

Tomasz Misztal

Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN im. Jana Kielanowskiego w Jabłonie

Melatonina – hormon sezonowości rozrodu u owiec

W strefach klimatu umiarkowanego wydanie na świat potomstwa u wielu gatunków dużych ssaków następuje wiosną. Gwarantuje to rozwój młodego osobnika w warunkach obfitujących w wysokiej jakości pożywienie oraz zgromadzenie zapasu tłuszczu, który umożliwi przetrwanie podczas zimy. W zależności od długości ciąży okres płodności zwierząt przypada w różnych porach roku. U koni ciąża trwa około jednego roku, a zatem okres płodności przypada na wiosnę. U owiec i jeleni, u których czas rozwoju płodu w organizmie matki jest krótszy, okres płodności utrzymuje się od późnego lata do zimy. U zwierząt mających krótki okres ciąży i odchowu młodych (ptaki i małe ssaki) sezon aktywności płciowej występuje w tym samym roku.

Zjawisko sezonowości u zwierząt odnosi się nie tylko do samego rozrodu. Zmianom sezonowym podlegają także inne procesy fizjologiczne; charakter cykliczny mają np. zmiany masy ciała, odkładanie tkanki tłuszczowej, a także wzrost i wymiana okrywy włosowej. Cykle te są zakodowane genetycznie i ściśle wiążą się z aktywnością sekrecyjną osi podwzgórzowo-przysadkowej. Jednak zachowanie ich w pełni wymaga stałych czynników środowiskowych, które pozwolą na zsynchronizowanie towarzyszących im procesów w odpowiedniej porze roku – najważniejszą rolę odgrywa tu długość dnia.

Udomowienie oraz intensywna hodowla i użytkowanie niektórych gatunków dużych ssaków, mimo że uściśliły więzi pomiędzy zwierzęciem a człowiekiem, przyczyniły się też do zaniku sezonowości niektórych cech. Stało się tak w wypadku krów i świń, u których sezonowość rozrodu jest mało wyraźna, lecz uwydatnia się po przywróceniu naturalnego sposobu utrzymania. Zwierzętami gospodarskimi, u których w pełni zachowały się jeszcze sezonowe zmiany aktywności płciowej, są konie i owce. Spośród tych dwóch gatunków najlepszym modelem do badań *in vivo* jest owca, zwierzę o stosunkowo łagodnym charakterze, łatwo przystosowujące się do warunków stworzonych przez człowieka. Na podstawie modelu owcy przedstawione zostaną w niniejszym artykule wyniki współczesnych badań nad modulującym wpływem długości dnia i melatoniny na aktywność płciową oraz omówione zostaną hipotezy dotyczące miejsc i sposobu oddziaływania melatoniny w organizmie.

Kontrola cyklu reprodukcyjnego u owiec

Nasilenie się funkcji rozrodczych u owiec następuje w warunkach skracającego się dnia – od końca lata do zimy. W okresie tym, w zależności od rasy owiec, występuje u maciorek zwykle od 8 do 10 siedemnastodniowych cykli płciowych zakończonych owulacją. O tym że zmiany długości dnia wywierają wpływ na proces rozrodu u owiec przekonano się prawie 60 lat temu. Pierwsze dane pochodzą z doświadczeń, w których owce przetransportowano z jednej półkuli na drugą. Cykl reprodukcyjny podporządkowywał się wówczas warunkom świetlnym panującym w nowym miejscu utrzymywania. W doświadczeniach innego typu podjęto próby zachowania cyklu reprodukcyjnego u owiec w warunkach sztucznie regulowanej długości fazy świetlnej. Podobnie jak w warunkach naturalnych, dzień krótki zawsze stymulował aktywność płciową, odwrotne natomiast było oddziaływanie dnia długiego. Utrzymywanie owiec na przemian przez 90 dni w warunkach długiego i krótkiego dnia pozwoliło indukować okres rozrodczy nawet dwukrotnie w ciągu jednego roku. Już wtedy zwrócono również uwagę na to, że dzień krótki nie tylko stymuluje aktywność płciową, ale także pozwala utrzymać zakodowaną genetycznie długość okresu rozrodczego [17].

Sezonowe wzmoczenie lub osłabienie aktywności płciowej u owiec wiąże się ze zmianami sekrecji gonadotropin: hormonu luteinizującego (LH) i hormonu stymulującego rozwój pęcherzyków jajnikowych (FSH) z przedniego płata przysadki mózgowej. Podobnie jak w przypadku innych hormonów uwalnianych przez ten gruczoł, sekrecja LH i FSH kontrolowana jest przez podwzgórze za pośrednictwem neurohormonu – gonadoliberyny (LHRH). Ciała neuronów, w których odbywa się synteza LHRH, znajdują się w obszarze przedwzrostkowym *preoptic area* (POA), a ich aksony mają swe zakończenia w wyniosłości pośrodkowej *median eminence* (ME) podwzgórze, gdzie neurohormon uwalniany jest do naczyń żylnych podwzgórzowo-przysadkowego układu wrotnego (narządu neurohemalnego). Uwalnianie LHRH odbywa się w sposób pulsacyjny i każdemu pulsowi LHRH odpowiada wyrzut LH z komórek przysadki. Częstotliwość pulsów LH u owiec zmienia się w ciągu roku i zależy od fazy cyklu reprodukcyjnego [17]. Poza sezonem rozrodczym przerwy pomiędzy poszczególnymi pulsami trwają nawet 24 godziny, a w okresie aktywności płciowej od 2 do 4 godzin. U maciorek częstotliwość pulsów LH zależy także od fazy cyklu estralnego i waha się od 1 puls co 4 godziny w fazie lutealnej do 1 puls co 30 minut w końcowym okresie fazy folikularnej. Sezonowe różnice w uwalnianiu LH dotyczą też amplitudy pulsów, która jest większa w okresie anestrалnym niż w sezonie rozrodczym, z wyjątkiem wyrzutu LH poprzedzającego owulację. Niska amplituda pulsów LH w okresie wzmożonej aktywności płciowej jest następstwem ich zwiększonej częstotliwości, przez co ograniczone jest magazynowanie gonadotropiny w komórkach przysadki.

Stymulacyjne oddziaływanie LHRH na sekrecję FSH jest mniej wyraźne. W przeciwieństwie do LH, częste podawanie fizjologicznych dawek LHRH lub jego

agonistów nie wpływa istotnie na poziom FSH we krwi. Wiele danych wskazuje na to, że związki antagonizujące działanie LHRH również nie wywołują nagłych zmian w sekrecji tej gonadotropiny. Dopiero aktywna immunizacja owiec przeciw gonadoliberynie prowadzi po dłuższym czasie do obniżenia się koncentracji FSH. Chociaż LHRH jest niezbędny do syntezy FSH, to jednak nie odgrywa znaczącej roli w regulacji uwalniania tej gonadotropiny. Odzwierciedla to sposób, w jaki hormon ten wydzielany jest przez komórki przysadki. Podczas gdy sekrecja LH u owiec ma charakter pulsacyjny, to pulsów FSH nie stwierdza się we krwi obwodowej nawet przy bardzo częstym (co 5 minut) pobieraniu próbek [10, 36].

