

Changes in serum leptin concentrations in relation to the oestrous cycle and body fat content in female dogs

Literature review
and own data

L. Müller¹
E. Kok²
E. Kollár¹
O. Balogh^{3*}
J. Thuróczy^{1*}

1. Állatorvostudományi Egyetem,
Szülészeti és Szaporodásbiológiai
Tanszék és Klinika, H-1078 Budapest
István u. 2.

2. Belvet Állatorvosi Rendelő

3. Clinic of Reproductive Medicine,
Vetsuisse Faculty, University of
Zurich, Svájc

*: egyenlő mértékben működtek közre

*: contributed equally
e-mail: muller.linda@univet.hu

A vérszérum leptinkoncentrációjának változása az ivari ciklus és a testzsírmennyiség függvényében szuka kutyában

Irodalmi áttekintés és saját tapasztalatok

Müller Linda¹, Kok Eszter², Kollár Eszter¹, Balogh Orsolya^{3*},
Thuróczy Julianna^{1*}

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők saját vizsgálatukban a szuka kutyák ivari ciklusának a szérum leptinkoncentrációjára kifejtett hatását vizsgálták, emellett összegezték a szérum leptinszintet befolyásoló tényezőket és a vérből történő leptin meghatározás lehetőségeiről megjelent publikációkat. Eredményeik alapján sem az ivari ciklusstádium, sem a szérum progeszteronszint szérum leptinszintre gyakorolt hatását nem tudták kimutatni. Ezzel ellentétben szoros összefüggést találtak a leptinkoncentráció és egyes, a kondíció mérésre alkalmas paraméterek között, bár a bioimpedancia-mérés eredményei a vártnál gyengébb összefüggést mutattak a testtömeeggel és a leptinkoncentrációval.

SUMMARY

Background: Leptin is primarily produced by adipocytes and its serum levels reflect the amount of body fat reserves. Besides adiposity, serum leptin concentrations are influenced by other factors, such as the levels of sexual hormones during the ovarian cycle.

Objectives: We aimed to determine if serum leptin levels are influenced by sex hormone level fluctuations during the reproductive cycle in female Beagle dogs. We also investigated the relationship between body condition score (BCS) and alternative assessments of body fat percentage using morphometric calculations (BF%) or bioimpedance measurements (BMI) and serum leptin levels.

Materials and Methods: Seventeen non-pregnant, healthy female dogs were included in the study. For determination of leptin, progesterone, triglyceride and total cholesterol concentrations, blood samples were collected after an overnight fast three times with two-week intervals, starting in late anoestrus or in proestrus. Dogs were divided into two groups according to their body condition. Body fat percentage was determined using bioelectrical impedance analysis and morphometric measurements.

Results and Discussion: Serum leptin concentrations remained unchanged during the reproductive cycle and were not related to serum progesterone levels. In contrast to other species, changes in serum oestrogen or progesterone concentrations during the cycle have no influence on adipose tissue leptin production, our results should be interpreted with caution due to our low sample size and frequency of blood collection. Furthermore, differences in leptin assays used between studies may also have contributed to the different results.

Similarly to previous reports in dogs, we found significant differences in serum leptin levels between overweight animals and dogs with normal condition. We detected a close positive correlation between serum leptin, BCS and BF%, which suggests that the latter could also be used in clinical practice to assess adiposity. BMI showed only low to moderate correlation with other measures of body condition.

KISÁLLAT

A leptinmolekula felfedezése nem csak az addig passzív raktárként ismert zsírszövet jelentőségének megítélését változtatta meg, de új irányt adott a kutatásoknak azzal, hogy rámutatott egy feltérképezésre váró kapcsolati hálózatra a genetikai és hormonális tényezők, a tápláltsági és anyagcsere-állapotot jelző zsírszövetmennyiség és -eloszlás, ill. számos élettani és kóros folyamat között. A leptin egy fehérjemolekula, amit elsősorban a zsírszövet termel és a táplálékfelvétel szabályozásának, valamint a szervezet energiaegyensúlyának kulcsfaktora.

A leptin egy fehérjemolekula, amit elsősorban a zsírszövet termel

Fontos szerepe van a táplálékfelvétel és a szervezet energiaegyensúlyának szabályozásában

A leptinreceptor jelenlétét szinte valamennyi vizsgált szövetben igazolták

Elhízott egértörzsek vizsgálatával két gént is azonosítottak: a leptin expresszióját meghatározó ob-gént, és a diabetes- (db) gént, amelyek mutációja homozigóta formában felelős lehet az extrém mértékű elhízás kialakulásáért (18, 26). FRIEDMAN kutatócsoportja 1994-ben klónozással azonosította az ob-gén által kódolt, 167 aminosavból álló leptint (99). A két mutáns allélt (ob/ob) hordozó, így leptinhiányos egértörzsek egyedei már fiatal korban elhíznak, meddők, élettartamuk lerövidül. A hormon pótlását követően a hormonális és szaporodásbiológiai állapot jelentős javulását, ill. a táplálékfelvétel és a testtömeg csökkenését figyelték meg, ami közvetlen bizonyítéka a leptinhiány döntő szerepének ob/ob egerekben (30, 68). Később, a hasonlóan elhízott fenotípust előidézni képes db-gén klónozásával megtalálták a leptin receptorát is, amelyet a citokinreceptorok családjába soroltak (87). A db-génről átírt mRNS alternatív hasítása folytán több receptor-izoforma is létrejöhet, amelyek extracelluláris, ligandkötő doménje megegyezik, míg C-terminális szakaszuk különbözik (15, 50, 51, 91). A leptinreceptor jelenlétét szinte valamennyi vizsgált szövetben igazolták, így az agyvelőben, a bélben, a vesében, a májban, a tüdőben és az ivarszervekben is (14). Míg a rövid receptortípusok elsősorban a perifériás szövetekben expresszálódnak legnagyobb mértékben, addig ezekben a szövetekben mindössze 3–5%-ban jelenik meg a hosszú receptorforma (Ob-Rb), ezzel szemben a hipotalamusz területén 30–40%-ban ez a típus mutatható ki, jelezve, hogy döntő szerepet játszik a táplálékfelvételt, étvágyat és az energiaegyensúlyt befolyásoló neuropeptidek és neurotranszmitterek termelődésének szabályozásában (10, 29). A rövidebb, Ob-Ra izoforma is nagy mennyiségben expresszálódik az agyvelő plexus chorioideusában és a hajszálerekben, ahol szerepét a leptin vér-agy gáton való átjutásában valószínűsítik (9, 35). Az Ob-Rb változat tartalmazza az összes, jelátvitel szempontjából fontos régiót, amely a fő JAK2-STAT3 (Janus-kináz szignáltranszducer és transzkripcióaktivátor) jelátviteli utat aktiválni képes (29). A leptin által beindított jelátvitel a fő út mellett más molekulákon keresztül is megvalósulhat, mint a MAPK (mitózis aktiváló protein kináz) és az IRS (inzulin receptor szubsztrát). Utóbbiak aktiválódhatnak receptor-asszociált JAK segítségével, ill. közvetlenül a rövid leptinreceptor-izoformákon keresztül is (10, 33).

Napjainkra több más fajban is ismertté vált a leptin molekula szerkezete és élettani jelentősége (25). Kutyában egy japán kutatócsoport sikeresen klónozta és szekvenálta a leptint kódoló cDNS-t, amelynek nukleotidsorrendje 82–92%-os, a leptinfehérje aminosavsorrendje pedig 76–88%-ban bizonyult azonosnak más fajokéval (39). A szérumban leptinkoncentrációjának fajspecifikus meghatározására alkalmas szendvics ELISA-teszt kifejlesztése lehetővé tette a leptin élettani és kórtani szerepének vizsgálatát kutya fajban is (40).

