

Luteinisierungshormon (LH)-Blutspiegel bei Rindern während der Brunst, nach Verabreichung von Luteinisierungshormon-Releaser-hormon (LH-RH) sowie nach einer Gestagenvorbehandlung (Mitteilung über erste Untersuchungsergebnisse)

Autor(en): **Döbeli, M. / Zerobin, K.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **117 (1975)**

Heft 2

PDF erstellt am: **11.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-589222>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus dem Institut für Zuchthygiene der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. K. Zerobin)

Luteinisierungshormon (LH)-Blutspiegel bei Rindern während der Brunst, nach Verabreichung von Luteinisierungshormon-Releaserhormon (LH-RH) sowie nach einer Gestagenvorbehandlung (Mitteilung über erste Untersuchungsergebnisse)

von M. Döbeli und K. Zerobin¹

Mit dem chemischen Nachweis verschiedener Releaserhormone (Freisetzungshormone) wurde der letzte Beweis dafür erbracht, dass die im Hypothalamus gebildeten Neurosekrete die Freisetzung der im Hypophysenvorderlappen (HVL) synthetisierten Hormone veranlassen. Dadurch wurde auch endgültig bewiesen, dass dem Hypothalamus beim entsprechenden hormonalen Regelkreisgeschehen eine wichtige Stellung zukommt, denn ein funktioneller Ausfall des Hypothalamus führt in jedem Fall zu einer Blockade der zyklischen Ovaritätigkeit, sei es durch die Wirkung von gestagenen Hormonen oder durch eine Unterbrechung der hypothalamisch-hypophysären Bahnen (Cole and Cupps, 1966). Bekanntlich werden die Hypophysenhinterlappenhormone (HHL-Hormone) Ocytocin und Vasopressin durch Axone vom Tractus hypothalamo-hypophysealis zum HHL befördert, während die Releaserhormone den HVL auf dem Blutwege durch das sog. Portalgefäßssystem erreichen, indem sie an der Eminentia mediana in den portalen Kreislauf übertreten (Cole and Cupps, 1969). Die erstgenannten Hormone werden im HHL gespeichert und erst auf einen entsprechenden Reiz hin aus dem HHL abgegeben, die RH hingegen veranlassen im HVL unmittelbar eine Abgabe von HVL-Hormonen.

Nachdem es Matsuo et al. im Jahre 1971 gelungen ist, die Struktur des porcinen LH-RH zu klären, wurde es auch für eine klinische Anwendung interessant. Bis heute ist aber eine endgültige Interpretation der therapeutischen Einsatzmöglichkeiten von LH-RH nicht möglich; so konnten beim Schaf zwar unmittelbar nach einer LH-RH-Verabreichung Ovulationen ausgelöst werden und beim Rind dann, wenn der Progesteronspiegel unter 1 ng/ml Blutplasma lag, Graviditäten konnten vermutlich wegen insuffizienter Gelbkörperfunktion nicht erzielt werden (zitiert nach Seeger und Humke, 1974). Es herrscht auch noch keine Klarheit darüber, ob das LH-RH für die Freisetzung sowohl von LH als auch von FSH (Follikelstimulierendes Hormon) verantwortlich ist, denn LH-RH führt neben einer LH-Ausschüttung auch zu einer FSH-Freisetzung (Studer und Steiner, 1972; Schally et al., 1972). Ferner wurde festgestellt, dass biogene Amine, neurohypophysäre Hormone wie Arginin-Vasopressin oder

¹ Adresse: Winterthurerstrasse 260, 8057 Zürich (Schweiz).

andere basische Peptide ebenfalls FSH ausschütten können. Nach Studer und Steiner (1972) könnte daher die FSH-Wirkung von LH-RH nur ein Nebeneffekt sein, denn bei der FSH-Mobilisation durch LH-RH bestehe keine Dosis-Effekt-Relation. Es wird aber doch noch zu klären sein, ob ein einziges Releaserhormon für die LH- und FSH-Freisetzung verantwortlich ist. (Zurzeit sind nach Studer und Steiner [1972] folgende Releaserhormone bekannt oder werden vermutet: C-RH = Corticotropin-RH; T-RH = Thyreotropin-RH; GH-RH = Wachstums-Hormon-RH; Melanozytenstimulierungshormon = MH-RH; LH-RH; FSH-RH und P-RH = Prolaktin-RH; folgende Hormone werden wahrscheinlich in erster Linie über einen Hemmfaktor = Inhibiting Hormone [IH] gesteuert: Wachstumshormon, melanozytenstimulierendes Hormon und Prolaktin.) Aus genannten Gründen wird für das LH-RH auch die Bezeichnung LH/FSH-RH oder Gn-RH (Gonadotropin Releasing Hormone) verwendet.

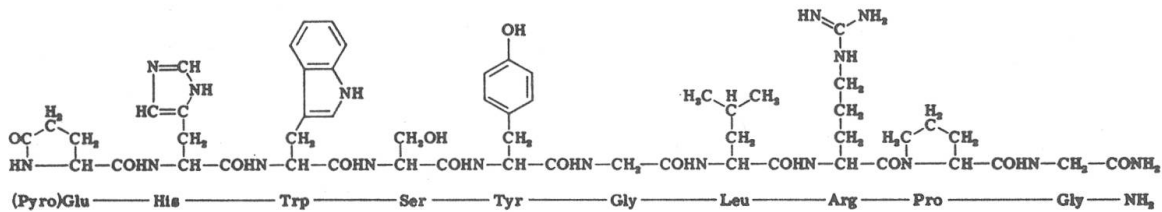


Abb. 1 Chemische Struktur des Schweine-LH-Releasinghormons (Schally et al., 1972).

Das LH-RH ist ein Dekapeptid (Abb. 1), bestehend aus einer Sequenz von 10 Aminosäuren (Matsuo et al., 1971); es wird heute synthetisch hergestellt. Die Aminosäuresequenz von LH-RH beginnt mit den beiden gleichen Aminosäuren wie diejenige von Thyreotropin-RH (T-RH), dessen Struktur zuerst ermittelt werden konnte. LH-RH findet sich im Hypothalamus von weiblichen und männlichen Tieren und ist bei allen bis heute untersuchten Tieren wirksam.

Im Hinblick auf eine mögliche Anwendung von LH-RH bei Fortpflanzungsstörungen von Rindern interessierte uns daher der Effekt von LH-RH bei fortpflanzungsfähigen Rindern, gemessen am Verlauf des LH-Blutspiegels. In Ergänzung zu dieser Fragestellung wurde auch der LH-Blutspiegel während unbeeinflussten und gestageninduzierten Brünsten untersucht, um zu prüfen, ob bei einer hormonmanipulierten Brunst die LH-Ausschüttung der einer Normalbrunst entspricht.

