

Aus der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der
Veterinärmedizinischen Universität Wien und dem Institut für Tierzucht und
Tierverhalten (Mariensee) der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL)
Braunschweig

Untersuchungen zur Bedeutung von Wachstumshormon
für die Regulation der Hodenfunktion beim Ponyhengst

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades einer
Doktorin der Veterinärmedizin
(Dr. med. vet.)
durch die Tierärztliche Hochschule Hannover

Vorgelegt von

Stefanie Kranski

aus Siegburg

Hannover 2002

Wissenschaftliche Betreuung: Univ.-Prof. Dr. Christine Aurich
Univ.-Prof. Dr. Nahid Parvizi

1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Christine Aurich

2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. E. Klug

Tag der mündlichen Prüfung: 03.06.2002

Die Untersuchungen wurden aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft
(DFG) gefördert.

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
2	LITERATUR	2
2.1	Hormonelle Regulation der Fortpflanzung beim Hengst	2
2.2.	Wachstumshormon	3
2.2.1	Biochemie des Wachstumshormons	3
2.2.2	Regulation der Synthese und Sekretion von Wachstumshormon	4
2.2.3	Somatostatin	6
2.2.4	Physiologische Wirkung von Wachstumshormon	7
2.2.5	Wirkung von Wachstumshormon auf Fortpflanzungsfunktionen bei männlichen Tieren	8
2.2.6	Somatostatin Analogon Octreotid	9
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	11
3.1	Material und Methoden	11
3.1.1	Tiere	11
3.1.2	Versuchsaufbau	11
3.1.2.1	Hauptversuch 1	11
3.1.2.2	Hauptversuch 2	12
3.1.2.3	Hauptversuch 3	13
3.1.3	Samenentnahme und Samenuntersuchung	13
3.1.4	Hormonanalysen	14
3.1.4.1	Blutprobenaufbereitung	14
3.1.4.2	Wachstumshormon	14
3.1.4.3	Testosteron	14
3.1.5	Statistische Auswertung	15
3.2	ERGEBNISSE	17
3.2.1	Hauptversuch 1	17
3.2.1.1	GH und Testosteron im Jahresverlauf	17
3.2.1.2	Samenqualität im Jahresverlauf	18
3.2.1.3	Korrelationen zwischen GH -Konzentration und Samenqualität	19
3.2.2	Hauptversuch 2	20
3.2.2.1	Verträglichkeit des Somatostatin -Agonisten Octreotid beim Ponyhengst	20
3.2.2.2	Einfluß einer Behandlung mit dem Somatostatin -Analogon Octreotid auf die GH-Sekretion	20

3.2.2.3	Einfluß einer Behandlung mit dem Somatostatin -Analogon Octreotid auf die Samenqualität	21
3.2.2.3.1	Spermiengesamtzahl	21
3.2.2.3.2	Ejakulatvolumen	22
3.2.2.3.3	Ejakulatdichte	23
3.2.2.3.4	Spermienmotilität	24
3.2.2.3.5	pH-Wert	25
3.2.2.3.6	Anteil morphologisch abweichender Samenzellen	26
3.2.2.3.7	Einfluß der Octreotid -Behandlung auf die hCG -induzierte Testeron - Sekretion	27
3.2.3	Hauptversuch 3	29
3.2.3.1	Opioiderge Regulation der GH -Sekretion beim Ponyhengst	29
4	DISKUSSION	31
4.1	Basale Hormonkonzentrationen	31
4.2.	Einfluß des Somatostatin-Analogon Octreotid auf die GH -Sekretion und Hodenfunktion	32
4.3	Opioiderge Regulation der GH -Sekretion beim Ponyhengst	35
4.4	Schlussfolgerungen	36
5	ZUSAMMENFASSUNG	37
6	SUMMARY	40
7	LITERATURVERZEICHNIS	43

1 Einleitung

Die meisten Fortpflanzungsstörungen des Hengstes sind entweder auf Infektionen zurückzuführen oder durch spontane oder induzierte Abweichungen der hormonellen Regulation der Fortpflanzung bedingt. Die endokrine und neurokrine Regulation der Hodenfunktion sowie parakrine und autokrine Vorgänge im Hoden selbst sind daher in den letzten Jahren vermehrt in das Interesse der veterinärmedizinischen Andrologie gerückt. Die meisten Untersuchungen beschränken sich auf die Bestimmung reproduktionsrelevanter Hormone von Hypothalamus, Hypophyse und Gonaden und der gegenseitigen Aktivierung und Hemmung der Sekretion dieser Hormone über positive und negative Rückkoppelung. Wechselwirkungen zwischen den klassischen, reproduktionsrelevanten Hormonen und den an der Steuerung von Wachstum und Differenzierung beteiligten Regelsystemen sind beim Pferd bislang nicht systematisch analysiert worden. Untersuchungen an Labortieren, aber auch in der Humanmedizin, deuten jedoch darauf hin, daß die sogenannte somatotrophe Achse erhebliche Auswirkungen auf die Fertilität hat. Wachstumshormon (GH, Somatotrophin) und verschiedene, sowohl endokrin als auch parakrin und autokrin wirkende Somatomedine können die Hodenfunktion daher mit großer Wahrscheinlichkeit auch beim Hengst erheblich beeinflussen. Ziel der eigenen Untersuchungen war es daher, Informationen über den Verlauf der endogenen GH-Sekretion beim Pferd zu bekommen. Darüber hinaus sollte der Einfluß einer experimentellen Absenkung der GH-Sekretion auf die Hodenfunktion untersucht werden.

2 Literatur

2.1 Hormonelle Regulation der Fortpflanzung beim Hengst

Wie bei allen höheren Tieren nimmt auch beim männlichen Pferd das im Hypothalamus gebildete Gonadotrophin Releasing Hormon (GnRH) eine Schlüsselfunktion bei der Steuerung der Fortpflanzung ein. Signale aus der Körperperipherie, wie z.B. eine Zunahme oder Abnahme der Konzentration verschiedener Sexualsteroiden im Blut, aber auch exogene Reize wie Licht, Temperatur, Ernährung, Belastungssituationen, sexuelle Stimulierung sowie weitere Umwelteinflüsse können direkt oder indirekt die Sekretion von GnRH in das hypothalamo-hypophysäre Portalgefäßsystem beeinflussen (CLAY & CLAY, 1991; DeKLOET & VOORHUIS, 1992; AURICH et al., 1998).

Die pulsatile Freisetzung von GnRH bewirkt im Hypophysenvorderlappen eine ebenfalls pulsatile Sekretion der Gonadotrophine LH (Luteinisierendes Hormon) und FSH (Follikelstimulierendes Hormon). LH stimuliert in den Leydigzellen des Hodens die Synthese der Sexualsteroiden, d.h. beim männlichen Tier vor allem verschiedener Androgene aber auch Östrogene (RAESIDE, 1969; EISENHAUER et al., 1994; EISENHAUER & ROSER, 1995). Das wichtigste für die Spermatogenese und die Reifung der Spermien im Nebenhoden unabdingbare Androgen ist das Testosteron (WEINBAUER & NIESCHLAG, 1990). Eine vermehrte Androgensekretion wirkt sich hemmend auf die GnRH-Freisetzung aus und reduziert dadurch die Sekretion von LH und FSH (Übersicht bei AURICH et al., 1998). Die Testosteronsekretion unterliegt beim Pferd - einer saisonal zuchtaktiven Spezies - jahreszeitlichen Schwankungen mit höheren Konzentrationen im Blut während des Frühjahres und Sommers als im Verlauf des Winterhalbjahres (COX & WILLIAMS 1975).

FSH stimuliert beim männlichen Tier die Funktion der Sertolizellen im Hoden und fördert damit die Spermatogenese in den Hodentubuli (NIKLOWITZ et al., 1989; WEINBAUER & NIESCHLAG, 1990). Unter FSH-Einfluss werden von den Sertolizellen Faktoren wie Inhibin, Aktivin und androgenbindendes Protein (ABP) freigesetzt, die zum einen über parakrine Mechanismen die Spermatogenese beeinflussen und sich zum anderen sowohl inhibierend (Inhibin) als auch stimulierend (Aktivin) auf die FSH-Sekretion auswirken, ohne die LH-Sekretion zu beeinflussen. Da die FSH-Sekretion selektiv durch Aktivin, Inhibin aber auch Östrogene reguliert werden kann, ist die Freisetzung von FSH weniger strikt GnRH-abhängig als diejenige von LH (ROSER, 1997). Die LH- und FSH-Sekretion des Hengstes unterliegt saisonalen Schwankungen und ist unter Kurztagerein-

fluss, d.h. im Winterhalbjahr, geringer als im Frühjahr und Sommer unter dem Einfluß einer längeren Tageslichtphase (BERNDTSON et al., 1974; JOHSON & THOMPSON, 1983; CLAY et al., 1991; AURICH et al., 1994).

Im Hoden des Hengstes werden neben Androgenen große Mengen an Östrogenen gebildet. Dabei wird ein Teil der in den Leydigzellen gebildeten Androgene dort zu Östrogenen umgewandelt, möglicherweise werden aber auch in den Sertolizellen und anderen Lokalisationen des Hodens Östrogene gebildet (Übersicht bei AMANN, 1994). Die Bedeutung der Östrogene für die männlichen Geschlechtsfunktionen ist nicht eindeutig geklärt, jedoch führt eine Hemmung der Östrogensynthese zu einer verzögerten Spermienreifung sowie einer Verminderung der Spermienkonzentration im Ejakulat. Auf die FSH-Sekretion wirken Östrogene - wie bei männlichen und weiblichen Individuen anderer Spezies - auch beim Hengst hemmend (THOMPSON et al., 1979).

2.2 Wachstumshormon

2.2.1 Biochemie des Wachstumshormons

Wachstumshormon (GH, Somatotrophin) ist ein Peptidhormon und wird neben LH, FSH, Prolaktin, TSH (Schilddrüsenstimulierendes Hormon) und ACTH (Adrenocorticotrophes Hormon) im Hypophysenvorderlappen gebildet. Das GH des Menschen besitzt ein Molekulargewicht von 21.500 und besteht aus einer Peptidkette von 191 Aminosäuren mit zwei Disulfidbrücken (VOIGT, 1996). Das Molekulargewicht von GH variiert zwischen verschiedenen Spezies, aber auch innerhalb einer Spezies und liegt z.B. beim Rind und Schaf zwischen 21.000 und 56.400. Beim Pferd wurde ein Molekulargewicht zwischen 20.200 und 21.500 nachgewiesen (PALADINI et al., 1973). Die biologische Halbwertszeit von GH beträgt 2 bis 3 Stunden (DART et al., 1998).

Bereits in den 60er Jahren wurde erstmals GH aus equinen Hypophysen isoliert (SAXENA & HENNEMANN, 1965 & 1966; HARTREE et al., 1968). Inzwischen ist auch die Aminosäuresequenz des GH bei den meisten Spezies bekannt (Mensch: LI & DIXON 1971; Schaf: LI et al., 1972; Rind: SANTOME et al. 1971 & 1972; Pferd: ZAKIN & POSKUS, 1976). Die Struktur des Wachstumshormons ist bei verschiedenen Spezies zwar sehr ähnlich, jedoch trotzdem speziesspezifisch. Eine therapeutische Verwendung von heterologem GH ist bei Menschen (PALADINI et al., 1973),

aber auch bei Hunden mit Störungen der endogenen GH-Sekretion (EIGENMANN, 1981) weitgehend erfolglos geblieben.

2.2.2. Regulation der Synthese und Sekretion von Wachstumshormon

Wachstumshormon wird in den somatotrophen Zellen der Adenohypophyse synthetisiert. Die GH-Sekretion erfolgt pulsatil. Die Freisetzung von GH aus dem Hypophysenvorderlappen wird durch die hypothalamischen Neurohormone Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH) und Somatostatin reguliert (PLOTSKY & VALE, 1985). GHRH aktiviert an den somatotrophen Zellen das cAMP-System. Somatostatin wirkt diesem Effekt über inhibitorische G-Proteine entgegen. Exogen kann eine GH-Sekretion auch durch verschiedene, offenbar über einen GHRH- und Somatostatin-unabhängigen Rezeptor wirkende Sekretagoga, stimuliert werden (MOMANY et al., 1981; McKEE et al., 1997). Zu diesen gehören unter anderem verschiedene alpha-2-Adrenergika, wie Clonidin und Xylazin (MOL & RIJNBERK, 1997).

GH kann entweder unmittelbar nach der Synthese freigesetzt oder zunächst innerhalb der somatotrophen Zellen in sekretorischen Granula gespeichert werden. Die GH-Sekretion erfolgt durch Exozytose (FARMER et al., 1989; ZOR, 1983). Die GH-Exozytose ist ein Calcium-abhängiger Prozeß, der GH-Sekretion geht ein Anstieg der zytosolischen Calciumkonzentration voraus (MASON et al., 1993). Calcium-Ionophore, Calciumkanal-Agonisten, Stoffe mit hoher extrazellulärer Calciumkonzentration und weitere Calcium-mobilisierende Stoffe (z.B. cAMP-Analoga, Prostaglandine) stimulieren die GH- Freisetzung (CUTTLER et al., 1992; HOLL et al., 1988; LUSSIER, 1991).

Die Anzahl und Größe der somatotrophen Zellen und damit die GH-Sekretion ist vom Reproduktionsstadium des Tieres bzw. des Individuums abhängig (CONSOLE et al. 1993). Die Anzahl somatotropher Zellen und GH-sekretorischer Granula nimmt während der fetalen Entwicklung und zunächst auch postnatal zu (SUN et al. 1984). Im höheren Alter kommt es dagegen bei Mensch und Ratte zu einer Abnahme der Zahl der somatotrophen Zellen und einer Reduktion von Frequenz und Amplitude der pulsatilen GH-Sekretion (SUN et al. 1984, FINKELSTEIN et al., 1972; CONSOLE et al., 1993). Das gilt auch für das Pferd (THOMAS et al. 1998). Die Zahl der somatotrophen Zellen und die Plasma-GH-Sekretion sind jedoch nicht nur alters-, sondern auch geschlechtsabhängig. So wurden bei adulten Bullen nur 10% der beim weiblichen laktierenden Rind vorkommenden Zellen in der Hypophyse

gefunden (KINEMAN et al. 1992). Im Gegensatz dazu ist bei Hengsten - vor allem im Sommerhalbjahr - die Plasma-GH-Konzentration höher als bei Stuten (THOMPSON et al., 1994). Neben Alter und Geschlecht des Tieres beeinflussen verschiedene Umweltfaktoren, wie Bewegungsaktivität, Belastungssituationen und Fütterung bzw. Energiestoffwechsel, die hypophysäre GH-Sekretion (MOL & RIJNBERK, 1997).

Akut wird die GH-Sekretion durch die Ernährung beeinflusst. Eine Verminderung des Plasmaglukosespiegels bewirkt eine GH-Ausschüttung (VOIGT, 1996). Bei Rindern (HOVE & BLOOM, 1973) und Schafen (TRENKLE, 1971; BASSETT, 1972 & 1974) nahm nach der Fütterung die Plasma-GH-Konzentration ab, nach Futterentzug nahm die Frequenz der pulsatilen GH-Sekretion dagegen zu. (HOVE & BLOOM, 1973; BASSETT, 1974). Bei Ratten, die 72 Stunden gehungert hatten, war es infolge angestiegener Somatostatinkonzentrationen im Plasma nicht möglich, eine GH-Sekretion zu stimulieren (WEHRENBURG et al., 1982). Bei Pferden konnten vergleichbare Zusammenhänge bislang nicht dokumentiert werden (CHRISTENSEN et al., 1997). Eine vermehrte GH-Sekretion wird aber nach Stresseinwirkung beobachtet (THOMPSON 1992).

Bei Fohlen ist die Plasma-GH-Konzentration zum Zeitpunkt der Geburt niedrig, bereits in den ersten 30 bis 40 Lebensminuten kommt es jedoch zu einer deutlichen GH-Sekretion. Danach nimmt die Plasma-GH-Konzentration ab und Basalwerte sind zwischen 60 und 100 Minuten nach dem Peak wieder erreicht. Der Grund für den steilen Anstieg der GH-Konzentration ist nicht bekannt, es wird jedoch vermutet, daß die Streßsituation der Adaptation an das extrauterine Leben zu einer kurzzeitigen, ausgeprägten Stimulation der GH-Sekretion führt. Die basale GH-Konzentration und die GH-Pulsamplitude sind beim Fohlen insgesamt stets höher als beim adulten Pferd (STEWART et al., 1993). Der beim Pferd nachgewiesene postpartale starke Anstieg der GH-Konzentration im Plasma kommt bei anderen Spezies nicht vor. Bei den meisten anderen Spezies ist die Plasma-GH-Konzentration vor der Geburt hoch und nimmt postnatal kontinuierlich ab (Ratte: RIEUTORT, 1974, KACSOH et al. 1989; Schaf: GLUCKMAN et al. 1979, BASSETT & GLUCKMAN, 1986).

