEVILLE i sur., 2002).

	Ductal Morphogenesis	Alveolar Morphogenesis			Lactation	Involution
		Proliferation	Lactogenesis 1	Lactogenesis 2		
Stimulus	Reproductive State				Suckling	No Suckling
Reproductive Hormones* Major biologic role: Coordination with reproductive state or demands of offspring						
Estrogen	Required	Required in some species			Withdrawal?	Inhibitory?
Progesterone	Required in some species			Withdrawal		
Prolactin	Required in some species		Potential direct action	Required in some species	Required in some species	Required in some species
Placental Lactogen	Required in some species					
Oxytocin					Required	
Metabolic Hormones Major biologic role: Coordination with metabolism						
Growth Hormone	Required	Possible			Metabolic Effect	
Corticosteroid	Unknown		Required in some species	Metabolic Effect	Metabolic Effect	
Thyroid	Unknown		Possible	Unknown	Metabolic Effect	Required
Insulin	Unknown			Metabolic Effect	Metabolic Effect	

Required  Required in some species  Potential direct action  Metabolic Effect 

*The reproductive hormones, LH and FSH, are not included on this table because they have no direct mammary actions.

2.6. Sinteza sastojaka mlijeka

Glavni dio organskih sastojaka mlijeka sintetizira se samo u epitelnim stanicama mliječne žlijezde pa ih ne možemo naći u drugim tkivima. Kao prekursori za sintezu koriste se: glukoza, aminokiseline i masne kiseline iz izvanstanične tekućine. Proteini, masti, laktoza i minerali su četiri glavne komponente u mlijeku, bez obzira na vrstu (Tablica 3; GANTNER i sur., 2015). Sastav mlijeka unutar vrste znatno varira zbog utjecaja različitih čimbenika, kao što su pasmina, stadij laktacije, interval mužnje, vrsta hrane i klima (CLAEYS i sur., 2014). U sastavu mlijeka nalazimo i vitamine i druge organske molekule koje prelaze iz epitelnih stanica u mlijeko. Transcitozom se do alveola a preko membrana epitelnih stanica transportiraju albumini plazme i imunoglobulini (SJAASTAD i sur., 2016). Uloga hormona u tkivu mliječne žlijezde usmjerena je na poticanje i održavanje aktivnosti enzima koji sudjeluju u sintezi mlijeka. Međutim, neovisno o hormonskoj kontroli, stanice mliječne žlijezde uzimaju oko 25% glukoze i do 60% aminokiselina iz arterijske krvi (SJAASTAD i sur., 2016).

Tablica 3. Sastav mlijeka raznih vrsta životinja (Gantner i sur., 2015).

Mlijeko	Suha tvar (g/100 g)	Mast (g/100 g)	Proteini (g/100 g)	Laktoza (g/100 g)	Pepeo (g/100 g)	Energija (kJ/100 g)
Žena	10-13	2.1-4.0	0.9-1.9	6.3-7.0	0.2-0.3	209-270
Kobila	9-12	0.4-7.2	1.3-2.0	6.0-7.2	0.3-0.5	109-210
Magarac	8-12	0.3-1.8	1.4-2.0	5.8-7.4	0.3-0.5	160-180
Bivol	16-17	5.3-15.0	2.7-4.7	3.2-4.9	0.8-0.9	420-480
Krava	12-13	3.3-6.4	3.0-4.0	4.4-5.6	0.7-0.8	270-280
Koza	12-16	3.0-7.2	3.0-5.2	3.2-4.5	0.7-0.9	280-290
Ovca	18-20	4.9-9.0	4.5-7.0	4.1-5.9	0.8-1.0	410-440

2.6.1. Epitelne stanice mliječne žlijezde

Epitelne stanice mliječne žlijezde imaju vrlo brz metabolizam te je opskrba arterijskom krvi iznimno važna. Epitelne stanice posjeduju vrlo mnogo mitohondrija. Također, dobro je razvijena i endoplazmatska mrežica s mnogo ribosoma što omogućava sintezu sastojaka mlijeka. Glatka endoplazmatska mrežica sintetizira uglavnom fosfolipide i triacilglicerole. Glikoliza i sinteza masnih kiselina odvijaju se u citoplazmi. Nakon sinteze, proteini mlijeka prenose se vezikulama iz endoplazmatske mrežice do Golgijevog aparata, gdje se organiziraju u sekrecijske mjehuriće (SJAASTAD i sur., 2016). Navedeni mjehurići sadrže i laktozu koja je također sintetizirana u Golgijevom aparatu. U mjehurićima se prenose i dvovalentni ioni kalcija, magnezija i fosfati. Mjehurići se prazne u lumen alveola egzocitozom. Triacilgliceroli u membrani stvaraju polarnu površinu, što uzrokuje stabilnost vezikula u vodenoj fazi mlijeka. Te masne kapljice su reflektirajuće i one daju mlijeku njegovu bijelu boju. Apikalne membrane, koje su okrenute prema lumenu, povezane su čvrstim spojevima koji sprečavaju isticanje laktoze i proteina iz lumena u izvanstaničnu tekućinu. Ako su epitelne stanice oštećene zbog mastitisa ili zadržavanja mlijeka u vimenu, sastojci mlijeka mogu difundirati u krv iz alveola (SJAASTAD i sur., 2016).

