

## AKWAPORYNY W GRUCZOLE MLEKOWYM ORAZ ICH ROLA W SYNTEZIE MLEKA

AQUAPORINS IN MAMMARY GLAND  
AND THEIR ROLE IN MILK SYNTHESIS

Katarzyna MICHAŁEK, Paweł SEŃKO, Mateusz BERNACIAK,  
Paulina MAŁKOWSKA, Szymon DYGUŚ,  
Wojciech JANKOWSKI, Adam LEPCZYŃSKI

Katedra Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki, Wydział Biotechnologii i Hodowli  
Zwierząt, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

*Streszczenie:* Akwaporyny (AQPs) są rodziną małych, tetrametrycznych białek umożliwiających transport wody i innych małych cząsteczek przez błony biologiczne zarówno do wnętrza jak i na zewnątrz komórek. U ssaków zidentyfikowano 13 izoform tych białek (AQP0- AQP12), które występują w większości typów komórek organizmu. W gruczole mlekowym stwierdzono obecność 6. akwaporyn (AQP1, AQP3, AQP4, AQP5, AQP7 i AQP9), których rola do dziś nie została w pełni wyjaśniona. Z przeprowadzonych do tej pory badań dotyczących zmian ekspresji akwaporyn w okresie ciąży i laktacji wynika, że AQPs pełnią kluczową rolę w procesie syntezy mleka. AQP1 obserwowano w błonie szczytowej i podstawnej śródbłonna naczyń krwionośnych oraz cytoplazmie komórek wydzielniczych. Prawdopodobnie białko to jest odpowiedzialne głównie za przepływ niezbędnej do produkcji mleka wody z naczyń włosowatych do komórek mlekotwórczych. AQP3 występuje w błonie podstawno-bocznej komórek wydzielniczych i umożliwia transport zarówno wody jak i glicerolu do ich wnętrza. Efektywny transport glicerolu do komórek mlekotwórczych jest konieczny w procesie syntezy tłuszczów mleka. W błonie szczytowej komórek nabłonka pęcherzyków mlekowych obserwowano akwaporynę 4, 5 oraz 7, które najprawdopodobniej umożliwiają przepływ wody do światła pęcherzyków mlekowych, jakkolwiek ich rola do dziś nie jest w pełni wyjaśniona. Analiza lokalizacji i ekspresji akwaporyn, szczegółowe określenie ich roli oraz poszukiwanie czynników regulujących ekspresję AQPs w gruczole mlekowym wydają się bardzo interesujące zwłaszcza w kontekście produkcji mleka i wysokiej wydajności mlecznej. Stąd w niniejszej pracy zebrano i przedyskutowano wszystkie dotychczas opublikowane informacje na ten temat i wskazano szerokie możliwości związane z badaniem akwaporyn w gruczole mlekowym.

*Słowa kluczowe:* kanał wodny, błonowy transport, woda, glicerol, gruczoł mlekowy

*Summary:* Aquaporins (AQPs) are a family of small, tetrametric proteins that allow the transport of water and other small molecules across the biological membranes both inside and outside the cells. In mammals, 13 isoforms of these proteins (AQP0-AQP12) have been identified, and they are found in most types of cells in the body. There are 6 aquaporins present in the mammary gland (AQP1, AQP3, AQP4, AQP5, AQP7 and AQP9), which role hasn't been fully discovered to this day. From the studies carried out so far respecting in the expression of aquaporins during pregnancy and lactation, shows that AQPs play a key role in process of milk synthesis. AQP1 was observed in the apical and basal membranes of endothelium of blood vessels and in the cytoplasm of secretory cells. Probably, this protein is mostly responsible for the water flow necessary for milk production from capillaries to mammary epithelial cells. AQP3 is located in the basolateral membranes of secretory cells and allows the transport of both water and glycerol inside them. The effective transport of glycerol to the mammary epithelial cells is necessary to process of synthesis milk fats. Aquaporin 4, 5 and 7 were observed in the apical membrane of cells of alveolar epithelium, which most likely allow the water flow into the lumen of the alveoli, although their role has not been fully explained to this day. The analysis of the location and expression of aquaporins, the detailed definition of their role and the search for factors regulating the expression of AQPs in mammary gland seem very interesting, especially in the context of milk production and high milk yield. Hence, in this work all information for this subject which were published so far has been collected and discussed, and a wide possibility related to the study of aquaporins in mammary gland have been indicated.

*Keywords:* water channel, membrane transport, water, glycerol, mammary gland

## WPROWADZENIE

Dwukierunkowy przepływ wody przez półprzepuszczalną, lipidową błonę komórkową zachodzi głównie na drodze dyfuzji prostej oraz przez kanały wodne – akwaporyny. Choć ten pierwszy mechanizm był znany od dawna to akwaporynę 1 (AQP1) po raz pierwszy zaobserwowano dopiero na przełomie lat 80 i 90 w błonie komórkowej erytrocytów [3]. W roku 1992 białko to wyizolowano i dostarczono bezpośrednich dowodów na to, że AQP1 znana wtedy jeszcze pod nazwą CHIP28 (ang. *Channel Forming Integral Protein 28 kDa*) jest od dawna poszukiwanym kanałem umożliwiającym dwukierunkowy, gwałtowny przepływ wody przez błony komórkowe [1, 37, 45]. Odkrycie akwaporyn i określenie ich roli, uhonorowane w 2003 roku nagrodą Nobla w dziedzinie chemii rozpoczęło nową erę w badaniach błonowego transportu wody i innych, małych cząsteczek. Do dziś przeprowadzono szereg badań, z których wynika, że akwaporyny występują właściwie u wszystkich żywych organizmów. Ich obecność potwierdzono m.in. u bakterii, drożdży, pierwotniaków, roślin, owadów i zwierząt kręgowych. U ssaków zidentyfikowano 13 izoform tych białek, zlokalizowanych w różnych typach komórek (AQP0-AQP12) [3, 5].