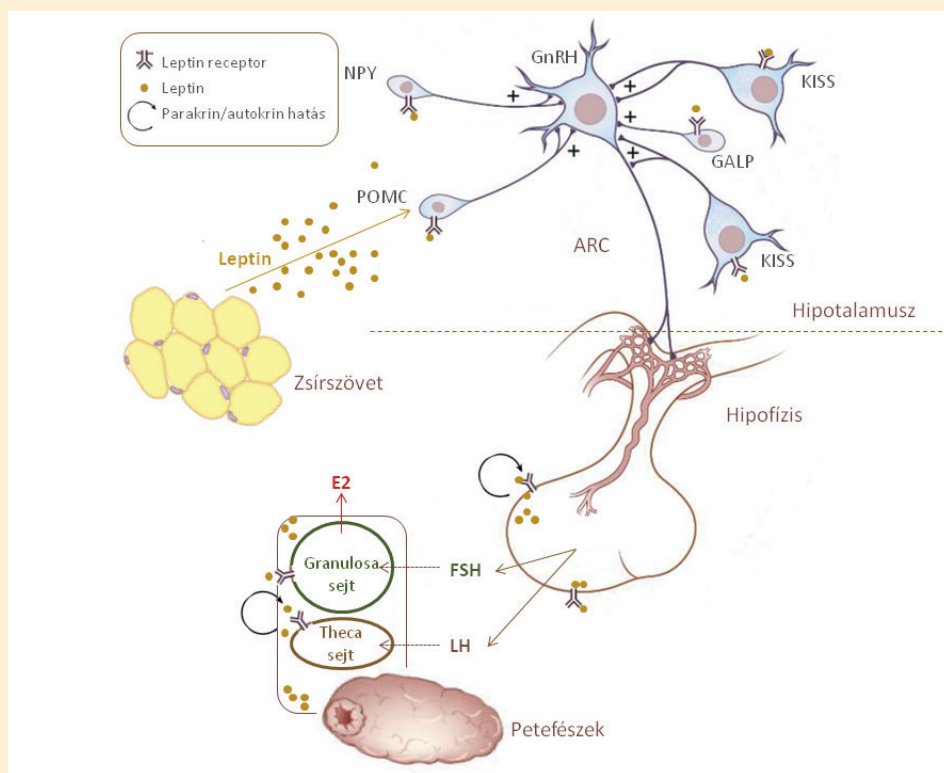
A LEPTIN SZAPORODÁSBIOLOGIAI SZEREPE NŐIVARBAN

Amellett, hogy a leptin alapvető szerepet játszik a táplálékfelvétel és az energiaháztartás szabályozásában, a hipotalamusz-hipofízis-gonád (HPG) tengely minden szintjén hatva, tehát centrálisan és a periférián megvalósuló hatásokon keresztül egyértelműen bekapcsolódik a szaporodásbiológiai folyamatok szabá-

A leptin szaporodásbiológiai folyamatok szabályozásában is szerepet játszik

Nemcsak a kicsi,
hanem a túlzottan nagy
leptinkoncentráció is
szaporodásbiológiai
zavarokhoz vezethet

lyozásába (1. ábra). Nem meglepő, hogy az alultápláltság, ill. a kalóriamegvonás hatással van a legtöbb endokrin szerv, így a hipotalamusz, a hipofízis, a zsírszövet és a petefészek működésére is és anovulációs állapot kialakulásához vezethet (56). Az ovuláció kalóriamegvonás esetében megfigyelhető rendellenességei egér- és juhmodellben is kezelhetők voltak leptin adagolásával, ami a leptin centrális hatásának jelentőségét hangsúlyozza (34, 61, 62), ugyanakkor a hipotalamusz és a hipofízis mellett feltételezik perifériás, közvetlenül a petefészek szintjén kifejtett hatását is. Nemcsak a kicsi, hanem a túlzottan nagy leptinkoncentrációk is szaporodásbiológiai zavarokhoz vezethetnek, amit az elhízás esetén megfigyelhető nagyobb arányú meddőség, valamint az asszisztált reprodukciós eljárások csökkent eredményessége bizonyít (54, 59).



1. ÁBRA. A leptin hipotalamusz-hipofízis-gonád tengely egyes szintjein kifejtett hatásai
ARC: nucleus arcuatus, POMC: proopiomelanokortint termelő neuronok, NPY: neuropeptid Y-t termelő neuronok, GALP: Galanin-like peptidet termelő neuronok, KISS: kisspeptin termelő neuronok, GnRH: gonadotropin releasing hormon, LH: luteinizáló hormon, FSH: folliculusstimuláló hormon, E2: ösztadiol

FIGURE 1. Summary for the effect of leptin on the hypothalamic-pituitary gonadal axis
ARC: arcuate nucleus, POMC: proopiomelanocortin producing neurons, NPY: neuro-peptide Y producing neurons, GALP: Galanin-like peptide producing neurons, KISS: Kisspeptin producing neurons, GnRH: gonadotropin releasing hormone, LH: luteinizing hormone, FSH: follicle-stimulating hormone, E2: oestradiol

A hipotalamusz gonadotropin releasing hormont (GnRH) termelő idegsejtjei nem expresszálnak leptinreceptorokat (24, 97), ami valószínűsíti, hogy a leptin hatását más, leptinreceptorokat kifejező és a GnRH-termelő sejtek

A GnRH-t termelő sejtekre a leptin más sejteken keresztül, közvetett módon hat

A leptin közvetlenül a periférián is részt vesz a petefészek működésének szabályozásában

kel szinaptikus kapcsolatban álló interneuronokon keresztül fejt ki. A GnRH termeléséért felelős idegsejtek egy része a hipotalamusz nucleus arcuatus (ARC) területén található. A szintén ezen a területen megjelenő proopiomelanokortint (POMC), neuropeptid Y-t (NPY) és Galanin-like peptidet (GALP) termelő sejtpopuláció esetében is felmerül, hogy ezek a neuronok közvetítik a leptin hatását a GnRH-t termelő neuronok felé (20, 44, 79, 93). Ezek mellett a kisszeptint termelő neuronok szerepét is leírták, amelyek leptin hatásra megnövekedett kisszeptin-koncentráción keresztül stimulálják a GnRH elválasztását (70, 72). A leptin pozitív hatása a hipofízis szintjén is megvalósul, ahol saját receptorán keresztül endokrin úton, valamint az elülső lebeny sejtjeinek leptintermelése révén auto-/parakrin úton képes dózisfüggő módon serkenteni az LH, az FSH és a prolaktin felszabadulását is (42, 64, 92, 95). A hipofízis LH-termelő sejtjeinek válaszkészsége ciklusfüggő, és mind GnRH-ra, mind leptinre adott válasza sokkal intenzívebb – fajtól függően – ösztrogén (E2) vagy progeszteron (P4) jelenlétében. Az LH-csúcs közelében mérhető leptincsúcs emberben és patkányban igazolja a leptin aktív szerepét az ovuláció folyamatában, az LH-szekréció serkentésén keresztül (2, 16, 21, 23, 81, 86).

A leptin közvetlenül a periférián is részt vesz a petefészek működésének szabályozásában, amit több fajban is bizonyít a leptin, ill. a leptinreceptor jelenléte a tüsző granulosa- és thecasejtein, magán a petesejten, valamint a sárgatestben (17, 45, 52, 69, 74, 75, 78, 82, 98). Ezek alapján nemcsak a keringésben megjelenő leptin endokrin, hanem a helyileg termelődő hormon auto-/parakrin szabályozó szerepével is számolni kell. A leptin a fejlődő tüszők theca- és granulosa-sejtjeinek szteroidtermelésére elsősorban gátló hatást fejt ki (83, 84, 96), ami nem közvetlenül a gonadotropin hormonok, hanem a gonadotropin és az inzulinszerű növekedési faktorok együttes serkentő hatásának gátlásán keresztül nyilvánul meg (1, 83, 96). Ezzel ellentétes eredmények is születtek humán vizsgálatokban, ami szerint a leptin serkentő hatással van a tüsző granulosa-sejtjeinek ösztrogéntermelésére azok aromatazaktivitásán keresztül (46). Sertésekben a leptin dózisfüggő hatásáról számoltak be, vagyis kis mennyiségben serkentette, míg nagyobb koncentrációban gátolta a granulosa-sejtek szteroidhormon-termelését (73). Ezek az eredmények azt jelzik, hogy az élettaninál nagyobb leptinkoncentráció valószínűleg csökkenti a domináns tüsző ösztrogéntermelő képességét, az androgén szubsztrátok képződésének gátlásán és a granulosa-sejtek aromatazáló képességének csökkentésén keresztül, bár ezek a hatások állatfajonként némileg eltérőek lehetnek. Újabb tanulmányok szerint a leptin szerepet játszik a sárgatest kialakulásában is az angiogenezis támogatásán és a progeszterontermelés serkentésén keresztül (27).

Az említett centrális és perifériás hatásokkal párhuzamosan a leptinkoncentráció menstruációs ciklussal összhangban történő ingadozását is megfigyelték. Nőknél a szérumban a leptinkoncentrációjának emelkedését írták le a ciklus 14. napján az ovuláció idején, valamint a 21. napon a sárgatestszakaszban, ami alapján feltételezik mind az ösztrogén, mind pedig a progeszteron leptinkoncentrációt befolyásoló hatását (3, 32, 71). Bár egyes szerzők szerint a nemi hormonok nem befolyásolják a leptinkoncentráció alakulását (47, 55), több közlemény alapján a megemelkedett leptinkoncentráció forrása a zsírszövet, amelyben az elemkedett ösztrogénkoncentráció a zsírszövetek által kifejezett ösztrogénreceptorokon keresztül fokozza a leptin termelődését (3, 58, 94). Mások szerint a nagyobb szérumban a leptinkoncentráció forrása részben maga a petefészek is lehet (58). Bár a sárgatest leptintermelő képességét már több fajban is igazolták (2, 4, 6, 48, 52, 78), máig nem bizonyított, hogy a sárgatest által termelt leptin számottevő mennyiségben bejuthat-e a véráramba.

