Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 127 (1985)

Artikel: Die LH- und FSH-Sekretion boviner Hypophysenvorderlappenzellkulturen in Abhängigkeit vom Zyklusstadium, bei trächtigen Kühen und bei Kühen mit Ovarzysten

Autor: Braun, U.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-591628

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 16.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Schweiz. Arch. Tierheilk. *127,* 353–368, 1985

Gynäkologische und Ambulatorische Tierklinik der Universität München
(Lehrstuhl: Prof. Dr. W. Leidl)

Die LH- und FSH-Sekretion boviner Hypophysenvorderlappenzellkulturen in Abhängigkeit vom Zyklusstadium, bei trächtigen Kühen und bei Kühen mit Ovarzysten[1]

von *U. Braun*[2]

Einleitung

Die Empfindlichkeit der Hypophyse auf eine GnRH-Injektion ändert sich mit dem Zyklusstand der Tiere. Im Proöstrus ist sie am grössten, während sie im Diöstrus am geringsten ist. So führt beim Schaf eine GnRH-Injektion unmittelbar vor dem präovulatorischen LH-Peak zu einem LH-Gipfel im Blut, der grösser ist als der mit GnRH an jedem anderen Zyklustag erzeugte (*Reeves et al.,* 1971). Auch bei der Ratte (*Cooper et al.,* 1973; *Fink,* 1979) und beim Goldhamster (*Arimura et al.,* 1972) ergibt eine GnRH-Injektion im Proöstrus die höchste LH-Freisetzung. Beim Rind löst eine GnRH-Injektion am 17. oder 18. Zyklustag einen grösseren LH-Peak aus als eine GnRH-Verabreichung am 11. und 12. Zyklustag (*Schams et al.,* 1974).

Ob die Hypophyse ihre zyklusabhängige Empfindlichkeit auf GnRH auch in vitro beibehält, wird unterschiedlich beurteilt. Einerseits wird darüber berichtet, dass Hypophysenvorderlappenzellen weiblicher Ratten nach 1- bis 4tägiger Kultivierung auf GnRH keine zyklusabhängige LH-Sekretion mehr zeigen (*Reel et al.,* 1978), andererseits belegen In vitro-Untersuchungen mit Hypophysenhälften von Ratten, dass die zyklusabhängige Empfindlichkeit der gonadotropen Zellen auf GnRH auch in vitro aufrechterhalten werden kann (*Cooper et al.,* 1974; *Sen und Menon,* 1978; *Waring und Turgeon,* 1980). So wiesen geviertelte Rattenhypophysen, die erst am Nachmittag des Proöstrus, kurz vor dem zu erwartenden Eintritt des präovulatorischen LH-Peaks entnommen wurden, eine signifikant höhere LH-Antwort auf GnRH auf als Hypophysen, die bereits am Morgen des Proöstrus entnommen wurden (*Waring und Turgeon,* 1980).

Das Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, abzuklären, ob Hypophysenvorderlappenzellkulturen, die von Hypophysen frisch geschlachteter Kühe verschiedener Zyklusstadien angelegt wurden, in vitro eine zyklusabhängige Empfindlichkeit auf GnRH zeigen. Weiter interessierte die Frage, wie Hypophysenvorderlappenzellkulturen trächtiger Kühe und solche von Kühen mit Ovarzysten auf GnRH reagieren.

---

[1] Herrn Prof. Dr. W. Leidl mit den besten Wünschen zum 60. Geburtstag gewidmet.
[2] Adresse: Dr. Dr. habil. U. Braun, Königinstr. 12, D-8000 München 22

Material und Methodik

Bovine Hypophysenvorderlappenzellkulturen (HVL-Zellkulturen):

Die Hypophysen stammten von frisch geschlachteten Kühen. Pro Versuchsansatz wurden jeweils 2–3 Hypophysen verwendet, die unabhängig voneinander, d. h. einzeln, verarbeitet wurden. Die Hypophysenvorderlappen wurden freipräpariert und in kleine Würfel von ca. 1 mm Kantenlänge geschnitten. Anschliessend erfolgte die enzymatische Dispergierung. Die Gewebestücke wurden zuerst 45 Minuten in einer BSS-Lösung, die zusätzlich 0,35% Collagenase (Typ CLS III, 189 u/mg, Worthington), 3% bovines Serumalbumin (Fraction V, Sigma Chemicals, St. Louis, USA) und 0,10% Hyaluronidase (Typ III, from ovine testis, Sigma) enthielt, gerührt. Nach Zentrifugation bei 475 g und Abhebern des Überstandes erfolgte ein weiteres Rühren über 3 × 20 Minuten in einer 0,25%igen Pankreatin-Lösung (Viokase, Grand Island Biological Co., Grand Island, N.Y., USA).

Die dispergierten Zellen wurden 4mal mit serumfreiem Medium 199 (Flow Laboratories, Rockville, MD, USA) gewaschen und anschliessend in Medium 199 suspendiert (das Medium 199 wurde zusätzlich mit Earle Salzen, L-Glutamin, 10% Pferdeserum, 20 mM HEPES, 100000 I. E. Penicillin, 0,10 g Streptomycin, 0,001 g Neomycin und 0,002 g Amphotericin B supplementiert). Im Anschluss an eine Vitalfärbung mit Trypanblau wurde die Suspension auf eine Konzentration von 2×10^5 Zellen pro ml Medium verdünnt und in Volumina von je 1 ml in Gewebekulturschalen (Costar, Cambridge, Mass., USA, No 3524) ausgesät. Die angelegten Kulturen bestanden nur aus HVL-Zellen jeweils einer Hypophyse bekannten Zyklusstadiums. Sie wurden bei 37 °C und einem Luft-CO_2-Gemisch von 95 zu 5% bebrütet. Nach 24stündiger Kultivierung wurden die Kulturen mehrere Male mit serumfreiem Medium gewaschen und weitere 12 Stunden mit Medium 199, das zusätzlich 10^{-10} M, 10^{-9} M oder 10^{-8} M GnRH enthielt, stimuliert. Den Kontrollkulturen wurde Medium ohne GnRH zugesetzt. Pro Behandlung wurden 12 Kulturen verwendet.

Da für die Einzelkultivierung jeder Hypophyse ein eigener Versuchsansatz erforderlich war, konnten die gemessenen Hormonkonzentrationen nicht als Absolutwerte miteinander verglichen, sondern mussten relativiert werden, (die absoluten LH- und FSH-Werte sind in Tab. 1 und 2 dargestellt). Als Bezugsgrösse wurde für jede einzelne Hypophyse die basale LH- bzw. FSH-Sekretion der nicht stimulierten Kulturen genommen und mit 100% bezeichnet. Die mit den verschiedenen GnRH-Dosierungen erzielte LH- und FSH-Freisetzung wurde zum 100%-Wert ins Verhältnis gesetzt.

Ausser den Hypophysen wurden zusätzlich Ovarien, Uterus und Zervix entnommen, damit Zyklusstadium, Vorliegen von Ovarzysten und Vorhandensein einer Trächtigkeit oder pathologischer Veränderungen diagnostiziert werden konnten. Das Zyklusstadium wurde in jedem Fall von 2 oder 3 erfahrenen Untersuchern beurteilt. Die Ovarien wurden angeschnitten, und es wurden sowohl Grösse, Farbe und Konsistenz der Corpora lutea als auch Durchmesser, Wandbeschaffenheit, Farbe und Flüssigkeitsmenge etwa vorhandener Blasen begutachtet.

Versuchsdurchführung

1. LH- und FSH-Sekretion in bovinen HVL-Zellkulturen in Abhängigkeit vom Zyklusstadium

Insgesamt 15 Hypophysen stammten von Kühen, die im Diöstrus geschlachtet wurden. Davon waren die Corpora lutea von 2 Kühen im Stadium der Anbildung (5.–9. Zyklustag), von 6 Kühen im Stadium der Blüte (10.–15. Zyklustag) und von 7 Kühen im Stadium der Rückbildung (16.–18. Zyklustag).

7 Hypophysen waren von Kühen, die in der frühen und späten Follikelphase geschlachtet wurden, nämlich 3 aus der frühen und 4 aus der späten Follikelphase.

2. LH- und FSH-Sekretion in HVL-Zellkulturen von trächtigen Kühen

Insgesamt standen die Hypophysen von 6 trächtigen Kühen zur Verfügung, davon waren 5 Kühe im 2. bis 5. Monat und 1 Kuh 7–8 Monate trächtig. Da sich die GnRH-Stimulierbarkeit bei der ca. 8 Monate trächtigen Kuh wesentlich von der der anderen 5 Kühe unterschied, wurde das Ergebnis bei dieser Kuh getrennt von den restlichen Tieren dargestellt.