Akwaporyny to białka tetrametryczne, których przestrzenna budowa pojedynczego monomeru swoim kształtem przypomina klepsydre (szczegółowa budowa akwaporyn została opisana w poprzednim artykule opublikowanym na

łamacz Postępów Biologii Komórki, Tom 46, 2019) [30]. Białka te umożliwiają gwałtowny przepływ wody przez błony komórkowe, który w porównaniu do dyfuzji prostej jest ponad 100-krotnie wydajniejszy i wynosi średnio 3 miliardy cząsteczek  $H_2O$  na sekundę. Kierunek błonowego przepływu wody wyznacza różnica ciśnień osmotycznych panująca pomiędzy wnętrzem komórki, a jej środowiskiem zewnętrznym [4, 36, 44]. Wśród wszystkich znanych u ssaków akwaporyn wyróżniamy tzw. (i) akwaporyny klasyczne (ang. *classical aquaporins*), które selektywnie transportują tylko cząsteczki wody (AQP0, AQP1, AQP2, AQP4 i AQP5); (ii) akwagliceroporyny (ang. *aquaglyceroporins*), które poza wodą umożliwią przepływ innych małych cząsteczek tj. glicerol, amoniak czy mocznik (AQP3, AQP7, AQP9 i AQP10) oraz (iii) akwaporyny niekonwencjonalne (ang. *unorthodox aquaporins*), które różnią się homologią od pozostałych białek w tej rodzinie, a ich rola transportowa do dziś nie jest w pełni wyjaśniona (AQP6, AQP8, AQP11, AQP12) [28, 29]. Odkrycie akwaporyn i wyjaśnienie nieznanego przez stulecia fundamentalnego procesu, jakim jest gwałtowny przepływ wody przez błony biologiczne, umożliwiło zrozumienie przebiegu wielu procesów fizjologicznych i patofizjologicznych, w obrębie wielu układów i narządów. Ostatnie dane z tego zakresu wskazują również na istotny udział tych białek w procesie syntezy mleka w gruczole mlekowym.

Mleko to unikatowa wydzielina gruczołu mlekowego ssaków, której skład charakterystyczny dla danego gatunku skomponowany jest tak, aby jak najlepiej zaspokoić wszystkie potrzeby noworodka [27]. Wręcz imponujące ilości produkowanego w czasie laktacji mleka świadczą o niezwykłych zdolnościach tego gruczołu. Średnia życiowa wydajność laktacji hodowlanych krów mlecznych wynosi blisko 36 tysięcy litrów. Przyjmując średnią zawartość tłuszczu w mleku na poziomie 4,23 % oraz średnią zawartość białka w mleku na poziomie 3,38 %, „przeciętna” krowa dostarcza ponad 1500 kg tłuszczu i 1200 kg białka [23]. Kobiety po porodzie mogą produkować w ciągu doby średnio 445 ml mleka co daje blisko 163 jego litrów w czasie jednej laktacji [23]. Synteza charakterystycznej dla danego gatunku zarówno ilości, jak i składu mleka niewątpliwie wymaga szeregu sprawnych mechanizmów obejmujących m.in. transport substancji niezbędnych do biosyntezy poszczególnych jego składników oraz ich uwalnianie do światła przewodów mlekowych. Akwaporyny i związany z nimi transport wody oraz innych małych cząsteczek zarówno do wnętrza, jak i na zewnątrz komórek niewątpliwie odgrywają istotną rolę w tym zakresie.

## BUDOWA GRUCZOŁU MLEKOWEGO I SYNTEZA MLEKA

Gruczoł mlekowy jest złożonym gruczolem pęcherzykowo-kanalikowym, którego liczba i wygląd zewnętrzny różni się u samic poszczególnych gatunków zwie-

rząt. Gruczoł mlekowy jest najczęściej wytworem parzystym o liczbie sutków (strzyków) wahającej się od 2 u kobiety, kozy i kłaczy, 4 u krowy do nawet kilkunastu u psa lub świni (zwyczajowo 12-14) [35]. Ze względu na położenie gruczołu mlekowego wyróżniamy m.in. gruczoły piersiowe u kobiety, pachwinowe u kłaczy i przeżuwaczy, brzuszne u kota, psa, myszy, szczura, królika oraz świni, a także grzbietowe u delfinów czy nutrii [35]. Struktura wewnętrzna gruczołu mlekowego jest zbliżona u wszystkich samic, niemniej jednak ulega zmianom w zależności od wieku i cyklu rozrodczego [13]. Tworzą ją liczne pęcherzyki, od których odchodzą kanaliki mlekowe, które łączą się w przewody śródpłacikowe, dalej w przewody międzypłacikowe, a te z kolei, w jeden płatowy przewód mlekowy [39]. U kobiet przewody mlekowe uchodzą na szczycie brodawki sutkowej. Bezpośrednio przed otwarciem ich na powierzchni brodawki tworzą one małe, przejściowe rozszerzenia, nazywane zatokami mlekowymi [9, 39]. U krów, gruczoł mlekowy (wymię) składa się z czterech ćwiartek. W każdej z ćwiartek znajduje się osobna tkanka gruczołowa, której przewody mleczne uchodzą do zatoki mlekowej, przechodzącej następnie w zatokę strzykową i strzyk [11]. Gruczoł mlekowy kłaczy zbudowany jest z dwóch połówek i każda z nich dzieli się na dwa płaty zakończone dwoma ujściami i jednym strzykiem [7]. U owcy oraz kozy każda połowa gruczołu mlekowego zawiera jedną parę gruczołów, zakończonych jednym strzykiem. [6].

