

Osoczowa leptyna u owiec z pojedynczą i podwójną owulacją

RYSZARD BOBOWIEC, URSZULA KOSIOR-KORZECKA, FRANCO MARTELLI*

Katedra Patofizjologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin
*Dipartimento di Anatomia, Biochimika e Fisiologia Veterinaria, Università degli Studi di Pisa, Italia

Bobowiec R., Kosior-Korzecka U., Martelli F.

Plasma leptin in sheep with single and double ovulation

Summary

The experiments were carried out to investigate the levels of leptin and 17β -estradiol in the plasma of synchronised PON ewe-lambs and ewes. These hormones were evaluated in order to determine their level in relation to ovulation rate. Laparoscopic examination of the ovaries of all the ewes was performed on the 6th day of the oestrus cycle to determine the number of corpora lutea per ewe. Ovulation rate in the ewe-lambs was lower both in the group fed on hay as well as the group on mixed feed lower than in the respective group of ewes. Plasma samples were collected during standing oestrus every 30 min. for 3 or 6 h and analysed for leptin and estradiol (E-2). Plasma leptin concentrations during standing oestrus were the lowest in ewe lambs fed on hay with single ovulation (1.60 ± 0.46 ng/ml) and the highest in ewes on mixed feed with double ovulation (2.24 ± 0.12 ng/ml). The opposite trend was observed in relation to the level of estradiol. Both ewes and ewe-lambs with double ovulation had lower levels of E-2 (20.49 ± 3.94 and 19.44 ± 0.75 pg/ml respectively) than single ovulated (28.40 ± 4.28 and 25.24 ± 1.48 pg/ml respectively). These results suggest that one of the factors determining the ovulation rate in sheep is the level of leptin during oestrus. Because the leptin level remains in an inverse relation to the E-2 level, the action of the leptin may suppress E-2 synthesis and thus promote the development of addition vesicles in sheep ovaries.

Keywords: ewes, ewe-lambs, ovulation rate, leptin, 17β estradiol

Zależność reprodukcji od prawidłowego żywienia i stanu rezerw energetycznych w organizmie znana jest od dawna (5, 7). Dostępność składników energetycznych zwiększa sprawność każdego ogniwa osi reprodukcyjnej (8). Hormon (12) – cytokina (1, 2) leptyna odkryty w ostatnich latach u mutantów homozygotycznie (*ob/ob*) otyłych myszy, niemal wyłącznie syntetyzowany i wydzielany przez adipocyty (z niewielką ekspresją w łożysku i tkance mięśniowej) uważany jest przy otwartym oknie aktywności za metaboliczny sygnał modulujący aktywność reprodukcyjną (5, 14). W tym znaczeniu z jednej strony wysokie jej stężenia hamują przyjmowanie pokarmu (13) z drugiej pobudzają reprodukcję zwiększając częstość pulsów GnRH (5). Białko to ze 167 aminokwasami i masą cząsteczkową 16-kDa jest swego rodzaju „adipostatem” (21) krążącym we krwi, w ilości proporcjonalnej do otluszczenia ustroju, będąc równocześnie przetwornikowym sygnałem stanu energetycznego na funkcje reprodukcyjne. Stąd, uważany jest za hormon stanowiący most między stanem, w którym samica osiąga dopuszczalne, dostosowujące otluszczenie (fatness) a pojawieniem się aktywności reprodukcyjnej. Obecność leptyny u samic sankcjonuje znane stwierdzenie mówią-

ce o „krytycznej zawartości tłuszczu” niezbędnego do wydajnej płodności.

Występowanie podwójnych, a czasem potrójnych owulacji u owiec wyjaśnia się zwykle występowaniem genu *Booroola* u rasy merynos czy też zwiększeniem stężenia osoczowego androstenedionu u rasy romanowskiej (22), albo prolongacją w fazie estralnej zmniejszonego tonicznego wyrzutu LH połączoną z supresją wytwarzania 17β estradiolu (E_2) w pęcherzyku dominującym (3). Nie bez znaczenia jest dostępność substratów dla sterydogenezy jajnikowej (4), względnie działanie czynników parakrynych takich jak IGF-I (Insuline-Like Growth Factor) (6) w obrębie komórek osłonki twardej i ziarnistej jajnika. Stwierdzenie, że leptyna przetwarza obecny stan energetyczny na sygnał wydajnej reprodukcji samicy oraz zlokalizowanie receptorów *ob-R* w jajniku (13) zainicjowało badania własne w kierunku wykazania związku między osoczową leptyną a wydajnością owulacji u polskiej owcy nizinnej (pon).