Tkanką docelową gonadotropin są męskie i żeńskie gruczoły płciowe. U tryków pod wpływem LH zwiększa się produkcja testosteronu, który – oddziałując bezpośrednio na komórki płciowe w kanalikach nasiennych – pobudza spermatogenezę. U maciorek natomiast tak LH, jak i FSH wpływają na rozwój pęcherzyków jajnikowych oraz zapoczątkowują w ich komórkach syntezę estradiolu i progesteronu. Produkowane przez gonady steroidowe hormony płciowe kontrolują z kolei uwalnianie gonadotropin na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego.

W sezonie rozrodczym, u maciorek, estradiol obniża amplitudę pulsów LH, natomiast progesteron hamuje ich częstotliwość [12]. Takie przeciwstawne oddziaływanie hormonów jajnikowych gwarantuje prawidłowy przebieg cyklu estralnego. Pod wpływem progesteronu, wytwarzanego przez ciało żółte w fazie lutealnej cyklu, następuje zahamowanie częstotliwości pulsów LH, co w rezultacie uniemożliwia rozwój nowych pęcherzyków jajnikowych i wystąpienie owulacji. Zniesienie blokady progesteronowej przez luteolizę ciała żółtego prowadzi do wzrostu sekrecji LH. Produkowany przez komórki warstwy ziarnistej dojrzewającego pęcherzyka estradiol potęguje częstotliwość pulsów LH i przyczynia się do obniżenia ich amplitudy. Taki sposób uwalniania LH w fazie folikularnej cyklu zapewnia utrzymanie się wysokiej koncentracji gonadotropiny we krwi i warunkuje osiągnięcie pełnej dojrzałości pęcherzyka jajnikowego. W miarę rozwoju pęcherzyka zawartość estradiolu we krwi szybko rośnie i jest najwyższa przed jego pęknięciem, czyli owulacją. Owulacja, proces prowadzący do uwolnienia dojrzałej komórki jajowej, następuje w wyniku indukowanego przez estradiol wylewu znacznych ilości LH z przysadki. W miejscu pękniętego pęcherzyka jajnikowego tworzy się ciało żółte, którego komórki wytwarzają progesteron.

W modelu tym nie została wyszczególniona funkcja FSH. Hormon ten wpływa wprawdzie stymulująco na syntezę estradiolu w komórkach ziarnistych dojrzewającego pęcherzyka, lecz profil jego sekrecji podczas cyklu płciowego nie ulega tak wyraźnym zmianom, jak w wypadku LH. Mimo że stężenie FSH podczas fazy folikularnej obniża się nieznacznie, to jednak koncentracja tej gonadotropiny we krwi obwodowej owiec jest wystarczająca do rozwoju pęcherzyka jajnikowego.

Odmiennosc reakcji gonadotropin pod wpływem stymulującego oddziaływania LHRH wskazuje, że w kontroli uwalniania LH i FSH uczestniczą dwa różne mecha-

nizmy. W mechanizmach tych, oprócz steroidowych hormonów płciowych, uczestniczą też neuromediatory pochodzenia mózgowego, takie jak aminy katecholowe (dopamina, noradrenalina), peptydy opioidowe (β -endorfina), neuropeptyd Y oraz kwas γ -aminomasłowy (GABA). Szczegółowy opis wzajemnych zależności pomiędzy tymi komponentami, w poszczególnych etapach cyklu płciowego, wykracza jednak poza ramy niniejszego artykułu.

Należałoby natomiast przyjrzeć się nieco dokładniej sezonowym zmianom oddziaływania zwrotnego estradiolu na sekrecję LHRH i LH. Jak wspomniano wcześniej, w sezonie rozrodczym estradiol obniża amplitudę pulsów LH [12], działając jednocześnie stymulująco na ich częstotliwość, co w rezultacie prowadzi do wzrostu koncentracji LH we krwi i do owulacji. W okresie anestrалnym hamujące działanie estradiolu obejmuje także częstotliwość pulsów LH, przez co stężenie tej gonadotropiny we krwi utrzymuje się na niskim poziomie [13]. Zależność częstotliwości pulsów LH od sekrecji LHRH wskazuje, że sezonowe zmiany oddziaływania zwrotnego estradiolu przebiegają na poziomie neuralnym. Neurony podwzgórza syntetyzujące i uwalniające LHRH nie zawierają jednak receptorów steroidowych [15]. Nie stwierdza się w nich także akumulacji znakowanego estradiolu. Przypuszczać zatem należy, że estradiol modyfikuje aktywność innego systemu neuralnego, który pośredniczy w uwalnianiu LHRH.

Obecność zakończeń wielu neuronów stwierdzono tak w obrębie ciał komórek syntetyzujących LHRH w obszarze przedwzrokowym, jak i w miejscu uwalniania tego neurohormonu, w wyniosłości pośredkowej podwzgórza. Badania farmakologiczne, w których zastosowano związki antagonizujące działanie różnych neurotransmiterów uwalnianych z zakończeń nerwowych, wykazały, że głównym inhibitorem LHRH w okresie anestrалnym są aminy katecholowe: dopamina i noradrenalina. Systematyczne podawanie receptorowych antagonistów tych amin w okresie anestrалnym powoduje wzrost częstotliwości pulsów LH, podczas gdy w sezonie rozrodczym działanie ich jest nieskuteczne [29]. Wzrost częstotliwości pulsów LH w okresie anestrалnym można również wywołać, podając związki antagonistyczne dla dopaminy i noradrenaliny, u macierek kastrowanych (owariektomizowanych) po wprowadzeniu implantów estradiolu [30]. Reakcji takiej nie obserwuje się natomiast u macierek owariektomizowanych, pozbawionych egzogenego estradiolu. Świadczy to o tym, że hamujące działanie estradiolu na sekrecję LHRH w okresie anestrалnym odbywa się przy współdziałaniu obydwu systemów katecholaminergicznycн.

W rzeczywistości wzajemne współdziałanie pomiędzy systemem dopaminergicznym i noradrenergicznym wydaje się dość skomplikowane. Ciała neuronów dopaminergicznycн zlokalizowane są w podwzgórzu, a ich zakończenia uwalniające dopaminę sąsiadują bezpośrednio z zakończeniami neuronów LHRH w wyniosłości pośredkowej [19]. Punktowe zniszczenie obszarów podwzgórza zawierających komórki dopaminergiczne prowadzi w okresie anestrалnym do aktywacji osi podwzgórze–przysadka–gonady oraz osłabia hamujące działanie implantowanego estradiolu u

macierek owarietomizowanych [14,48]. Sytuację komplikuje fakt, że neurony podwzgórzowego systemu dopaminergicznego nie zawierają receptorów estradiolowych [15]. Otrzymują za to bogate unerwienie noradrenergiczne, którego aktywność zmienia się w zależności od poziomu krążącego we krwi estradiolu. Ponieważ w podwzgórzu owcy nie występują komórki noradrenergiczne, należy spodziewać się, że unerwienie to pochodzi z ośrodków pozapodwzgórzowych. Według obecnie uznawanej hipotezy, hamujące oddziaływanie estradiolu na sekrecję LHRH odbywa się przez stymulację jednego lub kilku pozapodwzgórzowych ośrodków noradrenergicznych, które z kolei wzmagają aktywność hamującego systemu dopaminergicznego [6, 11, 20]. Nie wyklucza to jednak możliwości innego rodzaju współdziałania pomiędzy obydwojema systemami katecholaminergicznymi.