3. LH- und FSH-Sekretion in HVL-Zellkulturen von Kühen mit Ovarzysten

Es wurden 7 Hypophysen von Kühen mit Ovarzysten untersucht. Dabei handelte es sich mit Ausnahme der Kuh 18, die eine Follikelluteinzyste aufwies, um Tiere mit Follikelthekazysten. Als Zy-

Tabelle 1 Absolute LH-Werte (ng/ml Medium)

Klinische Diagnose	Kuh Nr.	Basale LH-Sekr.	GnRH-stimulierte LH-Sekretion 10^{-10} M	10^{-9} M	10^{-8} M
Anbildung Corpus luteum	26	402	307	400	310
	34	572	559	627	623
Blüte Corpus luteum	2	194	159	266	244
	4	149	148	167	190
	7	271	260	380	386
	8	117	286	311	272
	12	596	488	344	302
	19	404	611	785	847
Rückbildung Corpus luteum	5	138	217	245	468
	6	261	331	371	549
	20	227	296	297	405
	22	282	346	499	554
	42	49	49	103	164
	43	141	134	349	508
	44	194	220	458	467
Frühe Follikelphase	14	127	178	258	340
	24	223	629	396	544
	31	152	541	560	554
Späte Follikelphase	25	217	347	273	413
	27	358	412	474	406
	29	459	623	771	802
	32	151	95	137	146
Trächtig	23	131	262	288	327
	11	570	456	536	589
	28	162	240	217	168
	35	452	577	815	796
	37	276	284	349	377
	41	114	114	129	104
Ovarzysten	18	201	214	287	309
	30	177	496	469	480
	33	264	284	344	292
	36	277	395	396	407
	38	413	756	1252	1237
	39	693	548	722	804
	40	470	513	669	664

sten wurden nur Blasen mit über 3 cm Durchmesser bezeichnet. Die Ovarien von 3 Kühen (Nr. 30, 36, 38) wiesen drei oder mehr Blasen über 3 cm auf, 1 Kuh (Nr. 39) hatte eine Blase mit einem Flüssigkeitsinhalt von mehr als 200 ml auf einem Ovar. Die Eierstöcke von 2 Kühen (Nr. 30, 33) wiesen ausser den Zysten noch je einen Gelbkörper in Blüte auf, die Ovarien der restlichen 5 Tiere zeigten ausser den Zysten keinerlei Funktionsgebilde.

Tabelle 2 Absolute FSH-Werte (ng/ml Medium)

Klinische Diagnose	Kuh Nr.	Basale LH-Sekr.	GnRH-stimulierte LH-Sekretion 10^{-10} M	10^{-9} M	10^{-8} M
Anbildung Corpus luteum	26	128	97	98	158
	34	307	207	266	222
Blüte Corpus luteum	2	92	143	135	179
	4	62	77	86	125
	7	214	464	672	617
	8	185	263	221	318
	12	342	215	266	351
	19	177	160	285	286
Rückbildung Corpus luteum	5	81	118	206	241
	6	154	172	330	302
	20	280	285	429	330
	22	127	224	251	261
	42	54	106	148	131
	43	54	58	89	134
	44	67	100	165	125
Frühe Follikelphase	14	83	147	120	110
	24	83	270	252	500
	31	43	108	160	179
Späte Follikelphase	25	176	248	275	403
	27	197	78	80	74
	29	83	167	168	180
	32	48	45	49	57
Ovarzysten	18	104	141	132	84
	30	32	108	101	108
	33	125	142	187	165
	36	100	150	106	124
	38	117	56	89	107
	39	83	112	106	83
	40	30	29	64	67

4. Verhältnis der LH- zu den FSH-Konzentrationen in Abhängigkeit vom Zyklusstadium und bei Vorliegen von Follikelzysten

Das Ziel war es, festzustellen, ob sich das Verhältnis der LH- zur FSH-Sekretion in HVL-Zellkulturen im Verlaufe eines Zyklus verändert und wie sich die LH-Konzentrationen bei Kühen mit Follikelzysten zu den FSH-Konzentrationen verhalten. Zur Bildung des LH-/FSH-Verhältnisses wurden die absoluten LH- zu den absoluten FSH-Konzentrationen in Beziehung gesetzt.

Hormonbestimmungen

Die Hormonanalyse erfolgte nach den von *Schams und Karg* (1969) für LH und *Schams und Schallenberger* (1976) für FSH beschriebenen Methoden. Die verwendeten Antiseren zeigten unter den Testbedingungen keine Kreuzreaktionen mit den übrigen Hypophysenhormonen. Folgende Referenzpräparate wurden verwendet: Für FSH eine nicht hochgereinigte Rinderhypophysenpräparation (NIH-FSH-B1) mit einer biologischen Aktivität von 0,49 mal NIH-FSH-S1 und für LH eine hochgereinigte Präparation aus Rinderhypophysen (LH-DSA) mit einer biologischen Aktivität von 0,9 mal NIH-LH-S1).

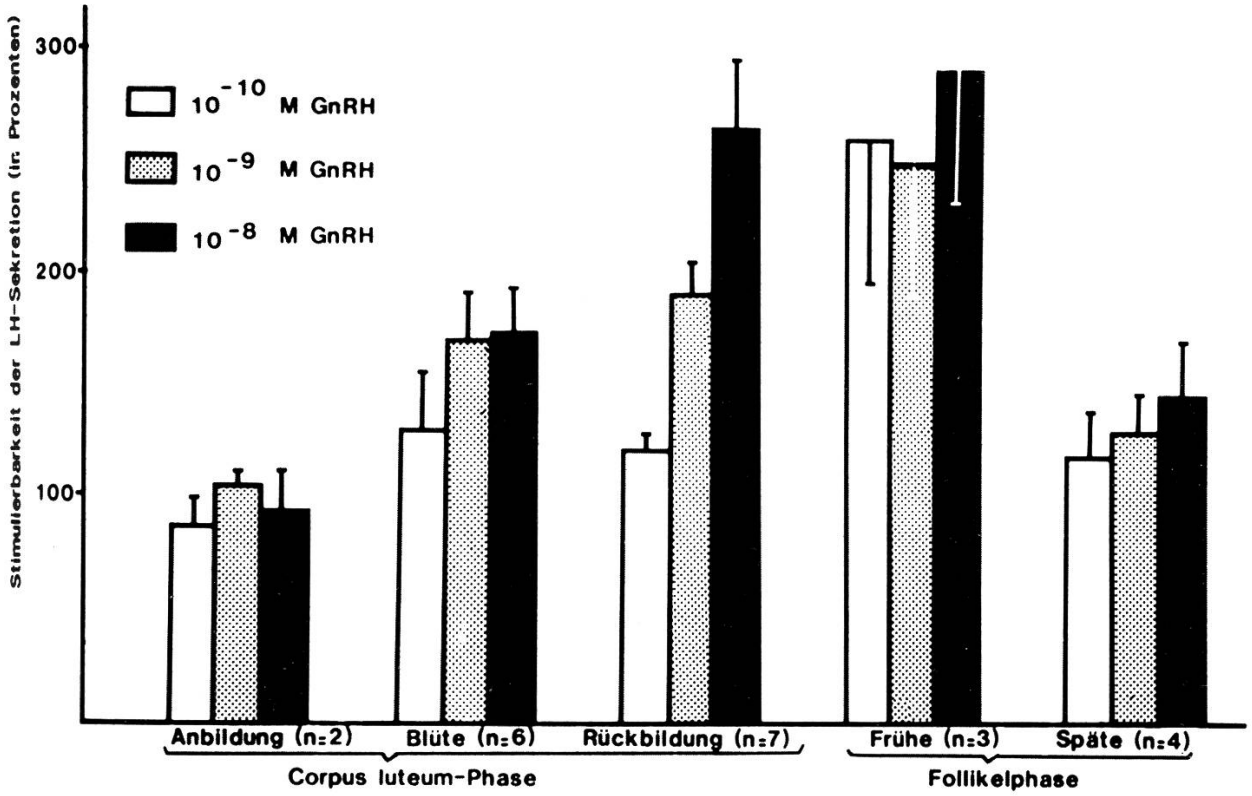

Abb. 1 GnRH-stimulierte LH-Sekretion in Abhängigkeit vom Zyklusstadium (in Prozenten, bezogen auf die basale LH-Sekretion; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

