

Neuralna regulacja uwalniania gonadoliberyny u owcy w różnych stanach fizjologicznych; rola receptorów GABA_A*

Dorota Tomaszewska-Zaremba, Krystyna Mateusiak, Franciszek Przekop

Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. J. Kielanowskiego PAN,

ul. Instytucka 3, 05-110 Jabłonna

e-mail: d.tomaszewska@ifzz.pan.pl

Słowa kluczowe: owce, podwzgórze, GnRH, noradrenalina, dopamina, receptory GABA_A

Bezpłodność, zakłócenie procesów owulacyjnych i sekrecji gonadotropin są istotnymi schorzeniami cywilizacyjnymi stwarzającymi poważne problemy badawcze i lecznicze tak w medycynie ludzkiej jak i weterynaryjnej. Jedną z głównych przyczyn tych zmian patologicznych rozrodu są czynniki stresogenne, które powodują zmiany aktywności układów neuro-endokrynych w ośrodkowym układzie nerwowym regulujących sekrecję gonadotropin z przysadki [17, 20, 21, 23, 35–38]. W uwalnianiu gonadoliberyny (GnRH) z podwzgórza, hormonu uczestniczącego w biosyntezie i uwalnianiu gonadotropin, biorą udział liczne neurotransmitery, neurohormony o charakterze zarówno hamującym, jak i stymulującym. Spośród związków hamujących sekrecję GnRH, kwas gamma-aminomasłowy (GABA) jest jednym z głównych neuroprzekazników wpływającym na aktywność neuronów GnRH przez receptory GABA_A [25, 32, 47] i receptory GABA_B [2, 6, 19]. Dotychczasowe badania wykazały, że receptory GABA_A w okolicy przedwzrostkowej i podwzgórza są włączone w neuralne mechanizmy, za pośrednictwem których GABA może spełniać funkcję hamującą [9, 18, 39, 40] i stymulującą [8, 11, 14, 33] aktywność neuronów w różnych stanach fizjologicznych [30] oraz w określonych strukturach mózgu [1]. Te przeciwstawne procesy wpływu aktywacji receptorów GABA_A na sekrecję GnRH nie są dotychczas wyjaśnione. Jedną z istotnych hipotez, które próbują wyjaśnić te przeciwstawne

*

Autorzy zostali wyróżnieni dyplomem uznania przez Wydział Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN w roku 2004 za prace badawcze „Neuralna regulacja uwalniania gonadoliberyny u owcy w różnych stanach fizjologicznych i w czasie stresu”.

mechanizmy GABA_A receptorów, zakłada, że receptory znajdują się nie tylko na neuronach GnRH, ale także na licznych układach neuralnych o charakterze hamującym i stymulującym sekrecję tego dekapeptydu. Końcowy wynik oddziaływania tych układów neuralnych na sekrecję GnRH jest wypadkową zmniejszenia aktywności układów stymulujących i obniżenia aktywności układów hamujących. Sugeruje się ponadto, że przeciwstawne działanie GABA na neurony GnRH może być uwarunkowane rodzajami podjednostek receptorowych wchodzących w skład receptorów GABA_A [15, 22]. Określenie roli receptorów GABA_A w układach neuralnych kontrolujących uwalnianie GnRH z podwzgórza ma istotne znaczenie poznawcze.

Dotychczasowe badania udokumentowały, że układy β -endorfinergiczny, noradrenergiczny i dopaminergiczny wywierają różny wpływ na uwalnianie GnRH u owiec w różnych sezonach rozrodczych. Stwierdzono, że β -endorfina spełnia funkcję hamującą w uwalnianiu GnRH u tego gatunku głównie w fazie pęcherzykowej cyklu estralnego [3, 4–6, 34, 46]. W okresie anestrалnym hamujący wpływ układu β -endorfinergicznego jest minimalny [7, 23, 34, 46].

Zgodnie z danymi literatury dopamina wykazuje hamujące działanie na aktywność neuronów GnRH [3, 10, 13, 46] i neuronów β -endorfinergicznych [46] głównie w okresie anestrалnym.