Zakończenia neuronów noradrenergicznych można również stwierdzić w obrębie perikaryonów syntetyzujących LHRH w obszarze przedwzrokowym. Istnieje zatem możliwość bezpośredniego oddziaływania noradrenaliny na sekrecję tego neurohormonu. Noradrenalina infundowana do III komory mózgu anestralnych, owarietomizowanych macierek hamuje uwalnianie LH [37]. Ze względu na to, że noradrenalina infundowana do III komory mózgu może działać na wiele ośrodków podwzgórza, można brać pod uwagę jej stymulujący wpływ na układ dopaminergiczny (wyżej opisany mechanizm). Odwrotnie, stymulujące działanie tej aminy stwierdza się u anestralnych, owarietomizowanych macierek z implantami estradiolu oraz u macierek aktywnych płciowo [37, 38]. Podobnie stymulująco wpływa u takich owiec mikroiniekcja noradrenaliny do obszaru przedwzrokowego podwzgórza [43]. Przypomina to sytuację, jaką obserwuje się podczas indukowanego przez estradiol przedowulacyjnego wylewu LH [9]. Wzrost koncentracji noradrenaliny w podwzgórzu jest wówczas czynnikiem niezbędnym do zainicjowania wylewu LHRH. Czy więc hamujące działanie estradiolu w okresie anestralnym polega na obniżeniu aktywności układu noradrenergicznego w obszarze przedwzrokowym?

To, jak i wiele innych pytań dotyczących miejsc negatywnego oddziaływania estradiolu w ośrodkowym układzie nerwowym na sekrecję LHRH pozostaje nadal bez odpowiedzi. Jedno jest pewne, przejście z okresu anestralnego do rozrodczego i odwrotnie wiąże się ze zmianami wrażliwości struktur neuralnych, odpowiedzialnych za uwalnianie LHRH, na oddziaływanie zwrotne steroidowych hormonów płciowych.

Synteza i sekrecja melatoniny przez szyszynkę

Melatonina (N-acetylo-5-metoksytryptamina) została wyizolowana z szyszynki bydłowej przez A.B. Lenera w 1958 roku. Kilka lat później określono 24-godzinny rytm jej syntezy w szyszynce szczura, a w ciągu następnych dwóch dekad rytm syntezy i uwalniania melatoniny został stwierdzony u wielu innych gatunków kręgowców, w tym także u człowieka. U wszystkich ssaków maksymalne stężenie tej indolaminy we

krwi obwodowej i w samej szyszynce stwierdza się w okresie ciemności, a spadek koncentracji związany jest z początkiem dnia. Szyszynka ssaków nie reaguje bezpośrednio na światło. Gruczoł ten unerwiony jest przez układ współczulny, którego włókna mają początek w jądrze nadskrzyżowaniowym podwzgórza. Jądro nadskrzyżowaniowe, uważane za generator rytmów biologicznych, połączone jest neuralnie z siatkówką oka, skąd za pośrednictwem szlaku siatkówkowo-podwzgórzowego otrzymuje impulsy nerwowe odpowiadające warunkom świetlnym w środowisku zewnętrznym. W ciągu dnia neuralna aktywność włókien współczulnych, mających swe zakończenia w szyszynce, jest zahamowana, a w okresie ciemności stwierdza się wydzielanie neurotransmiteru – noradrenaliny, która po interakcji z β -adrenoreceptorami komórek szyszynki stymuluje produkcję cyklicznego adenozynomonofosforanu (cAMP). Ten z kolei indukuje aktywność N-acetylotransferazy (NAT), enzymu przekształcającego serotoninę w bezpośredni prekursor melatoniny N-acetyloserotoninę. W wyniku O-metylacji N-acetyloserotoniny powstaje produkt końcowy – melatonina. Reakcję tę przeprowadza enzym hydroksyindolo-O-metylotransferaza (HIOMT) [40].



Mechanizm uwalniania melatoniny nie jest w pełni poznany, ale ze względu na dużą lipofilność tego hormonu i bogatą sieć naczyń krwionośnych w szyszynce przypuszcza się, że melatonina przechodzi do krwi na zasadzie prostej dyfuzji [41]. Z krwi przedostaje się szybko do innych płynów ustrojowych, a także z łatwością przechodzi przez łożysko do krwi płodu [50]. Synteza melatoniny nie ogranicza się tylko do szyszynki, ale odbywa się również w siatkówce oka, gruczole Hardera, przewodzie pokarmowym, a także w centralnym układzie nerwowym [40]. Znaczenie lokalnej syntezy tej indolaminy przez różne tkanki organizmu nie jest wyjaśnione. Głównym źródłem melatoniny, nadającym rytmiczny charakter dobowym wahaniom stężenia tego hormonu we krwi obwodowej, jest szyszynka. Bez względu na profil nocnej sekrecji melatoniny, który jest różny u poszczególnych gatunków ssaków, okres podwyższonego stężenia melatoniny we krwi w warunkach naturalnych jest proporcjonalny do długości nocy i podlega również zmianom sezonowym. Zmiany dobowego rytmu sekrecji obserwuje się też u zwierząt utrzymywanych w sztucznych warunkach oświetleniowych, symulując okresy długiego i krótkiego dnia. W wyniku operacyjnego usunięcia szyszynki (pinealektomii) rytm ten całkowicie zanika bez względu na długość dni, w jakich została wykonana pinealektomia. Nie ma zatem żadnych wątpliwości, że sekrecja melatoniny jest biochemicznym sygnałem, przekazywanym przez szyszynkę do organizmu, informującym o zmieniającej się długości dnia i nocy.

