

5. Zusammenfassung

G.-U. Graebenteich (1992):

Zur Sekretion von β -Endorphin und Oxytocin im Zusammenhang mit der Wehentätigkeit und der Geburt beim Rind.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Plasmakonzentrationen von β -Endorphin und Oxytocin bei Kühen vor, während und nach der Abkalbung bestimmt. Von 17 Tieren gelangten Proben zur Auswertung, die drei Tage und einen Tag ante partum, während des Aufweitungs- und Austreibungsstadiums der Abkalbung sowie 30 Minuten, eine Stunde, 12 und 48 Stunden post partum genommen wurden. Bei zwei weiteren Kühen wurden während der Abkalbung selbst, am Tag ante partum und am Tag post partum über eine Stunde in 5-minütigen Abständen Proben zur Bestimmung von β -Endorphin und Oxytocin genommen. Die Messung der Peptidhormone erfolgte in Radioimmunoassays (RIA) nach Extraktion aus dem Plasma mit C-18-Säulen.

Da die meisten Antisera gegen β -Endorphin auch mit dessen Vorläufermolekül β -Lipotropin eine starke Kreuzreaktivität aufweisen, muß vor der Bestimmung im RIA für einzelne Proben eine chromatographische Charakterisierung der β -Endorphinimmunreaktivität erfolgen. Teil der Arbeit war daher der Vergleich von zwei Größenausschlußchromatographieverfahren und einer reverse-phase Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) für die Auftrennung von β -Endorphinimmunreaktivität aus Rinderplasma.

Für die Größenausschlußchromatographie wurden Sephacryl 100 HR und Superose 12 Gel als stationäre Phase und 0,08 M NaCl, 0,01 M NaH_2PO_4 mit 0,04 % BSA und 0,04% Tween 20 als mobile Phase

verwendet. Für die HPLC wurde eine reverse-phase Nucleosil C-18 Säule eingesetzt und mit 0,1% Trifluoressigsäure und einem Gradienten von 20 bis 55 % Acetonitril eluiert. Die β -Endorphinimmunoreaktivität in den Chromatographiefraktionen wurde im RIA bestimmt.

In beiden Gelfiltrationsverfahren wurden β -Endorphin und β -Lipotropin in breiten, nicht deutlich voneinander abgegrenzten Positionen eluiert. Nur die reverse-phase HPLC ergab eine gute Trennung der beiden Peptide. Die Peptidverluste bei Zusatz von Standardsubstanzen zu Plasmaproben betragen für beide Größenausschlußsysteme 70 bis 80 %, bei der HPLC lagen diese Verluste unter 30 %. Da die β -Endorphinkonzentrationen im Plasma im Picogrammbereich liegen, ist eine Minimierung der Peptidverluste bei der Chromatographie wichtig. Für die Auftrennung von β -Endorphinimmunreaktivität erwies sich die reverse-phase HPLC im Vergleich mit der Größenausschlußchromatographie als besser geeignet.

Während der Abkalbung war eine deutlich erhöhte Oxytocinfreisetzung festzustellen; die Plasmaoxytocinkonzentration lag allerdings auch in der ersten Stunde post partum noch über den am Tag ante partum sowie ab 12 Stunden post partum gemessenen Werten. Mit einer Probennahme in Abständen von 30 bis 60 Minuten war dagegen keine Veränderung der β -Endorphinkonzentration während des Kalbens feststellbar.

Eine Probennahme über eine Stunde in 5-minütigen Abständen am Tag ante und post partum ließ keine pulsatile Sekretion von β -Endorphin und Oxytocin erkennen. Während der Abkalbung lag jedoch bei beiden Hormonen eine pulsatile Freisetzung vor. Die Freisetzung von β -Endorphin- und Oxytocin erfolgte dabei zeitgleich. Bei Vorliegen einer primären Wehenschwäche war sowohl die β -Endorphin als auch die Oxytocinfreisetzung gering. Sti-

mulii, die sub partu zu einer vermehrten Oxytocinfreisetzung führen, bewirken möglicherweise auch eine erhöhte β -Endorphinsekretion. Ein Antagonismus von Oxytocin und endogenen Opioiden bei der Steuerung der Wehentätigkeit ist denkbar.

6. Summary

G.-U. Graebenteich (1991):

Labour-associated hormones in cattle at parturition - correlation between plasma β -endorphin and oxytocin.

In this study the relationship between oxytocin and the opioid peptide β -endorphin was examined in cattle before, during and after parturition. In 17 animals samples were taken three days and one day before calving, during parturition and 30 minutes, one hour, 12 and 48 hours after parturition. In two cows blood samples were taken in 5-minute intervals during calving and for one hour on the day preceding and the day after parturition.

β -Endorphin and oxytocin were determined by radioimmunoassay (RIA) after extraction from plasma with C-18 cartridges.

Because most antisera raised against β -endorphin show a strong cross-reactivity with β -lipotropin for selected samples a chromatographic separation of these peptides has to be performed before β -endorphin determination by RIA. In this study two size-exclusion chromatography systems and reverse-phase high-pressure liquid chromatography (HPLC) were compared for the characterization of β -endorphin immunoreactivity in bovine plasma.

Sephacryl 100 HR and Superose 12 gel were eluted with 0.08 M NaCl, 0.01 M NaH_2PO_4 containing 0.04 % BSA and 0.04 % Tween 20. In the HPLC system a reverse-phase Nucleosil C-18 column was eluted with 0.1% trifluoroacetic acid and a gradient of 20 to 55% acetonitrile. Fractions were collected and β -endorphin immunoreactivity measured by RIA.

In both gel filtration systems broad overlapping β -endorphin and β -lipotropin peaks occurred. Only reverse-phase HPLC gave a clear separation of β -endorphin and β -lipotropin. Losses due to chromatography were 70 to 80% for both size exclusion media whereas the reverse-phase C-18 column caused losses of only 30 % or less. Because β -endorphin concentrations in plasma are in the picogram range minimal chromatography losses are essential. For the separation of β -endorphin immunoreactive peptides reverse-phase HPLC proved to be a better and more reliable method than the two size-exclusion chromatography systems.

As expected, plasma oxytocin levels were increased during parturition and in the first hour after calving when compared with the days ante and post partum ($p < 0.05$). In contrast, β -endorphin concentrations did not increase significantly throughout calving. Frequent sampling in 5 min. intervals revealed no distinct pulses of either β -endorphin or oxytocin on the days preceding and following parturition. However, during and immediately after calving there was a pulsatile release of both hormones. Moreover, most β -endorphin peaks coincided with oxytocin pulses. In a case with insufficient uterine contractions plasma concentrations of both hormones remained low. It can be concluded that β -endorphin, like oxytocin can be released in a pulsatile manner during calving in cattle and that stimuli causing oxytocin secretion may also trigger the release of β -endorphin. This supports a postulated opioid - oxytocin antagonism during parturition.