

**EXPERIMENTEN BETREFFENDE
DE ACTIVITEIT
VAN HET CORPUS LUTEUM
BIJ DE PSEUDOSWANGERE RAT**

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD DOCTOR IN DE GENEESKUNDE

AAN DE ERASMUS UNIVERSITEIT TE ROTTERDAM

OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS PROF.DR. B. LEIJNSE

EN VOLGENS BESLUIT VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN.

DE OPENBARE VERDEDIGING ZAL PLAATSVINDEN OP

WOENSDAG 24 NOVEMBER 1976

DES NAMIDDAGS TE 3.00 UUR

DOOR

WILLEM JOHANNES de GREEF

GEBOREN TE UTRECHT

PROMOTOR: DR. G.H. ZEILMAKER
CO-REFERENTEN: PROF. DR. H.J. VAN DER MOLEN
PROF. DR. J. MOLL

Het onderzoek werd mede mogelijk gemaakt door steun van de Stichting
voor Medisch Wetenschappelijk Onderzoek FUNGO.

Aan mijn ouders,
aan Marianne
en Laura

VOORWOORD

Het gereedkomen van dit proefschrift biedt mij de gelegenheid een ieder te bedanken die heeft bijgedragen aan de totstandkoming ervan. In de eerste plaats bedank ik alle medewerkers van de afdeling Endocrinologie, Groei en Voortplanting voor de prettige samenwerking, vele adviezen en discussies.

Mijn promotor Dr. G.H. Zeilmaker ben ik zeer erkentelijk voor zijn kritische en stimulerende belangstelling voor mijn onderzoek. Vooral de vele werkbesprekingen zijn voor mij een belangrijke steun geweest. De co-referenten Prof. Dr. H.J. van der Molen en Prof. Dr. J. Moll ben ik zeer dankbaar voor het kritisch doorlezen van het manuscript en voor de in de afgelopen jaren getoonde interesse in mijn werk.

De samenwerking met Hans Dullaart, Frank de Jong, Jiet Meijs-Roelofs, Peng-Jan Osman, Pieter van der Schoot, Jan Uilenbroek en Rein Welschen heb ik erg op prijs gesteld. De sporen van deze samenwerking zijn duidelijk terug te vinden in dit proefschrift.

Dr. H.G. Kwa (Nederlands Kanker Instituut, Amsterdam) bedank ik voor het beschikbaar stellen van het antiserum en het standaardpreparaat gebruikt bij de prolactinebepaling.

Margot van der Klundert-Duin, Suzan Smith en Jenny de la Fosse-Kuijpers ben ik zeer erkentelijk voor het vele goede werk dat zij verricht hebben. Zonder hun medewerking zouden veel experimenten niet gedaan zijn.

Heer Piet bedank ik voor het zorgvuldig doorlezen van het manuscript.

Anneke Wijma ben ik dankbaar voor het typen van de uiteindelijke versie van dit proefschrift.

De medewerkers van de audiovisuele dienst wil ik bedanken voor de mij geboden hulp.

Tenslotte wil ik Marianne bedanken voor haar betrokkenheid met mijn werk en voor haar hulp bij het vervaardigen van dit proefschrift.

INLEIDING

1-1. HISTORISCHE INLEIDING.

1-1.1. Ontdekking en functie van het corpus luteum.

Het corpus luteum, door Vesalius als eerste in 1555 vermeld, werd door Reinier de Graaf (1641-1673) in 1673 nauwkeurig beschreven (273). Marcello Malpighi (1628-1694) gaf aan deze ovariële structuur de nog steeds in gebruik zijnde naam: corpus luteum (273).

Het corpus luteum is een structuur in het ovarium die uit de gesprongen follikel* ontstaat na het vrijkomen van de eicel uit deze follikel (ovulatie). Het corpus luteum heeft een beperkte levensduur en is van groot belang voor de regulatie van diverse processen van de voortplantingscyclus van het vrouwelijke zoogdier. Na de beschrijving van het corpus luteum door Vesalius en De Graaf heeft het tot omstreeks het begin van de 20^e eeuw geduurd voordat inzicht werd verkregen in de functie van het corpus luteum. In 1897 stelde Beard (35) dat het corpus luteum tijdens zwangerschap het optreden van een ovulatie voorkomt: *"In all mammals ovulation during gestation is either abortive or suppressed; and this is necessary, for a normal ovulation during gestation would lead to abortion. The corpus luteum is probably a contrivance for the suppression or rendering abortive of ovulation during gestation"*. Beard deed deze uitspraak omdat hij had opgemerkt dat ovulatie optrad na de aanvang van de degeneratie van het corpus luteum. In 1898 kwam Prenant op grond van histologische waarnemingen aan het corpus luteum tot de conclusie dat deze structuur een klier met inwendige secretie moest zijn (250). Prenant veronderstelde dat de

*Bij een aantal zoogdierspecies komen accessoire corpora lutea voor en deze ontstaan behalve uit gesprongen follikels ook uit atretische follikels (zie 12 en 214).

afscheidingsproducten van het corpus luteum een rol zouden spelen bij het voorkomen van bijvoorbeeld menstruatie en abortus. In 1898 nam Zschokke waar dat bij de koe na de paring een corpus luteum ontstond en - zolang dit aanwezig was- geen ovulatie optrad; na het verwijderen van de corpora lutea begonnen de follikels te groeien (346). Deze waarnemingen van Zschokke waren in feite reeds een experimenteel bewijs voor het door Beard gestelde, dat het corpus luteum het optreden van een ovulatie voorkomt (35).

De betekenis van het corpus luteum voor de innesteling van de eicel en voor het instandhouden van de zwangerschap werd voor het eerst in 1901 aangetoond door Fraenkel & Cohn (110) en door Magnus (193). Deze auteurs beschreven dat het verwijderen van de corpora lutea aan het begin van de zwangerschap bij het konijn een einde maakte aan de zwangerschap (110, 193). Wanneer een dergelijke operatie echter na dag 20 van de zwangerschap werd uitgevoerd, dan bleef de zwangerschap behouden (193). In 1907 ontdekte Loeb dat bij de cavia een tumorachtige groei optrad in de uterus wanneer het endometrium van de uterus 2 tot 8 à 9 dagen na de ovulatie mechanisch geprikkeld werd (182). Door de corpora lutea te verwijderen kon Loeb (182) laten zien, dat de aanwezigheid van deze structuren noodzakelijk was voor het optreden van een dergelijke tumorachtige groei in de uterus. Deze tumorachtige groei in de uterus, ontstaan na mechanische prikkeling van de uterus, wordt deciduum genoemd en kan beschouwd worden als het moederlijke deel van de placenta. Bouin & Ancel (48) toonden in 1910 aan dat ook voor de vorming van een deciduum bij het konijn de aanwezigheid van de corpora lutea noodzakelijk is.

De tot nu toe besproken experimentele gegevens tonen aan, dat de aanwezigheid van het corpus luteum noodzakelijk is voor de innesteling van de eicel, voor de vorming van het moederlijke deel van de placenta, voor het instandhouden van de zwangerschap en voor het voorkomen van de ovulatie. In 1910 en 1911 publiceerde Loeb (183, 184) gegevens waaruit bleek dat bij de cavia na het verwijderen van de corpora lutea ovulatie vervroegd was opgetreden. Andere auteurs (74, 231, 232) herhaalden deze experimenten en bevestigden de waarnemingen

van Loeb (183, 184). Ook bij andere zoogdiersoorten werd aangetoond dat het corpus luteum een remmende werking had op het optreden van de ovulatie (79, 233). Fylogenetisch bezien kan gesteld worden, dat de primaire functie van het corpus luteum het remmen van de ovulatie is. Immers bij buideldieren, een subklasse van de zoogdieren, gekenmerkt door het ontbreken van een placenta, bezit het corpus luteum slechts een anti-ovulatoire werking.

De waarneming dat het optreden van een ovulatie verhinderd wordt door het corpus luteum, leidde tot experimenten waarbij werd nagegaan of ook met extracten van corpora lutea het optreden van ovulaties kon worden voorkomen. In 1914 beschreven Pearl & Surface (235) dat bij de kip na het toedienen van een suspensie van gedroogde corpora lutea van koeien het aantal gelegde eieren verminderde. De pogingen om met waterachtige extracten van corpora lutea de ovulatie bij de rat (68) en bij de cavia (185) te remmen, hadden echter geen succes. Naast deze twee negatieve rapporten in 1917-1918, werden in de twintiger jaren positieve waarnemingen gepubliceerd voor de rat, cavia en het konijn (119, 139, 148, 163, 234). Deze positieve resultaten werden bereikt door gebruik te maken van extracten, verkregen door corpora lutea met organische oplosmiddelen te extraheren. Deze waarnemingen hebben geleid tot de isolatie en identificatie van het hormoon van het corpus luteum. Vier onafhankelijke groepen van onderzoekers publiceerden in 1934 de structuur van dit hormoon: Allen & Wintersteiner, Butenandt & Westphal, Hartmann & Wettstein, en Slotta, Ruschig & Fels (5, 55, 141, 290). Na een gezamenlijke publicatie in 1935 van drie van deze groepen (6) werden de aanvankelijke benamingen *progestin* (Allen) en *luteosteron* (Butenandt, Slotta) gewijzigd in *progesteron*.

1-1.2. Regulatie van de ovariumfunctie door de hypofyse.

In 1927 werd door Smith (296) en door Zondek & Aschheim (344) aangetoond dat de groei van de follikels in het ovarium veroorzaakt

wordt door stoffen uit de hypofyse. Smith (296) liet zien dat hypofysectomie bij de rat tot een atrofie van de ovaria leidde. Indien hij aan gehypofysectomeerde vrouwelijke ratten dagelijks intramusculair hypofysetransplantaten gaf, zag hij dat de follikels in de ovaria gingen groeien (296). Zondek & Aschheim (344) implanteerden stukjes hypofysevoorkwab in juveniele muizen, waarna follikelontwikkeling, bronstgedrag en soms ovulatie werd geobserveerd. In 1928 vonden Evans & Simpson (85) dat alkalische hypofyse-extracten luteïnisatie (d.i. het proces waarbij de corpora lutea gevormd worden) veroorzaakten. De waarnemingen van Smith (296) en Evans & Simpson (85) leidden tot het postuleren van twee afzonderlijke hypofysaire gonadotrofe hormonen (21, 322, 323, 345). Het ene hypofysaire gonadotrofe hormoon zou de groei van de ovariële follikels bewerkstelligen, terwijl het andere gonadotrofine een luteïniserende werking zou bezitten. In het begin van de dertiger jaren rapporteerden een aantal groepen van onderzoekers dat zij twee fracties uit de pars distalis van de hypofyse verkregen hadden (86, 105, 306), één met follikelstimulerende werking (FSH) en de andere met luteïniserende werking (LH). Nu werd bewezen geacht dat er inderdaad twee afzonderlijke gonadotrofinen moesten zijn, die afzonderlijke functies zouden vervullen bij de regulatie van de ovariumwerking. Greep (133) plaatste echter vraagtekens bij deze bewering en ook recent werk betreffende hormonen uit de hypothalamus doet twifelen aan de juistheid van bovenstaande bewering. Immers, de werking van de hypofyse wordt gereguleerd door het centrale zenuwstelsel en wel voornamelijk door de hypothalamus. De hypothalamische stimulatie van de hypofyse wordt bewerkstelligd door de afgifte van hormonen door de hypothalamus die, na afgegeven te zijn in de eminentia mediana, via de portale bloedvaten in de pars distalis van de hypofyse komen. Ook de hypofysaire afgifte van gonadotrofe hormonen wordt gestimuleerd door een hormoon uit de hypothalamus (202, 225). Nu blijkt dat zelfs met de meest zuivere preparaten, verkregen uit extracten van de hypothalamus, altijd een afgifte van LH en FSH wordt verkregen (270). Een ander argument tegen het bestaan van twee afzonderlijke, gescheiden gonadotrofinen is dat de synthese

van gonadotrofe hormonen waarschijnlijk maar in één celtype van de hypofyse geschiedt (219). Aan de andere kant blijkt dat met chemische en immunologische technieken twee afzonderlijke gonadotrofe hormonen aantoonbaar zijn (278). Voor een uitvoerig overzicht van de argumenten pro en contra het bestaan van twee afzonderlijke, gescheiden hypofysaire gonadotrofe hormonen wordt verwezen naar een overzichtsartikel van Schwartz & McCormack (278). In dit proefschrift zullen LH en FSH als afzonderlijke hormonen beschouwd worden. De reden hiervoor is dat de door ons gebruikte radio-immunologische bepaling voor LH en FSH (zie hoofdstuk 2) geijkt is op twee gezuiverde hypofysaire extracten, één met vrijwel uitsluitend LH-werking en het andere met vrijwel uitsluitend FSH-werking.

Bij de rat blijkt een derde gonadotrofine betrokken te zijn bij de regulatie van de ovariumfunctie. Nadat het corpus luteum gevormd is door de aanwezigheid van LH, is een ander hormoon uit de hypofyse nodig voor het instandhouden van de functie van het corpus luteum bij de rat. In zijn klassiek geworden publicatie uit 1941 beschreef Astwood (23) een aantal experimenten waarin aangetoond werd dat de functie van het corpus luteum in gehypofysectomeerde ratten niet met gezuiverde LH- en FSH-preparaten gehandhaafd kon worden. Indien aan hypofyselose ratten echter een ander, uit schapenhypofyzen geïsoleerd, hormoon werd gegeven, bleek de werking van het corpus luteum gehandhaafd te blijven (23). Dit uit schapenhypofyzen geïsoleerde hormoon noemde Astwood "luteotrophin". In hetzelfde jaar, 1941, werd door Evans c.s. (87) aangetoond dat prolactine (ook wel lactogeen hormoon genoemd) in staat was de functie van het corpus luteum te onderhouden. Evans c.s. (87) behandelden gehypofysectomeerde ratten 10-11 dagen met diverse stoffen, op de 4e of 5e dag van de behandeling werd de uterus getraumatiseerd en aan het einde van de behandeling werd nagegaan of deciduomen aanwezig waren. Alleen de dieren die met prolactine waren behandeld, en niet de hypofyselose dieren die LH, FSH, HCG¹ of PMS²

¹humaan chorion-gonadotrofine, wordt uit urine van zwangere vrouwen geïsoleerd en bezit voornamelijk een LH-achtige werking

²pregnant mare serum, een gonadotrofine dat uit serum van drachtige paarden wordt geïsoleerd; bezit voornamelijk een FSH-achtige werking

hadden gekregen, hadden deciduomen. Het bleek later dat het door Astwood (23) gebruikte "luteotrophin" en het prolactine, gebruikt door Evans c.s. (87), identiek waren (zie 321). Later onderzoek liet zien dat de luteotrofe werking van prolactine slechts beperkt was tot een aantal species, zoals rat, muis en hamster (zie 134). Prolactine blijkt een hormoon te zijn met vele activiteiten (zie 224). Bij alle zoogdiersoorten is prolactine betrokken bij de melkklierontwikkeling en de lactatie.

1-2. DE VOORTPLANTINGSCYCLUS VAN DE VROUWELIJKE RAT.

1-2.1. Inleiding.

De voortplantingscyclus is een regelmatig terugkerende keten van gebeurtenissen bij het volwassen vrouwelijke dier (96). Deze keten van gebeurtenissen is gericht op het laten voortbestaan van de soort. Bij zoogdieren is de voortplantingscyclus een zeer complex gebeuren, daar verschillende gebeurtenissen synchroon of vlak na elkaar verlopen. Eén van deze gebeurtenissen is de ovulatie. Rondom ovulatie voltrekken zich, ten nauwste met de ovulatie samenhangende, wijzigingen. Een aantal hiervan, zoals bronstgedrag en de veranderingen van de tubae, uterus en vagina-epitheel, zijn betrekkelijk simpel waar te nemen. In een monografie over de oestruscyclus van de rat hebben Long & Evans (187) reeds in 1922 een gedetailleerde beschrijving van deze veranderingen gegeven. Onder laboratoriumomstandigheden vertoont de volwassen vrouwelijke rat met regelmatige tussenpozen (4 - 5 dagen) oestrusgedrag, en uitsluitend tijdens de betreffende periode is het vrouwtje bereid te paren. Verder blijkt uit het werk van Long & Evans (187) dat het epitheel van de vagina bij de rat karakteristieke veranderingen ondergaat tijdens de oestruscyclus. Deze veranderingen zijn terug te vinden in het celbeeld van vagina-uitstrijkjes, waardoor de oestruscyclus van de rat op een eenvoudige wijze te volgen is (187, 274). De navolgende stadia kunnen met behulp van de vagina-uitstrijkjes tijdens de oestruscyclus onderscheiden worden: 2 - 3 di-oestrusdagen, 1 pro-oestrusdag en

1 oestrus dag. Wanneer de ratten onder laboratoriumomstandigheden worden gehouden, begint het bronstgedrag aan het einde van de pro-oestrusmiddag en eindigt het aan het begin van de oestrusmiddag. Everett c.s. (91) lieten zien dat, bij constante lichtomstandigheden, de ovulatie bij de rat altijd vroeg op de oestrusdag plaatsvindt. Dit betekent, dat de ovulatie binnen de periode van het bronstgedrag valt. Naast de veranderingen van het vagina-epitheel zijn er tijdens de oestruscyclus ook veranderingen van de uterus en tubae waar te nemen (zie 187).