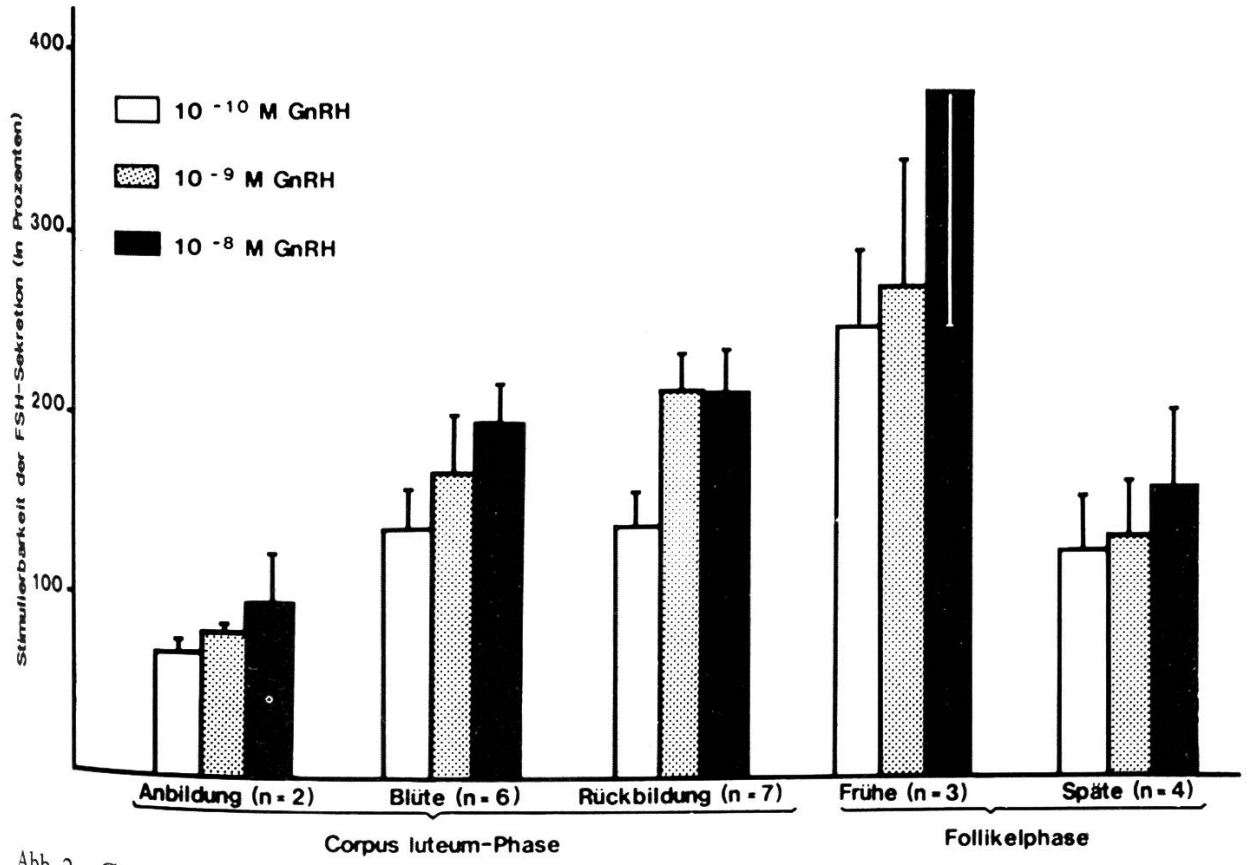

Abb. 2 GnRH-stimulierte FSH-Sekretion in Abhängigkeit vom Zyklusstadium (in Prozenten, bezogen auf die basale FSH-Sekretion, $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Statistik

Die statistische Untersuchung erfolgte mit Hilfe der Varianzanalyse und dem Student t-Test (*Weber,* 1972).

Ergebnisse

1. Gonadotropinsekretion in bovinen HVL-Zellkulturen in Abhängigkeit vom Zyklusstadium

Die Stimulierbarkeit der Rinderhypophyse mit GnRH in vitro war je nach Zyklusstand der Spenderkuh unterschiedlich.

Die LH-Sekretion konnte in der Anbildungsphase des Gelbkörpers mit ansteigenden Dosen GnRH im Vergleich zur basalen Hormonfreisetzung nicht erhöht werden (Abb. 1). In der Blütephase des Corpus luteum war die GnRH-stimulierte LH-Freisetzung gegenüber der basalen erhöht und stieg mit zunehmender GnRH-Dosierung von 131 auf 172% an. Die mit 10^{-8} M GnRH-stimulierte LH-Freisetzung war also fast doppelt so hoch wie die der Hypophysen aus der Anbildungsphase des Gelbkörpers (Differenz $P \leq 0{,}05$, t-Test). Hypophysen von Kühen der Gelbkörperrückbildungsphase setzten nach Inkubation mit 10^{-8} M GnRH noch mehr LH frei, nämlich 266% oder fast dreimal soviel wie Hypophysen von Kühen der Gelbkörperanbildungsphase (Differenz $P \leq 0{,}05$, t-Test). Die grösste mit GnRH induzierbare LH-Sekretion, konnte in HVL-Zellkulturen von Kühen aus der frühen Follikelphase gemessen werden: Sie betrug gegenüber den nicht stimulierten Kulturen 292% oder 3,13mal mehr als die der HVL-Zellkulturen von Kühen im Anfangsstadium des Diöstrus (Differenz $P \leq 0{,}01$; t-Test). In der späten Follikelphase sank die durch 10^{-8} M GnRH freisetzbare LH-Menge gegenüber der frühen Follikelphase von 292% auf 144% oder um die Hälfte ab (Differenz $P \leq 0{,}01$; t-Test).

Auch die FSH-Sekretion konnte in der Anbildungsphase des Gelbkörpers mit ansteigenden Dosen GnRH nicht erhöht werden (Abb. 2). In der Blütephase des Corpus luteum war die GnRH-stimulierte FSH-Freisetzung gegenüber der basalen erhöht und betrug bei Inkubation mit 10^{-8} M GnRH 197%, d.h. sie war gegenüber der FSH-Sekretion in HVL-Zellkulturen der Gelbkörperanbildungsphase doppelt so hoch ($P \leq 0{,}05$, t-Test). Hypophysen von Kühen der Gelbkörper-Rückbildungsphase setzten nach Inkubation mit 10^{-8} M GnRH nur unwesentlich mehr, nämlich 213% der basalen FSH-Menge, frei. Die grösste GnRH-induzierbare FSH-Sekretion konnte bei Hypophysen proöstrischer Kühe gemessen werden. Sie betrug gegenüber den nicht stimulierten Kulturen 383% oder 3,90mal mehr als die der HVL-Zellkulturen von Kühen im Anfangsstadium des Diöstrus (Differenz $P \leq 0{,}05$; t-Test). Im Östrus sank die durch 10^{-8} M GnRH freisetzbare FSH-Menge gegenüber dem Proöstrus von 383 auf 158% oder um mehr als die Hälfte ab.

2. LH-Sekretion in HVL-Zellkulturen von trächtigen Kühen

Die Hypophysen der 2–5 Monate trächtigen Tiere liessen sich mit ansteigenden Dosen GnRH kaum stimulieren (Abb. 3). Die Zellkulturen aus der Hypophyse der 7–8 Monate graviden Kuh zeigten mit ansteigenden GnRH-Konzentrationen eine LH-Freisetzung, die bei 10^{-10} M GnRH 200% betrug und bei 10^{-8} M GnRH gegenüber der basalen LH-Sekretion auf 250% anstieg.