2.6.2. Sastojci mlijeka

2.6.2.1. Laktoza

Laktoza ili mliječni šećer, je disaharid koji se sastoji od glukoze i galaktoze. Sintetizira se u Golgijevom aparatu epitelnih stanica alveola mliječne žlijezde iz glukoze. Sinteza laktoze se odvija u nekoliko koraka:

1: $UTP + \text{glukoza-1-P} = \text{UDP glukoza} + \text{pirofosfat}$

2: $\text{UDP-glukoza} = \text{UDP galaktozu}$

3: $\text{UDP-galaktoza} + \text{glukoza} = \text{laktoza} + \text{UDP}$

Nukleotid uridin trifosfat (UTP) je bitan za aktivaciju glukoze-1-piruvata. Za treći korak ključan je enzim laktoza sintaza. Sinteza laktoze odvija se ravnomjerno za vrijeme čitavog razdoblja laktacije i njezina prosječna vrijednost u kravljem mlijeku iznosi oko 4,7% (HAVRANEK i RUPIC, 2003)

Vežanje prolaktina za receptore epitelnih stanica mliječne žlijezde potiče stvaranje alfa-laktalbumina koji je bitan za vežanje UDP galaktoze i glukoze, formirajući laktozu. Nasuprot tome, visoka razina progesterona sprečava transkripciju gena za receptore prolaktina. U zadnjoj fazi gravidnosti luči se više prolaktina iz hipofize, a progesteronu iz žutog tijela smanjuje se koncentracija neposredno prije poroda. Kad progesteron prestane djelovati prolaktin stimulira proizvodnju laktoze (SJAASTAD i sur., 2016). Ako je životinja u hipoglikemiji, smanjuje se stvaranje laktoze i samim time proizvodnja mlijeka. Prežvači koji su u laktaciji često su u hipoglikemiji, pogotovo na vrhuncu laktacije, jer vime koristi 70-80% ukupno raspoložive glukoze. Iz plazme u mliječnu žlijezdu dolazi 60-70% glukoze koja se koristi za sintezu laktoze, 20-30% se koristi za stvaranje NADPH za sintezu masnih kiselina, a alfa-glicerofosfat služi za esterifikaciju masnih kiselina (SJAASTAD i sur., 2016).

2.6.2.2. Mliječna mast

Lipidi u mlijeku raspršeni su u obliku emulgiranih kapljica, sastavljenih od triacilglicerola, koji su esteri glicerola i masnih kiselina. Triacilgliceroli, koji se stvaraju u glatkoj endoplazmatskoj mrežici alveolarnih stanica iz masnih kiselina i glicerola spajaju se u velike kapljice i putuju do apikalne membrane. Kada kapljice uđu u alveolarni lumen, budu omotane apikalnom membranom, koja ima dvije funkcije; osigurava fosfolipide i kolesterol za mladunče i sprječava udruživanje masnih kapljica u veće kapljice (SJAASTAD i sur., 2016).

Osim navedenoga, membrane su bogate bjelančevinama, glikoproteinima, glicerofosfolipidima, sfingolipidima, enzimima i drugim manjim sastojcima (KEENAN i PATTON, 1995). Veličina kapljica mliječne masti kao čimbenik koji utječe na probavljivost masti, razlikuje se među vrstama. Mlijeko koza, ovaca, deva i ekvida (kobile i magarice) ima veće udjele manjih masnih kapljica u odnosu na mlijeko krava (ROY i sur., 2020). Mlijeko koje sadrži više mliječne masti, primjerice mlijeko bivola, obično ima i veće masne kapljice u usporedbi s mlijekom s nižim udjelom mliječne masti (EL-ZEINI, 2006). Stvaranje većih masnih kapljica tijekom sinteze mliječne masti objašnjava se ograničenjima u proizvodnji membrane masne kapljice prilikom njihovog lučenja iz epitelnih stanica mliječne žlijezde. Membrana masne kapljice mogla bi biti ograničavajući čimbenik u stvaranju malih masnih kapljica u mlijeku s visokim udjelom masti, kao što je bivolje mlijeko (GANTNER i sur., 2015).

Razlike u sastavu masnih kiselina u mlijeku djelomično su uzrokovane razlikama u prehrani, ali su uglavnom rezultat razlika u mehanizmu sinteze masnih kiselina. Sastav mliječne masti nepreživača uglavnom je pod utjecajem sastava prehrambenih lipida, dok se kod preživača, prije resorpcije iz crijeva, masne kiseline iz hrane hidrogeniraju u zasićene masne kiseline aktivnošću mikroorganizama buraga (JAHREIS i sur., 1999). U većine domaćih životinja, 40-50% masnih kiselina koje se koriste za proizvodnju masti u mliječnoj žlijezdi proizvede se u epitelnim stanicama same žlijezde (*de novo* sinteza); primjerice acetat u preživača i glukoza u životinja s jednostavnim želucem. Drugih 50% su resorbirane masne kiseline u obliku triacilglicerola u cirkulirajućim hilomikronima ili lipoproteinima vrlo male gustoće. Trećinu preuzetih masnih kiselina iz krvi čini palmitinska masna kiselina, dok većinu preostalih čine stearinska, oleinska i linolna masna kiselina. Te molekule se esterificiraju do glicerola u alveolarnim stanicama (SJAASTAD i sur., 2016).

Kod preživača, 90% triacilglicerola i lipida iz biljaka hidroliziraju se u buragu. Trava sadrži većinom alfa-linolensku kiselinu, dok u žitarica prevladavaju linolnu i oleinsku. Više od 90% ovih nezasićenih masnih kiselina u potpunosti se hidrogeniraju u predželucima, tvoreći stearinsku masnu kiselinu (zasićena masna kiselina) (SJAASTAD i sur., 2016).

Kod monogastričnih životinja ne dolazi do hidrogenacije nezasićenih masnih kiselina u probavnom sustavu. Posljedično tome sastav masnih kiselina mlijeka, više ovisi o načinu prehrane nego u preživača (SJAASTAD i sur., 2016).

U usporedbi s mliječnom masti drugih vrsta (posebno preživača), mliječna mast u mlijeku žena sadrži niži udio zasićenih masnih kiselina, a veći udio jednostruko nezasićenih i višestruko nezasićenih masnih kiselina. Općenito, mlijeko kobila i magarica sadrži manji udio zasićenih masnih kiselina i veći udio višestruko nezasićenih masnih kiselina od mlijeka

preživača. Suprotno tome, mlijeko preživača sadrži veći udio jednostruko nezasićenih masnih kiselina, od mlijeka kobilica i magarica (ROY i sur., 2020).

Sama sinteza masnih kiselina se odvija u 3 koraka: stvaranje acetyl-CoA, produljivanje ugljikovih lanaca i stvaranje dvostrukih veza

2.6.2.2.1. Stvaranje acetyl-CoA

U životinja s jednostavnim želucem glukoza se pretvara u piruvat procesom glikolize. Nakon spajanja s oksaloacetatom, piruvat se prevodi u citrat u mitohondriju, koji zatim difundira iz mitohondrija u citoplazmu, pa uz aktivnost enzima citrat liaze i prisutnost CoA, nastaju acetyl-CoA i oksaloacetat. Acetyl-CoA koristi se za sintezu masnih kiselina. Međutim, preživačima taj enzim nedostaje, pa stoga ne mogu sintetizirati masne kiseline iz glukoze, već im je potreban acetat (SJAASTAD i sur., 2016).

