

5 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Bedeutung von Dopamin und endogenen opioiden Peptiden für die Freisetzung von Luteinisierendem Hormon (LH) und Prolaktin bei der Stute zu untersuchen. Insbesondere sollte ein möglicher Einfluß von Jahreszeit und Reproduktionsstadium auf diese Regulationsmechanismen bestimmt werden.

In einem Vorversuch wurde die Verträglichkeit des Dopaminantagonisten Sulpirid überprüft und die in den Hauptversuchen zu verwendende Dosierung ermittelt. Die Hauptversuche wurden an 8 ovarintakten und 8 ovariectomierten Ponystuten zu verschiedenen Jahreszeiten durchgeführt. Alle untersuchten Tiere erhielten in zufälliger Reihenfolge und im Abstand von mindestens zwei Tagen Sulpirid (0,5 mg/kg), den Opiatantagonisten Naloxon (0,5 mg/kg), Sulpirid plus Naloxon (je 0,5 mg/kg) und 0,9 % NaCl-Lösung intravenös injiziert. Zur Überprüfung der hypophysären Ansprechbarkeit auf GnRH-Stimulation erhielten alle Tiere 120 Minuten nach der jeweiligen Behandlung 5 µg des GnRH-Agonisten Buserelin intravenös appliziert. Blutproben wurden in viertelstündlichen Abständen von 60 Minuten vor bis 180 Minuten nach der Behandlung entnommen. Die Plasmakonzentrationen von LH und Prolaktin wurden mittels homologer Radioimmunoassays bestimmt.

Hinsichtlich der basalen LH-Freisetzung lagen sowohl bei den ovarintakten als auch bei den ovariectomierten Stuten signifikante saisonale Schwankungen vor ($p < 0,05$). Bei den intakten Stuten waren die Plasmakonzentrationen von LH niedrig in der anovulatorischen Phase ($5,7 \pm 0,7$ ng/ml), mittel in der Lutealphase ($10,2 \pm 0,7$ ng/ml) und hoch in der Rosse ($13,9 \pm 1,8$ ng/ml) des Sexualzyklus. Bei den ovariectomierten Tieren waren die LH-Konzentrationen im März deutlich niedriger als im November und Mai ($p < 0,05$). Die Applikation des Dopaminantagonisten Sulpirid führte bei den ovarintakten und bei den ovariectomierten Tieren in keiner Versuchsphase zu Änderungen der LH-Sekretion. Dagegen bewirkte Naloxon allein oder in Kombination mit Sulpirid bei den ovarintakten Stuten während der anovulatorischen Phase und der Gelbkörperphase eine signifikante Zunahme der LH-Sekretion ($p < 0,05$). Auch bei

den ovariectomierten Stuten bewirkte nur Naloxon allein und kombiniert mit Sulpirid zu allen Jahreszeiten, besonders aber im März eine signifikante Zunahme der LH-Freisetzung ($p < 0,05$). Endogene Opiode sind bei der Stute also als inhibierende Neuromodulatoren an der Regulation der LH-Freisetzung beteiligt und tragen dadurch zur verminderten Freisetzung von LH außerhalb der Zuchtseason sowie in der Lutealphase des Sexualzyklus bei. Die opioiderge Hemmung der LH-Sekretion bei der Stute wird zumindest teilweise unabhängig vom Einfluß der Gonaden aktiviert. Nach Langzeitbehandlung der ovariectomierten Stuten mit Östradiol war die naloxonbedingte LH-Freisetzung im Dezember noch deutlicher ausgeprägt als in allen anderen Experimenten. Möglicherweise werden die opioidergen Mechanismen demnach auch durch einen Langzeiteinfluß von Östrogenen aktiviert.