Bij de ovulatie bij de rat komen er gemiddeld 10 - 12 gerijpte oöcyten vrij (zie 315). De gesprongen follikels worden corpora lutea en binnen 48 uur na de ovulatie hebben deze nieuw gevormde corpora lutea reeds een maximaal volume bereikt (47, 73). Na de follikelsprong en het vrijkomen van de gerijpte oöcyt (zie 310) groeien bloedvaten vanuit de theca interna de granulosalaag in en vormen tussen de granulosacellen een netwerk van bloedvaten (32). Anders dan bij vele andere zoogdiersoorten worden de corpora lutea bij de rat niet functioneel tijdens de oestruscyclus. Men spreekt daarom wel van de inactieve corpora lutea van de oestruscyclus van de rat, waarmee bedoeld wordt dat de corpora lutea van de oestruscyclus geen groei van progesteronafhankelijke deciduomen in een getraumatiseerde uterus veroorzaken (187). De corpora lutea van de oestruscyclus beginnen een aantal dagen na de ovulatie te degenereren (73). Vindt echter paring plaats of wordt de cervix uteri tijdens de bronst gestimuleerd (187), dan gaan de corpora lutea progesteron produceren en secernereren. Deze corpora lutea worden wel geactiveerde corpora lutea genoemd en blijven langer in het ovarium zichtbaar dan de corpora lutea van de oestruscyclus. In tegenstelling tot de situatie bij de rat, volgt bij de meeste zoogdiersoorten, waaronder de mens, na de ovulatie altijd een luteale of progravide fase. De luteale fase van de rat is gekenmerkt door de afwezigheid van ovulaties en bronstperioden. Bij de rat worden tijdens de luteale fase vagina-uitstrijkjes met leucocyten waargenomen (187). Na een fertiele paring volgt een zwangerschap met een lengte van 21 - 23 dagen.

Blijft - door paring met een steriele rat - de bevruchting echter uit, dan wordt een luteale fase van 12 - 14 dagen geconstateerd. Laatstgenoemde periode van luteale activiteit wordt pseudozwangerschap of progravide fase genoemd. Pseudozwangerschap wordt ook waargenomen na mechanische stimulatie van de cervix uteri op pro-oestrus en/of oestrus (187).

De laatste 10 - 15 jaren zijn gevoelige methoden voor de bepaling van hormonen ontwikkeld (zie 208, 210 en hoofdstuk 2). Deze methoden hebben het mogelijk gemaakt onderzoek te verrichten naar hormoonfluctuaties tijdens de voortplantingscyclus. Deze onderzoeken, tezamen met morfologische onderzoeken, hebben geleid tot een goede beschrijving van de gebeurtenissen tijdens oestruscyclus, zwangerschap en pseudozwangerschap van de rat. Voor een goed begrip van de gebeurtenissen tijdens oestruscyclus, zwangerschap en pseudozwangerschap bij de rat zal nu een bespreking hiervan volgen. Er zal vooral aandacht geschonken worden aan de regulatie van de activiteit van het corpus luteum. Daarnaast zullen een aantal aspecten van de oestruscyclus van de rat besproken worden.

1-2.2. De oestruscyclus van de rat.

1-2.2.1. Follikelontwikkeling tijdens de oestruscyclus.

De volgende gebeurtenissen zijn waar te nemen in het ovarium van de rat tijdens de oestruscyclus:

- (1) follikelgroei;
- (2) oöcytrijping, ovulatie en luteïnisatie van de gesprongen follikel.

Mandl & Zuckermann (198) beschreven dat tijdens de oestruscyclus vooral het aantal follikels met een diameter groter dan $350 \mu\text{m}$ (overeenkomende met een volume van $> 200 \times 10^5 \mu\text{m}^3$) sterk veranderde. Later onderzoek bevestigde dit (242, 314). Bij ratten die een 5-daagse cyclus hebben, is het volgende patroon in de follikelontwikkeling te onderkennen (zie ook 315): op de pro-oestrusdag begint een nieuwe groep follikels te groeien; hierdoor neemt vanaf de pro-oestrusdag het aantal follikels met een volume van $> 200 \times 10^5 \mu\text{m}^3$

toe; door deze groei bereiken op de tweede di-oestrusdag 10 - 12 follikels een volume van $> 500 \times 10^5 \mu\text{m}^3$, en van deze follikels wordt aangenomen dat zij verder uitgroeien en uiteindelijk op de vroege ochtend van de oestrusdag zullen springen (zie 315); de rest van de follikels die op de pro-oestrusdag zijn gaan groeien, maar op de tweede di-oestrusdag kleiner zijn dan $500 \times 10^5 \mu\text{m}^3$, degenerereert (315). De morfologische gebeurtenissen in de pre-ovulatoire follikels voorafgaande aan de ovulatie, zijn uitvoerig beschreven door o.a. Osman (230) en Vermeiden (310).

Reeds uit het werk van Smith (296) is gebleken dat de hypofyse nodig is voor een volledige follikelontwikkeling. Naast de hypofysaire hormonen spelen ovariumhormonen een rol bij de regulatie van de cyclische groei van de follikels in het ovarium (149). In dit proefschrift zal een bespreking van de hormoonspiegels in relatie tot de follikelontwikkeling gegeven worden. Een gedetailleerde bespreking van de directe en de indirecte invloeden van hormonen op de follikelontwikkeling valt echter buiten het bestek van dit proefschrift, maar is uitvoerig beschreven in het proefschrift van Welschen (315) en in een overzichtsartikel van Schwartz (279).

1-2.2.2. Hormoonspiegels tijdens de oestruscyclus.

In vele publicaties worden de fluctuaties van één of meerdere hormonen tijdens de oestruscyclus besproken (zie 275). Recent zijn twee publicaties verschenen waarin de veranderingen van de hypofysehormonen LH, FSH en prolactine en de ovariumhormonen oestradiol en progesteron tijdens de 4-daagse cyclus in het bloed van de rat gedetailleerd worden beschreven (53, 292). In hoofdstuk 3 zullen de resultaten van een onderzoek bij een 5-daagse oestruscyclus besproken worden.

De hormoonspiegels tijdens een 4-daagse oestruscyclus zijn weergegeven in Fig. 1-1, en kunnen als volgt samengevat worden:
LH - De LH-concentraties stijgen gedurende de middag van de pro-oestrus. Deze stijging is om 15 uur aantoonbaar en maximale

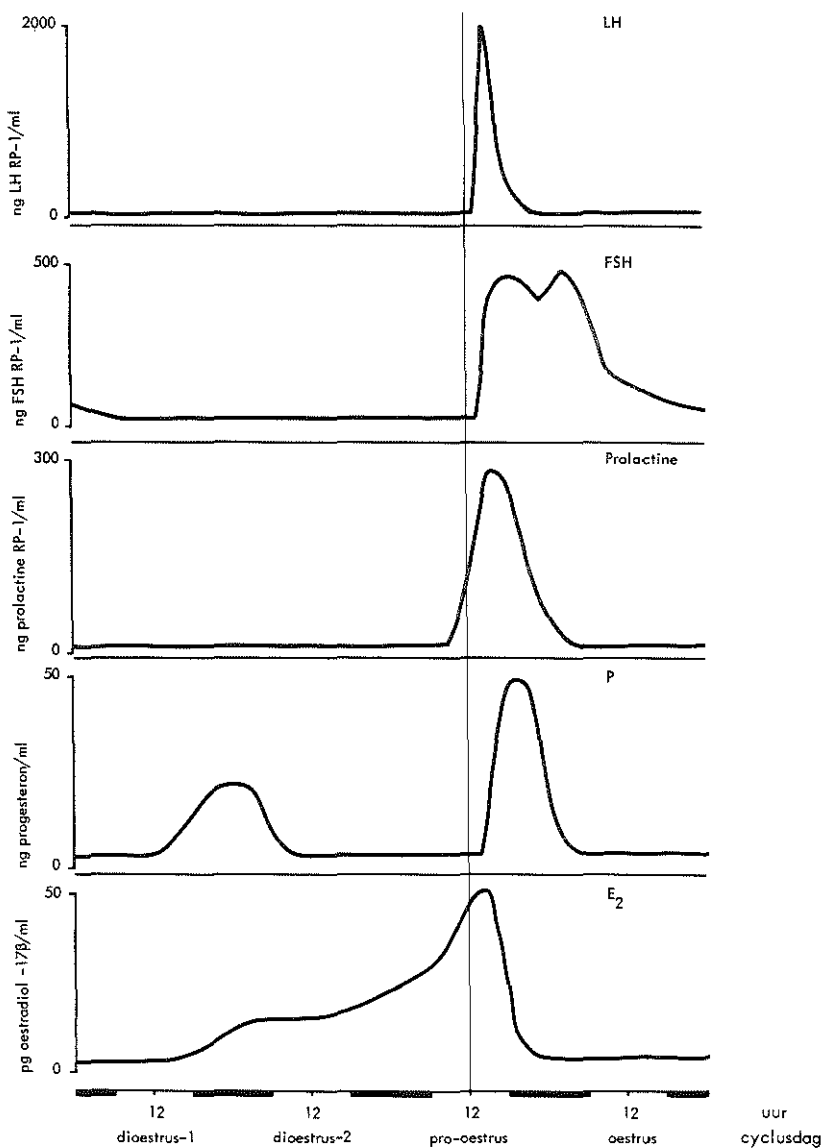


Fig. 1-1. Concentraties van LH, FSH, prolactine, progesteron (P) en oestradiol-17 β (E₂) in het serum van ratten met een 4-daagse cyclus. Deze figuur is gebaseerd op recent onderzoek van Butcher c.s. (ref. 53) en Smith c.s. (ref. 292). Zie tekst voor een nadere toelichting.

waarden worden laat op deze middag bereikt. Aan het einde van de pro-oestrusdag zijn de LH-concentraties weer op het niveau van de pro-oestrusochtend. De stijging van de LH-concentraties op de pro-oestrusmiddag wordt veelal de pro-oestrus LH-piek genoemd.

FSH - De FSH-concentraties stijgen in de loop van de middag van pro-oestrus. Net als de LH-stijging is de eerste toename van de FSH-concentraties om 15 uur waarneembaar. Maximale FSH-waarden worden bereikt aan het einde van de lichtperiode van de pro-oestrusdag. Ook op de oestrusdag worden nog verhoogde FSH-concentraties in het serum gevonden. Een verschil met de LH-piek is dat de FSH-piek twee toppen heeft.

Prolactine - Op de pro-oestrusdag wordt een stijging van de prolactineconcentraties vastgesteld. De stijging van de prolactineconcentraties begint eerder dan die van LH en FSH. Reeds om 11 uur worden verhoogde prolactineconcentraties gevonden en maximale waarden worden om 15 - 17 uur bereikt. Op de ochtend van de oestrusdag zijn de prolactineconcentraties weer laag.

In het verdere verloop van de cyclus blijven de LH-, FSH- en prolactineconcentraties relatief constant.

Progesteron - Tijdens de oestruscyclus worden twee progesteronpieken waargenomen. De ene piek wordt gevonden tijdens de di-oestrus van de cyclus; de andere piek, die hogere maximale waarden bereikt, wordt op de pro-oestrusdag gemeten. Op de pro-oestrusmiddag worden om 15 uur verhoogde progesteronconcentraties gevonden. Maximale waarden worden tussen 17 en 21 uur gevonden; op de oestrusochtend zijn de progesteronconcentraties weer laag.

Oestradiol-17 β - De hoeveelheid oestradiol-17 β in het bloed neemt na de eerste di-oestrusdag geleidelijk toe. Omstreeks de vroege middag van de pro-oestrusdag wordt een maximale oestradiolconcentratie waargenomen. Hierna daalt de oestradiolconcentratie vrij snel.

1-2.2.3. Verband tussen hormonale veranderingen tijdens de oestruscyclus.

Op de pro-oestrusdag vindt een stijging van LH, FSH en prolactine plaats. De stijging van deze 3 hormonen uit de hypofyse veroorzaakt belangrijke veranderingen in het ovarium. Eliminatie van de LH-piek verhindert het optreden van oöcytrijping, ovulatie en luteïnisatie van de granulosa-cellen (309), maar heeft geen invloed op de follikelontwikkeling gedurende de volgende cyclus (320). FSH daarentegen is niet van belang voor de ovulatie, maar wel voor de ontwikkeling van een nieuwe groep follikels (320). Tot nu toe is van prolactine niet beschreven dat het van betekenis is voor het optreden van de ovulatie en de follikelontwikkeling, maar het is waarschijnlijk wel betrokken bij de structurele luteolyse (zie hiervoor 2-3.4.) van de corpora lutea (197, 330).

Er behoeft nauwelijks meer aan getwijfeld te worden dat de stijging van de oestradiolconcentraties verantwoordelijk is voor de afgifte van de pro-oestruspieken van LH, FSH en prolactine. Voor deze bewering pleiten de volgende argumenten:

- (1) de sterke stijging van oestradiol-17 β voorafgaande aan de stijging van LH, FSH en prolactine op de pro-oestrusdag;
- (2) het uitblijven van de LH-, FSH- en prolactinepieken na ovariëctomie (276), toedienen van een oestrogen-antagonist (287) of antilichamen tegen oestradiol-17 β (104, 221) op de tweede di-oestrusdag van de 4-daagse oestruscyclus;
- (3) het induceren van LH-, FSH- en prolactinepieken in geovariëctomeerde ratten door behandeling met oestrogenen (99, 277);
- (4) de toegenomen gevoeligheid van de hypofyse voor LH-RH (LH-releasing hormone) na oestrogenbehandeling (106).

Bij het derde argument dient opgemerkt te worden dat ook progesteron in met oestrogenen voorbehandelde, geovariëctomeerde dieren een LH-piek kan induceren (99, 277). Dit zou erop kunnen wijzen dat progesteron verantwoordelijk is voor de inductie van de LH-piek tijdens de oestruscyclus. In dit verband kan opgemerkt worden dat toediening van progesteron onder bepaalde omstandigheden het optreden van ovulatie

kan vervroegen (zie 343). Echter, de lage concentraties van progesteron voor de LH-piek (53, 207, 208, 275, 292) maken het onwaarschijnlijk dat progesteron verantwoordelijk is voor de inductie van de LH-piek tijdens de cyclus. Eventueel zou progesteron wel belangrijk kunnen zijn voor de hoogte van de gonadotrofinenpieken.

Uit Fig. 1-1 blijkt dat de pro-oestruspiek van FSH twee toppen heeft. In de vorige alinea werd aannemelijk gemaakt dat oestradiol-17 β de stimulus voor de afgifte van FSH op de pro-oestrusmiddag is. Het is echter niet aannemelijk dat oestradiol-17 β de verlengde afscheiding van FSH veroorzaakt (immers, de oestradiolconcentratie is dan reeds laag - zie Fig. 1-1). Er zijn daarentegen aanwijzingen dat de verlengde afscheiding van FSH het gevolg is van de aanwezigheid van testosteron. Werden dieren met een antiserum tegen testosteron behandeld, dan was het tweede deel van de FSH-piek niet meer aantoonbaar (116). Dit wordt gesteund door onderzoek waaruit bleek, dat testosteronspiegels tijdens de tweede di-oestrusdag en de pro-oestrusdag verhoogd waren (80).

De oestradiolconcentraties stijgen vanaf de eerste di-oestrusdag. Uit het werk van Falck (102) en Short (288) blijkt, dat de thecacellen oestrogenen kunnen synthetiseren. Falck (102) toonde aan dat bij de rat progesteron uit de granulosa cel nodig was voor oestrogenproductie in de thecacel. Short (288) kwam op grond van zijn waarnemingen tot de conclusie dat in de thecacellen van het paard alle enzymen aanwezig zijn, noodzakelijk voor de synthese van oestrogenen. Dit werd later bevestigd door *in vitro* (62) en *in vivo* (337) werk, waarbij ook het paard als proefdier werd gebruikt. De interstitiële cel van de rat is eveneens een bron van oestrogenen (102, 251). De stimulus voor de stijging van de oestradiolconcentratie tijdens de di-oestrusperiode is waarschijnlijk LH. Deze bewering is gebaseerd op de waarneming dat toediening van een antiserum tegen LH op de middag van de tweede di-oestrusdag, de van oestradiol-17 β afhankelijke gebeurtenissen op de pro-oestrusdag blokkeert (83, 112). Behandeling van de dieren met antiserum tegen FSH blokkeerde deze gebeurtenissen echter niet (277). Op de pro-oestrusmiddag wordt een snelle daling

van de oestradiolconcentraties waargenomen (53, 159, 208, 292). Deze daling is waarschijnlijk het gevolg van de stijging van LH op de pro-oestrusmiddag, waardoor het ovarium progesteron in plaats van oestrogenen gaat synthetiseren. Een argument hiervoor is dat de toename van de ovariële progesteronsecretie op de pro-oestrusmiddag het directe gevolg is van de stijging van de LH-concentratie (154, 303). Een ander argument voor het bovenstaande kan ontleend worden aan het werk van Butcher c.s. (54). Deze auteurs lieten zien dat na het voorkomen van het optreden van de LH-piek op de pro-oestrusmiddag door nembutalbehandeling (zie hiervoor 92) de oestradiolconcentratie langzamer omlaag ging en de progesteronconcentratie slechts een weinig verhoogd was (54). Verder blijkt uit *in vitro* werk bij de rat dat de oestrogeensynthese op pro-oestrus maximaal is, en dat na toevoegen van LH aan het incubatiemedium de oestrogeensynthese afneemt (65).