A szérumban leptin-koncentrációja kutyában is szoros összefüggést mutatott a test zsírraktárainak telítettségével

A KUTYA SZÉRUMLEPTIN-KONCENTRÁCIÓJÁT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK

A szérumban leptinkoncentrációjának fajspecifikus meghatározására alkalmas szendvics ELISA-teszt kifejlesztése lehetővé tette a leptin élettani és kórtani szerepének vizsgálatát kutya fajban is (40). Hasonlóan más fajokhoz, a szérumban leptinkoncentrációja kutyában is szoros összefüggést mutatott a test zsírraktárainak telítettségével, függetlenül az egyedek korától, nemétől és attól, hogy ivartalanítva voltak-e (37, 38, 76). Elhízott állatok esetében a vér leptinkoncentrációja 5–6-szorosa is lehet a normál kondíciójú egyedekben mért értéknek (37, 41). Kisebb energiataralmú étrend etetésekor azonban már a testtömegcsökkenés megindulása előtt a szérumban leptinkoncentrációjának 25%-os csökkenése mérhető, amit a testösszetétel változásával magyaráznak, ill. feltételezik a takarmányösszetétel közvetlen hatását is (41). Az azonos kondíciójú állatok szérumban leptinkoncentrációi esetében azonban jelentős egyedi eltérések is előfordulhatnak, ami mögött más befolyásoló tényezők hatása (vérvétel időpontja, etetés időpontja, gyógyszeres kezelés stb.) állhat (36, 63). Bár az adott kondíciócsoportra jellemző leptinkoncentráció általában független az állat fajtájától, bizonyos fajták ez alól kivételt képeznek, mint pl. a törpetacskó, ahol az adott kondíciócsoportra jellemzőnél kisebb, vagy a shetlandi juhászkutya, ahol nagyobb leptinkoncentrációk voltak mérhetőek (37). A leptin szaporodásbiológiai hatásait szuka kutyákban eddig kevesen vizsgálták. A leptinnek és receptorának jelenléte a petefészekben a sárgatestben, valamint a vemhes méhben és placentában a hormon auto-/parakrin, ill. endokrin szabályozó szerepét valószínűsíti (6, 7). Ezzel összhangban a vérben mérhető leptinkoncentráció is szignifikánsan megemelkedik a vemhesség alatt kutyában (13). Nem vemhes szukákban a szaporodásbiológiai állapotnak a plazma leptinkoncentrációjára gyakorolt hatását SALERI és mtsai vizsgálták, és a humán tanulmányokkal ellentétben, az ösztroz alatt szignifikánsan nagyobb hormonkoncentrációkat mértek, mint proösztrozban vagy diösztrozban. A vizsgálat, bár nagylétszámú ($n = 81$), hasonló méretű és testtömegű állaton történt, kutyánként egyszeri vérvételen alapult, és az egyes ciklusszakaszok elkülönítésére használt módszert a szerzők nem részletezték. Ezen kívül, míg az előzőekben említett tanulmányok nem találtak különbséget a szuka és a kan kutyák leptinkoncentrációi között, SALERI és mtsai szignifikánsan nagyobb koncentrációkat mértek az ivari ciklus anösztroz szakaszában lévő szukákban, mint kanokban (77).

A testzsírmennyiség becslésére, ill. mérésére számos módszer létezik

A TESTZSÍRMENNYISÉG MÉRÉSÉNEK LEHETŐSÉGEI KUTYÁBAN

A testzsírmennyiség becslésére alkalmas értékek közül azonos fajtájú kutyák esetében a testtömegmérés, míg különböző fajtájú egyedek esetében a szubjektív bírálaton alapuló, kondíció meghatározásra alkalmas módszerek, mint a Body Condition Score System (BCS), valamint a mérőszalag segítségével végezhető objektívebb morфомetriás mérések használata terjedt el mind a klinikai vizsgálatok során, mind a kutatásban (12, 22, 28, 49, 57, 85). Átmenetet jelenthet a kutatásokban használt, ill. a klinikumban is alkalmazható kondíciómérésre alkalmas módszerek között a bioimpedancia-mérés (8, 85), ami a szövetek különböző víztartalmából adódó eltérő áramvezető képességén alapuló technika. Létezik egy kifejezetten kutya fajra kifejlesztett impedanciamérő készülék (Healthlab Body Fat Analyzer IBF-DO2, Kao Corp, Tokyo, Japan), amely a fejlesztése során összegyűjtött adatok alapján megadja a mért ellenállásértékhez tartozó zsírmennyiséget, és testzsírszázalék-értékként mutatja az eredményt (8). Ez a módszer meglehetősen új, ezért még igen kevés az állatorvosi klinikai felhasználásról szóló szakirodalom. Az állatorvosi használatra kifejlesztett gép könnyen kezelhető, gyors, viszonylag pontos és olcsó mérést biztosít (85). A leptin, mint a testzsírraktárak telítettségének hormonális mutatója, kutyában is szoros összefüggést mutat az állatok kondíciójával (body condition score, BCS; 37), ugyanak-

Kifejlesztettek egy kutyára használható, bioimpedancia-mérésen alapuló készüléket

kor a morfometriai mérések, ill. a bioimpedancia-mérés alapján meghatározott testzsírszázalék és a szérum leptinkoncentrációja közötti összefüggésről kutya fajban eddig még nem számoltak be.

SAJÁT VIZSGÁLAT

Célul tűztük ki az ivari ciklushoz köthető hormonális változásoknak és a kondícióknak a szérum leptinkoncentrációjára kifejtett együttes hatásának vizsgálatát beagle fajtájú szuka kutyákban. A kondíció pontosabb meghatározása céljából a testtömeg és a BCS meghatározása mellett morfometriás méréseket és bioimpedancia-mérést is alkalmaztunk.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálatokat nem vemhes, 2–9 éves korú, beagle fajtájú szuka kutyákon végezték

Tizenhét egészséges, nem vemhes, 2–9 éves korú, beagle fajtájú szuka kutyát vontunk be a vizsgálatba. A munkánk során alkalmazott vizsgálatok teljes mértékben igazodtak egy engedéllyel rendelkező (Pest Megyei Kormányhivatal által kiadott 29/2015 számú engedély) tenyésztelep működéséhez, azaz a mintavételek illeszkedtek az ezen az állományon alkalmazott szaporodásbiológiai gondozás, ill. szűrővizsgálatok rendszerébe. Vizsgálataink céljából plusz mintavételre és/vagy az állatokon végzett beavatkozásra nem volt szükség (a megmaradt szérummintákból határoztuk meg a saját vizsgálatainkhoz szükséges progeszteron- és leptinkoncentrációkat). Az állatok fizikális vizsgálatát és az első mintavételeket az állattartó telepen megfigyelt első tüzelési tünetek idejében kezdtük el, majd kéthetes időközönként, összesen 3 alkalommal ismételtük, mindig reggel 8 és 9 óra között 24 órás koplaltatást követően. A vérvétel a szakma szabályainak megfelelően, a *vena cephalica antebrachii*-ből történt. A vérmintákat 4 °C-on hűtve tároltuk és szállítottuk. A szérumszeparátoros csövekbe gyűjtött minták a vérvétel után 2 órával kerültek a Kórélettani és Onkológiai Tanszék laboratóriumába, ahol az első vizsgálati időpontban gyűjtött mintákból került sor a szérum triglicerid- és koleszterinszintek enzimatikus kolorimetriás teszttel történő meghatározására. A mintákat a vérvételt követően 3 órán belül 1500/perc fordulatszámra centrifugáltuk, a szérumot a további vizsgálatokig –86 °C-on tároltuk.

Az állatok tápláltsági állapotának megítélésére hagyományos kondícióbecslést, morfolometriai méréseket, ill. bioimpedancia-mérést végeztek

Az állatok tápláltsági állapotának megítélésére érdekében az első vizsgálat alkalmával feljegyeztük a testtömeget, 5 pontos skálán értékeltük a kondíciót (BCS) (22), a medence körméretet (PC – pelvic circumference, cm-ben) és a lateralis oldalon mért térd-csánk távolságot (HS – hock to stifle, cm-ben). Az utóbbi 2 változó alapján számított értéként kaptuk meg a testösszetételt jellemző testzsírszázalék-értéket [Szuka testzsír % (BF%) = $-1,7 (HS) + 0,93 (PC) + 5$] (12, 57). A testösszetétel további jellemzésére, ugyanezen időpontban, a test zsírtartalmának mérését bioimpedancia-vizsgálattal (BMI) is elvégeztük egy kisállatokra optimalizált készülékkel (Healthlab Body Fat Analyzer IBF-DO2, Kao Corp, Tokyo, Japan). A készülék elektródáit a szőr szétfésülése és a bőr alkohollal történő tisztítása után az utolsó borda mögé helyeztük, a gerincvonaltól 3 cm-re, azzal párhuzamosan. Az eredményt háromszori mérés átlagaként jegyeztük fel. A különböző szaporodásbiológiai fázisokba (proösztrosz, ösztrosz, diösztrosz, anösztrosz) a külső nemi szervek állapotának klinikai vizsgálata, a hüvelyből vett citológiai minta és a vér progeszteronkoncentrációja alapján soroltuk be az állatokat. A hüvelycitológiai mintákat Diff-Quick-festés után az irodalmi adatoknak megfelelően értékeltük (43). A tüzelés klinikai tüneteit mutató állatokat a hüvelycitológiai vizsgálat eredményének figyelembevételével soroltuk proösztroszba vagy ösztroszba. A tüzelés klinikai tüneteit nem mutató állatoknál a szérum progeszteronkoncentrációja alapján tettünk különbséget anösztrosz és diösztrosz között (2 ng/ml progeszteronkoncentráció alatt anösztrosz).

