

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Beteiligung dopaminerger und opioiderger Systeme an der Regulation der LH- und Prolaktinfreisetzung beim männlichen Pferd untersucht und hinsichtlich der LH-Sekretion mit Ergebnissen von männlichen Schafen verglichen

Die Untersuchungen erfolgten an insgesamt 8 nicht zuchtaktiven 3- bis 5-jährigen Shetlandponyhengsten und an 5 Schafböcken der Merinolandrasse im Alter von 5 bis 10 Jahren. In die Vorversuche im Oktober 1996 wurden 7 Shetlandponyhengste einbezogen. Den Hengsten wurde an 3 verschiedenen Tagen über jeweils 210 Minuten in 15minütigen Intervallen Blut entnommen. Nach 60 Minuten erhielten die Tiere entweder 0,2 oder 0,6 mg/kg des Dopamin-D₂-Antagonisten Sulpirid oder 0,9% NaCl-Lösung intravenös verabreicht. In unterschiedlicher Reihenfolge erhielt jedes Pferd alle drei Behandlungen.

Die Hauptversuche fanden im Dezember 1996 sowie im März und Juni 1997 statt. Die Blutentnahmen erfolgten wie für die Vorversuche beschrieben, wurden jedoch über 240 Minuten fortgesetzt. Sechzig Minuten nach der ersten Blutentnahme wurde den Hengsten an 4 verschiedenen Tagen in randomisierter Reihenfolge 0,6 mg/kg Sulpirid, 0,5 mg/kg des Opioidantagonisten Naloxon, 0,5mg/kg Naloxon plus 0,6 mg/kg Sulpirid oder 0,9%ige NaCl-Lösung intravenös injiziert. Jeweils 180 Minuten nach Versuchsbeginn bekamen die Hengste 5µg des GnRH-Antagonisten Buserelin intravenös verabreicht, um die Ansprechbarkeit der Hypophyse für GnRH zu überprüfen. Im Juni 1997 wurden zusätzlich nach dem gleichen Versuchs- und Behandlungsschema (Injektion von 0,6 mg/kg Sulpirid, 0,5 mg/kg Naloxon, 0,5 mg/kg Naloxon plus 0,6mg/kg Sulpirid, 0,9%ige NaCl-Lösung i.v.) aber ohne Injektion von Buserelin 180 Minuten nach Versuchsbeginn, Blutproben von Schafböcken genommen. Bei allen Tieren wurde in der ersten Blutprobe jedes Versuchs die Testosteronkonzentration

bestimmt, bei den Hengsten erfolgte in allen Blutproben die Bestimmung der LH- und Prolaktinkonzentrationen und bei den Schafen in allen Blutproben die Bestimmung der LH-Konzentration. Die Hormonanalysen wurden mit homologen Radioimmunoassays durchgeführt.

Hinsichtlich der basalen Konzentrationen von LH, Prolaktin und Testosteron lagen bei den Ponyhengsten deutliche saisonale Unterschiede vor. Die basalen Konzentrationen dieser Hormone waren gegen Mitte der Zuchtseason im Juni signifikant höher als zu Beginn oder außerhalb der Zuchtseason im März und Dezember (Juni: LH $6,8 \pm 0,9$, Prolaktin $3,2 \pm 0,5$, Testosteron $0,7 \pm 0,1$ ng/ml, März: LH $4,9 \pm 0,5$, Prolaktin $0,8 \pm 0,2$, Testosteron $0,3 \pm 0,1$ ng/ml, Dezember: LH $3,4 \pm 0,4$, Prolaktin $0,7 \pm 0,1$, Testosteron $0,2 \pm 0,1$ ng/ml).

Die Applikation des Dopamin-D₂-Antagonisten Sulpirid allein oder in Kombination mit dem Opioidantagonisten Naloxon führte bei den Hengsten zu allen Jahreszeiten zu einem signifikanten Anstieg der Prolaktinsekretion. Bei den außerhalb der Zuchtseason durchgeführten Untersuchungen nahm die mittlere Prolaktinkonzentration von $0,7 \pm 0,2$ bzw. $1,2 \pm 0,3$ ng/ml 15 Minuten vor Injektion von Sulpirid bzw. Sulpirid plus Naloxon auf ein Maximum von $35,3 \pm 4,2$ bzw. $32,9 \pm 6,2$ ng/ml nach den jeweiligen Behandlungen zu. Im Juni stieg die mittlere Prolaktinkonzentration von $2,7 \pm 0,6$ bzw. $3,4 \pm 0,9$ ng/ml 15 Minuten vor auf $27,1 \pm 8,2$ bzw. $28,6 \pm 7,8$ ng/ml 15 Minuten nach Applikation von Sulpirid bzw. Sulpirid plus Naloxon an. Im März erfolgte eine vergleichbar deutliche Reaktion.