Die Applikation von Buserelin führte sowohl bei den ovarintakten als auch bei den ovariectomierten Stuten unabhängig von Reproduktionsstadium und Jahreszeit zu einer Zunahme der LH-Sekretion. Eine fehlende Ansprechbarkeit der Hypophyse auf GnRH-Stimulation oder eine ungenügende LH-Synthese kommen demnach als Ursache für eine ausbleibende LH-Reaktion auf Sulpirid oder Naloxon nicht in Frage.

Die basale Prolaktinfreisetzung zeigte sowohl bei den ovarintakten als auch bei den ovariectomierten Stuten signifikante jahreszeitliche Schwankungen ($p < 0,05$). Die Plasmakonzentrationen von Prolaktin waren bei den ovarintakten Tieren niedrig in der anovulatorischen Phase ($0,7 \pm 0,1$ ng/ml) und zyklusunabhängig hoch während der Zuchtseason (Rosse: $3,2 \pm 1,4$ ng/ml; Lutealphase: $2,6 \pm 0,4$ ng/ml). Entsprechend stiegen die Prolaktinkonzentrationen bei den ovariectomierten Stuten von November über März zum Mai an ($p < 0,05$). Demnach erfolgt die Regulation der Prolaktinfreisetzung bei der Stute zumindest teilweise unabhängig von ovariellen Einflüssen. Die Injektion des Dopaminantagonisten Sulpirid allein oder kombiniert mit Naloxon führte sowohl bei den ovarintakten als auch bei den ovariectomierten Stuten unabhängig vom Reproduktionsstadium und der Jahreszeit zu einer signifikanten Zunahme der Prolaktinfreisetzung ($p < 0,05$). Dopamin ist also bei der Stute während des gesamten Jahres als inhibitorischer Neuromodulator an der Regulation der Prolaktinsekretion beteiligt. Die alleinige Verabreichung des Opiat-antagonisten Naloxon bewirkte bei

den ovarie-dominierten Stuten zu allen Jahreszeiten sowie bei einigen ovarintakten Stuten in der Rösse und in der Lutealphase (jeweils 3 von 8 Tieren) eine Zunahme der Prolaktin-freisetzung. Demnach wird die Prolaktin-freisetzung beim Pferd außer durch dopaminerge Mechanismen auch durch opioiderge Systeme gehemmt. Wechselwirkungen zwischen dopaminergen und opioidergen Regelmechanismen konnten nicht nachgewiesen werden.

Zusammengefaßt ist Dopamin bei der Stute nicht an der Regulation der LH-Freisetzung beteiligt. Dies steht im Gegensatz zu Ergebnissen beim Schaf, bei dem die LH-Sekretion während des saisonalen Anöstrus durch dopaminerge Mechanismen gehemmt wird. Die bei der Stute nachgewiesenen hemmenden opioidergen Systeme unterliegen jahreszeitlichen Veränderungen. Sie sind außerhalb der Zuchtsaison sowie in der Lutealphase des Sexualzyklus verstärkt aktiviert. Über diese Mechanismen sind endogene Opiode vermutlich bei der Stute an der saisonalen Steuerung der Fortpflanzungsaktivität beteiligt. Dopaminerge Mechanismen hemmen die Prolaktin-freisetzung bei der Stute unabhängig von der Jahreszeit und dem Zyklusstand. Unter bestimmten Bedingungen werden diese dopaminergen Systeme durch opioiderge Mechanismen ergänzt.

6 SUMMARY

Dieter Brunklaus (1998):

Dopaminergic regulation of seasonal LH and prolactin secretion in the mare and interactions with opioidergic systems

The purpose of this thesis was to investigate the role of dopamine and endogenous opioidergic peptides for LH and prolactin release in the mare. Especially, influences of season and the reproductive state should be determined.