2.2.3. Somatostatin

Das Peptidhormon Somatostatin (Somatotrophin Release Inhibiting factor, SRIF) wurde zuerst aus ovinem Hypothalamusgewebe isoliert (BRAZEAU et al., 1972). Die Familie dieser Peptide wird von einem einzigen Gen abgeleitet, welches das aus 116 Aminosäuren bestehende Präpro-Somatostatin kodiert. Dieses Somatostatinprecursormolekül beinhaltet ein 24 Aminosäure langes Signalpeptid und ein proSRIF-Fragment. Das Prohormon wird in eine Anzahl verschiedener Fragmente unterteilt. Zu diesen Fragmenten gehört das Tetradekapeptid SRIF-14 (Molekulargewicht 6000) und das Octacosapeptid SRIF-28 (Molekulargewicht 7500; MEISTER et al., 1992). Somatostatin wird nicht ausschließlich im Hypothalamus synthetisiert. Mehr als 90% des endogenen Somatostatins bei Monogastriern wurden in den Deltazellen des Pankreas und im Magen gefunden (ARIMURA und FISHBACK 1978). Beim Schaf wurde Somatostatin hauptsächlich im Pankreas und im antralen Teil des Abomasums nachgewiesen (DARVODELSKY et al., 1988). Aminosäuren und Glukose stimulieren bei Monogastriern eine Freisetzung von pankreatischem Somatostatin (SCHUDZIARRA et al., 1978). Die Metabolisierung von Somatostatin läuft sehr rasch ab. Die Halbwertszeit beim Menschen beträgt weniger als 2 Minuten (HO et al., 1986; SHEPPARD et al., 1979).

Somatostatin hemmt in der Hypophyse die GH-Freisetzung. Dabei wird die Aktivierung der Proteinkinasen A und C verhindert und die Mobilisierung von Calcium aus intrazellulären Organellen sowie der Einstrom von extrazellulärem Calcium reduziert (SUMMERS et al., 1985; LUSSIER et al., 1991; CUTTLER et al., 1992). Neben der Hemmung der GH-Sekretion im Hypophysenvorderlappen hat Somatostatin auch inhibierende Effekte in anderen Organen. Es reduziert z.B. die Freisetzung von Insulin, Glukagon (BRAZEAU et al., 1973; KOERKER et al., 1974; Übersicht bei ARIMURA, 1981), Magensäure, Pepsin und Gastrin und verringert die Durchblutung der Eingeweide sowie die Motilität des Darms und der Gallenblase (KREJS, 1986; WYNICK et al., 1989; YANG et al., 1990). Die durch Somatostatin-Behandlung ausgelöste Hemmung der GH-Sekretion konnte bei Ratten durch eine Fastenperiode verstärkt werden. Der vorübergehende Nahrungsentzug bewirkte hierbei eine Zunahme der endogenen Somatostatinsekretion (WEHRENBURG et al., 1982). Im Zusammenhang mit der Bewältigung von Stress ist Somatostatin an der Koordinierung zentralnervöser Reaktionen beteiligt. Eine damit übereinstimmende Verteilung der Somatostatin-synthetisierenden Zellen im ZNS wurde auch für das Pferd bestätigt (MELROSE et al., 1993).

Darüber hinaus bestehen Wechselwirkungen zwischen der somatotrophen Achse und dem Immunsystem, die unter anderem über Somatostatinrezeptoren auf den Lymphozyten vermittelt werden.

2.2.4. Physiologische Wirkung von Wachstumshormon

GH nimmt wichtige Funktionen bei der Stimulation des Wachstums ein und ist insbesondere vor der Pubertät für das Längenwachstum erforderlich. Ein GH-Mangel in dieser Wachstumsphase führt zu Zwergwuchs, eine GH-Hypersekretion, die beispielsweise durch GH-sezernierende Tumore bedingt sein kann, zum Riesenwuchs (Gigantismus). Nach der Pubertät entwickeln Menschen mit einem GH-sezernierenden Tumor eine Akromegalie (VOIGT 1996).

Die Wirkungen von GH können in schnell wirksame, metabolische Effekte und langsame und länger wirksame, wachstumsstimulierende Effekte unterteilt werden. Akute metabolische Effekte sind auf direkte Wechselwirkungen mit den Zielzellen und eine vermehrte Lipolyse sowie einen reduzierten Glukosetransport über die Zellmembran (insulinantagonistische Wirkung) zurückzuführen. Gleichzeitig stimuliert GH jedoch die Insulinsekretion der B-Zellen des Pankreas. Insgesamt wird die Nutzung von Glukose als Energiesubstrat reduziert und die Glukoneogenese aktiviert (DART et al., 1998). Durch die GH-induzierte Lipolyse werden als Energieträger für die Proteinsynthese dienende Fettsäuren freigesetzt. Die langsamen, anabolen GH-Wirkungen werden vor allem durch unter GH-Einfluß in der Leber synthetisierte Wachstumsfaktoren, die sogenannten Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktoren 1 und 2, (Insulin-like growth factor, IGF) vermittelt. In ihrer chemischen Struktur weisen sie eine etwa 50%ige Übereinstimmung mit dem Insulinmolekül auf. Anders als Insulin sind IGFs im Blut an Bindungsproteine (IGFBP) gebunden und haben mit etwa 20 Stunden eine wesentlich längere Halbwertszeit als GH (DART et al., 1998) und einen längerfristigen wachstumsfördernden Effekt. Die im Blut zirkulierenden IGFs stimulieren die Aufnahme von Aminosäuren in die Zelle und damit die Proteinsynthese sowie Chondrogenese und Knochenwachstum. IGF-1 übt einen hemmenden Effekt auf die GH-Sekretion aus, dies erfolgt über die Stimulation der Somatostatinsekretion und direkte Einwirkung auf die somatotrophen Zellen der Hypophyse (CEDA et al., 1987). Auch GH selbst wirkt in einem negativen Feedback-Mechanismus auf die GHRH-Freisetzung des Hypothalamus (PELLEGRINI et al., 1996).

Hinsichtlich der Wirkung von exogenem GH beim Pferd liegen vereinzelte Publikationen vor. Nach der Verabreichung von rekombinantem equinem GH (eGH) in hohen Dosierungen kam es zu einer Zunahme der Herzfrequenz und der Blutglukosespiegel, diese Zunahmen blieben jedoch innerhalb des physiologischen Normalbereiches. Das Pferd ist offensichtlich gegenüber kurzfristig stark erhöhten GH-Konzentrationen im Blut nicht empfindlich (DART et al., 1998).

Eine eGH Behandlung sehr alter Stuten (über 20 Jahre) hatte eine Zunahme der Muskelmasse sowie eine vorübergehende Leukozytose zur Folge (MALINOWSKI et al., 1997). Auch bovines und porcines GH zeigten bei Pferden eine biologische Aktivität und führten zu einem Anstieg der Glukose- und der Insulinkonzentration im Blut (BUONOMO et al., 1996). Übereinstimmend damit wurden auch immunologisch starke Kreuzreaktionen zwischen equinem, porcinem und bovinem GH, zwischen equinem und humanem GH jedoch nur eine geringe (HARTREE et al., 1967) oder gar keine Kreuzreaktion (SAXENA & HENNEMANN, 1966) gefunden.

2.2.5. Wirkung von Wachstumshormon auf Fortpflanzungsfunktionen bei männlichen Tieren

GH wird bei beiden Geschlechtern pulsatil freigesetzt, es gibt jedoch Unterschiede im Sekretionsmuster. Bei männlichen Tieren sind sowohl die mittlere GH-Konzentration als auch die GH-Pulsfrequenz und -amplitude sowie die GH-Reaktion auf eine exogene GHRH-Behandlung höher als bei weiblichen Tieren (Pferd: THOMPSON et al., 1994; Schwein: ARBONA, 1988; CLAUS, 1990; Rind: PLOUZEK & TRENKLE, 1991). Beim Hengst (THOMPSON et al., 1992) führt wie beim Menschen (GUYTON, 1986) körperliche Anstrengung oder sexuelle Erregung zu einem Anstieg der GH-Konzentration im Plasma. Die höchsten GH-Konzentrationen nach Belastung wurden beim Pferd jedoch bei Wallachen gemessen (THOMPSON et al., 1994). Die Tatsache, daß Hengste und Wallache insgesamt jedoch sehr ähnliche GH-Sekretionsmuster aufweisen, läßt Thompson vermuten, daß das Vorhandensein der Hoden nicht für die unterschiedliche GH-Sekretion bei Hengst und Stute verantwortlich ist. Möglicherweise erfolgt bereits fetal oder kurz postnatal eine spezifische, männliche Differenzierung die auch nach Entfernung der Hoden persistiert (THOMPSON et al., 1994).

GH ist an der Regulation der Geschlechtsdifferenzierung und der geschlechtlichen Reifung beteiligt und beeinflusst die gonadale Steroidsynthese und die Gameto-

genese (ZACHMANN, 1992; FRANKS, 1998). Diese Funktionen sind zum Teil auf eine GH-induzierte Sekretion von FSH und LH zurückzuführen (VARADARAJ-CHANDRASHEKAR & BARTKE, 1998) oder werden indirekt durch vermehrte Synthese und Sekretion von IGF-1 vermittelt (HULL & HARVEY, 2000). Die Steroidsynthese in den Leydigzellen und die Gametogenese werden primär durch FSH und LH stimuliert. In den Leydigzellen und in den Tubuli seminiferi des Hodens sind jedoch auch GH-Rezeptoren vorhanden. Über Second-messenger-Systeme stimuliert GH die Aktivität steroidaler Enzyme und bewirkt eine vermehrte Anbildung von LH-Rezeptoren. Über GH-Rezeptoren der Sertolizellen beeinflusst GH die Spermatogenese (HULL & HARVEY, 2000). Eine wichtige Rolle spielt GH bei der Entwicklung von Hoden und Penis. Einige Formen der männlichen Infertilität resultieren aus einer GH-Defizienz. Eine GH-Defizienz kann z.B. beim Mann mit einem abnorm kleinen Hoden und Mikropenis vergesellschaftet sein (SPITERI-GRECH & NIESCHLAG, 1992; LARON & KLINGER, 1998), die Samenzellmotilität solcher Männer ist reduziert und kann durch exogene GH-Gabe verbessert werden (GRAVENCE et al., 1997; BREIER et al., 1998). Nach exogener GH-Behandlung nehmen sowohl die Spermienmotilität als auch die Plasma-IGF-1-Konzentration zu. Ob die Stimulation der Spermienmotilität durch GH, durch IGF-1 oder durch beide hervorgerufen wird, ist noch unklar (OVESEN et al., 1998).

2.2.6 Somatostatin Analogon Octreotid

Aufgrund seiner geringen Halbwertszeit kann das native Somatostatin therapeutisch nur sehr bedingt genutzt werden. In der Humanmedizin wird überwiegend das synthetische Somatostatin-Analogon Octreotid verwendet, daß sowohl eine längere Wirkungsdauer, als auch eine stärkere Wirkung als das native Somatostatin aufweist (WYNICK et al., 1989). Octreotid wird beim Menschen unter anderem bei Akromegalie (QUABBE & PLOCKINGER, 1989), Hyperthyreoidismus (BECK-PECCOZ et al., 1989), zur Behandlung von Tumoren, die vasoaktive, intestinale Polypeptide sezernieren (SOJKA, 1992) sowie zur Therapie der postprandialen und orthostatischen Hypotension (HOELDKE & ISRAEL, 1989) und der idiopathischen, sekretorischen Diarrhoe bei Kindern (JAROS et al., 1988) verwendet.

In der Veterinärmedizin wird Octreotid therapeutisch bislang nicht eingesetzt. Experimentell führte es bei Ponies zu einem vorübergehenden und dosisabhängigen

Anstieg des pH-Wertes des Magensaftes auf über 5 (SOJKA, 1992). Bei Schafen konnte durch eine Octreotid-Behandlung ein etwa 6 Stunden andauernder, signifikanter Anstieg des pH-Wertes im Labmagen ausgelöst werden. Etwa 6 Stunden nach der Injektion war der pH Wert wieder an seinem Ausgangspunkt angelangt. Die Konzentrationen von Insulin und Glukagon im Plasma fielen bei den Octreotid-behandelten Schafen signifikant ab (HOLTENIUS, 1994).

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

Die eigenen Untersuchungen gliederten sich in 3 Versuche zur Bestimmung jahreszeitlicher Veränderungen der GH-Sekretion beim Pferd (Hauptversuch 1) und zur Analyse des Einflusses einer 10tägigen Behandlung mit Octreotid auf verschiedene Reproduktionsparameter (Hauptversuch 2). Darüber hinaus erfolgte die Untersuchung des möglichen Vorliegens einer opioidergen Regulation der GH-Sekretion beim Hengst (Hauptversuch 3).

3.1.1 Tiere

Für den Hauptversuch standen 6 Shetlandponyhengste im Alter von 5 bis 7 Jahren zur Verfügung, das Körpergewicht lag zwischen 150-180 kg. Sie wurden gemeinsam in einem Laufstall gehalten, hatten tagsüber Zugang zu einem Paddock und erhielten zweimal täglich Heu. Wasser stand zur freien Aufnahme zur Verfügung. Die Hengste gehören seit ihrem dritten Lebensjahr bzw. seit ihrer Geburt zur Forschungsherde der eigenen Arbeitsgruppe und sind alle an die Samenentnahme mit Hilfe der künstlichen Scheide gewöhnt. Sie stehen seit ihrem dritten Lebensjahr unter regelmäßiger Kontrolle der Samenqualität.

3.1.2. Versuchsaufbau

3.1.2.1 Hauptversuch 1

Im Hauptversuch 1 zur Bestimmung jahreszeitlicher Veränderungen der basalen GH-Konzentration und Testosteronsekretion sowie der Samenqualität wurden von 6 Shetlandponyhengsten in zweiwöchigen Abständen Blutproben zur Bestimmung von GH genommen, die Bestimmung von Testosteron erfolgte einmal monatlich. Die Probenentnahme erfolgte durch Punktion einer V. jugularis in Lithium-Heparin gefüllte Röhrchen (Vacutainer, Fa. Greiner, Kremsmünster, Österreich). Bei den Ponyhengsten erfolgte außerdem in wöchentlichen Abständen eine Samenentnahme mittels künstlicher Scheide. In den gewonnenen Ejakulaten wurden neben einer grobsinnlichen Beurteilung die Parameter Volumen, Dichte, Motilität und pH-Wert bestimmt und die Spermiengesamtzahl berechnet.

3.1.2.2 Hauptversuch 2

Somatostatinbehandlung: Im zweiten Hauptversuch wurde bei 6 Shetlandponyhengsten zunächst der Einfluß einer 10tägigen Somatostatinbehandlung auf die GH-Konzentration, auf die hCG-induzierte Testosteronsekretion und auf die Samenqualität bestimmt. Jeweils um 8:00 und 20:00 Uhr wurde zunächst von jedem Hengst (n=6) eine Blutprobe aus der V. jugularis externa entnommen und in ein mit Lithium-Heparin gefülltes Röhrchen (Vacutainer) aufgefangen. Dann bekamen die Hengste entweder 0,1 mg Octreotid (Sandostatin, eine Ampulle zu 1 ml; Firma Novartis, CH-Basel) oder 0.9%ige Kochsalzlösung subkutan verabreicht. Alle Hengste erhielten sowohl Octreotid als auch NaCl-Lösung und dienten als eigene Kontrolle. Nach den 10tägigen Behandlungen wurde jeweils 12 Tage lang alle 3 Tage eine Blutprobe zur Bestimmung von GH und Testosteron entnommen.

Die beiden Versuchsdurchgänge erfolgten in den Monaten Juli und Oktober, wobei jeweils 3 Hengste im ersten Versuchsdurchgang Octreotid und im zweiten Versuchsdurchgang NaCl-Lösung erhielten und die übrigen 3 Hengste in umgekehrter Reihenfolge behandelt wurden. Vor jeder 10tägigen Behandlung und täglich über 5 Tage nach der Behandlung wurden die Hengste mittels künstlicher Scheide abgesamt. Zwischen den beiden Octreotid- bzw. NaCl-Behandlungen erfolgte danach die Samenentnahme wöchentlich. Nach der zweiten Octreotid- bzw. NaCl-Behandlung und der 5tägigen, täglichen Samenentnahme wurde 6 Wochen lang im Wochenrhythmus Samen gewonnen, dann im 2 Wochenrhythmus bis Ende Februar.

hCG-Stimulationstest: Am zehnten und letzten Tag der Octreotid- bzw. NaCl-Behandlung wurde nach der morgendlichen Blutentnahme und Somatostatin- bzw. NaCl-Injektion ein hCG-Stimulationstest durchgeführt. Vor Durchführung des hCG-Stimulationstestes wurde die Punktionsstelle über der V. jugularis rasiert und desinfiziert. Dann wurde eine Verweilkanüle (Fa. Vygon, D-Aachen) in die Vene eingeführt. Der Katheter wurde mit Hilfe eines subcutanen Knopfheftes fixiert und zwischen den Probenentnahmen mit einem Mandrin (Fa. Vygon) verschlossen. Die Blutprobenentnahme erfolgte in 15minütigen Abständen über vier Stunden, 120 Minuten nach Versuchsbeginn wurde den Hengsten 3000 I.E. hCG (Chorulon, Fa. Intervet, A-Wien) intravenös injiziert. In allen Blutproben erfolgte die Bestimmung von Testosteron. Während des hCG-Stimulationstests waren die Hengste in ihrem Laufstall angebunden. Wasser, Heu und Stroh standen während der gesamten Versuchsdauer zur freien Aufnahme zur Verfügung.