Az állatok szaporodásbiológiai állapotát hüvelycitológiai és vérprogeszteronszint-vizsgálattal határozták meg

A testzsír mennyiségének az ivari ciklusnak és a leptinszinteknek az összefüggéseit statisztikai módszerekkel vizsgálták

A kondíció szignifikáns befolyásoló hatását igazolták

A mélyhűtött szérumból történő hormonszint-meghatározások a Szülészeti Tanszék Klinikai laboratóriumában történtek. A progeszteronkoncentrációt ELISA-módszerrel, Quanti Check Progesterone kittel végeztük (érzékenység 0,2 ng/ml, inter- és intra-assay CV: $\leq 4,5\%$ és $\leq 5,25\%$). A leptinkoncentrációt is ELISA-teszttel határoztuk meg (Canine Leptin ELISA, EZCL-31K, Millipore Corporation; érzékenység 0,21 ng/ml, inter- és intra-assay CV: 6–7% és 2–6%).

Az eredmények kiértékelését a Microsoft Excel, R 3.5.1., valamint az IBM® SPSS® Statistics for Windows 22.0 verzió (Armonk, NY, USA) statisztikai programcsomag segítségével végeztük. A szignifikancia szintjét $p \leq 0.05$ értéknél jelöltük meg. A BCS3 kondíciócsoportban két állat esetében mindhárom mérési időpontban kiugró leptinértékeket mértünk (átlag 8,2 és 4,14 ng/ml), ezért ezen egyedek mérési eredményeit kizártuk a statisztikai elemzésekből. Az ivari ciklusstádium, ill. a progeszteronszint, valamint a kondíció (BCS) szérum leptinkoncentrációra gyakorolt hatásának vizsgálatához általános lineáris kevert modellt használtunk, amelyben random tényezőként szerepelt az állat azonosítója, így figyelembe tudtuk venni, hogy egy-egy állaton több mérés történt. A modellben a leptinkoncentrációk normáltól eltérő eloszlása miatt azok természetes alapú logaritmusával dolgoztunk. A 3-as és 4-es BCS-kategóriába sorolt egyedek (BCS3 és BCS4) leptinkoncentrációit lineáris kevert modellel hasonlítottuk össze. A különböző BCS-kategóriába sorolt állatok koleszterin- és trigliceridkoncentrációit, valamint a kondíciót jellemző egyéb paramétereit (testsúly, BF%, BMI) Student-féle t-teszttel hasonlítottuk össze. A változók közötti összefüggés vizsgálatára Spearman-féle korrelációs tesztet végeztünk. Az eredményeket átlag és szórás értékekkel jellemezve mutatjuk be.

EREDMÉNYEK

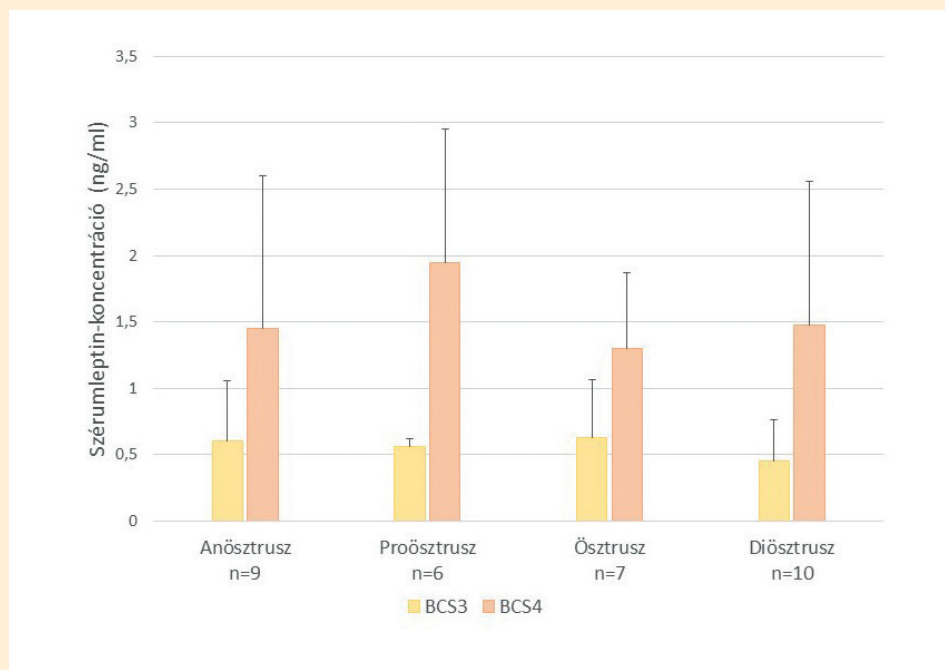
A SZÉRUM LEPTINKONCENTRÁCIÓJA ÉS AZ IVARI CIKLUS ÖSSZEFÜGGÉSE

Az elvégzett klinikai és hüvelycitológiai vizsgálatok, valamint vérből történő progeszteronkoncentráció meghatározása alapján 9 anösztzusos (szérumprogeszteron $0,73 \pm 0,09$ ng/ml), 6 proösztzusos (szérumprogeszteron $1,70 \pm 1,26$ ng/ml), 7 ösztzusos (szérumprogeszteron $9,18 \pm 4,20$ ng/ml) és 10 diösztzusos

2. ÁBRA. A szérum leptinkoncentrációjának (ng/ml) alakulása az ivari ciklusszakasza szerint. Az oszlopdiagrammok az átlag és szórás értékeket szemléltetik

A lineáris kevert modell alapján a ciklusszakasz nem befolyásolta a szérum leptinkoncentrációját ($p = 0,745$), ugyanakkor a kondíció (BCS) leptinszintre gyakorolt hatása szignifikáns volt ($p = 0,003$)

FIGURE 2. Serum leptin concentration (ng/ml) during the reproductive cycle (mean and standard deviation) Based on the results of the linear mixed model, cycle stage had no effect on serum leptin concentrations ($p = 0.745$), while there was a significant effect of BCS ($p = 0.003$) on serum leptin levels

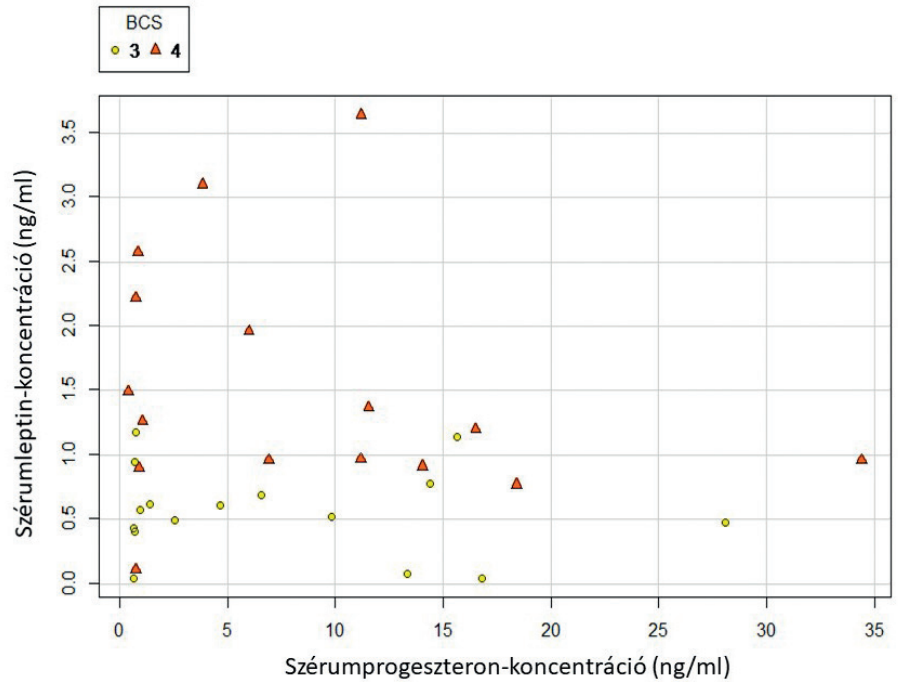


(szérumprogesteron $17,52 \pm 7,86$ ng/ml) minta vizsgálati eredményeit értékeltük a kiugró értékeket mutató 2 egyed kizárása után. Sem a ciklusstádium ($p = 0,745$; 2. ábra), sem pedig a progesteronszint ($p = 0,587$; 3. ábra) befolyásoló hatását nem tudtuk igazolni, ugyanakkor a BCS szignifikáns hatását ($p = 0,003$) ki tudtuk mutatni (3. ábra).