In a preliminary study, no major side effects of the dopamine antagonist sulpiride could be detected. The main experiments were performed in 8 ovary-intact and 8 ovariectomized pony mares at different times of the year. In a randomized order and at intervals of at least two days, all mares were treated intravenously with sulpiride (0.05 mg/kg), the opiate antagonist naloxone (0.05 mg/kg), sulpiride plus naloxone (each 0.05 mg/kg) and with saline as a control. To determine pituitary responsiveness to GnRH stimulation, all animals were injected with the GnRH agonist buserelin (5 µg i.v.) 120 minutes after treatment. Blood samples were taken at 15 minute intervals from 60 minutes before until 180 minutes after treatment. Concentrations of LH and prolactin were measured by homologous radioimmunoassays.

Basal LH secretion showed significant seasonal changes in both ovary-intact and ovariectomized mares ($p < 0.05$). In the intact mares, plasma LH concentrations were low during seasonal anoestrus (5.7 ± 0.7 ng/ml), intermediate in the luteal phase (10.2 ± 0.7 ng/ml) and high during oestrus (13.9 ± 1.8 ng/ml). In the ovariectomized mares, LH concentrations were lower in March than in November and May ($p < 0.05$). The dopamine antagonist sulpiride did not affect LH release in the mares at any time of the year. In contrast, naloxone alone and in combination with sulpiride induced a significant LH release in ovary-intact mares during the anovulatory season and the luteal phase ($p < 0.05$). In ovariectomized mares naloxone alone and in combination also caused a significant LH release at all times of the year, particularly in March

($p < 0.05$). Endogenous opioids, therefore, participate in the regulation of LH secretion in the mare as inhibitory neuromodulators and thus contribute to the reduced release of LH during seasonal anoestrus and the luteal phase of the breeding season. According to these results, opioidergic inhibition of LH release in the mare is activated, at least in part, irrespective of ovarian influences. After long-term pretreatment of the ovariectomized mares with oestradiol, the naloxone-induced LH release in December was even more pronounced. Thus, opioidergic mechanisms of LH regulation also seem to be activated by long-term influences of oestradiol. Injection of buserelin induced LH release in both ovary-intact and ovariectomized mares irrespective of the season and the animal's reproductive state. Thus, a lack of LH secretion after naloxone or sulpiride application cannot be caused by a reduced pituitary responsiveness to GnRH stimulation or an insufficient LH production.

Basal prolactin secretion also showed significant seasonal changes in the ovary-intact as well as in the ovariectomized mares ($p < 0.05$). Plasma prolactin concentrations in the intact mares were low during seasonal anoestrus (0.7 ± 0.1 ng/ml) and high in the breeding season, irrespective of the animal's reproductive state (oestrus: 3.2 ± 1.4 ng/ml; luteal phase: 2.6 ± 0.4 ng/ml). Accordingly, in the ovariectomized mares prolactin concentrations were low in November, intermediate in March and high in May ($p < 0.05$). Therefore, regulation of prolactin release in the mare is not only related to ovarian influences. Injection of the dopamine antagonist sulpiride alone or combined with naloxone induced a significant ($p < 0.05$) prolactin release in all mares at all times of the year. Thus, dopamine is involved in the regulation of prolactin secretion in the mare irrespective of season. Naloxone induced prolactin release in the ovariectomized animals at all times of the year and in some of the ovary-intact mares during oestrus and the luteal phase (3 of 8 mares). Thus, apart from dopaminergic systems, under certain conditions prolactin release in the horse seems to be suppressed by opioidergic mechanisms.

According to this study, dopamine does not participate in the regulation of LH release in the mare. This is in contrast to the results obtained in sheep, where LH secretion is inhibited by dopaminergic systems during seasonal anoestrus. In the horse seasonal

LH release is regulated, at least in part, by endogenous opioids. Activity of opioidergic systems undergoes seasonal changes. They are activated during seasonal anoestrus and the luteal phase of the breeding season. Dopamin suppresses prolactin secretion in the mare regardless of the the time of the year and the animal's reproductive state. Under certain conditions, opioidergic mechanisms are also involved in the regulation of prolactin secretion.