3.1.2.3 Hauptversuch 3

Naloxon-Stimulationstest: Zur Bestimmung einer möglichen opioidergen Beeinflussung der GH-Sekretion beim Pferd erfolgte in den Monaten Juni (Zuchtsaison des Pferdes) und Januar ein Stimulationstest mit dem Opioidantagonisten Naloxon. In beiden Monaten erhielten die 6 Hengste im Abstand von 2 Tagen jeweils Naloxon und 0,9%ige NaCl-Lösung in wechselnder Reihenfolge. Wie für den hCG-Stimulationstest erhielten die Hengste eine Verweilkanüle in eine V. jugularis externa. Von jedem Hengst wurde zunächst eine Blutprobe zur Testosteronbestimmung genommen. Blutentnahmen zur Bestimmung von GH erfolgten in 15minütigen Abständen über drei Stunden, 60 Minuten nach Versuchsbeginn wurde den Hengsten entweder 100 mg Naloxon (Fa. Sigma, D-Deisenhofen) oder 10 ml 0,9% NaCl-Lösung intravenös injiziert. Die Naloxondosis entspricht annähernd 0,5 mg/kg Körpergewicht. Unmittelbar vor der Injektion wurde Naloxon in 10 ml 0,9% NaCl-Lösung aufgelöst und durch einen Sterilfilter (Porengröße 22µm, Fa. Nalgene, Rochester, New York, USA) in eine sterile Einmalspritze aufgezogen.

3.1.3 Samenentnahme und Samenuntersuchung

Die Samenentnahme erfolgte mittels künstlicher Scheide (Modell Hannover, Fa. Hauptner, D-Solingen) mit Einmalinnenschlauchfolie (Fa. Minitüb, D-Tiefenbach). Zur Stimulation der Hengste und als Sprungpartner diente eine ovariektomierte Ponystute. Der Samen wurde sofort nach der Entnahme qualitativ und quantitativ untersucht. Dazu wurde das Ejakulat zunächst durch sterile Gaze in einen Standzylinder gefiltert. Dann wurde das Volumen gemessen und Farbe, Geruch und Konsistenz bestimmt und nach dem kliniküblichen Untersuchungsschema klassifiziert. Es schloß sich die mikroskopische Untersuchung und Beurteilung des Anteils vorwärtsbeweglicher, ortsbeweglicher und unbeweglicher Samenzellen an. Die Spermienkonzentration wurde photometrisch (Fa. Minitüb) bestimmt, die Messung des pH-Wertes erfolgte mittels Indikatorpapier (Fa. Merck, D-Darmstadt). Aus Ejakulatvolumen und Spermindichte wurde die Spermiengesamtzahl errechnet.

Für die pathomorphologische Untersuchung des Samens wurde ein Nativausstrich angefertigt, der nach dem Trocknen mit Spermac[®]-Färbelösung (Fa. Minitüb) gefärbt wurde. Die Untersuchung zur Ermittlung des Anteils morphologisch veränderter Spermien erfolgte mit Ölimmersion im Phasenkontrastmikroskop bei 1000facher

Vergrößerung. Es wurden jeweils 200 Zellen pro Ausstrich ausgezählt und der Anteil der morphologisch veränderten Samenzellen als Prozentsatz bestimmt.

3.1.4 Hormonanalysen

3.1.4.1 Blutprobenaufarbeitung

Alle Blutproben wurden innerhalb von 45 Minuten nach der Entnahme bei 2000 g 10 Minuten lang zentrifugiert, das überstehende Plasma in Polystyrolröhrchen abpipettiert und bis zur Messung bei -20°C tiefgefroren.

3.1.4.2 Wachstumshormon

Die Bestimmung von GH erfolgte analog der von AURICH et al. (1999) beschriebenen Methode im Radioimmunoassay mit einem gegen porcines GH gerichteten ersten Antikörper (Biogenesis, Poole, England). Als Standard und Tracer wurde hochgereinigtes equines GH (Dr. A.F. Parlow, Harbor-UCLA Medical Center, Torrance, CA, USA) verwendet. Die Iodierung des Tracers erfolgte mittels Chloramin T Methode (GREENWOOD et al. 1963). Alle Reagenzien wurden mit Assay-Puffer (0,01 M phosphatgepufferte Salzlösung, 0,025 M EDTA, 0,01% Thimerosal, 1% Albumin, pH 7,4) angesetzt. Alle Proben wurden im Doppelansatz mit einem Probenvolumen von 100 µl bestimmt. Die Kreuzreaktivität des Antiserums mit equinem GH betrug 95%, die Intra- und Interassayvariationskoeffizienten lagen bei 7,5 und 15%. Die untere Nachweisgrenze des Assaysystems betrug 0,2 ng/ml. Die Wiederfindungsrate von equinem Standard, der equinem Plasma zugesetzt wurde, befand sich zwischen 89 und 104%. Proben von einem Tier wurden jeweils in einem Assay analysiert.

3.1.4.3 Testosteron

Die Bestimmung von Testosteron erfolgte mit einem kommerziell erhältlichen Testkit (Fa. Serono) entsprechend den Angaben des Herstellers. Das Testsystem ist im eigenen Labor für Plasmaproben vom Pferd validiert worden.

3.1.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS/PC+ (NORUSIS 1988). Zunächst wurde die Normalverteilung der Werte mittels Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft. Da für verschiedene Parameter keine Normalverteilung der Werte vorlag, erfolgte die weitere statistische Auswertung mittels nicht-parameterischer Tests.

Die im Hauptversuch 1 (jahreszeitliche Veränderungen der GH- und Testosteronsekretion sowie der Samenqualität) bestimmten Parameter wurden hinsichtlich Veränderungen zwischen dem Probenentnahmezeitraum mittels nicht-parameterischen Tests für verbundene Stichproben (Friedman-Test) verglichen.

Im Hauptversuch 2 (Somatostatinbehandlung) wurde die GH-Sekretion für die 10tägige Behandlungsphase als Fläche unter der Kurve berechnet (ng/ml 12 Stunden) und die GH-Sekretion während der Behandlung mit 0,9% NaCl und Octreotid mittels Wilcoxon-Test verglichen. Zur Bestimmung des Einflusses der Behandlung mit Octreotid bzw. 0,9% NaCl auf die Samenqualität wurden alle für die einzelnen Samenparameter erhobenen Werte unmittelbar vor Behandlungsbeginn mit den entsprechenden Werten, die am ersten bis fünften Tag nach Ende der Behandlung ermittelt wurden, mittels Friedman Test miteinander verglichen. Der Vergleich von Werten, die an einander entsprechenden Probenentnahmezeiten während der Behandlung mit 0,9% NaCl bzw. Octreotid gewonnen wurden, erfolgte mittels Wilcoxon-Test.

Die hCG-induzierte Testosteron-Sekretion am letzten Tag der 10tägigen Behandlungsphase wurde als Fläche unter der Kurve (ng/ml 15 min) für den Zeitraum von 0 bis 120 Minuten nach hCG-Injektion berechnet. Um den Einfluß einer möglicherweise unterschiedlichen basalen Testosteron-Sekretion auszugleichen, wurde die Basalsekretion von Testosteron (Mittelwert der 9 Meßwerte vor Applikation von hCG) vor Berechnung der Fläche unter der Kurve von jedem Meßwert subtrahiert. Der Vergleich zwischen der nach Octreotid- und 0,9% NaCl-Behandlung ermittelten Testosteron-Sekretion erfolgte mittels Wilcoxon-Test.

Im Hauptversuch 3 (opioiderge Regulation der GH-Sekretion) wurde die GH-Sekretion für den Zeitraum von 0 bis 120 Minuten nach Naloxon bzw. 0,9% NaCl (ng/ml 15 min) berechnet. Um auch hier den Einfluß einer möglicherweise unter-

schiedlichen basalen GH-Sekretion auszugleichen, wurde die Basalsekretion von GH (Mittelwert der 5 Meßwerte vor Applikation von hCG) vor Berechnung der Fläche unter der Kurve von jedem Meßwert subtrahiert. Die Fläche unter der Kurve von GH wurde zwischen den mit 0,9% NaCl bzw. Naloxon behandelten Tieren mittels Wilcoxon-Test verglichen.

Korrelationen zwischen verschiedenen Parametern wurden mit der Statistikprozedur Correlation verglichen.

Bei den angegebenen Werten handelt es sich jeweils um den Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM).

3.2 ERGEBNISSE

3.2.1 Hauptversuch 1

3.2.1.1 GH- und Testosteron-Konzentration im Jahresverlauf

Bei den Ponyhengsten zeigte die basale Testosteron-Konzentration im Plasma deutliche jahreszeitliche Unterschiede. Am 15. Januar, d.h. außerhalb der Zuchtseason, lag mit $0,2 \pm 0,06$ ng/ml die niedrigste, am 15. April, zu Beginn der physiologischen Zuchtseason, mit $1,4 \pm 0,3$ ng/ml die höchste Konzentration vor ($p < 0,05$). Im Juli und Oktober wurden intermediäre Plasmakonzentrationen von Testosteron festgestellt (Tabelle 1). Für die Plasmakonzentrationen von GH konnten dagegen keinerlei jahreszeitliche Unterschiede festgestellt werden, hier wurden Konzentrationen zwischen $0,9 \pm 0,3$ ng/ml im April und $1,2 \pm 0,3$ ng/ml im Oktober gemessen, die Werte unterschieden sich zu allen Zeitpunkten nicht signifikant.

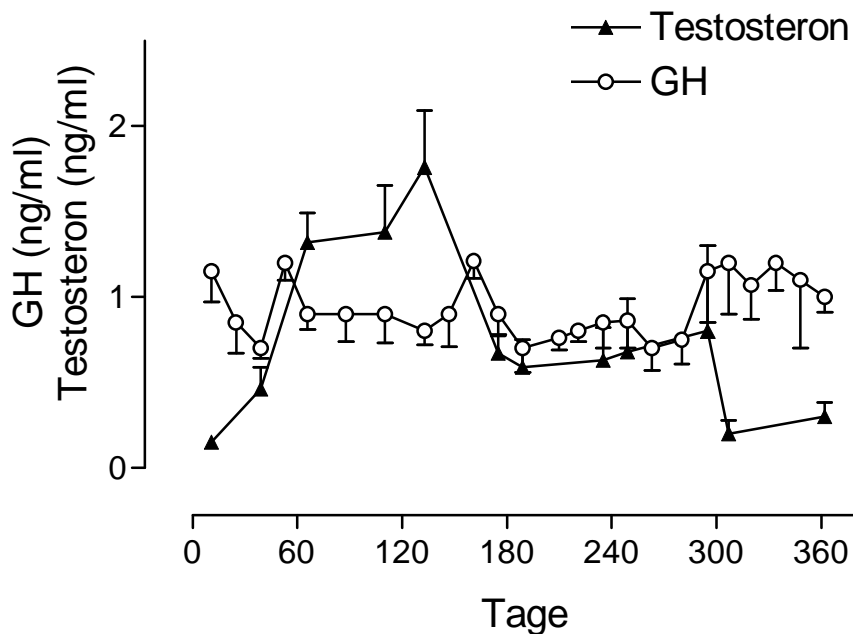


Abb. 1: Plasmakonzentrationen von GH (○; ng/ml) und Testosteron (▲; ng/ml) bei Ponyhengsten (n=6) im Jahresverlauf (Tag 0 = 1. Januar)

Tabelle 1: Konzentrationen von Testosteron und GH (jeweils ng/ml) im Plasma von Ponyhengsten zu verschiedenen Jahreszeiten

	15. Januar	15. April	15. Juli	15. Oktober
Testosteron (ng/ml)	0,2 ± 0,06	1,4 ± 0,3*	0,7 ± 0,2**	0,7 ± 0,3**
GH (ng/ml)	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,2	1,2 ± 0,3

*,**: signifikante Unterschiede zwischen unterschiedlich gekennzeichneten Werten innerhalb einer Zeile

3.2.1.2 Samenqualität im Jahresverlauf

Bei den Ponyhengsten erfolgten in den Monaten Januar, April, Juli und Oktober Samenentnahmen zur Bestimmung verschiedener Samenparameter. Dabei wurde während der Zuchtsaison im Juli eine signifikant niedrigere Ejakulatdichte ($p < 0,05$) festgestellt als an den Untersuchungstagen im Januar (außerhalb der Zuchtsaison), April (Beginn der physiologischen Zuchtsaison) und Oktober (Ende der physiologischen Zuchtsaison). Die Parameter Volumen und Spermien Gesamtzahl zeigten tendenzielle, jedoch nicht signifikante Unterschiede mit einem größeren Volumen und einer höheren Spermien Gesamtzahl während der Zuchtsaison im Juli (Tabelle 2). Hinsichtlich der Motilität, des Anteils an morphologisch abweichenden Samenzellen und des pH-Wertes konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Tabelle 2: Samenqualität (Volumen, Dichte, Spermien­gesamtzahl, pH-Wert, Motilität und Anteil morphologisch abweichender Samenzellen) bei Ponyhengsten im Jahresverlauf

	15. Januar	15. April	15. Juli	13. Oktober
Volumen (ml)	7,0 ± 1,9	7,5 ± 0,8	14,3 ± 2,4	10,8 ± 2,0
Dichte (Mio/ml)	386,0 ± 34,0	391,3 ± 31,6	240,0 ± 33,3*	318,2 ± 40,1
Spermien­gesamt­zahl (Mrd.)	2,5 ± 0,6	2,9 ± 0,3	3,5 ± 0,8	3,2 ± 0,5
pH-Wert	6,8 ± 0,1	6,8 ± 0,1	6,9 ± 0,1	6,8 ± 0,1
Motilität (%)	28,6 ± 18,6	44,3 ± 9,8*	45,7 ± 9,8*	40,0 ± 17,3*
Morphologisch abweichende Samenzellen (%)	15,3 ± 4,2	24,5 ± 5,0	23,0 ± 5,2	15,8 ± 6,5

*: signifikante Unterschiede zu den nicht mit * gekennzeichneten Werten innerhalb einer Zeile ($p < 0,05$)

3.2.1.3 Korrelationen GH-Testosteron-Samenqualität

Zwischen den Plasmakonzentrationen von GH, Testosteron und den Samenparametern Ejakulatvolumen, Ejakulatdichte, Spermien­gesamtzahl, Spermienmotilität, Anteil morphologisch abweichender Samenzellen und pH-Wert konnten keine signifikanten Korrelationen festgestellt werden.

3.2.2 Hauptversuch 2

3.2.2.1 Verträglichkeit des Somatostatin-Agonisten Octreotid beim Ponyhengst

Der Somatostatin-Agonist Octreotid wurde in einer für den Menschen zugelassenen Formulierung (Sandostatin, Novartis) subcutan an die Ponyhengste gegeben. Die Injektion des Präparates führte, auch bei zweimal täglicher Applikation über 10 Tage, zu keinen negativen Einflüssen auf das Allgemeinbefinden der Tiere. Futter- und Wasseraufnahme sowie Kotabsatz und Kotkonsistenz blieben unbeeinflusst. Auch lokale Reaktionen an den Injektionsstellen konnten nicht beobachtet werden.

3.2.2.2 Einfluß einer Behandlung mit dem Somatostatin-Analagon Octreotid auf die GH-Sekretion

Plasmaproben zur Bestimmung von GH wurden in 12stündigen Intervallen, jeweils vor der Injektion von Octreotid bzw. 0,9% NaCl entnommen. Dabei schwankte die GH-Konzentration im Plasma während der Kontrollphase (Behandlung mit 0,9% NaCl) zwischen einer mittleren Minimalkonzentration von $0,8 \pm 0,2$ ng/ml und einer Maximalkonzentration von $1,4 \pm 0,5$ ng/ml. Während der Octreotid-Behandlung lag die Minimalkonzentration bei $0,8 \pm 0,2$ ng/ml und die Maximalkonzentration bei $1,6 \pm 0,7$ ng/ml. In beiden Behandlungszeiträumen konnten darüber hinaus keine signifikanten Unterschiede zwischen der am Morgen und am Abend gemessenen GH-Plasmakonzentration festgestellt werden.

Es fällt auf, daß die GH-Plasmakonzentration während der Behandlung mit dem Somatostatin-Analagon insgesamt stärkere Schwankungen aufweist und zu höheren Konzentrationen tendiert. So wird während der Octreotid-Behandlung eine mittlere GH-Plasmakonzentration von 1,3 ng/ml fünfmal, während der Kontrollbehandlung jedoch nur einmal überschritten. Dagegen wurden während der Kontrollbehandlung zehnmal GH-Plasmakonzentrationen von weniger als 1ng/ml festgestellt, während der Octreotid-Behandlungsphase nur viermal. Berechnet man die GH-Plasmasekretion während des Behandlungszeitraumes von 10 Tagen als Fläche unter der Kurve, konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen festgestellt werden.