In Fig. 1-1 is aangegeven dat de progesteronconcentraties tegelijkertijd met de LH-concentraties stijgen, hetgeen bij eigen onderzoek ook gevonden werd (207). Bij het onderzoek waarop Fig. 1-1 gebaseerd werd (53, 292) en het eigen onderzoek (207) werden bloedmonsters met tussenpozen van 2-3 uur verzameld. Het is daarom moeilijk na te gaan welk van deze 2 hormonen het eerste stijgt op de pro-oestrusmiddag. Bij frekwenter meten bleek echter dat de LH-stijging altijd aan de progesteronstijging voorafging (249). Andere auteurs echter namen een geringe stijging in de perifere progesteronconcentraties waar vóór het begin van de LH-piek (120, 160, 200). Deze toename in het bloed zou veroorzaakt worden door de progesteronsecretie uit de bijnier. Of dit verschil, gevonden in het verloop van de progesteronconcentraties, fysiologisch is en bijvoorbeeld níét toegeschreven moet worden aan de methode van bloed afnemen, valt moeilijk na te gaan. Het is echter een feit dat een dergelijke vroege stijging niet wordt waargenomen indien bloedmonsters worden verkregen na decapitatie (53, 292).

Zoals hierboven werd vermeld, neemt de ovariële progesteronsecretie pas toe na de stijging van de LH-concentraties (154, 200, 303). Als mogelijke bron voor de ovariële progesteronsynthese op de

pro-oestrusmiddag komen zowel de thecacellen als de granulocellen in aanmerking. Voor de thecacellen van het paard zijn er zowel met *in vivo* (337) als met *in vitro* (62) experimenten aanwijzingen gevonden dat deze cellen progesteron kunnen synthetiseren. Productie van progesteron door de granulocellen van follikels werd aangetoond voor het varken bij *in vitro* experimenten (43) en voor het paard met *in vivo* (337) en *in vitro* (61) experimenten. Het is nu de vraag of het door de granulocellen gesynthetiseerde progesteron wel in de perifere circulatie terecht komt. Immers de granulocellen van de follikel zijn vrijwel niet omgeven door bloedvaten. Het is dus mogelijk dat de door de granulocellen geproduceerde progesteron voornamelijk in de follikelvlloeistof komt. Een argument hiervoor kan ontleend worden aan het werk van Friedrich c.s. (114): zij maten in de follikelvlloeistof van Graafse follikels van de mens een duizenden malen hogere progesteronconcentratie dan in het plasma.

De tijdens de di-oestrusperiode gevonden verhoging van de progesteronconcentraties is waarschijnlijk het gevolg van een verhoogde ovariële progesteronsecretie (27, 142, 303, 333). Met behulp van lipidekleuringen (zoals Soedan III en de Schultz cholesteroltest) heeft Everett (90) de veranderingen in de corpora lutea tijdens de oestruscyclus nagegaan. De hoeveelheid vet nam toe tijdens di-oestrus en bereikte een maximum aan het eind van deze periode. Tijdens de pro-oestrus zag hij een tijdelijke vermindering van de hoeveelheid vet. Guraya (138) kon deze laatste waarneming echter niet bevestigen. Beide auteurs (90, 138) vonden dat na ovulatie de hoeveelheid lipide in de corpora lutea van de vorige cyclus toenam. Deze waarnemingen stemmen goed overeen met de gegevens over de progesteronsecretie: verminderd aantoonbaar cholesterol (Schultz-test), wanneer de corpora lutea tijdens de oestruscyclus progesteron produceren (27, 142, 303, 333).

De luteale progesteronproductie tijdens de di-oestrusperiode is autonoom. Immers, hypofysectomie op de oestrusdag veranderde noch de progesteronproductie door het ovarium (303) noch de perifere progesteronconcentraties (ongepubliceerde waarnemingen van McLean - zie

Discussie van 292) gedurende di-oestrus. Dit maakt het onwaarschijnlijk dat de bijnier de toename in de progesteronconcentraties gevonden tijdens di-oestrus zou veroorzaken. Er is echter onderzoek gerapporteerd waaruit geconcludeerd kan worden dat de bijnier wel aanzienlijk zou bijdragen tot de perifere progesteronconcentraties tijdens de cyclus (200, 284). Bij dit onderzoek werd bloed uit de bijnier- of ovarium-vene van verdoofde dieren verkregen. Men moet echter bedenken dat het canuleren op zich al een maximale stresstoestand van het dier veroorzaakt. Op deze wijze wordt derhalve niet de bijdrage van de bijnier aan het plasmaprogesteron op een bepaald tijdstip van de cyclus gemeten, maar veeleer de maximale steroidproductie van de bijnier op het moment van canulatie.

De gebeurtenissen en de interacties tussen de verschillende hormonen tijdens de oestruscyclus in ratten die onder constante omstandigheden worden gehouden, kunnen als volgt worden samengevat:

- (1) vanaf de pro-oestrusdag groei van een nieuwe groep follikels, waardoor de oestradiolconcentraties vanaf de eerste di-oestrusdag gaan stijgen;
- (2) de stijging van de oestradiolconcentraties wordt door LH veroorzaakt;
- (3) de stijging van de oestradiolconcentraties leidt tenslotte tot de LH-, FSH- en prolactinepieken op de pro-oestrusdag;
- (4) door de stijging van de LH-concentraties op de pro-oestrusmiddag gaat het ovarium progesteron in plaats van oestrogenen produceren;
- (5) de LH-piek induceert oöcytrijping, ovulatie en luteïnisatie;
- (6) de FSH-piek induceert de groei van een nieuwe groep follikels;
- (7) de prolactinepiek induceert structurele luteolyse van de bestaande groep corpora lutea;
- (8) de nieuw gevormde corpora lutea produceren, onafhankelijk van de hypofyse, een geringe hoeveelheid progesteron tijdens di-oestrus.

1-2.3. De luteale fase van de rat.

Bij de navolgende bespreking blijven de veranderingen van de hormoonspiegels tijdens de luteale fase van de rat vrijwel buiten

beschouwing. De reden hiervoor is, dat het eigen onderzoek betrekking had op deze hormonale veranderingen en deze komen derhalve uitvoerig aan bod in het experimentele gedeelte van dit proefschrift.

1-2.3.1. Inleiding.

In de voorafgaande bespreking werd vermeld dat luteïnisatie (d.i. de ontwikkeling van het corpus luteum uit de gesprongen follikel) door de LH-piek geïnduceerd wordt (309). Het is nog steeds niet duidelijk of het corpus luteum bij de rat alleen uit geluteïniseerde granulosa-cellen bestaat of dat ook geluteïniseerde theca-cellen deel uitmaken van het corpus luteum. Bij een aantal zoogdierspecies, waaronder de mens (71) en de koe (78), is het mogelijk bij een vol-groeid corpus luteum luteïne cellen gevormd uit theca-cellen en uit granulosa-cellen van elkaar te onderscheiden. Dit is niet mogelijk bij de rat (84). Er zijn echter bij de rat met behulp van het electronen-microscop wel verschillen tussen de cellen in de periferie en in het centrum van het corpus luteum tijdens de zwangerschap gevonden (84). De perifere cellen zouden dan uit theca-cellen ontstaan kunnen zijn. Long (188), wiens waarnemingen op dag 2 van de zwangerschap beginnen, zag echter noch met het lichtmicroscop noch met het electronen-microscop verschillen tussen de luteïne cellen. Pederson heeft met lichtmicroscopisch onderzoek gevonden dat de geluteïniseerde theca-cellen in het corpus luteum van de rat reeds 36 uur na ovulatie niet meer te onderscheiden waren van de geluteïniseerde granulosa-cellen (237). Guraya (138) beschrijft echter dat de theca-cellen reeds op de eerste di-oestrusdag gedegeneerd zouden zijn, zodat uit deze studie (138) geconcludeerd kan worden dat het corpus luteum van de rat alleen uit geluteïniseerde granulosa-cellen bestaat.

Zoals bij de bespreking van de oestruscyclus werd medegedeeld, produceren de corpora lutea van de cyclus slechts gedurende korte tijd progesteron. Tijdens zwangerschap en pseudozwangerschap echter produceren de corpora lutea bij de rat gedurende een langere tijd progesteron (121, 142, 240, 319). Na de zwangerschap treedt een post-partum ovulatie op. Vindt geen paring plaats na de partus dan treedt toch

een pseudozwangerschap op. Tijdens deze lactatiepseudozwangerschap worden geen ovulaties noch bronstgedrag geconstateerd. Reeds eerder werd vermeld dat zowel tijdens zwangerschap als pseudozwangerschap een verlengde di-oestrusperiode wordt waargenomen.

Het is gebruikelijk, bij de rat 4 soorten corpora lutea te onderscheiden. Dit onderscheid is gebaseerd op de endocriene toestand:

1. corpora lutea van de oestruscyclus;
2. corpora lutea van de pseudozwangerschap;
3. corpora lutea van de zwangerschap;
4. corpora lutea van de lactatie(pseudo)zwangerschap.

ad 1. De corpora lutea van de oestruscyclus zijn de kleinste van de 4 genoemde soorten, en zij bereiken een gemiddelde diameter van 1,1 mm. Een nieuwe groep van 10 - 15 corpora lutea wordt na iedere ovulatie gevormd. Binnen 48 uur na de ovulatie hebben deze corpora lutea reeds een maximaal volume bereikt en zij behouden dit volume enkele dagen (47, 73). Na de volgende ovulatie vermindert de grootte eerst snel, waarna zij langzaam degenereren (47). Na twee oestruscycli is deze groep van corpora lutea uit het ovarium verdwenen.

ad 2. De corpora lutea van de pseudozwangerschap worden na iedere ovulatie gevormd indien steriele copulatie of cervicale stimulatie heeft plaatsgevonden tijdens de bronstperiode. Deze corpora lutea zijn iets groter (gemiddeld 1, 2 - 1, 3 mm) dan de corpora lutea van de oestruscyclus (209). Ook zijn de cellen van de corpora lutea van de pseudozwangerschap groter dan die van de oestruscyclus. In vergelijking met de corpora lutea van de oestruscyclus bevatten de cellen van het corpus luteum van de pseudozwangerschap (84, 188):

- een geringere hoeveelheid lipide;
- goed ontwikkelde mitochondria met tubulaire cristae;
- een electronendichtere intramitochondriale matrix;
- veel glad endoplasmatisch reticulum.

De corpora lutea van de pseudozwangerschap produceren gedurende ongeveer 10 dagen een aanzienlijke hoeveelheid progesteron (142). Deze corpora lutea van de pseudozwangerschap induceren de ontwikkeling van het lobulo-alveolaire systeem van de melkklieren en maken de groei van een deciduoom in een getraumatiseerde uterus mogelijk (187).

ad 3. De corpora lutea van de zwangerschap kunnen beschouwd worden als corpora lutea van de pseudozwangerschap die echter gedurende langere tijd progesteron produceren (142). Het is gebleken dat de progesteronspiegels in het bloed tijdens de eerste helft van de zwangerschap en tijdens de pseudozwangerschap vrijwel gelijk zijn (240). Aan het einde van de pseudozwangerschap dalen de progesteronconcentraties, terwijl de corpora lutea van de zwangerschap ook 10 - 12 dagen na de ovulatie progesteron blijven produceren (142, 240). Dit komt doordat tijdens de tweede helft van de zwangerschap een placentair luteotrofine de corpora lutea stimuleert (238). In de tweede helft van de zwangerschap gaan de cellen van de corpora lutea verder uitgroeien (187, 209), waardoor de corpora lutea een gemiddelde diameter van 1,9 mm bereiken. Het uitgroeien van de corpora lutea manifesteert zich door hogere progesteronconcentraties in het bloed in de tweede helft van de zwangerschap (240).

ad 4. Bij de rat treedt een post-partum ovulatie op. De corpora lutea van de zwangerschap degenereren na de post-partum ovulatie en de nieuwe groep corpora lutea gaat een aanzienlijke hoeveelheid progesteron produceren (136) wanneer de moeder gaat lacteren. De corpora lutea bereiken een gemiddelde diameter van 1,6 mm. De lactatiepseudozwangerschap duurt 20 - 30 dagen en de lengte van de lactatiepseudozwangerschap wordt onder andere bepaald door het aantal zogende jongen: verwijderen van de jongen verkort de lengte van de pseudozwangerschap (261). De lactatiezwangerschap verschilt van de normale zwangerschap doordat uitgestelde implantatie optreedt (zie 339).

1-2.3.2. Correlatie tussen de functionele toestand van het corpus luteum en de activiteit van het enzym 20α -hydroxysteroiddehydrogenase.

Het functionele corpus luteum is een metastabiel systeem. Een tijdelijke remming van het functioneren kan snel irreversibel worden waardoor luteolyse optreedt. Wiest en zijn medewerkers hebben aangetoond dat de activiteit van het in de corpora lutea gelocaliseerde enzym 20α -hydroxysteroiddehydrogenase (25) een zeer goede indicatie

is voor de functionele toestand van het corpus luteum. Allereerst toonde Wiest aan (324) dat 20 α -dihydroprogesteron het belangrijkste omzettingsproduct van progesteron in het corpus luteum van de rat is. Verder bleek dat 20 α -dihydroprogesteron geen belangrijke progestatieve activiteit had (327). Lage 20 α -hydroxysteroiddehydrogenase activiteit bleek karakteristiek te zijn voor functionele corpora lutea, terwijl een toename van de activiteit samenging met het optreden van luteolyse (326). Op grond van deze gegevens stelde Wiest dat "*progesterone reduction to 20 α -dihydroprogesterone constitutes a physiological mechanism by which the progestational potency of ovarian secretions is regulated, and initiation of enzyme activity correlates, directly or indirectly, with the beginning of luteal involution*" (143, zie ook 178). De vraag kan echter gesteld worden of progesteron misschien zelf een regulerende werking heeft op de activiteit van 20 α -hydroxysteroiddehydrogenase. Enige aanwijzingen hiervoor zijn gegeven door Veomett en Daniel (308), die beschreven dat eerst een daling van de progesteronconcentraties werd waargenomen bij lacterende zwangere ratten en vervolgens een verandering in de activiteit van 20 α -hydroxysteroiddehydrogenase. Fuchs en Mok (115) vonden dat de activiteit van 20 α -hydroxysteroiddehydrogenase in het ovarium van zwangere ratten toenam na behandeling met prostaglandine F_{2 α} . Gelijktijdig toedienen van progesteron voorkwam deze activiteitstoename (115), zodat ook in dit experimenteel model progesteron misschien een regulerende werking had op de activiteit van dit enzym.

1-2.3.3. Luteotrofe hormonen.

1-2.3.3.1. Inleiding.

Het functioneren van de corpora lutea is in het algemeen afhankelijk van stimulatie door hormonen. Dergelijke hormonen worden luteotrofe hormonen genoemd. Er zijn weinig zoogdiersoorten beschreven waarbij zowel structuur als functie van het corpus luteum door één luteotroof hormoon gehandhaafd wordt (zie 134). Meestal is er sprake van een luteotroof complex, dat wil zeggen dat meerdere hormonen

noodzakelijk zijn voor functie en structuur van het corpus luteum.

Tot nu toe zijn er twee zoogdiersoorten beschreven die blijkbaar geen hypofysaire hormonen nodig hebben voor het functioneren van het corpus luteum. Voor het varken werd gevonden dat het verwijderen van de hypofyse na de ovulatie niet interfereerde met de vorming en de functie van de corpora lutea tijdens de cyclus (206). Bij de cavia is de aanwezigheid van de hypofyse na de ovulatie slechts 2 tot 3 dagen nodig voor het functioneren van het corpus luteum tijdens de cyclus (4, 146). Tijdens de zwangerschap bij de cavia is de placenta echter wel nodig voor het normaal functioneren van het corpus luteum. Bij de rat is de aanwezigheid van de hypofyse beslist noodzakelijk voor de vorming van de corpora lutea, echter de geringe productie van progesteron door de corpora lutea tijdens de oestruscyclus is niet afhankelijk van de hypofyse (292, 303). Waarom de corpora lutea van het varken en van de cavia voor het functioneren geen gonadotrofinen nodig hebben is moeilijk te verklaren. Het is echter wel bekend dat het verwijderen van de eicel uit de preovulatoire follikels van het konijn leidt tot luteïnisatie van deze follikels (82). Deze geluteïniseerde follikels produceren net zoveel progesteron als de corpora lutea van een pseudozwanger konijn (82), maar de progesteronproductie houdt slechts 5 dagen aan. Uit de resultaten van deze publicatie (82) kan geconcludeerd worden dat geen gonadotrofinen nodig zijn voor luteïnisatie, en dat in de preovulatoire follikel de eicel de luteïnisatie voorkomt. Voor de rat werd beschreven dat in een kweek van granulosa-cellen luteïnisatie werd voorkomen wanneer eicellen aanwezig waren (222). Daarentegen, werd echter voor de rat gevonden dat luteïnisatie kan optreden *ondanks* de aanwezigheid van een, weliswaar gerijpte, oöcyt in de follikel (309).

Bij de bespreking van luteotrofe processen is het van belang een onderscheid te maken tussen morfologie en steroïdproductie van het corpus luteum. Bij de rat zijn dit waarschijnlijk twee gescheiden fenomenen. De corpora lutea van de oestruscyclus produceren weinig progesteron, hoewel corpora lutea van normale structuur aanwezig zijn. Worden de corpora lutea van de oestruscyclus gestimuleerd met

prolactine dan worden zij functioneel (20). Na hypofysectomie blijven niet-lytische corpora lutea bestaan, die echter geen progesteron meer produceren (130). Worden prepuberale ratten na het opwekken van een superovulatie door behandeling met PMS en HCG gehypofysectomeerd, dan neemt de functie van de corpora lutea (*in vitro* synthese van progesteron) en het gewicht van de corpora lutea af (18). Behandeling met prolactine herstelde wel de *in vitro* progesteronsynthese, maar voorkwam niet de daling van het gewicht van de corpora lutea (18).