Materiał i metody

Doświadczenia przeprowadzono na 32 owcach rasy polska owca nizinna, które podzielono na dwie grupy pod

względem wieku i masy ciała. Grupę I stanowiły maciorki w wieku 3-4 lat o średniej masie ciała 61,5 kg (n = 22), grupę II – jarki o średniej masie ciała 29 kg (n = 10). Przed rozpoczęciem doświadczenia każdą z grup podzielono na dwie podgrupy: A i B, które utrzymywano w oddzielnych zagrodach i odmiennie żywiono, z zachowaniem we wszystkich podgrupach stosunku światła dziennego do nocnego 14 h D-10 h N. Wszystkim owcom podawano wodę *ad libitum* oraz karmę dwa razy dziennie o godz. 8,00 i 17,00, przy czym podgrupy A otrzymywały wyłącznie siano łąkowe (1,5 kg/dzień/owcę), podgrupy B natomiast – otręby pszenne (0,5 kg/dzień/owcę), wysłodki buraczane (0,2 kg/dzień/owcę) i siano łąkowe (1,5 kg/dzień/owcę). W obydwu przypadkach pasza była uzupełniana Polfamixem OK. Owce poddano synchronizacji cyklu rujowego poprzez dwukrotną iniekcję (i.m.) Oestrophanu w odstępie 11 dni. Doświadczenie trwało 26 dni – od momentu pierwszego podania prostaglandyny do 15-go dnia pierwszego po synchronizacji cyklu rujowego. Ruję rozpoznawano przy pomocy barana „szukarka”. Od części owiec w czasie rui pobierano, do próbek z wersenianem dwusodowym, krew z żyły jarzmowej przez 6 godzin co 30 minut, od wszystkich pozostałych przez 3 godziny również co 30 minut. Leptynę oznaczano w osoczu krwi metodą radioimmunologiczną przy użyciu zestawu (Multi-Species Leptin RIA KIT, Linco Research), według metodyki podanej przez producenta. Zmienność wewnątrzoznaczeniowa wynosiła 13,98%, zmienność zewnątrzoznaczeniowa natomiast 15,84%. Zastosowany zestaw zalecany jest do oznaczania leptyny w osoczu krwi między innymi takich gatunków zwierząt, jak owca, świnia, kot, krowa, koń. Stężenie 17β -estradiolu określano metodą wysoko sprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) według procedury opisanej we wcześniejszych pracach (4, 10). Szóstego dnia następnego cyklu rujowego (ruja dzień 0) wykonano u owiec badanie laparoskopowe jajników dla stwierdzenia liczby ciałek żółtych i pośrednio owulacji.

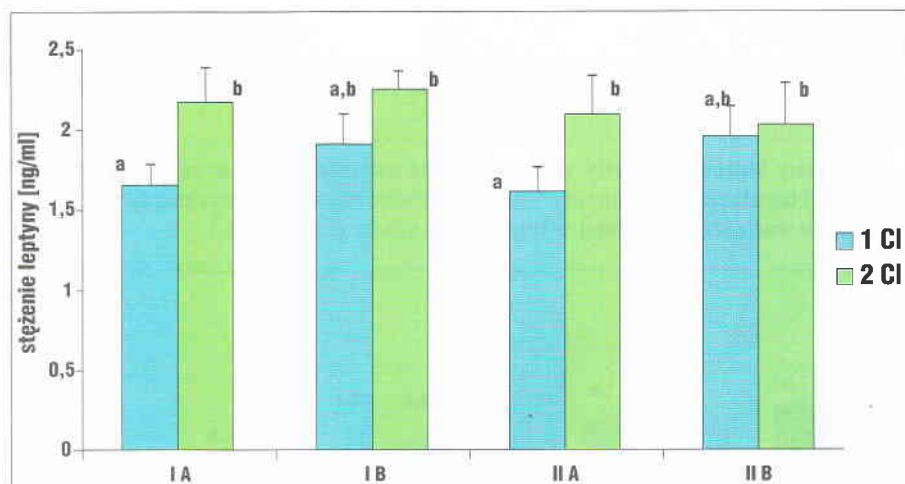
W celu wykazania statystycznie istotnych różnic między badanymi grupami wykonano test t-Studenta dla cech nieparzystych. Otrzymaną wartość $p \leq 0,05$ przyjęto jako istotną statystycznie. Dla stwierdzenia zależności między badanymi zmiennymi przeprowadzono liniową analizę regresji z równoczesnym wyznaczeniem współczynnika korelacji.