2.6.2.2.2. Produljivanje ugljikova lanca

U sintezi masnih kiselina sudjeluju acetyl-CoA-karboksilaza i sintaza masnih kiselina. Acetyl-CoA-karboksilaza pretvara acetyl-CoA u malonil-CoA, a zatim sintaza masnih kiselina katalizira nastajanje palmitata iz jedne acetyl-CoA i sedam malonil-CoA molekula (BOTHAM i MAYES, 2011). Za biosintezu nezasićenih masnih kiselina potrebni su još enzimi desaturaza i elongaza (BOTHAM i MAYES, 2011). Enzim sintaza masnih kiselina bitan je za produljenje lanca masne kiseline nadodajući 8 jedinica acetata. Nakon svakog dodavanja acetata nastaju dvostruke veze koje se hidrogeniraju (povećanje stupnja zasićenosti masnih kiselina) uz prisutstvo reduktaza. Reduktaze koriste koenzim NADPH kao izvor vodika. Za razliku od masnog tkiva, jetre i drugih tkiva koja pohranjuju mast, u kojima je krajnji produkt djelovanja sintaze palmitinska masna kiselina sa 16 ugljikovih atoma (C16:0), epitelne stanice mliječne žlijezde posjeduju jedinstven enzim koji može sintetizirati masne kiseline s 8, 10 i 12 (C8:0, C10:0 i C12:0) ugljikovih atoma (ŠURBEK, 2019). Mlijeko preživača, za razliku od mlijeka monogastričnih životinja, sadrži i masne kiseline s 4 (C4:0) i 6 (C6:0) ugljikovih atoma. Slične kratkolančane masne kiseline ne dolaze u tjelesnim mastima. Još jedna razlika u odnosu na mlijeko monogastričnih životinja, je što u mlijeku preživača nalazimo i malu količinu masnih kiselina s razgranatim lancem te masne kiseline s neparnim brojem ugljikovih atoma (SJAASTAD i sur., 2016).

2.6.2.2.3. Stvaranje dvostrukih veza

Masne kiseline mliječne masti potječu od *de novo* sintetiziranih masnih kiselina u alveolarnim stanicama i od unosenih dugolančanih masnih kiselina iz krvi (BAUMAN i sur., 2011). Masne kiseline koje sintetizira mliječna žlijezda u početku su zasićene. Za biosintezu nezasićenih masnih kiselina potrebni su enzimi desaturaza i elongaza (BOTHAM i MAYES, 2010). Endoplazmatski retikulum epitelnih stanica mliječne žlijezde sadrži enzim desaturazu, koja uvodi dvostruke veze u masne kiseline (BOTHAM i MAYES, 2010). Desaturaza je ključna za stvaranje oleinske masne kiseline (C18:1) od stearinske (C18:0) i palmitoleinske masne kiseline (C16:1) iz palmitinske (C16:0) te na taj način povećava sadržaj nezasićenih masnih kiselina u mlijeku (SJAASTAD i sur., 2016).

2.6.2.2.4. Stvaranje triacilglicerola

U endoplazmatskom retikulumu masne kiseline se esterificiraju. Za tu reakciju potreban je alfa-glicerolfosfat koji nastaje iz glukoze i glicerola koje dovodi krv. Skoro sve masne kiseline u mlijeku su esterificirane. Budući da tijekom skladištenja mlijeka u vimenu te tijekom transport dolazi do aktivacije enzima lipoproteinske lipaze (nalazi se u membrani koja okružuje masne kapljice) u mlijeko tada poraste koncentracija neesterificiranih masnih kiselina te je takvo mlijeko gorko i užeglo (SJAASTAD i sur., 2016).

2.6.2.3. Bjelančevine

Sinteza bjelančevina u mliječnoj žlijezdi ista je kao i u drugim stanicama tijela. Do transkripcije gena koji kodiraju bjelančevine mlijeka dolazi hormonskim putem otprilike oko vremena porođaja. Gotovo 95% bjelančevina mlijeka ne nalazi se izvan mliječne žlijezde. Esencijalne aminokiseline koje su potrebne za sintezu proteina mlijeka dolaze u mliječnu žlijezdu iz krvi. Epitelne stanice mliječne žlijezde imaju sposobnost proizvodnje neesencijalnih aminokiselina procesom transaminacije (SJAASTAD i sur., 2016).

Do sinteze bjelančevina dolazi u hrapavom endoplazmatskom retikulumu epitelnih stanica, putuju do Golgijevog aparata gdje se neke od njih modificiraju i prenose do sekrecijskih mjehurića pa zatim do lumena alveola procesom egzocitoze. Od modifikacija koje se na bjelančevinama dovijaju, najčešće su fosforilacija, većinom kazeina te glikozilacija. Od bjelančevina mlijeka najčešće nalazimo kazein, laktalbumin, laktoglobulin, imunoglobuline i različite enzime (SJAASTAD i sur., 2016).

Uobičajena praksa u mliječnoj industriji je izdvojiti kazeine precipitacijom pomoću specifičnih enzima ili kiselinama, pa se ti kazeini zatim koriste u proizvodnji sira. Taj proces međutim ne odvaja bjelančevine sirutke. Relativan omjer proteina sirutke i kazeina varira ovisno o vrsti te o stadiju laktacije. U usporedbi s mlijekom goveda i mlijekom ostalih preživača, mlijeko kobilica i magarica ima niži omjer proteina sirutke i kazeina, sličan omjeru u mlijeku žena (Tablica 4). Mlijeko koza, ovaca i deva ima niži omjer proteina sirutke i kazeina kao i relativno veći omjer β -kazein- α_s -kazein u usporedbi s mlijekom krava (ROY i sur., 2020).

Tablica 4. Omjer bjelančevina u mlijeku različitih vrsta životinja (ROY i sur., 2020).