3. ÁBRA. A szérumleptin- (ng/ml) és -progesteronkoncentráció (ng/ml) összefüggésének alakulása az egyes kondíciócsoportokban (BCS3, BCS4) A lineáris kevert modellek alapján a progesteronszint nem befolyásolta a szérum leptinkoncentrációt ($p = 0,587$), ugyanakkor a kondíció (BCS) szignifikáns hatása ($p = 0,002$) kimutatható volt

FIGURE 3. Serum leptin concentrations (ng/ml) in relation to serum progesterone levels (ng/ml) according to body condition score (BCS3, BCS4)

Based on the results of the linear mixed models, serum progesterone levels had no effect on serum leptin concentration ($p = 0.587$), while a significant effect of BCS ($p = 0.002$) on serum leptin levels could be detected



A KONDÍCIÓ, A TESTSZÍR ÉS A SZÉRUM LEPTINKONCENTRÁCIÓJÁNAK KAPCSOLATA

A BCS3 ($n = 8$) és a BCS4 ($n = 7$) kondíciójú szukák leptinkoncentrációi között szignifikáns különbség mutatkozott ($p = 0,001$). A 4-es kondíciócsoportba sorolt állatok leptinkoncentrációja átlagosan közel háromszorosa volt a 3-as csoport egyedeiben mért értékeknek (1. táblázat). A plazma koleszterin- (BCS3: $5,18 \pm 1,52$ mmol/l; BCS4: $6,19 \pm 1,69$ mmol/l) és trigliceridértékekben (BCS3: $0,56 \pm 0,14$ mmol/l; BCS4: $0,61 \pm 0,22$ mmol/l) nem volt különbség a kondíciócsoportok között ($p = 0,22$ és $p = 0,6$). A kondícióbecslésre használt mutatók közül a testtömeg (BW), valamint a medencekörméret (PC) és a tarsus patella távolság (HS) alapján számolt testzsírszázalék (BF%) szignifikáns különbséget mutattak a két kondíciócsoport között ($p = 0,003$ és $p = 0,001$), míg az impedanciamérővel meghatározott BMI hasonlóan alakult a két csoportban ($p = 0,29$; 1. táblázat).

Az egyes kondíciót jellemző paraméterek közötti összefüggések eredményeit a 2. táblázat mutatja be. A használt paraméterek közül a BCS és a számolt testzsírszázalék (BF%) érték mutatta a legszorosabb összefüggést a szérum leptinkoncentrációval ($r_s = 0,62$, $p = 0,014$; $r_s = 0,69$, $p = 0,005$), míg a bioimpedancia-mérés során kapott eredmény (BMI) nem mutatott összefüggést a szérum leptinkoncentrációjával ($r_s = 0,43$, $p = 0,111$). Ennek ellenére a BMI- és BF%-értékek között szoros összefüggést találtunk ($r_s = 0,77$, $p = 0,001$). A vér leptin-, koleszterin-, valamint trigliceridértékei között nem volt szignifikáns összefüggés.

A bioimpedancia-mérés eredménye nem mutatott összefüggést a szérum leptin-koncentrációjával

1. TÁBLÁZAT. A kondícióbecslésre használt mutatók értékei a 3-as és 4-es kondíciócsoportban

BF%: morfometriai mérésből származó testzsírszázalék érték testzsír % (BF%) = $-1,7$ (HS) + $0,93$ (PC) + 5, ahol HS = térd-csánk távolság és PC = medencekörméret; BMI: impedanciamérővel meghatározott érték, háromszori mérés átlaga

TABLE 1. Comparison of descriptive parameters of body condition between the BCS3 and BCS4 groups

BF%: body fat percentage, which was calculated based on the following formula: BF% = -1.7 (HS) + 0.93 (PC) + 5, where HS is hock-stifle length and PC = pelvic circumference; BMI (Body Mass Index): average of three measurements by bioelectrical impedance analysis

	BW (kg)		BF%		BMI		Szérumleptin (ng/ml)	
	átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás
BCS3 n = 8	10,19	0,67	21,04	2,68	22,17	5,71	0,56	0,38
BCS4 n = 7	13,33	1,81	29,81	5,15	25,76	6,91	1,49	0,99
p-érték	0,003		0,001		0,29		0,001	

2. TÁBLÁZAT. A kondíciót jellemző értékek közötti összefüggés vizsgálata Spearman-féle korrelációs teszttel

r_s (rho): Spearman-féle korrelációs koefficiens; BCS: Body Condition Score; BF%: morfometriai mérésből származó testzsírszázalék érték; BMI: impedanciamérővel meghatározott érték, háromszori mérés átlaga

TABLE 2. Association between parameters of body condition using Spearman correlation

r_s (rho): Spearman correlation coefficient; BCS: Body Condition Score; BF%: body fat percentage; BMI (Body Mass Index): average of three measurements by bioelectrical impedance analysis

	Testtömeg		BMI		BF%		Szérumleptin (ng/ml)	
	r_s	p	r_s	p	r_s	p	r_s	p
n = 15								
BCS	0,868	0,000	0,248	0,373	0,745	0,001	0,619	0,014
Testsúly			0,433	0,107	0,759	0,001	0,510	0,052
BMI					0,766	0,001	0,429	0,111
BF%							0,688	0,005

MEGVITATÁS

Vizsgálataink során tanulmányoztuk a szuka kutyák ivari ciklusa során bekövetkező hormonális változások vér leptinkoncentrációra gyakorolt hatásait. Célul tűztük ki az eredményeink irodalmi adatokkal történő összehasonlítását, a lehetséges befolyásoló tényezők, valamint a mérési lehetőségek összegzését. Bár a szakirodalom meggyőző abban a tekintetben, hogy a leptin elsődlegesen tápláltsági markerként alkalmazható, szintjét befolyásolhatja az ivari ciklus is. Vizsgálatunkban az ivari ciklusstádium és a szérum progeszteronkoncentrációjának a kutya szérumleptin-koncentrációjára gyakorolt hatását nem tudtuk igazolni. Eredményeink nem támasztják alá SALERI és mtsai megállapítását, akik szuka kutyában szignifikánsan nagyobb szérum leptinkoncentrációkat mértek ösztrozsban, mint proösztrozsban és diösztrozsban (77). Más szerzők emberben és patkányban kimutatták a follikuláris szakaszban termelődő ösztrogén leptinkoncentrációt növelő hatását, amit a zsírszöveti leptin génexpresszió emelkedésével magyaráztak. A leptin szerepét a preovulációs LH-csúcs stimulálásán keresztül az ovuláció elősegítésében látták (55, 80, 86). Bár az általunk gyűjtött proösztrozsos mintákból mért leptinértékek hasonlóak voltak a többi ciklusszakaszban jellemző értékekhez, a mintagyűjtés gyakorisága miatt (kéthetes időköz) egy preovulációs LH-csúcs körüli leptinkoncentráció emelkedését sem megerősíteni, sem elvetni nem tudunk. Míg nőknél sárgatestszakaszban is leírták a szérum leptinkoncentrációjának emelkedését

Nem figyelték meg az ivari ciklus és a progeszteronszint hatását a leptin-koncentrációra

(3, 32), azt általunk vizsgált beagle kutyákban nem tapasztaltunk emelkedést a diósztrusban. A szérum leptin- és progeszteronkoncentrációi között sem találunk összefüggést, ami arra enged következtetni, hogy kutyában a nagyobb progeszteronkoncentráció vagy nincs hatással a zsírszövet leptintermelésére, vagy pedig az általunk használt mérési módszerrel ez a hatás nem mutatható ki. Egy másik kutatócsoport ezzel szemben a szérum leptinkoncentrációjának szignifikáns emelkedéséről számol be szuka kutyákban a vemhesség idején (13), amikor a vérben mérhető progeszteronkoncentrációk hasonlóképpen nagyok, mint nem vemhes állatokban a diósztrusz idején (19). Vemhes szukák esetében ugyanakkor, a zsírszövet mellett, a méh és placenta leptintermelése (7) is hozzájárulhat a megemelkedett leptinkoncentrációhoz. Kutyában a leptin génexpressziója a sárgatestben is kimutatható mind vemhes, mind nem vemhes állatokban (6), az ott termelődő leptin szisztémás keringésbe jutásáról, és így annak esetlegesen a vérbeli leptinkoncentrációt növelő hatásáról azonban nincsenek adatok. A saját és más kutatócsoportok eredményei közötti különbségek valószínűleg a vizsgálatba vont kutyák fajtájával, a mintaelemszámmal, az állatok élettani stádiumával, ill. a leptin mérésére használt módszerbeli különbségekkel magyarázhatóak.