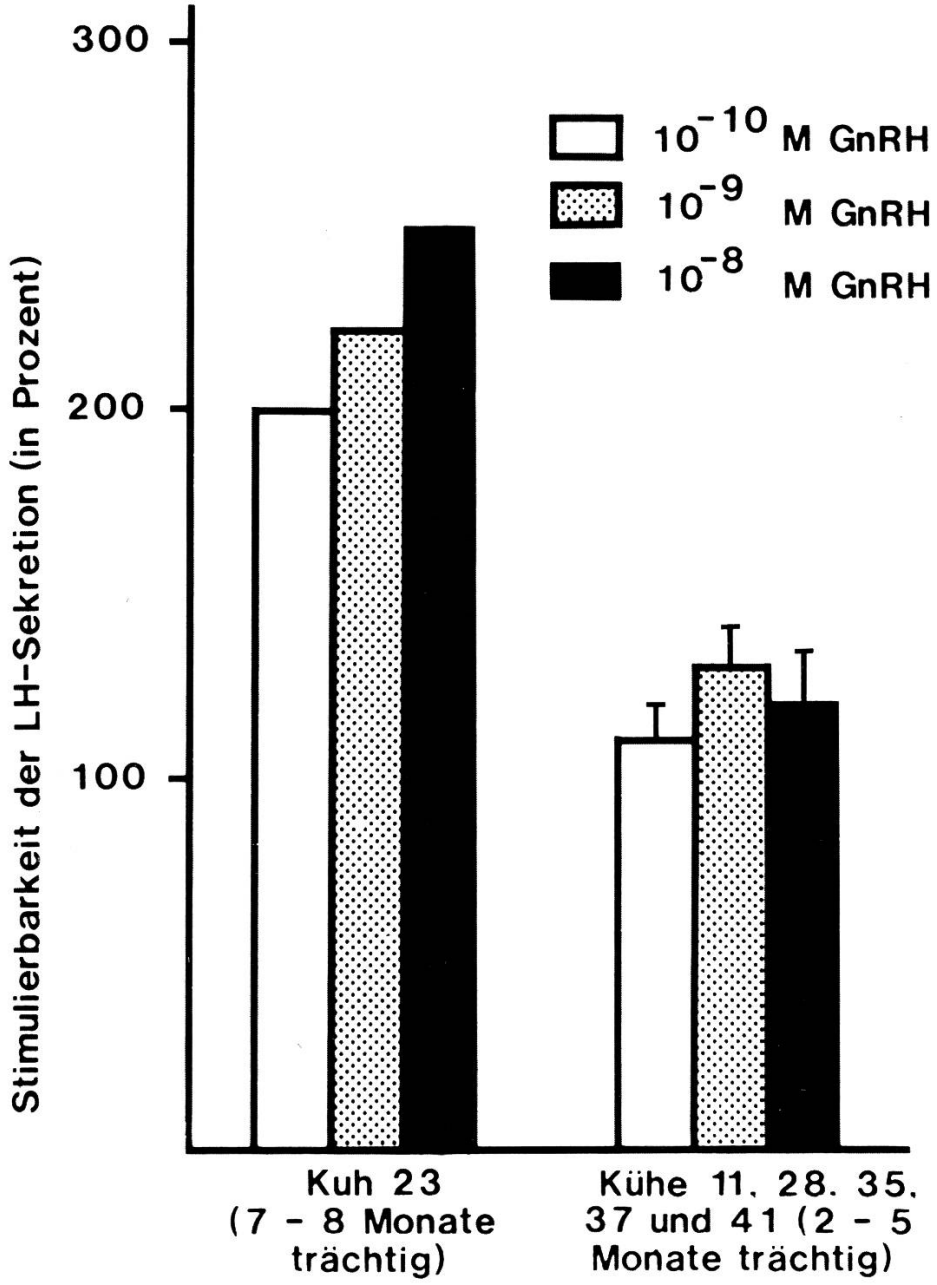

Abb. 3 GnRH-stimulierte LH-Sekretion bei trächtigen Kühen (in Prozenten, bezogen auf die basale LH-Sekretion, $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

3. LH- und FSH-Sekretion in HVL-Zellkulturen von Kühen mit Ovarzysten

In bezug auf die LH-Sekretion reagierten die Hypophysenvorderlappenzellkulturen der Kühe 30 und 38 auf GnRH wesentlich anders als die Hypophysen der restlichen 5 Kühe (Abb. 4). Die HVL-Zellkulturen der beiden Kühe 30 und 38 setzten nach Stimulierung mit ansteigenden Dosen GnRH zwischen 200 und 300% der basalen LH-Menge frei. Die Hypophysen der restlichen 5 Kühe mit Follikelzysten zeigten nach einer GnRH-Verabreichung nur eine geringe Erhöhung der LH-Sekretion, die bei 10^{-8} M GnRH 134% betrug.

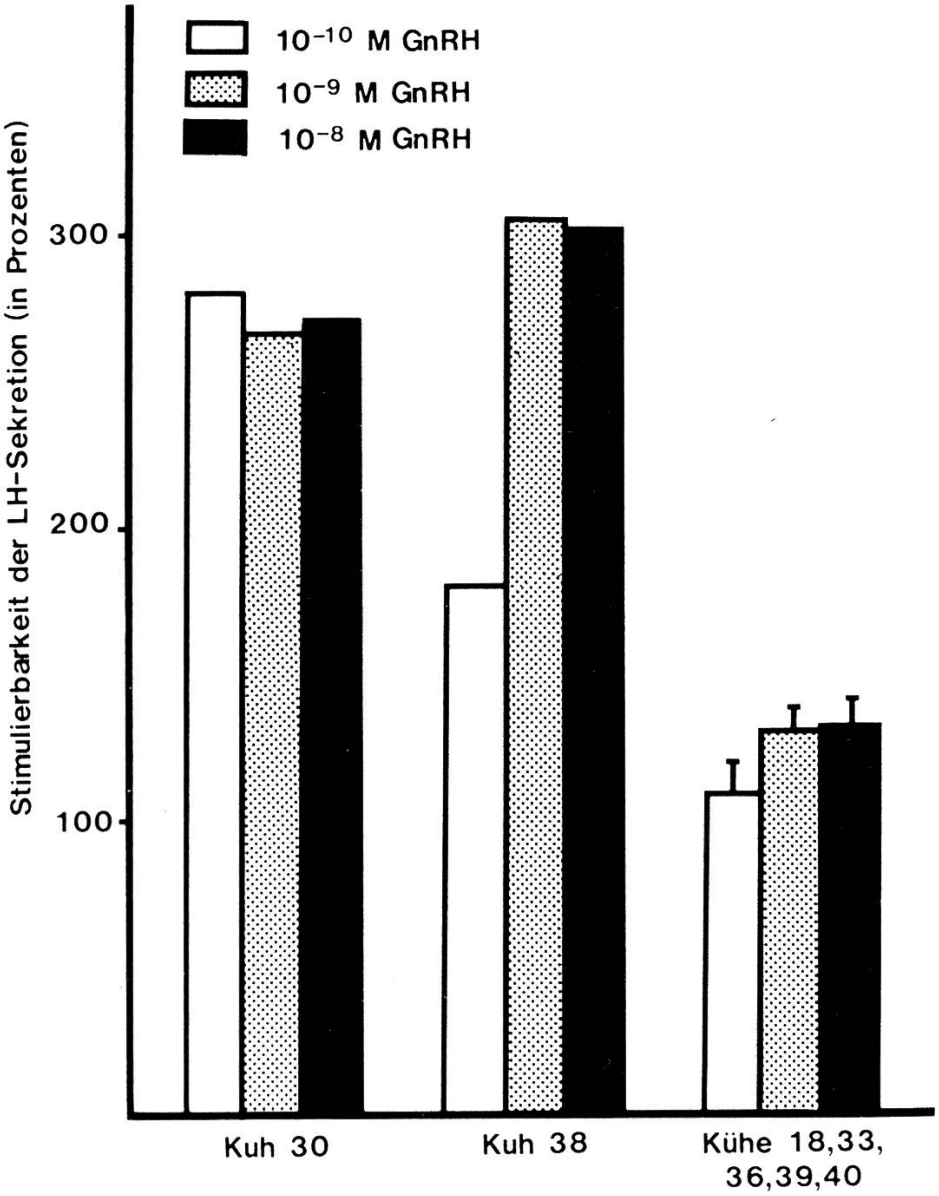

Abb. 4 GnRH-stimulierte LH-Sekretion bei Kühen mit Follikelzysten (in Prozenten, bezogen auf die basale LH-Sekretion; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

In bezug auf die FSH-Sekretion reagierten die HVL-Zellkulturen der Kuh 30 ebenfalls sehr empfindlich und setzten bei einer Stimulierung mit 10^{-8} M GnRH gegenüber der basalen FSH-Sekretion 334% FSH frei (Abb. 5). Die HVL-Zellkulturen der Kuh 38 sezernierten nach GnRH-Stimulierung weniger FSH als ohne. Auch die HVL-Zellkulturen der restlichen 5 «Zysten-Kühe» zeigten auf GnRH nur eine geringe Sekretionsantwort, die bei 10^{-8} M GnRH 132% der basalen FSH-Konzentration betrug.