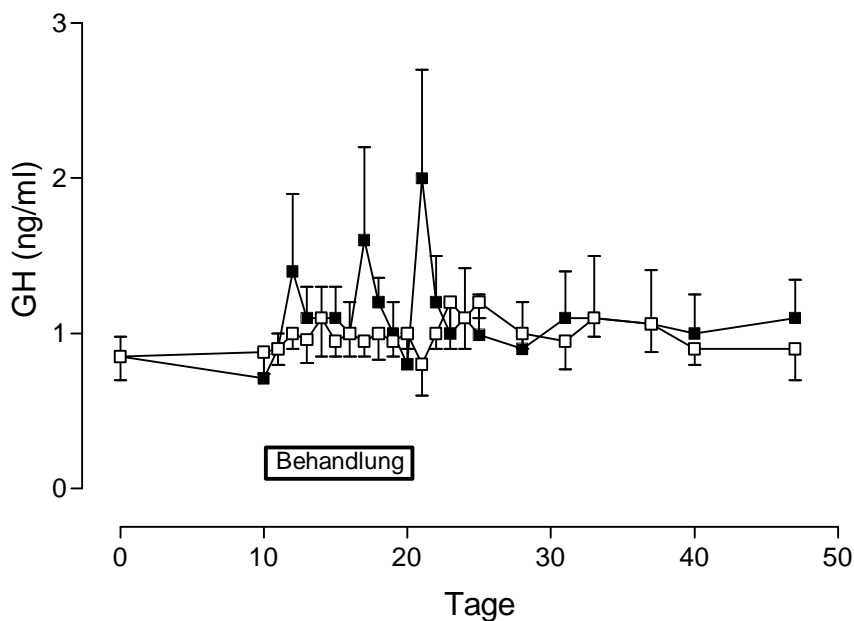


Abb 2.: Verlauf der Plasmakonzentration von GH (ng/ml) vor, während und nach der Behandlung (Tag 10 bis 19) mit dem Somatostatin-Analagon Octreotid (■) bzw. 0,9% NaCl (□) bei Ponyhengsten (n=6)

3.2.2.3 Einfluß einer Behandlung mit dem Somatostatin-Analagon Octreotid auf die Samenqualität

3.2.2.3.1 Spermiengesamtzahl

Hinsichtlich der Spermiengesamtzahl pro Ejakulat bestanden nach Vorbehandlung mit 0,9% NaCl bzw. Octreotid keine signifikanten Unterschiede. Die pro Ejakulat festgestellte Spermiengesamtzahl lag bei den mit 0,9% NaCl vorbehandelten Hengsten bei $3,5 \pm 0,7$ Milliarden vor und bei $3,4 \pm 0,5$ Milliarden am ersten Tag nach der 10tägigen Behandlung, bei Behandlung mit dem Somatostatin-Analog lagen die korrespondierenden Werte bei $3,2 \pm 0,7$ und $3,2 \pm 0,4$ Milliarden. Wurden nach Ende der Behandlung an 5 aufeinander folgenden Tagen eine Samenentnahme durchgeführt, sanken die Werte auf eine Spermiengesamtzahl von $1,8 \pm 0,3$ und $1,6 \pm 0,4$ Milliarden nach Vorbehandlung mit 0,9 % NaCl bzw. Octreotid (innerhalb der Gruppe: $p < 0,05$; zwischen den Gruppen n.s.). Da die am letzten Tag einer über 5 Tage täglich einmal durchgeführten Samenentnahme festgestellte Spermiengesamtzahl der täglichen Spermienproduktion entspricht, konnte auch be-

zätzlich der täglichen Spermienproduktion nach Vorbehandlung mit 0,9% NaCl bzw. dem Somatostatin-Analogen kein Unterschied festgestellt werden.

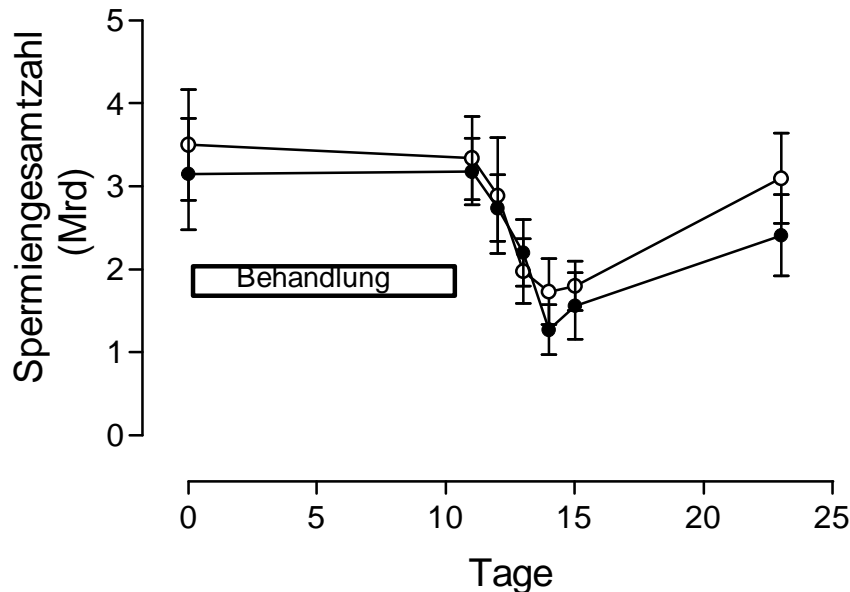


Abb. 3: Spermiengesamtzahl in den Ejakulaten von Ponyhengsten (n=6) vor und nach der Behandlung (Tag 0 bis 9) mit dem Somatostatin-Analogen Octreotid (●) bzw. 0,9% NaCl (○)

3.2.2.3.2 Ejakulatvolumen

In den Volumina der Ejakulate von mit 0,9% NaCl- oder Octreotid-vorbehandelten Ponyhengsten konnten keine durch die Behandlung verursachten Unterschiede festgestellt werden. Die Volumina lagen am ersten Tag nach der 10tägigen Applikation bei $10,3 \pm 1,2$ ml (0,9% NaCl) und $9,3 \pm 1,7$ ml (Octreotid). Auch eine über 5 Tage einmal täglich durchgeführte Samenentnahme führte zu keinen signifikanten Änderungen der Ejakulatvolumina, die Volumina lagen am letzten Tag bei $13,0 \pm 2,3$ ml und $9,8 \pm 2,7$ ml für die mit 0,9% NaCl und mit Octreotid vorbehandelten Hengste (zwischen den Untersuchungstagen und zwischen den Gruppen: n.s).

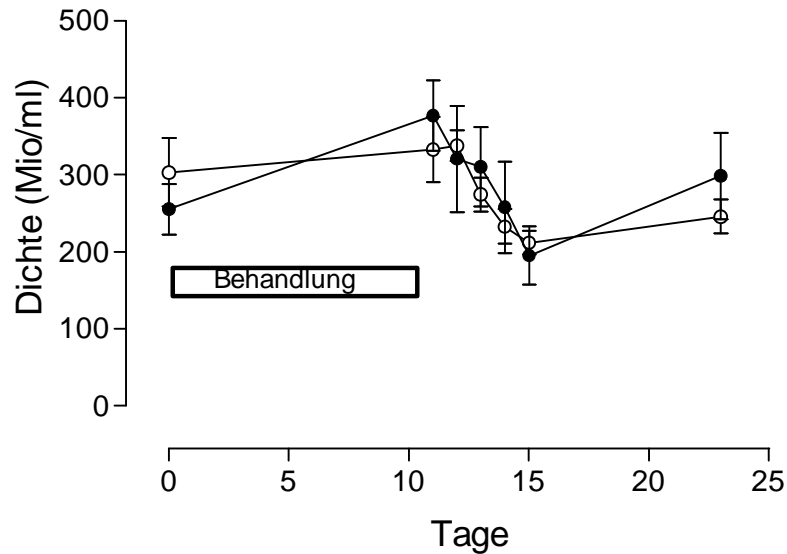


Abb. 5: Dichte in den Ejakulaten von Ponyhengsten (n=6) vor und nach der Behandlung (Tag 0 bis 9) mit dem Somatostatin-Analogen Octreotid (●) bzw. 0,9% NaCl (○)

3.2.2.3.4 Spermienmotilität

In der Spermienmotilität wurde bezüglich des Anteils an vorwärtsbeweglichen Spermien eine signifikante Abnahme bei den mit Octreotid behandelten Ponyhengsten beobachtet. So wurden vor Behandlung mit Octreotid $50,0 \pm 3,7$ % vorwärtsmotile Samenzellen (0,9% NaCl: $46,7 \pm 9,2$ %), am Tag nach Ende der Octreotid-Behandlung $28,7 \pm 6,8$ % vorwärtsmotile Samenzellen (0,9% NaCl: $38,3 \pm 6,5$ %) festgestellt ($p < 0,05$ innerhalb der Octreotid-Behandlungsgruppe). Während der über 5 Tage einmal täglich durchgeführten Samenentnahme nach Ende des Behandlungszeitraumes sank bei den mit Octreotid behandelten Hengsten der Anteil der vorwärtsbeweglichen Samenzellen auf $18,3 \pm 5,4$ % am dritten Tag ($p < 0,05$ gegenüber dem Wert vor Behandlungsbeginn), um auf $35,0 \pm 8,5$ % am 5. Samenentnahmetag anzusteigen. Bei den mit 0,9% NaCl vorbehandelten Hengsten blieb der Anteil an vorwärtsmotilen Samenzellen während der einmal täglich über 5 Tage durchgeführten Samenentnahme konstant, er betrug $31,7 \pm 5,4$ % am dritten und $31,7 \pm 7,5$ % am fünften Tag der fünftägigen Samenentnahmeserie (zwischen den Entnahmetagen: n.s.).

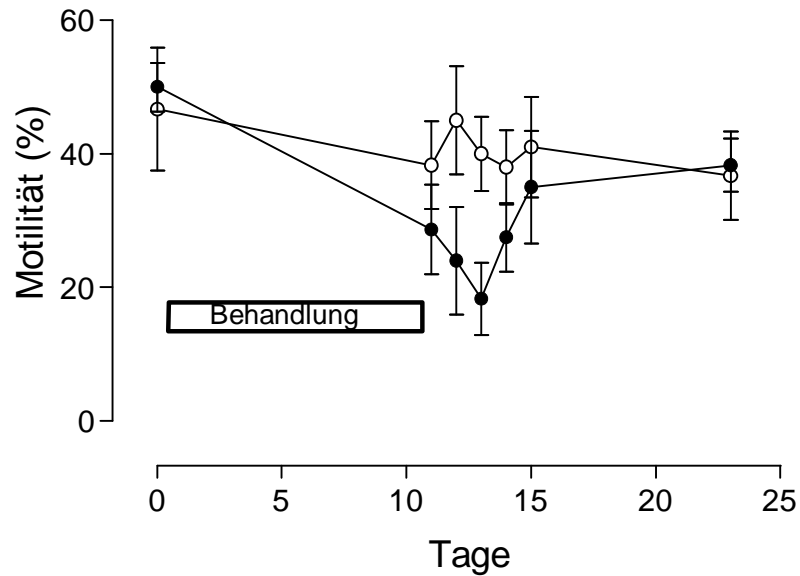


Abb 6.: Anteil vorwärtsbeweglicher Samenzellen (%) vor und nach der Behandlung mit dem Somatostatin-Analogon Octreotid (●) bzw. 0,9% NaCl (○)

3.2.2.3.5 pH-Wert

Die pH-Wert-Messungen in den gewonnenen Ejakulaten ergaben keine Unterschiede bei den mit 0,9% NaCl und den mit Octreotid vorbehandelten Tieren. Bei den mit 0,9% NaCl über 10 Tage behandelten Tieren lag der pH-Wert vor Behandlungsbeginn bei $6,8 \pm 0,04$, nach Behandlungsende bei $6,8 \pm 0,04$, die korrespondierenden Werte vor und nach Behandlung mit Octreotid betragen $6,9 \pm 0,06$ und $6,8 \pm 0,05$ (zwischen den Untersuchungszeitpunkten und den Behandlungsgruppen: n.s.). Auch eine über fünf Tage einmal täglich durchgeführte Samenentnahme beeinflusste den pH-Wert in den Ejakulaten nicht (Abbildung 7).

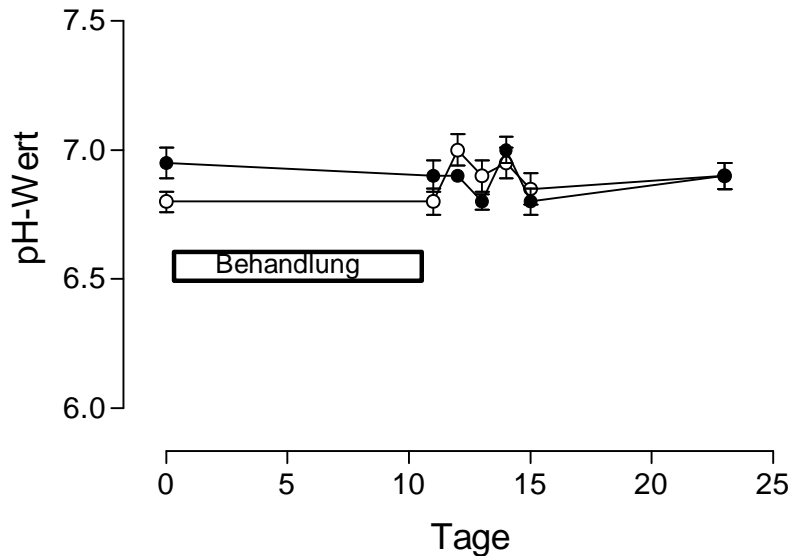


Abb 7.: pH-Wert in Ejakulaten von Ponyhengsten (n=6) vor und nach der Behandlung mit dem Somatostatin-Analogon Octreotid (●) bzw. 0,9% NaCl (○)

3.2.2.3.6 Anteil morphologisch abweichender Samenzellen

Vor der 10tägigen Behandlung lag der Anteil an morphologisch abweichenden Spermien bei $18,0 \pm 6,4\%$ bei den mit 0,9% NaCl behandelten und bei $20,8 \pm 7,7\%$ bei den mit Octreotid behandelten Tieren, nach Behandlungsende wurden $18,5 \pm 5,7\%$ und $19,1 \pm 1,9\%$ morphologisch abweichende Samenzellen festgestellt (zwischen den Untersuchungszeitpunkten und zwischen den Gruppen: n.s.). Eine über fünf Tage einmal täglich durchgeführte Samenentnahme führte zu einer tendenziellen Abnahme des Anteils an morphologisch abweichenden Samenzellen in beiden Gruppen (0,9% NaCl: $13,9 \pm 4,1\%$, Octreotid: $10,3 \pm 2,6\%$), der Unterschied war jedoch nicht signifikant.

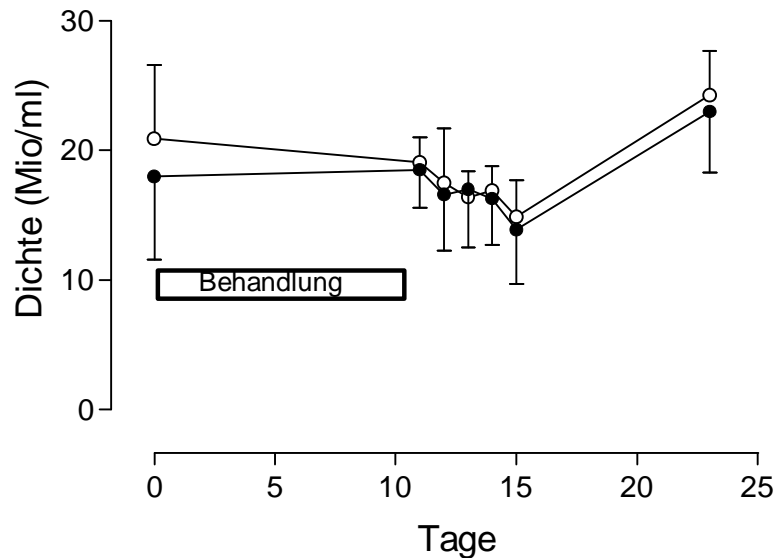


Abb 8.: Anteil morphologisch abweichender Samenzellen (%) vor und nach der Behandlung mit dem Somatostatin-Analogon Octreotid (●) bzw. 0,9% NaCl (○) bei Ponyhengsten (n=6)

3.2.2.3.7 Einfluß der Octreotid-Behandlung auf die hCG-induzierte Testosteron-Sekretion

Am letzten Tag der Behandlung mit Octreotid bzw. 0,9% NaCl wurde den Ponyhengsten humanes Choriongonadotropin (hCG; 3000 IE i.v.) injiziert und die Plasmatestosteronkonzentration über einen Zeitraum von 2 Stunden vor bis 2 Stunden nach Injektion in 15minütigen Intervallen gemessen. Die Injektion von hCG führte bei allen Ponyhengsten zu einer Zunahme der Testosteron-Konzentration im Plasma. So stieg die Testosteronkonzentration im Plasma der mit 0,9% NaCl vorbehandelten Ponyhengste von $0,4 \pm 0,2$ ng/ml unmittelbar vor hCG-Injektion auf eine Maximalkonzentration von $4,0 \pm 1,0$ ng/ml 45 Minuten später. Bei den mit Octreotid behandelten Tieren wurden zu diesen Zeitpunkten Plasmakonzentrationen von $0,3 \pm 0,04$ ng/ml und $2,8 \pm 1,1$ ng/ml gemessen (für beide Gruppen: $p < 0,05$ zwischen den Untersuchungszeitpunkten). Wurde die Testosteron-Sekretion für den Zeitraum von 0 bis 120 Minuten nach Injektion von 0,9% NaCl bzw. Octreotid als Fläche unter der Kurve berechnet, war die hCG-induzierte Testosteronfreisetzung nach 10tägiger Vorbehandlung mit Octreotid ($8,7 \pm 2,6$ ng/ml 15 min) signifikant niedriger als nach Vorbehandlung mit 0,9% NaCl ($16,0 \pm 5,8$ ng/ml 15 min; $p < 0,05$).