Proteinske frakcije	Govedo	Bivol	Koza	Ovca	Crveni jelen	Deva	Konj	Magarac
Ukupni kazeini	24,6-28	32-40	23.3-46.3	41.8-52.6	57-84	22.1-26	9.4-13.6	6.4-10.3
Ukupni proteini sirutke	5.5-7.0	6	3.7-7.0	10.2-16.1	11-15	5.9-8.1	7.4-9.1	4.9-8.0
Omjer kazeina i proteina sirutke	82:18	82:18	78:22	76:24	80:20-85:15	73:27-76:24	52:48	56:44
Glavni kazeini								
Alfa-S1-kazein	8-10.7	8.9	0-13	2.4-22.1	-	4.9-5.7	2.4	Prisutan
Alfa-S2-kazein	2.8-3.4	5.1	2.3-11.6	6	-	2.1-2.5	0.2	Prisutan
Beta-kazein	8.6-9.3	12.6-20.9	0-29.6	15.6-39.6	-	14.4-16.9	10.66	Prisutan
Kappa-kazein	2.3-3.3	4.1-5.4	2.8-13.4	3.2-12.23	-	0.8-0.9	0.24	Prisutan
Glavni proteini sirutke								
Beta-laktoglobulin	3.2-3.3	3.9	1.5-5.0	6.5-13.5	-	Odsutan	2.55	3.3
Alfa-laktalbumin	1.2-1.3	1.4	0.7-2.3	1-1.9	-	0.8-3.5	2.37	1.9

2.6.2.3.1. Kazeini

Kazeini su bjelančevine koje su fosforilirane i vežu ione kalcija te čine 80% ukupne količine bjelančevina u mlijeku (Tablica 4). U mlijeku se nalaze 3 glavne frakcije kazeina: alfa,

beta i kapa. Postoje vrsne razlike u količini kazeina u odnosu na druge bjelančevine mlijeka; kod preživača čine 80%, kod kobilica 50%, a kod ljudi 40%. Kazeini se u mlijeku nalaze u obliku kazeinskih micela, agregati nastali u Golgijevom aparatu vezanjem iona kalcija na molekule kazeina. Kazein je promjenjive aminokiselinske građe (FELDHOFER i VAŠAREVIĆ, 1998). Većina kalcija i fosfata u mlijeku vezani su na kazein, oko 65% od ukupne količine kalcija u mlijeku te oko 50% od ukupne količine fosfata u mlijeku (SJAASTAD i sur., 2016). U želucu mladunčadi kazein se precipitira i stvara se ugrušak kalcijev parakazeinat. Do precipitacije dolazi uslijed niskog pH želučanog sadržaja, i zbog djelovanja proteolitičkog enzima renina, koji cijepa peptidne veze.

2.6.2.3.2. Laktalbumin i laktoglobulin

Najzastupljeniji proteini sirutke su α -laktalbumini i β -laktoglobulini, proizvodi mliječne žlijezde (Tablica 4). U laktalbumine spadaju alfa-laktalbumin, sintetizirani u epitelnim stanicama mliječne žlijezde, i albumini plazme, resorbirani iz krvi. Kod upale mliječne žlijezde više je albumina u kolostrumu nego u zreloom mlijeku (SJAASTAD i sur., 2016).

2.6.2.3.3. Imunoglobulini

Kolostrum sadrži znatno veću količinu imunoglobulina (Ig) od zreloom mlijeka (Tablica 5). Biološka funkcija Ig u goveđem mlijeku i kolostrumu je zaštita mliječne žlijezde od patogena i pružanje imunološke zaštite teletu od okolnih patogena. Protutijela klase IgG čine 80-90% ukupnih imunoglobulina (MEHRA i sur., 2006). Za vrijeme stvaranja kolostruma imunoglobulini IgG se aktivno prenose iz krvi u epitelne stanice endocitozom te dalje egzocitozom do lumena alveola. Ova transcitoza znatno je izraženija u vrsta koje posjeduju epiteliokorijalni tip posteljice, zbog toga što je putem kolostruma jedini način prijenosa imunoglobulina s majke na mladunče. Za razliku od IgG imunoglobulina, IgA i IgM se proizvode u plazma stanicama koje se nalaze u vezivnom tkivu između alveola. Glavne funkcije IgA u mlijeku su zaštita sluznica mliječne žlijezde, i sluznice crijeva u mladunčeta nakon što posiše mlijeko (SJAASTAD i sur., 2016).

Tablica 5. Koncentracija imunoglobulina u kolostrumu i mlijeku (MEHRA i sur., 2006).

Klasa imunoglobulina	Molekularna masa (kDa)	Koncentracija u mlijeku (g/L)	Koncentracija u kolostrumu (g/L)
IgG1	146-163	0.3-0.6	15-180
IgG2	146-154	0.06-0.12	1-3
Ukupni IgG		0.15-0.8	20-200
SIgA	385-430	0.05-0.1	1-6
IgM	900	0.04-0.1	3-9

2.6.2.3.4. Enzimi

Enzimi kao sastojci mlijeka potječu iz četiri glavna izvora: krvne plazme, citoplazme sekretornih stanica, membrane kapljice mliječne masti i somatskih stanica (leukociti) (FOX i KELLY, 2006.). Oko 70 enzima mlijeka identificirano u goveđem mlijeku identificirani su u normalnom goveđem mlijeku (FOX, 2003). U mlijeku možemo pronaći nekoliko enzima koji mogu utjecati na sastav mlijeka za vrijeme dok je ono skladišteno. Primjerice lipazu koja razgrađuje triacilglicerole u masnim kapljicama. Nalazimo i fosfatazu, koja je termolabilna, i koristi se kao indikator dostatne toplinske obrade prilikom procesa pasterizacije. Nalazimo još i laktoferin i transferin čija je uloga inhibicija razvoja bakterija u mlijeku. Željezo koje je vezano na transferin nedostupno je većini bakterija, dok je mladunčadi dostupno. U mlijeku nalazimo i lizozim koji ima antibakterijski učinak (SJAASTAD i sur., 2016).