4. Verhältnis der LH- zu den FSH-Konzentrationen in Abhängigkeit vom Zyklusstadium und bei Vorliegen von Follikelzysten.

Das Verhältnis der basalen LH- zu den basalen FSH-Konzentrationen betrug bei den Zellkulturen der «Diöstrus-Anbildungs»-Hypophysen 2,40, bei den HVL-Zellkulturen von Kühen mit einem Gelbkörper in Blüte 1,60 und bei denen von Kühen mit ei-

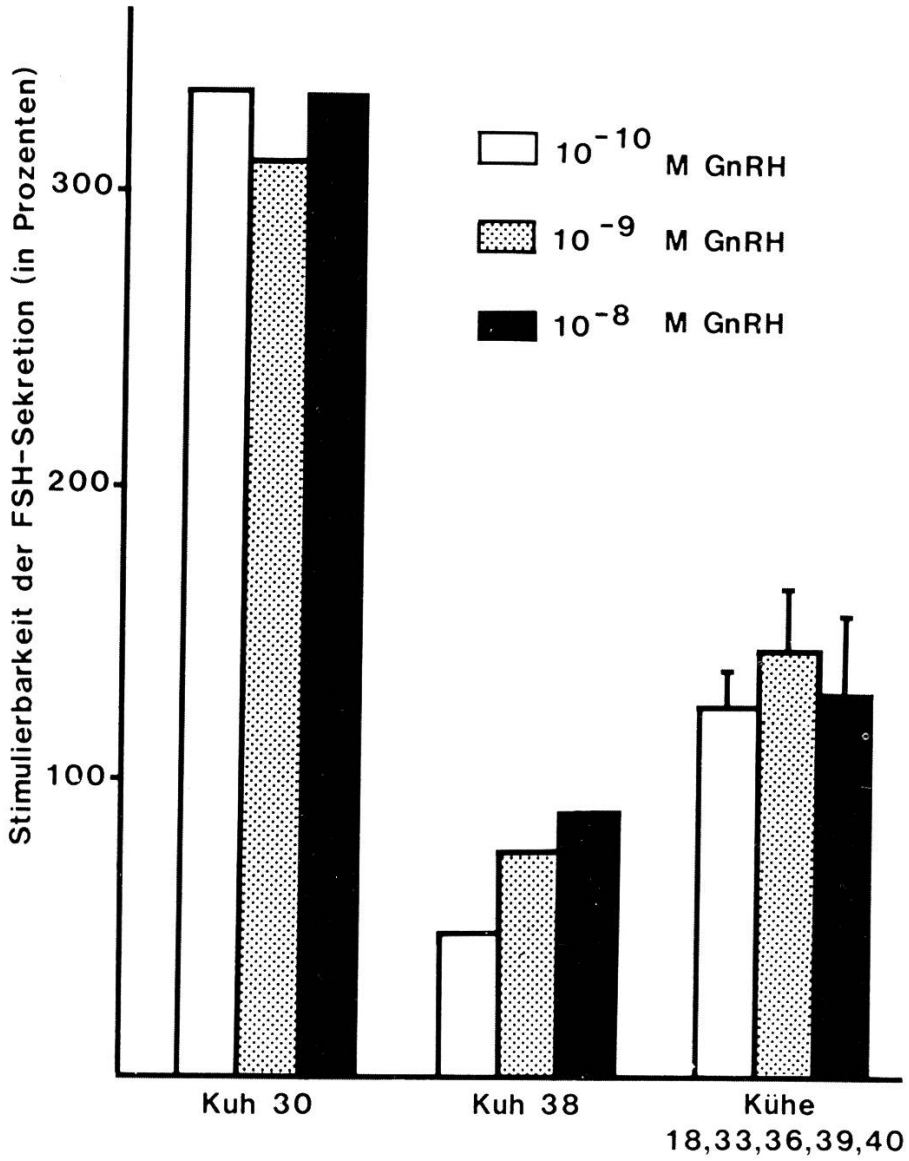

Abb. 5 GnRH-stimulierte FSH-Sekretion bei Kühen mit Follikelzysten (in Prozenten, bezogen auf die basale FSH-Sekretion; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

nem Corpus luteum in Rückbildung 1,80 (Abb. 6). In HVL-Zellkulturen von Kühen aus der frühen Follikelphase betrug es 2,60 und in solchen Tieren aus der späten Follikelphase 3,30. Das LH-/FSH-Verhältnis nahm mit zunehmendem Zyklusstadium zu und erreichte in der späten Follikelphase einen maximalen Wert. Im Östrus war das LH-/FSH-Verhältnis gut doppelt so gross wie in der Blütephase des Gelbkörpers. In HVL-Zellkulturen von Kühen mit Follikelzysten betrug das LH-/FSH-Verhältnis 5,70. Es war damit rund 3,50mal so gross wie das von Kühen in der Blütephase des Gelbkörpers und 1,70mal so gross wie das brünstiger Kühe.

Das Verhältnis der mit 10^{-9} M GnRH stimulierten LH- zu den mit 10^{-9} M GnRH stimulierten FSH-Konzentrationen betrug bei den Zellkulturen der «Diöstrus-Anbildungs»-Hypophysen 3,20, bei den HVL-Zellkulturen von Kühen mit einem Gelbkörper in Blüte 1,70 und bei denen von Kühen mit einem Corpus luteum in Rückbildung

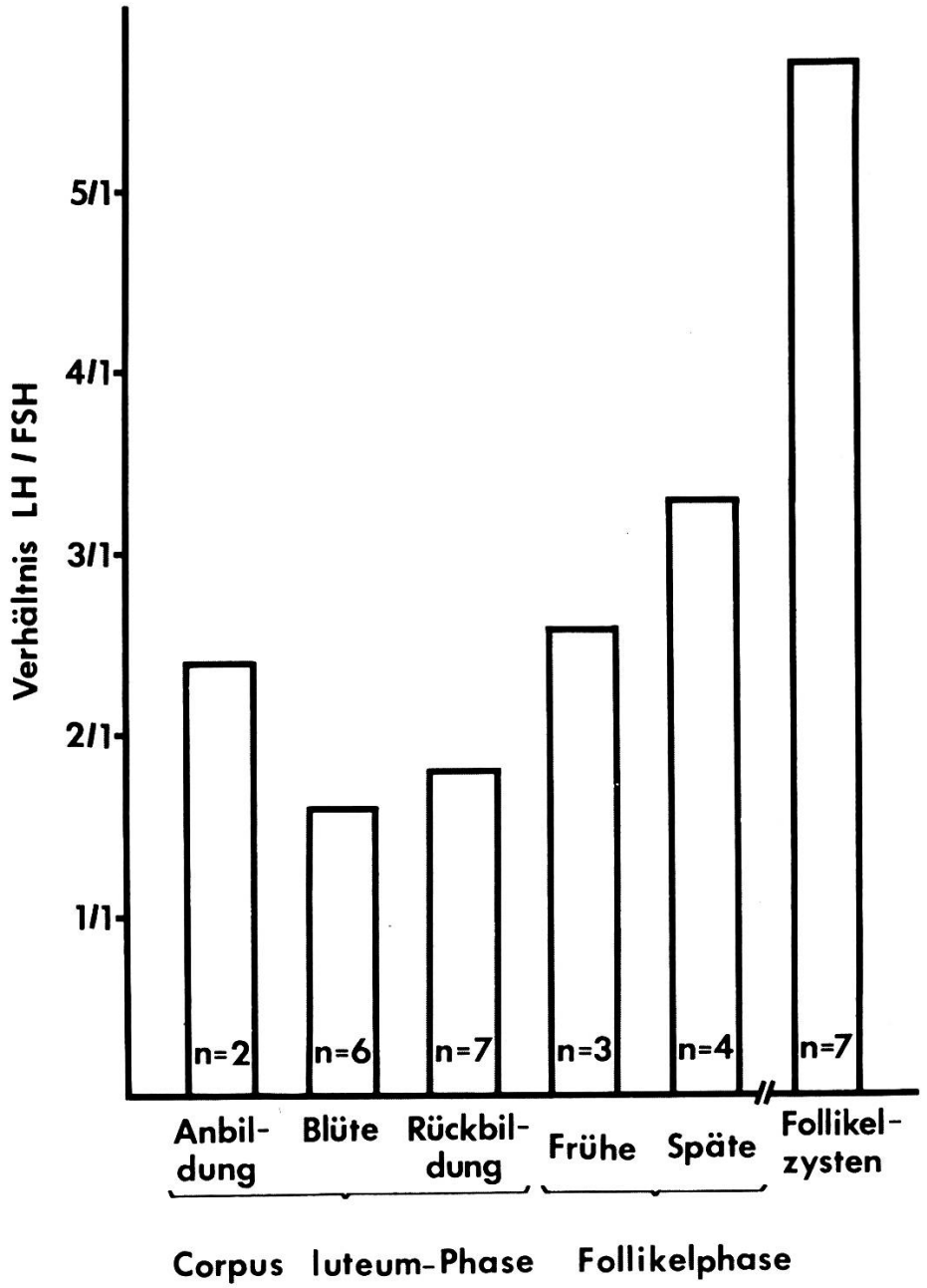

Abb. 6 Verhältnis der basalen LH- zu den basalen FSH-Konzentrationen in Abhängigkeit vom Zyklusstadium und bei Vorliegen von Follikelzysten

1,90 (Abb. 7). In HVL-Zellkulturen von Kühen aus der frühen Follikelphase betrug es 2,40 und in solchen von Tieren aus der späten Follikelphase 3,60.