Untersuchungsgang

Fünf weiblichen und einem männlichen Rind der Schweizer Braunviehrasse wurde in verschiedenen Phasen des Sexualzyklus synthetisches «LH-RH, Op. 30»² in einer Menge von 1 mg einmal i.m., dem Stier i.v. verabreicht. Vor

² Lyophilisiertes «LH-RH, Op. 30» wurde uns von der Fa. Hoechst kostenlos zur Verfügung gestellt.

dem Versuchsbeginn wurden bei den weiblichen Rindern bis zu drei vollständige Sexualzyklen abgewartet und während des zuletzt aufgetretenen der Verlauf des LH-Blutspiegels gemessen.

Ferner wurde bei 12 Jungrindern durch eine Gestagenbehandlung der Sexualzyklus zeitlich verschoben und während der gestageninduzierten Brunst während maximal drei Tagen in dreistündigen Intervallen für die LH-Bestimmungen Blut entnommen. Die Blutentnahmen erfolgten durch Punktion der V. jugularis; zwei Tieren (Stier A 150 und Rind 80328) wurde eine Verweilkanüle (Braunüle, Braun, Melsungen) implantiert. Das entnommene Blut wurde in Polystyrolröhrchen zu 15 ml während 12–24 Stunden im Kühlschrank aufbewahrt und nachfolgend bei 500 g während 15 Minuten zentrifugiert. Das Blutserum wurde in 500 μ l-Mengen bei -25°C bis zur LH-Bestimmung aufbewahrt.

Die Blutentnahmen wurden bei den Rindern vor, während und nach einer ungestörten Brunst ebenfalls in dreistündigen Intervallen vorgenommen. Vor einer RH-Applikation wurden Blutproben für die Ausgangswerte und anschliessend während 6–24 Stunden in Zeitintervallen zwischen 5 und 60 Minuten für die provozierten LH-Werte gewonnen.

Methodik der LH-Bestimmung

Die LH-Konzentration im Blutserum wurde mittels des Doppel-Antikörper-Radioimmunoassays³ bestimmt; dazu wurde die von Yalow und Berson (1960) für Insulin beschriebene Methode in Anlehnung an Schams und Karg (1969) modifiziert.

1. Markierung und Reinigung

Bovines LH⁴ wurde mit ¹²⁵I⁵ entweder nach der Methode von Greenwood, Hunter und Glover (1963) mit Chloramin-T oder enzymatisch mit Lactoperoxydase (Kuenzle und Döbeli, 1973) markiert. Zur Gewinnung von immunreaktivem LH-¹²⁵I benützten wir nach Van Orden (1972) zwei Säulenpassagen; die erste Fraktionierung über BIO-GEL P-2 trennte das freie radioaktive Iodid vom sog. «P-2-Protein» ab, und mit der zweiten Passage über BIO-GEL P-60 erreichten wir eine klare Aufspaltung des «P-2-Proteins» in polymeres, immunreaktives und geschädigtes LH-¹²⁵I.

Die Immunreaktivität dieser 3 Fraktionen bzw. deren Eignung als Tracer prüften wir nach einer Schnellinkubation mit Anti-LH-Serum (1 Stunde bei

³ Die LH-Bestimmungen wurden mittels eines Forschungskredites des Eidgenössischen Veterinärämtes (Nr. 012.72.2) ermöglicht.

⁴ NIH-LH-B 8 wurde uns freundlicherweise von Dr. L. E. Reichert vom National Institute of Health, Bethesda (20014 Maryland), zur Verfügung gestellt.

⁵ Eidg. Institut für Reaktorforschung, CH-5303 Würenlingen.

60°C) durch Papierelektrophorese¹⁾. Das gleiche Verfahren bildete die Grundlage zur Berechnung der spezifischen Aktivität, indem ein Aliquot des Iodierungsgemisches vor der Fraktionierung papierelektrophoretisch aufgetrennt wurde.

2. Antikörper

Anti-LH (Erster Antikörper) wurde nach Immunisierung mit NIH-LH-B8 von Meerschweinchen gewonnen. Aufgrund von Serumtitrationskurven wurden diejenigen Antiserumverdünnungen gewählt, die etwa 50% des Tracers in Abwesenheit des Standards zu binden in der Lage waren. Zusätzlich bestimmte man deren Affinität durch Inkubation mit bekannten LH-Mengen.

Antiserum gegen Meerschweinchen-Gammaglobulin (Zweiter Antikörper) erhielten wir nach Immunisieren mit isoliertem Meerschweinchen-Gammaglobulin von einem kastrierten Ziegenbock. Die Titerbestimmungen erfolgten unabhängig voneinander im Kinderspital Zürich⁷ und in unserem Labor. Als geeignet galt diejenige Verdünnung, die 40–50% des Tracers in Abwesenheit des Standards zu binden vermochte.

3. Standard

Als Standard diente dasselbe Präparat (NIH-LH-B 8) wie für die Markierung und Immunisierung. Die Konzentrationen für die Standardkurve betrugen 0,25, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0 und 10,0 ng/ml Inkubationspuffer.

4. Inkubationsansatz

Als Inkubationspuffer verwendeten wir Bullenserum, das im Verhältnis 1:4 mit 0,5% HSA-Puffer (5,0 g lyophilisiertes humanes Serumalbumin⁸ ad 1000 ml Natrium-Phosphatpuffer, 0,05 M, pH 7,4) verdünnt wurde. Zur Herstellung der Arbeitsverdünnungen aller Reagenzien benützten wir 0,5% HSA-Puffer ohne Bullenserum.

Sämtliche Bestimmungen (inkl. Standardkurve) erfolgten im Doppel. Reagenzien und Inkubate wurden während der ganzen Inkubationsdauer bis und mit Zentrifugieren bei 4° C gehalten. Für die Vorinkubation wurden 100 µl Inkubationspuffer, 200 µl Standardlösung bzw. 200 µl Testserum (oder eine adäquate Verdünnung desselben) und 100 µl Anti-LH (1:25 000) während 48 Stunden inkubiert. Die Hauptinkubation begann mit der Zugabe von 100 µl Tracer (1,0 ng/ml, spezifische Aktivität 90–160 µCi/µg LH) in jedes Röhrchen und dauerte wiederum 48 Stunden. Bei der dritten Inkubation wurde zur Aus-

⁶ TOYO Chromatography Paper No. 514; Toyo Kagaku Sangyo Co., Ltd., Honcho, Nihombashi, Chuo-Ku, Tokyo.

⁷ Frau PD Dr. R. Illig, Proteo-Hormonlabor, Kinderspital, Eleonorenstiftung, Steinwiesstrasse 75, CH-8032 Zürich.