A kondícióbecslés (BCS) mellett az általunk is használt morfometriai és bioimpedancia-mérések olyan, nem invazív módszerek, amelyek klinikai körülmények között is alkalmasak a testszírmennyiség becslésére (28, 57, 85). Ugyanakkor eddig csak a BCS-besorolásnak a szérum leptinkoncentrációjával mutatott összefüggéseiről jelentek meg publikációk (37, 38, 41, 76), míg a morfometriai és a bioimpedanciamérések eredményeinek a szérumleptin-koncentrációval való összefüggéséről kutyában nincsenek adatok. A szakirodalmi adatokhoz hasonlóan (37, 38, 41, 76) mi is szignifikánsan nagyobb leptinkoncentrációt mértünk a nagyobb BCS-sel (BCS4) rendelkező kutyák szérumában, mint a normál (BCS3) kondíciójú egyedekben. Az általunk használt paraméterek közül a számolt testszírszázalék-érték (BF%) és a BCS mutatták a legszorosabb összefüggést a szérum leptinkoncentrációval, ami szintén korábbi tanulmányok eredményeivel egybehangzóan, a testösszetétel perifériás leptinkoncentrációt befolyásoló hatását hangsúlyozza (41). Bár a bioimpedancia-mérő készülékkel kapott eredmény (BMI) jól korrelált a BF%-értékkel, a humán irodalomban megjelent eredményekkel ellentétben (53) nem mutatott összefüggést a szérumban mért leptinkoncentrációkkal. Ennek hátterében a gép felhelyezéséből adódó mérési pontatlanságok állhatnak, amelyek tisztázása további vizsgálatokat igényel. Egyéb, az anyagcsere-állapotot tükröző paraméterek, mint a plazma triglicerid- és koleszterinkoncentrációjának vizsgálata során nem mutatkozott különbség a kondíciócsoportok között, ami valószínűleg arra vezethető vissza, hogy a BCS4-csoportba tartozó állatok esetében a túlsúly még nem okozott jelentős anyagcsere-működési zavarokat a szervezetben.

Az általunk vizsgált állatokban a 3-as kondíciócsoportban $0,56 \pm 0,38$, a 4-es csoportban $1,49 \pm 0,99$ ng/ml szérumleptin-koncentrációkat mértünk. Ugyanezzel a kutyaleptint kimutató ELISA-kittel PARK és mtsai hasonló leptinkoncentrációkat mértek elhízott (BCS5) beagle fajtájú kutyákban ($1,99 \pm 1,00$ ng/ml) (66), míg más kutatók $7,2$ ng/ml átlagértéket kaptak a BCS4–5-nek megfelelő kondíciójú állatokban, és szignifikánsan kisebb koncentrációkat ($\leq 3,6$ ng/ml) a BCS2–3-nak megfelelő csoportban (89). Saját eredményeinkhez hasonlóan a TVARIJONAVICIUTE és mtsai által vizsgált 62, különböző fajtájú kutya közül a normál, ill. sovány kondíciójú egyedek eredményeinek egy része kívül esett a teszt mérési tartományán (89). Ugyanezzel a kittel más kutatók is a vártnál kisebb szérumleptin-koncentrációkat mértek bizonyos kondíciócsoportba sorolt kutyák esetében (65, 90). Ez megkérdőjelezi, hogy az elérhető mérési módszer alkalmas-e a leptinkoncentrációt enyhébben befolyásoló tényezők, mint pl. az ivari ciklus során bekövetkező hormonális változások lehetséges

Szignifikánsan nagyobb leptinkoncentrációt mértek a nagyobb BCS-sel rendelkező kutyák szérumában

hatásának vizsgálatára szuka kutyában. Az általunk mért kisebb leptinértékeket az is magyarázhatja, hogy a mintavételeket általában 24 óra koplaltatás után végeztük, ami önmagában is csökkentheti a vér leptinkoncentrációját (11, 31, 36). A koplaltatásra azért volt szükség, hogy a leptinkoncentráció táplálékfelvétellel kapcsolatos napszaki ingadozását, mint lehetséges befolyásoló tényezőt, elkerüljük (36). Mivel a vérvételeket télen, kifutóban tartott állatokból végeztük, felmerülhet a külső hőmérséklet esetleges befolyásoló hatása is, amit rágcsálókban, juhokban és emberben már leírták (5, 31, 88). A csökkenő hőmérséklet hatására a bőr alatti kötőszövetben mérhető leptin-mRNS expressziója csökken, az ebből adódó leptinkoncentráció-csökkenés pedig étvágyfokozó, így a táplálékfelvétel növekedését eredményezi hideg környezetben (60, 67).

KÖVETKEZTETÉS

Az irodalmi adatokhoz hasonlóan szignifikáns különbséget mutattunk ki a túlsúlyos és normál kondíciójú (BCS3 es BCS4) szuka kutyák szérumban leptinkoncentrációja között. Emellett szoros pozitív összefüggést írtunk le a szérumban leptinkoncentrációja és a kondíció mérésre alkalmas újabb módszerek, köztük is a számolt testzsír-százalék-érték között, amire a szakirodalomban még nem volt adat. Bevezettük a bioimpedancia-mérést is a testtömegindex (body mass index, BMI) pontos becslésére, a BMI azonban a várnál gyengébb összefüggést mutatott a testtömeggel, a kondícióbesorolással és a szérumban leptinkoncentrációjával is, aminek oka további vizsgálatokat igényel. Nem tudtuk igazolni sem az ivari ciklusszakasz, sem a szérumban progeszteron leptinkoncentrációra gyakorolt hatását, aminek hátterében az kis mintaelemszám és mérési gyakoriság is állhat. A várnál kisebb leptinkoncentrációk az alacsony hőmérséklet, valamint a hosszabb koplaltatási periódus hatását is tükrözhetik. Saját és a szakirodalomban található adatok is megerősítik, hogy az általunk használt, a piacon elérhető ELISA-kittel végzett mérések alapján a normál, ill. sovány kondíciójú egyedek leptinkoncentrációi kicsinek bizonyultak, ill. egy részük esetében az eredmények a teszt mérési tartományán kívül esnek. Ebből kifolyólag lehetséges, hogy a kisebb, mint pl. az ivari ciklussal összefüggő koncentrációbeli különbségek nem észlelhetők.

A várnál kisebb leptinkoncentrációk az alacsony hőmérséklet, valamint a hosszabb koplaltatás hatását is tükrözhetik

IRODALOM

1. AGARWAL, S. K. – VOGEL, K. et al.: Leptin antagonizes the insulin-like growth factor-I augmentation of steroidogenesis in granulosa and theca cells of the human ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999. 84. 1072–1076.
2. AHRENS, K. – MUMFORD S. L. et al.: Serum leptin levels and reproductive function during the menstrual cycle. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2014. 210. 248.e1–e9.
3. AJALA, O. M. – OGUNRO, P. S. et al.: Changes in Serum Leptin During Phases of Menstrual Cycle of Fertile Women: Relationship to Age Groups and Fertility. *Int. J. Endocrinol. Metab.*, 2013. 11. 27–33.
4. ARCHANCO, M. – MURUZÁBAL, F. J. et al.: Leptin expression in the rat ovary depends on estrous cycle. *J. Histochem. Cytochem.*, 2003. 51. 1269–1277.
5. ASAKUMA, S. – MORISHITA, H. et al.: Circulating leptin response to feeding and exogenous infusion of insulin in sheep exposed to thermoneutral and cold environments. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.*, 2003. 134. 329–335.
6. BALOGH, O. – KOWALEWSKI, M. P. et al.: Leptin and leptin receptor gene expression in the canine corpus luteum during diestrus, pregnancy and after aglepristone-induced luteolysis. *Reprod. Domest. Anim.*, 2012. 47(Suppl 6). 40–42.
7. BALOGH, O. – STAUB, L. P. et al.: Leptin in the canine uterus and placenta: possible implications in pregnancy. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2015. 13. 13.
8. BAN, T. – OKAWA, M. et al.: Patent application publication. Pet body fat measuring tool. 2012. Patent No.: US 8,195,283 B2 – szabadalom <https://patents.google.com/patent/US8195283>
9. BJØRBAEK, C. – ELMQUIST, J. K. et al.: Expression of leptin receptor isoforms in rat brain microvessels. *Endocrinology*, 1998. 139. 3485–3491.
10. BJØRBAEK, C. – UOTANI, S. et al.: Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. *J. Biol. Chem.*, 1997. 272. 32686–32695.