2.6.2.4. Ioni mlijeka

Najvažniji ioni koje pronalazimo u mlijeku su ioni natrija, kalija i klora. U mlijeku su prisutni kao slobodni ioni, i njihova se koncentracija kreće između vrijednosti koje nalazimo u unutarstaničnoj i izvanstaničnoj tekućini. U epitelnim stanicama, na bazolateralnoj membrani, djeluje Na-K-ATP-azna crpka koja u stanici održava visoku koncentraciju kalija i nisku koncentraciju natrija. Ti ioni, skupa s laktozom, najvažniji su nosioci osmolarnosti mlijeka, pa su samim time bitni za količinu mlijeka koje se može proizvesti. Od aniona, nalazimo još i citrate i fosfate koji su u manjim koncentracijama od monovalentnih iona. Prisutni su i magnezij i kalcij, kojih u mlijeku ima znatno više nego u krvnoj plazmi. Mlijeko je siromašno željezom i bakrom (HAVRANEK i RUPIC, 2003).

2.7. Otpuštanje mlijeka iz mliječne žlijezde

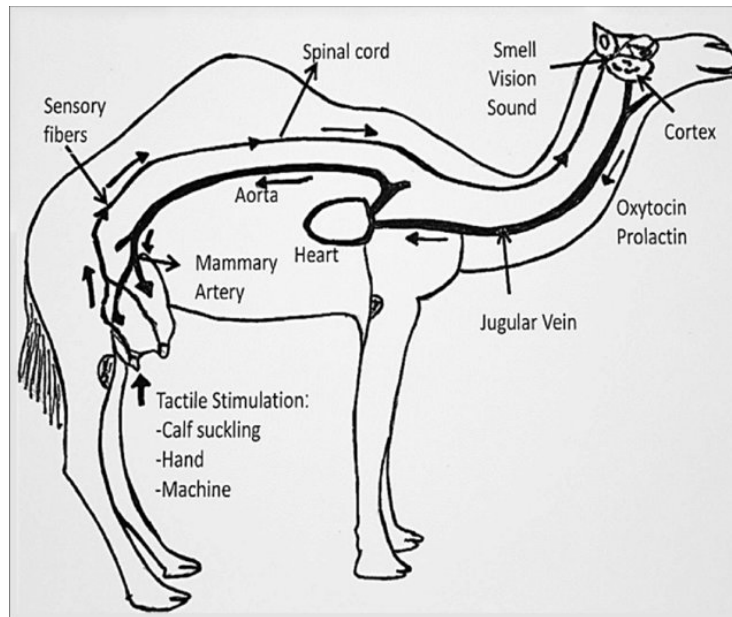
Kad se mioepitelne stanice koje okružuju alveole kontrahiraju, dolazi do pražnjenja alveola. Ukoliko ne dođe do kontrakcije, većina mlijeka će zaostati u njima, u goveda oko 80%. Koze imaju veće žljezdane cisterne pa stoga kod njih manje mlijeka zaostaje u alveolama (oko 30%). Refleks otpuštanja mlijeka uzrokuje kontrakciju mioepitelnih stanica, i javlja se kod mužnje i sisanja (BRUCKMAIER, 2005).

Refleks naviranja mlijeka neuroendokrini je refleks kojim započinje pražnjenje mliječne žlijezde (Slika 5). Taktilni podražaju nastali prilikom mužnje ili sisanja dolaze do hipotalamusa i potiču proizvodnju oksitocina, koji se zatim otpušta u krv i dolazi do mliječne žlijezde. Oksitocin ima nekoliko učinaka na vime. Djelovanjem oksitocina povećava se tlak u lumenu alveola, smanjuje otpor u malim ekskretornim kanalčićima, smanjuje otpor u sisnom kanalu i opušta glatkomišićni sfinkter na vrhu sise (BRUCKMAIER, 2005). Za prijenos signala kod refleksa naviranja mlijeka, potrebno je 40-50 sekundi od stimulacije do pojave maksimalnog tlaka ekskretornog sustava. Oksitocin se brzo razgrađuje, pa stoga opuštanje mioepiteljih stanica nastaje 5-8 minuta nakon početka stimulacije. U svrhu pravilnog pražnjenja vimena, krava bi trebala bit pomužena unutar nekoliko minuta nakon stimulacije.

Mliječna žlijezda u krmača nema cisterne, i dok se ne pokrene refleks naviranja mlijeka, mlijeko ostaje u alveolama. Otpuštanje oksitocina traje oko pola minute, i za vrijeme naviranja mlijeka krmača glasno rokće i time privlači pozornost mladih. Stimulacija odabrane sise od strane prasadi, dovodi do povećane proizvodnje mlijeka te sise (FRASER, 1980). Razlog tomu je što učinkovito pražnjenje miječne žlijezde uklanja negativni povratni učinak na stvaranje mlijeka putem povratnog inhibitora laktacije (FIL).

Uz taktilne podražaje sisa i vimena, vizualna stimulacija pogledom na mladunčad, zvukovi i mirisi također potiču naviranje mlijeka. Rastezanje osjetnih stanica rodnice otpušta oksitocin na isti način kao i stimulacija sisa i vimena. U prošlosti se stimulacijom rodnice poticalo otpuštanje mlijeka kod krava koje su imale poteškoća (SJAASTAD i sur., 2016).

Aktivacija simpatikusa ihibira refleks naviranja mlijeka na taj način što smanjuje sekreciju oksitocina, inhibira osjetljivost mioepitelnih stanica na utjecaj oksitocina, uzrokuje kontrakciju sfinktera na vrhu sise i smanjuje protok krvi kroz vime. Bitna je pravilna muzna praksa, koja smanjuje stres na minimum (BRUCKMAIER, 2005).



Slika 5. Prikaz refleksa istjecanja mlijeka u deve (KASKOUS, 2018).