Wyniki i omówienie

Badanie laparoskopowe (tab. 1). Laparoskopowo stwierdzono wyższą średnią liczbę owulacji u owiec starszych ($1,68 \pm 0,49$) w porównaniu z jarkami ($1,30 \pm 0,51$). Zarówno w I, jak i w II grupie liczba owulacji

Tab. 1. Porównanie liczby owulacji w poszczególnych grupach doświadczalnych

Układ doświadczenia		Grupa I (n = 22)		Grupa II (n = 10)	
		A (n = 10)	B (n = 12)	A (n = 5)	B (n = 5)
Liczba owiec	z pojedynczą owulacją	4	3	4	3
	z podwójną owulacją	6	9	1	2
Średnia liczba owulacji		$1,60 \pm 0,48$	$1,75 \pm 0,51$	$1,20 \pm 0,51$	$1,40 \pm 0,51$
Średnia masa ciała		60,5	62,5	27,9	30,1

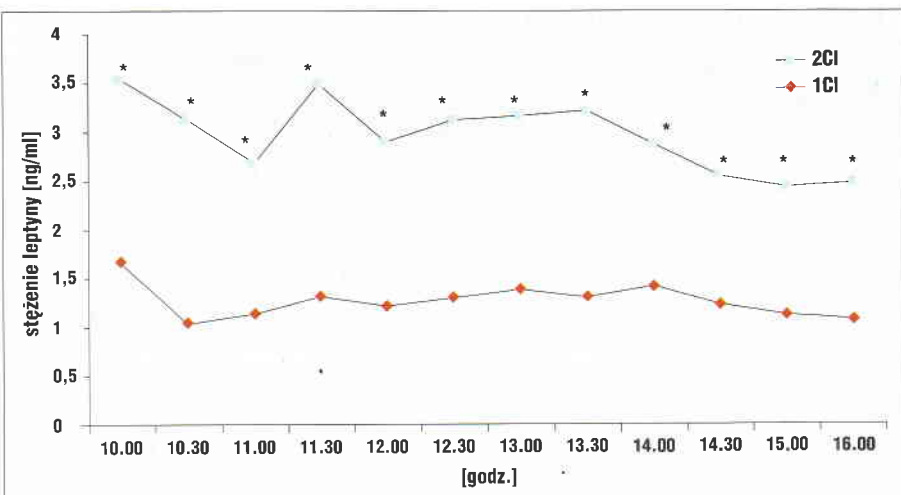


Ryc. 1. Porównanie stężeń leptyny w osoczu krwi owiec poszczególnych grup z pojedynczą (1CI) i podwójną (2CI) owulacją. Objasnienie: a, b – średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p < 0,05$.

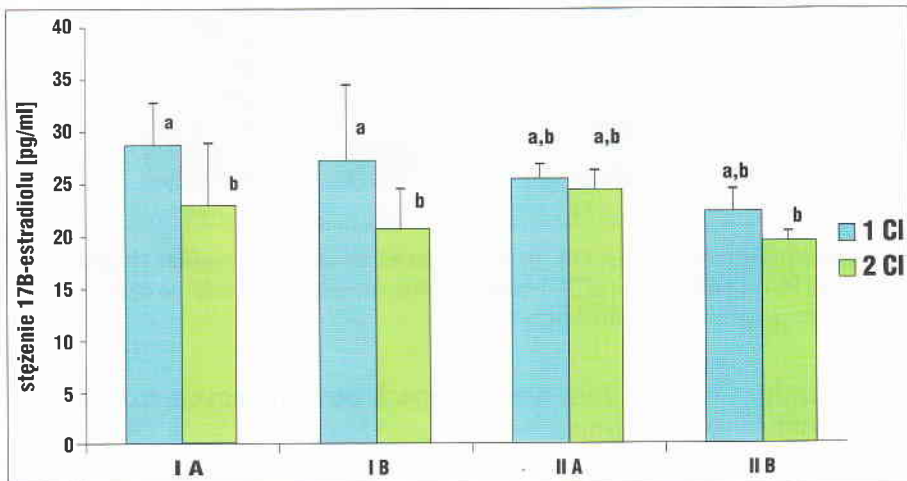
była wyższa w podgrupach otrzymujących zróżnicowaną karmę.

