

## 6 Zusammenfassung

Als Beitrag zur Klärung immunendokriner Interaktionen bei landwirtschaftlichen Nutztieren wurden *in vitro* Untersuchungen zur lymphozytären ACTH-Sekretion bei Schwein und Rind sowie zur GH-Sekretion boviner Lymphozyten vorgenommen. Nach Etablierung eines Verfahrens zur Isolierung und Kultivierung boviner Lymphozyten sollte geklärt werden, ob die immunozytäre Hormonsekretion vergleichbar der Hypophyse durch klassische hypothalamo-hypophysäre Hormone beeinflusst wird.

Kühen (DSB/HF) in Stallhaltung wurde Jugularvenenblut entzogen, das Blut von Mastschweinen (DL, weibliche unkastrierte Tiere und männliche Kastraten) wurde während der Schlachtung aufgefangen. Nach Lymphozytenisolierung, -kultivierung und dreitägiger Inkubation wurden Kulturüberstände auf ihren GH- (Rind) bzw. ACTH-Gehalt (Rind und Schwein) sowie Zellsate auf den ACTH-Gehalt (Rind und Schwein) analysiert.

Für die Untersuchungen zur ACTH-Sekretion wurden Kulturen mit je  $2 \times 10^6$  Zellen vor der Inkubation allein oder in verschiedenen Kombinationen mit  $10 \mu\text{g}$  des Leukozytenmitogens PHA-M, mit 100 ng CRF, je 100 ng zweier verschiedener Vasopressinformen (Arginin-Vasopressin (AVP) und Lysin-Vasopressin (LVP)) oder mit 500 ng Dexamethason behandelt.

Hieraus ergaben sich folgende Ergebnisse:

1. Durch PHA-M konnte die ACTH-Sekretion sowohl boviner als auch porciner Lymphozyten signifikant gesteigert werden.
2. Weder CRF noch Vasopressin konnten in alleiniger Gabe einen signifikanten Effekt auf die lymphozytäre ACTH-Sekretion ausüben. Die kombinierte Gabe beider Hormone führte sowohl beim Rind als auch beim Schwein zu einem signifikanten Anstieg der ACTH-Sekretionsrate. Hier zeigten sich jedoch Speziesunterschiede zwischen Rind und Schwein sowie Geschlechtsunterschiede beim Schwein.

- a. Beim Rind wurde die lymphozytäre ACTH-Sekretion durch die gemeinsame Gabe von CRF und Vasopressin signifikant gesteigert. Dabei konnte zwischen den Kombinationen CRF-AVP oder CRF-LVP kein Unterschied in der Wirkung festgestellt werden.
  - b. Die Kombinationsbehandlung aus CRF und AVP bewirkte bei beiden Geschlechtern des Schweines einen einheitlich signifikanten Anstieg der lymphozytären ACTH-Sekretion.
  - c. Bei weiblichen Schweinen führte die gemeinsame Gabe von CRF und LVP zu signifikant höheren ACTH-Werten in den Überständen als nach der Kombination von CRF und AVP. Lymphozyten männlicher Schweine reagierten deutlich geringer auf die kombinierte Behandlung mit CRF und LVP. Die mittlere ACTH-Konzentration der Kulturen männlicher Tiere war nicht signifikant von der nach CRF-AVP-Kombination verschieden.
3. Dexamethason hatte zwar in alleiniger Gabe keinen signifikanten Effekt auf die lymphozytäre ACTH-Basissekretion. In Kombination mit PHA-M führte es bei Schwein und Rind aber zu signifikant höheren ACTH-Werten im Vergleich zu den Kontrollkulturen. Beim Rind war die lymphozytäre ACTH-Sekretion nach der kombinierten Behandlung signifikant höher als nach alleiniger PHA-M-Behandlung.

Die Kombination von Dexamethason mit CRF führte zu bis zu vierfach höheren ACTH-Werten in den Überständen im Vergleich zu den Kontrollkulturen. Hier trat ein Geschlechtsunterschied auf. Während die lymphozytäre ACTH-Sekretion bei Rindern und weiblichen Schweinen durch permissive Wirkung der Hormone signifikant gesteigert wurde, war die Stimulation im Vergleich zur CRF-Einzelbehandlung bei den männlichen Schweinen nicht signifikant.