⁸ Zentrallaboratorium, Schweizerisches Rotes Kreuz, Wankdorfstrasse 10, CH-3000 Bern 22.

fällung des ersten Antigen-Antikörper-Komplexes jedem Röhrchen 100 μ l Antiserum (1:40) gegen Meerschweinchen-Gammaglobulin und 100 μ l normales Meerschweinserserum (1:300) zugefügt und während 24 Stunden inkubiert.

5. Trennung von gebundenem und freiem Hormon

Das antikörpergebundene Hormon wurde vom freien Hormon durch Zentrifugieren bei 1200 g während 30 Minuten getrennt; der Überstand wurde weggegossen. Zum Auswaschen gaben wir in jedes Röhrchen 2,0 ml Eiswasser und zentrifugierten ein zweites Mal. Die Radioaktivität der Präzipitate wurde in einem Packard-Gammacounter gemessen.

Untersuchungsergebnisse

Rind 13 (2½jährig) und Kuh 28 (6jährig): Bei beiden Tieren wurde nach dem geschilderten Versuchsprogramm während einer spontanen Brunst der Verlauf der LH-Konzentration bestimmt (Abb. 2). Am 21. Tag des sich anschließenden Sexualzyklus wurde den Tieren 1 mg LH-RH appliziert (Abb. 3).

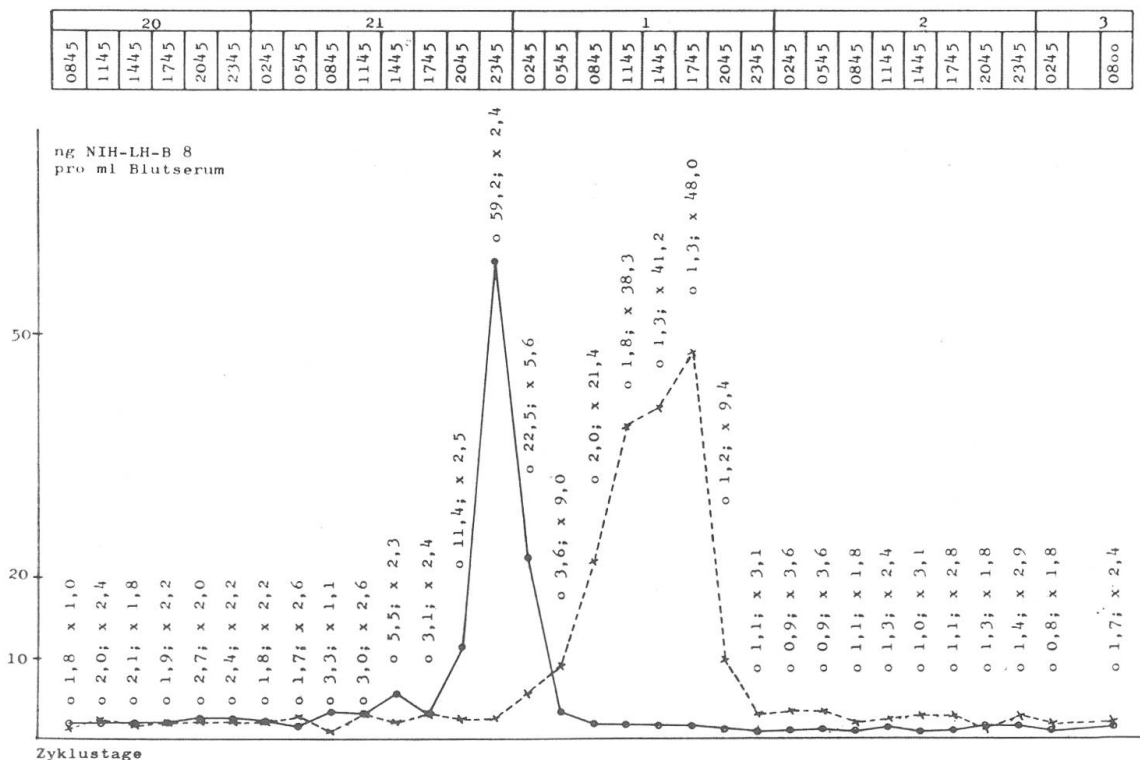


Abb. 2 Verlauf des LH-Blutspiegels während einer Brunst bei Rind 13 und Rind 28. Die zeitverschobenen LH-Peaks dürften darauf basieren, dass der Brunstbeginn von uns einzig aufgrund der klinischen Brunstsymptome festgelegt wurde, denn mehrmalige rektale Ovarkontrollen könnten den LH-Release beeinflussen. o = LH-Werte des Rindes 13, x = LH-Werte des Rindes 28.