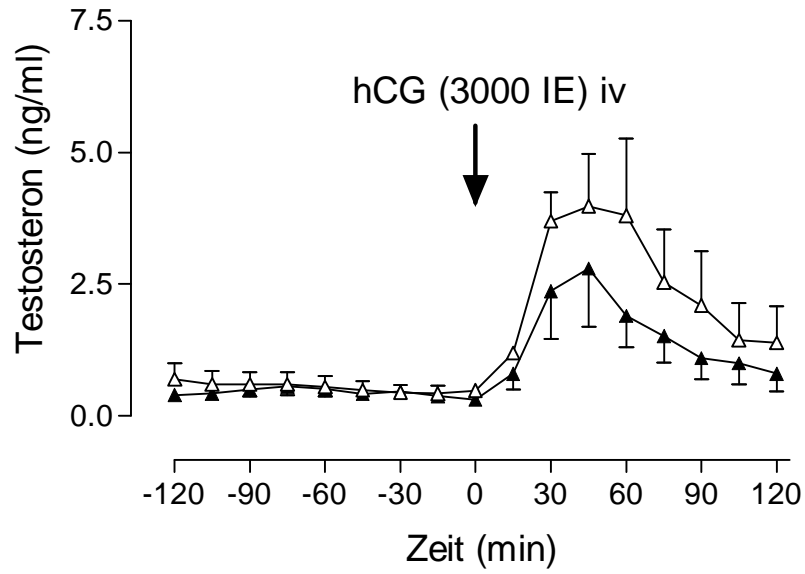


Abb. 9: Konzentration von Testosteron vor und nach Injektion von hCG (3000 IE i.v.) an Ponyhengste (n=6) nach 10tägiger Behandlung mit Octreotid (▲) bzw. 0,9% NaCl (△)

3.2.3 Hauptversuch 3

3.2.3.1 Opioiderge Regulation der GH-Sekretion

Im Januar, d.h. außerhalb der physiologischen Zuchtsaison, führte die Behandlung mit dem Opiatantagonisten Naloxon in einer Dosierung von 0,5 mg/kg Körpergewicht bei 5 der 6 Ponyhengste zu einer Zunahme der GH-Sekretion. Die GH-Konzentration im Plasma stieg von $1,1 \pm 0,2$ ng/ml unmittelbar vor Applikation des Opiatantagonisten auf eine Maximalkonzentration von $3,1 \pm 1,1$ ng/ml 60 Minuten nach der Injektion. Die Vergleichswerte während der Kontrollbehandlung lagen bei $1,2 \pm 0,2$ und $1,6 \pm 0,9$ ng/ml (Abbildung 10). Wurde die GH-Sekretion für den Zeitraum von 0 bis 120 Minuten nach Applikation von Naloxon bzw. 0,9% NaCl-Lösung als Fläche unter der Kurve berechnet, ergeben sich Werte von $2,7 \pm 2,4$ bzw. $10,4 \pm 2,9$ ng/ml 15min. Die Werte unterscheiden sich nicht signifikant.

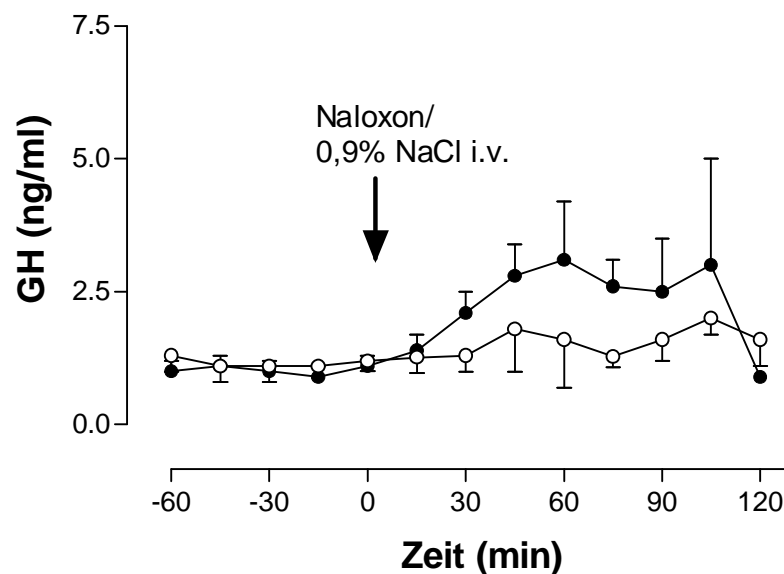


Abb. 10: Konzentration von GH (ng/ml) im Plasma von Ponyhengsten (n=6) vor und nach Applikation des Opiatantagonisten Naloxon (●; 0,5mg/kg) bzw. 0,9% NaCl (○) im Januar

Während der physiologischen Zuchtsaison im Juni reagierten alle Ponyhengste mit einer Zunahme der GH-Sekretion auf die Injektion von Naloxon. So stieg die

GH-Plasmakonzentration von $1,1 \pm 0,3$ unmittelbar vor der Injektion auf eine Maximalkonzentration von $3,7 \pm 2,2$ ng/ml 60 Minuten danach an. Bei den mit 0,9% NaCl behandelten Tieren wurde unmittelbar vor Injektion eine Konzentration von $1,2 \pm 0,3$ ng/ml gemessen, 60 Minuten später $0,6 \pm 0,1$ ng/ml (Abbildung 11). Bei Berechnung der GH-Freisetzung als Fläche unter der Kurve für den Zeitraum 0 bis 120 Minuten wurde bei Injektion von Naloxon ein Wert von $6,6 \pm 5,9$ ng/ml 15min, bei Injektion von 0,9% NaCl von $-3,3 \pm 1,3$ ng/ml 15min festgestellt.

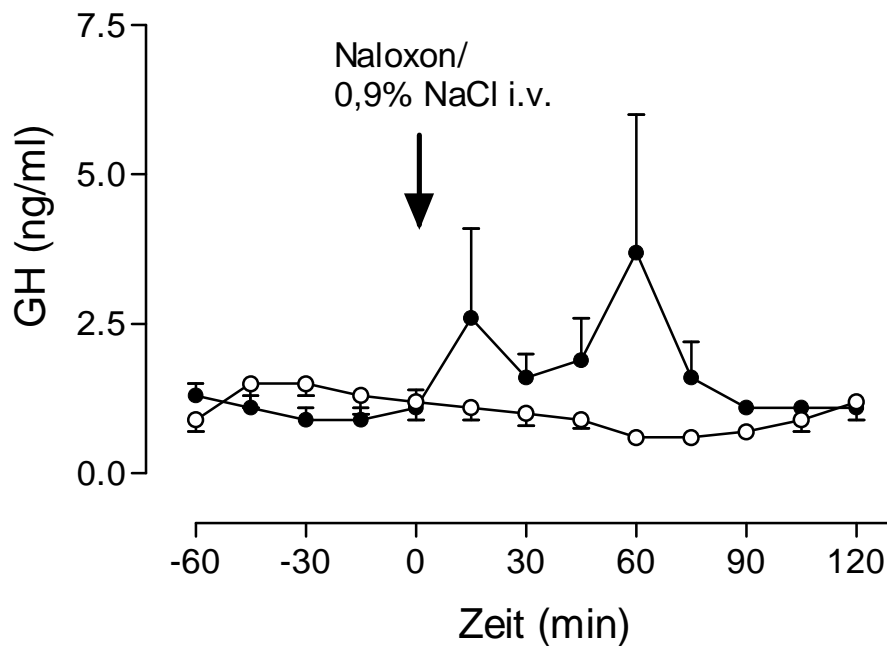


Abb. 11: Konzentration von GH (ng/ml) im Plasma von Ponyhengsten (n=6) vor und nach Applikation des Opiatantagonisten Naloxon (●; 0,5mg/kg) bzw. 0,9% NaCl (○) im Juni

4 DISKUSSION

4.1 Basale Hormonkonzentrationen

Pferde sind in ihrem Fortpflanzungsverhalten saisonal. Die physiologische Zuchtsaison dieser Spezies liegt im Frühjahr und Sommer. Hengste sind zwar das ganze Jahr über fertil, jedoch können bei ihnen sowohl hinsichtlich der Samenqualität als auch der Sekretion und Synthese reproduktionsrelevanter Hormone saisonale Schwankungen festgestellt werden. Das Vorhandensein saisonaler Schwankungen der Testosteronsekretion mit einer maximalen Sekretion während der Zuchtsaison im Frühjahr und Sommer, die bereits in Untersuchungen von BERNDTSON et al. 1974, JOHNSON und THOMPSON 1983, CLAY et al. 1991 und AURICH et al. 1994 beschrieben worden sind, konnten durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigt werden. Auch jahreszeitliche Schwankungen der Samenqualität, die sich in der vorliegenden Arbeit vor allem in einer verminderten Ejakulatdichte während der Zuchtsaison zeigten, sind vom Hengst bereits bekannt (PICKETT 1976). Dagegen konnten für die basale GH-Konzentration im Plasma keinerlei saisonale Schwankungen festgestellt werden, die GH-Konzentration befand sich während des gesamten Jahres auf einem einheitlich niedrigen Niveau. Bei saisonal anovulatorischen Ponystuten (d.h. außerhalb der Zuchtsaison) liegt dagegen die GH-Konzentration im Plasma signifikant niedriger als bei zyklischen Stuten während der Zuchtsaison (AURICH et al. 1999). Allerdings wird bei ovarintakten Ponystuten die saisonale Schwankung der basalen GH-Sekretion weniger durch jahreszeitliche Einflüsse, die hauptsächlich durch die Tageslichtlänge vermittelt werden, verursacht, als vielmehr durch die Aktivität der Gonaden. Analog zu den Hengsten in der vorliegenden Studie, bei denen ja eine Aktivität der Gonaden über das ganze Jahr gegeben ist, liegt die GH-Sekretion bei graviden Stuten die gesamte 11monatige Trächtigkeit über auf einem gleichmäßig hohen Niveau. Bei ovariektomierten Ponystuten können dagegen keine saisonalen Schwankungen der GH-Sekretion festgestellt werden (AURICH et al. 1999). Es kann daher angenommen werden, daß die GH-Sekretion durch die Anwesenheit von Sexualsteroidhormonen stimuliert wird. Die Plasma-testosteronkonzentration bei den Hengsten der vorliegenden Studie wies zwar saisonale Schwankungen auf, war aber anscheinend stets ausreichend, eine maximale GH-Sekretion zu stimulieren. Eine Stimulation der GH-Sekretion durch Applikation von Sexualsteroidhormonen ist auch von Färsen (ALDRICH et al. 1996) sowie von kastrierten Hündinnen (SELMAN et al. 1994) bekannt. Übereinstimmend

damit führt die Kastration von Ratten (AHMED et al. 1989), Bullen (PLOUZEK et al. 1991) und Hündinnen (SELMAN et al. 1994) zum Abfall der endogenen GH-Sekretion.

Im Gegensatz zu den Beobachtungen von THOMPSON et al. (1994) lassen die eigenen Untersuchungen an Ponyhengsten nicht den Schluß zu, dass bei männlichen Pferden die basale GH-Sekretion höher liegt als bei weiblichen. Die in den eigenen Untersuchungen festgestellten GH-Konzentrationen lagen konstant bei ca. 1 ng/ml Plasma. Mit demselben Meßsystem wurden von AURICH et al. (1999) vergleichbar niedrige GH-Konzentrationen nur bei ovariektomierten und anovulatorischen Ponystuten gemessen, während die Konzentrationen bei zyklischen und graviden Stuten etwa doppelt so hoch waren.

4.2 Einfluß des Somatostatin-Analogen Octreotid auf die GH-Sekretion und Hodenfunktion

Octreotid ist ein Somatostatin-Analogen, das in der Humanmedizin zur Behandlung verschiedener, durch eine erhöhte GH-Sekretion gekennzeichnete Erkrankungen eingesetzt wird. Im Gegensatz zum nativen Somatostatin zeichnet es sich durch eine längere Halbwertszeit und dadurch verlängerte Wirkungsdauer aus (WYNICK et al. 1989). Laut Herstellerangabe führt Octreotid zur Hemmung einer stimulierten GH-Sekretion, wie sie zum Beispiel bei der Akromegalie des Menschen vorliegt. So verhindert Somatostatin auch eine durch körperliche Anstrengung induzierte GH-Sekretion beim Menschen (DI-LUIGI et al. 1997).

In der vorliegenden Studie konnte bei den Ponyhengsten keine signifikante Absenkung der GH-Sekretion beobachtet werden. Allerdings wurde die Probenentnahme zur Bestimmung der GH-Plasmakonzentration nur zweimal täglich in 12-Stunden-Intervallen, jeweils vor Applikation des Octreotid, durchgeführt. Es kann also nicht ausgeschlossen werden, dass es in den 12 Stunden nach Octreotid-Injektion vorübergehend zu einer Absenkung der GH-Sekretion bei den Hengsten gekommen ist. Allerdings wäre es auch denkbar, daß die bei den Ponies verwendete Dosierung des Somatostatin-Analogons nicht ausreichend hoch gewählt wurde und daher tatsächlich kein Effekt auf die GH-Sekretion vorhanden war.

Octreotid wird in der Humanmedizin therapeutisch nicht zur Hemmung der physiologischen, sondern zur Absenkung einer stimulierten GH-Sekretion verwendet. Expe-

rimentell kann beispielsweise eine durch körperliche Anstrengung verursachte Stimulation der GH-Sekretion beim Mann durch Octreotid-Applikation verhindert werden (DI-LUIGI et al. 1997). Bei der Therapie der Akromegalie, einer mit einer erhöhten GH-Sekretion einhergehenden Erkrankung des Menschen führt die Daueraplikation von Octreotid zur Absenkung der GH-Konzentration auf ein physiologisches Niveau (INVITTI et al. 1996; NEWMAN et al. 1998). Bei den Ponyhengsten in der vorliegenden Studie lag die basale GH-Sekretion im physiologischen Bereich, so daß ein Ausbleiben einer Absenkung der GH-Sekretion hier nicht unbedingt zu erwarten war. Bei gesunden Menschen bestehen kontroverse Beobachtungen über den Einfluß von Octreotid auf die GH-Sekretion. Bei Menschen mit physiologischer GH-Sekretion kann in Ruhe innerhalb von 8 Stunden nach Octreotid-Applikation eine Absenkung der GH-Konzentration induziert werden (MULLIGAN et al. 1999). Bei Hemmung einer durch körperliche Anstrengung induzierten GH-Sekretion durch Octreotid wird jedoch kein Abfall der GH-Sekretion unter die Ausgangskonzentration induziert, so daß hier kein direkter Effekt auf die basale GH-Konzentration beobachtet wurde (DI-LUIGI et al. 1997). Die GH-Konzentration der Ponyhengste während der 10tägigen Octreotid-Behandlung wurde zwar nicht abgesenkt, aber es wurden - im Gegensatz zur 10tägigen Kontrollbehandlung - Schwankungen der GH-Konzentrationen beobachtet. Dabei wurden aber nicht nur niedrigere, sondern häufig höhere GH-Plasmakonzentrationen gemessen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Langzeitbehandlung mit dem Somatostatin-Analogen Octreotid also nicht bei allen Spezies zu einer Absenkung der GH-Konzentration führt. Beim Schwein ist sogar ein Anstieg der GH-Sekretion nach Octreotid-Behandlung beschrieben worden (ELSAESSER und PARVIZI 1996). Es kann vermutet werden, daß die Octreotid-Behandlung solche unerwarteten Erhöhungen oder Schwankungen der GH-Sekretion durch eine Störung der endogenen, die GH-Konzentration physiologischerweise auf einem konstanten Niveau haltenden Regelkreise verursacht, wenn die Octreotid-Applikation nicht in adäquaten Intervallen stattfindet.