4. Die an den Kulturen durchgeführten Behandlungen verursachten weder beim Rind noch beim Schwein eine signifikante Änderung der intrazellulären ACTH-Konzentration.

Für die Untersuchungen zur lymphozytären GH-Sekretion des Rindes wurde Kulturen mit je  $1,2 \times 10^7$  Zellen vor der Inkubation folgende Substanzen ebenfalls allein oder in verschiedenen Kombinationen zugegeben: je 100 µg PHA-P oder PHA-M bzw. je 100 ng GRF, SRIF oder Naloxon. Die Untersuchungen erbrachten folgende Resultate.

1. Sowohl durch PHA-P als auch durch PHA-M wurde die GH-Sekretion signifikant gesteigert.
2. GRF steigerte signifikant die GH-Sekretion unstimulierter, nicht jedoch mitogenstimulierter Rinderlymphozyten
3. Durch den Opistantagonisten Naloxon wurden die GH-sekretionsstimulierenden Wirkungen von PHA und GRF partiell inhibiert.
4. Somatostatin hatte weder auf die GH-Basissekretion noch auf die GH-Freisetzung GRF- oder PHA-M stimulierter Kulturen einen Effekt.

Barbara Glatz-Vinke

Hormone secretion in lymphocytes: studies on secretion and regulation of ACTH in pigs as well as GH and ACTH in cattle.

---

## 7 Summary

The present study was performed to investigate the adrenocorticotrophic hormone (ACTH) secretion by bovine and porcine lymphocytes and growth hormone (GH) secretion by bovine lymphocytes. After establishing a system for isolation and cultivation of bovine lymphocytes it was of special interest whether hypothalamic factors, which regulate pituitary ACTH and GH secretion exert the same effects on lymphocytic hormone secretion in the cow and the pig.

ACTH secretion: Lymphocytes ( $2 \times 10^6$  / ml) were cultured over a period of three days in the presence or absence of 10  $\mu$ g PHA-M (a leukocytemitogen), 100 ng CRF, 100 ng arginin-vasopressin (AVP), 100 ng lysin-vasopressin (LVP), or 500 ng dexamethason (a synthetic glucocorticoid). The results can be summarized as follows:

1. ACTH secretion of mitogenstimulated cells from pigs and cattle was significantly enhanced compared to basic secretion.
2. Given alone neither CRF nor Vasopressin had significant effects on lymphocytic ACTH release. But in combination they were able to significantly stimulate ACTH secretion in cattle and pigs. There were differences between species and gender: a.) Combination of CRF and Vasopressin stimulated ACTH secretion of bovine lymphocytes in a significant manner with no difference between the combinations of CRF and AVP or CRF and LVP. b.) In pigs the combined treatment with CRF and AVP significantly enhanced ACTH secretion. There were no differences in reaction between male and female lymphocytes. And c.) Supernatants obtained from female pig cultures had significantly higher ACTH levels after CRF-LVP-combined treatment than after CRF-AVP-treatment, whereas the effects in males were not significant.

3. Although dexamethason given alone had no effects, it surprisingly showed an additive effect with PHA-M to stimulate ACTH release with significant higher ACTH levels compared to controls. In bovine cultures ACTH secretion after combined treatment was also significant higher than after PHA-treatment alone. In combination with CRF the ACTH concentration was enhanced to fourfold higher levels. Again there was a gender difference. The effect was seen in cows and sows but not in male pigs.
4. None of the treatments were able to alter intracellular ACTH content of bovine and porcine lymphocytes.

GH secretion: Bovine lymphocytes ( $1,2 \times 10^7$ ) were cultured over a period of three days with or without one of the following substances or a combination of two of them: 100  $\mu$ g PHA-P, 100  $\mu$ g PHA-M, 100 ng GRF, 100 ng SRIF, and 100 ng Naloxon. The results indicate that

1. PHA-treatment resulted in a significant increase of basal GH secretion.
2. GRF significantly enhanced lymphocytic GH release from unstimulated but not from mitogenstimulated cultures.
3. The opioid-antagonist naloxone was able to attenuate PHA-M and GRF-action.
4. Somatostatin influenced neither basal GH secretion, nor PHA-M-, nor GRF-stimulated GH secretion of bovine lymphocytes.