

5 ZUSAMMENFASSUNG

Es war das Ziel der vorliegenden Arbeit, die endokrine Aktivität von equiner Follikelflüssigkeit in vivo und in vitro zu bestimmen und ihre physiologische Relevanz im Sexualzyklus der Stute zu beschreiben.

Nach subkutaner Applikation von steroidfreier equiner Follikelflüssigkeit sollten Zusammenhänge zwischen der hypophysären Gonadotropinsekretion und den peripheren Plasmakonzentrationen bei der ovariektomierten Stute aufgezeigt werden. Hierzu wurden bei 4 Stuten in definierten Zeitintervallen Blutproben gezogen. Peripheres Blut wurde alle 15 Minuten aus der Vena jugularis entnommen. Zusätzlich erfolgte eine hochfrequente Blutprobenentnahme im 5 minütigem Abstand aus dem venösen Ringgefäßsystem der Hypophyse (Sinus circularis). Serienmäßige Blutentnahmen wurden -1,5 vor bis +1,5 nach, ferner nach +3,5 bis +5,5 und +24 bis +25 Stunden nach Applikation von Follikelflüssigkeit durchgeführt. Zum Abschluß der Versuchsphase wurde den Stuten eine definierte Menge des GnRH-Analog Buserelin injiziert. Bei 2 weiteren Stuten wurden die peripheren LH- und FSH-Plasmakonzentration über einen Zeitraum von 24 Stunden nach Applikation von extrahierter equiner Follikelflüssigkeit dokumentiert.

Die LH- und FSH-Bestimmung im RIA ergab folgende Ergebnisse:

1. Bei der ovariektomierten Stute werden LH und FSH in koinzidierenden Pulsen in das venöse Blut der Hypophyse sezerniert. Die episodische Ausschüttung der Gonadotropine unterliegt dabei starken individuellen Schwankungen, wobei die gemessenen Hormonkonzentrationen im Sinus circularis signifikant höher als im peripheren Blut waren ($p < 0,001$).
2. Die intravenöse Injektion von Buserelin (10 ng/kg) stimuliert in kürzester Zeit (5 Minuten) die hypophysäre Freisetzung beider Gonadotropine. Dabei werden LH und FSH in einem supraphysiologischen Puls in das venöse Blut der Hypophyse sezerniert (10-15facher Anstieg der Ausgangskonzentration).
3. Die subkutane Applikation von equiner Follikelflüssigkeit vermindert die hypophysäre Freisetzung von FSH. Im Zeitraum +3,5 bis +5,5 Stunden waren die FSH-Konzentrationen im Sinus circularis im Vergleich zum Zeitraum -1,5 bis +1,5 Stunden

deutlich vermindert; zwischen Stunde 24 und 25 wurden im Vergleich zum vorgenannten Zeitraum (+3,5 bis 5,5 Stunden) signifikant höhere FSH-Konzentrationen gemessen ($p < 0,001$), dabei lagen die Werte über den vor Applikation von steroidfreier Follikelflüssigkeit gemessenen FSH-Konzentrationen. Die peripheren FSH-Plasmakonzentrationen verliefen tendenziell ähnlich, zeigten jedoch nicht die im Sinus circularis beobachtete Pulsalität. Veränderungen des LH-Sekretionsmusters waren nicht erkennbar.

Die biologische Aktivität von extrahierter equiner Follikelflüssigkeit von 19 Stuten wurde in einem in vitro- Bioassay bestimmt. Das Prinzip des Assays beruht auf einer durch ovarielle Proteohormone suprimierte FSH-Freisetzung muriner Hypophysenzellen.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

1. Extrahierte equine Follikelflüssigkeit setzt die FSH-Sekretion von in vitro kultivierten Hypophysenzellen herab. Dabei ist die FSH-Basalsekretion bei allen im Bioassay gemessenen Proben gegenüber einer unbehandelten Kontrolleinheit signifikant vermindert ($p < 0,001$).
2. Die suppressive FSH-Aktivität von extrahierter equiner Follikelflüssigkeit ist bei Stuten mit einem dominanten Tertiärfollikel ($\geq 3,6$ cm) gegenüber der Vergleichsgruppe (dominanter Tertiärfollikel $\leq 3,5$ cm) signifikant reduziert ($p < 0,01$).