Bogato unaczynione pęcherzyki gruczołu mlekowego wyścielone są warstwą sześciennych komórek nabłonkowych mlekotwórczych (wydzielniczych, sekrecyjnych) zwróconych błoną apikalną do ich światła. Od strony podstawnej nabłonek otoczony jest komórkami mioepitelialnymi, które stymulowane oksytocyną ulegają skurczowi i wypierają powstałe w pęcherzykach mleko do kanalików. Komórki mioepitelialne otaczają również jednowarstwowy sześcienny nabłonek wyścielający przewody i zatoki mlekowe oraz strzyki. Większe przewody mlekowe pokryte są wysokim, walcowatym nabłonkiem, który w pobliżu ujścia brodawki sutkowej czy zatoki mlekowej przechodzi w nabłonek wielowarstwowy płaski. Pęcherzyki mlekowe oraz obszerny i rozgałęziony układ przewodów otoczony jest względnie zbitą tkanką włóknistą oraz tkanką tłuszczową [15].

Mleko jest mieszaniną cukrów, lipidów, białek, witamin i składników mineralnych rozpuszczonych w wodzie, która stanowi blisko 88% jego objętości [31]. Procentowy udział składników mleka różni się u kobiet i poszczególnych gatunków zwierząt, co związane jest z indywidualnymi potrzebami noworodka. Skład mleka zmienia się również wraz z przebiegiem laktacji. Podczas jego produkcji w obrębie komórek mlekotwórczych zachodzi szereg procesów związanych m.in. z transportem i syntezą poszczególnych składników mleka z ich prekursorów pochodzących z krwi bądź płynu śródmiąższowego [26]. Docierające do błony podstawnej komórki nabłonka pęcherzyków mlekowych naczynia włosowate dostarczają wodę, składniki mineralne i wszystkie niezbędne substraty do syntezy białek (w tym immunoglobuliny i albuminy), cukrów oraz tłuszczów [39]. Ich

transport zachodzi na drodze pięciu procesów: egzocytozy, transportu błonowego, drodze wydzielania lipidów, transcytozy i wydzielania międzykomórkowego (paracelularnego) [26, 40].

## AKWAPORYNY ZLOKALIZOWANE W GRUCZOLE MLEKOWYM

Do dziś w gruczole mlekowym zidentyfikowano 6 izoform akwaporyn (AQP1, AQP3, AQP4, AQP5, AQP7 i AQP9), które zlokalizowane są w określonych typach komórek tworzących jego strukturę (**Tab. 1**). Rola tych białek wciąż nie jest w pełni wyjaśniona, niemniej jednak wyniki opublikowanych dotychczas badań wskazują, że AQPs mogą odgrywać kluczową rolę w syntezie mleka, a zmiany ich ekspresji mogą być istotnym czynnikiem wpływającym na jego ilość i jakość.

AQP1 zlokalizowana jest w gruczole mlekowym u szczurów, myszy i krów [18, 24, 32, 33]. Białko to występuje głównie w błonie szczytowej i podstawnej śródbłonka naczyń krwionośnych oplatających pęcherzyki mlekowe. U jałówek i krów w czasie laktacji obecność tego białka potwierdzono w komórkach mioepitelialnych otaczających nabłonek zatok mlekowych oraz strzyków [18, 32]. U szczurów AQP1 stwierdzono także w cytoplazmie komórek wydzielniczych [33]. Z przeprowadzonych do tej pory badań wiadomo, że AQP3 zlokalizowana jest przede wszystkim w błonie podstawno-bocznej nabłonka pęcherzyków mlekowych [18, 24, 32, 33]. U krów obecność tego białka potwierdzono dodatkowo w błonie podstawnej nabłonka przewodów mlekowych i zatok mlekowych, a także nabłonku i mięśniach gładkich strzyków [18, 32]. U szczurów AQP3 obserwowano również w cytoplazmie komórek nabłonka pęcherzyków, kanalików i przewodów mlekowych [17].

U szczurów i myszy potwierdzono obecność AQP4 w gruczole mlekowym, niemniej jednak jej lokalizację określono tylko u jałówek i krów laktujących [18, 24, 32]. U tych zwierząt białko to zlokalizowane jest w części szczytowej nabłonka wydzielniczego pęcherzyków oraz błonie szczytowej nabłonka zatok mlekowych i strzyków. AQP4 obserwowano również w mięśniach gładkich strzyka. AQP5 u szczurów stwierdzono w błonie szczytowej komórek nabłonka wydzielniczego oraz nabłonka wyścielającego zatoki mlekowe u krów [18, 32, 33]. Występowanie AQP7 w gruczole mlekowym potwierdzono także u zwierząt laboratoryjnych, jakkolwiek do dziś nie jest znana jej dokładna lokalizacja [24]. Przypuszczalnie jej obecność związana jest głównie z występowaniem AQP7 w adipocytach tkanki tłuszczowej gruczołu mlekowego. U bydła AQP7 stwierdzono w błonie szczytowej komórek nabłonkowych niektórych pęcherzyków mlekowych i błonie szczytowej komórek wyścielających kanał strzyków [32]. Obecność AQP9 potwierdzono zarówno u myszy, szczurów i krów [24, 32]. U laktujących krów nie stwierdzono obecności AQP9 w komórkach budujących poszczególne struktury gruczołu mlekowego, a jej lokalizacja ograniczona była do leukocytów w jego obrębie [32].