Nach Injektion von Naloxon oder 0,9%iger NaCl-Lösung konnte dagegen weder im März noch im Dezember eine Veränderung der Prolaktinkonzentration im Plasma beobachtet werden. Im Juni kam es nach Naloxoninjektion zu einem geringen Anstieg der Plasmaprolaktinkonzentration von $3,0 \pm 0,7$ auf $4,5 \pm 1,0$ ng/ml innerhalb von 30 Minuten ($p < 0,5$). Busirelin verursachte zu keiner Jahreszeit eine Veränderung der Pro-

laktinfreisetzung. So lagen die basalen, vor Applikation von Buserelin gemessenen Prolaktinkonzentrationen bei $1,5 \pm 0,3$, $0,8 \pm 0,2$, $8,2 \pm 1,3$ und $10,2 \pm 2,0$ ng/ml nach Vorbehandlung mit 0,9%iger NaCl-Lösung, Naloxon, Naloxon plus Sulpirid bzw Sulpirid und 30 Minuten nach Buserelininjektion bei $1,7 \pm 0,3$, $0,8 \pm 0,2$; $6,7 \pm 1,2$ bzw $8,0 \pm 1,3$ ng/ml

Applikation von Sulpirid bewirkte in keinem der Behandlungsmonate eine Änderung der LH-Sekretion. Dagegen erfolgte im Dezember nach Naloxoninjektion (Naloxon bzw Naloxon plus Sulpirid) eine vermehrte LH-Freisetzung. Die LH-Konzentrationen stiegen von $3,6 \pm 0,3$ bzw $4,1 \pm 0,5$ ng/ml innerhalb von 30 Minuten auf $5,1 \pm 0,4$ und $5,0 \pm 0,4$ ng/ml an. Im März und Juni waren diese Reaktionen geringer ausgeprägt.

Die Injektion von Buserelin stimulierte unabhängig von der Vorbehandlung und Jahreszeit eine signifikante Zunahme der LH-Sekretion. Dabei reagierten die Hengste im Dezember unabhängig von der Vorbehandlung stärker als im Juni und März. In diesen beiden Monaten führte die Buserelinapplikation nach Vorbehandlung mit 0,9%iger NaCl-Lösung oder Sulpirid zu einer deutlicheren Zunahme der LH-Freisetzung als nach der Behandlung mit Naloxon bzw Naloxon plus Sulpirid.

Bei den Schafböcken führte die Verabreichung von Naloxon, Sulpirid und Naloxon plus Sulpirid außerhalb der Zuchtseason zu einem deutlichen Anstieg der LH-Ausschüttung, wobei die Reaktion auf Naloxon plus Sulpirid am stärksten ausgeprägt war. Während nach Naloxon und Naloxon plus Sulpirid eine maximale LH-Sekretion nach 30 Minuten beobachtet werden konnte, setzte die Reaktion auf Sulpirid erst nach 105 Minuten ein und war 120 Minuten nach der Behandlung am deutlichsten.

Die eigenen Untersuchungen zeigen, daß dopaminerge neuronale Systeme an der Regulation der LH-Sekretion beim Pferd - anders als beim Schaf - nicht beteiligt sind. Die Bedeutung opioidergischer Regelsysteme für jahreszeitabhängige Veränderungen der

LH- und Prolaktinsekretion beim Pferd und der Einfluß dopaminerger und opioidergener Funktionen auf die LH-Freisetzung beim männlichen Schaf wurden bestätigt

6. Summary

Tanja Gerlach (1998): Dopaminergic and opioidergic regulation of LH and prolactin release in the male horse and sheep

In this study, the role of dopaminergic and opioidergic neuronal systems for the regulation of LH and prolactin release was investigated in stallions and, for LH release, was compared with results obtained in rams outside the breeding season

A total of eight 3 to 5-year-old Shetland pony stallions and 5 Merino Landrace rams, aged 5 to 10 years, were included into the experiments. The animals were not used for breeding during the experimental period. Seven pony stallions were available for a preliminary experiment in October 1996 and blood samples were withdrawn on three days for 210 minutes at 15 minute intervals. Sixty minutes after the start of experiments, the animals were injected with 0.2 or 0.6 mg/kg of the dopamine D₂ antagonist sulpiride intravenously. In randomised order each stallion received each of the treatments and thus served as its own control.