Aus den in der Arbeit erzielten Ergebnissen wird gefolgert:

- Die synchrone pulsatile Freisetzung von LH und FSH wird bei der ovariektomierten Stute in enger zeitlicher Abhängigkeit durch GnRH induziert.
- Bei der Stute existiert ein die FSH-Sekretion modulierendes Inhibinäquivalent, das physiologische Relevanz für den Sexualzyklus besitzt.

Steffen Gremmes:

The Secretional Profile of Gonadotrophines in the Mare following Hormonal Intervention

5.1 SUMMARY

The purpose of this study was to determine the endocrine activity of equine follicular fluid in vivo and in vitro and to describe its physiological relevance in the sexual cycle of the mare.

Following subcutaneous application of steroid-free equine follicular fluid, relationships between the secretion of gonadotrophins from the pituitary and the peripheral plasma concentrations in ovariectomized mares were to be noted. Therefore blood samples were taken from four mares in defined time periods, in five minutes intervals from the pituitary venous effluent (sinus circularis) and in fifteen minutes intervals from the vena jugularis. Serial blood tests were taken 1.5 hours before to 1.5 hours after and then 3.5 to 5.5 and 24 to 25 hours after the application of follicular fluid. At the end of the test period the mares were injected with a defined amount of the GnRH analogue Buserelin. In two further mares the peripheral LH and FSH plasma concentrations were documented over 24 hours following the application of extracted equine follicular fluid.

The LH and FSH measurements by RIA gave the following results:

1. In ovariectomized mares LH and FSH is secreted in coinciding pulses into the venous blood of the pituitary. The periodic release of gonadotrophins shows large individual variations, whereby the hormone concentrations measured in the sinus circularis were significantly higher than in the peripheral blood ($p < 0.001$).
2. The intravenous injection of Buserelin (10 ng/kg) stimulates the pituitary release of both gonadotrophins within a very short time (five minutes). LH and FSH are hereby secreted into the venous blood of the pituitary in a supraphysiological pulse (10-15 times higher than initial concentrations).
3. The subcutaneous application of equine follicular fluid reduces the release of FSH from the pituitary. FSH concentrations in the sinus circularis measured at times +3.5 to +5.5 hours were clearly reduced compared to times -1.5 to +1.5 hours; between hours 24 and 25 significantly higher FSH concentrations were measured compared to times +3.5 to +5.5 hours ($p < 0.001$). The values hereby measured were above the FSH concentrations measured before the application of steroid-free follicular fluid. The

peripheral FSH plasma concentrations were tendentially similar, but did not show the pulsation observed in the sinus circularis. Changes in the secretional profile of LH were not seen.

The biological activity of extracted equine follicular fluid from 19 mares was determined with an in vitro bioassay. The principle of the assay is based on the suppression of the release of FSH from pituitary murine cells by ovarian proteohormones.

The following results were obtained:

1. Extracted equine follicular fluid reduces the FSH secretion of pituitary cell cultured in vitro. The basal secretion of FSH in all the probes measured with the bioassay is significantly reduced in comparison to an untreated control ($p < 0.001$).
2. The suppressive activity of extracted equine follicular fluid on FSH is significantly reduced in mares with dominant tertiary follicles larger than 3.6 cm as compared to mares with dominant tertiary follicles smaller than 3.5 cm in diameter ($p < 0.001$).

From the results of this study it can be concluded that:

- The synchronous pulsational release of LH and FSH in the ovariectomized mare is time dependantly induced by GnRH.
- An inhibin equivalent exists in mares, which modulates FSH secretion and is of physiological relevance for the sexual cycle.