**TABLE 1.** Akwaporiny (AQPs) zlokalizowane w gruczole mlekowym i ich rola w syntezie mleka  
**TABLE 1.** Aquaporins (AQPs) located in the mammary gland and their role in the milk synthesis

<b>Akwaporyna</b> (Aquaporin)	<b>Transportowane cząsteczki</b> (Transported molecules)	<b>Lokalizacja w gruczole</b> (Localization in gland)	<b>Lokalizacja komórkowa</b> (Cellular localization)	<b>Gatunek</b> (Species)	<b>Rola w syntezie mleka</b> (Role in milk synthesis)	<b>Literatura</b> (References)
<b>AQP1</b>	Woda	Śródbłonek naczyń krwionośnych  Komórki mioepitelialne otaczające nabłonek zatok mlekowych i strzyków	Błona szczytowa i podstawna  ???	Szczur, mysz, krowa  Krowa	Transport wody z naczyń włosowatych  ---	[18, 21, 24, 32, 33]
<b>AQP3</b>	Woda/glicerol/ mocznik/amoniak	Nabłonek pęcherzyków mlekowych Nabłonek pęcherzyków mlekowych Nabłonek przewodów i zatok mlekowych, strzyków Nabłonek pęcherzyków, kanalików i przewodów mlekowych	Cytoplazma Błona podstawno-boczna Błona podstawna Cytoplazma	Szczur Szczur, mysz, krowa, kobieta Krowa Szczur	???	[2, 17, 18, 21, 24, 32, 33]
<b>AQP4</b>	Woda	Nabłonek pęcherzyków mlekowych Nabłonek, zatok mlekowych i strzyków	Część szczytowa Błona szczytowa	Mysz <sup>*</sup> , szczur <sup>*</sup> , krowa Krowa	Transport wody do światła pęcherzyków ???	[18, 32]
<b>AQP5</b>	Woda	Nabłonek pęcherzyków mlekowych Nabłonek zatok mlekowych	Błona szczytowa Błona szczytowa	Szczur krowa <sup>**</sup> Krowa	Transport wody do światła pęcherzyków ???	[17, 18, 21, 32, 33]
<b>AQP7</b>	Woda/glicerol/ amoniak/ mocznik	Nabłonek pęcherzyków mlekowych Nabłonek strzyków Adipocyty	Błona szczytowa Błona szczytowa Błona szczytowa Błona komórkowa	Krowa, szczur, mysz <sup>**</sup> Krowa Krowa	Transport wody i glicerolu do wnętrza komórek ???	[24, 32]
<b>AQP9</b>	Woda/glicerol/ amoniak/ mocznik	Leukocyty w obrębie gruczolu mlekowego i naczyń krwionośnych	Błona komórkowa	Krowa, szczur <sup>***</sup> , mysz <sup>***</sup>	Uwalnianie glicerolu do krwiobiegu ---	[32, 18, 43]

<sup>\*</sup>U szczurów i myszy nie określono szczegółowej lokalizacji AQP4, jakkolwiek potwierdzono obecność tego białka w gruczole mlekowym

<sup>\*\*</sup>U krów w nabłonku pęcherzyków mlekowych nie określono komórkowej lokalizacji AQP5

<sup>\*\*\*</sup>U szczurów i myszy nie określono szczegółowej lokalizacji AQP7, jakkolwiek potwierdzono obecność tego białka w gruczole mlekowym

<sup>\*\*\*\*</sup>U szczurów i myszy nie określono szczegółowej lokalizacji AQP9, jakkolwiek potwierdzono obecność tego białka w gruczole mlekowym

## AKWAPORYNY W TRANSPORCIE WODY W OBREBIE GRUCZOŁU MLEKOWEGO

Transport wody z krwi przez śródbłonek naczyń krwionośnych i nabłonek pęcherzyków mlekowych do ich światła, to jeden z ważniejszych procesów w wytwarzaniu i sekrecji mleka. Pomimo tego, że synteza i transport wielu jego składników jest szeroko opisywany w literaturze brak jest wśród nich danych dotyczących gwałtownego przepływu wody poprzez błonowe „bariery” jakie tworzą kolejno śródbłonek naczyń krwionośnych, podstawna i szczytowa błona komórek wydzielniczych. Biorąc pod uwagę, że woda stanowi prawie 90% zawartości mleka, podczas laktacji musi być zapewniony jej stały i efektywny przepływ.

Choć niektórzy autorzy sugerowali, że gwałtowny przepływ wody nie jest niezbędny w procesie syntezy mleka, a stały jej transport na drodze dyfuzji prostej, wraz z pęcherzykami wypełnionymi laktozą oraz przy udziale transporterów tj. transportery dla glukozy (GLUT1) są wystarczające, obecnie znane fakty wydają się temu zaprzeczać [24, 40]. Lokalizacja aż 5 spośród 13 izoform akwaporyn w nabłonku poszczególnych części gruczołu mlekowego oraz zmiany ich ekspresji w czasie ciąży i laktacji jednoznacznie wskazują na istotną rolę tych białek w procesie powstawania mleka. Wydaje się, że główną drogę dla wody przepływającej z naczyń włosowatych poprzez AQP1 do komórek mlekotwórczych stanowi zlokalizowana w ich błonie podstawno-bocznej AQP3 [18, 24, 32, 33]. Wzrost ekspresji tego białka w czasie ciąży i/lub laktacji obserwowany odpowiednio u szczurów, myszy i krów potwierdza te przypuszczenia [18, 32, 33]. Interesujący jest również fakt, że w hodowli *in vitro* komórek nabłonka mlekotwórczego (ang. *mammary epithelial cells*, MECs,) ekspresja AQP3 zwiększa się pod wpływem progesteronu, który jak ogólnie wiadomo jest jednym z hormonów, przygotowujących gruczoł mlekowy do laktacji poprzez stymulację mammogenezy pęcherzykowej [17]. Woda, która wpływa do wnętrza komórki mlekotwórczej przez AQP3 opuszcza ją i trafia do światła pęcherzyka mlekowego najprawdopodobniej poprzez zlokalizowane w błonie szczytowej AQP4, AQP5 i AQP7 [18, 32, 33]. Siłą napędzającą kierunkowy przepływ wody jest panujące wewnątrz pęcherzyków mlecznych wyższe ciśnienie osmotyczne (290-320 mOsm/kg), które jest efektem wydzielanych do ich światła laktozy oraz niektórych jonów, zwłaszcza kationów sodu i anionów chlorkowych [34, 40]. Szczególnie istotną rolę w transporcie wody przez błonę szczytową komórek mlekotwórczych wydaje się odgrywać AQP5. Z przeprowadzonych bowiem ostatnich badań wynika, że białko to tuż przed porodem ulega translokacji z cytoplazmy do błony apikalnej komórek nabłonka pęcherzyków mlekowych. Wykazano również, że wzrost transportu tego białka z wewnątrzkomórkowych pęcherzyków do błony szczytowej obserwowany jest pod wpływem estrogenu i prolaktyny [17]. AQP5 należy do akwaporyn klasycznych, czyli przepuszczalna jest tylko dla cząsteczek wody [29]. Wzrost jej ekspresji w błonie szczytowej komórek mlekotwórczych wskazuje, że AQP5