Wpływ noradrenaliny na sekrecję GnRH z podwzgórza u anestrалnych owiec nie był dotychczas jednoznacznie określony. Wyniki ostatnich prac wskazują, że układ noradrenergiczny spełnia funkcję hamującą w sekrecji gonadotropin [10, 45]. U owiec w fazie przedowulacyjnej noradrenalina aktywuje uwalnianie GnRH [6].

W serii prac poświęconych wyjaśnieniu roli receptorów GABA_A w neuralnym mechanizmie uwalniania GnRH w okolicy przedwzrokowej [39, 41, 42] i brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu [40, 43, 44] u owiec anestrалnych i w cyklu owulacyjnym po raz pierwszy wykazaliśmy, że aktywacja lub blokowanie receptorów GABA_A wywiera różny wpływ na uwalnianie GnRH/LH i aktywność układu β -endorfinergicznego i katecholaminergicznego (tab. 1). Stwierdzono, że aktywacja receptorów GABA_A za pomocą antagonisty – muscimolu, tak w okolicy przedwzrokowej, jak i brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu zmniejsza sekrecję GnRH/LH u owiec anestrалnych i u owiec w fazie pęcherzykowej cyklu estralnego, lecz w różny sposób wpływa na aktywność układu β -endorfinergicznego, noradrenergicznego i dopaminergicznego w tych strukturach. U zwierząt w okresie anestrалnym, muscimol aktywował układ noradrenergiczny i obniżał aktywność układu dopaminergicznego w okolicy przedwzrokowej; w brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu muscimol stymulował uwalnianie β -endorfiny i dopaminy, lecz nie zmieniał aktywności układu noradrenergicznego. Dane te sugerują, że GABA może prawdopodobnie bezpośrednio hamować uwalnianie GnRH przez mechanizmy receptorowe na neuronach GnRH lub pośrednio przez procesy receptorowe na układach β -endorfinergicznym i katecholaminergicznym. Zablokowanie receptorów GABA_A za pomocą antagonisty,

Tabela 1. Wpływ muscimolu i bicuculliny na uwalnianie GnRH/LH, β -endorfiny i aktywność układu katecholaminergicznego

Struktury mózgu	Substancje chemiczne badane	Anestrus		Faza pęcherzykowa cyklu estralnego		Faza ciała żółtego	
		mus-cimol	bicu-cullina	mus-cimol	bicu-cullina	mus-cimol	bicu-cullina
Okolica przedwzrokowa	GnRH	—	0	—	0	0	0
	β -END	0	0	+	—	0	—
	NE	+	0	+	0	0	—
	DA	—	0	0	0	0	—
	MHPG	+	0	+	0	0	—
	DOPAC	—	0	0	+	0	—
	LH*	—		—		0	0
Podwzgórze brzuszno-przyśrodkowe	GnRH	—	0	—	0	0	0
	β -END	+	—	+	—	0	—
	NE	0	0	0	0	0	0
	DA	+	—	+	0	0	—
	MHPG	+	0	0	0	0	—
	DOPAC	+	—	+	0	0	—
	LH*	—		—		0	—

Objaśnienia: β -END – β -endorfina, NE – noradrenalina, DA – dopamina, MHPG – 3-methoxy-phenyl-glycol, DOPAC – 3,4-dihydroxy-phenylacetic acid, LH* – hormon luteinizujący w krwi. 0 – brak zmian w stężeniach substancji badanych, + – wzrost stężeń, — – obniżenie stężeń.

bicuculliny, tak w okolicy przedwzrokowej, jak i brzuszno-przyśrodkowym podwzgórze nie wpływało na sekrecję GnRH/LH, lecz obniżało znacznie uwalnianie β -endorfiny i dopaminy.

W świetle tych badań trudno jest interpretować zjawisko, dlaczego zmniejszenie aktywności układu dopaminergicznego i β -endorfinergicznego w brzuszno-przyśrodkowym podwzgórze nie zwiększało sekrecji gonadotropin. Prawdopodobnie w kontroli sekrecji GnRH w brzuszno-przyśrodkowym podwzgórze uczestniczą jeszcze inne układy, które blokują uwalnianie GnRH.