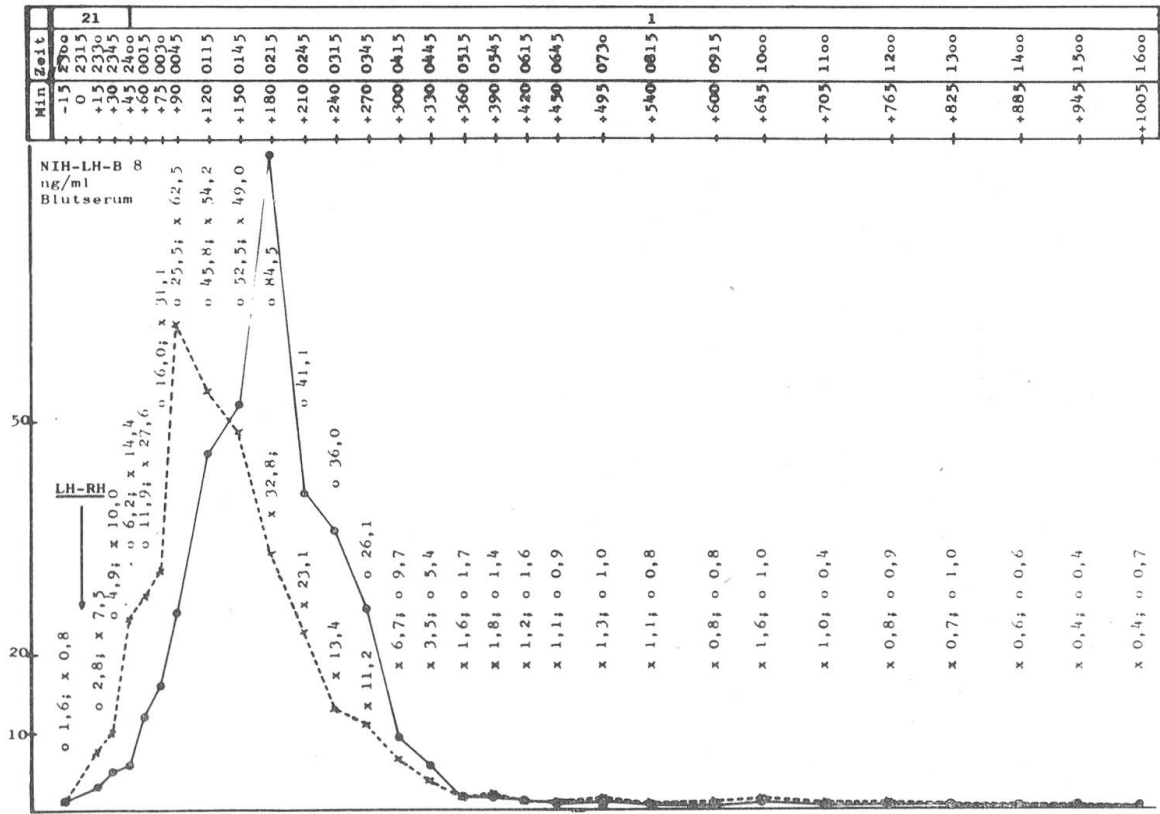


Abb. 3 Verlauf des LH-Blutspiegels bei Rind 13 und Rind 28 nach i.m. Applikation von 1 mg LH-RH (Hoechst) am 21. Zyklustag.

Zyk- lus- tag	Kalender	22.6..	23.6.	24.6.	25.6.	26.6.	27.6.	28.6.	29.6.	30.6.	1.7.
Rind 11							21.	22.	23.	1.	2.
Rind 80'328				20.	1.	2.					
Rind 23		21.	22..	1.	2.	3.					

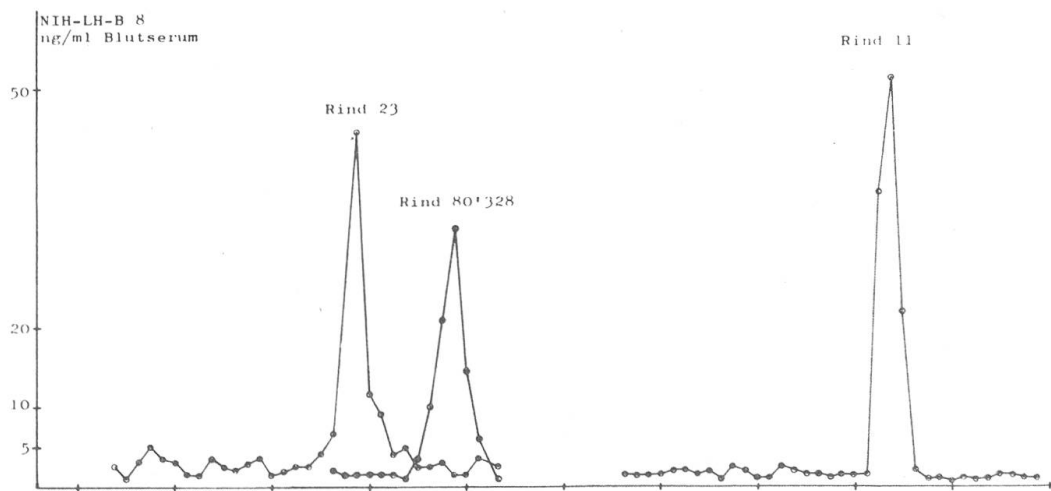


Abb. 4 Verlauf des LH-Blutspiegels bei Rind 23, Rind 80328 und Rind 11 während einer Brunst.

Die LH-Werte zeigen bei diesen Tieren, dass im Vergleich zur provozierten LH-Ausschüttung während der Normalbrunst niedrigere Spitzenwerte auftreten (Rind 13: 59,2 ng/84,5 ng/ml Serum; Kuh 28: 48,0 ng/66,7 ng/ml Serum), dass aber erhöhte LH-Blutwerte bei der unbeeinflussten Brunst länger vorhanden sind als nach der Releaserapplikation (Rind 13: 12 Std./5½ Std., Kuh 28: 18 Std./5½ Std.). Übereinstimmend waren bei beiden Tieren nach dem Abfall der erhöhten Blutwerte die LH-Konzentrationen niedriger als die Ausgangswerte.

Rind 11 (2½jährig) und Kuh 23 (11jährig): Nach Bestimmung des LH-Verlaufs während einer Normalbrunst wurde dem Rind 11 am 10. und der Kuh 23 am 14. Tag des Sexualzyklus je 1,0 mg LH-RH i.m. verabreicht; während 2 Tagen vor der Applikation, aber erst 1 Tag nach dieser wurde zur LH-Bestimmung Blut entnommen.

Die LH-Werte während der Normalbrunst (Abb. 4) stimmen hinsichtlich zeitlichen Ablaufs und Grössenordnung mit denen der vorhin beschriebenen Tiere im wesentlichen überein (Maximalwerte: Rind 11: 51,3 ng/ml und Kuh 23: 44,6 ng/ml Serum), aber die Dauer erhöhter LH-Blutwerte war vergleichsweise kürzer (Rind 11: 6 Stunden, Kuh 23: 12 Stunden).

Aus versuchstechnischen Gründen war eine Blutentnahme erst am Tage nach der RH-Verabreichung möglich. Die LH-Werte zeigen Grössenordnungen