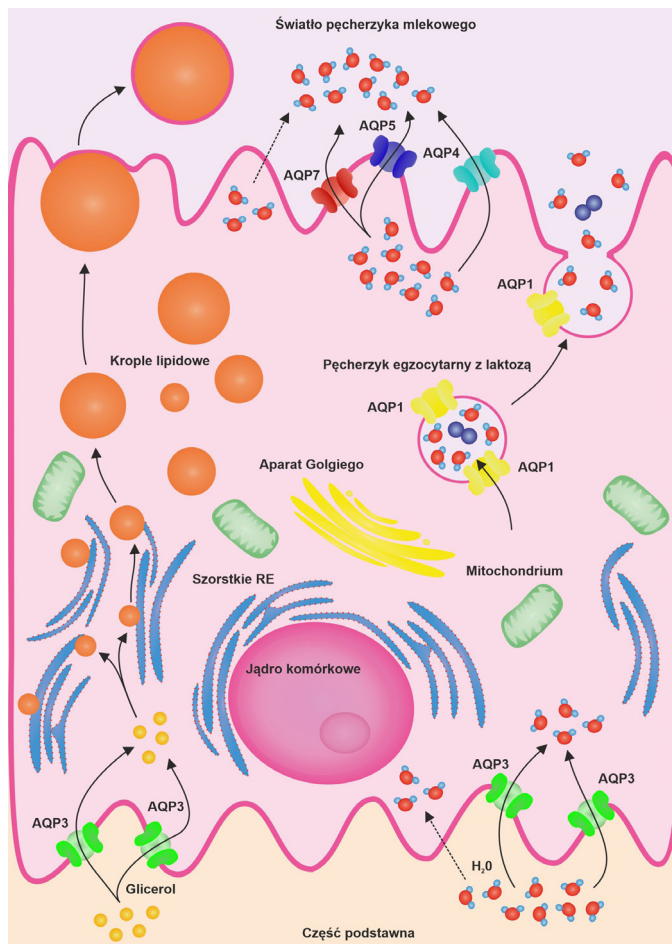
może stanowić główną drogę przepływu wody do światła pęcherzyków mlekowych, jakkolwiek zagadnienie to wymaga dalszych i bardziej szczegółowych badań, bowiem niektórzy autorzy obserwowali obniżenie jej ekspresji w czasie laktacji [33, 40]. Transport wody przy udziale AQP5 prawdopodobnie wspomagany jest przez zlokalizowane w szczytowej części komórek wydzielniczych AQP4 i AQP7 [18, 24, 32]. Jakkolwiek do dziś brak jest informacji na temat zmian ich ekspresji i dystrybucji w czasie ciąży i/lub laktacji.

Poza śródbłonkiem naczyń włosowatych AQP1 obserwowano również w cytoplazmie komórek wydzielniczych gruczołu mlekowego u szczurów. Jej rola w obrębie nabłonka mlekotwórczego do dziś nie została określona, jakkolwiek wzrost ekspresji tego białka w czasie laktacji świadczy o znaczącym udziale AQP1 w syntezie mleka [33]. Być może AQP1 umożliwia napływ wody do wnętrza pęcherzyków wypełnionych laktozą, które na drodze egzocytozy uwalniane są do światła pęcherzyków mlekowych, i w ten sposób wspomaga błonowy transport wody.