Aktywacja receptorów GABA_A w okolicy przedwzrokowej i brzuszno-przyśrodkowym podwzgórze u owiec w fazie pęcherzykowej cyklu estralnego znacznie zmniejszała uwalnianie GnRH/LH. W porównaniu z owcami anestralnymi proces ten dokonywał się przy innych zmianach aktywności tych układów. Aktywacja receptorów GABA_A w okolicy przedwzrokowej zmniejszała uwalnianie GnRH i stymulowała

układ β -endorfinergiczny i noradrenergiczny. Wyniki te sugerują, że głównym czynnikiem hamującym aktywność neuronów GnRH była uwolniona β -endorfina. Z poprzednich naszych badań wynika, że stymulujący wpływ noradrenaliny na uwalnianie GnRH zachodzi tylko w przypadkach obniżonej aktywności układu β -endorfinergicznego [6]. Należy także nadmienić, że funkcja układu noradrenergicznego w sekrecji gonadotropin w czasie zmiany aktywności receptorów GABA_A może różnić się istotnie od roli tego układu u zwierząt w normalnych warunkach fizjologicznych. Badania na szczurach wykazały, że noradrenalina wywiera wpływ stymulujący na sekrecję LH tylko u zwierząt, u których zablokowano GABA_A receptory [12].

Zmniejszenie sekrecji GnRH/LH z jednoczesnym wzrostem aktywności układu β -endorfinergicznego i dopaminergicznego w brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu w czasie perfuzji muscimolu sugeruje, że GABA może wpływać na aktywność sekrecyjną neuronów GnRH poprzez kontrolę sekrecji β -endorfiny i dopaminy.

Obniżenie aktywności układu β -endorfinergicznego, tak w okolicy przedwzrokowej, jak i brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu, po zablokowaniu receptorów GABA_A nie powodowało istotnych zmian w sekrecji GnRH/LH. Dane te potwierdzają wyniki poprzednich naszych prac, w których stwierdzono, że warunkiem niezbędnym do stymulacji sekrecji GnRH/LH w tej fazie cyklu estralnego jest zmniejszenie uwalniania β -endorfiny z jednoczesnym wzrostem aktywności układu noradrenergicznego [6].

Aktywacja i blokowanie receptorów GABA_A w okolicy przedwzrokowej i brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu nie powodowały istotnych zmian w sekrecji GnRH/LH u owiec w fazie ciała żółtego cyklu estralnego [42, 44]. Sugeruje się, że wysoki poziom progesteronu w tym okresie cyklu estralnego, jak i indukowany tym hormonem wzrost aktywności układu GABA-ergicznego [27, 28] czyni receptory GABA_A mało wrażliwymi na stymulację muscimolem. Należy nadmienić, że progesteron jest hormonem silnie blokującym uwalnianie GnRH [29]. Blokada receptorów GABA_A istotnie zmniejszała stężenie zewnątrzkomórkowe β -endorfiny, lecz nie powodowała istotnych zmian w uwalnianiu GnRH. Taka współzależność wydaje się zjawiskiem normalnym. Liczne badania udokumentowały, że β -endorfina nie wywiera istotnego wpływu na uwalnianie GnRH w fazie ciała żółtego cyklu estralnego. Rola układu noradrenergicznego i dopaminergicznego w fazie ciała żółtego cyklu estralnego u owcy była rozważana zaledwie w kilku pracach, a wyniki tych badań nie są jednoznaczne [27, 28].

Niniejsze badania nad rolą receptorów GABA_A w neuralnym mechanizmie uwalniania GnRH w okolicy przedwzrokowej i brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu wykazały, że aktywacja receptorów GABA_A obniża uwalnianie GnRH i w specyficzny sposób moduluje aktywność układu β -endorfinergicznego i katecholaminergicznego w tych strukturach u owiec anestralnych i w fazie pęcherzykowej cyklu estralnego.

Hamujący wpływ aktywacji receptorów GABA_A na uwalnianie GnRH w okolicy przedwzrokowej i brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu dokonuje się prawdopodobnie przez różne mechanizmy i układy neuralne:

- bezpośrednio, przez receptory GABA_A na komórkach GnRH w okolicy przedwzrokowej i na zakończeniach nerwowych tych komórek w brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu;
- pośrednio, poprzez mechanizmy receptorowe na układach β -endorfinergicznym i katecholaminergicznym w tych strukturach; otrzymane wyniki, jak i dane z literatury, nie pozwalają na określenie w jakim stopniu obniżona sekrecja GnRH jest związana z bezpośrednim lub pośrednim wpływem GABA na neurony GnRH.