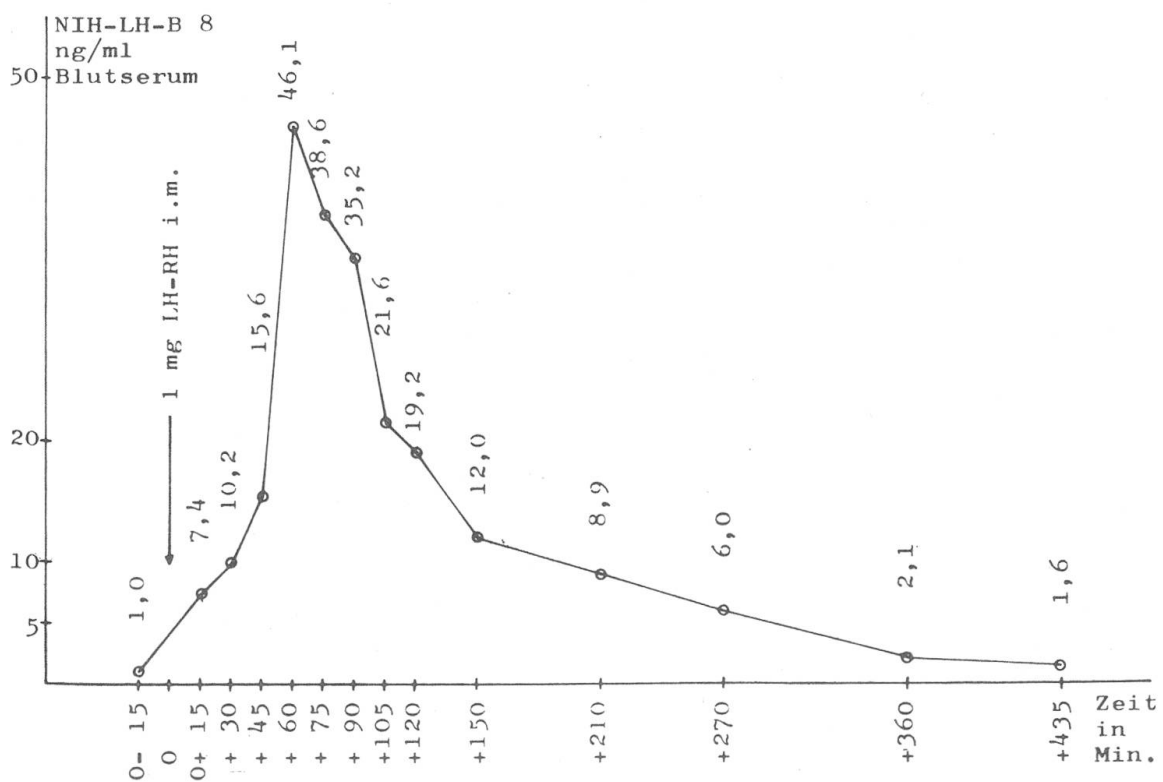


Abb. 5 Verlauf des LH-Blutspiegels bei Rind 80328 nach i.m. Applikation von 1 mg LH-RH (Hoechst) am 11. Tag des Sexualzyklus.

wie vor der RH-Applikation; sie schwanken zwischen 0,4 und 2,1 ng/ml Blutserum. In Analogie zu den vorhin beschriebenen Versuchen und dem nächstfolgenden Untersuch kann gefolgert werden, dass mit einer LH-RH-Applikation im Interöstrum kein länger anhaltender LH-Blutspiegel ausgelöst werden kann.

Rind 80328: Nach Bestimmung des LH-Verlaufes während einer Normalbrunst wurde dem Rind am 11. Zyklustag LH-RH i.m. appliziert, wobei sowohl vor als auch unmittelbar danach Blut entnommen wurde.

Die LH-Werte während der Normalbrunst entsprechen denen der beschriebenen (Abb. 5; Maximalwert: 32,4 ng/ml Serum, Dauer erhöhter LH-Werte: 15 Stunden). Die im Interöstrum provozierten LH-Konzentrationen unterscheiden sich aber nicht wesentlich von denen, welche unmittelbar vor dem Anlaufen einer neuerlichen Brunst beim Rind 13 und bei Kuh 28 erhalten wurden. Der maximale Blutwert nach LH-RH betrug 46,1 ng/ml Serum, und die Dauer erhöhter LH-Werte, verglichen mit dem Ausgangswert, war 4,5 Stunden (Abb. 5). Bei der rektalen Kontrolle der Ovarien konnte kein Follikel festgestellt werden, auch war 8 Tage später kein Corpus luteum nachzuweisen.

Stier A 150: Dem zweijährigen geschlechtsgesunden Stier wurde 1 mg LH-RH intravenös verabreicht und anschliessend während einer halben Stunde in 5minütigen Intervallen Blut entnommen; nachfolgend wurden die Zeitabstände zwischen den Blutentnahmen vergrössert.

Vor der Releaserverabreichung wurden zwei Spermioogramme erstellt und auch das Sexualverhalten beurteilt. Während 8 Wochen nach der LH-RH-Verabreichung wurden in wöchentlichen Intervallen dieselben Parameter geprüft.

Die LH-Blutwerte (Abb. 6) stiegen von 1,2 vor der LH-Verabreichung auf 8,8 ng/ml Serum innerhalb von 5 Minuten an und erreichten mit 19,1 ng/ml Serum schon nach 30 Minuten den höchsten gemessenen Wert. Der Abfall der LH-Blutkonzentration ging allmählicher vor sich als der LH-Anstieg. Die nachfolgenden LH-Werte waren niedriger als die Ausgangswerte.

Aus den Samenuntersuchungen können vorerst keine zwingenden Rückschlüsse auf eine LH-RH-Wirkung gezogen werden, da weder die physikalisch-chemischen noch die morphologischen Kriterien Unterschiede zu den Untersuchungen vor der Releaserverabreichung zeigen.

Gestagenvorbehandelte Rinder: Vier mit Chlormadinonazetat (Synchrosyn[®], Veterinaria AG, Zürich; täglich 10 mg Wirksubstanz während 16 Tagen peroral) und acht mit einer gestagenen Prüfsubstanz (Nortestosteronderivat, Prüfbezeichnung Ge; 10 mg Wirksubstanz während 16 Tagen peroral) behandelten Rindern der Simmentaler Fleckviehrasse im Alter zwischen 14 und 17 Monaten wurde mit Beginn der klinischen Brunstsymptome in dreistündigen Intervallen während 3 Tagen Blut für LH-Bestimmungen entnommen. Die Ovarien der Tiere wurden täglich einmal auf die Follikelanbildung bzw. Ovulation hin kontrolliert.

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, dass unabhängig vom verwendeten Gestagen bei allen Tieren die klinischen Brunstsymptome innerhalb von 24

Stunden einsetzten, dass aber nur bei 5 Tieren maximale LH-Werte am Tage des Brunstbeginns (davon 2 mit CAP behandelte Rinder) festzustellen waren. Bei 2 Tieren waren LH-Peaks am Tage nach dem Brunstbeginn vorhanden (davon 1 mit CAP behandeltes Tier); bei den übrigen Rindern konnten am Tage vor, während und am der Brunst nachfolgenden Tag keine erhöhten LH-Werte ermittelt werden.