Stężenie leptyny (ryc. 1). Średnie stężenie leptyny w osoczu krwi owiec w okresie rui było najwyższe w przypadku owiec o większej masie ciała, otrzymujących zróżnicowaną karmę i z podwójną owulacją ($2,24 \pm 0,12$ ng/ml) (ryc. 1), najniższe zaś w przypadku owiec młodszych o niższej masie ciała żywionych sianem z pojedynczą owulacją ($1,60 \pm 0,46$ ng/ml). W każdej podgrupie, niezależnie od wieku, masy ciała i sposobu żywienia zwierząt wyższe stężenie leptyny stwierdzono w osoczu krwi owiec z podwójną owulacją (IA – $2,16 \pm 0,39$ ng/ml; IB – $2,24 \pm 0,12$ ng/ml; II A – $2,08 \pm 0,25$ ng/ml; II B – $2,04 \pm 0,16$ ng/ml) w porównaniu do owiec z pojedynczą owulacją (IA – $1,65 \pm 0,13$ ng/ml; IB – $1,90 \pm 0,19$ ng/ml; II A – $1,60 \pm 0,46$ ng/ml; II B – $1,95 \pm 0,49$ ng/ml). Stężenie leptyny w grupie I owiec z podwójną owulacją żywionych zarówno sianem, jak i karmą urozmaiconą było istotnie wyższe ($p < 0,05$) od stężenia leptyny w osoczu krwi owiec z pojedynczą owulacją żywionych sianem. W grupie jarek, u których wykazano podwójną owulację niezależnie od żywienia stężenie leptyny również było istotnie wyższe ($p < 0,05$) w porównaniu do tych z pojedynczą owulacją żywionych sianem.

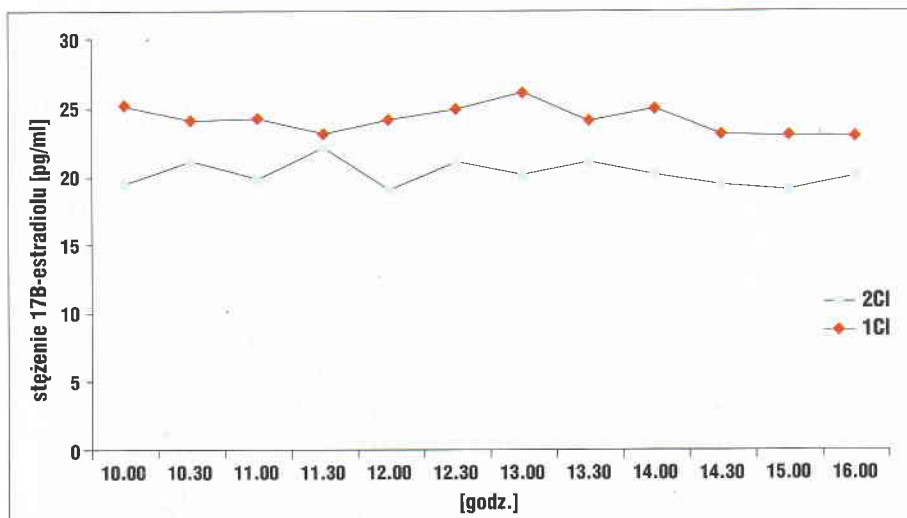
Leptyna oznaczana przez okres 6 godzin w czasie rui osiągała statystycznie istotnie ($p < 0,05$) wyższe wartości u owiec z podwójną owulacją (ryc. 2).



Ryc. 2. Zmiany stężenia leptyny w osoczu krwi owiec z pojedynczą (1CI) i podwójną (2CI) owulacją. Objaśnienie: *oznacza różnicę istotną statystycznie ($p < 0,05$) w stosunku do wartości otrzymanej w tym samym czasie dla jarek 1CI.



Ryc. 3. Porównanie stężeń 17β-estradiolu w osoczu krwi owiec poszczególnych grup z pojedynczą (1CI) i podwójną (2CI) owulacją. Objaśnienie jak ryc. 1.



Ryc. 4. Zmiany stężenia 17β-estradiolu w osoczu krwi owiec z pojedynczą (1CI) i podwójną (2CI) owulacją

Stężenie 17β-estradiolu. Średnie stężenia 17β-estradiolu w osoczu krwi owiec w okresie rui były wyższe u owiec starszych o większej masie ciała (ryc. 3). W każdej z podgrup wyższy poziom tego hormonu ob-

serwowano u macierek z pojedynczą owulacją (ryc. 5) (IA – $28,40 \pm 4,28$ pg/ml; IB – $27,14 \pm 7,21$ pg/ml; II A – $25,24 \pm 1,48$ pg/ml; II B – $22,19 \pm 1,47$ pg/ml) niż u macierek z owulacją podwójną (IA – $22,74 \pm 6,11$ pg/ml; IB – $20,49 \pm 3,94$ pg/ml; II A – $24,14 \pm 1,92$ pg/ml; II B – $19,44 \pm 0,75$ pg/ml). W grupie owiec starszych stwierdzono istotne statystycznie różnice ($p < 0,05$) w stężeniu 17β-estradiolu pomiędzy grupami macierek z pojedynczą i podwójną owulacją, zarówno w przypadku zwierząt otrzymujących siano, jak i zróżnicowaną karmę. W grupie jarek stężenia hormonu nie różniły się istotnie (ryc. 3).