Rola melatoniny w sezonowości rozrodu

Znaczenie melatoniny w procesie rozrodu pierwszy raz stwierdzono na przykładzie chomików i fretek, u których aktywność płciowa występuje w okresie dnia długiego. Podanie egzogennej melatoniny nie operowanym lub pozbawionym szyszynki zwierzętom doprowadziło do regresji gonad, jaką obserwuje się u tych gatunków w okresie dnia krótkiego. Na tej podstawie wysunięto pogląd, że melatonina wywiera działanie antygonadotropowe. Wkrótce przekonano się, że w odwrotny sposób oddziałuje melatonina na aktywność płciową u zwierząt dnia krótkiego: owiec, kóz i jeleni. Wcześniejsze niż w warunkach naturalnych inicjowanie sezonu rozrodczego u owiec uzyskano przez podawanie egzogennej melatoniny z paszą, w iniekcji lub infuzji, a także jako dopochwowych lub podskórnych implantów. Znaczenie szyszynki i melatoniny w kontroli cyklu reprodukcyjnego wykazano również u owiec pinealektomizowanych. Podczas utrzymywania takich zwierząt w warunkach 90-dniowych cykli długiego i krótkiego dnia nie stwierdzano zmian aktywności płciowej. W przeciwieństwie do owiec nie operowanych skrócenie długości dnia podczas naturalnego sezonu anestralnego nie wpływało stymulująco na aktywność płciową u owiec pozbawionych szyszynki, natomiast u owiec aktywnych płciowo dzień długi nie hamował funkcji rozrodczych [3].

W innym doświadczeniu, u pinealektomizowanych owiec wykonywano dożylnie infuzje melatoniny, symulując sygnał informujący o dniu krótkim lub długim. Szyszynki usunięto w sezonie aktywności płciowej i od grudnia do marca owce umieszczono na 90 dni w warunkach dnia długiego. W grupie doświadczalnej wykonywano infuzje melatoniny zgodnie z długością nocy, natomiast grupa owiec kontrolnych nie otrzymywała żadnych infuzji. W okresie tym stężenie LH obniżyło się w obydwu grupach owiec. U owiec kontrolnych spadek koncentracji LH był wyrazem rytmu endogennego, gdyż osłabienie funkcji rozrodczych w badanym okresie jest zjawiskiem naturalnym. W kolejnych 90 dniach (marzec–czerwiec) obydwie grupy owiec poddano warunkom dnia krótkiego, a przy tym wydłużono okres infuzji melatoniny w grupie doświadczalnej. Stężenie LH u owiec kontrolnych pozostało na niskim poziomie, natomiast u owiec, którym infundowano melatoninę w czasie odpowiadającym długości nocy, koncentracja LH zwiększyła się [4].

W podobny sposób wykazano możliwość hamowania funkcji rozrodczych u owiec pozbawionych szyszynki skracając okres podawania melatoniny w naturalnym sezonie rozrodczym. We wstępnym okresie 90 dni krótkich grupie pinealektomizowanych, aktywnych płciowo owiec wykonano infuzje melatoniny, symulując sygnał krótkiego dnia. W grupie kontrolnej nie wykonywano infuzji. Wprowadzenie warunków dnia długiego i odpowiadającego mu okresu infuzji melatoniny doprowadziło do spadku koncentracji LH u owiec doświadczalnych, podczas gdy u owiec kontrolnych okres aktywności płciowej, wyrażony wysoką sekrecją LH, utrzymał się dłużej [2].

Wyniki tych badań są bezsprzecznym dowodem na to, że melatonina uwalniana przez szyszynkę jest hormonem modulującym aktywność płciową u owiec. Zmiany dobowego rytmu sekrecji melatoniny – wydłużanie się i skracanie – indukują, a także hamują okres rozrodczy. Uwzględnić przy tym należy fakt, że cykl reprodukcyjny u owiec jest zakodowany genetycznie. Sztuczne przedłużanie warunków dnia długiego na okres jesienny nie stanowi przeszkody ani nie opóźnia okresu rozrodczego, a sztuczne przedłużanie warunków dnia krótkiego w zimie – nie przeciwdziała osłabieniu funkcji rozrodczych [42]. Ponadto wzmożenie aktywności płciowej i jej osłabienie można stwierdzić u owiec utrzymywanych przez wiele lat w jednostajnych warunkach świetlnych [16]. Jednak wzrost stężenia LH nie jest wówczas zsynchronizowany w jednym roku, co następuje pod wpływem naturalnych zmian długości oświetlenia. Obserwuje się też brak synchronizacji rocznych cykli LH między poszczególnymi owcami. Endogennego charakteru cyklu reprodukcyjnego nie udało się stwierdzić wcześniej, stosując krótkie 90-dniowe cykle świetlne. Obecność zatem naturalnych zmian długości dnia oddziałujących poprzez sygnał, jaki niesie melatonina, umożliwia prawidłowy przebieg cyklu reprodukcyjnego u zwierząt, warunkując okres aktywności płciowej w terminie typowym dla danego gatunku. Melatonina nie jest więc hormonem antygonadotropowym ani też progonadotropowym. Sekrecja melatoniny jest sygnałem, który – przez interakcję z ośrodkowym układem nerwowym – synchronizuje przebieg cyklu reprodukcyjnego oraz innych cykli fizjologicznych zwierząt zgodnie ze zmianami pór roku.

Oddziaływanie melatoniny w ośrodkowym układzie nerwowym

Zastosowanie melatoniny znakowanej jodem ($[^{125}\text{J}]$ -2-jodomelatoniny) oraz autoradiografii pozwoliło na dokładne zlokalizowanie receptorów melatoniny w ośrodkowym układzie nerwowym u wielu gatunków ssaków. Receptory takie zidentyfikowano w różnych obszarach mózgu, między innymi w podwzgórzu, w układzie limbicznym oraz w korze mózgowej, jednak koncentracja ich u poszczególnych gatunków jest bardzo zróżnicowana [45]. Na szczególną uwagę zasługują jądro nadskrzyżowaniowe *suprachiasmatic nucleus* (SCN) i część guzowata *pars tuberalis* (PT) przysadki mózgowej. Obecność receptorów melatoniny w SCN, z racji ważnej roli tego jądra w regulacji rytmów dobowych, wydaje się być oczywista. Jednak receptory melatoniny w SCN stwierdzono tylko u małych ssaków oraz u człowieka. Brak ich natomiast u wielu gatunków dużych ssaków, w tym u owcy. Funkcja fizjologiczna PT nie jest poznana, zaskoczeniem więc może być to, że niemal u wszystkich ssaków (z wyjątkiem człowieka) znajduje się w niej największa koncentracja receptorów melatoniny związanych z błoną komórkową.