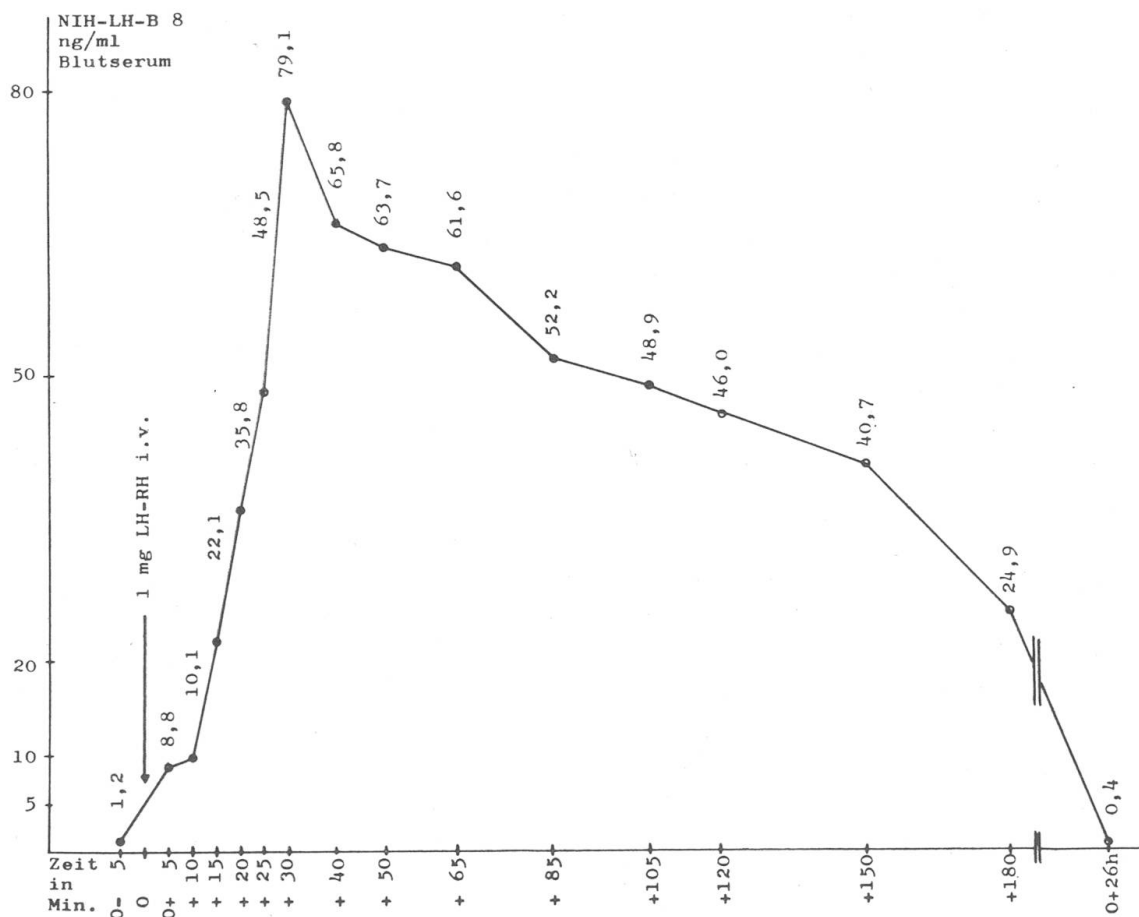


Abb. 6 Verlauf des LH-Blutspiegels bei Stier A 150 nach i.v. Applikation von 1 mg LH-RH (Hoechst).

Beim Vergleich zwischen Einsetzen der Brunstsymptome und dem Auftreten eines maximalen LH-Wertes – die gemessenen LH-Werte unterschieden sich von denen bei unbeeinflusst auftretenden Östren nur hinsichtlich deren Grösse, indem Werte bis zu 91,5 ng/ml Blut festzustellen waren – fällt auf, dass bei einer Koinzidenz der beiden genannten Vorgänge die Ovulationen spätestens nach 24 Stunden abgeschlossen waren (eine genaue Festlegung des Ovulationstermins ist mit einer selbst mehrmaligen täglichen Ovarikontrolle nicht möglich), dass hingegen bei den Tieren, welche keine erhöhten LH-Werte zeigten, die Ovulationen verspätet oder gar nicht auftraten (3 Tiere).

Diskussion der Untersuchungsergebnisse

Mit den von uns durchgeführten Untersuchungen über die radioimmunologisch bestimmbareren Blut-LH-Konzentrationen während einer Normalbrunst liessen sich die von Karg et al. (1969) beschriebenen hormonalen Abläufe beim Rind bestätigen und bedürfen keiner zusätzlichen Erörterung. Die Untersuchungsergebnisse an den mit Gestagenen vorbehandelten Tieren machen aber deutlich, dass nicht das Auftreten erhöhter LH-Mengen allein zu einer zeitgerechten Ovulation führt, sondern dass nur ein konzertierter hormonaler Ablauf zu einer brunstgerechten Ovulation führen kann. Wir leiten diesen Befund von den gestagenbehandelten Tieren ab, bei denen eine zeitliche Desynchronisation zwischen Brunsteintritt, LH-Peak und Ovulationszeitpunkt vorgelegen hat. Wir glauben daher aufgrund vorliegender Befunde, gepaart mit den bisherigen Erfahrungen bei der Synchronisation des Sexualzyklus bei Rindern, aber auch bei der Verwendung von Gestagenen als Sterilitätsprophylaktikum, vertreten zu können, dass bei einer der Hormontherapie nachfolgenden Brunst ein tier-spezifisches Hormonmuster und nicht ein einziges Sexualhormon den therapeutischen Erfolg ermöglicht. Wir sehen uns daher in Übereinstimmung mit Grunert (1974), der ausführt, dass die Anwendung hormoneller Wirkstoffe zu oft nur aufgrund empirischer Überlegungen vorgenommen wird. Selbst bei kombinierter Hormonanwendung und mit genauer umschriebenen Indikationen, z.B. Fixierung des Ovulationszeitpunktes nach Gestagenbehandlung mit Östradiol, LH-RH und HCG (Günzler und Schmid-Lindner, 1973; Grunert und Andresen, 1974, und eigene unveröffentlichte Untersuchungsergebnisse), sind bessere therapeutische Erfolge generell nicht zu erwarten. Die komplizierten neuroendokrinen Wechselbeziehungen erschweren eine erfolgreiche Therapie; daher sollte mit der vorliegenden Arbeit auch darauf verwiesen werden, dass vermehrt hormonanalytische Untersuchungen bei Fragen der Sterilitätsbehandlung und bei zotechnischen Manipulationen notwendig sind, um eine gesicherte Therapie anwenden zu können.

Bei unseren Versuchstieren war ferner zu bestätigen, dass LH-RH (Hoechst), parenteral verabreicht, innerhalb weniger Minuten eine LH-Freisetzung in das Blut bewirkt, wobei die erhaltenen LH-Spitzenwerte verglichen mit denen während einer Normalbrunst erhöht waren. Es ist aber fraglich, ob die applizierten Releasermengen nicht pharmakologisch wirkten. Wir glauben, gestützt auch auf Angaben in der Literatur (Seeger und Humke, 1974), dass eine intakte Adenohypophyse auf wesentlich kleinere LH-RH-Mengen mit einer LH-Ausschüttung antworten würde, zumal nach Studer und Steiner (1972) im Hypothalamus nur ganz geringe Releaserkonzentrationen (ca. 20 ng pro Hypothalamus) vorhanden sein sollen.

