

## STRESZCZENIE

Laktacja jest ostatnim etapem cyklu reprodukcyjnego samicy ssaków. Z pośród wielu przystosowań fizjologicznych karmiącej matki, zahamowanie aktywności rozrodczej umożliwia regenerację organizmu po przebytej ciąży i porodzie. W tym okresie istotną rolę w regulowaniu sekrecji gonadoliberyny podwzgórzowej (GnRH) oraz przysadkowego hormonu luteinizującego (LH) odgrywają endogenne peptydy opioidowe, prolaktyna, dopamina (DA) i kisspeptyna. Salsolinol, pochodna DA, to kolejny związek, który może być zaangażowany w regulację aktywności sekrecyjnej osi GnRH/LH w laktacji. Sugeruje to wzrost stężenia salsolinolu w podwzgórzu, zwłaszcza pod wpływem ssania, a także udział tego związku w modulowaniu uwalniania innych hormonów przysadki mózgowej. W prezentowanej rozprawie doktorskiej postawiono hipotezę badawczą, że salsolinol reguluje aktywność sekrecyjną podwzgórzowo-przysadkowego układu GnRH/LH u owcy w laktacji. W celu jej weryfikacji przeprowadzono cztery doświadczenia.

Doświadczenie pierwsze przeprowadzone na owcach (n=8) w piątym tygodniu laktacji, miało na celu zbadanie, jaki jest wpływ związku antagonizującego działanie salsolinolu (1-MeDIQ), infundowanego do trzeciej komory mózgu (IIIv), na uwalnianie GnRH w wyniosłości pośrodkowej i LH do krwi obwodowej. Stężenie GnRH oznaczono w perfuzatach otrzymanych metodą *push-pull* z jądra lejka/ wyniosłości pośrodkowej (IN/ME), a stężenie LH w próbkach krwi pobieranych z żyły szyjnej co 10 minut. W wyniku seryjnych infuzji 1-MeDIQ do IIIv nastąpiło istotne obniżenie stężenia GnRH w perfuzatach, w porównaniu do infuzji kontrolnej, a analiza stężeń w 30-minutowych okresach kolekcji wykazała, że stężenie GnRH obniżało się już od pierwszej infuzji 1-MeDIQ. Stwierdzono również spadek stężenia LH w krwi obwodowej. Nie odnotowano jednak istotnych zmian w częstotliwości i amplitudzie pulsów LH pomiędzy badanymi grupami.

Doświadczenie drugie miało na celu sprawdzenie działania egzogenego salsolinolu, infundowanego do IIIv owcy (n=8), na uwalnianie LH z przysadki mózgowej do krwi, 48 godz. po odsadzeniu jagniąt. Po zakończeniu czwartej serii 30-minutowych infuzji zwierzęta ubito w celu określenia ekspresji mRNA dla podjednostki LH $\beta$  w przedniej części przysadki mózgowej. Stwierdzano, że infuzja salsolinolu do IIIv spowodowała istotny wzrost stężenia LH we krwi, który wynikał ze wzrostu amplitudy pulsów LH. Częstotliwość pulsów LH pomiędzy grupami nie uległa zmianie. Infuzja salsolinolu nie wywołała również istotnych statystycznie zmian w ekspresji mRNA dla genu podjednostki LH $\beta$ .

Celem doświadczenia trzeciego było zbadanie wpływu związku antagonizującego działanie salsolinolu (1-MeDIQ), infundowanego do IN/ME, na uwalnianie GnRH do płynu mózgowo-rdzeniowego (CSF) i LH do krwi obwodowej u owiec (n=5) w piątym tygodniu laktacji. Próbkę CSF pobierano bezpośrednio z IIIv podczas wykonywania infuzji 1-MeDIQ lub kontrolnej do IN/ME. Nie stwierdzono istotnych zmian w stężeniu GnRH w CSF pomiędzy badanymi grupami. Analiza parametrów pulsacyjnego uwalniania LH wykazała natomiast istotny wzrost częstotliwości pulsów LH w grupie owiec po infuzji 1-MeDIQ, co przekładało się na istotny statystycznie wzrost średniego stężenia LH w krwi w tej grupie.

Doświadczenie czwarte przeprowadzono w warunkach *in vitro*, a jego celem było sprawdzenie wpływu salsolinolu na uwalnianie LH z przedniego płata przysadki mózgowej oraz na ekspresję genu podjednostki LH $\beta$  w komórkach przysadki. W badaniu użyto przysadki mózgowe (po 2 eksplanty) pobrane od owiec (n=9) ubitych 48 godzin po odsadzeniu 8-tygodniowych jagniąt. Eksplanty inkubowano przez okres 135 minut (w tym 15-minut preinkubacji), w medium z dodatkiem czystej soli fizjologicznej (NaCl, kontrola, n=6) lub NaCl, zawierającego różne rozcieńczenia salsolinolu tj. 20  $\mu\text{g/ml}$  (n=6) i 100  $\mu\text{g/ml}$  (n=6). Próbkę medium (1 ml) wymieniało się co 15 minut, uzupełniając za każdym razem świeżym. Wykazano, że salsolinol w obu dawkach spowodował istotne obniżenie stężenia LH w medium, w porównaniu do stężenia LH w pożywkach kontrolnych. Nie stwierdzono jednak istotnych zmian w ekspresji mRNA dla genu podjednostki LH $\beta$  pomiędzy badanymi grupami.

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń można wnioskować, że salsolinol jest czynnikiem modulującym aktywność sekrecyjną podwzgórzowo-przysadkowej osi GnRH/LH u owcy w laktacji. Modulujące działanie salsolinolu na sekrecję GnRH i LH dotyczy uwalniania obu hormonów i może odbywać się bezpośrednio (wpływ hamujący) lub pośrednio (wpływ stymulujący). Ponadto, w prezentowanych warunkach doświadczalnych (anestrus laktacyjne/sezonowe), salsolinol nie wykazuje wpływu na ekspresję mRNA dla genu podjednostki LH $\beta$  w przysadce mózgowej.