Brak zmian w uwalnianiu GnRH, β -endorfiny i aktywności układu katecholaminergicznego w czasie perfuzji muscimolu u owiec w fazie ciała żółtego cyklu estralnego może wynikać z obniżonej aktywności GABA_A w okresie zwiększonej indukowanej progesteronem sekrecji GABA.

Zablokowanie receptorów GABA_A u owiec anestranych i owiec w cyklu estralnym nie wpływa w istotny sposób na uwalnianie GnRH; moduluje natomiast aktywność układu katecholaminergicznego i β -endorfinergicznego. Sugeruje się, że zablokowanie receptorów GABA_A może zmieniać reakcję neuronów GnRH na β -endorfinę i katecholaminy.

Podsumowanie

Omówione badania własne wskazują, że neurony GABA w podwzgórzu i okolicy przedwzrokowej odgrywają istotną rolę w regulacji sekrecji GnRH/LH u owcy, tak w okresie anestrалnym, jak i w fazach pęcherzykowej i ciała żółtego cyklu estralnego. Regulacja uwalniania GnRH przez GABA włącza całą serię interakcji pomiędzy układami GnRH, β -endorfinergicznym i katecholaminergicznym. Hamujący wpływ GABA na uwalnianie GnRH w okolicy przedwzrokowej i brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu u owiec w sezonowym okresie anestrалnym i w fazie pęcherzykowej cyklu estralnego dokonuje się prawdopodobnie poprzez mechanizmy GABA_A receptorowe na różnych układach neuralnych: bezpośrednio poprzez receptory GABA_A na neuronach GnRH lub pośrednio poprzez zmianę aktywności układu β -endorfinergicznego i katecholaminergicznego

- [1] Bourguignon J.P., Gerard A., Purnelle G., Czajkowski V., Yamamoto C., Lemaitre M., Rigo J.M., Moonen G., Franchimont P. 1997. Duality of glutamatergic and GABAergic control of pulsatile GnRH secretion by hypothalamic explants. I. Effects of antisense oligodeoxynucleotides using explants including or excluding the preoptic area. *J. Neuroendocrinology* 9: 183–191.
- [2] Bowery N. 1989. GABA β receptors and their significance in mammalian pharmacology. *Trends Pharmacol. Sci.* 10: 401–411.
- [3] Brooks A.N., Haynes N.B., Yung K. 1986. Ovarian steroids involvement in endogenous opioid modulation of LH secretion in seasonally anestrus mature ewes. *J. Reprod. Fert.* 76: 709–715.
- [4] Conover C.D., Kuljis S.O., Rabii J., Advis J.P. 1993. β -endorphin regulation of luteinizing hormone-releasing hormone release at median eminence in ewes: immunocytochemical and physiological evidence. *Neuroendocrinology* 57: 1182–1195.
- [5] Curlevis J.D., Naylor A.M., Rhind S.M., Mc Neilly A.S. 1991. Effect of beta-endorphin on pulsatile luteinizing hormone and prolactin secretion during the follicular phase in the ewe. *J. Neuroendocrinology* 3: 123–126.
- [6] Domański E., Chomicka L.K., Ostrowska A., Gajewska A., Mateusiak K. 1991. Release of luteinizing hormone-releasing hormone, β -endorphin and norepinephrine by nucleus infundibularis-median eminence during periovulatory period in the sheep. *Neuroendocrinology* 54: 151–158.
- [7] Ebling F.J.P., Lincoln G.A. 1985. Endogenous opioids and the control of seasonal LH secretion in Soy rams. *J. Endocrinology* 107: 341–353.
- [8] Felder C., Jarry H., Leonhardt S., Wuttke W., Moguilevsky J.A. 1996. The GABAergic control of gonadotrophin-releasing hormone secretion in male rats during sexual maturation involves effects on hypothalamic excitatory and inhibitory amino acids systems. *Neuroendocrinology* 64: 305–312.
- [9] Ferreira S.A., Scott C.J., Kuehl D.E., Jackson G.L. 1996. Differential regulation of luteinizing hormone release by γ -aminobutyric acid receptor subtypes in the arcuate-ventromedial region of the castrated ram. *Endocrinology* 137: 3453–3460.
- [10] Goodman R.L. 1996. Neural systems mediating the negative feedback actions of estradiol and progesterone in the ewe. *Acta Neurobiol. Exp.* 56: 727–741.
- [11] Hales T.G., Sanderson M.J., Charles A.C. 1994. GABA has excitatory effect on GnRH-secreting immortalized hypothalamic (GT 1–7) neurons. *Neuroendocrinology* 59: 297–308.
- [12] Hartman R.D., He J-R., Barraclough C.A. 1990. γ -aminobutyric acid – A and B receptor antagonists increases luteinizing hormone-releasing hormone neural responsiveness to intracerebroventricular norepinephrine in ovariectomized estrogen treated rats. *Endocrinology* 127: 1336–1345.
- [13] Havern R.L., Whisnant C.S., Goodman R.L. 1994. Dopaminergic structures in the ovine hypothalamus mediating estradiol negative feedback in anestrus ewes. *Endocrinology* 134: 1904–1914.
- [14] Jurry H., Leonhardt S., Wuttke W. 1991. γ -aminobutyric acid neurons in the preoptic/anterior hypothalamic area synchronize the phasic activity of the gonadotropin releasing hormone pulse generator in ovariectomized rats. *Neuroendocrinology* 53: 261–267.