Lokalizacja receptorów melatoniny w mózgu owcy nasuwa pytanie, które z nich są odpowiedzialne za kontrolę sezonowych cykli fizjologicznych, a w szczególności

za kontrolę cyklu reprodukcyjnego. Dużo informacji na ten temat wniosły badania, w których mikroimplanty melatoniny umieszczono w różnych obszarach mózgu i przysadki. Efektywność melatoniny podanej w mikroimplantach określono na podstawie porównania indukowanych przez nią zmian sekrecji LH, FSH i prolaktyny ze znanym oddziaływaniem krótkiego dnia lub melatoniny podawanej w inny sposób. Z doświadczeń tych – przeprowadzonych tak na trykach, jak i maciorkach – wynika, że zmiany endokrynne towarzyszące wzmożonej aktywności płciowej powodowane są przez melatoninę umieszczoną w brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu (MBH). U tryków, które otrzymały mikroimplanty melatoniny w warunkach dnia długiego, stwierdzono wzrost koncentracji FSH i β -endorfiny oraz obniżenie się poziomu prolaktyny we krwi [22, 23]. Ponadto u zwierząt tych zaobserwowano zwiększenie objętości jąder, masy ciała oraz szybszy przyrost okrywy włosowej. W wypadku maciorek melatonina umieszczona w MBH oddziaływała stymulująco na LH i hamująco na prolaktynę [27]. Zastanawiająca może być słaba odpowiedź fizjologiczna organizmu lub jej brak po umieszczeniu mikroimplantów melatoniny w obszarze przedwzrokowym podwzgórza, gdzie znajduje się główne skupisko komórek syntetyzujących LHRH [22]. Być może chirurgiczne wprowadzanie mikroimplantów powoduje zbyt rozległe uszkodzenia badanych struktur neuralnych. Należy też wziąć pod uwagę to, że sygnał, jaki przekazuje melatonina uwalniana z implantów, nie ma cech rytmu dobowego. Podwyższone stężenie melatoniny utrzymuje się bowiem przez cały okres implantacji. Pewności co do MBH, jako miejsca oddziaływania melatoniny na funkcje rozrodcze, dodały wkrótce doświadczenia, w których melatoninę wprowadzano domiejskowo metodą mikrodializy, symulując sygnał właściwy dla krótkiego dnia u nieaktywnych płciowo tryków [21].

W związku z tym, że MBH owcy nie zawiera znaczącej koncentracji receptorów melatoniny, można przypuszczać, że melatonina przedostaje się przez układ naczyniowy łączący podwzgórze z przysadką do *pars tuberalis* przysadki. Czy więc PT, posiadająca największą liczbę takich receptorów, jest kluczem do poznania tajemnicy sezonowości rozrodu u owiec? Nadzieje na uzyskanie jednoznacznej odpowiedzi wiązały się z umieszczeniem mikroimplantów melatoniny bezpośrednio w tej strukturze. Zostały one jednak szybko rozwiane, kiedy okazało się, że melatonina umieszczona w PT u nieaktywnych płciowo zwierząt nie wywołuje tak wyraźnych zmian w fizjologii rozrodu, jak mikroimplanty w MBH [26,28]. Co więcej, melatonina nie wpływała też bezpośrednio na aktywność sekrecyjną komórek gonadotropowych w części gruczołowej przysadki.

Niewielka liczba receptorów melatoniny w tkance mózgowej ssaków oraz zgrupowanie ich w małych, oddalonych od siebie jądrach praktycznie uniemożliwia wykonanie analizy receptora melatoniny, a także zbadanie mechanizmu oddziaływania melatoniny poprzez te receptory na poziomie neuronów. Wyjątkowym materiałem, zawierającym dużą koncentrację receptorów melatoniny w tkance nerwowej, jest natomiast mózg kury domowej, gdzie receptory zlokalizowane są w neuronach

odpowiedzialnych za przetwarzanie informacji wizualnej [44]. Z farmakologicznego punktu widzenia receptory te są podobne do receptorów melatoniny znajdujących się w owczej *pars tuberalis* przysadki i związane są z transglutaminazą – enzymem uczestniczącym w potranslacyjnej modyfikacji białek [46]. Ponieważ oddziaływanie transglutaminazy w komórkach nerwowych wiąże się z regulacją uwalniania neurotransmiterów, aktywacja tego enzymu może zatem modyfikować białka błony synaptycznej, do której przyłączane są tworzone w neuronach pęcherzyki z neuroprzekąźnikami. Ograniczona może być w ten sposób liczba neuroprzekąźników wydzielanych do przestrzeni międzysynaptycznej [18]. Obecnie nie wiadomo jeszcze, czy aktywność transglutaminazy w mózgu kury może być modulowana przez melatoninę. Jeżeli jednak istnieje taka interakcja, można sądzić, że sezonowe zmiany sekrecji melatoniny mogą wpływać na aktywność specyficznych neuronów mózgowych także u ssaków. Obserwowane zmiany aktywności płciowej u owiec byłyby więc zależne od zmian ilości neurotransmiterów uwalnianych z neuronów odpowiedzialnych za kontrolę pulsacyjnego uwalniania LHRH w podwzgórzu.

Możliwym do przyjęcia mechanizmem, poprzez który melatonina wpływa na cykl reprodukcji u owiec, jest jej oddziaływanie na podwzgórzowy układ dopaminergiczny, pośredniczący w negatywnym sprzężeniu zwrotnym wywieranym przez estradiol. Wspomnieć tu należy, że zakończenia neuronów wydzielających dopaminę (DA) w wyniosłości pośredkowej podwzgórza sąsiadują z zakończeniami neuronów LHRH, a farmakologiczne zablokowanie układu dopaminergicznego w okresie anestrалnym powoduje wzrost sekrecji LHRH oraz LH [19, 29]. Ponadto, aktywność układu dopaminergicznego w podwzgórzu wykazuje zmiany sezonowe; koncentracja DA w wyniosłości pośredkowej jest większa podczas dnia długiego niż krótkiego [47]. Odwrotny natomiast rytm obserwuje się w wypadku melatoniny [32].

Znana jest także wzajemna zależność pomiędzy systemem dopaminergicznym a opioidergicznym. Hamujące sekrecję LHRH oddziaływanie systemu opioidergicznego dominuje w okresie dni krótkich [49]. Wtedy też koncentracja β -endorfiny we krwi owiec jest najwyższa [31]. Zwiększanie się długości dnia i towarzyszący temu wzrost aktywności systemu dopaminergicznego prowadzi zatem nie tylko do obniżenia sekrecji LHRH, ale również do osłabienia aktywności systemu opioidergicznego. Świadczy o tym fakt, że związki antagonizujące działanie β -endorfiny nie wpływają stymulująco na sekrecję LH w warunkach dnia długiego, natomiast indukują wyrzut tej gonadotropiny w okresie dni krótkich [5]. Ponadto, zablokowanie receptorów dopaminergicznych silniej stymuluje uwalnianie β -endorfiny w warunkach dnia długiego niż krótkiego [39]. Jest więc bardzo prawdopodobne, że w sezonowej kontroli pulsacyjnego uwalniania LHRH/LH ważną rolę odgrywa współdziałanie pomiędzy tymi dwoma systemami neuralnymi. Reaktywacja osi podwzgórze – przysadka – gonady jest więc procesem długotrwałym, dokonującym się na poziomie neuronów kontrolujących uwalnianie LHRH, a obniżanie się aktywności układu dopaminergicznego w MBH pod wpływem melatoniny mogłoby stanowić kluczowy element w tym procesie.

