

## Streszczenie

Regulacja fizjologiczna uwalniania gonadoliberyny podwzgórzowej/hormonu luteinizującego (GnRH/LH) u samic ssaków jest ściśle związana z kompleksowymi oddziaływaniami pomiędzy układami licznych neurotransmiterów, neurohormonów i peptydów regulacyjnych w podwzgórzu, które pośredniczą w sprzężeniach zwrotnych estradiolu wywieranych na poziom uwalnianego GnRH/LH. U owcy, gatunku o sezonowym charakterze rozrodu, aktywność tych układów może zmieniać się istotnie w poszczególnych stanach fizjologicznych, dlatego też żadnemu z nich nie można przypisać jednoznacznej, pobudzającej lub hamującej, funkcji. Chociaż istnieją istotne dowody na to, że również GnRH może być częścią mechanizmu lokalnej sieci neuronalnej, która ułatwia komunikację między neuronami GnRH u szczura, działanie takie nie zostało w pełni wyjaśnione u owcy.

W przeciwieństwie do dobrze poznanych neuroendokrynowych mechanizmów uwalniania GnRH/LH, procesy molekularne, które kontrolują sekrecję GnRH/LH nadal pozostają w sferze dociekań naukowych. Doniesienia literaturowe sugerują jednak, że neuroprzekazniki i neuromodulatory pośredniczące w estrogenowej kontroli uwalniania GnRH mogą być również zaangażowane w regulację ekspresji genów *GnRH* i receptora *GnRH* (*GnRHR*).

Głównym celem badań było określenie udziału wybranych mechanizmów neuronalnych, kontrolujących uwalnianie GnRH/LH, w regulacji ekspresji genów *GnRH* i *GnRHR* w układzie podwzgórzowo-przysadkowym owiec anestralnych lub samic w cyklu estralnym. Doświadczenia prowadzono etapowo. W pierwszym etapie analizowano wpływ antagonisty receptora dopaminy D2 (sulpiryd) na ekspresję mRNA kodującego *GnRH* w podwzgórzu i *GnRHR* w tej strukturze oraz w przysadce (AP) u owiec anestralnych; drugi etap posłużył ocenie tego samego aspektu działania małych dawek GnRH w okresie anestralnym. W kolejnym etapie badano wpływ agonisty (muscimol) lub antagonisty (bikukulina) receptora GABA<sub>A</sub> na poziomy transkryptu dla *GnRH* i *GnRHR* u owiec w fazie pęcherzykowej cyklu estralnego.

Doświadczenia przeprowadzono na 48, trzy-czteroletnich, samicach owcy rasy Merynos Polski, w okresie anestralnym lub w fazie pęcherzykowej cyklu estralnego. Infuzje agonistów i antagonistów odpowiednich receptorów przeprowadzono w sposób pulsacyjny do III komory mózgu zwierząt. Poziomy ekspresji mRNA dla *GnRH* i *GnRHR* analizowano przy użyciu techniki Real-time PCR w okolicy przedwzrostkowej (POA), w podwzgórzu przednim (AH) i brzuszno-przyśrodkowym (VMH) oraz *GnRHR* w szypule/wyniosłości pośrodkowej (SME) i w AP. Analizy te uzupełniano badaniem stężenia LH w osoczu. Poziom LH oznaczano metodą radioimmunologiczną podwójnych przeciwciał.

Przeprowadzone badania wykazały, po raz pierwszy, że infuzja sulpirydu zmniejszyła poziom mRNA dla *GnRH* w VMH, lecz nie miała istotnego wpływu na poziomy transkryptu kodującego dekapeptyd w POA i AH, mimo wyraźnie zaznaczonej tendencji do jego obniżania. Wpływ sulpirydu na ekspresję mRNA dla *GnRHR* był zróżnicowany w poszczególnych obszarach podwzgórza; wzrost poziomu transkryptu dla *GnRHR* odnotowano w POA, AH i AP, podczas gdy w VMH i SME stwierdzono obniżenie jego ilości. Podwyższona sekrecja LH, odnotowana w odpowiedzi na sulpiryd, była wynikiem zwiększonej częstotliwości pulsów uwalnianego hormonu, gdyż amplituda pulsów nie różniła się istotnie względem grupy kontrolnej. Infuzja GnRH spowodowała znamienny wzrost poziomu transkryptu dla *GnRH* w VMH. Zwiększenie poziomu mRNA kodującego *GnRHR*,

w odpowiedzi na GnRH, stwierdzono we wszystkich analizowanych obszarach podwzgórza oraz w AP. Zwiększona sekrecja LH, indukowana podaniem GnRH, była wynikiem zwiększonej amplitudy pulsów, gdyż nie wykazano istotnych różnic w częstotliwości pulsów między grupą kontrolną i otrzymującą infuzje GnRH. Podawanie muscimolu zmniejszyło, zaś bikukuliny zwiększyło, ekspresję mRNA kodującego zarówno *GnRH*, jak i *GnRHR* i w podobny sposób wpłynęło na poziom LH w osoczu krwi.

Podsumowując, przeprowadzone badania wykazały, że neuroprzekaźniki i neuropeptydy w podwzgórzu: dopamina, GnRH i GABA, uczestniczące w kontroli uwalniania GnRH/LH, mogą również uczestniczyć w regulacji ekspresji genów *GnRH* i *GnRHR*. Sugeruje to, że regulacja uwalniania gonadotropin u owcy może zachodzić na poziomie procesów molekularnych wiodących do biosyntezy GnRH i GnRHR. Należy jednak zaznaczyć, że przyczyną zróżnicowanych poziomów transkryptu, tak dla ligandu, jak i dla receptora, obserwowanych w różnych obszarach podwzgórza, może być odmienna aktywność transkrypcyjna kodujących je genów, ale także stabilność transkryptu oraz jego przekształcenia w kolejnych etapach procesu biosyntezy.

**Słowa kluczowe:** owca, podwzgórze, przysadka, mRNA GnRH, mRNA GnRHR, LH, dopamina, GABA