- [15] Jung H., Shannon E.M., Fritschy J.-M., Ojeda S.R. 1998. Several GABA receptor subunits are expressed in LHRH neurons of juvenile female rats. *Brain Res.* 790: 219–229.
- [16] Kaupmann K., Huggel K., Heid J. 1997. Expression cloning GABA β receptors uncovers similarity to metabotropic glutamate receptors. *Nature* 386: 239–246.
- [17] Li X.F., Bowe J.E., Mitchell J.C., Brain S.D., Lightman S.L., O'Byrne K.T. 2004. Stress-induced suppression of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator in the female rat: a novel neural action for calcitonin gene-related peptide. *Endocrinology* 145: 1556–1563.
- [18] Mitsushima D., Hei D.L., Tarasawa E. 1994. γ -aminobutyric acid is an inhibitory neurotransmitter restricting the release of luteinizing hormone-releasing hormone before the onset of puberty. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 395–399.
- [19] Mott D.D., Lewis D.W. 1994. The pharmacology and function of central GABA β receptors. *Int. Rev. Neurobiol.* 36: 97–223.
- [20] Nappí R.E., Rivest S. 1997. Effect of immune and metabolic challenge on the luteinizing hormone-releasing hormone neural system in cycling female rats: an evaluation at the transcriptional level. *Endocrinology* 138: 1374–1384.
- [21] Pacák K., Palkovits M. 2001. Stressor specificity of central neuroendocrine responses implications for stress-related disorders. *Endocr. Rev.* 22: 502–548.
- [22] Petersen J.E., Mc Crone S., Coy D., Adelman J.P., Mahom L.C. 1993. GABA A receptor subunit mRNA in cells of preoptic area: colocalization with LHRH mRNA using dual-label in situ hybridization histochemistry. *Endocr. J.* 1: 29–34.
- [23] Przekop F., Wolińska-Witort E., Mateusiak K., Sadowski B., Domański E. 1984. The effect of prolonged stress on the estrous cycles and prolactin secretion in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 7: 333–342.
- [24] Przekop F., Hamam M.M., Mateusiak K. 1989. Lack of LH response to intraventricularly infused naloxone in anestrus ewes. *Endocrinology of Farm Animals. Proceeding of II International Symposium on Farm Animal Endocrinology.* Smolenice Castle: 255–260.
- [25] Rabow L.E., Russek S.J., Farb D.H. 1995. From ion currents to genomic analysis: recent advances in GABA A receptor research. *Synapse* 21: 189–274.
- [26] Rivier C., Rivest S. 1991. Effect of stress on activity of hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. *Biol. Reprod.* 45: 523–532.
- [27] Robinson J.E., Kendrick K.M. 1992. Inhibition of luteinizing hormone secretion in the ewe by progesterone: associated changes in the release of gamma-aminobutyric acid and noradrenaline in the preoptic area as measured by intracranial microdialysis. *J. Neuroendocrinology* 4: 231–236.
- [28] Robinson J.E. 1995. Gamma-aminobutyric acid and the control of GnRH secretion in sheep. *J. Reprod. Fertil. Suppl* 49: 221–230.
- [29] Robinson J.E., Healey A.E., Harris T.G., Messet E.A., Skinner D.C., Taylor J.A., Evans N.P. 2000. The negative action of progesterone on luteinizing hormone release is not associated with changes in GnRH mRNA expression in the ewe. *J. Neuroendocrinology* 12: 121–130.
- [30] Scott C.J., Clarke I.J. 1993. Inhibition of luteinizing hormone secretion in ovariectomized ewes during the breeding season by γ -aminobutyric acid (GABA) is mediated by GABA A receptors, but not GABA β receptors. *Endocrinology* 132: 1789–1796.
- [31] Scott C.J., Clarke I.J. 1993. Evidence that changes in the function of the subtypes of the receptors for gamma-aminobutyric acid may be involved in the seasonal changes in the ne-