Zoals reeds werd opgemerkt, zijn er meestal meerdere hormonen noodzakelijk voor handhaven van de functie en structuur van het corpus luteum. Dit is ook het geval bij de rat (zie 301) en in de navolgende bespreking zullen de hormonen waarvan bekend is dat zij een luteotrofe werking bezitten, behandeld worden.

1-2.3.3.2. Luteotrofe werking van prolactine.

Bij de rat is prolactine een luteotroef hormoon. Toedienen van prolactine aan gehypofysectomeerde ratten bleek de luteale functies te handhaven (194). Wanneer aan gehypofysectomeerde ratten dagelijks òf ratteprolactine òf schapeprolactine met dezelfde biologische activiteit werd gegeven, bleek dat ratteprolactine de luteale functie voor een langere tijd kon handhaven (191). Dit is wellicht te verklaren door aan te nemen dat in de ratten die met schapeprolactine behandeld werden, antilichamen tegen het schapeprolactine ontstaan.

Everett toonde aan dat na transplanteren van de hypofyse onder het nierkapsel de corpora lutea functioneel werden (94). Het functioneel zijn van de corpora lutea in deze dieren met een hypofyse-autotransplantaat werd getest door 4 dagen na het transplanteren van de hypofyse de uterus te traumatiseren. Dit leidde in vele gevallen tot het ontstaan van deciduomen in deze uteri (94). Later beschreef Everett (95) een aantal experimenten waaruit blijkt dat corpora lutea in de dieren met een hypofyse-autotransplantaat tenminste 3 maanden lang functioneel blijven. Uit deze experimenten concludeerde Everett dat het hypofysetransplantaat continu prolactine produceerde waardoor corpora lutea functioneel werden en bleven. Deze conclusie werd in

vele studies bevestigd (zie 264).

Prolactine is het enige hypofysehormoon dat in staat is de luteale activiteit in gehypofysectomeerde ratten te handhaven (72, 88). Noch LH, noch FSH, alleen of tezamen, zijn in staat de luteale functie bij de rat te onderhouden (281). Prolactine alleen is echter niet voldoende voor het in stand houden van de zwangerschap bij ratten die aan het begin van de zwangerschap gehypofysectomeerd werden; wordt naast prolactine ook oestron (of in plaats hiervan LH of FSH) gegeven, dan blijft het dier zwanger (2, 128, 190). Ook bij pseudozwangere ratten met deciduomen is gebleken dat prolactine het belangrijkste luteotrofe hormoon is; het tevens toedienen van LH of FSH kan de progesteronconcentraties in het plasma van gehypofysectomeerde ratten verhogen (301). De ultrastructuur van de cellen van functionele corpora lutea van gehypofysectomeerde ratten die met prolactine behandeld werden, lijkt sterk op die van cellen van de corpora lutea van intacte zwangere ratten (84).

Ook uit experimenten met *ergot-alkaloiden* is gebleken dat de aanwezigheid van prolactine zeer belangrijk is voor het functioneren van de corpora lutea bij de rat. Enkele ergot-alkaloiden, zoals ergotoxine, ergocornine en bromo-ergokryptine (CB 154), remmen de hypofysaire prolactine-afgifte (223, 329, 338). Een eenmalige toediening van ergotoxine voorkwam de vorming van progesteron-afhankelijke deciduomen (285). Ook is het mogelijk met ergotoxine een eind te maken aan de zwangerschap (286).

De werking van prolactine is niet volledig bekend. Bewezen is dat prolactine de activiteit van het 20α -hydroxysteroiddehydrogenase remt: chronische toediening van prolactine aan gehypofysectomeerde ratten voorkomt de inductie van dit enzym (18, 143, 173). Tot nu toe zijn vrijwel geen directe, acute werkingen van prolactine op de steroidogenese aangetoond (zie 36, 269), zoals die wel voor LH werden gevonden (16). Wel is bekend dat langdurige behandeling met prolactine de concentratie aan veresterd cholesterol in de testis van gehypofysectomeerde muizen verhoogt (29). Behrman c.s. (36) toonden aan dat prolactine in staat is hoge activiteiten van de enzymen cholesterollestersynthetase en cholesterollesterase te handhaven bij een

gehypofysectomeerde rat. Ook werd beschreven dat prolactine bij de rat de omzetting van progesteron vermindert (19). Verder heeft prolactine een effect op het metabolisme van lipiden en de vorming van cholesterolesters in het ovarium van de rat (16). Recent werd aangetoond dat prolactine het aantal receptoren voor LH op de corpora lutea van de rat doet toenemen (135, 150). Dit betekent dat prolactine het corpus luteum *gevoeliger* voor LH kan maken.

1-2.3.3.3. Luteotrofe werking van de placenta.

Bij zoogdieren ontstaat na de implantatie van de blastocyst in de uterus een placenta. De placenta bestaat uit een moederlijk en een foetaal deel (zie 153). Het moederlijk deel van de placenta wordt gevormd uit het endometrium van de uterus. Naast de inwerking van de foetale trofoblast op het endometrium van de uterus, kan een op het moederlijk deel van de placenta gelijkende structuur worden verkregen door op een geschikt tijdstip de uterus mechanisch te prikkelen (168, 182, 187). Deze structuur wordt deciduoom genoemd en kan, net als de placenta, slechts ontstaan wanneer voldoende progesteron aanwezig is.

Als de hypofyse voor de 12e dag van de zwangerschap bij de rat verwijderd wordt, dan eindigt de zwangerschap vroegtijdig; na de 12e dag is de hypofyse niet meer nodig voor de zwangerschap (238). Pencharz & Long (238) concludeerde uit deze experimenten dat de placenta de functie van de hypofyse in de 2e helft van de zwangerschap kon overnemen. Met placentaire extracten van 12 dagen oude ratten bleek het mogelijk te zijn zwangerschap te handhaven in op dag 6 van de zwangerschap gehypofysectomeerde ratten (24). De vorming van deciduomen bleek in gehypofysectomeerde ratten mogelijk te zijn wanneer de dieren dagelijks met placentair extract werden ingespoten (22). Dit betekent dat de placenta òf progesteron òf een luteotroof hormoon produceert. Daar placentaire extracten niet in staat waren deciduomen in gehypofysectomeerde, geovariectomeerde ratten te handhaven (22) moet geconcludeerd worden dat de placenta een luteotroof hormoon produceert. Dit wordt gesteund door waarnemingen van Wiest (325) dat in de placenta geen belangrijke hoeveelheid progesteron

aanwezig is. In een bio-assay voor prolactine (druivenkropassay - zie 57) werkt placentair extract op eenzelfde wijze als prolactine (257). Het placentair luteotroof hormoon bij de rat is volgens Linkie & Niswender een glycoproteïne met een molecuulgewicht van 25000 - 50000 (180). Robertson & Friesen isoleerden echter 4 eiwitten uit de ratte-placenta, die elk een prolactine-achtige werking hadden (260). Kort na de implantatie van de blastocyst in de uterus is luteotrofe werking van de placenta aantoonbaar (7, 332), en in het serum is met biologische bepalingen een maximale concentratie van het placentaire luteotrofe hormoon op dag 12 van de zwangerschap aantoonbaar (161, 201).

Het is aannemelijk dat het luteotrofe placentaire hormoon in ieder geval door het foetale deel van de placenta gesynthetiseerd wordt. Zeilmaker toonde aan dat ectopisch trofoblastweefsel van de muis luteotrofe werking bezat (341); het toedienen van ergocornine aan muizen met ectopisch trofoblastweefsel maakte geen eind aan de door het trofoblastweefsel geïnduceerde pseudozwangerschap (342). Averill c.s. (24) en Kisch & Shelesnyak (164) implanteerden het moederlijke deel van de placenta in ratten aan het begin van de zwangerschap en vonden dat deze implantaten het afbreken van de zwangerschap door hypofysectomie (24) of ergocorninebehandeling (164) verhinderden. Deze waarnemingen suggereren dat het moederlijke deel van de placenta een luteotroof hormoon produceert. Het is echter zeer moeilijk een *volledige* scheiding tussen het moederlijke en het foetale deel van de placenta van de rat te verwezenlijken, zodat niet uitgesloten kan worden dat de transplantaten van het maternale deel van de placenta verontreinigd waren met het foetale deel. Voor deze veronderstelling pleit dat het implanteren van deciduomen in ratten aan het begin van de zwangerschap niet verhinderde dat de zwangerschap door ergocorninebehandeling afgebroken werd (164). In overeenstemming hiermee vond Waynforth (312) dat het verwijderen van de foeten en het foetale deel van de placenta bij de rat het volume van de corpora lutea verminderde. Bovenstaande gegevens laten zien dat het twijfelachtig is of het moederlijke deel van de placenta in staat is de functie van de corpora lutea te handhaven. Aan de andere kant moet gesteld worden dat na de inductie van deciduomen de pseudozwangerschap

bij de rat verlengd is, en dat de mate van verlenging afhankelijk is van het aantal deciduomen (307). Ook werd aangetoond dat de maximale ovariële progesteronproductie tijdens pseudozwangerschap hoger was bij de aanwezigheid van deciduomen (142). Blijkbaar kan het moederlijke deel van de placenta wel de functie van de corpora lutea bij een intacte rat beïnvloeden. Na het toedienen van ergocornine aan pseudozwangere ratten met deciduomen werd door Kisch & Shelesnyak (164) waargenomen dat de ratten na 2 - 3 dagen ovuleerden. Gibori c.s. (117) namen echter waar dat na ergocorninebehandeling het langer duurde voordat een pro-oestrus- of oestrus-uitstrijk werd gevonden in pseudozwangere ratten met deciduomen, dan in de pseudozwangere controle-ratten. Verder bleek dat de progesteronspiegels in het plasma 24 uur na de injectie met ergocornine hoger waren in de pseudozwangere ratten met deciduomen, dan in de pseudozwangere controle-ratten. Gibori c.s. (117) concludeerden uit hun experimenten dat deciduomen een luteotrofe werking bezaten. Het is echter wel duidelijk dat deciduomen niet in staat zijn alleen de functie van de corpora lutea bij de rat te handhaven, terwijl de foetale placenta dit wel kan (164, 341, 342).

1-2.3.3.4. Luteotrofe werking van LH.

Er is experimenteel bewijs dat LH de functie van het corpus luteum bij de rat kan beïnvloeden: afhankelijk van de experimentele omstandigheid kan LH luteotroof of luteolytisch zijn (zie voor dit laatste paragraaf 2.3.4.2.).

Hypofysectomie op dag 8 of 9 van de zwangerschap veroorzaakt het afbreken van die zwangerschap. Wanneer na hypofysectomie LH wordt gegeven tot dag 12 van de zwangerschap dan blijft het dier in ieder geval tot dag 15 zwanger (9, 215). Het toedienen van een antiserum tegen LH tussen dag 7 en dag 10 van de zwangerschap veroorzaakt een sterke daling van de ovariële progesteronproductie, gevolgd door abortus (255). Bij de dieren die met antiserum tegen LH behandeld waren, eindigde de zwangerschap ook wanneer prolactine, placentaire extracten of oestrogenen gegeven werden. Progesteron kon echter het effect van de behandeling met het antiserum teniet doen. Eenmalige

behandeling met antiserum tegen LH op dag 14 van de zwangerschap heeft geen invloed op het handhaven van de zwangerschap, hoewel wel verhoogde concentraties van cholesterol en cholesterolester en een iets verlaagde productie van progesteron en 20α -dihydroprogesteron gevonden werden (216).

Recent zijn nog een aantal publicaties verschenen waarin de effecten van antiserum tegen LH op de activiteit van het corpus luteum bij zwangere en pseudozwangere ratten beschreven werden. Yoshinaga c.s. (335) beschreven dat tijdens lactatiepseudozwangerschap de ovariële progesteron- en 20α -dihydroprogesteronproductie alleen op dag 7, maar niet op dag 3 of dag 15, verminderd waren na een 2-daagse behandeling met een antiserum tegen LH. Een half uur na het toedienen van LH ($25 \mu\text{g S-14}$) werd een verhoogde afgifte van progesteron door het ovarium op dag 7 en op dag 15 gevonden (335). Het dagelijks geven van antiserum tegen LH van dag 0 tot en met dag 3 òf van dag 4 tot en met dag 7 van pseudozwangerschap of zwangerschap verhinderde de vorming van deciduomen respectievelijk het implanteren van de blastocyst (199). Wanneer naast het antiserum tegen LH dagelijks progesteron werd gegeven, werd het effect van de behandeling met het antiserum slechts gedeeltelijk voorkomen; hieruit kan geconcludeerd worden dat de "antiserumblokkade" ook na het stopzetten van de antiserumtoediening blijft bestaan (199). In tegenstelling tot het effect op de luteale functie tijdens zwangerschap, pseudozwangerschap en lactatiepseudozwangerschap, blijkt antiserum tegen LH geen effect te hebben op de luteale activiteit bij pseudozwangere, gehypofysectomeerde ratten met een hypofyse-autotransplantaat (192). Hoewel de progesteronspiegel in het serum van deze pseudozwangere ratten niet veranderde door de behandeling met het antiserum (192) bleek wel dat de hoeveelheid veresterd cholesterol in het ovarium van deze ratten afnam na behandeling met antiserum tegen LH (248).

Rothchild en medewerkers hebben nagegaan welke hormonen nodig zijn voor de functie van het corpus luteum bij de zwangere rat (213) door op verschillende dagen tijdens zwangerschap ergocornine of antiserum tegen LH te geven. Uit deze experimenten werden de volgende conclusies getrokken: tijdens de zwangerschap zijn 3 stadia in de

regulatie van de functie van het corpus luteum te onderscheiden, te weten:

1. tot en met dag 7 is prolactine het belangrijkste luteotrofe hormoon (zie ook 295);
2. van dag 7 tot dag 12 is zowel LH als placentair hormoon nodig voor de functie van het corpus luteum;
3. na dag 11 is alleen de placenta noodzakelijk voor de functie van het corpus luteum.

Ook werd door Rothchild c.s. (265) nagegaan welke hormonen nodig zijn voor het functioneren van het corpus luteum tijdens pseudo-zwangerschap. Dit bleek afhankelijk te zijn van het type pseudo-zwangerschap. Bij pseudozwangere ratten met deciduomen en bij pseudo-zwangere ratten waarbij de uterus tijdens de bestudeerde pseudo-zwangerschap verwijderd werd, blijkt voor de functie van het corpus luteum vanaf dag 8 van de pseudozwangerschap LH nodig te zijn. Tijdens een gewone pseudozwangerschap, tijdens een pseudozwangerschap in langdurig gehysterectomeerde ratten, en tijdens lactatiepseudo-zwangerschap blijken de corpora lutea geen LH nodig te hebben. Deze conclusie is gebaseerd op de waarneming dat het geven van antiserum tegen LH zelfs op dag 10 geen significant effect had op de duur van de luteale fase. Waardoor corpora lutea van de rat afhankelijk worden van LH is niet duidelijk (265).

Ford & Yoshinaga (109) bevestigden dat toedienen van een antiserum tegen LH de progesteronconcentraties tijdens de gewone pseudo-zwangerschap niet veranderde. De pseudozwangerschap, zoals die beoordeeld werd aan vagina-uitstrijkjes, bleek echter 5 dagen verlengd te zijn na de antiserumbehandeling. De progesteronconcentratie bleek echter laag te zijn tijdens deze periode van 5 dagen, zodat het gebruikte antiserum blijkbaar interfereerde met het optreden van de ovulatie (109). Dit illustreert dat gegevens van experimenten waarbij antisera ingespoten werden, uiterst voorzichtig geïnterpreteerd dienen te worden. Wanneer antiserum tegen LH aan chronisch gehysterectomeerde dieren werd gegeven op dag 14 van de pseudozwangerschap werd een duidelijke verlaging van de progesteronconcentraties in het plasma gevonden (143). Blijkbaar worden ook de corpora lutea van chronisch

gehysterectomeerde ratten afhankelijk van LH. Dit laatste werd niet door Rothchild c.s. (265) gevonden omdat zij alleen op de dagen 8, 9 of 10 van de pseudozwangerschap antiserum tegen LH gaven aan de chronisch gehysterectomeerde dieren. Daarom kan verwacht worden dat waarschijnlijk ook tijdens lactatiepseudozwangerschap de corpora lutea afhankelijk van LH worden.

1-2.3.4. Luteolyse.

1-2.3.4.1. Inleiding.

Het corpus luteum is een endocrien orgaan met een beperkte levensduur. Het beëindigen van de functie en de degeneratie van het corpus luteum wordt luteolyse genoemd. Er wordt gewoonlijk onderscheid gemaakt tussen functionele en structurele luteolyse (196). De term functionele luteolyse wordt gebruikt om aan te geven dat een verandering in het steroidmetabolisme van het corpus luteum is opgetreden, waardoor de progesteronproductie sterk verminderd is. Tijdens de functionele luteolyse bij de rat wordt een toename van de activiteit van het enzym 20α -hydroxysteroiddehydrogenase waargenomen (326). De activiteit van 20α -hydroxysteroiddehydrogenase kan op eenvoudige wijze gemeten worden door *in vitro* de omzetting van radioactief progesteron naar 20α -dihydroprogesteron te meten. De activiteit van dit enzym is daarom een goed bruikbare test voor het optreden van functionele luteolyse.

Structurele luteolyse is de morfologische regressie van de corpora lutea, en volgt na de functionele luteolyse (196). De eerste verandering die waargenomen wordt bij de structurele luteolyse is het zichtbaar worden van lipidedruppeltjes in de cellen van het corpus luteum (50). Andere veranderingen tijdens de structurele luteolyse zijn een toename van de activiteit van lysosomale enzymen (181), een zwelling van de mitochondria en regressie van glad endoplasmatisch reticulum (84, 188) in de luteale cellen. De corpora lutea worden geïnfiltrerd door macrofagen en de luteale cellen verdwijnen. De luteale cellen worden tenslotte geleidelijk vervangen door fibroblasten.