Oddziaływanie melatoniny w *pars tuberalis* przysadki

Pars tuberalis jest wyróżniającą się morfologicznie strukturą przysadki pomiędzy wyniosłością pośrodkową podwzgórza a częścią dalszą gruczołu. Obszar ten jest bardzo unaczyniony i dzięki bezpośredniemu kontaktowi PT z podwzgórzowo-przysadkowym układem wrotnym może wywierać wpływ na komunikowanie się mózgu z przysadką. Spośród badanych zwierząt, owcza *pars tuberalis* jest stosunkowo największa i ze względu na dużą koncentrację receptorów melatoniny [34] stanowi doskonały materiał do pracy nad mechanizmem dekodującym sygnał melatoniny na poziomie komórki. W strukturze tej znajdują się dwa typy komórek sekrecyjnych. Na podstawie właściwości wydzielniczych tych komórek można sądzić, że melatonina może wpływać na syntezę białek produkowanych w tej części przysadki. Ostatnio wykazano, że powstaje tu co najmniej 8 takich białek o małej masie cząsteczkowej oraz że proces ten jest hamowany przez melatoninę [35]. Zastosowanie forskolinu, jako substancji aktywującej cyklazę adenylową (enzym przekształcający ATP w aktywną formę cykliczną cAMP), pozwoliło ustalić, że melatonina hamuje powstawanie cAMP w komórkach PT. Proces ten odbywa się przy współudziale białek z rodziny G związanych z receptorem melatoniny [33]. Białka, których synteza odbywa się w PT, nie są jej specyficznym produktem i obecność ich można stwierdzić także w innych komórkach przysadki, jednak tylko w PT melatonina hamuje ich syntezę [35]. Być może produkowany jest tam również inny niebiałkowy związek, który nie został jeszcze zidentyfikowany. Nieznany jest również dotychczas naturalny czynnik, który stymulowałby wydzielanie takiego związku. Logiczne jest zatem przypuszczenie, że melatonina przeciwdziała stymulacyjnemu oddziaływaniu tego czynnika przez blokowanie syntezy (i sekrecji) związku lub grupy związków specyficznych dla PT. Owe związki, z pewnością o małej masie cząsteczkowej, z łatwością przechodziłyby przez barierę krew/mózg i kontrolowałyby aktywność neuronów podwzgórzowych odpowiedzialnych za procesy fizjologiczne, które podlegają sezonowości.

Pomimo braku dowodów na to, że związki produkowane i wydzielane przez komórki *pars tuberalis* mają wpływ na cykle fizjologiczne u owiec, to z pewnością struktura ta uczestniczy w kontroli sezonowego rytmu sekrecji prolaktyny. W warunkach naturalnych maksymalne stężenie prolaktyny we krwi występuje w okresie dnia długiego, a najniższa koncentracja podczas dni krótkich [31]. Skrócenie długości dnia lub długotrwałe podawanie melatoniny w okresie fizjologicznie podwyższonego stężenia prolaktyny prowadzi do obniżenia się jej poziomu. O tym że melatonina moduluje sezonowy rytm sekrecji prolaktyny, działając bezpośrednio na komórki przysadki, przekonano się po odizolowaniu tego gruczołu od podwzgórza. U tryków mających przerwane połączenie pomiędzy podwzgórzem a przysadką i utrzymywanych następnie w zmiennych warunkach oświetleniowych obserwuje się wyraźne zmiany sekrecji prolaktyny w odpowiedzi na długość dnia [24]. W warunkach dnia długiego koncentracja prolaktyny we krwi jest u takich zwierząt prawie dziesięcio-

krotnie wyższa niż pod wpływem dnia krótkiego. Cykliczność zmian sekrecji prolaktyny u tryków z przeciętym połączeniem pomiędzy podwzgórzem a przysadką jest taka sama jak u tryków kontrolnych, nie operowanych. Co więcej, spadek stężenia prolaktyny u zwierząt doświadczalnych można osiągnąć w warunkach dnia długiego przez wprowadzenie podskórnych implantów zawierających melatoninę [24]. Ponieważ odizolowanie przysadki od podwzgórza nie polegało tylko na przecięciu szypuły przysadki, ale także w miejscu przecięcia umieszczono barierę fizyczną w postaci folii aluminiowej, obserwowane zmiany w sekrecji prolaktyny wskazują, że miejscem oddziaływania melatoniny jest właśnie przysadka. Z uwagi na to, że w części gruczołowej przysadki nie stwierdza się receptorów melatoniny, jedynym obszarem poddanym oddziaływaniu tego hormonu może być *pars tuberalis*.

Chociaż znaczenie prolaktyny w sezonowości rozrodu nie jest w pełni wyjaśnione, to jednak ze względu na wzajemną zależność pomiędzy prolaktyną a podwzgórzowym układem dopaminergicznym należy poświęcić temu hormonowi dużo uwagi. Dopamina jest głównym inhibitorem prolaktyny, a neurony dopaminergiczne brzuszno-przyśrodkowego podwzgórza odgrywają istotną rolę w kontroli sekrecji prolaktyny [1]. Oddziaływanie dopaminy może odbywać się za pośrednictwem co najmniej dwóch klas receptorów dopaminergicznych D₁ i D₂, znajdujących się na komórkach laktotropowych przysadki, odpowiednio stymulujących i hamujących aktywność cyklicznej adenylowej. Podanie sulpirydu (bloker receptorów DA D₂) indukuje bardzo wyraźny wzrost sekrecji prolaktyny tak w okresie dnia długiego, jak i krótkiego. Reakcja ta nie występuje natomiast u zwierząt z przerwaniem połączenia pomiędzy podwzgórzem a przysadką ani w naturalnych warunkach oświetleniowych, ani podczas obniżonego przez melatoninę poziomu prolaktyny [25]. Można więc przypuszczać, że dopamina nie jest mediatorem w hamującym oddziaływaniu melatoniny na sekrecję prolaktyny. Paradoksem jest jednak fakt, że zwiększonej sekrecji prolaktyny w okresie dnia długiego towarzyszy duża aktywność podwzgórzowego układu dopaminergicznego [47]. Jedną z hipotez próbujących wyjaśnić to zjawisko zakłada stymulujące działanie dopaminy poprzez receptory dopaminergiczne D₁. Wykazano bowiem, że dopamina może pełnić dwojaką funkcję w regulacji sekrecji prolaktyny: hamującą i stymulującą, a podanie specyficznych agonistów receptorów D₁ stymuluje sekrecję prolaktyny [8]. Możliwe, że takie stymulujące oddziaływanie dopaminy dominuje w okresie dnia długiego. Alternatywą z kolei jest przypuszczenie, że wysoka aktywność podwzgórzowego układu dopaminergicznego jest konsekwencją wysokiego stężenia prolaktyny. Zatem to zmiany długości dnia, poprzez zmiany sekrecji melatoniny lub inne czynniki środowiskowe (np. temperatura), mogłyby modulować sezonowy rytm prolaktyny, działając bezpośrednio na komórki PT. Prolaktyna natomiast, na zasadzie znanego pozytywnego sprzężenia zwrotnego [7], regulowałaby aktywność układu dopaminergicznego. Obniżanie się tej aktywności, spowodowane spadkiem koncentracji prolaktyny pod wpływem dnia krótkiego lub egzogennej

melatoniny, może również stanowić element reaktywacji osi podwzgórze – przysadka – gonady, nadając prolaktynie ważną funkcję w regulacji cyklu reprodukcyjnego.