- gative feedback effects of estrogen on gonadotropin-releasing hormone secretion and plasma luteinizing hormone levels in the ewe. *Endocrinology* 133: 2904–2912.
- [32] Sieghart W. 1995. Structure and pharmacology of gamma-aminobutyric acid A receptor subtypes. *Pharmacol. Rev.* 47: 181–234.
- [33] Sin J.A., Skinner M.J., Pape J.R., Herbison A.E. 2000. Late postnatal reorganization of GABA receptor signalling in native GABA neurons. *Eur. J. Neurosci.* 12: 3497–3504.
- [34] Skinner D.C., Herbison A.E. 1997. Effect of photoperiod on estrogen receptors, tyrosine hydroxylase, neuropeptide Y, and β -endorphin immunoreactivity in the ewe hypothalamus. *Endocrinology* 138: 2585–2595.
- [35] Tanabe K., Nishijo H., Muragushi A., Ono T. 2000. Effects of chronic stress on hypothalamic interleukin-1B, interleukin-2, and gonadotropin-releasing hormone gene expression in ovariectomized rats. *J. Neuroendocrinology* 12: 13–21.
- [36] Tomaszewska D., Mateusiak K., Przekop F. 1999. Changes in extracellular LHRH and β -endorphin-like immunoreactivity in the nucleus infundibularis-median eminence of anestrus ewes under stress condition. *J. Neural. Trans.* 106: 265–274.
- [37] Tomaszewska D., Przekop F. 1999. Catecholaminergic activity in the medial preoptic area and nucleus infundibularis-median eminence of anestrus ewes in normal physiological state and under stress condition. *J. Neural. Trans.* 106: 1031–1043.
- [38] Tomaszewska D., Przekop F., Mateusiak K. 2002. Responses of catecholaminergic, β -endorphinergic and gonadoliberinergic neuronal systems in the hypothalamus of anestrus ewes to stressful stimuli. W: Stress: Neural, endocrine and molecular studies. R. McCarty, G. Aguilera, E. Sabban, R. Kvetnansky (red.). Taylor & Francis, London New York: 51–55.
- [39] Tomaszewska-Zaremba D., Mateusiak K., Przekop F. 2003. The role of GABA_A receptors in the neural systems of the medial preoptic area in the control of GnRH release in ewes during follicular phase. *Anim. Reprod. Sci.* 77: 71–83.
- [40] Tomaszewska-Zaremba D., Mateusiak K., Przekop F. 2003. The role of GABA_A receptors in the neural systems of the ventromedial hypothalamus-nucleus infundibularis region in the control of GnRH release in ewes during follicular phase. *Exp. Clin. Endocrinol. Diab.* 111: 335–340.
- [41] Tomaszewska-Zaremba D., Mateusiak K., Przekop F. 2002. The involvement of GABA_A receptors in the control of GnRH and β -endorphin release, and catecholaminergic activity in the preoptic area in anestrus ewes. *Exp. Clin. Endocrinol. Diab.* 110: 336–342.
- [42] Tomaszewska-Zaremba D., Mateusiak K., Przekop F. 2004. The role of GABA_A receptors in the neural systems of the medial preoptic area in the control of GnRH release during the luteal phase of the estrous cycle in ewes. *J. Anim. Feed Sci.* 13: 123–134.
- [43] Tomaszewska-Zaremba D., Przekop F., Mateusiak K. 2001. The involvement of GABA_A receptors in the control of GnRH and β -endorphin release, and catecholaminergic activity in the ventromedial-infundibular region of hypothalamus in anestrus ewes. *J. Physiol. Pharmacol.* 52: 489–500.
- [44] Tomaszewska-Zaremba D., Mateusiak K., Przekop F. 2002. The role of GABA_A receptors in the neural systems of the ventromedial-infundibular region of the hypothalamus in the control of gonadotrophin release during luteal phase in ewes. *J. Physiol. Pharmacol.* 53: 1–11.
- [45] Tomaszewska-Zaremba D., Przekop F. 2005. Effects of GABA_B receptor modulation on gonadotropin-releasing hormone and β -endorphin release, and on catecholaminergic ac-