Bij de volgende bespreking zal voornamelijk aandacht geschonken worden aan de functionele luteolyse. De factoren die een rol spelen bij de functionele luteolyse zijn nog onvoldoende bekend. Wel is waarschijnlijk dat bij de rat zowel hypofyse als uterus de activiteit van de corpora lutea beïnvloeden.

1-2.3.4.2. Luteolytische werking van hormonen uit de hypofyse.

Voor het functioneren van het corpus luteum bij de rat is een vrijwel voortdurende stimulatie van luteotrofe hormonen nodig. Daarom zal een tekort aan luteotroof hormoon leiden tot het afbreken van de luteale activiteit. Echter, de hormonen met een luteotrofe werking - voornamelijk prolactine, en daarnaast LH - zijn ook aan het einde van de luteale fase nog meetbaar (111, 319, zie ook hoofdstuk 3). Dit maakt het niet aannemelijk dat luteolyse veroorzaakt wordt door het uitblijven van luteotrofe stimulatie.

Evans c.s. (87) vonden dat, indien prolactinebehandeling werd uitgesteld tot 1 of 2 dagen na hypofysectomie, prolactine niet luteotroof was, maar structurele luteolyse veroorzaakte. Hoewel het waargenomen effect werd toegeschreven aan de LH-verontreiniging in het gebruikte prolactinepreparaat (87), suggereerde Desclin (75) dat prolactine de structurele luteolyse bij de gehypofysectomeerde rat veroorzaakte. De veronderstelling van Desclin bleek juist te zijn aangezien ook luteolyse geïnduceerd kon worden met prolactinepreparaten die geen LH bevatten (191, 194). Prolactine is ook in de oestruscyclus belangrijk voor de structurele luteolyse. Er treedt namelijk geen structurele luteolyse op wanneer de prolactinepiek op de pro-oestrusdag voorkomen wordt door het toedienen van ergocornine (330). Werd prolactine gegeven aan ratten vlak na de partus dan verminderde zowel het gewicht van het ovarium als de diameter van de corpora lutea (195). Ook het zogen van jongen versnelde de structurele luteolyse bij post-partum ratten (187). Uit deze waarnemingen kan geconcludeerd worden dat prolactine onder bepaalde omstandigheden een snelle degeneratie kan bewerkstelligen van luteaal weefsel, dat op het moment van prolactinetoediening waarschijnlijk slechts weinig

progesteron produceert.

Greep c.s. (132) lieten zien dat een (ruw) LH-preparaat een snelle degeneratie van de corpora lutea veroorzaakte in de gehyposysectomeerde rat. Lactatiepseudozwangerschap en een luteale fase, welke laatste onderhouden wordt door een hypofyse-autotransplantaat, worden beide gekenmerkt door lage LH-spiegels (108, 140, 204). De verlengde luteale fase bij deze dieren kan dus het gevolg zijn van de lage LH-concentraties in het bloed. Bij een luteale fase die door een hypofyse-autotransplantaat onder het nierkapsel werd onderhouden, resulteerde een 10-daagse behandeling met LH in een verminderde grootte van de corpora lutea (264). Tevens was bij deze dieren de progesteronproductie sterk verminderd na de LH-behandeling, terwijl de 20α -dihydroprogesteronconcentratie verhoogd was (176). Het injiceren van LH een half uur vóór het verzamelen van het ovariële veneuze bloed, veroorzaakte een daling in de progesteronproductie (334). Deze experimenten laten zien dat LH onder bepaalde omstandigheden luteolytisch kan zijn.

Na een gedurende lange tijd toedienen van oxytocine of vasopressine werd structurele luteolyse opgemerkt in ratten waarbij de luteale activiteit werd gehandhaafd door een hypofyse-autotransplantaat (103, 299). Hausler & Malven (145) konden deze waarneming echter niet bevestigen, misschien doordat zij de ratten met een hypofyse-autotransplantaat slechts gedurende een korte periode met oxytocine of vasopressine behandelden. De waarnemingen van Quilligan & Rothchild (252) laten zien dat de hypofyse van groot belang is voor het proces van de luteolyse. Bij ratten die een *extra* hypofyse onder het nierkapsel hadden werd na iedere ovulatie een pseudozwangerschap vastgesteld; dit is te verklaren wanneer men bedenkt dat het hypofysetransplantaat continu prolactine produceert zodat de na de ovulatie ontstane corpora lutea geactiveerd worden door het aanwezige prolactine. De pseudozwangerschap in deze dieren duurde, ondanks een voortdurende prolactine-afgifte door het hypofysetransplantaat, 12 dagen (252). Dit betekent dat onder deze omstandigheden de hypofyse *in situ* een luteolytische werking uitoefende.

1-2.3.4.3. Luteolytische werking van de uterus.

In 1923 beschreef Loeb (186) dat het verwijderen van de uterus (hysterectomie) in een verlenging van de luteale fase bij de cavia resulteerde. Ook bij andere zoogdiersoorten werd een verlenging van de luteale fase na hysterectomie waargenomen; primaten vormen echter hierop een uitzondering (14).

Bij de rat heeft hysterectomie geen invloed op de lengte van de oestruscyclus (244), maar de duur van de pseudozwangerschap is wel verlengd na hysterectomie (14). Deze gegevens en het werk van Schomberg (271) doen veronderstellen dat de uterus een luteolytische factor produceert. De lengte van de pseudozwangerschap in gehysterectomeerde ratten werd verkort door het transplanteren van uterusweefsel, dat afkomstig was van ratten die in oestrus waren (147). Verwijderen van het endometrium uit de uterus verlengde de duur van de pseudozwangerschap (311), terwijl de duur van de pseudozwangerschap verkort was na het injiceren van suspensies (49) of extracten (77) van het endometrium. Uit deze waarnemingen kan geconcludeerd worden dat het endometrium een luteolytische factor produceert. Bij de rat is nog niet bekend welke factor dit is en op welke wijze deze factor luteolyse induceert.

In de afgelopen 7 - 8 jaar werd in toenemende mate gesuggereerd dat prostaglandines de luteolytische factor uit de uterus zouden zijn. De aanleiding hiertoe was de waarneming bij een aantal diersoorten dat na het toedienen van prostaglandines de luteale fase werd afgebroken (247). Er is bewijs dat prostaglandines betrokken zijn bij de luteolyse bij het schaap (203), de cavia (44) en het rund (245). Bij het schaap werden experimenten gedaan waaruit geconcludeerd werd dat prostaglandine $F_{2\alpha}$ een luteolytisch hormoon uit de uterus was dat *lokaal* op het ovarium zou inwerken (203). Deze lokale werking zou tot stand komen door een "countercurrent transfer mechanism" , wat inhoudt dat prostaglandine $F_{2\alpha}$ *rechtstreeks* uit de utero-ovariumvene in de ovariumarterie terecht komt. McCracken c.s. (203) kwamen o.a. tot deze hypothese omdat de ovariumarterie op het oppervlak van de utero-ovariumvene loopt en scheiding van de

ovariumarterie van de utero-ovariumvene het optreden van de regressie van het corpus luteum op het verwachte tijdstip verhindert (28). In een tweetal publicaties van Coudert en medewerkers over luteolyse bij het schaap (69, 70) werden de experimenten van McCracken c.s. (203) niet bevestigd. De resultaten van Coudert c.s. (69, 70) wijzen niet op een locale werking van de uterine luteolytische factor op het ovarium en deze auteurs twijfelen er dan ook aan dat prostaglandine $F_{2\alpha}$ een direct en lokaal luteolytische werking bij het schaap zou hebben.

Daar het toedienen van prostaglandine $F_{2\alpha}$ aan de pseudozwangere rat de pseudozwangerschap doet afbreken door een verlaging van zowel de progesteronconcentraties in het bloed als in het ovarieel veneus bloed (37, 246) zouden ook bij de rat prostaglandines uit de uterus betrokken kunnen zijn bij de luteolyse. Wanneer echter in het bloed prostaglandines gemeten werden tijdens de pseudozwangerschap, kon slechts een geringe stijging van de F prostaglandines en geen stijging van de E prostaglandines op dag 7 van pseudozwangerschap worden aangetoond (268). Werd bloed uit de uterusvene verzameld, dan werd een matige stijging van F prostaglandines, maar geen stijging van de E prostaglandines gevonden op dag 9 van pseudozwangerschap (59, 313).

Wanneer bij de rat prostaglandine $F_{2\alpha}$ hetzelfde zou zijn als de luteolytische factor uit de uterus, dan moet verwacht worden dat de luteolyse na toedienen van prostaglandine $F_{2\alpha}$ op eenzelfde wijze verloopt als die bij een onbehandeld dier. Na prostaglandine $F_{2\alpha}$ behandeling wordt een toename van de activiteit van 20α -hydroxysteroiddehydrogenase (115, 227, 300) en een vermindering van de progesteron-synthese (37, 246) gevonden. Echter, morfologisch zijn er verschillen te zien tussen corpora lutea bij de luteolyse aan het eind van de zwangerschap en de door prostaglandine $F_{2\alpha}$ geïnduceerde luteolyse (227). Verder kan verwacht worden dat, wanneer prostaglandine $F_{2\alpha}$ identiek zou zijn aan de luteolytische factor, een remmer van de prostaglandinesynthese een verlenging van de luteale fase zou bewerkstelligen. Hoewel toedienen van een prostaglandinesyntheseremmer een

zekere verlenging van de pseudozwangerschap veroorzaakte (175), werd geen verlenging gevonden zoals die in gehysterectomeerde dieren wordt waargenomen.

1-3. HET EIGEN ONDERZOEK.

Uit het voorafgaande is gebleken dat veel onderzoekers gewerkt hebben aan de regulatie van de functie van het corpus luteum. Door de cyclische veranderingen van het ovarium wijzigen ook andere organen in structuur. Hierdoor is bij de rat op vrij eenvoudige wijze goed gedefinieerd materiaal te verkrijgen en kan voorspeld worden wanneer een gebeurtenis zal plaatsvinden. Verder is van belang dat, toen ons onderzoek begon, goede en betrouwbare technieken voor de bepaling van geringe hoeveelheden hormonen beschikbaar kwamen. Dit laatste maakte het mogelijk een aantal, nog niet opgeloste, vraagstukken betreffende de regulatie van de functie van het corpus luteum bij de rat te bestuderen. Als model werd de pseudozwangere rat gekozen, aangezien de functie van het corpus luteum dan alleen door de hypofyse gereguleerd wordt, en niet, zoals bij de zwangere rat, door hypofyse en placenta. Ons onderzoek was in de eerste plaats erop gericht een goede beschrijving te geven van de veranderingen van het ovarium en van de hormoonspiegels tijdens de pseudozwangerschap (HOOFDSTUK 3). Gehoopt werd op deze manier een beter inzicht te verkrijgen inzake de regulatie van de functie van het corpus luteum en het uitblijven van ovulatie tijdens pseudozwangerschap. Verder zou een dergelijk onderzoek misschien enig inzicht kunnen verschaffen in het proces van de luteolyse. Daarom werd tevens nagegaan welke de veranderingen in de hormoonspiegels tijdens pseudozwangerschap in de gehysterectomeerde en de deciduoomdragende rat waren (HOOFDSTUK 5). Aangezien zowel hysterectomie als de inductie van de vorming van deciduomen door het traumatiseren van de uterus tot een verlengde pseudozwangerschap leiden, bieden beide laatste modellen een goede mogelijkheid de factoren te bestuderen die het verlengen van de pseudozwangerschap veroorzaken.

Bij de cyclische rat leidt het verwijderen van één ovarium tot zowel een morfologische als een functionele compensatiereactie van het achterblijvende ovarium. In HOOFDSTUK 4 worden experimenten beschreven waarbij nagegaan werd of een dergelijke reactie ook voor corpora lutea tijdens pseudozwangerschap bestaat. Hiertoe werden op verschillende dagen tijdens pseudozwangerschap corpora lutea verwijderd en werden de veranderingen in de hormoonspiegels en in de ovariummorfologie na deze operatie bestudeerd. Deze experimenten zouden derhalve nader inzicht geven in de relatie tussen hypofyse en de corpora lutea.

Cervicale stimulatie op pro-oestrus of oestrus leidt tot een stijging van de prolactineconcentraties waardoor een activatie van de pas gevormde corpora lutea plaatsvindt (295). Onder bepaalde experimentele omstandigheden is het mogelijk een uitgestelde pseudozwangerschap te induceren, waarmee bedoeld wordt dat na de stimulus niet de bestaande, maar de nog te vormen corpora lutea geactiveerd worden. Zeilmaker (340) suggereerde dat de stimulus een periode van prolactine-afgifte veroorzaakt die ongeveer 8 dagen duurt en indien nieuwe corpora lutea ontstaan in deze periode van 8 dagen, zullen deze corpora lutea door de verhoogde prolactinespiegels geactiveerd worden. Dit nu werd getoetst door de prolactinespiegels te meten bij dieren waarbij een uitgestelde pseudozwangerschap geïnduceerd werd (HOOFDSTUK 6).

Luteolyse bij de rat is een nog niet opgelost probleem. In dit verband kan een uitspraak van Young uit 1961 geciteerd worden (336): "In future studies on the duration of the functional span of corpora lutea, the possibility of luteotrophic and luteolytic mechanisms should be considered. Few problems in reproductive and clinical endocrinology seem to have been as resistant to clarification" . In HOOFDSTUK 7 zullen een aantal experimenten beschreven worden, waarbij getracht werd enkele aspecten van de luteolyse bij de rat te karakteriseren. Dit werd gedaan door pseudozwangere ratten met een aantal hormonen te behandelen, en het effect van deze hormonen op de luteale activiteit te bestuderen.

MATERIAAL EN METHODEN

In dit hoofdstuk worden de materialen en methoden, gebruikt tijdens het gehele onderzoek, beschreven. Afwijkingen of aanvullingen worden bij de desbetreffende experimenten vermeld.

2-1. Proefdieren.

De proefdieren waren $(R \times U)F_1$ bastaardratten. Zowel de R-stam als de U-stam zijn ingeteelde stammen. Dit betekent dat een orgaan van een R, U of $(R \times U)$ dier naar een $(R \times U)$ dier getransplanteerd kan worden zonder dat het orgaan afgestoten wordt. De lengte van de oestruscyclus is voornamelijk 5 dagen, met 6-daagse cycli als meest voorkomende uitzondering (275). Spontaan komen cycli van 4 dagen vrijwel niet voor. Echter na pseudozwangerschap worden vrijwel altijd 4-daagse cycli waargenomen.

De dieren werden in stallen gehouden waarin zowel temperatuur ($22 - 24^\circ \text{C}$) als verlichting (14 uur licht, 10 uur donker) automatisch geregeld werden. De dieren kregen standaard laboratoriumdieet van Hope Farms en leidingwater *ad libitum*. Vagina-uitstrijkjes werden 6 maal per week tussen 09.00 en 10.00 uur gemaakt. Alleen dieren met tenminste 2 achtereenvolgende 5-daagse cycli werden voor de proeven gebruikt.

In de meeste gevallen werd pseudozwangerschap bij een vrouwtje geïnduceerd door het vrouwtje op de avond van pro-oestrus bij een gevasectomeerd mannetje te plaatsen. Bij de rat kan op eenvoudige wijze vastgesteld worden of paring heeft plaatsgevonden, daar een deel van het ejaculaat in de vagina verhardt tot een z.g. copulatieprop (187). De volgende dag (d.i. de oestrusdag of dag 0 van de pseudozwangerschap) werd gekeken of het vrouwtje een dergelijke copulatieprop in de vagina had. In een aantal experimenten werd pseudozwangerschap geïnduceerd door elektrische stimulatie (50 Hz, 120 μA)

van de cervix uteri op de pro-oestrusmiddag en nogmaals op de oestrusmiddag. Met de laatste methode wordt in vrijwel 100% van de gevallen een pseudozwangerschap waargenomen (319). De lengte van de pseudozwangerschap werd bepaald door het aantal dagen tussen oestrus en de eerste metoestrus van de volgende cyclus te tellen. Een rat met een duidelijk verlengde di-oestrus (vagina-uitstrijkjes) werd pseudozwanger genoemd, tenzij gemeten progesteronconcentraties lieten zien dat dit niet zo was.

2-1.1. Operatieve ingrepen.

De operaties werden onder niet-steriele, doch schone omstandigheden uitgevoerd. Het instrumentarium werd voor gebruik met een 2% halamide-oplossing gereinigd. De dieren werden onder ethernarcose geopereerd.

2-1.1.1. Ovariëctomie.

Na het maken van een laterale incisie werd een ligatuur tussen het ovarium en de uterus aangebracht. Hierna werd het ovarium verwijderd. Bloeding werd tot een minimum beperkt en zorg werd gedragen de uterus niet aan te raken. Spierlaag en huid werden afzonderlijk gehecht, respectievelijk gekramd.

2-1.1.2. Het verwijderen van de laatstgevormde groep corpora lutea.

Na het maken van een laterale incisie werd de bursa ovarica geopend, waarna in het ovarium een aantal of alle corpora lutea werden gecauteriseerd met hoogfrequente stroom (gebruikt apparaat: Erbotom F₂, fabrikant: Erbe Elektromedizin, Tübingen, Duitsland). De laatstgevormde groep corpora lutea kan herkend worden door grootte, ligging aan de oppervlakte, apex folliculi en hyperaemische uiterlijk. Het aantal na de cauterisatie intact gebleven corpora lutea werd bepaald in histologische preparaten van ovaria verkregen op de eerste di-oestrusdag na pseudozwangerschap.