### AKWAPORYNY W TRANSPORCIE GLICEROLU I SYNTEZIE LIPIDÓW MLEKA

Tłuszcz jest głównym energetycznym składnikiem mleka, a jego zawartość związana z określonymi potrzebami noworodka wynosi średnio od 1,2% u kłaczy nawet do 50% u wieloryba [8, 42]. U krów średnia zawartość tłuszczu w mleku to 4,2%, u owiec 5,5%, a kobiet 3% [10, 12, 20]. Główną frakcją lipidów mleka są trójglicerydy (TG), które stanowią blisko 98% tłuszczu mleka. Pozostałe 2% stanowią fosfolipidy, cholesterol, diacyloglicerole oraz wolne kwasy tłuszczowe [12, 16]. Synteza tłuszczu zachodzi w siateczce śródplazmatycznej nabłonka pęcherzyków mlekowych. Powstające w obrębie reticulum endoplazmatycznym komórek wydzielniczych kropelki tłuszczu stopniowo przesuwane są do szczytowej ich części, skąd następnie uwalniane są do mleka w postaci obłonionej [40]. Głównym substratem niezbędnym do produkcji tłuszczu mlekowego są glicerol oraz kwasy tłuszczowe, pochodzące z procesów rozkładu i wchłaniania produktów trawienia oraz lipolizy tkanki tłuszczowej [25]. W transport glicerolu poprzez błonę podstawno-boczną do wnętrza komórek wydzielniczych wydaje się być zaangażowana AQP3, która jak wspomniano wcześniej poza wodą transportuje również inne małe cząsteczki, a wzrost jej ekspresji w gruczole mlekowym obserwowano w czasie ciąży i laktacji, a w hodowli *in vitro* MECs pod wpływem progesteronu. Interesujący jest również fakt, że pod wpływem deksametazonu czyli syntetycznego analogu glikokortykoidów, które w warunkach fizjologicznych biorą udział w inicjacji i utrzymania sekrecji mleka po porodzie, w hodowli szczurzych MECs rozporoszona w cytoplazmie AQP3 gromadzi się w błonie podstawno-bocznej [17]. Istotny udział AQP3 w transporcie glicerolu, niezbędnego do syntezy tłuszczu mlekowego potwierdzają również wyniki badań, dotyczących składu mleka w przebiegu zapalenia gruczołu mlekowego – *Mastitis*. Wykazano bowiem, że





**RYCINA 1.** Schemat przedstawiający udział akwaporyn w syntezie mleka. AQP1 zlokalizowana w cytoplazmie komórek, prawdopodobnie umożliwia transport wody do wnętrza pęcherzyków wypełnionych laktozą, które po fuzji z błoną szczytową uwalniane są do światła pęcherzyków mlekowych. Transport wody do wnętrza komórek wydzielniczych pęcherzyków mlekowych zachodzi na drodze dyfuzji prostej oraz poprzez AQP3 zlokalizowaną w błonie podstawnej. Glicerol, niezbędny do syntezy tłuszczów mleka, transportowany jest do wnętrza komórek również poprzez zlokalizowaną w błonie podstawnej AQP3. Woda z wnętrza komórek wydzielniczych do światła pęcherzyków mlekowych przepływa na drodze dyfuzji prostej oraz poprzez akwaporyny 4, 5 i 7 zlokalizowane w błonie szczytowej

**FIGURE 1.** Diagram showing the participation of aquaporins in milk synthesis. AQP1, located in the cytoplasm of cells, probably allows the transport of water into alveolus filled with lactose, which after fusion with apical membrane, are released into the lumen of alveolar epithelium. The transport of water inside the cells takes place by simple diffusion and through AQP3 located in the basal membrane. Glycerol, necessary for the synthesis of milk fats, is also transported inside cells through AQP3 located in the basal membrane. Water from the inside of secretory cells to the lumen of the alveolar epithelium flows by simple diffusion and through aquaporins 4, 5 and 7 located in the apical membrane

pod wpływem cytokin prozapalnych (IL-1 $\beta$ ) ekspresja AQP3 w komórkach mlekotwórczych ulega obniżeniu, czego efektem jest zmniejszenie syntezy lipidów w ich obrębie. Na uwagę zasługuje fakt, że ograniczeniu ekspresji tego białka towarzyszyło również obniżenie ekspresji transporterów dla glukozy oraz białek wiążących kwasy tłuszczowe, co dodatkowo spowodowało, redukcję zawartości trójglicerydów w produkowanym mleku, aż o 97% [2].

Niewątpliwie jednym ze źródeł substratów niezbędnych do syntezy tłuszczu mleka jest występująca w obrębie gruczołu mlekowego tkanka tłuszczowa. Podczas ciąży obserwuje się w jej adipocytach nasilenie procesów lipogenezy, a następnie stopniową lipolizę i uwalnianie zmagazynowanych substratów wraz z przebiegiem laktacji [38]. Ogólnie wiadomo, że w adipocytach żółtej tkanki tłuszczowej powstały w procesie rozkładu tłuszczu glicerol uwalniany jest do krwiobiegu poprzez zlokalizowane w ich błonach komórkowych AQP3, AQP7 i AQP9 [41]. Ekspresja i lokalizacja tych białek jest ściśle regulowana i zależna od adrenaliny, greliny i leptyny [14]. Wykazano m.in., że zlokalizowane w cytoplazmie adipocytów, w kroplach lipidowych AQP3 i AQP7 pod wpływem adrenaliny ulegają translokacji do błony komórkowej, i tym samym zwiększają uwalnianie do krwiobiegu glicerolu [19]. W adipocytach tkanki tłuszczowej gruczołu mlekowego do dziś potwierdzono obecność tylko AQP7. Brak jest informacji na temat AQP3 i AQP9 oraz ewentualnego wpływu różnych czynników, w tym hormonów na potencjalne zmiany ich ekspresji i komórkowej dystrybucji.

## PODSUMOWANIE

Należy zgodzić się ze słowami Mobasher i Berrett-Jollet [31], że pomimo ogromnego postępu wiedzy, fizjologia gruczołu mlekowego wciąż pozostaje zagadką. Jego złożona struktura, wzrost i rozwój w czasie ciąży, synteza mleka po porodzie, involucja po zakończeniu laktacji pozostają głównym przedmiotem badań wielu naukowców, którzy analizują molekularne mechanizmy zachodzące w jego obrębie w różnych aspektach. Rola akwaporyn w kontekście produkcji mleka i wysokiej wydajności mlecznej wydaje się szczególnie interesująca. Zwłaszcza możliwości związane ze wspomaganiami laktacji poprzez oddziaływanie na poszczególne AQPs zlokalizowane w gruczole mlekowym u hodowlanych zwierząt mlecznych. Ogólnie wiadomo, że właściwa dieta wraz z odpowiednimi suplementami mogą skutecznie wspomagać laktację. Z przeprowadzonych do tej pory badań wiadomo, że np. stosowanie odpowiednich mieszanek ziołowych istotnie zwiększa ekspresje AQP3 i AQP5 w gruczole mlekowym [21]. Czy stosowanie innych do tej pory nie znanych czynników może skutecznie pozwolić na zwiększenie wydajności mlecznej? Czy celowe zmiany ekspresji poszczególnych