Wie bei der basalen LH- und FSH-Sekretion nahm das LH-/FSH-Verhältnis auch beim Vergleich der mit 10^{-9} M GnRH stimulierten LH- und FSH-Konzentrationen mit zunehmendem Zyklusstadium zu und erreichte in der späten Follikelphase einen maximalen Wert. Bei Kühen mit Follikelzysten betrug das LH-/FSH-Verhältnis 6,30 und war damit 3,70mal so gross wie das von Kühen in der Blütephase des Gelbkörpers und 1,80mal so gross wie das der brünstigen Kühe.

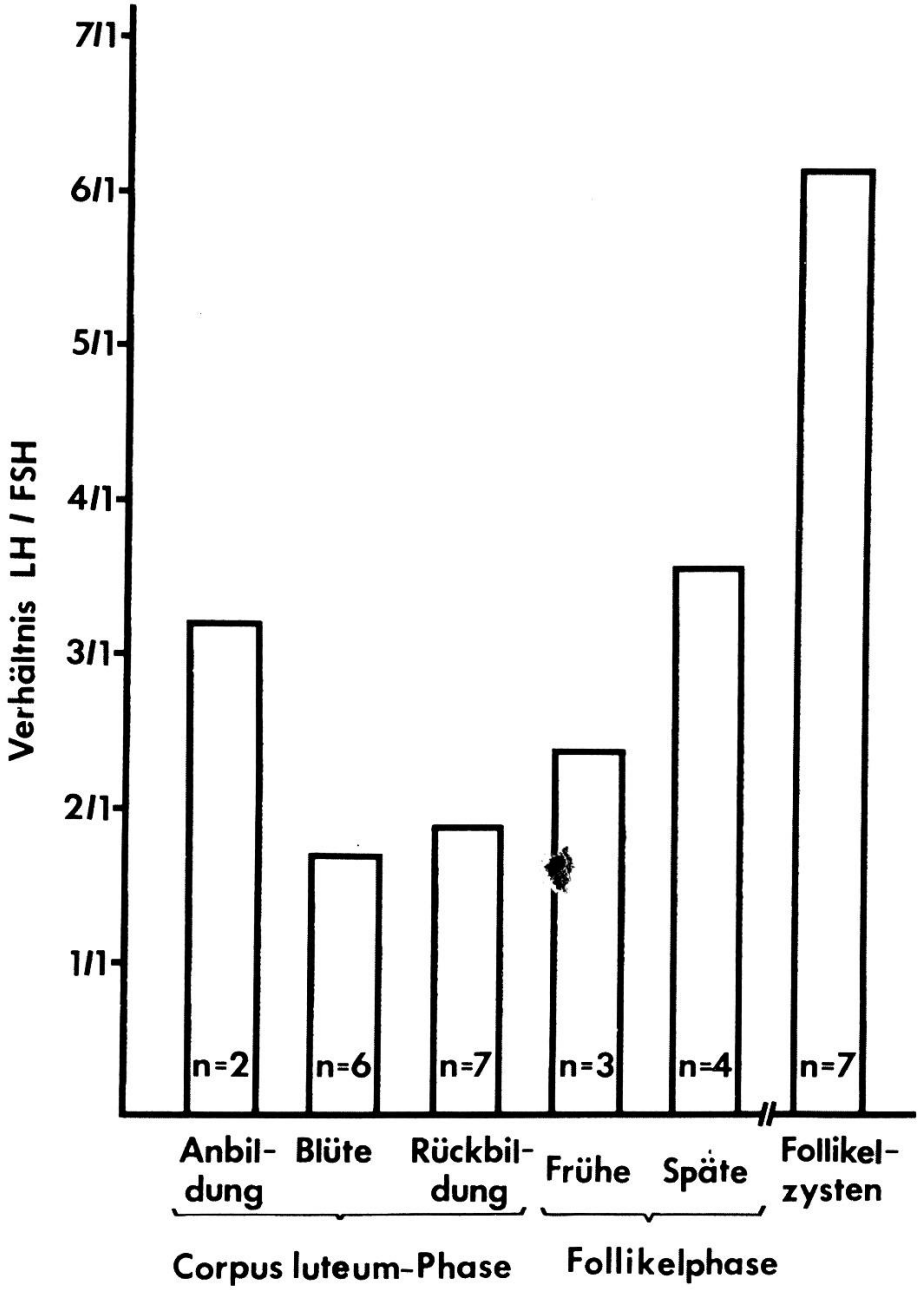

Abb. 7 Verhältnis der GnRH-stimulierten LH- zu den GnRH-stimulierten FSH-Konzentrationen in Abhängigkeit vom Zyklusstadium und bei Vorliegen von Follikelzysten (GnRH = 10^{-9} M)

Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen belegen, dass HVL-Zellkulturen vom Rind eine zyklusabhängige Empfindlichkeit auf GnRH zeigen. Die niedrigste GnRH-stimulierte LH-Freisetzung wurde während der Anbildungsphase des Gelbkörpers gemessen. Mit fortschreitendem Zyklusstadium wurde die freisetzbare LH-Menge grösser und erreichte im Proöstrus maximale Werte. In der späten Follikelphase, nach dem präovulatorischen LH-Peak, nahm die durch GnRH freisetzbare LH-Menge wieder ab. Diese

zyklischen Veränderungen der hypophysären Empfindlichkeit auf GnRH stellen eine wichtige Komponente des physiologischen Mechanismus dar, durch den die zyklische LH-Freisetzung bewirkt und anschliessend die Ovulation herbeigeführt wird. Die Ergebnisse stimmen mit den In vivo-Untersuchungen beim Schaf (*Reeves et al.,* 1971), bei der Ratte (*Cooper et al.,* 1973; *Fink,* 1979) und beim Goldhamster (*Arimura et al.,* 1972) und den In vitro-Untersuchungen mit Hypophysenhälften (*Cooper et al.,* 1974; *Sen und Menon,* 1978; *Waring und Turgeon,* 1980) und suspendierten HVL-Zellen von Ratten (*Baldwin und Downs,* 1981; *Speight und Fink,* 1981) überein. Wie *Pickering und Fink* (1979) vermuten, ist anzunehmen, dass sich die GnRH-induzierbare LH-Sekretion im Verlaufe eines Zyklus nicht durch eine Änderung des totalen LH-Gehalts der Hypophyse laufend ändert, sondern dass es zu einer Veränderung der Empfindlichkeit der Hypophysen auf GnRH in dem Sinne kommt, dass sich das Reaktionsvermögen der Hypophyse, auf eine bestimmte exogene oder endogene GnRH-Dosis mit einer LH-Freisetzung zu antworten, ändert. Dies kommt wahrscheinlich dadurch zustande, dass der «ready releasable LH-Pool», die akut freisetzbare LH-Menge, im Verlaufe des Diöstrus zunimmt und im Östrus das Maximum erreicht. Bisher wurde davon ausgegangen, dass es im Proöstrus zu einer Zunahme der Rezeptoren, d. h. der GnRH-Bindungsstellen in der Hypophyse, kommt. Diese Vermutung konnte durch neueste Untersuchungen beim Rind nicht bestätigt werden (*Leung et al.,* 1984).

Auch die GnRH-stimulierte FSH-Sekretion änderte sich mit dem Zyklusstadium der Kühe. In gleicher Weise wie die GnRH-stimulierte LH-Sekretion war auch die GnRH-stimulierte FSH-Sekretion in HVL-Zellkulturen von Kühen der Gelbkörperanbildungsphase am niedrigsten. Die Stimulierbarkeit der FSH-Sekretion stieg mit fortschreitendem Zyklusstadium allmählich an, um in der frühen Follikelphase das Maximum zu erreichen. Wie bei der LH-Sekretion kam es auch bei der FSH-Sekretion in der späten Follikelphase zu einem starken Absinken der Stimulierbarkeit mit GnRH im Vergleich zur vorangegangenen frühen Follikelphase. In geviertelten Hypophysen weiblicher Ratten wurde an den Diöstrus-Tagen I und II im Vergleich zum Proöstrus ebenfalls eine niedrigere basale (*Elias und Blake,* 1981) bzw. GnRH-stimulierte (*Turgeon und Waring,* 1982) FSH-Sekretion gemessen. Während die vorliegenden Ergebnisse mit denen von *Turgeon und Waring* (1982) übereinstimmen, die im darauf folgenden Östrus ebenfalls ein Absinken der GnRH-stimulierbaren FSH-Sekretion beobachteten, stehen sie in einem gewissen Gegensatz zu denen von *Elias und Blake* (1981), die zusätzlich zum Proöstrus auch im Östrus eine stark erhöhte basale FSH-Sekretion feststellten.