2-1.1.3. Hysterectomie.

Na een mediane incisie werd de uterus, inclusief de er omheen liggende bloedvaten, boven de cervix uteri afgeklemd met een arterieklem. Onder de tubae werden ligaturen aangebracht, waarna de uterus tussen de arterieklem en de ligaturen losgeknipt en verwijderd werd. Ongeveer 1 minuut later werd de arterieklem weggehaald. De gevolgde methode beperkte het bloeden tot een minimum. De spierlaag en de huid werden afzonderlijk gehecht, respectievelijk gekramd.

2-1.1.4. Hypofysectomie.

Met een Hoffman-Reiter hypofysectomie-apparaat (H. Neuman & Co., Skokie, Illinois, U.S.A.) werd de hypofyse via de gehoorgang uit de sella turcica weggezogen. Na hypofysectomie kregen de dieren fysiologische zoutoplossing te drinken. Na afloop van het experiment werd nagegaan of de hypofyse geheel verwijderd was. Hiertoe werden het schedeldak en de hersenen verwijderd. Onder een binoculaire loupe werd de sella turcica nauwkeurig geïnspecteerd op hypofyseresten. De gegevens van een dier werden niet gebruikt, indien hypofyseresten gevonden werden.

2-1.1.5. Inductie van de vorming van deciduomen.

Tussen 09.00 en 14.00 uur op dag 4 van pseudozwangerschap werden de uterushorens met een pincet over de gehele lengte gekneusd. In alle gevallen werd 4 - 7 dagen later nagegaan of deze behandeling van de uterus tot vorming van deciduomen had geleid.

2-1.1.6. Transplantatie van een hypofyse of een ovarium onder het nierkapsel.

Nadat het receptordier onder narcose was gebracht, werd een laterale incisie gemaakt. Vervolgens werd de nier voorzichtig buiten

het lichaam gebracht zonder de bloedvaten van de nier te beschadigen. Verder werd de nier voortdurend vochtig gehouden met fysiologische zoutoplossing. Nadat zij gedood was, werden van een donorrat de hypofyse of de ovaria verwijderd. Ovaria voor de transplantatie werden van 28 dagen oude ratten genomen, omdat deze ovaria na het transplanteren goed aanslaan en nog geen corpora lutea bevatten. Het ovarium werd vrijgeprepareerd van vetweefsel, bursa en tuba. Hierna werd het ovarium of de hypofyse onder het nierkapsel van de receptor gebracht met horlogemakerspincetten.

2-1.2. Het verzamelen van bloed.

Bloed werd afgenomen door de ratten, meestal tussen 09.00 en 11.00 uur, licht met ether te verdoven waarna in de orbitale plexus geprikt werd met een afgebroken haematocrietbuisje (doorsnede 1,3 - 1,4 mm). Van iedere rat werd 0,5 - 1,0 ml bloed verzameld. De bloeding werd gestopt door na het verwijderen van het haematocrietbuisje enige tijd een gaasje tegen het oog van de rat te drukken. Binnen 2 minuten na het verwijderen van het dier uit de kooi werd het bloed verzameld. Soms werd bloed verzameld na decapitatie. Door het bloed op te vangen in buisjes waaraan 1 druppel heparine (5000 eenheden/ml) was toegevoegd, werd voorkomen dat het bloed ging stollen. Het gehepariniseerde bloed werd gecentrifugeerd en het plasma werd bij -18° C bewaard. Niet-gehepariniseerd bloed werd gedurende 12 - 20 uur bij $2 - 4^{\circ}$ C bewaard.

2-1.3. Histologische procedures.

Het ovariumweefsel werd in de fixatievloeistof volgens Bouin gefixeerd. Na het inbedden in paraffine werden 10 μ m coupes gesneden. De coupes werden met haematoxyline en eosine gekleurd.

2-2. Hormoonbepalingen.

Tijdens ons onderzoek werden de volgende hormonen bepaald:

progesteron, LH, FSH, prolactine en oestradiol-17 β . Progesteron werd aanvankelijk bepaald met een competitieve eiwitbinding (121, 156), maar in een later stadium van het onderzoek werd een radio-immunologische bepaling voor progesteron gebruikt (158). De andere hormonen werden alle met een radio-immunologische bepaling gemeten. Alle monsters werden tenminste in duplo bepaald, en meestal werden verschillende volumina van een monster genomen voor de bepaling.

2-2.1. Competitieve eiwitbinding.

In het lichaam zijn steroïden meestal gebonden aan eiwitten. De interactie tussen het steroïd en het eiwit is reversibel. Belangrijk voor de binding is de specificiteit (welke steroïden worden door het eiwit gebonden?), affiniteit (bindingssterkte) en de capaciteit (aantal bindingsplaatsen) van het eiwit voor het te binden molecuul (meestal ligand genoemd). Er zijn vele methoden om de binding van steroïden aan eiwitten te meten. Hiervan zijn dialyse, elektroforese, eiwitprecipitatie en ligandprecipitatie door middel van norit of florisil voorbeelden (218).

Bij de mens komt het corticosteroidbindend globuline (CBG) voor. Dit globuline bindt niet alle steroïden in dezelfde mate (218). CBG bindt vooral corticosteroiden, progesteron en 17 α -hydroxyprogesteron. De binding tussen het CBG en het steroïd is reversibel, en Murphy c.s. (217) maakten hiervan gebruik om een bepaling voor steroïden te ontwikkelen. Het principe van deze bepaling is als volgt: Aan een constant te houden hoeveelheid CBG, dat bindingsplaatsen heeft voor een steroïd (S), wordt radioactief steroïd (S*) toegevoegd. Het zal duidelijk zijn dat maximale binding bereikt wordt wanneer alle bindingsplaatsen verzadigd zijn. Wanneer nu een toenemende hoeveelheid S wordt toegevoegd, zal de hoeveelheid S* gebonden aan het CBG, afnemen. Wanneer onder geconditioneerde omstandigheden wordt gewerkt, zal de afname van het aan CBG gebonden S* een maat zijn voor de hoeveelheid toegevoegd S. De gebonden en de niet-gebonden steroïdmoleculen worden bijvoorbeeld door eiwitprecipitatie, door dialyse of door wegvangen van het vrije steroïd met norit of florisil van elkaar

gescheiden. Door het uitzetten van de hoeveelheid gebonden S^* tegen de toegevoegde hoeveelheid S wordt een curve, zoals is weergegeven in Fig. 2-1, verkregen. Deze ijkcurve kan nu gebruikt worden om de

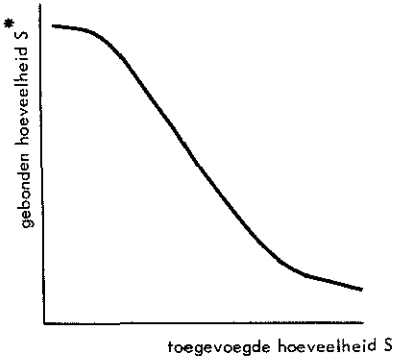


Fig. 2-1. Bindingscurve. Zie tekst voor verklaring.

hoeveelheid S in een monster te bepalen. Immers, de hoeveelheid S in dat monster zal een bepaalde hoeveelheid radioactief S^* van het CBG verdringen, en van de ijkcurve kan nu de hoeveelheid S in het betreffende monster afgelezen worden.

Een nadeel van het gebruik van CBG bij de bepaling van bijvoorbeeld progesteron is, dat CBG niet in voldoende mate specifiek is voor progesteron. Dit betekent dat na extractie van steroïden uit het biologische monster, progesteron

uit dit extract geïsoleerd dient te worden met behulp van bijvoorbeeld dunnelaagchromatografie. De door ons gevolgde methode voor de progesteronbepaling werd uitvoerig beschreven door de Jong & van der Molen (156). In Tabel 2-1 zijn gegevens over de bruikbaarheid van deze methode vermeld.

2-2.2. Radio-immunologische bepaling van steroïden en gonadotrofinen.

De radio-immunologische bepaling berust op hetzelfde principe als de competitieve eiwitbinding. Een radio-immunologische bepaling werd voor het eerst door Berson & Yalow (39) gebruikt voor het meten van insuline. In plaats van natuurlijk voorkomende eiwitten met bindende eigenschappen wordt echter gebruik gemaakt van antilichamen, opgewekt tegen steroïd-eiwitconjugaten of gonadotrofinen.

2-2.2.1. Radio-immunologische bepaling van progesteron.

Gebruik werd gemaakt van in konijnen opgewekte antilichamen

Tabel 2-1. Nauwkeurigheid, precisie en gevoeligheid van een bepaling voor progesteron met de competitieve eiwit-binding.

ng progesteron toegevoegd	ng progesteron gemeten	n	variatie-coëfficiënt ^a
0	0,2 ± 0,1 ^b	30	50,0
3	2,9 ± 0,4	6	13,8
5	5,2 ± 0,8	16	15,4
10	9,2 ± 1,4	9	15,2
15	15,1 ± 1,3	5	8,6
30	28,6 ± 2,4	12	8,4

monster	gemeten hoeveelheid progesteron (ng/ml)	n	variatie-coëfficiënt
1	15,3 ± 2,2	8	14,4
2	21,7 ± 3,0	8	13,8
3	32,5 ± 2,5	10	7,7

^a $\frac{\text{standaardafwijking}}{\text{gemeten hoeveelheid}} \times 100\%$

^b gemiddelde ± standaardafwijking

Tabel 2-2. Nauwkeurigheid, precisie en gevoeligheid van een radio-immunologische bepaling voor progesteron.

pg progesteron toegevoegd	pg progesteron gemeten	n	variatie-coëfficiënt ^a
0	7,1 ± 7,0 ^b	43	98,6
25	23,9 ± 5,0	16	20,9
50	50,6 ± 4,4	18	8,7
75	77,1 ± 9,8	21	12,6
100	102,5 ± 10,8	46	9,6

^a $\frac{\text{standaardafwijking}}{\text{gemeten hoeveelheid}} \times 100\%$

^b gemiddelde ± standaardafwijking

tegen een 11α -hydroxyprogesteronhemisuccinaat bovine serum albumine complex (158). Voor gegevens over dit antiserum en de methode van de bepaling wordt verwezen naar de publicatie van de Jong, Baird & van der Molen (158). De bruikbaarheid van de bepaling is in Tabel 2-2 vermeld. In 59 plasmamonsters werd progesteron zowel met de competitieve eiwitbinding als met de radio-immunologische methode bepaald: tussen de waarden verkregen met beide methoden blijkt een goede positieve correlatie te bestaan (Fig. 2-2). Om een indruk te krijgen

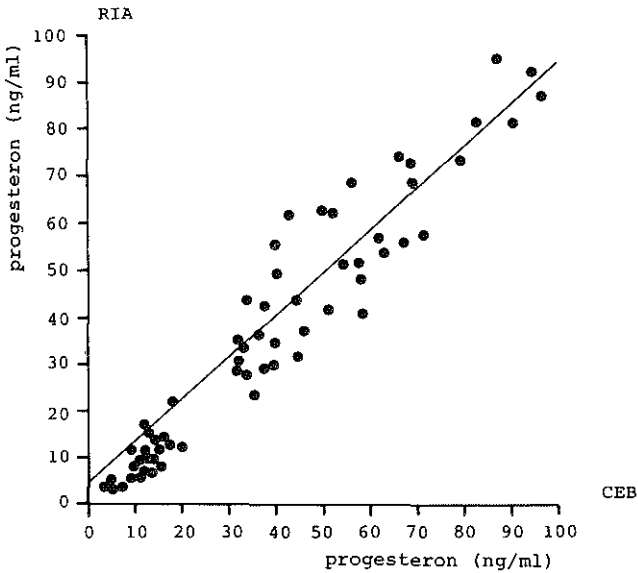


Fig. 2-2. Vergelijking tussen twee bepalingsmethoden voor progesteron (competitieve eiwit-binding -CEB- en een radio-immunologische bepaling -RIA-). In 59 monsters, verkregen van prepuberale en volwassen vrouwelijke ratten, werd progesteron bepaald met beide methoden. De regressielijn van y over x is $y = 0,90x + 4,64$. De verkregen correlatiecoëfficiënt bedraagt 0,92.

van de reproduceerbaarheid van de radio-immunologische bepaling voor progesteron werd in een serie monsters met een tussentijd van 8 maanden tweemaal progesteron bepaald. De gegevens zijn in Fig. 2-3 samengevat, en uit deze figuur blijkt dat de reproduceerbaarheid van de gebruikte methode behoorlijk is.

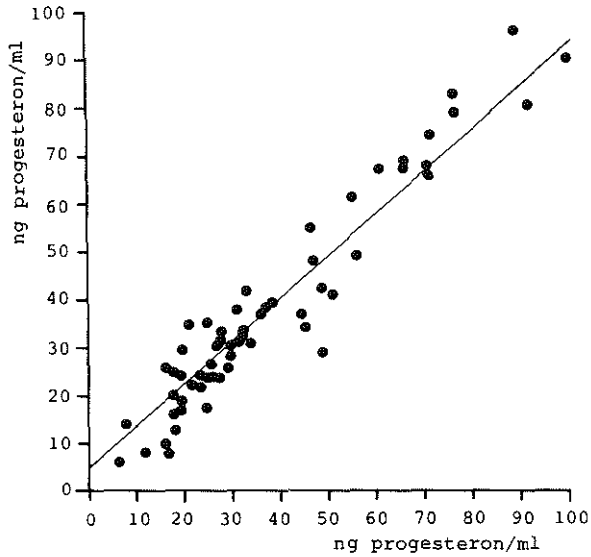


Fig. 2-3. Reproduceerbaarheid van de radio-immunologische bepaling voor progesteron. In 57 monsters werd met de radio-immunologische bepaling zowel in augustus 1973 als in april 1974 progesteron bepaald. De regressielijn van y over x is $y = 0,89x + 4,36$. De verkregen correlatiecoëfficiënt is 0,95.

2-2.2.2. Radio-immunologische bepaling van LH en FSH.

Antisera die door het immuniseren van konijnen met NIH-LH S17 en NIH-FSH S9 verkregen waren door Uilenbroek en Dullaart, werden gebruikt bij de radio-immunologische bepaling voor LH en FSH (319). NIAMDD-rat-LH I-1 en NIAMDD-rat-FSH I-1 werden volgens de methode van Greenwood c.s. (129), met enige modificaties (305), gemerkt met radio-actief jodium. Als standaarden werden NIAMDD-rat-LH RP-1 en NIAMDD-rat-FSH RP-1 gebruikt. Voor de precipitatie van het antiserum-ligand complex werd een tweede antilichaam gebruikt. De gevolgde procedure is uitvoerig beschreven door Uilenbroek (305). Voor gegevens over de bruikbaarheid van de LH- en de FSH-bepalingen wordt verwezen naar een publicatie van Welschen c.s. (319). De in dit proefschrift vermelde

gegevens voor LH en FSH werden meestal door Dr. J. Dullaart (afd. Anatomie) bepaald.

2-2.2.3. Radio-immunologische bepaling van prolactine.

Prolactineconcentraties werden bepaald volgens de methode van Kwa, van der Gugten & Verhofstad (170). Een prolactinepreparaat, geïsoleerd uit hypofysetumoren (171), werd zowel als standaard als voor de jodering gebruikt. De gevolgde procedure is uitvoerig beschreven door van der Gugten & Verstraeten (137). Gegevens over de bruikbaarheid van de prolactinebepaling zijn vermeld in Tabel 2-3.

Tabel 2-3. Nauwkeurigheid, precisie en gevoeligheid van een radio-immunologische bepaling voor ratteprolactine.

monster	gemeten hoeveelheid prolactine (ng/ml)	n	variatie-coëfficiënt ^a
1 ⁺	2,9 ± 1,1 ^b	5	37,9
2	24,0 ± 2,7	8	11,3
3	49,4 ± 2,2	8	4,5
4	84,0 ± 5,0	9	6,0
5	97,6 ± 4,6	10	4,7

⁺ serum van gehypofysectomeerde ratten

^a $\frac{\text{standaardafwijking}}{\text{gemeten hoeveelheid}} \times 100\%$

^b gemiddelde ± standaardafwijking

2-2.2.4. Radio-immunologische bepaling van oestradiol-17β.

Voor deze bepaling werd gebruik gemaakt van een antiserum, opgewekt tegen een oestradiol-17β-6-(0-carboxymethyl)-oxime bovine serum albumine complex (100). De gevolgde procedure en de bruikbaarheid werden in detail beschreven door de Jong, Hey & van der Molen (157). De in dit proefschrift vermelde oestradiolgegevens werden door

Dr. F.H. de Jong (afd. Biochemie II) bepaald.

2-3. Gebruikte statistische toetsen.

De verkregen resultaten werden met de t-test volgens Student of met de parameter vrije toets van Wilcoxon statistisch bewerkt. Verschillen tussen 2 experimentele groepen werden als significant beschouwd als de 2-zijdige overschrijdingskans $< 0,05$ was. Voor het analyseren van de gegevens over een bepaalde periode van twee experimentele groepen werd een 2-factoren variantie-analyse gebruikt.

In dit proefschrift worden de resultaten in de meeste gevallen als gemiddelden \pm standaardfouten gegeven.

HORMOONSPIEGELS EN FOLLIKELONTWIKKELING TIJDENS PSEUDOZWANGERSCHAP EN CYCLUS BIJ DE RAT*

3-1. Inleiding.