Trotz einer ausbleibenden Absenkung der GH-Sekretion konnten bei den Ponyhengsten signifikante Auswirkungen der Octreotid-Behandlung auf die Hodenfunktion festgestellt werden. Diese äußerten sich zum einen in einer reduzierten Spermienmotilität, die unmittelbar nach Behandlungsende manifest war und sich innerhalb weniger Tage wieder erholte. Spermiengesamtzahl und Dichte der gewonnenen Ejakulate sowie Spermienmorphologie wurden dagegen nicht beeinflusst. Diese Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit Studien an GH-defizienten Ratten,

bei denen ebenfalls eine reduzierte Spermienmotilität bei gegenüber gesunden Kontrolltieren erhaltener Ejakulatdichte und Spermienmorphologie beobachtet worden ist (BREIER et al. 1996). Behandlung mit rekombinanten GH führte zu einer signifikanten Verbesserung der Spermienmotilität (BREIER et al. 1996), wie sie auch bei subfertilen Männern nach GH-Substitution beschrieben ist (HULL und HARVEY 2000). Beim Menschen kann die Spermienproduktion durch GH dagegen nicht beeinflusst werden (LEE et al. 1995). Über welche Mechanismen GH bei verschiedenen Spezies gerade die Spermienmotilität, nicht aber andere Ejakulatparameter beeinflusst, ist bisher nicht bekannt und konnte auch durch ausführliche Studien an transgenen, humanes oder bovines Wachstumshormon exprimierenden Mäusen nicht geklärt werden (BARTKE et al. 1992).

Ein weiterer Effekt der Octreotid-Behandlung der Hengste in der vorliegenden Studie war die Reduktion einer hCG-induzierten Testosteron-Sekretion am letzten Behandlungstag, gleichzeitig blieb die basale Testosteronkonzentration im Plasma vor hCG-Applikation aber unbeeinflusst von der Somatostatin-Behandlung. Eine Beteiligung von Wachstumshormon an der Regulation der testikulären Steroidbiosynthese bei verschiedenen Spezies ist aus in vivo (Maus: CHATELAIN et al. 1991; GHOSH und BARTKE 1993; Rind: BORROMEO et al. 1996) und in vitro (Maus: VARADARAJ-CHANDRASHEKAR et al. 1999; Schwein: NICOLL et al. 1986; Rind: SIROTKIN et al. 1997) Experimenten bekannt. Diese besteht in einer Modifikation der Aktivität verschiedener, an der testikulären Steroidbiosynthese beteiligter Enzyme (GHOSH und BARTKE 1993). Darüber hinaus kann die gonadale Steroidbiosynthese aber nicht nur über GH direkt, sondern auch über eine GH-induzierte Beeinflussung der IGF-1-Sekretion verändert werden (CHATELAIN et al. 1991). In Übereinstimmung mit den an Ponyhengsten beobachteten Ergebnissen liegt bei GH-defizienten Mäusen keine Absenkung der basalen Testosteronkonzentration, aber eine signifikante Reduktion der hCG-induzierten Testosteronsekretion vor (CHATELAIN et al. 1991; VARADARAJ-CHANDRASHEKAR et al. 1999). Bei GH-defizienten Zwergmäusen kann die reduzierte hCG-induzierte Testosteronsekretion sowohl durch Substitution von GH als auch von IGF-1 normalisiert werden, gleichzeitig nimmt die Zahl der testikulären LH-Rezeptoren zu (CHATELAIN et al. 1991). Da in den eigenen Experimenten keine Bestimmung der IGF-1-Konzentration im Plasma erfolgt ist und darüber hinaus eine Beeinflussung der testikulären IGF-1 Synthese auch nicht unbedingt zu signifikanten Änderungen der IGF1-Konzentration in der Körperperipherie führen muß, kann aufgrund der eigenen Ergebnisse keine Aussage

darüber gemacht werden, ob die Änderungen der hCG-induzierten Testosteronsekretion direkt durch GH oder indirekt durch IGF-1 verursacht wurden.

4.3 Opioiderge Regulation der GH-Sekretion beim Ponyhengst

Der Opiatantagonist Naloxon bewirkte bei den Ponyhengsten während der Zuchtsaison im Juni einen signifikanten, außerhalb der Zuchtsaison im Januar einen tendenziellen Anstieg der Plasmakonzentration von GH. Dabei wurde die maximale GH-Konzentration 60 Minuten nach Naloxonapplikation erreicht, war aber nach 120 Minuten schon wieder zur Basalkonzentration zurückgekehrt. Eine opioiderge Hemmung der GH-Sekretion konnte analog zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie auch bei ovarintakten Ponystuten nachgewiesen werden, während Naloxon bei ovariectomierten Stuten zu keinen Änderungen der GH-Sekretion führt. Analog zu den an Hengsten erhobenen Befunden war die Naloxon-induzierte GH-Sekretion bei saisonal anovulatorischen Stuten, d.h. außerhalb der Zuchtsaison nicht so ausgeprägt wie während der Zuchtsaison (AURICH et al. 1999). Die Ergebnisse zeigen eine opioiderge Regulation der GH-Sekretion für das Pferd. Die Aktivität der die GH-Sekretion hemmenden opioidergen Systeme wird offensichtlich durch gonadale Steroidhormone aktiviert, wobei jedoch zusätzlich eine saisonale Modifikation vorliegt. Eine ausgeprägtere Zunahme der GH-Sekretion nach Naloxonapplikation geht dabei sowohl bei weiblichen (AURICH et al. 1999) als auch bei männlichen Pferden mit einer vermehrten gonadalen Aktivität einher. Dies könnte auf einen ausgeprägteren Tonus der opioidergen Systeme während der Zuchtsaison hindeuten. Es ist aber auch denkbar, daß der hypophysäre GH-Pool, der durch die Aufhebung der opioidergen Hemmung mit Naloxon freigesetzt wird, während der Zuchtsaison größer ist. Eine opioiderge, durch saisonale Einflüsse modifizierte Sekretionshemmung wurde beim Hengst auch für die hypophysären Hormone LH und Prolaktin nachgewiesen (AURICH al. 1994 und 1995). Opioiderge Einflüsse auf die GH-Sekretion wurden darüberhinaus auch beim Schwein intensiv untersucht. Bei dieser Spezies konnte nachgewiesen werden, daß die opioiderge Hemmung der GH-Sekretion sowohl über GRF (Wachstumshormon Releasing Factor) als auch GRF-unabhängig vermittelt wird (ARMSTRONG et al. 1990). Einzelheiten der zentralnervösen Abläufe bei der opioidergen Regulation der GH-Sekretion sind dagegen beim Pferd bislang nicht untersucht worden. Im Gegensatz zur Existenz einer opioidergen Hemmung der GH-Sekretion bei diesen Spezies gibt es beim Mann Hinweise auf das Vorliegen einer opioidergen Stimulation der GH-Freisetzung (TOMASI et al. 1998).

4.4 Schlußfolgerungen

Zusammenfassend wurde in den eigenen Untersuchungen nachgewiesen, daß GH eine Bedeutung für die Regulation der Hodenfunktion beim Pferd besitzt. Die GH-Sekretion unterliegt dabei wie die Freisetzung anderer hypophysärer Hormone einer opioidergen Hemmung. Es kann vermutet werden, daß beim Hengst wie beim Mann Störungen der GH-Sekretion zu einer Beeinträchtigung der Hodenfunktion mit nachfolgender Sub- und Infertilität führen können. Ein therapeutischer Einsatz von Wachstumshormon könnte aufgrund dieser Ergebnisse zu Verbesserungen der Fertilität bei Hengsten mit verminderter Samenmotilität führen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Stefanie Kranski (2002):

Untersuchungen zur Bedeutung von Wachstumshormon für die Regulation der Hodenfunktion beim Ponyhengst

Das somatotrophe System ist an der Regulation von Fortpflanzungsfunktionen beteiligt, und es konnte nachgewiesen werden, daß Störungen in der Sekretion von Wachstumshormon (GH) bei verschiedenen Spezies mit Sub- oder Infertilität einhergehen. Während beim weiblichen Pferd eine Bedeutung von GH für die Regulation der Ovarfunktion gezeigt wurde, ist nur wenig über Wachstumshormon beim Hengst bekannt. Es war daher das Ziel der vorliegenden Arbeit, Einzelheiten über die GH-Sekretion beim männlichen Pferd zu beschreiben. Darüber hinaus sollte die Wirkung einer experimentellen Absenkung der Wachstumshormonsekretion auf die Hodenfunktion untersucht werden.

Die Untersuchungen wurden an sechs gesunden, fertilen Shetlandponyhengsten (Alter 5 bis 7 Jahre, Gewicht 150 bis 180 kg) durchgeführt. Für die Bestimmung möglicher saisonaler Einflüsse auf die GH-Freisetzung wurden über 12 Monate Blutproben in zweiwöchigen Abständen entnommen. Hier erfolgte außerdem die Bestimmung der Testosteronkonzentration und es wurde eine Samenentnahme zur Feststellung der Ejakulatparameter Volumen, Dichte, Spermiengesamtzahl, Spermienmotilität, -morphologie und pH-Wert durchgeführt. Im Juni und Januar wurde untersucht, ob endogene opioiderge Systeme an der Regulation der GH-Freisetzung beteiligt sind. Dazu wurden an zwei Tagen Blutproben über 180 Minuten in 15-Minuten-Intervallen entnommen. Nach 60 Minuten erhielten alle Hengste den Opiatantagonisten Naloxon (0,5 mg/kg) oder 0,9% NaCl-Lösung injiziert, wobei die Hälfte der Hengste Naloxon am ersten und 0,9% NaCl-Lösung am zweiten Versuchstag erhielt, während die andere Hälfte der Versuchsgruppe in umgekehrter Reihenfolge behandelt wurde, so daß die Hengste als eigene Kontrolle dienten. Außerdem wurde der Einfluß einer 10-tägigen Behandlung mit dem Somatostatinanalogon Octreotid auf GH-Sekretion, die testikuläre Stimulierbarkeit mit hCG (humanes Choriongonadotropin) untersucht.

dotropin) und die Samenqualität untersucht. Dazu wurden über 10 Tage in 12-Stunden-Intervallen Blutproben entnommen, die unmittelbar vor einer Verabreichung von Octreotid (0,1 mg; Sandostatin; Novartis, Basel, Schweiz) oder 0,9% NaCl gefolgt wurden. Alle Hengste erhielten beide Behandlungen im Abstand von 12 Wochen (Juni und September) jeweils in wechselnder Reihenfolge, so daß sie wiederum als eigene Kontrolle dienten. Am letzten Tag der Behandlung erfolgte eine Blutprobenentnahme über 240 Minuten in 15-Minuten-Intervallen, wobei nach 120 Minuten 3000 IE hCG (Chorulon, Intervet, Vienna, Austria) intravenös injiziert wurden. In den Blutproben erfolgte die Bestimmung von Testosteron. Einen Tag vor der 10-tägigen Behandlung sowie an den 5 an die Behandlung anschließenden Tagen wurde bei allen Tieren eine Samenentnahme mittels künstlicher Scheide durchgeführt und die Samenqualität (Volumen, Dichte, Spermiengesamtzahl, Motilität, Spermienmorphologie, pH-Wert) bestimmt.

Bei den Hengsten wurden niedrigste Plasmatestosteronkonzentrationen im Januar ($0,2 \pm 0,06$ ng/ml) und höchste im April ($1,4 \pm 0,3$ ng/ml, $p < 0,05$) festgestellt. Im Juli ($0,7 \pm 0,2$ ng/ml) und Oktober ($0,7 \pm 0,3$ ng/ml) lagen intermediäre Testosteronkonzentrationen im Plasma vor. Die GH-Plasmakonzentration zeigte dagegen über die 12-monatige Untersuchungsdauer keine signifikanten Schwankungen (Januar: $1,0 \pm 0,1$; April: $0,9 \pm 0,3$; Juli: $0,9 \pm 0,2$; Oktober: $1,2 \pm 0,3$ ng/ml; n.s.). Ejakulatvolumen und Spermiengesamtzahl waren im Juli tendenziell höher, während die Ejakulatdichte niedriger war als zu den anderen Untersuchungszeitpunkten. Es konnten keine Korrelationen zwischen der Plasma-GH-Konzentration und Samenparametern festgestellt werden.

Die Injektion des Opiatantagonisten Naloxon führte im Juni zu einem signifikanten Anstieg der GH-Konzentration ($1,1 \pm 0,3$ ng/ml vor, $3,7 \pm 2,2$ ng/ml 60 Minuten nach Naloxon-Injektion), im Januar konnte dagegen nur ein kleinerer und nicht signifikanter Anstieg festgestellt werden.

Während der 10-tägigen Behandlungsperiode mit Octreotid variierte die GH-Konzentration zwischen $0,8 \pm 0,2$ und $1,6 \pm 0,7$ ng/ml, während der Kontrollperiode (10-

tägige Behandlung mit 0,9% NaCl) zwischen $0,8 \pm 0,2$ und $1,4 \pm 0,5$ ng/ml (n.s.). Am letzten Tag führte die hCG-Injektion bei den mit 0,9% NaCl behandelten Tieren zu einer signifikant höheren Testosteronsekretion als wenn die Tiere mit Octreotid behandelt wurden (0,9% NaCl: $0,4 \pm 0,2$ ng/ml vor, $4,0 \pm 1,0$ ng/ml 45 min nach hCG; Octreotid: $0,3 \pm 0,04$ ng/ml vor, $2,8 \pm 1,1$ ng/ml 45 min nach hCG; $p < 0,05$). Spermien-gesamtzahl, Ejakulatvolumen und -dichte sowie Samenmorphologie und pH-Wert unterschieden sich nicht zwischen den am Tag vor und am ersten Tag nach der Octreotid-Behandlung gewonnenen Ejakulaten. Während sich hinsichtlich Ejakulatvolumen und -dichte keine Änderungen in den an 5 aufeinanderfolgenden Tagen gewonnenen Ejakulaten zeigten, wurde eine signifikante Abnahme der Spermien-gesamtzahl nachgewiesen. Es bestanden jedoch keine Unterschiede zwischen den mit Octreotid und 0,9% NaCl-Vorbehandlungen. Bei den mit Octreotid behandelten Tieren war die Spermienmotilität am ersten Tag nach der Behandlung ($28,7 \pm 6,5$ %) signifikant niedriger ($p < 0,05$) als vor der Behandlung ($38,7 \pm 8,4$ %), und es wurde eine weitere Abnahme der Spermienmotilität bis zum dritten Tag ($18,3 \pm 5,4$ %) registriert. Vergleichswerte für die 10tägige Behandlung mit 0,9% NaCl waren $45,0 \pm 9,2$ % vor, $38,3 \pm 6,5$ % am ersten Tag und $37,7 \pm 5,6$ % am dritten Tag nach Behandlung (n.s.). Nach Octreotid-Behandlung wurde am fünften Tag nach Behandlungsende eine Spermienmotilität von $35,0 \pm 8,5$ % festgestellt.

Die Ergebnisse der Studie bestätigen erneut eine saisonale Abhängigkeit der Testosteronfreisetzung und Samenqualität beim Hengst, dagegen konnte keine saisonale Schwankung der GH-Sekretion nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu existiert aber offensichtlich eine saisonale Abhängigkeit einer opioidergen Hemmung der GH-Sekretion beim Hengst. Die Ergebnisse lassen eine steroid-gesteuerte Freisetzung von GH vermuten, die durch saisonal-abhängige opioiderge Mechanismen eine Feinregulation erfährt. Eine vorübergehende Abnahme von Spermienmotilität und hCG-induzierter Testosteronsekretion nach Behandlung mit dem Somatostatin-Analogon Octreotid zeigt die Bedeutung von GH für die Regulation der Hodenfunktion beim Hengst. Es kann vermutet werden, daß Störungen der GH-Sekretion auch bei dieser Spezies zu Störungen der Fertilität beitragen.

6. SUMMARY

Stefanie Kranski (2002):

Investigations on the involvement of growth hormone in the regulation of testicular function in the pony stallion

An involvement of the somatotrophic system in the regulation of reproductive function has been shown recently and it could be demonstrated that disturbances of growth hormone (GH) release are associated with sub- or infertility in different species. However, while an involvement of GH in the regulation of ovarian function could be demonstrated in the female horse, little is known about GH release in stallions. It was the aim of the present study to determine details on the secretion of growth hormone in the male horse and to investigate an effect of an experimental decrease of growth hormone release on testicular function.

Investigations were performed in 6 healthy fertile Shetland stallions (age: 5-7 years, weight: 150-180kg). For the determination of possible seasonal effects on GH secretion, blood was sampled at 2-week-intervals for 12 months. Semen was collected and volume, density, total sperm count, semen motility, morphology and pH were determined. In June and January, a possible opioidergic influence on GH release was investigated. Blood samples were taken over 180 min at 15 min-intervals. Stallions were given the opiat-antagonist naloxone (0.5 mg/kg) and saline 2 days apart at random order and thus served as their own controls. Effects of a 10-day-treatment with the somatostatin analogue octreotid on secretion of GH, testicular responsiveness to hCG and semen quality were investigated. Blood was taken twice daily for a 10-day period, always followed by administration of octreotid (0,1 mg; Sandostatin; Novartis, Basel, Switzerland) or saline. Both treatments were given to every stallion at 12-week intervals (June and September) with half of the stallions receiving saline and the other half receiving octreotid first. On the last day of treatment, blood was sampled over 240 min at 15 min-intervals. After 120 min, hCG (3000 I.E., Chorulon, Intervet, Vienna, Austria) was given i.v.. Testosterone was determined by ELISA. One day before the 10-day-treatment and on 5 consecutive

days following treatment, semen was collected. Volume, density, total sperm count, semen motility, spermatozoal morphology and pH were determined.