Die Untersuchungen an Kühen mit Ovarzysten haben gezeigt, dass die Hypophysen von 5 der 7 Tiere auf GnRH nicht mit einer erhöhten LH-Sekretion antworteten. Die durch GnRH erzielte LH-Sekretion war ähnlich wie die der HVL-Zellkulturen von Kühen im Stadium der Gelbkörper-Anbildung. Die restlichen 2 Kühe zeigten nach GnRH eine LH-Freisetzung, die der von Kühen im späten Diöstrus und Östrus ähnlich ist. In bezug auf die FSH-Sekretion stellte sich heraus, dass die 5 Kühe, die eine geringe Stimulierbarkeit der LH-Sekretion aufwiesen, auch eine geringe Stimulierbarkeit der FSH-Sekretion mit GnRH zeigten. Von den HVL-Zellkulturen der beiden Kühe 30 und 38, die bereits bei der niedrigsten GnRH-Dosis 10^{-10} M eine ausgeprägte LH-Sekretion

aufwiesen, war nur in den HVL-Zellkulturen der Kuh 30 eine entsprechend hohe FSH-Sekretion nach GnRH-Behandlung festzustellen, während die HVL-Zellkulturen der Kuh 38 nicht stimulierbar waren. Die GnRH-Stimulierungsversuche der HVL-Zellkulturen der Zysten-Kühe lassen vermuten, dass mindestens ein Teil der Hypophysen solcher Tiere auf GnRH nur eine schwache Reaktion zeigt. Da die Konzeptionsraten von mit GnRH behandelten Kühen mit Ovarzysten im Bereich von 60% liegen (*Stolla et al.*, 1980), wird vermutet, dass auch eine Erhöhung der LH-Sekretion mit GnRH um nur 30–40%, wie sie in den HVL-Zellkulturen von 5 Zystenkühen beobachtet wurde, zur Induktion einer Ovulation ausreicht. Trotzdem ist zu erwägen, ob die Frage der GnRH-Dosierung unter den speziellen Verhältnissen von Kühen mit Zysten nicht noch einmal überprüft werden muss. Die besseren Konzeptionsergebnisse nach Zystenbehandlung mit 5000 I.E. HCG (66%; *Stolla et al.*, 1980) und vor allem die kürzeren Zeitabstände von der Therapie bis zur Konzeption (31 Tage vs 43 Tage) weisen darauf hin, dass es wahrscheinlich Kühe gibt, bei denen die geringe Stimulierbarkeit der Hypophyse mit GnRH zu einer ungenügenden LH-Sekretion führt, die nicht zur Auslösung einer Ovulation ausreicht.

Als besonderes Phänomen ist herauszustellen, dass HVL-Zellkulturen von 2–5 Monate trächtigen Kühen für GnRH praktisch unempfindlich waren und nicht mit einer erhöhten LH-Sekretion reagierten. Die Beobachtung, dass die HVL-Zellkulturen der ca. 8 Monate trächtigen Kuh auf GnRH dosisabhängig LH sezernierten, kann als Hinweis gesehen werden, dass die Hypophyse ihre Sensibilität gegenüber GnRH am Ende der Trächtigkeit wieder zurückgewinnt. Eventuell hängt diese Veränderung mit dem Verlauf der Blutplasmaprogesteronkonzentrationen zusammen, die beim Rind ab dem 200. Tag der Gravidität graduell absinken (*Hafez*, 1980). Da die Hemmung der GnRH-induzierbaren LH-Sekretion in der HVL-Zellkultur von der Höhe der Progesteronkonzentration abhängt, ist ein solcher Zusammenhang denkbar. Vom Physiologischen her ist das Nichtansprechen der Hypophyse möglicherweise auch als Schutz für den heranwachsenden Embryo anzusehen.

Nicht nur die Stimulierbarkeit der Zellkulturen mit GnRH änderte sich im Verlaufe eines Zyklus. Auch das Verhältnis der LH- zur FSH-Sekretion war zyklischen Schwankungen unterworfen. Das Verhältnis der LH- zur FSH-Sekretion änderte sich bei den nicht stimulierten und bei den mit GnRH stimulierten HVL-Zellkulturen in gleicher Weise. Es war in HVL-Zellkulturen von Kühen mit «Blüte-Gelbkörpern» am kleinsten und wurde dann zunehmend grösser. Das Maximum wurde in der späten Follikelphase erreicht und war dann gut 3mal grösser als in der Blütephase des Gelbkörpers. Erstaunlich ist die Feststellung, dass das LH-/FSH-Verhältnis bei den Kühen mit Ovarzysten am höchsten war und knapp 4- bzw. 2mal so gross wie bei Kühen im «Gelbkörper-Blüte-Stadium» bzw. in der Brunst war. In diesem Zusammenhang soll erwähnt werden, dass auch bei der polyzystischen Ovarerkrankung der Frau, die erstmals von *Stein und Leventhal* (1935) und übersichtsmässig unter anderen von *Yen* (1980) beschrieben wurde, ein Missverhältnis zwischen LH- und FSH-Sekretion im Sinne hoher basaler LH- und niedriger oder normaler basaler FSH-Konzentration besteht, das heisst, dass das LH-/FSH-Verhältnis bei dieser Ovarerkrankung ebenfalls zu gross ist (*Yen et al.*, 1970). *Tanabe et al.* (1983) führen dieses Missverhältnis zwischen LH- und

FSH-Sekretion auf zu hohe Inhibinkonzentrationen zurück, die die FSH-Freisetzung aus dem Hypophysenvorderlappen selektiv unterdrücken.

Die vorliegenden Untersuchungen haben gezeigt, dass die LH- und FSH-Sekretion boviner HVL-Zellkulturen vom Zyklusstadium der Spenderkuh abhängt. Während die Empfindlichkeit der Hypophyse auf GnRH in der frühen Follikelphase am grössten ist, ist sie zu Beginn der Gelbkörperphase am geringsten. Die Hypophysen trächtiger Kühe und solche von Tieren mit Ovarzysten antworten auf GnRH meist nur mit einer sehr geringen Hormonsekretion.

Zusammenfassung

HVL-Zellkulturen vom Rind zeigten eine zyklusabhängige Empfindlichkeit auf GnRH. Die niedrigste GnRH-stimulierbare LH- und FSH-Sekretion wurde während der Anbildungsphase des Corpus luteum gemessen. In der Blütephase des Gelbkörpers waren die durch GnRH freigesetzten LH- und FSH-Mengen grösser und sie stiegen in der Rückbildungsphase weiter an, um im Proöstrus maximale Werte zu erreichen. Im Östrus nahmen die durch GnRH freisetzbaren LH- und FSH-Konzentrationen wieder ab.

Die HVL-Zellkulturen von trächtigen Kühen waren mit einer Ausnahme praktisch unempfindlich gegen GnRH.

Von 7 Kühen mit Ovarzysten sezernierten die HVL-Zellkulturen von 5 Tieren nach GnRH-Applikation nur wenig LH und FSH, ähnlich wie die Zellkulturen der Kühe der Gelbkörperanbildungsphase. Von den restlichen 2 Zystenkühen wiesen die Zellkulturen der einen schon bei der kleinsten GnRH-Dosierung eine ausgeprägte LH- und FSH-Sekretion auf, während die Zellkulturen der anderen Kuh zwar eine starke LH-, jedoch eine minimale FSH-Sekretion zeigten.

Auch das LH-/FSH-Verhältnis änderte sich während des Zyklus. Es war in Zellkulturen von Kühen der Gelbkörperblütephase am kleinsten und stieg dann zunehmend an. Das grösste LH-/FSH-Verhältnis wurde im Östrus gemessen. Anschliessend nahm es wieder ab. In Zellkulturen von Kühen mit Ovarzysten war das LH-/FSH-Verhältnis doppelt so gross wie in Zellkulturen von brünstigen Tieren.

Résumé

Les cultures de cellules hypophysaires ont montré une sensibilité au GnRH qui dépend du cycle. La sécrétion de LH et de FSH la plus basse qui réagisse encore au GnRH a été mesurée pendant la phase de constitution du corpus luteum. Pendant l'apogée du corpus luteum les quantités libérées de LH et de FSH étaient plus grandes et ont augmenté encore pendant la phase de régression pour atteindre leur maximum pendant le proœstrus. Durant l'œstrus les concentrations de LH et de FSH réagissant au GnRH ont diminué.

Les cultures hypophysaires de vaches gravides étaient à l'exception d'une vache pratiquement insensibles au GnRH.

De 7 vaches avec des kystes ovariens 5 ont donné des cultures de cellules hypophysaires qui n'ont libéré que peu de LH et de FSH, semblables aux cultures de cellules des vaches dans la phase constitutive du corpus luteum.

Des deux autres vaches, l'une a montré des cultures de cellules réagissant à la plus petite quantité de GnRH par une sécrétion prononcée de LH et de FSH tandis que les cultures de cellules de l'autre vache ont montré une sécrétion prononcée de LH mais minime de FSH.