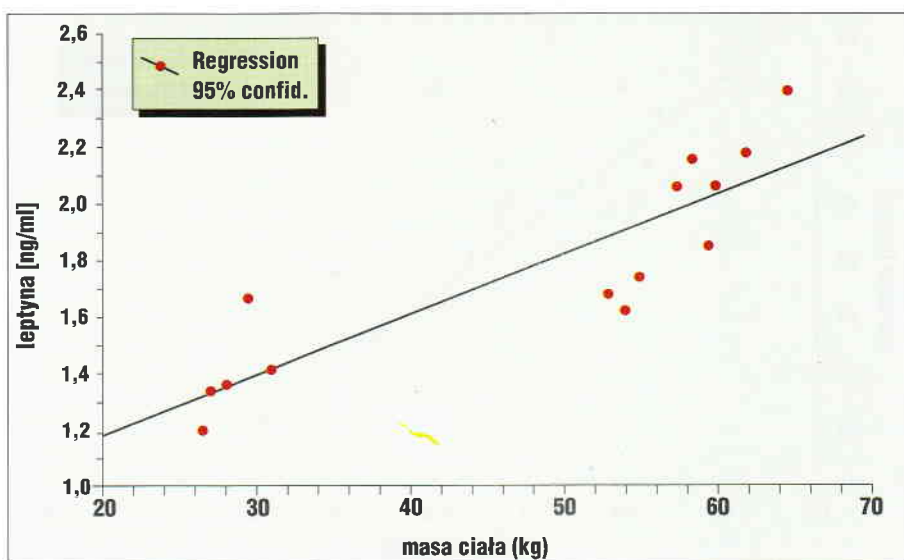
W czasie rui zawartość estradiolu badana przez 6 godzin w osoczu krwi owiec z podwójną owulacją była niższa, niż u owiec z pojedynczą owulacją (ryc. 4).

Zależność stężenia leptyny od masy ciała i stężenia 17β-estradiolu. Analizą krzywej regresji stwierdzono, iż wraz ze wzrostem masy ciała zwiększa się stężenie leptyny. Wykazano prostoliniową współzależność pomiędzy masą ciała a stężeniem leptyny (ryc. 6) u badanych owiec ($r = 0,88$). Równocześnie wykazano odwrotną relację między stężeniem leptyny a stężeniem 17β-estradiolu ($r = -0,95$) (ryc. 7).

Spontanicznie występujące wielokrotne owulacje u zwierząt, spośród których częściej u owiec, mogą być spowodowane uprzedzającym działaniem czynników endokrynalnych i lokalnych w jajniku (3, 4, 22). Zmniejszona synteza 17β-estradiolu (E_2) w pęcherzyku dominującym wskutek obniżonej syntezy IGF-1 i mniej burzliwego przyrostu receptorów LH sprzyja wymykaniu się dodatkowych pęcherzyków spod supresyjnego wpływu pęcherzyka dominującego (3). Duży udział w hamowaniu supresyjnego działania E_2 wykazuje leptyna. Jako hormon pojawiający się w krążeniu w ilościach proporcjonalnych do zawartości tłuszczu w organizmie wywiera podwójny

wpływ na układ rozrodczy: centralny pobudzający i lokalny hamujący. W obrębie mózgowia, oprócz bezpośredniego wpływu stymulującego w neuronach podstwy podwzgórza syntezę GnRH (11, 20) leptyna w

główniej mierze działa w interakcji z glukozą zwiększając sygnalizację dostępności glukozy w *area postrema* (8, 9), okołokomorowej struktury tyłomózgowia przekazującej synaptycznie informacje do neuronów syntetyzujących GnRH. Leptyna jest niezbędna więc do pełnej aktywności osi podwzgórzowo-przysadkowej prowadzącej do wydzielania gonadotropin (2). Działanie neuroendokrynalne leptyny prowadzące do uwalniania GnRH odbywa się z udziałem neuropeptydu Y (NPY) (26). Leptyna zmniejsza ekspresję NPY w jądrze łukowatym podwzgórzia i zapobiega hamującemu działaniu tego neuropeptydu na sekrecję GnRH. W życiu młodzieńczym zwiększone wytwarzanie NPY ogranicza stymulujące impulsy zstępujące na neurony uwalnijające GnRH. Pojawiająca się leptyna obniża ekspresję NPY i odblokowuje uwalnianie GnRH, w efekcie pojawia się dojrzałość płciowa lub cykliczna aktywność po okresie anestrалnym. Niedożywienie jest stanem przypominającym genotyp *ob/ob* z brakiem leptyny, powodującym hamowanie wydzielania leptyny i aktywności reprodukcyjnej. Wykazano ponadto, że występujące przedłużenie przebiegu owulacji w stanie głodzenia ulega skróceniu po podaniu leptyny (14). Poznany mechanizm działania centralnego leptyny może być przydatny w hodowli, zwłaszcza przemysłowej. Far-