Testosterone concentrations were lowest in January (0.2 ± 0.06 ng/ml) and highest in April (1.4 ± 0.3 ng/ml, $p < 0.05$). In July (0.7 ± 0.2 ng/ml) and October (0.7 ± 0.3 ng/ml), intermediate concentrations of testosterone were found. GH concentration in plasma did not show any significant differences over a 12-month period (January: 1.0 ± 0.1 ; April: 0.9 ± 0.3 ; July: 0.9 ± 0.2 ; October: 1.2 ± 0.3 ng/ml; n.s.). Volume of ejaculates and total sperm count tended to be higher in July while semen density was reduced. No correlations between GH concentration and any semen parameter could be demonstrated.

Injection of the opiate antagonist naloxone significantly increased GH release in June (from 1.1 ± 0.3 ng/ml before to 3.7 ± 2.2 ng/ml 60 min after naloxone), while a minor and not significant increase occurred in January. The area under the curve (0 to 120 min after injection) was 6.6 ± 5.9 ng/ml 15 min for naloxone-treated and -3.3 ± 1.3 for saline-treated stallions in June ($p < 0.05$), corresponding values in January were 10.4 ± 2.5 and 2.7 ± 2.4 ng/ml 15 min (n.s.).

Over the 10-day treatment period, GH concentrations varied between 0.8 ± 0.2 and 1.4 ± 0.5 ng/ml in saline-treated and between 0.8 ± 0.2 and 1.6 ± 0.7 ng/ml in octreotid-treated animals (n.s.). On the last day of treatment, hCG increased testosterone release to a significantly higher extent in saline-treated than in octreotid-treated animals (saline: from 0.4 ± 0.2 ng/ml before to 4.0 ± 1.0 ng/ml 45 min after hCG; octreotid: from 0.3 ± 0.04 ng/ml before to 2.8 ± 1.1 ng/ml 45 min after hCG; $p < 0.05$). Total sperm count, volume and density of ejaculates, semen morphology and pH did not differ before and on the first day after treatment in saline- and octreotid-treated animals. While volume and density of ejaculates as well as semen morphology did not change on five consecutive days, a significant decrease in total sperm count was determined, but did not differ between the two treatments. In the octreotid-treated stallions, semen motility on the first day after treatment (28.7 ± 6.5 %) was signifi-

cantly lower ($p < 0.05$) than before treatment (38.7 ± 8.4 %) and further decreased to 18.3 ± 5.4 % on the third day. Corresponding values for saline-treated animals were 38.3 ± 6.5 , 45.0 ± 9.2 and 37.7 ± 5.6 % (n.s.). In the octreotid-treated animals, values returned to 35.0 ± 8.5 % on the fifth day after treatment.

Results of the study confirm a seasonal variation in testosterone release and semen quality in the stallion, while they could not show any seasonal changes in GH release. In contrast, a seasonal variation of an opioidergic inhibition on GH secretion exists in the stallion. Results seem to suggest a continuous steroid-dependent secretion of GH with a fine-modulation by season-dependent opioidergic mechanisms in the male horse. A transient decrease in semen motility and hCG-induced testosterone release following octreotid treatment demonstrate a role of GH in the regulation of testicular function in the male horse and suggest that disturbances in GH release might contribute to subfertility in stallions.

7. Literaturverzeichnis

AHMED, H. H., FAYEZ, M., MEITES, J. (1989):

Episodic growth hormone secretory pattern in male rats: relationship to gonadal steroids.

J. Vet. Med. 36, 292-298

ALDRICH, S. L., BERGER, L. L., KESLER, D. J., NASH, T. G., McCUSKER, R. H. (1996):

Effects of prenatal androgenization and postnatal steroid treatment on growth hormone, insulin-like growth factor I and II, insulin thyroxine and triiodothyronine concentrations in beef heifers.

J Anim Sci 75, 420-428

AMANN, R., P.(1992):

Physiology and endocrinology

In: Mc Kinnon A. O. and Voss, Equine reproduction

Chapter 77, 674

ISBN 0-8121-1427-2

ARBONA, J.R.; MARPLE, D.N.; RUSSELL,R.W.; RAHE, C.H.; MULVANEY, D.R. and SARTIN, J.L (1988):

Secretory patterns and metabolic clearance rate of porcine growth hormone in swine selected for growth.

J. Anim. Sci. 63, 3068

ARIMURA, A. (1981):

Recent progress in somatostatin research.

Biomed. Research 2, 233-257

ARIMURA, A., FISHBACK, J. B. (1981):

Somatostatin: regulation of secretion.

Neuroendocrinology, 33(4), 246-256

ARMSTRONG, J. D., ESBENSHADE, K. L., COFFEY, M. T., HEIMER, E. P., CAMPBELL, R. M., MOWLES, T., FELIX, A. (1990):

Opioid control of growth hormone in the suckled sow is primarily mediated through growth hormone releasing factor.

Domestic animal endocrinology. 7 (2),191-198

AURICH, C; SIEME, H. und SCHLOTE, S. (1994):

Involvement of endogenous opioids in the regulation of LH and testosterone release in the male horse

J. Reprod. Fertil. 102, 327-336

- AURICH, C.; GERLACH, T.; AURICH, J.E. (1998)
Regulation und Diagnostik von Fortpflanzungsfunktionen beim Hengst
Pferdeheilkunde 14 (3), (Mai/Juni) 241-249
- AURICH, C., GERLACH, T., AURICH, J. E., PARVIZI, N. (1999):
Seasonal variation and opioidergic regulation of growth hormone release in cyclic, ovariectomized, and pregnant pony mares.
Biology of reproduction 61, 1575-1580
- BARTKE, A., NAAR, E. M., JOHNSON, L., MAY M. R., CECIM M., YUN J. S., WAGNER T. E. (1992):
Effects of expression of human or bovine growth hormone genes on sperm production and male reproductive performance in four lines of transgenic mice.
Journal of reproduction and fertility, 95, 109-118
- BASSETT, J.M. (1972):
Plasma glucagon concentrations in sheep: Their regulation and relation to concentrations of insulin and growth hormone.
Aust. J. Biol. Sci. 25,1277
- BASSETT, J. M. (1974):
Early changes in plasma insulin and growth hormone levels after feeding in lambs and adult sheep.
Aust. J. Biol. Sci. 27,157
- BASSETT, J. M. (1974):
Diurnal patterns of plasma insulin, growth hormone, corticosteroid and metabolite concentrations in fed and fasted sheep.
Aust. J. Biol. Sci. 27,167
- BASSETT N. S., and GLUCKMAN P.D. (1986):
Pulsatile growth hormone secretion in the ovine fetus and neonatal lamb.
J. Endocr. 109, 307-312
- BECK- PECCOZ, P., MARIOTTI, S., GUILLAUSSEAU, P. J., MEDRI, G., PISCITELLI, G., BERTOLI, A., BARBARINO, A., RONDENA, M., CHANSON, P., PINCHERA, A. et al. (1989):
Treatment of hyperthyroidism due to inappropriate secretion of thyrotropin with the somatostatin analog SMS 201-995.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 68, 208-214
- BERNDTSON, W. E.; PICKETT, B. W. und NETT, T. M. (1974):
Reproductive physiology of the stallion. IV. Seasonal changes in the testosterone concentration of peripheral plasma.
J. Reprod. Fertil. 39, 115-118

- BORROMEO, V., BRAMANI, S., BERRINI, A., SIRONI, G., FINAZZI, M., CREMONESI, F., SECCHI, C. (1996):
Growth hormone but not prolactin concentrations in the fluid of bovine ovarian cysts are related to the cystic stage of luteinization.
Theriogenology, 46(3), 481-489
- BRAZEAU, P., VALE, W., BURGUS, R., LING, N., BUTCHER, M., RIVIER, J., GUILLEMIN, R. (1973):
Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone.
Science 179, 77-79
- BREIER, B. H., VICKERS, M. H., GRAVANCE, C. G., and CASEY P. J (1998):
Therapy with growth hormone: major prospects for the treatment of male subfertility?
Endocrine journal 45 Supplement S53-S60
- BUONOMO, F.C.; RUFFIN, D.S.; BRENDMEUHL, J.P.; VEENHUIZEN, J.J.; and SARTIN, J.L. (1996):
The effects of bovine somatotropin (bST) and porcine somatotropin (pST) on growth factor and metabolic variables in horses
J. of Animal Science, 74 (4), 886-894
- CEDA GP, DAVIS RG, ROSENFELD RG and HOFFMAN A.R. (1987):
The growth hormone (GH)- releasing hormone (GHRH)-GH-somatomedin axis: evidence for rapid inhibition of GHRH-elicited GH release by insulin-like growth factors I and II.
Endocrinology, 120, 1658-1662
- CHATELAIN, P. G., SANCHES, P., SAEZ, J. M. (1991):
Growth hormone and insulin- like growth factor I treatment increase testicular luteinizing hormone receptors and steroidogenic responsiveness of growth hormone deficient dwarf mice.
Endocrinology, 128, 1857-1862
- CHRISTENSEN,R.A.; MALINOWSKI, K.; SCANES, C.G.; and HAFS, H.D. (1997):
Pulsatile realease of somatotropin related to meal feeding and somatotropin response to secretagogues in horses.
J. Anim. Sci. 75 (10), 2770-2777
- CLAUS, R., BINGEL, A., HOFÄCKER, S., WEILER, U. (1990):
Twenty four hour profiles of growth hormone (GH) concentrations in mature female and entire male domestic pigs in comparison with mature wild boars (*Sus scrofa*)
Livest. Prod. Sci 25, 247-255

CLAY, C.M.; SQUIRES, E.L.; AMANN, R.P.; CLAY, J.N.; and PICKETT, B.W. (1991):
Influence of season on the temporal association between concentrations of LH and
FSH in frequent blood samples from stallions
J. Reprod. Fert., Suppl. 44, 668-669

CONSOLE, G. M., DUMM, C. L. A. G., and GOYA, R. G. (1993):
Impact of ageing on the morphology and function of the somatotroph cell population
in rats.
Mech. Ageing Dev., 70, 45

COX, J.E.; WILLIAMS, J.H. (1975):
Some aspects of the reproductive endocrinology of the stallion and cryptorchid
J. Reprod. Fert., Suppl. 23, 75-79

CUTTLER, L., GLAUM, S. R., COLLINS, B. A., and MILLER, R.J. (1992):
Calcium signalling in single growth- hormone- releasing factor- responsive pituitary
cells.
Endocrinology (Baltimore), Vol. 130(2), 945-953

DART, A.J.; STRONG, M.; ROSE, R.J.; and HODGSON, D.R. (1998):
Effects of two large doses of equine recombinant growth hormone on clinical,
haematological and serum biochemical variables in adult horses.
Aust. Vet. J. Vol. 76(5), 339-342

DARVODELSKY, A. M., DAVEY, M. W., REID, A. M., TITCHEN, D. A., WANG, X.
(1988):
Immunochemical characterisation of somatostatin in ruminants.
Regul. Pept. 20(2), 161-170

De KLOET, E. R.; und VOORHUIS, T. A. M. (1992):
Neuropeptides, steroid hormones, stress and reproduction
J. Controlled Release 21, 105-116

DI LUIGI, L., CONTI, F. G., CASINI, A., GUIDETTI, L., ZEZZE, G., PIGOZZI, F.,
SPERA, G., FORTUNIO, G., ROMANELLI, F. (1997):
Growth hormone and insulin- like growth factor I responses to moderate submaximal
acute physical exercise in man: Effects of octreotide, a somatostatin analogue,
administration.
International journal of sports medicine. 18(4), 257-263

EIGENMANN, J.E (1981):
Diagnosis and treatment of dwarfism in a German shepherd dog.
J Am Anim Hosp Ass 17, 798-804

EISENHAUER, K.M., Mc CUE, P.M.; NAYDEN, D.K.; OSAWA, Y. und ROSER, J.F.
Localization of aromatase in equine leydig cells (1994):
Domestic Anim. Endocrinol. 11, 291-298

EISENHAUER, K.M. und ROSER, J.F. (1995):
Effects of lipoproteins, eLH, eFSH and ePRL on equine testicular steroidogenesis in vitro
J. Androl. 16, 18-27

ELSAESSER, F., PARVIZI, N. (1996):
20 years research in the section of endocrinology at mariensee: recent results of research on the hormonal and molecular control of growth in pigs.
Züchtungskunde, 68(4), 280-296

FARMER, P. K., TYLER, J. M., and STACHURA, M. E. (1989):
Monensin influences basal and human growth hormone- releasing hormone 44- induced release of stored and new rat growth hormone and prolactin.
Mol. Cell. Endocrinol., 62, 253

FINKELSTEIN, J. W., ROFFWARG, H. P., BOYAR, R. M., KREAM, J., HELLMAN, L. (1972):
Age-related change in the twenty-four-hour spontaneous secretion of growth hormone.
J. clin. Endocrinol. Metab. 35(5), 665-670

FRANKS, S. (1998):
Growth hormone and ovarian function.
Bailliers Clinical Endocrinology and Metabolism, 12, 331-340

GLUCKMAN, P. D., MUELLER, P. L., KAPLAN, S. L., RUDOLPH, A. M., GRUMBACH, M. M: (1979):
Hormone ontogeny in the ovine fetus.
Circulating growth hormone in mid and late gestation.
Endocrinology ,104(1), 162-168

GOSH, P. K., BARTKE, A. (1993):
Effects of the expression of bovine growth hormone on the testes and male accessory reproductive glands in transgenic mice.
Transgenic research. 2(2), 79-83

GRAVANCE, C. G., BREIER, B. H., VICKERS M. H.,and CASEY, P. J. (1997):
Impaired sperm characteristics in postpubertal growth-hormone-deficient dwarf (dw/dw) rats.
Animal Reproduction Science 49, 71-76

GREENWOOD, F. C., HUNTER, W. M., GLOVER, J. S. (1963):
The preparation of the I-labelled growth hormone of high specific radioactivity.
Biochemical journal 89, 114-123

GUYTON, A., C.

Textbook of medical physiology (7th edition)
W. B. Saunders Co., Philadelphia, PA , 884-896

HARTREE STOCKELL, A., MILLS, J. B., WELCH, R. A. S., THOMAS, M. (1968):
Fractionation of protein hormones from horse pituitary glands.
J. Reprod. Fertil. 17(2), 291-303

HARVEY, S., SCANES, C. G., DAUGHADAY, W. H. (1995):
Growth hormone
CRC press
ISBN 0-8493-8697-7

HO, L. T., LAM, H. C., WANG, J. T. et al. (1986):
Establishment of a radioimmunoassay of somatostatin in human plasma and in rat hypothalamus.
Chinese J. Physiolog. 29, 91

HOELDTKE, R. D., ISRAEL, B. C. (1989):
Treatment of orthostatic hypotension with octreotide.
J. Clin Endocrinol. Metab. 68, 752-756

HOLL, R. W., THORNER, M. O., and LEONG, D. A. (1988):
Intracellular calcium concentration and growth hormone secretion in individual somatotropes: effects of growth-hormone-releasing factor and somatostatin
Endocrinology (Baltimore), Vol.122(6), 2927-2932

HOLTENIUS; K. (1994):
Effects of the long-acting somatostatin analogue octreotide on abomasal function and plasma level of insulin and glucagon in sheep
Acta vet. Scand. 35, 235-241

HOVE, K., and BLOOM, A. K. (1973):
Plasma insulin and growth hormone in dairy cows: Diurnal variation and relation to food intake and plasma sugar and acetoacetate levels.
Acta endocrinol. 73, 289

HULL, K.L.,and HARVEY, S. (2000):
Growth hormone: a reproductive endocrine-paracrine regulator?
Reviews of reproduction 5, 175-182

INVITTI, C., FATTI, L., CAMBONI, M. G., PORCU, L., DANRSI, L., DELITALA, G., CAVAGNINI, F. (1996):
Effect of chronic treatment with octreotide nasal powder on serum levels of growth hormone, insulin- like growth factor I , insulin- like growth factor binding proteins 1 and 3 in acromegalic patients.
Journal of endocrinological investigation 19(8), 548-555

JAROS, W., BILLER, J., GREER, S., O`DORISIO, T., GRAND, R. (1988):
Successful treatment of idiopathic secretory diarrhea of infancy with the somatostatin analogue SMS 201-995.
Gastroenterology 94, 189-193

JOHNSON, L. und THOMPSON, D. L. Jr. (1983):
Age- related and seasonal variation in the sertoli cell population, daily sperm production and serum concentrations of FSH, LH and testosterone in stallion.
Biol. Reprod. 29, 777- 789