Ovulaties en bronstgedrag komen niet voor tijdens pseudozwangerschap bij de rat. Als mogelijke verklaring, stelde Everett (97) dat tijdens pseudozwangerschap de verhoogde progesteronconcentraties de tonische afgifte van gonadotrofe hormonen verminderen, waardoor ovulaties uitbleven. Een enigszins andere verklaring werd gegeven door Rothchild (263) door te stellen dat de verhoging van de perifere progesteronspiegels de pre-ovulatoire groei van follikels en de afgifte van ovulatoire hoeveelheden gonadotrofinen zou voorkomen. De veronderstelling dat tijdens pseudozwangerschap de pre-ovulatoire groei van de follikels geremd is, wordt gesteund door de waarneming dat, in vergelijking met cyclische dieren, bij pseudozwangere ratten de ovulatiereactie na toedienen van HCG verminderd is (60, 258).

Na inductie van pseudozwangerschap is een voortdurende prolactine-afgifte noodzakelijk voor het in stand houden van de progesteronproductie door het corpus luteum. Dit blijkt uit de waarneming dat een eenmalige injectie met ergotoxine, een remmer van de hypofysaire prolactine-afgifte (329, 338), de vorming van (progesteronafhankelijke) deciduomen tijdens pseudozwangerschap verhinderden (285). Werd echter prolactine overdag gemeten, dan werd slechts aan

* Dit hoofdstuk is voor het grootste deel gebaseerd op gegevens uit de volgende publicaties:

- Welschen, Osman, de Greef, Uilenbroek & de Jong. *J. Endocrinol.* 64: 37, 1975 (ref. 319);
- Meijs-Roelofs, Uilenbroek, de Greef, de Jong & Kramer. *J. Endocrinol.* 67: 275, 1975 (ref. 207);
- de Greef & Zeilmaker. *Endocrinology* 98: 305, 1976 (ref. 123).

het begin van de pseudozwangerschap een stijging van de perifere prolactinespiegels waargenomen (11, 33, 42, 254, 331).

Teneinde nader inzicht te verkrijgen in de hormonale gebeurtenissen tijdens pseudozwangerschap, werden naast de follikelontwikkeling de perifere concentraties van progesteron, LH, FSH, prolactine en oestradiol-17 β tijdens de pseudozwangerschap in de rat gemeten. Ter vergelijking werden ook de veranderingen in de concentraties van deze hormonen en de follikelontwikkeling tijdens de cyclus bepaald.

3-2. Materiaal en Methoden.

In plaats van (R x U) F₁ ratten werden bij de experimenten 1 en 2, ratten van de R-stam gebruikt. Deze ratten werden onder soortgelijke omstandigheden gehouden als de (R x U) F₁ ratten.

Experiment 1.

De gebruikte R-ratten wogen 170 - 220 gram. Pseudozwangerschap werd geïnduceerd door elektrische stimulatie van de cervix uteri. Op verschillende dagen van de pseudozwangerschap werd bloed afgenomen tussen 12.30 en 14.00 uur. Na decapitatie werden ovaria en uteri verwijderd en gewogen. Van de ovaria werden histologische preparaten gemaakt. In deze preparaten werden de diameters van de antrale follikels gemeten; hieruit werden de volumina van de antrale follikels berekend (317). Op grond van de gegevens van vagina-uitstrijk, gewicht van de uterus en ovariumhistologie werd een onderscheid gemaakt tussen dieren waarvan op pro-oestrus of oestrus aan het einde van de pseudozwangerschap of op de eerste di-oestrusdag na pseudozwangerschap bloed verzameld was. De dieren waarvan op de eerste di-oestrusdag na pseudozwangerschap bloed was afgenomen, werden niet verder beschouwd.

Als aanvulling werd ook van cyclische ratten eenmaal bloed afgenomen en wel om 14.00 uur op di-oestrus-1 (D-1), di-oestrus-2 (D-2) of di-oestrus-3 (D-3), om 12.00 of 19.00 uur op pro-oestrus (P) en om 12.00 uur op oestrus (O). Na bloed afnemen en decapitatie, werden de ovaria en uteri verwijderd en gewogen. Van de ovaria werden histologische preparaten gemaakt om hierin de volumina van de antrale follikels te meten. De op deze wijze verkregen gegevens van de oestrus-

cyclus, dienden als referentie voor die van de pseudozwangerschap.

In de verkregen bloedmonsters werd de concentratie van LH, FSH, progesteron en oestradiol-17 β bepaald. De in dit experiment gemeten hormoonspiegels tijdens de cyclus verschillen weinig van die van het meer uitgebreide experiment 2. Daarom zullen deze gegevens niet apart vermeld worden in dit hoofdstuk, maar zij zijn wel vermeld in de oorspronkelijke publicatie (319).

In een aanvullend experiment werden 15 I.U. HCG ingespoten op dag 2, 4 of 6 van pseudozwangerschap om 15.00 uur. Na 24 uur werd het aantal ova in de tuba geteld.

Experiment 2.

Tijdens verschillende dagen van de oestrus-cyclus werd bloed afgenomen om 15.00 uur, en van iedere rat werd slechts één bloedmonster verzameld. De bloedmonsters die verkregen werden tijdens di-oestrus, waren afkomstig van jonge ratten, waarvan bloed tijdens di-oestrus tussen de eerste en tweede ovulatie verzameld was. De bloedmonsters die op pro-oestrus en oestrus afgenomen werden, waren afkomstig van volwassen dieren. Op pro-oestrus en oestrus werd op verschillende uren bloed afgenomen waarbij van iedere rat éénmaal bloed afgenomen werd.

In de bloedmonsters werden de concentraties van LH, FSH, progesteron en oestradiol-17 β bepaald.

Experiment 3.

Tijdens de cyclus en de pseudozwangerschap werd van (R x U) F₁ ratten bloed verzameld op verschillende tijdstippen. Van iedere rat werd 2 tot 4 maal bloed afgenomen waarbij tenminste 1 dag verstreek tussen opeenvolgende keren bloed verzamelen. In de monsters werd prolactine bepaald.

Hoewel men zich dient te realiseren dat de gegevens afkomstig zijn van twee rattenstammen en dat de bloedmonsters niet op hetzelfde uur werden verzameld, geeft de combinatie van deze drie experimenten toch een indruk van perifere concentraties van LH, FSH, progesteron en oestradiol-17 β , en follikelontwikkeling tijdens cyclus en pseudozwangerschap van de rat.

3-3. Resultaten.

3-3.1. Prolactinespiegels in het serum tijdens cyclus en pseudozwangerschap.

Tijdens de cyclus werden, met uitzondering van de pro-oestrusmiddag, gemiddelde prolactineconcentraties van 20 - 40 ng/ml gemeten (Fig. 3-1). Op de pro-oestrusmiddag werd een stijging van de

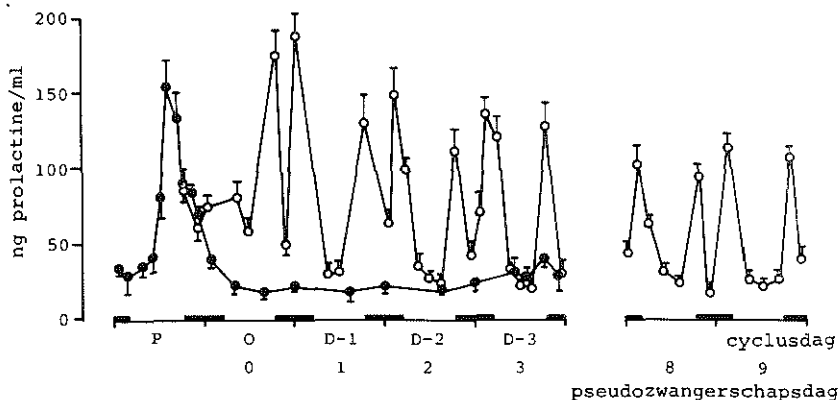


Fig. 3-1. Prolactineconcentraties in het serum van cyclische (●) en pseudozwangere (○) ratten. Het aantal dieren bedraagt 4-12. De zwarte blokken geven de donkere periode aan (19,00-05,00 uur).

prolactineconcentratie van 13.00 uur af geconstateerd en maximale waarden (155 ng/ml) werden om 15.00 uur gemeten. Op de oestrusdag bedroegen de prolactineconcentraties weer 20 - 40 ng/ml.

Na inductie van pseudozwangerschap werd de prolactinepiek op pro-oestrus gevolgd door een verhoging van prolactineconcentraties op de oestrusdag. Tijdens het verdere verloop van de pseudozwangerschap werden dagelijks twee prolactinepieken gemeten en wel één tijdens de overgang van licht naar donker (19 uur piek) en één aan het einde van de donkerperiode (3 uur piek). Ook op dag 9 werden deze prolactinepieken nog waargenomen (Fig. 3-1).

3-3.2. Progesteronspiegels in het plasma tijdens cyclus en pseudo-zwangerschap.

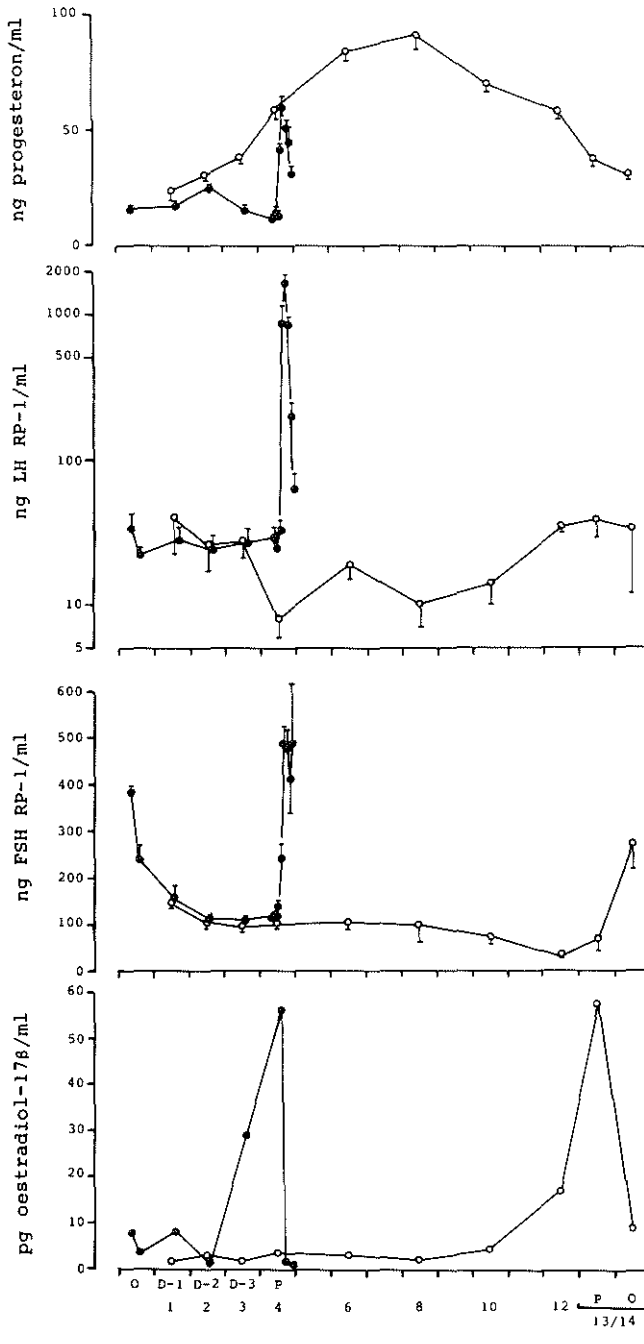
Tijdens de di-oestrusperiode in de cyclus werd tijdens de tweede di-oestrusdag een verhoogde progesteronconcentratie gemeten. Progesteronconcentraties stegen opnieuw op de pro-oestrusmiddag (Fig. 3-2).

Tijdens pseudozwangerschap werd een significante stijging vanaf dag 3 waargenomen. Op dag 6 en dag 8 werden maximale progesteronconcentraties (90 ng/ml) gemeten en na dag 8 daalden de perifere progesteronconcentraties.

3-3.3. LH- en FSH-spiegels in het serum tijdens cyclus en pseudo-zwangerschap.

Tijdens de di-oestrusperiode van de cyclus bleven de LH- en FSH-concentraties in het serum vrijwel onveranderd (Fig. 3-2). Op de pro-oestrusmiddag werd zowel een LH- als een FSH-piek gemeten. Op de oestrusochtend waren de FSH-concentraties nog verhoogd, terwijl de LH-waarden weer op het uitgangsniveau waren teruggekeerd.

Tijdens de pseudozwangerschap veranderden de LH-concentraties weinig op de dagen 1 - 3, waarna op de dagen 4 - 10 in het algemeen lagere LH-concentraties werden gevonden. Na dag 10 steeg de concentratie van het LH in serum weer. FSH-concentraties in het serum waren op dag 1 significant hoger dan gedurende de volgende dagen. Tussen dag 2 en dag 8 van de pseudozwangerschap bleven de FSH-concentraties constant, terwijl de waarden op dag 10 en dag 12 significant lager waren. Voor de kritische periode op pro-oestrus aan het einde van de pseudozwangerschap waren de FSH-spiegels gelijk aan die van de dagen 2 - 8.



cyclusdag
pseudozwanger-
schapsdag

Fig. 3-2. Concentraties van progesteron, LH, FSH en oestradiol-17 β in het bloed van cyclische (n= 5; ●—●) en pseudozwangere (n= 4-7; ○—○) ratten. Progesteron-, LH- en FSH-concentraties zijn gegeven als gemiddelden \pm standaardfout, terwijl van de oestradiolconcentraties de mediane waarden zijn vermeld. De op de oestrusdag na de pseudozwangerschap vermelde waarde van oestradiol-17 β is waarschijnlijk te hoog aangezien bij het samengevoegde bloed van vier ratten een bloedmonster van een rat in pro-oestrus gevoegd was.

3-3.4. Oestradiolspiegels in het plasma tijdens cyclus en pseudozwangerschap.

Tijdens de cyclus werden hogere oestradiolconcentraties op di-oestrus-3 en op pro-oestrus gemeten. Een waarde van ongeveer 60 pg/ml werd om 15.00 uur op de pro-oestrusmiddag gemeten, waarna een snelle daling van de oestradiolconcentraties werd gevonden (Fig. 3-2).

De oestradiolconcentraties in het plasma waren de eerste 8 tot 10 dagen van de pseudozwangerschap laag (1 - 3 pg/ml); na dag 10 stegen de concentraties en bereikten op de pro-oestrus aan het einde van de pseudozwangerschap een waarde van ongeveer 60 pg/ml.

3-3.5. Ovarium- en uterus-gewicht tijdens pseudozwangerschap.

Het gemiddelde gewicht van de ovaria veranderde niet gedurende pseudozwangerschap. Daarentegen nam het uterusgewicht van dag 1 (170 mg/100 g lichaamsgewicht) tot dag 8 (143 mg/100 g lichaamsgewicht) af. Na dag 8 nam het gewicht van de uterus weer toe.

3-3.6. Follikelontwikkeling tijdens cyclus en pseudozwangerschap.

De antrale follikels zijn in Fig. 3-3 verdeeld over de volumeklassen 200 - 499, 500 - 999 en $> 1000 \times 10^5 \mu\text{m}^3$, en worden respectievelijk als kleine, middelgrote en grote follikels aangeduid. Tijdens de cyclus nam het aantal middelgrote en grote follikels van

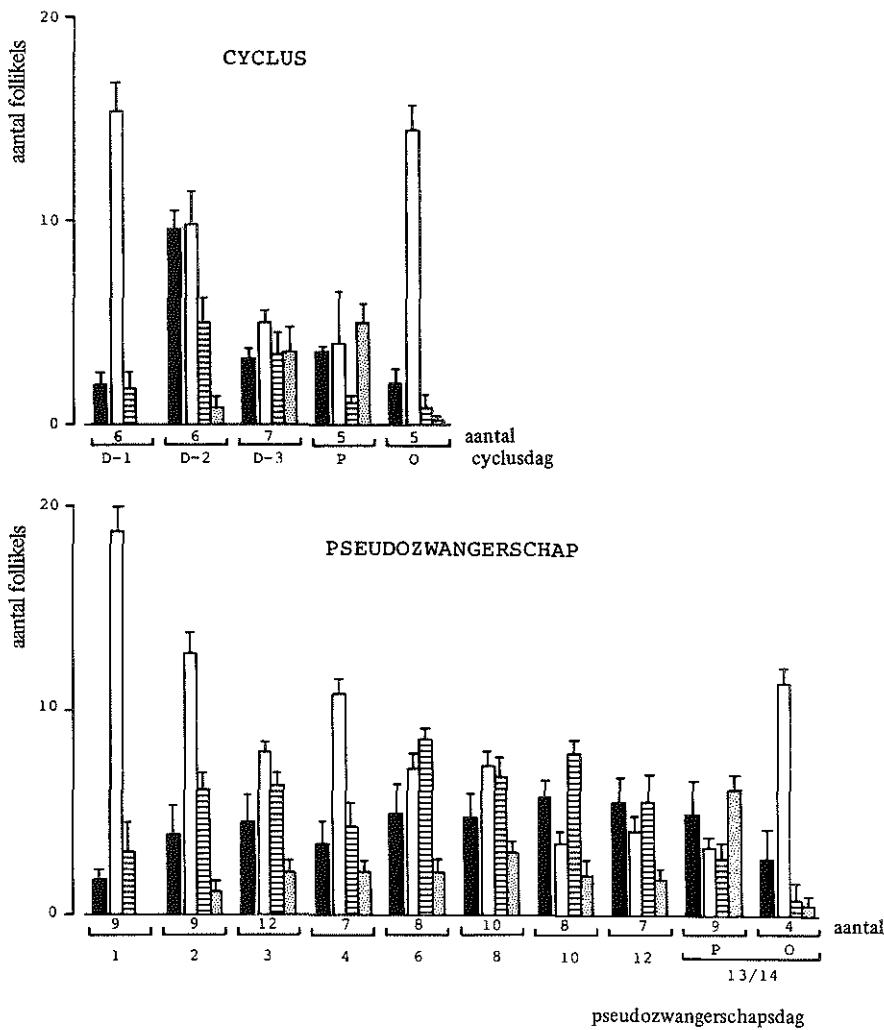


Fig.3-3. Het aantal antrale follikels in verschillende volumeklassen in het rechterovarium van de rat tijdens de 5-daagse cyclus en de pseudozwangerschap (open kolommen: $200-499 \times 10^5 \mu^3$; gestreepte kolommen: $500-999 \times 10^5 \mu^3$; gestippelde kolommen: $> 1000 \times 10^5 \mu^3$). Tevens zijn atretische follikels met een volume van $200 \times 10^5 \mu^3$ of meer aangegeven (zwarte kolommen).

oestrus tot pro-oestrus toe, terwijl in deze periode het aantal kleine follikels afneemt. Het aantal atretische follikels ($> 200 \times 10^5 \mu\text{m}^3$) was op de tweede di-oestrusdag het grootst.