The main experiments were performed in December 1996 and in March and June 1997. Blood samples were withdrawn for 240 minutes. Sixty minutes after the first sample was taken, the animals were treated on 4 days and at least 2 days apart with sulpiride (0.6 mg/kg), the opioid antagonist naloxone (0.5 mg/kg), naloxone (0.5 mg/kg) and sulpiride (0.6 mg/kg) combined or saline i.v. The order of treatments was randomized in a latin square design. At 180 minutes after the start of the experiment, the stallions were injected with the GnRH agonist buserelin (5 µg i.v.) in order to assess pituitary responsiveness to GnRH. In June 1997, the same experiment (treatment with 0.6 mg/kg sulpiride, 0.5 mg/kg naloxone, 0.5 mg/kg naloxone plus 0.6 mg/kg sulpiride or saline) but without injection of buserelin was performed in rams. In all animals, testosterone was determined in the first sample of each experiment. In stal-

lions, plasma LH and prolactin concentrations and in rams, plasma LH concentration were determined in all blood samples. Hormone analysis was performed with homologous radioimmunoassays.

In the pony stallions, basal LH, prolactin and testosterone concentrations differed significantly between times of the year. Basal concentrations of these hormones were significantly higher during the height of the breeding season in June (LH 6.8 ± 0.9 , prolactin 3.2 ± 0.5 , testosterone 0.7 ± 0.1 ng/ml) than early during the breeding season in March (LH 4.9 ± 0.5 , prolactin 0.8 ± 0.2 , testosterone 0.3 ± 0.1 ng/ml) or outside the breeding season in December (LH 3.4 ± 0.4 , prolactin 0.7 ± 0.1 , testosterone 0.2 ± 0.1 ng/ml).

Treatment with the dopamine D_2 antagonist sulpiride alone or combined with the opioid antagonist naloxone was followed by a significant increase in plasma prolactin concentrations at all times of the year. Outside the breeding season, mean plasma prolactin concentrations increased from 0.7 ± 0.2 , and 1.2 ± 0.3 ng/ml, respectively, 15 minutes before treatment with sulpiride and sulpiride plus naloxone to a maximum of 35.3 ± 4.2 and 32.9 ± 6.2 ng/ml after the respective treatments. In June, mean prolactin concentrations increased from 2.7 ± 0.6 and 3.4 ± 0.9 ng/ml 15 minutes before to 27.1 ± 8.2 and 28.6 ± 7.8 ng/ml 15 minutes after injections of sulpiride and sulpiride plus naloxone, respectively. A comparable response was found in March.

After injection of naloxone or saline a change in plasma prolactin concentrations was found neither in March nor in December. In June naloxone caused a small but significant increase in prolactin concentrations from 3.0 ± 0.7 to 4.5 ± 1.0 ng/ml within 30 minutes. At no time of the year did busserelin cause any changes in prolactin release. Plasma prolactin concentrations were 1.5 ± 0.3 , 0.8 ± 0.2 , 8.2 ± 1.3 and 10.2 ± 2.0 ng/ml, respectively, before busserelin injection in animals pretreated with saline, naloxone,

naloxone plus sulpiride and sulpiride Thirty minutes after busserelin injections values were 1.7 ± 0.3 , 0.8 ± 0.2 , 6.7 ± 1.2 and 8.0 ± 1.3 ng/ml

At no time of the year did sulpiride induce any changes in LH release. In contrast, naloxone, either given alone or in combination with sulpiride, caused an increased LH secretion in December. Plasma LH concentrations rose from 3.6 ± 0.3 and 4.1 ± 0.5 ng/ml within 30 minutes to 5.1 ± 0.4 and 5.0 ± 0.4 ng/ml. The same response occurred in March and June but was less pronounced than in December.

Irrespective of the pretreatment, busserelin led to a significant LH release at all times of the year. This response was most pronounced in December and in this month did not differ between pretreatments. In contrast, in March and June, busserelin given after pretreatment with saline or sulpiride was followed by a significantly higher LH secretion than after pretreatment with naloxone or naloxone plus sulpiride.

In the non-breeding season rams, treatment with naloxone, sulpiride and naloxone plus sulpiride was followed by a marked release of LH. The response to naloxone plus sulpiride tended to be the most pronounced. Whereas maximal LH concentrations were observed within 30 minutes after injections of naloxone or naloxone plus sulpiride, it occurred at 120 minutes when animals were given sulpiride.

It can be concluded that dopaminergic neuronal systems - in contrast to the sheep - do not participate in the regulation of LH secretion in the horse. A role of opioidergic regulatory pathways in the seasonal changes of LH and prolactin release in the horse and an inhibitory influence of dopaminergic and opioidergic pathways on LH release in rams can be confirmed.