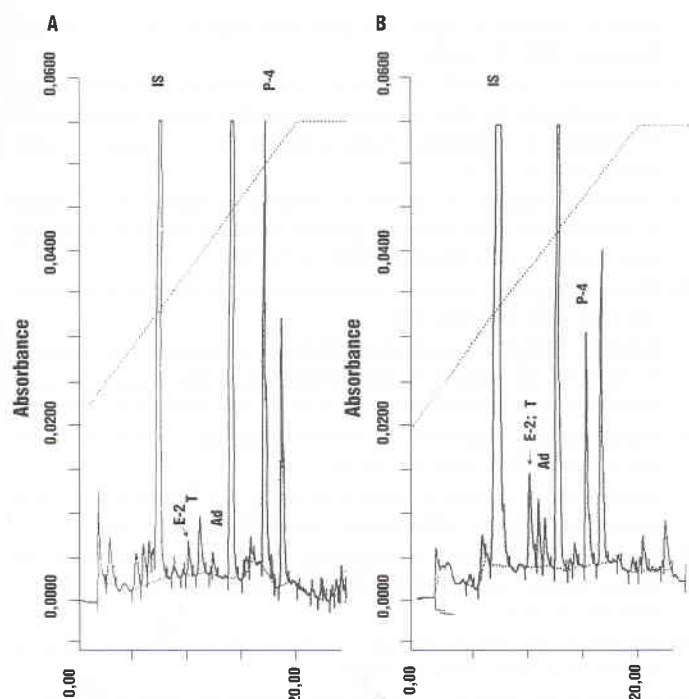
Ryc. 6. Zależność stężenia leptyny od masy ciała. $y = 0,76414 + 0,02091 \cdot x$; korelacja: $r = 0,87612$

makologiczne preparaty leptynowe dają możliwość z jednej strony przyspieszania i ułatwiania przejścia w stan dojrzałości płciowej, z drugiej, usuwania ciszy seksualnej u samic aktywnych sezonowo lub pozostających w poporodowym okresie anestrалnym.

Lokalne działanie leptyny w jajniku wiąże się z hamowaniem sterydogenezy (2). W przeprowadzonych badaniach wykazano odwrotną korelację między stężeniami leptyny i E_2 . Przy wyższych wartościach leptyny w osoczu owiec w dobrej kondycji, z optymalnym depo tłuszczowym, odpowiada ona za bezpośrednie hamowanie nasilenia stymulacji (przez IGF-I) syntezy E_2 pod wpływem FSH w komórkach ziarnistych (1, 12, 19)). Zmniejszone stężenie E_2 w pęcherzyku dominującym powoduje, że następny lub kolejne pęcherzyki wymykają się z pod supresyjnego wpływu tego hormonu i wówczas stadium owulacyjne osiąga dodatkowy lub dodatkowe pęcherzyki. Agarwal i wsp. (1) stwierdzili ponadto bezpośrednio hamujący wpływ leptyny na pobudzenie przez IGF-I stymulującego syntezę androstenedionu działania LH w komórkach osłonki wewnętrznej. W skrajnych przypadkach otyłości wzmocniona produkcja leptyny może całkowicie blokować (24) wspomniane działanie IGF-I i aromatyzację prowadząc ostatecznie do niepłodności.