Podsumowanie

Sezonowe zmiany aktywności płciowej u owiec są wynikiem zmian sekrecji LHRH do podwzgórzowo-przysadkowego układu naczyniowego, co wskazuje, że regulacja funkcji rozrodczych przez melatoninę odbywa się na poziomie ośrodkowego układu nerwowego. Potwierdzeniem tego są wyniki badań otrzymane po umieszczeniu mikroimplantów melatoniny w brzuszno-przyśrodkowym podwzgórze. Tylko bowiem w tym miejscu efekt działania melatoniny na funkcje rozrodcze jest najbardziej wyraźny. Przypuszczalnie, melatonina może modulować uwalnianie neurotransmiterów synaptycznych w specyficznych jądrach podwzgórze. Lokalizacja z kolei największej koncentracji receptorów melatoniny w *pars tuberalis* przysadki oraz identyfikacja białek syntetyzowanych i wydzielanych przez tę strukturę sugerują istnienie wzajemnego oddziaływania pomiędzy przysadką a ośrodkowym układem nerwowym. Dokładne poznanie wewnątrzkomórkowego mechanizmu, dekodującego sygnał melatoniny tak w ośrodkowym układzie nerwowym, jak i w przysadce, z pewnością przybliży sposób, w jaki "hormon ciemności" reguluje funkcje rozrodcze u zwierząt. Ta właściwość melatoniny od lat wykorzystywana jest przez niektóre kraje w produkcji owczarskiej, przyczyniając się do zwiększenia liczby miotów w okresie użytkowania matek.

Literatura

- [1] Ben-Jonathan N., Arbogast L.A., Hyde J.F. 1989. Neuroendocrine regulation of prolactin release. *Prog. Neurobiol.* 33: 399–447.
- [2] Bittman E.L., Karsch F.J. 1984. Nightly duration of pineal melatonin secretion determines the reproductive response in inhibitory daylength in the ewe. *Biol Reprod.* 30: 585–593.
- [3] Bittman E.L., Karsch F.J., Hopkins J.W. 1983a. Role of the pineal gland in the ovine photoperiodism; regulation of seasonal breeding and negative feedback effects of estradiol upon luteinizing hormone secretion. *Endocrinology* 113: 329–336.
- [4] Bittman E.L., Dempsey R.J., Karsh F.J. 1983b. Pineal melatonin secretion drives the reproductive response to daylength in the ewe. *Endocrinology* 113: 2276–2283.
- [5] Brooks A.N., Lamming G.E., Less P.D., Haynes N.B. 1986. Opioid modulation of LH secretion in the ewe. *J. Reprod. Fert.* 76: 693–708.
- [6] Chomicka L.K. 1992. Biogenic amines and the activity of the hypothalamo-pituitary-ovarian axis in ewes. *J. Physiol. Pharmacol.* 43, 4 (Suppl. 1): 57–68.
- [7] Curlewis J.D., McNeilly A.S. 1991. Prolactin short-loop feedback and prolactin inhibition of luteinizing hormone secretion during the breeding season and seasonal anoestrus in the ewe. *Neuroendocrinology* 54: 279–285.

- [8] Curlewis J.D., Clarke I.J., McNeilly A.S. 1993. Dopamine D₁ receptor analogues act centrally to stimulate prolactin secretion in ewes. *J. Endocrinol.* 137: 457–464.
- [9] Domański E., Chomicka L.K., Ostrowska A., Gajewska A., Mateusiak K. 1991. Release of luteinizing hormone, β -endorphin and noradrenaline by the nucleus infundibularis/median eminence during periovulatory period in the sheep. *Neuroendocrinology* 54: 151–158.
- [10] Findlay J.K., Clarke I.J. 1987. Regulation of the secretion of FSH in domestic ruminants. *J. Reprod. Fertil.* 34: 27–37.
- [11] Goodman R.L. 1989. Functional organization of the catecholaminergic neural system inhibiting luteinizing hormone secretion in anestrus ewes. *Neuroendocrinology* 50: 406–412.
- [12] Goodman R.L., Karsch F.J. 1980. Pulsatile secretion of luteinizing hormone: Differential suppression by ovarian steroids. *Endocrinology* 107: 1286–1290.
- [13] Goodman R.L., Bittman E.L., Foster D.L., Karsch F.J. 1982. Alterations in the control of luteinizing hormone pulse frequency underlie the seasonal variations in estradiol negative feedback in the ewe. *Biol. Reprod.* 27: 580–589.
- [14] 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: 1905–1914.
- [15] Karsch F.J., Lehman M.N. 1988. Do gonadotropin releasing hormone (GnRH) or dopaminergic neurons in the sheep contain estradiol receptors? Abst. of the 10th Annual Meeting of the Neuroscience Society (Toronto): A 421.10
- [16] Karsch F.J., Robinson J.E., Woodfill C.J.I., Brown M.B. 1989. Circannual cycles of luteinizing hormone and prolactin secretion in ewes during prolonged exposure to a fixed photoperiod; evidence for an endogenous reproductive rhythm. *Biol. Reprod.* 41: 1034–1046.
- [17] Karsch F.J., Bittman E.L., Foster D.L., Goodman R.L., Legan S.J., Robinson J.E. 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Rec. Prog. Horm. Res.* 40: 185–232.
- [18] Kennaway D.J., Rowe S.A. 1995. Melatonin binding sites and their role in seasonal reproduction. *J. Reprod. Fertil.* 49 (Suppl.): 423–435.
- [19] Kuljis R.O., Advis J.P. 1989. Immunocytochemical and physiological evidence of synapse between dopamine- and luteinizing hormone releasing hormone-containing neurons in the ewe median eminence. *Endocrinology* 124: 1579–1589.
- [20] Lehman A.N., Karsch F.J., Silverman A.J. 1988. Potential sites of interaction between catecholamines and LHRH in the sheep brain. *Brain Res. Bull.* 20: 49–58.
- [21] Lincoln G.A. 1992. Administration of melatonin into the mediobasal hypothalamus as a continuous or intermittent signal affects the secretion of follicle stimulating hormone and prolactin in the ram. *J. Pineal Res.* 12: 135–144.
- [22] Lincoln G.A., Maeda K-I. 1992. Reproductive effects of placing micro-implants of melatonin in the mediobasal hypothalamus and preoptic area in rams. *J. Endocrinol.* 132: 201–215.
- [23] Lincoln G.A., Maeda K-I. 1992. Effects of placing micro-implants of melatonin in the mediobasal hypothalamus and preoptic area on the secretion of prolactin and β -endorphin in rams. *J. Endocrinol.* 134: 437–448.
- [24] Lincoln G.A., Clarke I.J. 1994. Photoperiodically-induced cycles in the secretion of prolactin in hypothalamo-pituitary disconnected rams: evidence for translation of the melatonin signal in the pituitary gland. *J. Endocrinol.* 6: 251–260.
- [25] Lincoln G.A., Clarke I.J. 1995. Evidence that melatonin acts in the pituitary gland through a dopamine-independent mechanism to mediate effects of daylength on secretion of prolactin in the ram. *J. Endocrinol.* 7: 637–643.
- [26] Malpoux B., Skinner D.C., Maurice F. 1995. The ovine pars tuberalis does not appear to be targeted by melatonin to modulate luteonizing hormone secretion, but may be important for prolactin release. *J. Endocrinol.* 7: 199–206.
- [27] Malpoux B., Daveau A., Maurice F., Gayrard V., Thiery J-C. 1993. Short-day effects of melatonin on luteinizing hormone secretion in the ewe: evidence for central sites of action in the mediobasal hypothalamus. *Biol. Reprod.* 48: 752–760.