KACSOH B; TERRY C; MEYERS JS; CROWLEY WR and GROSVENOR C.E. (1989):
Maternal modulation of growth hormone secretion in the neonatal rat. Involvement of milk factors.
Endocrinology 125, 1326-1336

KINEMAN, R. D., HENRICKS, D. M., FAUGHT, W. J., FRAWLEY; L. S. (1991):
Fluctuations in the proportions of growth hormone- and prolactin- secreting cells during the bovine estrous cycle.
Endocrinology 129, 1221-1225

KINEMAN, R. D., FAUGHT, J. W., FRAWLEY, S. L. (1992):
Steroids can modulate transdifferentiation of prolactin and growth hormone cells in bovine pituitary cultures.
Endocrinology 130, 3289-3294

KOERKER, D., RUCH, W., CHIDECKEL, E., PALMER, J., GOODNER, C., ENSINCK, J., GALE, C. (1974):
Somatostatin: Hypothalamic inhibitor of the endocrine pancreas.
Science 184, 482-484

KREJS, G. J. (1986):
Physiological role of somatostatin in the digestive tract: gastric acid secretion, intestinal absorption, and motility.
Scand. J. Gastroenterol. 21 (Suppl 119), 47-3

LARON, Z., and KLINGER, B. (1998):
Effect of insulin-like growth factor-I treatment on serum androgens and testicular and penile size in males with Laron syndrome (primary growth hormone resistance)
European journal of Endocrinology 138, 176-180

LEE, K. O., NG, S. C., LEE, P. S., BONGSO, A. T., TAYLOR, E. A., LIN, T. K., RATNAM, S. S.(1995):
Effect of growth hormone therapy in men with severe idiopathic oligozoospermia.
European journal of endocrinology. 132(2), 159-162

LI, C. H., DIXON, J. S. (1971):
Human pituitary growth hormone. 32. The primary structure of the hormone: revision.
Arch. Biochem. Biophys. 146, 233-236

LI, C.H.; DIXON, J. S.; GORDON, D.; KNORR, J. (1972):
Amino acid sequence of sheep pituitary growth hormone.
Int. J. Peptide Protein Res. 4, 151-153

LUSSIER, B. T. ; FRENCH, M. B.; MOOR, B. C.; KRAICER, J, (1991):
Free intracellular Ca²⁺ concentration and growth hormone release from purified rat somatotrophs.
I. GH-releasing factor-induced Ca²⁺ influx raises.
Endocrinology 128(1), 570-582

LUSSIER, B. T., WOOD, D. A., FRENCH, M. B. ; MOOR, B. C.; KRAICER, J. (1991):
Free intracellular Ca²⁺ concentration and growth hormone release from purified rat somatotrophs.
II. Somatostatin lowers by inhibiting Ca²⁺ influx.
Endocrinology 128(1), 583-591

LUSSIER, B. T.; FRENCH, M. B.; MOOR, B. C.; KRAICER, J. (1991):
Free intracellular Ca²⁺ concentration and growth hormone (GH) release from purified rat somatotrophs.
III. Mechanism of action of GH- releasing factor and somatostatin.
Endocrinology 128(1), 592-603

MALINOWSKI, K.; CHRISTENSEN, R.A.; KONOPKA, A.; SCANES, C.G., and HAFS, H.D. (1997):
Feed intake, body weight, body conditioning score, musculation, and immunocompetence in aged mares given equine somatotropin
J. of Animal Science 75(3), 755-760

MASON, W. T., DICKSON, S. L., and LENG, G. (1993):
Control of growth hormone secretion at the single cell level.
Acta Paediatr. Scand. 82, 84

Mc KEE, K. K., PALYHA, O. C., FEIGNER, S. D., HRENIUK, D. L., TAN, C. P., PHILIPS, M. S., SMITH, R. G., van der PLOEG, L. H., HOWARD, A. D. (1997):
Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors.
Mol.endocrinol. 11, 415-423

MEISTER, B., HOKFELT, T. (1992):
The somatostatin and growth hormone releasing factors systems.
In: Nemeroff CB, ed. Neuroendocrinology. 1st ed. Boca Raton: CRC Press,
1, 219-278

MELROSE, P. A., BS, MS, PhD; KNIGGE, K. M., BS, PhD (1993):
Cellular distribution of immunoreactive somatostatin in the basal forebrain of horses and ponies.
J. Equine veterinary Science 13(10), 573-576

MOL, J. A., and RIJNBERK, A.
Pituitary function (1997).
Clinical biochemistry of domestic animals. 5, 517-551.

MOMANY FA, BOWERS CY, REYNOLDS GA, CHANG D, HONG A, and
NEWLANDER K. (1981):
Design, synthesis and biological activity of peptides which release growth hormone, in vitro.
Endocrinology 108, 31-39

MULLIGAN, T., JAEN-VINUALES, A., GODSCHALK, M., IRANMANESH, A.,
VELDHUIS, J. D. (1999);
Synthetic somatostatin analog (octreotid) suppresses daytime growth hormone secretion equivalently in young and older men: Preserved pituitary responsiveness to somatostatin`s inhibition in aging.
Journal of the american geriatrics society. 47(12), 1422-1424

NEWMAN, C. B., MELMED, S., GEORGE, A., TORIGIAN, D., DUHANEY, M.,
SNYDER, P., YOUNG, W., KLIBANSKI, A., MOLITCH, M. E., GAGEL, R.,
SHEELER, L., COOK, D., MALARKEY, W., JACKSON, I., VANCE, M. L., BARKAN, A., FROHMAN, L., KLEINBERG, D. L. (1998):
Octreotide as primary therapy for acromegaly.
Journal of clinical endocrinology and metabolism. 83(9), 3034-3040

NICOLL, C. S., MAYER G. L., RUSSELL, S. M.(1986):
Structural features of prolactins and growth hormones that can be related to their biological properties.
Endocrine reviews. 7(2), 169-203

NIKLOWITZ, P.; KHAN, S.; BERGMANN, M.; HOFFMANN, K. und NIESCHLAG, E. (1989):
Differential effects of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone on leydig cell function and restoration of spermatogenesis in hypophysectomized and photoinhibited djungarian hamsters (Phodopus sungorus).
Biol. Reprod. 41, 871-880

NORUSIS, M. J.
SPSS/Pc+ for the IBM PC/XT/AT and PS2.
SPSS Inc., Chicago

- OVESEN, P., JORGENSEN, J. O., INGERSLEV, J., ORSKOV, H., and CHRISTIANSEN, J. S. (1998):
Growth hormone treatment of men with reduced sperm quality.
Ugeskrift For Laeger 160, 176-180
- PALADINI, A. C.; DELLACHA, J. M.; SANTOME, J. A.(1973):
Studies on growth hormones
Molecular and cellular biochemistry 2(2), 153-155
- PELLEGRINI, E., BLUET-PAJOT, M. T., MOUNIER, F., BENNETT, P., KORDON, C.,EPELBAUM, J. (1996):
Central administration of a growth hormone (GH) receptor mRNA antisense increases GH pulsatility and decreases hypothalamic somatostatin expression in rat.
J Neurosci. 16, 8140-8148
- PICKETT, B. W., FAULKNER, L. C., SEIDEL, G. E., Jr., BERNDTSON, W. E., VOSS, J. L. (1976):
Reproductive physiology of the stallion.
VI. Seminal and behavioral characteristics.
J. animal science 43(3), 617-625
- PICKETT, B. (1992):
Factors affecting sperm production and output.
In: Mc Kinnon and Voss; Equine reproduction, chapter 78
ISBN 0-8121-1427-2
- PLOTSKY, PM, and VALE, W. (1985):
Patterns of growth hormone-releasing factor and somatostatin secretion into the hypophysial-portal circulation of the rat.
Science 230, 461-463
- PLOUZEK, C.A.; and TRENKLE, A. (1991):
Growth hormone parameters at four ages in intact and castrated male and female cattle.
Insulin-like growth factor-I concentrations in plasma of intact and castrated male and female cattle at four ages.
Domest.Anim. Endocrinol. 8(1), 63-72
- QUABBE, H-J., PLOCKINGER, U. (1989):
Dose response and long-term effect of the somatostatin analogue octreotid in patients with therapy - resistant acromegaly.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 68,873-881
- RIEUTORT M. (1974):
Pituitary content and plasma levels of growth hormone in foetal and weanling rats.
J.Endocr. 60, 261-268

RAESIDE, J. J. (1969):

The isolation of estrone sulphate and estadiol sulphate from the stallion testes.
Can. J. Biochem. 47, 811-815

ROSER, J.F. (1997) :

Endocrine basis for testicular function in the stallion
Theriogenology 48, 883-892

SANTOME, J. A., DELLACHA, J. M., PALADINI, A. C., PENA, C., BISCOGLIO, M. J.,
DAURAT, S. T., POSKUS, E., WOLFENSTEIN, C. E. M. (1973):

Primary structure of bovine growth hormone.
European J. Biochem. 37, 164-170

SAXENA, B.B.; HENNEMAN, P.H. (1966):

Preparation and properties of growth hormone from equine pituitary glands
Endocrinology 78(1), 561-567

SELMAN, P. J., MOL, J. A., RUTTEMAN, G. R., Van GARDEREN, E., and
RIJNBERK, A. (1994):

Progestin-induced growth hormone excess in the dog originates in the mammary
gland.
Endocrinology 134(1), 287-292

SCHUDZIARRA, V., HARRIS, V., CONLON, J., ARIMURA, A., UNGER, R. (1978):
Pancreatic and gastric somatostatin release in the response to intragastric and
intraduodenal nutrients and HCL in the lobe.

J. clin. Invest. 62, 509-518

SHEPPARD, M., SHAPIRO, B., PIMSTONE, B.; KRONHEIM, S.; BERELOWITZ, M.;
GREGORY, M. (1979):

Metabolic clearance and plasma half-disappearance time of exogenous somatostatin
in man.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 48(1), 50-53

SIROTKIN, A., MAKAREVICH, A., PIVKO, J., BULLA, J. (1997):

The use of cultured ovarian granulosa cells for evaluation of biological activity of
hypophysial hormones.
Biotehnologija u Stocarstvu. 13(3-4), 201-207

SOJKA, J. E., VMD, MS, WEISS, J. S., DVM; SAMUELS, M. L., PhD, GUEY-MEI
YOU, M. S. (1992):

Effects of the somatostatin analogue octreotide on gastric fluid pH in ponies.
Am J. Vet. Res 53(10), 1818-1820

- SPITERI-GRECH, J., and NIESCHLAG, E. (1992):
The role of growth hormone and insulin-like growth factor-I in the regulation of male reproductive function.
Hormone research 38(Suppl.1), 22-27
- STEWART, F.; GOODE, J.A.; ALLEN, W.R. (1993):
Growth hormone secretion in the horse: unusual pattern at birth and pulsatile secretion through to maturity
Journal of endocrinology 138, 81-89
- SUMMERS, S. T., CANONICO, P. L., Mac LEOD, R. M.; ROGOL, A. D.; CRONIN, M. J. (1985):
Phorbol esters affect pituitary growth hormone (GH) and prolactin release: the interaction with GH releasing factor, somatostatin and bromocriptine.
Eur. J. Pharmacol. 111(3), 371-376
- SUN, Y. K.; XI Y. P.; FENOGLIO, C. M., PUSHPARAJ, N.; O`TOOLE K. M.; KLEDIZIK, G. S.; NETTE, E. G.; KING, D. W. (1984):
The effect of age on the number of pituitary cells immunoreactive to growth hormone and prolactin.
Hum. Path. 15(2), 169
- THOMAS, M. G., BENNETT-WIMBUSH, K., KEISLER, D. H., LOCH, W. E..
Plasma concentrations of growth hormone and insulin-like growth factor-I in prepuberal quarter horses and ponies. (1998):
Journal of equine veterinary science 18(1), 52-55
- THOMPSON, D.L.; RAHMANIAN, M.S.; DePEW, C.L.; BURLEIGH, D.W.; DeSOUZA, C.J. and COLBORN, D.R. (1992):
Growth hormone in mares and stallions: Pulsatile secretion, response to Growth hormone-releasing hormone, and effects of exercise, sexual stimulation and pharmacological agents
J. Anim. Sci. 70, 1201-1207
- THOMPSON, Jr., D.L.; DePEW, C.L.; ORTIZ, A.; STICKER, L.S. RASHMANIAN, M.S. (1994):
Growth hormone and prolactin concentrations in plasma of horses: sex differences and the effect of acute exercise and administration of Growth hormone-releasing hormone
J. Anim. Sci. 72, 2911-2918
- TRENKLE, A. (1971):
Effect of diet upon levels of plasma growth hormone in sheep.
J. Anim.Sci. 32, 111-114

VARADARAJ-CHANDRASHEKAR, V and BARTKE, A. (1998):
The role of growth hormone in the control of gonadotropin secretion in adult male rats.
Endocrinology 139(3), 1067-1074

VOIGT, K. (1996):
Endokrines System
In: KLINKE, R. u. SILBERNAGL, S. (Hrsg.)
Lehrbuch der Physiologie
Verlag Georg Thieme Stuttgart, 2. Aufl.
S. 460-463

WEHRENBURG, W. B., LING, N., BÖHLEN, P., ESCH, F., BRAZEAU, P., and GUILLEMIN, R. (1982):
Physiological roles of somatocrinin and somatostatin in the regulation of growth hormone secretion.
Biochemical and Biophysical research communications 109(2), 562-567

WEINBAUER, G. F. und NIESCHLAG, E. (1990):
The role of testosterone in spermatogenesis.
In: Nieschlag, E. und Behre, H. M. (Hrsg.)
Testosterone- action, deficiency, substitution.
Springer- Verlag, Berlin, Heidelberg, 1. Aufl.
S. 23-50

WYNICK, D., POLAK, J. M., BLOOM, S. R. (1989):
Somatostatin and its analogues in the therapy of gastrointestinal disease.
Pharmacol. Ther 41, 353-370

YANG, H., WONG, H., WU, V. (1990):
Somatostatin monoclonal antibody immunoneutralization increases gastrin and gastric acid secretion in urethane- anesthetized rats.
Gastroenterology 99, 659-664

ZACHMANN, M.(1992):
Interrelations between growth hormone and sex hormones- physiology and therapeutic consequences
Hormone research 38, 1-8

ZOR, U. (1983):
Role of cytoskeletal organization in the regulation of adenylate cyclase-cyclic adenosine monophosphate by hormones.
Endocr. Rev. 4(1), 1-21

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden als Vortragsabstracts bereits an folgenden Stellen veröffentlicht:

C. Aurich, J.E. Aurich, S. Kranski und N. Parvizi (2002):
Somatostatin reduces sperm motility and testosterone release in stallions.
Reproduction, Abstract Series 27, Abstract 92.

C.Aurich, S. Kranski, J.E. Aurich und N. Parvizi:
Involvement of growth hormone in the regulation of testicular function in the Pony stallion.
Theriogenology (zur Veröffentlichung angenommen)

ERKLÄRUNG

Seelscheid, den 24.02.2002

Hiermit erkläre ich, dass ich die Dissertation mit dem Titel: „Untersuchungen zur Bedeutung von Wachstumshormon für die Regulation der Hodenfunktion beim Ponyhengst“ selbständig verfasst habe. Bei der Anfertigung wurden keine Hilfen Dritter in Anspruch genommen, abgesehen von den in der Dissertation angegebenen.

Ich habe keine entgeltliche Hilfe von Vermittlungs - bzw. Beratungsdiensten in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar entgeltliche Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Ich habe die Dissertation an der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der veterinärmedizinischen Universität Wien und im Institut für Tierzucht und Tierverhalten der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft angefertigt.

Die Dissertation wurde bisher nicht für eine Prüfung oder Promotion oder für einen ähnlichen Zweck zur Beurteilung eingereicht.

Ich versichere, dass ich die vorstehenden Angaben nach bestem Wissen vollständig und der Wahrheit entsprechend gemacht habe.

(Stefanie Kranski)

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich vor allem bei Frau Univ.-Prof. Dr. med. vet. Christine Aurich und Herrn Univ.-Prof. Dr. med. vet. Jörg Aurich für die freundliche Überlassung des interessanten Themas der Dissertation bedanken. Desweiteren danke ich beiden für ihren unermüdlichen Einsatz und ihre Hilfestellung, die erheblich zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

Frau Univ. Prof. Dr. Nahid Parvizi danke ich für das Interesse an meiner Arbeit und für Ihre Unterstützung.

Herrn Ronald Wittig und seinem Team im endokrinologischen Labor in Mariensee danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der GH-Assays.

Frau Sylvia Kluger danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Testosteronmessungen im Labor der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Universität Wien.

Dem gesamten Team der Klinik für Geburtshilfe der Universität Wien sei an dieser Stelle herzlich gedankt für Ihre Hilfe und Unterstützung, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben und danke, dass Ihr mich so herzlich bei euch aufgenommen habt.

Bei der deutschen Forschungsgemeinschaft bedanke ich mich für die finanzielle Förderung meines Forschungsvorhabens.

Last but not least danke ich meinen Eltern und allen guten Freunden, besonders meinem Freund Gerd, ohne deren moralische Unterstützung die Durchführung und Fertigstellung der Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