11. BODEN, G. – CHEN, X. et al.: Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996. 81. 3419–3423.
12. BURKHOLDER, W. J. – TOLL, P. W.: Obesity. In: HAND – THATCHER – REMILLARD – ROUDEBUSH (eds.), *Small Animal Clinical Nutrition*, 4th ed. Mark Morris Institute, Topeka, 2000. 401–430.
13. CARDINALI, L. – TROISI, A. et al.: Serum concentration dynamic of energy homeostasis hormones, leptin, insulin, thyroid hormones, and cortisol throughout canine pregnancy and lactation. *Theriogenology*, 2017. 97. 154–158.
14. CASTRACE, V. D. – HENSON, M. D. (eds.): *Leptin*. in: SCHULZ, L. C. – WIDMAIER, E. P.: Leptin receptors, Springer Science & Business Media LLC, New York, 2007. Chapter 2. 11–31.
15. CHEN, H. – CHARLAT, O. et al.: Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell*, 1996. 84. 491–495.
16. CHOU, S. H. – CHAMBERLAND, J. P. et al.: Leptin is an effective treatment for hypothalamic amenorrhea. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2011. 108. 6585–6590.
17. CIOFFI, J. A. – VAN BLERKOM, J. et al.: The expression of leptin and its receptors in preovulatory human follicles. *Mol. Hum. Reprod.*, 1997. 3. 467–472.
18. COLEMAN, D. L.: Obese and diabetes: Two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia*, 1978. 14. 141–148.
19. CONCANNON, P. W.: Reproductive cycles of the domestic bitch. *Anim. Reprod. Sci.*, 2011. 124. 200–210.
20. CROWN, A. – CLIFTON, D. K. – STEINER, R. A.: Neuropeptide signaling in the integration of metabolism and reproduction. *Neuroendocrinology*, 2007. 86. 175–182.
21. DE BIASI, S. N. – APFELBAUM, L. I. et al.: In vitro effect of leptin on LH release by anterior pituitary glands from female rats at the time of spontaneous and steroid-induced LH surge. *Eur. J. Endocrinol.*, 2001. 145. 659–665.
22. EDNEY, A. T. B. – SMITH, P. M.: Study of obesity in dogs visiting veterinary practices in the United Kingdom. *Vet. Rec.*, 1986. 118. 391–396.
23. FENICHEL, R. M. – DOMINGUEZ, J. E. et al.: Leptin levels and luteinizing hormone pulsatility in normal cycling women and their relationship to daily changes in metabolic rate. *Fertil. Steril.*, 2008. 90. 1161–1168.
24. FINN, P. D. – CUNNINGHAM, M. J. et al.: The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine reproductive axis of the monkey. *Endocrinology*, 1998. 139. 4652–4662.
25. FRIEDMAN, J. M. – HALAAS, J. L.: Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 1998. 395. 763–770.
26. FRIEDMAN, J. M. – LEIBEL, R. L.: Tackling a weighty problem. *Cell*, 1992. 69. 217–220.
27. GARCIA, M. R.: Leptin Contributes to the Development of the Corpus Luteum. *Cell. Dev. Biol.* 2017. 6. 190.
28. GERMAN, A. J. – HOLDEN, S. L. et al.: Comparison of a bioimpedance monitor with dual-energy x-ray absorptiometry for non-invasive estimation of percentage body fat in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 2010. 71. 393–398.
29. GHILARDI, N. – ZIEGLER, S. et al.: Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996. 93. 6231–6235.
30. HALAAS, J. L. – GAJIWALA, K. S. et al.: Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science*, 1995. 269. 543–546.
31. HARDIE, L. J. – RAYNER, D. V. et al.: Circulating leptin levels are modulated by fasting, cold exposure and insulin administration in lean but not Zucker (fa/fa) rats as measured by ELISA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996. 223. 660–665.
32. HARDIE, L. – TRAYHURN, P. et al.: Circulating leptin in women: a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. *Clin. Endocrinol.*, 1997. 47. 101–106.
33. HEGYI, K. – FÜLÖP, K. – KOVÁCS, K. – TÓTH, S. – FALUS, A.: Leptin-induced signal transduction pathways. *Cell. Biol. Int.*, 2004. 28. 159–169.
34. HENRY, B. A. – GODING, J. W. et al.: Intracerebroventricular infusion of leptin elevates the secretion of luteinising hormone without affecting food intake in long-term food-restricted sheep, but increases growth hormone irrespective of bodyweight. *J. Endocrinol.*, 2001. 168. 67–77.
35. HILEMAN, S. M. – TORNOE, J. et al.: Transcellular transport of leptin by the short leptin receptor isoform ObRa in Madin-darby canine kidney cells. *Endocrinology*, 2000. 141. 1955–1961.
36. ISHIOKA, K. – HATAI, H. et al.: Diurnal variations of serum leptin in dogs: effects of fasting and re-feeding. *Vet. J.*, 2005. 169. 85–90.
37. ISHIOKA, K. – HOSOYA, K. et al.: Plasma leptin concentration in dogs: Effects of body condition score, age, gender and breeds. *Res. Vet. Sci.*, 2007. 82. 11–15.
38. ISHIOKA, K. – SOLIMAN, M. M. et al.: Experimental and Clinical Studies on Plasma Leptin in Obese Dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, 2002. 64. 349–353.
39. IWASE, M. – KIMURA, K. et al.: Canine leptin: cDNA cloning, expression and activity of recombinant protein. *Res. Vet. Sci.*, 2000. 68. 109–114.
40. IWASE, M. – KIMURA, K. et al.: Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay of canine leptin. *J. Vet. Med. Sci.*, 2000. 62. 207–209.
41. JEUNETTE, I. C. – DETILLEUX, J. et al.: Effects of chronic obesity and weight loss on plasma ghrelin and leptin concentrations in dogs. *Res. Vet. Sci.*, 2005. 79. 169–175.
42. JIN, L. – ZHANG, S. et al.: Leptin and leptin receptor expression in rat and mouse pituitary cells. *Endocrinology*, 2000. 141. 333–339.
43. JOHNSTON, S. D. – KUSTRITZ, M. V. R. – OLSON, P. N. S.: *Canine and Feline Theriogenology*, 1st ed., Saunders, 2001. chapter 3. 32–40.
44. KAGEYAMA, H. – TAKENOYA, F. et al.: Galanin-like peptide in the brain: effects on feeding, energy metabolism and reproduction. *Regul. Pept.*, 2005. 126. 21–26.
45. KARLSSON, C. – LINDELL, K. et al.: Expression of functional leptin receptors in the human ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997. 82. 4144–4148.
46. KITAWAKI, J. – KUSUKI, I. et al.: Leptin directly stimulates aromatase activity in human luteinized granulosa cells. *Mol. Hum. Reprod.*, 1999. 5. 708–713.
47. KRISTENSEN, K. – PEDERSEN, S. B. et al.: Interactions between sex steroid hormones and leptin in women. Studies in vivo and in vitro. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2000. 24. 1438–1444.
48. KUMAR, L. – PANDA, R. P. et al.: Expression of leptin and its receptor in corpus luteum during estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Anim. Reprod. Sci.*, 2012. 135. 8–17.