- [28] Malpoux B., Daveau A., Maurice F., Locatelli A., Thiery J-C. 1994. Evidence that melatonin binding sites in the pars tuberalis do not mediate the photoperiodic actions of melatonin on LH and prolactin secretion in ewes. *J. Reprod. Fertil.* 101: 625–632.
- [29] Meyer S.L., Goodman R.L. 1985. Neurotransmitters involved in mediating the steroid-dependent suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion in anestrus ewes: effects of receptor antagonists. *Endocrinology* 116: 2054–2061.
- [30] Meyer S.L., Goodman R.L. 1986. Separate neural systems mediate the steroid-dependent and steroid-independent suppression of tonic luteinizing hormone secretion in the anestrus ewes. *Biol. Reprod.* 35: 562–571.
- [31] Misztal T. 1995. Melatonina jako modulator endogennych rytmów hormonalnych w cyklu reprodukcyjnym u owiec. Praca Doktorska. IFiZZ im. J. Kielanowskiego PAN, Jabłonna k. Warszawy.
- [32] Misztal T., Romanowicz K., Barcikowski B. 1996. Seasonal changes of melatonin secretion in relation to the reproductive cycle in sheep. *J. Anim. Feed Sci.* 5: 35–47.
- [33] Morgan P.J., Lawson W., Davidson G., Howell H.E. 1989a. Guanine nucleotides regulate the affinity of melatonin receptors on the ovine pars tuberalis. *Neuroendocrinology* 50: 359–362.
- [34] Morgan P.J., Williams L.M., Davidson G., Lawson W., Howell E. 1989b. Melatonin receptors on ovine pars tuberalis. Characterization and autoradiographical localization. *J. Neuroendocrinol.* 1: 1–4.
- [35] Morgan P.J., Barrett P., Davidson G., Lawson W. 1993. Melatonin regulates the synthesis and secretion of several proteins by pars tuberalis cells of the ovine pituitary. *J. Neuroendocrinol.* 4: 557–563.
- [36] Price C.A. 1991. The control of FSH secretion in larger domestic species. *J. Endocrinol.* 131: 177–184.
- [37] Przekop F. 1981. The role of the hypothalamus in the regulation of the secretion of luteinizing hormone and ovulation in sheep. *Acta Physiol. Pol.* 32 Suppl. 23: 87–128.
- [38] Przekop F., Skubiszewski B., Wolińska E., Domański E. 1975. The role of catecholamines in stimulating the release of pituitary ovulating hormone(s) in sheep. *Acta Physiol. Pol.* 25: 433–437.
- [39] Rasmussen D.D. 1991. The interaction between mediobasohypothalamic dopaminergic and endorphinergic neuronal systems as a key regulator of reproduction: an hypothesis. *J. Endocrinol. Invest.* 14: 323–352.
- [40] Reiter R.J. 1988. Neuroendocrinology of melatonin. In: *Melatonin-Clinical Perspectives*. Eds: A. Miles, D.R.S. Philbrick & C. Thompson. Oxford University Press, Oxford. 1–42.
- [41] Reiter R.J. 1991. Melatonin: that ubiquitously acting pineal hormone. *News Physiol. Sci.* 6: 223–227.
- [42] Robinson J.E., Karsch F.J. 1988. Timing the breeding season of the ewe: what is the role of daylength? *Reprod. Nutr. Develop.* 28: 365–374.
- [43] Scott C.J., Cummins J.T., Clarke I.J. 1992. Effects on plasma luteinizing hormone levels of microinjection of noradrenaline and adrenaline into the septo-preoptic area of the brain of the ovariectomized ewe: Changes with season and chronic oestrogen treatment. *J. Neuroendocrinol.* 4: 131–141.
- [44] Siuciak J.A., Krause D.N., Dubocovich M.L. 1991. Quantitative pharmacological analysis of 2-[¹²⁵I]-iodomelatonin binding sites in discrete areas of the chicken brain. *J. Neurosci.* 11: 2855–2864.
- [45] Stankov B., Cozzi B., Lucini V., Fumagalli P., Scaglione F., Fraschini F. 1991. Characterization and mapping of melatonin receptor in the brain of three mammalian species: rabbit, horse and sheep. A comparative in vitro binding study. *Neuroendocrinology* 53: 214–221.
- [46] Sugden D., Chong N.W. 1991. Pharmacological identity of 2-[¹²⁵I]-iodomelatonin binding sites in chicken brain and sheep pars tuberalis. *Brain Res.* 539: 151–154.
- [47] Thiery J-C. 1991. Monoamine content of the stalk-median eminence and hypothalamus in adult female sheep as affected by daylength. *J. Neuroendocrinol.* 3: 407–411.

- [48] Thiery J.C., Martin G.B., Tillet Y., Caldani M., Quentin M., Jamain C., Ravault J-P. 1989. Role of hypothalamic catecholamines in the regulation of luteinizing hormone and prolactin secretion in the ewe during seasonal anoestrus. *Neuroendocrinology* 49: 80–87.
- [49] Whisnant C.S., Havern R.L., Goodman R.L. 1991. Endogenous opioid suppression of luteinizing hormone pulse frequency and amplitude in the ewe: Hypothalamic sites of action. *Neuroendocrinology* 54: 587–593.
- [50] Zemdegs I.Z., McMillen I.C., Walker D.W., Thorbron G.D., Nowak R. 1988. Diurnal rhythms in plasma melatonin concentrations in the fetal sheep and pregnant ewe during late gestation. *Endocrinology* 123: 284–289.

Melatonin – the hormone of the seasonality of reproduction in sheep

Summary

Secretion of melatonin by the pineal gland is a biochemical signal which informs the organism about changes in the duration of day and night. The possibility to read this information determines the synchronization of the fertility period in animals at the time of the year typical for a given species. Melatonin binding sites were localized in different areas of the central nervous system and in the *pars tuberalis* of the pituitary gland. The use of micro-implants containing melatonin allowed to establish that the mediobasal hypothalamus is a site of melatonin action on sexual activity. Because in large mammals a melatonin receptors are absent from this area, it is supposed that regulation of the reproductive functions by melatonin takes place on the level of neurons which control LHRH release from the hypothalamus.