Über eine mögliche therapeutische Anwendung des LH-RH (Hoechst) können aufgrund vorliegender Untersuchungen nur Vermutungen angestellt werden. Unmittelbar vor und während der Brunst verabreichtes LH-RH dürfte zu einer optimaleren Fixierung des Ovulationstermins führen, welche

bei verzögerten Ovulationen therapeutisch wertvoll wäre. Unsere klinischen Befunde deuten jedenfalls nicht darauf hin, dass im genannten Zyklusstadium durch parenteral zugeführtes LH-RH Ovulationen verhindert würden.

Im Interöstrum konnten, soweit feststellbar, bei unseren Tieren keine provozierten Ovulationen beobachtet werden. Wir glauben auch nicht, dass selbst bei ablaufender Ovulationen im Interöstrum nach Belegung eine Gravidität resultieren könnte, da die hierfür notwendige sexagene Vorbereitung der primären Geschlechtsorgane wohl abortiv abläuft. Letztere Frage wird von uns hinkünftig abzuklären sein.

Eine möglicherweise klinisch verwertbare Anwendungsform des LH-RH könnte darin bestehen, mittels LH-RH die LH-Reserven im HVL zu prüfen, zumal sich auch bei anderen Untersuchern gezeigt hat (Reeves et al., 1972), dass eine funktionstüchtige Adenohypophyse in jeder Zyklusphase auf LH-RH mit einer LH-Ausschüttung antwortet. Damit könnte man die so oft vermuteten hypophysären LH-Insuffizienzen bei Rindern und Stieren transparenter darstellen.

Zusammenfassung

In der Arbeit wird ein Doppel-Antikörper-Radioimmunoassay zur Bestimmung von Luteinisierungshormon im Blutserum von Rindern beschrieben.

Bei fünf Rindern wurden die LH-Blutwerte während einer Brunst und nach Verabreichung von 1 mg LH-RH (Hoechst) in verschiedenen Zyklusstadien nach der beschriebenen Methode bestimmt. Bei allen Versuchsrindern konnten 15 Minuten nach intramuskulärer Verabreichung von LH-RH erhöhte LH-Konzentrationen gemessen werden; 6 Stunden nach der Applikation waren wieder Werte wie vor der Injektion des Releaserhormons festzustellen. Bei einem Stier verursachte 1 mg LH-RH (Hoechst), intravenös verabfolgt, nach 5 Minuten einen LH-Anstieg. Ferner wurde bei 12 während 16 Tagen mit zwei verschiedenen Gestagenen (Synchrosyn[®], Veterinaria AG, und einer gestagenen Prüfsubstanz, einem Nortestosteronderivat) der Verlauf des LH-Spiegels während der gestageninduzierten Brunst kontrolliert.

Die Untersuchungsergebnisse werden anhand in der Literatur vorhandener Befunde besprochen und der Wert von Hormonbestimmungen bei Fragen der Fortpflanzung herausgestellt.

Résumé

Le présent travail se propose de décrire un double test de radioimmunité des anticorps pour la détermination de l'hormone de lutéinisation dans le sérum sanguin.

Les valeurs sanguines de l'hormone de lutéinisation ont été déterminées chez 5 bovins pendant les chaleurs après application de 1 mg de LH-RH (Hoechst) aux différents stades du cycle selon la méthode décrite. Chez tous les bovins de l'expérience, il a été possible de mesurer une augmentation de la concentration de l'hormone de lutéinisation 15 minutes après l'application intramusculaire de la LH-RH. Six heures après l'application, on a constaté que l'on retrouvait les mêmes valeurs qu'avant l'injection de la RH. 1 mg de LH-RH (Hoechst) injecté par voie intraveineuse chez un taureau a provoqué au bout de 5 minutes une augmentation de l'hormone de lutéinisation. Par ailleurs, on a contrôlé chez 12 animaux ayant reçu pendant 16 jours 2 gestagènes différents (Synchrosyn[®], Veterinaria AG, et une substance à l'essai dérivée de la Nortestosterone) l'évolution du seuil de l'hormone de lutéinisation pendant les chaleurs induites par un gestagène. Les résultats des examens sont comparés à ceux publiés dans la littérature et la valeur de la détermination des hormones dans les problèmes de la reproduction est précisée.

Riassunto

Nel presente lavoro viene descritta una prova basata su una duplice radioimmunità anticorporea per determinare l'ormone luteinizzante nel siero di sangue del bovino.

In 5 giovenche sono stati determinati i valori ematici dell'LH durante l'estro e dopo l'applicazione di 1 mg di LH-RH (Hoechst) in diverse fasi del ciclo secondo il metodo descritto. 15 minuti dopo la somministrazione intramuscolare di LH-RH sono state riscontrate in tutte le giovenche in esame concentrazioni più elevate di LH; 6 ore dopo l'applicazione i valori rinvenuti erano simili a quelli di prima dell'inoculazione dell'ormone RH. In un toro la somministrazione endovena di 1 mg di LH-RH (Hoechst) ha determinato un incremento dell'LH dopo 5 minuti. L'andamento del livello dell'LH venne anche controllato, durante l'estro indotto da gestageni, in 12 vacche che in un periodo di 16 giorni avevano ricevuto due diversi gestageni (Synchrosyn®, Veterinaria AG, ed una sostanza test dei gestageni, un derivato del nortestosterone). I risultati degli esami vengono discussi in relazione ai reperti che sono stati in precedenza pubblicati ed è sottolineato il valore della determinazione ormonale nei problemi della riproduzione.

Summary

This paper describes a double-antibody-radioimmune assay to determine the luteinizing hormone in the blood-serum of cattle.

In 5 heifers the LH blood values were determined during oestrus and after application of 1 mg LH-RH (Hoechst) at various stages of the cycle, according to the method described. 15 minutes after the i/m injection of LH-RH, increased LH concentrations could be measured in all the test heifers; 6 hours after the application the values found were similar to those before the injection of the releaser-hormone. In a bull 1 mg LH-RH (Hoechst) applied i/v, caused a rise in the LH after 5 minutes. Also in 12 cows which over a period of 16 days received two different gestagens (Synchrosyn®, Veterinaria AG, and a gestagenous test-substance, a nortestosterone derivative), the course of the LH level was controlled during the gestagene-induced oestrus. The results of the examinations are discussed with reference to findings which had previously been published, and the value of hormone-determining in questions of reproduction is emphasized.