tivity in the ventromedial hypothalamus-infundibular region of anestrus ewes. *J. Neuroendocrinology* 17: 49–56.

[46] Tortonese D.J. 1999. Interaction between hypothalamic dopaminergic and opioidergic systems in the photoperiodic regulation of pulsatile luteinizing hormone secretion in sheep. *Endocrinology* 140: 750–757.

[47] Wisden W., Seeburg P.H. 1992. GABA_A receptor channels: from subunits to functional entities. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2: 263–269.

The neural regulation of gonadoliberin release in ewes during different physiological stages: the role of GABA_A receptors

Key words: sheep, hypothalamus, GnRH, noradrenaline, dopamine, GABA_A receptors

Summary

One of the most important inhibitory neurotransmitter in the control of gonadoliberin (GnRH) secretion is gamma-aminobutyric acid (GABA). To examine the role of GABA_A receptor mediating systems in the control of GnRH/LH release from the preoptic area and ventromedial hypothalamus of ewes in different reproductive stages (seasonal anestrus, follicular and luteal phase of the estrous cycle) the extracellular concentration of GnRH, β -endorphin, noradrenaline, dopamine and metabolites of catecholamines: MHPG, DOPAC were quantified during local stimulation or blockade of GABA_A receptors with muscimol or bicuculline, respectively.

Stimulation of GABA_A receptors in the preoptic area and ventromedial hypothalamus markedly attenuated GnRH/LH release in the anestrus ewes and in sheep during follicular phase of the estrous cycle but did not affect these hormones secretion in animals during the luteal phase of the estrous cycle. The activation of GABA_A receptors in these structures in different way affected β -endorphinergic and catecholaminergic system activity in anestrus ewes and animals during the follicular phase; lack of changes in the release of β -endorphin, noradrenaline and dopamine was noted in ewes during the luteal phase.

With the exception of preoptic area in anestrus ewes the blockade of GABA_A receptors in the preoptic and ventromedial hypothalamus affected in specific way the activity of β -endorphinergic and catecholaminergic systems in these structure in all animals.

In conclusion: presented results indicate that activation of GABA_A receptors in the preoptic area and ventromedial hypothalamus of anestrus ewes and sheep during follicular phase of the estrous cycle inhibits GnRH/LH secretion. Presented results indicate that different neural mechanisms may be involved in the suppression of

GnRH/LH by GABA directly through the GABA_A receptor mechanism on the perikaria or on the axon terminals of GnRH cells, and/or indirectly through GABA_A receptor processes on β -endorphinergic and catecholaminergic systems. Lack of changes in GnRH/LH release during GABA_A receptor activation in ewes during luteal phase of the estrous cycle indicates that the influence of GABA on GnRH-ergic activity depends on physiological state of animals. Blockade of GABA_A receptors in the anestrous and cycling ewes does not change GnRH/LH release; it is suggested that blockade of GABA_A receptors may change GnRH neurons response to β -endorphin and dopamine.