La relation entre le LH et le FSH a également changé pendant le cycle. Elle a marqué un minimum dans les cultures de cellules de vaches qui se trouvaient dans la phase d'apogée du corpus luteum et a augmenté ensuite. Le maximum a été mesuré pendant l'œstrus. Ensuite la relation a de nouveau diminué. Dans les cultures de cellules de vaches avec des kystes ovariens la relation entre le LH et le FSH était deux fois plus grande que celle dans les cultures de cellules de vaches en chaleur.

Riassunto

Culture cellulari della pituitaria anteriore (HVL) di bovino presentarono una sensibilità al GnRH dipendente dal ciclo. La secrezione più bassa di LH e FSH stimolata da GnRH venne misurata durante la fase di formazione del corpo luteo. Nella fase florescente del corpo luteo le quantità di LH e FSH messe in libertà per l'azione del GnRH erano più grandi ed esse aumentarono ancora nella fase involutiva in modo da raggiungere il livello massimo nel preestro. Nell'estro le concentrazioni diminuirono di nuovo.

Le culture cellulari HVL di vacche gravide rimasero insensibili al GnRH, con una eccezione.

Di 7 vacche con cisti ovariche le culture cellulari HVL di 5 animali presentarono una debole secrezione di LH e FSH dopo applicazione di GnRH, analogamente a quanto avvenne con le culture cellulari di vacche in fase di formazione del corpo luteo. Per una delle due vacche con cisti ovariche, le culture cellulari presentarono già con una debole somministrazione di GnRH una spiccata secrezione di LH e FSH. Per contro le culture cellulari per la seconda vacca presentarono una forte secrezione di LH ed una secrezione minima di FSH.

Anche il rapporto LH/FSH subì modificazioni durante il ciclo. Esso era più basso nelle culture cellulari di vacche nella fase florescente del corpo luteo per poi progressivamente salire. Il più alto rapporto LH/FSH venne misurato durante l'estro. In seguito esso diminuì. Nelle culture cellulari di vacche con cisti ovariche il rapporto LH/FSH era doppio rispetto a quello in animali in calore.

Abstract

Anterior pituitary cell cultures of cows showed a cycle dependent sensitivity to GnRH. The smallest GnRH-inducable LH and FSH secretions were measured during the initial phase of the corpus luteum. During the blossom phase of the corpus luteum the GnRH-inducable LH and FSH secretions were greater. They increased further during the regression phase of the corpus luteum to reach maximal values in the proestrus stage. During the estrus the GnRH induced LH and FSH concentrations decreased again.

The anterior pituitary cell cultures of pregnant cows were, with one exception, not sensitive to GnRH.

The cell cultures of 5 out of 7 cows with ovarian cysts secreted only small quantities of LH and FSH following stimulation with GnRH, similarly to the anterior pituitary cell cultures of the cows in the initial phase of corpus luteum. From the remaining two cows with ovarian cysts the cell cultures of the one cow showed a marked LH and FSH secretion already at the smallest GnRH concentration, whereas the cell cultures of the second cow showed a strong LH-, but a minimal FSH secretion.

The ratio LH:FSH also changed during the estrus cycle. It was smallest in cell cultures of anterior pituitaries obtained from cows of the corpus luteum regression phase and increased linearly. The greatest ratio LH:FSH was measured during the estrus phase of the cycle. Thereafter it declined again.

In anterior pituitary cell cultures of cows with ovarian cysts the ratio LH:FSH was twice that found in anterior pituitary cell cultures of estrous cows.

Literaturverzeichnis

Arimura, A., Debeljuk, L. and Schally, A. V.: LH release by LH-releasing hormone in golden hamsters at various stages of estrous cycle. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *140,* 609–612 (1972). – *Baldwin, D.M. and Downs, T.R.:* Release of LH and FSH by anterior pituitary cell suspensions from female rats during the estrous cycle and from estrogen-treated ovariectomized rats. Biol. Reprod. *24,* 581–590 (1981). – *Cooper, K.J., Fawcett, C.P. and McCann, S.M.:* Variations in pituitary responsiveness to luteinizing hormone releasing factor during the rat oestrous cycle. J. Endocr. *57,* 187–188 (1973). – *Cooper, K.J., Fawcett, C.P. and McCann, S.M.:* Variations in pituitary responsiveness to a luteinizing hormone/follicle stimulating hormone releasing factor (LH-RF/ FSH-RF) preparation during the rat estrous cycle. Endocrinology *95,* 1293–1299 (1974). – *Elias, K.A. and Blake, C.A.:* A detailed in vitro characterization of the basal follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone secretion rates during the rat four-day estrous cycle. Endocrinology *109,* 708–713 (1981). – *Fink, G.:* Feedback ac-

tions of target hormones on hypothalamus and pituitary with special reference to gonadal steroids Ann. Rev. Physiol. *41,* 571–585 (1979). – *Hafez, E. S. E.:* Reproduction in farm animals. Lea & Febiger Verlag, Philadelphia, 4th Edition, (1980). – *Leung, K., Padmanabhan, V., Convey, E. M., Short, R. E. and Staigmiller, R. B.:* Relationship between pituitary responsiveness to Gn-RH and number of Gn-RH-binding sites in pituitary glands of beef cows. J. Reprod. Fert. *71,* 267–277 (1984). – *Pickering, A. J. M. C. and Fink, G.:* Variation in the size of the «readily releasable pool» of luteinizing hormone during the oestrous cycle of the rat. J. Endocr. *83,* 53–59 (1979). – *Reel, J. R., Pastushok, C. A., Sakowski, R. and Edgren, R. A.:* Cyclic and temporal differences in LH-RH-stimulated LH release in cultured rat pituitary cells. Mol. Cell. Endocr. *10,* 163–173 (1978). – *Reeves, J. J., Arimura, A. and Schally, A. V.:* Pituitary responsiveness to purified luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) at various stages of the estrous cycle in sheep. J. Anim. Sci. *32,* 123–126 (1971). – *Schams, D. und Karg, H.:* Radioimmunologische LH-Bestimmung im Blutserum vom Rind unter besonderer Berücksichtigung des Brunstzyklus. Acta Endocr. (Kbh.) *61,* 96–103 (1969). – *Schams, D., Höfer, F., Schallenberger, E., Hartl, M. and Karg, H.:* Pattern of luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) in bovine blood plasma after injection of a synthetic gonadotropin-releasing hormone (Gn-RH). Theriogenology *1,* 137–151 (1974). – *Schams, D. and Schallenberger, E.:* Heterologous radioimmunoassay for bovine follicle-stimulating hormone and its application during the oestrous cycle in cattle. Acta Endocr. (Kbh.) *81,* 461–473 (1976). – *Sen, K. K. and Menon, K. M. J.:* Oestradiol receptors in the rat anterior pituitary gland during the oestrous cycle: Quantitation of receptor activity in relation to gonadotropin releasing hormone-mediated luteinizing hormone release. J. Endocr. *76,* 211–218 (1978). – *Speight, A. and Fink, G.:* Changes in responsiveness of dispersed pituitary cells to luteinizing hormone releasing hormone at different times of the oestrous cycle of the rat. J. Endocr. *89,* 129–134 (1981). – *Stein, I. F. and Leventhal, M. L.:* Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. Am. J. Obstet. Gynecol. *29,* 181–191 (1935). – *Stolla, R., Bostedt, H., Wendt, V. und Leidl, W.:* Zur Ovarialzyste des Rindes. III. Vergleichende Wertung von Therapieverfahren. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. *93,* 4–10 (1980). – *Tanabe, K., Gagliano, P., Channing, C. P., Nakamura. Y., Yoshimura, Y., Iizuka, R., Fortuny, A., Sulewski, J. and Rezai, N.:* Levels of inhibin-F activity and steroids in human follicular fluid from normal women and women with polycystic ovarian disease. J. Clin. Endocrinol. Metab. *57,* 24–31 (1983). – *Turgeon, J. L. and Waring, D. W.:* Differential changes in the rate and pattern of follicle-stimulating hormone secretion from pituitaries of cyclic rats superfused in vitro. Endocrinology *111,* 66–73 (1982). – *Waring, D. W and Turgeon, J. L.:* Luteinizing hormone–releasing hormone – induced luteinizing hormone secretion in vitro: Cyclic changes in responsiveness and self-priming. Endocrinology *106,* 1430–1436 (1980). – *Weber, E.:* Grundriss der biologischen Statistik. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1972. – *Yen, S. S. C., Vela, P. and Rankin, J.:* Inappropriate secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in polycystic ovarian disease. J. Clin. Endocrinol. Metab. *30,* 435–442 (1970).

Manuskripteingang: 6. Dezember 1984.