2.8. Laktacijska krivulja

U mliječnim krava dobre plodnosti laktacija traje 305 dana, dok je idealno vrijeme suhostaja između 51 do 60 dana (BACHMAN i SCHAIRER, 2003). Vrhunac laktacije kod krava je oko 4-6 tjedna nakon teljenja. Nakon vrhunca proizvodnja opada do oko 40. tjedna nakon teljenja. Proizvodnja mlijeka pojačava se u prvom razdoblju nakon porođaja, doseže vrhunac i onda postepeno opada. Dogovoreno je da se obrasci takvih promjena u proizvodnji mlijeka nazivaju laktacijskom krivuljom. Proizvodnja mlijeka je primarno regulirana količinom posisanog mlijeka, dakle posredovana je tlakom u žlijezdi nakon pražnjenja. Ako se vime ne prazni do kraja, proizvodnja mlijeka pada, jer neke alveole kao i dio sekretornog tkiva, involuiraju. Proizvodnja mlijeka je također uvjetovana genetskim potencijalom životinje, kvalitetom hrane koju je životinja jela u pubertetu, suhostaju i laktaciji (SJAASTAD i sur., 2016).

2.9. Metabolizam tijekom laktacije

Tijekom bređosti i laktacije dolazi do promjena u metabolizmu u mnogim tkivima putem različitih homeoretskih mehanizama (De KOSTER i OPSOMER, 2013). Homeorezu definiramo kao regulirane ili koordinirane promjene u metabolizmu tjelesnih tkiva neophodne za potporu nekom fiziološkom stanju (BAUMAN i CURRIE, 1980). Organizmu tijekom bređosti i laktacije postane prioritet preuzimanje glukoze i aminokiselina iz plazme za

proizvodnju energije, razvoj ploda i proizvodnju mlijeka (De KOSTER i OPSOMER, 2013). Nutrijenti se dobivaju masnog i mišićnog tkiva. Homeoreza je regulirana hormonima i omogućuje produljeno preusmjeravanje tjelesnih resursa, mijenja odgovor stanica na homeostatske signale te utječe na mnoga tkiva (SJAASTAD i sur., 2016).

Primjer homeoreze je smanjenje sinteze lipida i povećana lipoliza u masnom tkivu kad je proizvodnja mlijeka visoka. Unos glukoze u vime naglo raste, a iskorištavanje u drugim tkivima opada (De KOSTER i OPSOMER, 2013). Velik dio aminokiselina krvi troši se na sintezu bjelančevina mlijeka. Homeoretski mehanizmi su rezultat rezistencije na inzulin (De KOSTER i OPSOMER, 2013).

3. ZAKLJUČCI

1. U radu je opisan hormonski nadzor nad razvojem i rastom mliječne žlijezde i proizvodnjom mlijeka
2. Razvoj mliječne žlijezde i proizvodnja mlijeka pod utjecajem je:
 - a) reproduktivnih hormona koji djeluju izravno na mliječnu žlijezdu: estrogena, progesterona, placentalnog laktogena, prolaktina i oksitocina
 - b) metaboličkih hormona koji imaju brojne funkcije u tijelu te imaju izravne učinke i na mliječnu žlijezdu: hormon rasta, kortikosteroidi, hormoni štitaste žlijezde, inzulin
 - c) lokalno proizvedeni hormoni: hormon rasta, prolaktin, paratireoidnom hormonu sličan peptid (PTHrP) i leptin
3. Početak sinteze mlijeka pod utjecajem je prvenstveno prolaktina, oksitocina te kortizola, progesterona, hormon rasta i estrogena
4. Održavanje proizvodnje mlijeka regulirano je prolaktinom, hormonom rasta, kortikosteroidima, hormonima štitaste žlijezde i inzulinom

4. LITERATURA

1. ACCORSI, P. A., B. PACIONO, C. PEZZI, M. FORNI, D. J. FLINT, E. SEREN (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.
2. BACHMAN, K. C., M. L. SCHAIRER (2003): Invited review: bovine studies on optimal lengths of dry periods. *Journal of Dairy Science*. 86, 3027-3037.
3. BAUMAN, D. E., M. A. MCGUIRE, K. J. HARVATINE (2011): Mammary gland, milk biosynthesis and secretion: Milk fat. U: *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 2nd Edition. Elsevier Inc. Amsterdam. str. 352-358.
4. BAUMAN, D. E., W. B. CURRIE (1980): Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* 9, 1514-1529.
5. BAUMRUCKER, C. R., N. E. ERONDU (2000): Insulin-like growth factor (IGF) system in the bovine mammary gland and milk. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 5, 53-64.
6. BOTHAM K. M., P. A. MAYES (2011): Fiziološki značajni lipidi. U: Harperova ilustrirana biokemija. Medicinska naklada, Zagreb. str. 121-130.
7. BRUCKMAIER R. M. (2005): Normal and disturbed milk ejection in dairy cows. *Domestic Animal Endocrinology*, 29, 268-273.
8. BRUCKMAIER, R. M., E. ROTHENANGER, J. W. BLUM (1994): Measurement of mammary gland cistern and determinations of the cistern milk fraction in dairy cows. *Milchwissenschaft*. 49, 543-546.
9. BRUCKMAIER, R. M., J. W. BLUM (1998): Oxytocin release and milk removal in ruminants. *Journal of Dairy Science*. 81, 939-949.
10. BURBACH, J. P., L. J. YOUNG, J. A. RUSSELL (2006): Oxytocin: Synthesis, secretion, and reproductive functions. U: *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 3rd Ed. Elsevier, New York. str. 3055-3178.
11. CAPUCO, A. V., AKERS, R. M. (2002): Lactation Galactopoiesis, Effects of Hormones and Growth Factors. U: *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier, New York. str. 26-31.
12. CLAEYS, W. L., C. VERRAES, S. CARDOEN, J. De BLOCK, A. HUYGHEBAERT, K. RAES, K. DEWETTINCK, L. HERMAN (2014): Consumption of raw or heated