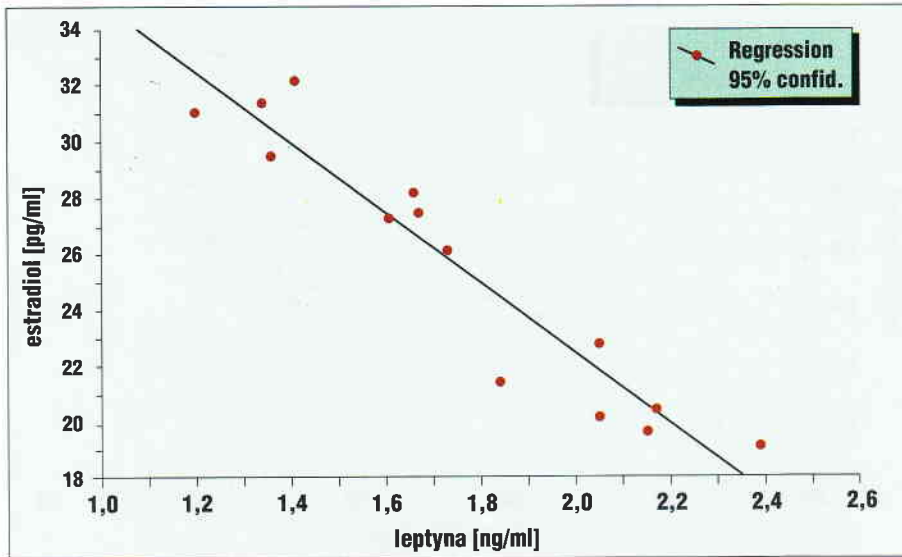
Leptyna jako hormon sytości, zmniejsza przyjmowanie pokarmu, obniża masę ciała i zwiększa wydatki energetyczne, zarówno wskutek sympatycznej aktywacji termogenezy, jak i bezpośredniego wzbudzenia niesprężonych białek mitochondrialnych (7, 11, 15, 18). Brak leptyny u homozygotycznie otyłych myszy powoduje sterylizację i nie występowanie dojrzałości płciowej, ze zmniejszoną masą jajników i macicy (5). Podanie rekombinowanej leptyny odwraca ten stan, pojawia się płodność.

Fizjologiczna czynność leptyny w jajniku okazuje się być modulująca w stosunku do hormonów troficznych. Podwyższony jej poziom, poprzez obniżenie



Ryc. 5. Profil hormonów sterydowych w osoczu krwi owiec: A. z podwójną owulacją; B. z pojedynczą owulacją.

Objaśnienia: OIS – standard wewnętrzny (kwas dehydrocholoowy); E_2 – 17 β -estradiol; T – testosteron; Ad – androstencion; P-4 – progesteron.



Ryc. 7. Zależność stężenia estradiolu od stężenia leptyny. $y = 47,501 - 12,54 \cdot x$; korelacja: $r = -0,9518$

czułości działania IGF-I na stymulujące sterydogenezę działanie gonadotropin, może powodować rozwój kilku zamiast jednego pęcherzyka. Z kolei wysokie jej stężenia przeciwdziałają uczulającym efektom czynników wzrostu, takim jak IGF-I i blokują sterydogenezę powodując niepłodność. Uważa się, że wytwarzanie przez pęcherzyk dominujący cząsteczek uczulających typu IGF-I nasila działanie FSH (6), promuje jego rozwój i daje mu przewagę rozwojową w stosunku do pęcherzyków podporządkowanych. Podwójny potencjał leptyny polega na tym, iż gdy nieznacznie obniża ona syntezę estradiolu dochodzi do podwójnych owulacji, gdy zaś jej stężenie jest większe hamuje syntezę E_2 w takim stopniu, że staje się on nieadekwatnym bodźcem dla wysiewu LH, co w ekstremalnych warunkach powoduje brak pęcherzyków owulacyjnych i niepłodność. Taki sposób działania leptyny tłumaczy, dlaczego u osobników otyłych często obserwuje się brak owulacji i niepłodność, a u osobników w kondycji rozplodowej spotykana jest podwójna lub potrójna owulacja.

Piśmiennictwo

1. Agarwal S. K., Vogel K., Weitsman S. T., Magoffin D. A.: Leptin antagonizes the insulin-like growth factor I augmentation of steroidogenesis in granulosa and Theca cells of the human ovary. *J. Clin. Endocrinol.* 1999, 84, 1072-1077.
2. Barkan D., Jia H., Dantes A., Vardimon L., Amsterdam A., Rubinstein M.: Leptin modulates the glucocorticoid-induced ovarian steroidogenesis. *Endocrinology* 1999, 140, 1731-1738.
3. Bindon B. M., Blanc M. R., Pelletier J., Terqui M., Thimonier J.: Periovarian gonadotrophin and ovarian steroid patterns in sheep of breeds with differing fecundity. *J. Reprod. Fert.* 1979, 55, 15-25.
4. Bobowiec R., Kosior-Korzecka U., Patkowski K., Pięta M.: Comparison of plasma steroids hormones status of ewe lambs and ewes with different ovulation rate. *Annales UMCS*, 1999, sec. DD, 9, 99-107.
5. Cunningham M. J., Clifton D. K., Steiner R. A.: Leptin's actions of the reproductive axis: Perspectives and mechanisms. *Biol. Reprod.* 1999, 60, 216-222.
6. Downing J. A., Joss J., Connell P., Scaramuzzi R. J.: Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophic and metabolic hormones in ewes fed lupin grain. *J. Reprod. Fert.* 1995, 103, 137-145.