AQPs nie będą przyczyną nowotworzenia w obrębie gruczołu mlekowego? Wiadomo bowiem, że nadekspresja AQP3 towarzyszy szeregowi procesów nowotworowych, w tym nowotworów piersi [22]. Jaką rolę pełnią akwaporyny zlokalizowane poza komórkami wydzielniczymi pęcherzyków mlecznych, w nabłonku kanalików czy zatok mlekowych? Czy ich obecność jak wskazują Mobasher i Barret-Jolley [31] świadczy o tym, że w tych odcinkach zachodzi dodatkowa modyfikacja składu mleka? Te i inne pytania wciąż pozostają bez odpowiedzi, co bez wątplenia utwierdza w przekonaniu, że należy kontynuować badania i pogłębiać wiedzę w tym zakresie.

## LITERATURA

- [1] AGRE P, SABOORI AM, ASIMOS A, SMITH BL. Purification and partial characterization of the Mr 30,000 integral membrane protein associated with the erythrocyte Rh(D) antigen. *J Biol Chem*, 1987; **262**(36): 17497-17503.
- [2] AL-FARHAA, HEMMATZADEH F, KHAZANDI M, HOARE A, PETROVSKI K. Evaluation of effects *Mycoplasma mastitis* on milk composition in dairy cattle from South Australia. *BMC Veterinary Research* 2017; **13**(1): 351.
- [3] BENGA G. Water transport in red blood cell membranes. *Prog. Biophys. Mol Biol.* 1988; **51**: 193-245.
- [4] BINESH AR, KAMALI R. Molecular Dynamics insights into human aquaporin 2 water channel. *Biophys Chem* 2015; **207**: 107-113.
- [5] BROWN D. The discovery of water channels (Aquaporins). *Ann Nutr Metab* 2017; **1**: 37-42.
- [6] BRUCKMAIER RM, RITTER C, SCHAMS D, BLUM JW. Machine milking of dairy goats during lactation: Udder anatomy, milking characteristics, and blood concentrations of oxytocin and prolactin. *J Dairy Res* 1994; **61**(4): 457-466.
- [7] DAMIAN A, SOCACIU A, CHIRILEAN I, STAN F, GUDEA A, CRIȘAN M, DEZROBITU C, TUNS F, POP A, AYMAN AR. Anatomical studies regarding the arterial vascular system of mammary gland in camel, cow and mare. *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine* 2009; **66**(1): 47-53.
- [8] DANKÓW R, PIKUL J, OSTEN-SACKEN N, TEICHER J. Charakterystyka i właściwości prozdrowotne mleka kłacz. *Nauka Przyr. Technol.* 2012; **6**(2):#16.
- [9] GEDDES DT. Inside the Lactating Breast: The Latest Anatomy Research. *J Midwifery Womens Health* 2007; **52**(6): 556-563.
- [10] GELASAKIS A, GIANNAKOU R, VALERGAKIS G, FORTOMARIS P, KOMINAKIS A, ARSENIOS G. Prediction of sheep milk chemical composition using milk yield, pH, electrical conductivity and refractive index. *J Dairy Res* 2018; **85**(1): 78-82.
- [11] GOŁĘBIEWSKI M, KALIŃSKA A. Budowa anatomiczna wymienia oraz mechanizmy syntezy mleka. *Farmer* 2018; **2**: 178- 181.
- [12] GROTE V, VERDUCI E, SCAGLIONI S, VECCHI F, CONTARINI G, GIOVANNINI M, KOLETZKO B, AGOSTONI C. Breast milk composition and infant nutrient intakes during the first 12 months of life. *Eur J Clin Nutr* 2016; **70**(2): 250-256.
- [13] HASSIOTOU F, GEDDES D. Anatomy of the human mammary gland: Current status of knowledge. *Clin Anat* 2013; **26**(1): 29-48.
- [14] IENA F, LEBECK J. Implications of Aquaglyceroporin 7 in Energy Metabolism. *Int J Mol Sci* 2018; **19**(1): 154.
- [15] INMAN JL, ROBERTSON C, MOTT JD, BISSEL MJ. Mammary gland development: cell fate specification, stem cells and the microenvironment. *The Company of Biologists* 2015; **142**(6): 1028-1042.