49. LAFLAMME, D.: A clinical tool – development and validation of a body condition score system for dogs. *Canine pract.*, 1997. 22. 10–15.
50. LEE, G. H. – PROENCA, R. et al.: Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature*, 1996. 379. 632–635.
51. LI, C. – IOFFE, E. et al.: Absence of soluble leptin receptor in plasma from db^{pas}/db^{pas} and Otherdb/db Mice. *J. Biol. Chem.*, 1998. 273. 10078–10082.
52. LÖFFLER, S. – AUST, G. et al.: Evidence of leptin expression in normal and polycystic human ovaries. *Mol. Hum. Reprod.*, 2001. 7. 1143–1149.
53. LUBKOWSKA, A. – RADECKA, A. et al.: Serum Adiponectin and Leptin Concentrations in Relation to Body Fat Distribution, Hematological Indices and Lipid Profile in Humans. *Int. J. Environ. Res. Public Health.*, 2015. 12. 11528–11548.
54. MAHESHWARI, A. – STOFBERG, L. et al.: Effect of overweight and obesity on assisted reproductive technology—a systematic review. *Hum. Reprod. Update.*, 2007. 13. 433–444.
55. MANNUCCI, E. – OGNIBENE, A. et al.: Relationship between leptin and oestrogens in healthy women. *Eur. J. Endocrinol.*, 1998. 139. 198–201.
56. MARTIN, B. – GOLDEN, E. et al.: Caloric restriction: impact upon pituitary function and reproduction. *Ageing. Res. Rev.*, 2008. 7. 209–224.
57. MAWBY, D. I. – BARTGES, J. W. et al.: Comparison of various methods for estimating body fat in dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 2004. 40. 109–114.
58. MESSINIS, I. E. – MILINGOS, S. et al.: Leptin concentrations in the follicular phase of spontaneous cycles and cycles superovulated with follicle stimulating hormone. *Hum. Reprod.*, 1998. 13. 1152–1156.
59. MULDER, A. G. – LAVEN, J. S. et al.: Patient predictors for outcome of gonadotrophin ovulation induction in women with normogonadotrophic anovulatory infertility: a meta-analysis. *Hum. Reprod. Update*, 2003. 9. 429–449.
60. MURDOCH, G. K. – DIXON, W. T. et al.: Bovine tissue mRNA abundance related to acute cold exposure and acute feeding restriction. *Can. J. Anim. Sci.*, 2005. 85. 157–164.
61. NAGATANI, S. – GUTHIKONDA, P. et al.: Evidence for GnRH regulation by leptin: leptin administration prevents reduced pulsatile LH secretion during fasting. *Neuroendocrinology*, 1998. 67. 370–376.
62. NAGATANI, S. – ZENG, Y. et al.: Leptin regulates pulsatile luteinizing hormone and growth hormone secretion in the sheep. *Endocrinology*, 2000. 141. 3965–3975.
63. NISHII, N. – TAKASU, M. et al.: Effects of administration of glucocorticoids and feeding status on plasma leptin concentrations in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 2006. 67. 266–270.
64. OGURA, K. – IRAHARA, M. et al.: Effects of leptin on secretion of LH and FSH from primary cultured female rat pituitary cells. *Eur. J. Endocrinol.*, 2001. 144. 653–658.
65. PARK, H. J. – LEE, S. E. et al.: Leptin, adiponectin and serotonin levels in lean and obese dogs. *BMC Vet. Res.*, 2014. 10. 113.
66. PARK, H. J. – LEE, S. E. et al.: Association of obesity with serum leptin, adiponectin, and serotonin and gut microflora in beagle dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, 2015. 29. 43–50.
67. PEINÓ, R. – PINEIRO, V. et al.: Cold exposure inhibits leptin secretion in vitro by a direct and non-specific action on adipose tissue. *Eur. J. Endocrinol.*, 2000. 142. 195–199.
68. PELLEYMOUNTER, M. A. – CULLEN, M. J. et al.: Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*, 1995. 269. 540–543.
69. PHOOPHITPHONG, D. – SRISUWATANASAGUL, S. et al.: Leptin immunohistochemical staining in the porcine ovary. *Anat. Histol. Embryol.*, 2017. 46. 334–341.
70. QUENNEL, J. H. – MULLIGAN, A. C. et al.: Leptin indirectly regulates gonadotropin-releasing hormone neuronal function. *Endocrinology*, 2009. 150. 2805–2812.
71. RIAD-GABRIEL, M. G. – JINAGOUDA, S. D. et al.: Changes in plasma leptin during the menstrual cycle. *Eur. J. Endocrinol.*, 1998. 139. 528–531.
72. ROSEWEIR, A. K. – MILLAR, R. P.: The role of kisspeptin in the control of gonadotrophin secretion. *Hum. Reprod. Update*, 2009. 15. 203–212.
73. RUIZ-CORTÉS, Z. T. – MARTEL-KENNES, Y. et al.: Biphasic effects of leptin in porcine granulosa cells. *Biol. Reprod.*, 2003. 68. 789–796.
74. RYAN N. K. – VAN DER HOEK, K. H. et al.: Leptin and leptin receptor expression in the rat ovary. *Endocrinology*, 2003. 144. 5006–5013.
75. RYAN, N. K. – WOODHOUSE, C. M. et al.: Expression of leptin and its receptor in the murine ovary: possible role in the regulation of oocyte maturation. *Biol. Reprod.*, 2002. 66. 1548–1554.
76. SAGAWA, M. M. – NAKAMODO, F. et al.: Correlation between plasma leptin concentration and body fat content in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 2002. 63. 7–10.
77. SALERI, R. – TIRELLI, M. et al.: Sexual dimorphism in leptin blood levels in the dog. *Veterinaria*, 2003. 17. 47–51.
78. SARKAR, M. – SCHILFFARTH, S. et al.: The expression of leptin and its receptor during different physiological stages in the bovine ovary. *Mol. Reprod. Dev.*, 2010. 77. 174–181.
79. SCHNEIDER, J. E.: Energy balance and reproduction. *Physiol. Behav.*, 2004. 8. 289–317.
80. SHIMIZU, H. Y. – SHIMOMURA, Y. et al.: Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects. *J. Endocrinol.*, 1997. 154. 285–292.
81. SIR-PETERMANN, T. – MALIQUEO, M. et al.: Episodic leptin release is independent of luteinizing hormone secretion. *Hum. Reprod.*, 1999. 14. 2695–2699.
82. SMOLINSKA, N. – KAMINSKI, T. et al.: Leptin gene and protein expression in the ovary during the oestrous cycle and early pregnancy in pigs. *Reprod. Domest. Anim.*, 2010. 45. e174–183.
83. SPICER, L. J. – FRANCISCO, C. C.: The adipose obese gene product, leptin: evidence of a direct inhibitory role in ovarian function. *Endocrinology*, 1997. 138. 3374–3379.
84. SPICER, L. J. – FRANCISCO, C. C.: Adipose obese gene product, leptin, inhibits bovine ovarian theca cell steroidogenesis. *Biol. Reprod.*, 1998. 58. 207–212.
85. STONE, R. – BERGHOFF, N. et al.: Use of bioelectric impedance device in 420 obese and lean healthy dogs to estimate body fat percentage. *Vet Ther.*, 2009. 10. 59–70.
86. TANAKA, M. – NAKAYA, S. et al.: Effects of estrogen on serum leptin levels and leptin mRNA expression in adipose tissue in rats. *Horm. Res.*, 2001. 56. 98–104.
87. TARTAGLIA, L. A. – DEMBSKI, M. et al.: Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*, 1995. 83. 1263–1271.

88. TRAYHURN, P. – DUNCAN J. S. et al.: Acute cold-induced suppression of ob (obese) gene expression in white adipose tissue of mice: mediation by the sympathetic system. *Biochem. J.*, 1995. 311. 729–733.

89. TVARIJONAVICIUTE, A. – CERON, J. J. et al.: Assessment of five ELISAs for measurement of leptin concentrations in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 2011. 72. 169–173.

90. WAKSHLAG, J. J. – STRUBLE, A. M. et al.: The effects of weight loss on adipokines and markers of inflammation in dogs. *Brit. J. Nutr.*, 2011. 106. 11–14.

91. WANG, M. Y. – ZHOU, Y. T. et al.: A novel leptin receptor isoform in rat. *FEBS Lett*, 1996. 392. 87–90.

92. WATANOBE, H.: Leptin directly acts within the hypothalamus to stimulate gonadotropin-releasing hormone secretion in vivo in rat. *J. Physiol.*, 2002. 545. 255–268.

93. XU, J. – KIRIGITI, M. A. et al.: Regulation of food intake and gonadotropin-releasing hormone/leutinizing hormone during lactation: role of insulin and leptin. *Endocrinology*, 2009. 150. 4231–4240.

94. YAMADA, M. – IRAHARA, M. et al.: Serum leptin profiles in the normal menstrual cycles and gonadotropin treatment cycles. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 2000. 49. 119–123.

95. YU, W. H. – KIMURA, M. et al.: Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997. 94. 1023–1028.

96. ZACHOW, R. J. – MAGOFFIN, D. A.: Direct intraovarian effects of leptin: impairment of the synergistic action of insulin-like growth factor-I on follicle-stimulating hormone-dependent estradiol-17 β production by rat ovarian granulosa cells. *Endocrinology*, 1997. 138. 847–850.

97. ZAMORANO, P. L. – MAHESH, V. B. et al.: Expression and localization of the leptin receptor in endocrine and neuroendocrine tissues of the rat. *Neuroendocrinology*, 1997. 65. 223–228.

98. ZERANI, M. – BOITI, C. et al.: Ob receptor in rabbit ovary and leptin in vitro regulation of corpora lutea. *J. Endocrinol.*, 2004. 183. 279–288.

99. ZHANG, Y. – PROENCA, R. et al.: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 1994. 372. 425–432.

Közlésre érkező: 2018. szept. 27.

IN MEMORIAM

Dr. Balla László (1925–2019)



DR. BALLA LÁSZLÓ 1925. március 11-én született Budapesten. A fővárosi Piarista Gimnáziumban érettségizett, majd 1945-ben megkezdte tanulmányait az Agrártudományi Egyetem Állatorvosi Karán, ahol 1951-ben szerzett állatorvosi diplomát.

1950 és 1954 között az Élelmiszerhigiéniai Intézetben, az Országos Állategészségügyi Intézetben, illetve a Békéscsabai Állategészségügyi Intézetben dolgozott.

1959-től 1985-ig az Állatgyógyászati Oltóanyag-ellenőrző Intézet Baromfi-oltóanyagok Osztályát vezette. Munkatársaival a baromfi-oltóanyagok és diagnosztikumok kötelező, rutinszerű ellenőrzése mellett jelentős tudományos munkát is végzett. Az ellenőrzési módszerek kidolgozásáról, fejlesztéséről, valamint vakcinázási programok gyakorlati értékeléséről 40 közleménye jelent meg. 1968–69-ben Kubában oltóanyag ellenőrzési szaktanácsadóként működött, 1978-ban 3 hónapig tanulmányúton volt az akkori NSZK-ban. 1985-ben vonult nyugállományba.

DR. BALLA LÁSZLÓ munkássága példaértékű a fiatal generációk számára, emlékét kegyelettel őrizzük.