- milk from different species: an evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control*. 42, 188-201.
13. CROWLEY, W. R. (2015): Neuroendocrine Regulation of Lactation and Milk Production. *Comparative Physiology*. 5, 255-291.
 14. CROWLEY, W. R., W. E. ARMSTRONG (1992): Neurochemical regulation of oxytocin secretion during lactation. *Endocrine Reviews*. 13, 33-65.
 15. DE KOSTER, J. D., G. OPSOMER (2013): Insulin resistance in dairy cows. *Vet Clin Food Anim*, 2, 299-322.
 16. EL-ZEINI, H.M. (2006): Microstructure, rheological and geometrical properties of fat globules of milk from different animal species, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 15, 147-154.
 17. FELDHOFFER, S., G. VAŠAREVIĆ (1998): Suha tvar i bjelančevine mlijeka s obzirom na pasminsku pripadnost i hranidbu krava. *Mljekarstvo* 48,131-143.
 18. FLINT, D. J., C. H. KNIGHT (1997): Interactions of prolactin and growth hormone (GH) in the regulation of mammary gland function and epithelial cell survival. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 2, 4-48.
 19. FORSYTH, I. A. (1996): The insulin-like growth factor and epidermal growth factor families in mammary cell growth in ruminants: action and interaction with hormones *Journal of Dairy Science*. 79, 1085-1096.
 20. FOX, P. F. (2003): Significance of indigenous enzymes in milk and dairy products. U: *Handbook of Food Enzymology*. Marcel Dekker, New York. str. 255-277.
 21. FOX, P. F., A. L. KELLY (2006): Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects—Part 1. *International Dairy Journal*. 16, 500-516.
 22. FRASER, D. (1980): A REVIEW OF THE BEHAVIOURAL MECHANISM OF MILK EJECTION OF THE DOMESTIC PIG. *Applied Animal Ethology*, 6, 247-255
 23. GANTNER, V., P. MIJIC, M. BABAN, Z. SKRTIC, A. TURALIJA (2015): The overall and fat composition of milk of various species. *Mljekarstvo*. 65, 223-231.
 24. GROSVENOR, C. E., F. MENA (1982): Regulating mechanisms for oxytocin and prolactin secretion during lactation. *Neuroendocrine Perspectives*, Volume 1. Elsevier, New York. str. 69-110.
 25. GROSVENOR, C. E., G. V. SHAH, W. R. CROWLEY (1992): Role of neurogenic stimuli and milk prolactin in the regulation of prolactin secretion during lactation. *Mammalian Parenting Biochemical, Neurobiological and Behavioral Determinants*. Oxford University Press, New York. str. 324-342.

26. HAVRANEK, J., V. RUPIC (2003): Mlijeko od farme do mljekare. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb. str. 29-44
27. HIGUCHI, T., K. HONDA, T. FUKUOKA, H. NEGORO, Y. HOSONO, E. NISHIDA (1983): Pulsatile secretion of prolactin and oxytocin during nursing in the lactating rat. *Endocrinol Japon* 30, 353-359.
28. HOVEY R. C, J. TROTT, B. K. VONDERHAAR (2002): Establishing a framework for the functional mammary gland: From endocrinology to morphology. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 7, 17-38.
29. HURLEY, W. L. (2019): Mammary gland development in swine: embryo to early lactation. *Animal*. 11-19. doi:10.1017/S1751731119000521
30. JAHREIS, G., J. FRITSCH, P. MÖCKEL, F. SCHÖNE, U. MÖLLER, H. STEINHART (1999): The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, cis-9, trans-11 C18:2, in milk of different species: cow, goat, ewe, cow, mare, women. *Nutrition Research* 19, 1541-1549.
31. JIN, H. S., S. UMEMORA, T. IWASAKA, R. Y. OSAMURA (2000): Alterations of myoepithelial cells in the rat mammary gland during pregnancy, lactation and involution, and after estradiol treatment. *Pathology International*. 50, 384-391.
32. KASKOUS, S. (2018): Physiology of lactation and machine milking in dromedary she-camel. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 30, 295-303.
33. KEENAN, T. W., S. PATTON (1995): The milk fat globule membrane. U: *Handbook of milk composition*. Academic Press. San Diego, USA. str. 5-55.
34. KNIGHT, C. H. (2001): Overview of prolactin's role in farm animal lactation. *Livestock Production Science*. 70, 87-93.
35. MACIAS, H., L. HINCK (2012): Mammary Gland Development. *Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*. 1, 533-557.
36. MARTIN, R. H., M. R. GLASS, C. CHAPMAN, G. D. WILSON, K. L. WOODS (1980): Human alpha-lactalbumin and hormonal factors in pregnancy and lactation. *Clinical Endocrinology*. 13, 223-230.
37. McGEADY, T. A., P. J. QUINN, E. S. FITZ PATRICK, M. T. RYAN (2014): Razvoj mliječne žlijezde. U: *Veterinarska embriologija*. Naklada Slap, Zagreb, str. 263-267.
38. MEHRA, R., P. MARNILA, H. KORHONEN (2006): Milk immunoglobulins for health promotion. *International Dairy Journal* 16, 1262-1271.

39. MIZOGUCHI, Y., H. YAMAGUCHI, F. AOKI, J. ENAMI, S. SAKAI (1997): Corticosterone is required for the prolactin receptor gene expression in the late pregnant mouse mammary gland. *Mol. Cell Endocrinol.* 132:177-183.
40. NEVILLE, M. C. (2006): Lactation and its hormonal control. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* 3rd Ed. Elsevier, New York. str. 2994-3054.
41. NEVILLE, M. C., T. B. McFADDEN, I. FORSYTH (2002): Hormonal Regulation of Mammary Differentiation and Milk Secretion. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia.* 1, 49-66
42. QUARRIE, L. H., C. V. ADDEY, C. J. WILDE (1996): Programmed cell death during mammary tissue involution induced by weaning, litter removal, and milk stasis. *Journal of Cell Physiology.* 168, 559-569.
43. ROY, D., A. Ye, P. J. MOUGHAN, H. SINGH (2020): Composition, Structure, and Digestive Dynamics of Milk from Different Species-A Review. *Frontiers in Nutrition.* 7. doi: 10.3389/fnut.2020.577759
44. SJAASTAD, Ø. V., O. SAND, K. HOVE (2016): Lactation. U: *Physiology of domestic animals.* Scandinavian veterinary press, str. 735-760.
45. SQUIRES, E. J. (2003): *Applied animal endocrinology.* CABI Publishing, Velika Britanija, str. 124-135.
46. SVENNERSTEN-SJAUNJA, K., K. OLSSON (2005): Endocrinology of milk production. *Domestic Animal Endocrinology* 29, 241-258.
47. ŠURBEK, M. (2019): Utjecaj broja jarića i stadija laktacije na masne kiseline mlijeka i seruma koza. *Diplomski rad.* Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
48. TUCKER, H. A. (2000): Hormones, mammary growth, and lactation: a 41-year perspective. *Journal of Dairy Science.* 83, 874-84.
49. WAKERLEY, J. B. (2006): Milk ejection and its control. U: *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction.* 3rd Ed. Elsevier, New York. str. 3129-3190.
50. ZINGG, H. H. (1996): Vasopressin and oxytocin receptors. *Baillière's Clinical Endocrinology and Metabolism.* 10, 75-96.