- [16] JENSEN R, NEWBURG D. Bovine milk lipids. Handbook of Milk Composition. *Academic Press* 1995; 543-575.
- [17] KAIHOKO Y, TSUGAMI Y, SUZUKI N, SUZUKI T, NISHIMURA T, KOBAYASHI K. Distinct expression patterns of aquaporin 3 and 5 in ductal and alveolar epithelial cells in mouse mammary glands before and after parturition. *Cell Tissue Res.* 2020; **10.1007**.
- [18] KENDALL B, MAXWELL J, GERMAN A, MARPLES D, ROYAL M, MOBASHERI A. Immunohistochemical localisation of aquaporin water channels in the bovine mammary gland. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2007; **10.1017**:1.
- [19] LAFORENZA U, BOTTINO C, GASTALDI G. Mammalian aquaglyceroporin function in metabolism. *Biochim. Biophys. Acta*, 2016; **1858**(1):1-11.
- [20] LINDMARK-MÄNSSON H. Fatty acids in bovine milk fat. *Food Nutr Res.*, 2008; **52**.
- [21] LIU H, HUA Y, LUO H, SHEN Z, TAO X, ZHU X. An herbal galactagogue mixture increases milk production and aquaporin protein expression in the mammary glands of lactating rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2015; **2015**: 760585.
- [22] MARLAR S, JENSEN H, LOGIN F, NEJSUM L. Aquaporin-3 in Cancer. *Int J Mol Sci* 2017; **18**(10): 2106.
- [23] MARTENS H, BANGE C. Longevity of high producing dairy cows: a case study. *Lohmann Information* 2013; **48**(1): 53-57.
- [24] MATSUZAKI T, MACHIDA N, TAJIKA Y, ABLIMIT A, SUZUKI T, AOKI T, HAGIWARA H, TAKATA K. Expression and immunolocalization of water-channel aquaporins in the rat and mouse mammary gland. *Histochem Cell Biol* 2005; **123**(4-5):501-12.
- [25] MCMANAMAN JL. Formation of milk lipids: a molecular perspective. *Clin Lipidol.* 2009; **4**(3): 391-401.
- [26] MCMANAMAN JL, NEVILLE MC. Mammary physiology and milk secretion, *Advanced Drug Delivery Reviews* 2003; **55**(5): 629-641.
- [27] MEDINA D. 1996. The mammary gland: A unique organ for the study of development and tumorigenesis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1996; **1**(1): 5-19.
- [28] MICHAŁEK K. Aquaglyceroporins in the kidney: present state of knowledge and prospects. *J Physiol Pharmacol* 2016; **67**(2): 185-193.
- [29] MICHAŁEK K, GRABOWSKA M. Investigating cellular location of aquaporins in the bovine kidney. A new view on renal physiology in cattle. *Res. Vet. Sci.* 2019; **125**: 162-169.
- [30] MICHAŁEK K, MAŁKOWSKA P. Aquaporins located in the skin. A new challenge for modern dermatology and cosmetology. *Postępy Biologii Komórki* 2019; **46**(1): 3-18.
- [31] MOBASHERI A, BARRETT-JOLLEY R. Aquaporin Water Channels in the Mammary Gland: From Physiology to Pathophysiology and Neoplasia. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2014; **19**(1), 91-102.
- [32] MOBASHERI A, KENDALL BH, MAXWELL JE, SAWRAN AV, GERMAN AJ, MARPLES D, LUCK MR, ROYAL MD. Cellular localization of aquaporins along the secretory pathway of the lactating bovine mammary gland: an immunohistochemical study. *Acta Histochemica* 2011; **113**(2):137-149.
- [33] NAZEMI S, RAHBK M, PARHAMIFAR L, MOGHIMI SM, BABAMORADI H, MEHRDANA F, KLÆRKE DA, KNIGHT CH. Reciprocity in the developmental regulation of aquaporins 1, 3 and 5 during pregnancy and lactation in the rat. *PLoS One* 2014; **9**(9):e106809.
- [34] NEGERO H, HONDA K, FUKUOKA T, HIGUCHI T. Effect of rise in plasma osmotic pressure on the milk-ejection reflex in the rat. *Endocrinol Jpn.* 1983;**30**(3): 361-366.
- [35] NICKERSON SC, AKERS RM. Mammary Gland Anatomy *Ency Dairy Sci, Second Edition* 2011; **3**: 328-337.
- [36] NIELSEN S, FROKLER J, MARPLES D, KWON TH, AGRE P, KNEPPER MA. Aquaporins in kidney: from molecules to medicine. *Physiol Rev*, 2002; **82**(1): 205-244.

- [37] PRESTON GM, CARROLL TP, GUGGINO WP. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science (New York)* 1992; **25**: 385-387.
- [38] PUJOL E, PROENZA A, ROCA P, LLADO I. Changes in mammary fat pad composition and lipolytic capacity throughout pregnancy. *Cell Tissue Res* 2006; **323**: 505-511.
- [39] ROMASZKO E. Synteza mleka ludzkiego. *Pediatrics Polska* 2012; **87**(5): 467-471.
- [40] SHENNAN DB, PEAKER M. Transport of Milk Constituents by the Mammary Gland. *Physiological Rev.* 2000; **80**(3): 925-951.
- [41] SKOWRONSKI MT, LEBECK J, ROJEK A, PRAETORIUS J, FÜCHTBAUER EM, FRØKIAER J, NIELSEN S. AQP7 is localized in capillaries of adipose tissue, cardiac and striated muscle: implications in glycerol metabolism. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007; **292**(3):F956-65.
- [42] SZELESZCZUK O, KILAR P, NIEDBAŁA P. Zawartość tłuszczu oraz profil kwasów tłuszczowych w mleku fermowych psowatych. *Wiadomości Zootechniczne* 2017; **4**: 22-29.
- [43] TSUKAGUCHI H, SHAYAKUL C, BERGER UV, MACKENZIE B, DEVIDAS S, GUGGINO WB, VAN HOEK AN, HEDIGER MA. Molecular characterization of a broad selectivity neutral solute channel. *J Biol Chem.* 1998; **273**(38):24737-43.
- [44] VERKMAN A.S. A cautionary note on cosmetics containing ingredients that increase aquaporin-3 expression. *Exp Dermatol*, 2008; **17**(10): 871-872.
- [45] ZEIDEL ML, AMBUDKAR SV, SMITH BL, AGRE P. Reconstitution of functional water channels in liposomes containing purified red cell CHIP28 protein. *Biochem.* 1992; **33**: 7436-7440.

Redaktor prowadzący – Maciej Zabel

Otrzymano: 09.10.2020

Przyjęto: 16.11.2020

Katarzyna Michalek

Katedra Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

ul. Klemensa Janickiego 29, 71-270 Szczecin

e-mail: kmichalek@zut.edu.pl

tel.: 0048 91 449 67 73