Literatur

- Cole H. H. and Cupps P. T.: *Reproduction in Domestic Animals*. Academic Press, New York-London 1969. – Folkers K., Enzmann F., Böhler J., Bowers C. J. and Schally A. V.: Discovery of Modification of the Synthetic Tripeptide-Sequence of the Thyrotropin Releasing Hormone Having Activity. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 37, 123ff. (1969). – Gay V. L.: The Hypothalamus-Physiology and Clinical Use of Releasing Factors. *Fertil. Steril.* 23, 50–63 (1972). – Greenwood F. C., Hunter W. M. and Glover J. S.: Preparation of ^{131}I -labelled Human Growth Hormone of High Specific Radioactivity. *Biochem. J.* 89, 114–123 (1963). – Grunert E.: Möglichkeiten und Grenzen der Hormontherapie bei weiblichen Haustieren mit Berücksichtigung des Fruchtbarkeitsgeschehens. *Tierärztl. Praxis* 2, 125–135 (1974). – Grünert E. und Andresen P.: Konzeption von Rindern nach Zyklussynchronisation und zusätzlicher Applikation von Östradiol, HCG bzw. LH-RH. *Tagung über Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung der Haustiere in München vom 22./23. Februar 1974*. – Günzler O. und Schmid-Lindner A.: Versuche über den Einfluss von LH-RH beim Rind. *Zuchthygiene* 8, 181–182 (1973). – Karg H., Hoffmann B. und Schams D.: Verlauf der Blutspiegel an Progesteron, Luteinisierungshormon und Prolaktin während des Zyklus bei einer Kuh. *Zuchthygiene* 4, 149–153 (1969). – Kuenzle C. C. und Döbeli M.: Insolubilized Lactoperoxidase for the (^{125}I)-Labelling of Proteins. *Experientia* 29, 800–801 (1973). – Matsuo H., Baba Y., Nair R. M. G., Arimura A. and Schally A. V.: Structure of the Porcine LH- and FSH-Releasing Hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43, 1334–1339 (1971). – Orden Van D. V.: The Analysis and Fractionation of LH ^{125}I by Gel Filtration. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 139, 267–270 (1972). – Reeves J. J., Arimura A., Schally A. V.,

Kragt C. L., Beck T. W. and Casey J. M.: Effects of Synthetic Luteinizing Hormone-Releasing Hormone/Follicle Stimulating Hormone-Releasing Hormone (LH-RH/FSH-RH) on Serum LH, Serum FSH and Ovulation in Anestrous Ewes. *J. Animal Sci.* 35, 84–89 (1972). – Schally A. V., Kastin A. J. and Arimura A.: FSH-Releasing Hormone and LH-Releasing Hormone. *Vitamins and Hormones* 30, 83–164 (1972). – Schally A. V., Redding T. W., Matsuo H. and Arimura A.: Stimulation of FSH and LH Release in Vitro by Natural and Synthetic LH and FSH Releasing Hormone. *Endocrin.* 90, 1561–1568 (1972). – Schams D. und Karg H.: Radioimmunologische LH-Bestimmung im Blutserum vom Rind unter besonderer Berücksichtigung des Brunstzyklus. *Acta endocrinologica* 61, 96–103 (1969). – Seeger K. und Humke R.: Das LH/FSH Releaserhormon in der Veterinärmedizin. *Die Blauen Hefte* 52, 40–48 (1974). – Studer R. O. und Steiner H.: Hypothalamische Releasing Hormone. *Schweiz. med. Wschr.* 102, 1270–1275 (1972). – Yalow R. S. and Berson S. A.: Immuno-assay of endogenous Plasma Insulin in Man. *J. Clin. Invest.* 39, 1157–1175 (1960).

BUCHBESPRECHUNGEN

Slow Virus Diseases. Progress in Medical Virology. Vol. 18. Edited by John Hotchin, Albany N. Y. S. Karger, Basel, 1974. 371 Seiten, 19 Abbildungen, 9 Tabellen.

Slow virus infections – persistierende und sich langsam entwickelnde Virusinfektionen – dieser Begriff wurde ursprünglich von Sigurdsson (1954) für drei Virusinfektionen des Schafes geprägt, nämlich Visna, Maedi und progressive Pneumonie. Im vorliegenden Band wurde der Begriff viel weiter ausgelegt und umfasst persistierende Infektionen, bei denen freies Virus über Perioden von Monaten oder Jahren isoliert werden kann; bewusst nicht berücksichtigt wurde das weite Gebiet der virusbedingten Tumoren.

Zwei Fragenkomplexe stehen dabei im Vordergrund: 1. Warum wird die Virusinfektion nicht durch die Abwehr des Organismus – Interferenz und Immunität – eliminiert, und 2. auf was beruhen die oft progredienten Schädigungen des Wirtes, die zu den mannigfaltigen klinischen Krankheitsbildern führen.

Der Band wird eingeleitet durch zwei grundlegende Abhandlungen über «die Faktoren und Mechanismen, die zu persistierenden Virusinfektionen führen», und über «die Funktion mononukleärer Phagozyten in der Immunität gegen Viren».

Persistierende Viren haben meist keinen oder nur einen geringen schädigenden Effekt auf infizierte Zellen; gleichzeitig fehlt oft die Stimulierung oder Wirksamkeit von Interferon. Kongenitale Infektionen können zu immunologischer Toleranz führen; aber auch auf verschiedene andere Weise kann sich das persistierende Virus einer Eliminierung durch die Immunantwort des Wirtes entziehen. Möglicherweise besteht ein Zusammenhang mit der häufig beobachteten Virusvermehrung in Lymphozyten und Makrophagen.

Es würde den Rahmen dieser Besprechung sprengen, auf alle Besonderheiten der Virusinfektionen, die in gesonderten Abschnitten diskutiert werden, im einzelnen einzugehen: Aleutenkrankheit der Nerze, persistierende Infektionen bei Afrikan. Schweinepest, Lymphozytäre Choriomeningitis, Lassa-Fieber, experimentelle Infektionen mit Junin-virus, infektiöse Anämie der Pferde, persistierende Infektionen mit Herpesviren, Marek-sche Lähme des Huhnes, LDH-Virus, multiple Sklerose und andere chronische und rezidivierende Erkrankungen des Nervensystems, progressive multifocale Leukoencephalopathie, Tollwut, Reovirus, congenitale Röteln, Scrapie, Visna und Maedi.

Akute Virusinfektionen werden durch Bekämpfungsmassnahmen und Schutzimpfungen immer stärker zurückgedrängt. Die Bedeutung persistierender Virusinfektionen nimmt dagegen relativ zu. Die Kenntnis über ihre Pathogenese ist noch unvollständig, und die Möglichkeiten einer Prophylaxe liegen noch im dunkeln.

«Slow virus diseases» – sind von grosser medizinischer und veterinärmedizinischer Bedeutung, der vorliegende Band legt beredtes Zeugnis von der vielfältigen Forschungstätigkeit auf diesem Gebiet ab.

F. Steck, Bern