7. Flynn M. C., Scott T. R., Pritchard T. C., Plata-Salaman C. R.: Mode of action of OB. Protein (leptin) on feeding. *Am. J. Physiol.* 1998, 275, R174-R179.

8. Foster D. L., Nagatani S.: Physiological perspectives on leptin as regulator of reproduction: Role in timing puberty. *Biol. Reprod.* 1999, 60, 205-215.

9. Fulton S., Woodside B., Shizgal P.: Modulation of brain reward circuitry by leptin. *Science* 2000, 287, 125-128.

10. Havel P. J.: Leptin production and action: relevance to energy balance in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 1998, 67, 355-356.

11. Haynes W. G., Morgan D. A., Djalali A., Sivitz W. J., Mark A. L.: Interactions between the melanocortin system and leptin in control sympathetic nerve traffic. *Hypertension* 1999, 33, 542-547.

12. Henry B. A., Goding J. W., Alexander W. S., Tilbrook A. J., Canny B. J., Dunshea F., Rao A., Mansell A., Clarke J. J.: Central administration of leptin to ovariectomized ewes Inhibits food intake without affecting the secretion of hormones from the pituitary gland: evidence for a dissociation of effects on appetite and neuroendocrine function. *Endocrinology* 1999, 140, 1175-1182.

13. Hossner K. L.: Cellular, molecular and physiological aspects of leptin: Potential application in animal production. *Can. J. Anim. Sci.* 1998, 78, 463-472.

14. Houseknecht L., Baile C. A., Matteri R. L., Spurlock M. E.: The biology of leptin: A review. *J. Anim. Sci.* 1998, 76, 1405-1420.

15. Karlson C., Stenlof K., Johannsson G., Marin P., Bjorntorp P., Bengtsson B. A., Carlsson B., Carlsson L. M. S., Sjostrom L.: Effects of growth hormone treatment on the leptin system and on energy expenditure in abdominally obese men. *Eur. J. Endocrinol.* 1998, 138, 408-414.

16. Kosior-Korzecka U., Bobowiec R.: Zastosowanie kwasu dehydrochlorowego (DHC), jako standardu wewnętrznego w analizie osoczowych soli żółciowych i sterydów jajnikowych metodą HPLC. *Mat. XXII Symp. Nauk. nt. „Chromatograficzne metody badania związków organicznych”, Katowice-Szczyrk* 1998, s. 81.

17. Marti A., Martinez B. and J. A.: Leptin: Physiological actions. *J. Physiol. Biochem.*, 1999, 55, 43-50.

18. Narkiewicz T., Szczech R., Winnicki M., Chrostowska M., Pawlowski R., Lysiak-Szydłowska W., Choe I., Kato M., Sivitz W. J., Krupa-Wojciechowska B., Somers V. K.: Heritability of plasma leptin levels: a twin study. *J. Hypertension* 1999, 17, 27-31.

19. Orabi H. E., Ghaliya A. A., Khalifa A., Mahfouz H., Shalkani A. E., Shohieb N.: Serum leptin as an additional possible pathogenic factor in polycystic ovary syndrome. *Clin. Biochem.* 1999, 32, 71-75.

20. Prolo P., Wong M. L., Licinio J.: Molecules in focus Leptin. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 1998, 30, 1285-1290.

21. Robert C., Palin M. F., Coulombe N., Roberge C., Silversides F. G., Benel B. F., McKay R. M., Pelletier G.: Backfat thickness in pigs is positively associated with leptin mRNA levels. *Can. J. Anim. Sci.* 1998, 78, 473-482.

22. Scaramuzzi R. J., Radford H. M.: Factors regulating ovulation rate in the ewe. *J. Reprod. Fert.* 1983, 69, 353-367.

23. Schwartz M. W., Woods S. C., Porte Jr D., Seeley R. J., Baskin D. G.: Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000, 404, 661-667.

24. Thong F. S. L., Graham T. E.: Leptin and reproduction: Is it a critical link between adipose tissue, Nutrition and reproduction. *Can. J. Appl. Physiol.* 1999, 24, 317-336.

25. Trayhurn P., Hoggard N., Mercer J. G., Rayner D. V.: Leptin: fundamental aspects. *Int. J. Obes.* 1999, 23, 22-28.

26. Williams L. M., Adam C. L., Mercer J. G., Moar K. M., Slater D., Hunter L., Findlay P. A., Hoggard N.: Leptin receptor and neuropeptide Y gene expression in the sheep brain. *J. Neuroendocrinol.* 1999, 11, 166-169.

Adres autora: prof. AR dr hab. Ryszard Bobowiec, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin; E-mail: boborysz@agros.ar.lublin.pl