5. SAŽETAK

Hormonski nadzor nad razvojem mliječne žlijezde i proizvodnjom mlijeka

Rast i razvoj mliječne žlijezde počinje u prenatalnom razdoblju. Izrazito brz razvoj mliječne žlijezde možemo uočiti u pubertetu i bređosti. Endokrini sustav koordinira razvoj mliječne žlijezde s reproduktivnim sustavom i potrebom potomaka za mlijekom. Razvoj mliječne žlijezde do početka stvaranja mlijeka naziva se mamogeneza. Za mamogenezu izuzetno su bitni hormon rasta, IGF-1, glukokortikoidi, hormoni štitaste žlijezde i spolni hormoni. Tijekom bređosti za rast i razvoj mliječne žlijezde potrebni su progesteron, estrogen, prolaktin, hormon rasta, placentalni laktogen, inzulin i kortikosteroidi. Početak proizvodnje mlijeka naziva se laktogeneza. Prvi sekret koji alveolarne stanice mliječne žlijezde proizvedu se naziva kolostrum. Održavanje proizvodnje mlijeka naziva se galaktopoeza pri čemu su broj sekretornih epitelnih stanica i proizvodnja mlijeka u korelaciji. Laktogenezu primarno kontrolira prolaktin, a otpuštanje mlijeka oksitocin. Prolaktin ima mnogobrojne funkcije i luči se iz prednjeg režnja hipofize. Ključan je za ekspresiju gena za sintezu bjelančevina mlijeka. Oksitocin je bitan za kontrakciju mioepitelne stanice na površini alveola i duž kanalića mliječne žlijezde. Obrazac otpuštanja oksitocina je pulzatoran. Ostali hormoni koji su bitni za laktaciju su kortizol, koji ima opći učinak na metabolizam, progesteron čija je funkcija stimulacija razvoja vimena tokom bređosti, hormon rasta, estrogeni koji povećavaju broj prolaktinskih receptora i pojačava otpuštanje prolaktina. Glavni dio organskih sastojaka mlijeka sintetizira se samo u epitelnim stanicama mliječne žlijezde. Četiri glavne komponente u mlijeku su bjelančevine, masti, laktoza i minerali. Nalazimo još i vitamine i druge organske molekule koje prelaze u mlijeko iz krvi. Epitelne stanice mliječne žlijezde imaju vrlo brz metabolizam. Od bjelančevina najzastupljeniji su kazeini, proteini sirutke, imunoglobulini i enzimi. U mliječnim krava dobre plodnosti laktacija traje 305 dana. Vrhunac laktacije kod krava je 4-6 tjedana nakon teljenja. Ako se vime ne prazni do kraja, proizvodnja mlijeka opada jer alveole i sekretorno tkivo involuiraju. Involucija je također pod endokrinom kontrolom i korelira s odgovarajućim pražnjenjem vimena.

Ključne riječi: mliječna žlijezda, oksitocin, prolaktin, mlijeko, laktacija

6. SUMMARY

Hormonal regulation of the development of the mammary gland and milk synthesis

The growth and development of the mammary gland starts before the animal is born. The development is especially fast during puberty and gestation. The endocrine system coordinates the development of the mammary gland with the reproductive system and the metabolic needs of their offspring. The development of the mammary gland before it starts producing milk is called mammogenesis. Crucial hormones for mammogenesis are: growth hormone, IGF-1, glucocorticoids, thyroid gland hormones and sex hormones. For its development during pregnancy progesterone, estrogen, prolactin growth hormone, placental lactogen, insulin and corticosteroids are of great importance. Lactogenesis is the beginning of milk production. The first milk that the mammary gland produces is called colostrum. The process of maintaining milk production is called galactopoiesis and during that process the number of epithelial cells and milk production are correlated. Lactogenesis is primarily controlled by prolactin, and milk ejection is dependent on oxytocin. Prolactin has many biological functions inside the organism and it is released by the anterior lobe of the pituitary gland. Its main function is expression of genes necessary for milk protein synthesis. Oxytocin is most important for the contraction of myoepithelial cells that are found on the surface of alveoli and milk ducts. Oxytocin is secreted in a pulsating pattern. Other hormones that are important for lactogenesis are: cortisol, which has a general effect on the animal's metabolism, progesterone whose function is stimulating the development of the mammary gland prepartum, growth hormone, estrogens which are important for the production of prolactin receptors and they increase the secretion of prolactin. Most of the organic milk compounds are synthesized only in epithelial cells of the mammary gland. The four main constituents of milk are proteins, fats, lactose and minerals. We can also find vitamins and other molecules which are taken from blood by the mammary gland. Epithelial cells have a very fast metabolism. Main proteins found in milk are caseins, whey proteins, immunoglobulins and enzymes. Standard cattle lactation lasts 305 days. Peak of the lactation curve is observed 4-6 weeks after giving birth. If the udder is not emptied properly, milk production will drop because alveoli and secretory tissue of the udder will undergo the process of involution. After weaning off their young the mammary gland goes through the process of involution. It is also controlled by hormones.

Key words: mammary gland, oxytocin, prolactin, milk, lactation

7. ŽIVOTOPIS

Kristian Nikolić rođen je 22.11.1994. godine u Zagrebu. Pohađao je osnovnu školu Vjenceslava Novaka u Zagrebu, a nakon toga upisuje 3. Gimnaziju u Zagrebu. Godine 2013. upisao je Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Za vrijeme studija prisustvovao je na veterinarskim kongresima u Zagrebu i Beogradu. Tijekom studija volontirao je na Klinici za unutarnje bolesti i Klinici za infektivne i parazitarne bolesti Veterinarskog fakulteta sveučilišta u Zagrebu.

Stručnu praksu odradio je 2020. godine u Veterinarskoj klinici Kreszinger u Sesvetama.