Gedurende de eerste twee dagen van de pseudozwangerschap nam het aantal middelgrote en grote follikels toe. Slechts geringe veranderingen werden waargenomen van dag 3 tot dag 8 in het aantal follikels. Op de dagen 10 en 12 nam het aantal kleine follikels af. Op de pro-oestrusdag aan het einde van de pseudozwangerschap was het aantal grote follikels sterk toegenomen.

Wanneer 's middags om 15.00 uur op de dagen 2, 4 of 6 van de pseudozwangerschap 15 I.U. HCG werden toegediend, werden na 24 uur respectievelijk $6,9 \pm 0,8$ ($n = 7$; 7 van de 8 ratten ovuleerden), $4,6 \pm 0,6$ ($n = 8$; 8 van de 9 ratten ovuleerden) en $2,8 \pm 0,4$ ($n = 7$; 7 van de 10 ratten ovuleerden) eicellen in de tuba gevonden.

3-4. Discussie.

Daar de gegevens van de cyclus en de pseudozwangerschap, op de prolactine- en de follikelontwikkeling-gegevens na, niet verkregen werden in één experiment, mogen de gegevens voor cyclus en pseudozwangerschap slechts in globale zin met elkaar vergeleken worden. Onze gegevens van de hormoonspiegels tijdens de cyclus komen echter goed overeen met de gedetailleerde studies van Smith c.s. (292), Butcher c.s. (53) en Migley jr. c.s. (208).

Reeds aan het begin van de pseudozwangerschap werden twee dagelijkse prolactinepieken in het serum van de ratten waargenomen. Deze resultaten bevestigen het werk van Butcher c.s. (52) en Freeman c.s. (113) dat liet zien dat bij zwangere en pseudozwangere ratten dagelijks twee prolactinepieken aanwezig zijn. Verhoogde afgifte van prolactine aan het begin van de (pseudo)zwangerschap is zeer waarschijnlijk de stimulus voor de activatie van de corpora lutea (295). Bishop c.s. (42) en Alonso en Deis (10) vonden dat stimulatie van de cervix uteri een verhoging van de prolactineconcentraties veroorzaakte (zie ook Fig. 3-1). Nadat de nervi pelvici waren doorgesneden werd geen pseudozwangerschap meer geïnduceerd door stimulatie van

de cervix uteri (56; J. Lodder, ongepubliceerde waarnemingen), waarbij de verhoging van de prolactineconcentraties eveneens achterwege bleef (297).

De progesteronconcentraties waren vanaf dag 3 van de pseudozwangerschap significant hoger dan op de dagen 1 en 2 van de pseudozwangerschap en maximale waarden werden op dag 6 en dag 8 bereikt. Na dag 8 daalden de progesteronconcentraties geleidelijk. Door verschillende auteurs werd een dergelijk progesteronprofiel tijdens pseudozwangerschap beschreven (31, 121, 240). Uit de studie van Smith c.s. (292), waarbij aan het begin van de pseudozwangerschap iedere 2 uur bloedmonsters werden verzameld, blijkt, dat vanaf de ochtend van dag 2 van de pseudozwangerschap de progesteronspiegels in het serum stijgen.

Het uitblijven van ovulatie tijdens pseudozwangerschap zou een gevolg kunnen zijn van een door progesteron veroorzaakte verlaagde tonische gonadotrofinsecretie (97). Gedurende de eerste 8 dagen van de pseudozwangerschap verandert de FSH-concentratie evenwel niet (Fig. 3-2), maar het gevonden FSH-profiel verschilt enigszins van wat door andere auteurs werd beschreven (42, 179, 254). Echter, de beschikbare gegevens (42, 179, 254; deze studie) leveren geen overtuigend bewijs dat de FSH-concentraties de eerste 8 à 10 dagen van de pseudozwangerschap duidelijk wijzigen. Uit een aantal studies, waarbij ook onze studie, blijkt wel dat LH-concentraties enigszins verlaagd zijn wanneer progesteronconcentraties hoog zijn (33, 42, 51, 179, 211, 254). De gevonden LH- en FSH-concentraties tijdens pseudozwangerschap geven een experimentele basis aan de veronderstellingen van Everett (97) en Rothchild (263), dat tijdens pseudozwangerschap de gonadotrofinspiegels zodanig beïnvloed worden door de hoge progesteronconcentraties, dat de pre-ovulatoire groei van follikels geremd wordt en geen ovulatoire hoeveelheid LH uit de hypofyse vrijkomt.

De follikelontwikkeling gedurende de pseudozwangerschap verschilde na dag 3 met die tijdens de cyclus. Het aantal follikels in de verschillende volumeklassen bleef tijdens pseudozwangerschap relatief constant en hetzelfde werd door Greenwald (127) voor de zwangere rat gerapporteerd. Wanneer 15 I.U. HCG werden toegediend om 15.00 uur

op dag 2, 4 of 6 van de pseudozwangerschap dan werd een ovulatiereactie van respectievelijk 50, 30 of 10% gevonden. De ovulatiereactie wordt berekend door het gemiddeld aantal, na de behandeling met HCG, gevonden eicellen in de tuba te delen door het gemiddeld aantal middelgrote en grote follikels ($> 500 \times 10^5 \mu\text{m}^3$ - zie Fig. 3-3). Eenzelfde behandeling met HCG tijdens di-oestrus van de cyclus resulteert in een ovulatiereactie van 100% (317). Reeds eerder was beschreven dat, t.o.v. cyclische dieren, de ovulatiereactie na HCG-toediening tijdens pseudozwangerschap verminderd is (60, 258). Mogelijk wordt dit veroorzaakt door een onvoldoende hormonale stimulatie van de groeiende follikels. Hierbij kan gedacht worden aan de verminderde LH-secretie, maar anderzijds is het mogelijk dat de verminderde ovulatiereactie veroorzaakt wordt door de toegenomen hoeveelheid progesteron of prolactine.

Onze waarnemingen en literatuurgegevens leiden tot het navolgende beeld van de pseudozwangerschap. Na inductie van pseudozwangerschap stijgen de prolactineconcentraties, hetgeen leidt tot het activeren van de corpora lutea (zie 295). De corpora lutea gaan vanaf dag 2 van de pseudozwangerschap in toenemende mate progesteron secernereren. De toegenomen perifere progesteronconcentratie verlaagt de LH-concentratie in het serum (zie ook 125), maar heeft nauwelijks invloed op de FSH-concentratie. Door de verlaagde LH-concentratie groeien de follikels niet uit tot pre-ovulatoire follikels. Tevens is de ovulatiereactie na toediening van exogene gonadotrofinen verminderd. Daar de follikels niet uitgroeien tot pre-ovulatoire follikels, blijft de perifere oestradiolconcentratie laag, wat leidt tot een afname van het uterusgewicht. Na dag 8 dalen de progesteronspiegels door het optreden van irreversibele luteolytische processen (31). Aangezien op dag 9 het voor de pseudozwangerschap kenmerkende prolactine-afgiftepatroon nog wordt waargenomen, is het onwaarschijnlijk dat een gebrek aan prolactine luteolyse veroorzaakt. Door de daling van de progesteronspiegel neemt de LH-concentratie toe (Fig. 3-2), terwijl na dag 11 tevens beide pieken van prolactine verdwijnen (294; hoofdstuk 5). De verhoogde LH-concentraties veroorzaken een groei van de follikels, waardoor de oestradiolconcentraties stijgen. Het stijgen van de

perifere oestradiolconcentraties is de vermoedelijke oorzaak van de tijdelijke daling in de perifere FSH-concentraties. Tenslotte bereikt de concentratie van oestradiol-17 β in de circulatie een dermate hoge waarde, dat een ovulatoire hoeveelheid LH uit de hypofyse vrijkomt.

Het bovenstaande kan dienen voor het formuleren van kenmerken waaraan een rat moet voldoen om als pseudozwanger beschouwd te worden. Het meest karakteristiek zijn de veranderingen van de prolactine- en progesteronconcentraties. In de praktijk wordt echter in de meeste gevallen aangenomen, dat een rat pseudozwanger is indien een duidelijk verlengde di-oestrus, beoordeelt aan vagina-uitstrijkjes, geconstateerd wordt.

3-5. Samenvatting.

In dit hoofdstuk worden de gemeten veranderingen van de perifere hormoonconcentraties en van de follikelontwikkeling tijdens pseudozwangerschap bij de rat beschreven. Ter vergelijking werden ook cyclische ratten bestudeerd.

Pseudozwangerschap onderscheidde zich van de cyclus, door: een verlengde di-oestrusperiode, een uitblijven van pre-ovulatoire follikelgroei, verhoogde progesteronconcentraties, lage oestradiolconcentraties, lage LH- en FSH-concentraties en, tenslotte, het dagelijks optreden van twee prolactineverhogingen.

Onze waarnemingen en literatuurgegevens leidden tot het navolgende beeld van de pseudozwangerschap:

- na inductie van pseudozwangerschap ontstaat tweemaal per dag een verhoogde prolactinespiegel, en deze verhoogde prolactineconcentraties zijn de oorzaak van de hoge progesteronconcentraties tijdens pseudozwangerschap;
- de hoge progesteronconcentraties verlagen de LH-concentraties, maar hebben geen effect op de FSH-concentraties;
- door de lage LH-concentraties groeien de follikels niet uit en blijven de oestradiolconcentraties laag;
- de lage oestradiolconcentraties zijn niet voldoende voor de afgifte

van een ovulatoire hoeveelheid LH;

- na dag 8 van pseudozwangerschap dalen de progesteronconcentraties, waardoor waarschijnlijk de LH-concentraties stijgen;
- de afname van de progesteronconcentraties gaat samen met het verdwijnen van beide prolactinepieken;
- de stijging van de LH-concentraties is waarschijnlijk de oorzaak van het uitgroeien van follikels en van de stijging van de oestradiolconcentraties aan het einde van de pseudozwangerschap;
- de gestegen oestradiolconcentraties veroorzaken mogelijk de tijdelijke daling van de FSH-concentraties en zullen tenslotte in de afgifte van een ovulatoire hoeveelheid LH resulteren.

HORMOONSPIEGELS EN FOLLIKELONTWIKKELING BIJ DE PSEUDOZWANGERE RAT NA HET VERWIJDEREN VAN CORPORA LUTEA*

4-1. Inleiding.

Na het verwijderen van een ovarium uit een rat tijdens de cyclus wordt een compensatiereactie waargenomen in het overgebleven ovarium (241): het gewicht neemt toe, terwijl bij ovulatie uit het achterblijvende ovarium vrijwel hetzelfde aantal eicellen vrijkomt als eerder uit beide ovaria voor de operatie.

Ook na eenzijdige ovariëctomie tijdens pseudozwangerschap nam het achtergebleven ovarium duidelijk in gewicht toe (64). Tijdens zwangerschap leidt eenzijdige ovariëctomie binnen 5 dagen tot een toename van het aantal antrale follikels in het overgebleven ovarium, terwijl tevens bij de post-partum ovulatie een compensatoire ovulatie (10-14 ova uit één ovarium) opgemerkt werd (64). In tegenstelling tot de follikelgroei na eenzijdige ovariëctomie, bleek een uitgroei van de corpora lutea niet voor te komen (64). Een functionele compensatie van de *in situ* blijvende corpora lutea na verwijdering van een ovarium blijft echter tot de mogelijkheden behoren.

Daarom werden de veranderingen van de progesteronconcentraties in het bloed na verwijderen van corpora lutea door eenzijdige ovariëctomie of door cauterisatie op verschillende dagen van de pseudozwangerschap gemeten. Tevens werd nagegaan wat de wijzigingen van de gonadotrofinconcentraties en de follikelontwikkeling na eenzijdige ovariëctomie op dag 1 van de pseudozwangerschap waren.

*Dit hoofdstuk is gebaseerd op gegevens uit de volgende publicaties:

- de Greef & Zeilmaier. *Endocrinology* 95: 565, 1974 (ref. 121);
- de Greef, Dullaart & Zeilmaier. *J. Endocrinol.* 66: 249, 1975 (ref. 122).

4-2. Materiaal en Methoden.

4-2.1. Progesteronconcentraties in het bloed van pseudozwangere ratten en het effect van het verwijderen van corpora lutea.

Tijdens pseudozwangerschap werd eenzijdige ovariëctomie of schijnoperatie 's middags uitgevoerd. Verdere reductie van het aantal corpora lutea werd verkregen door na eenzijdige ovariëctomie een aantal corpora lutea in het ovarium *in situ* te cauteriseren.

Tijdens de pseudozwangerschap werd 3 tot 8 maal bloed verzameld van iedere rat. Per rat werd 0,5 ml bloed afgenomen en tussen opeenvolgende malen bloed verzamelen verstreek tenminste 1 dag. Op de eerste di-oestrusdag na pseudozwangerschap werden de ratten opgeofferd en de ovaria gefixeerd. In één experiment werd eenzijdige ovariëctomie of schijnoperatie op dag 0 van pseudozwangerschap verricht en van de dieren werd bloed verkregen na decapitatie op dag 5, 6, 7 of 8. In de verkregen monsters werd progesteron bepaald met een competitieve eiwitbinding. In een aanvullend experiment werd op dag 2 van de pseudozwangerschap eenzijdige ovariëctomie of cauterisatie van de corpora lutea uitgevoerd. Op dag 4 werd één uterushoorn getraumatiseerd en op dag 8 werden getraumatiseerde en niet-getraumatiseerde hoorns gewogen.

4-2.2. Gonadotrofinenspiegels en follikelontwikkeling bij de pseudozwangere rat na eenzijdige ovariëctomie.

Pseudozwangerschap werd geïnduceerd door steriele copulatie. Om 15.00 uur op dag 1 van de pseudozwangerschap werd het linkerovarium verwijderd, terwijl de controle-ratten een schijnoperatie ondergingen. Op de dagen 1-7 werd bloed verzameld en in de sera werd met behulp van radio-immunologische bepalingen de concentratie van progesteron, FSH, LH en prolactine gemeten. Van een aantal geopereerde en controle-dieren werd op dag 5 gedurende 15 minuten veneus bloed van het linkerovarium verzameld. Na verdoven met nembutal (33,3 mg/kg lichaamsgewicht) werd op de volgende wijze bloed verzameld (101): na het aan-

brengen van ligaturen om de venen van de linkerbijnier en linkernier, werd in de vena jugularis 0,2 ml heparine (5000 eenheden/ml) gespo-
ten; hierna werd een spitse glazen canule in de ovariumvene ge-
bracht, waarna het ovariële bloed opgevangen werd in een gekoeld
buisje; tijdens de canulatieperiode werd het dier op temperatuur
gehouden met een infraroodlamp, terwijl het dier tevens afgedekt
werd met gaasjes die vochtig gehouden werden met fysiologische zout-
oplossing. In deze monsters werd progesteron bepaald. In een aanvul-
lend experiment werd 24, 48 of 72 uur na eenzijdige ovariëctomie
of schijnoperatie het rechterovarium verwijderd en gefixeerd. Het
aantal en de grootte van de antrale follikels in deze ovaria werd
bepaald in histologische preparaten. Een aantal ratten werd 24, 48
of 72 uur na de operatie op dag 1 behandeld met 15 I.U. HCG. De
volgende dag werd het aantal eicellen in de tuba geteld.

4-3. Resultaten.

4-3.1. Progesteronconcentraties in het bloed van pseudozwangere rat-
ten en het effect van het verwijderen van luteaal weefsel.

4-3.1.1. Progesteronconcentraties in het bloed tijdens pseudo-
zwangerschap.

De lengte van de pseudozwangerschap was na cervicale stimulatie
14,3 \pm 0,4 dagen en na steriele copulatie 14,5 \pm 0,3 dagen. Uit Fig.
4-1 blijkt dat zowel cervicale stimulatie als steriele copulatie
leiden tot een identiek progesteronprofiel tijdens pseudozwanger-
schap. Daarom werden de gegevens verkregen met beide methoden van
pseudozwangerschapsinductie gecombineerd in de navolgende experi-
menten.

4-3.1.2. Progesteronconcentraties in het bloed na eenzijdige ovariëc-
tomie op dag 0, 3 of 8 van de pseudozwangerschap.

Na eenzijdige ovariëctomie op dag 0 van de pseudozwangerschap

Tabel 4-1. Het aantal en de diameters van de corpora lutea en de gemiddelde lengte van de pseudozwangerschap na eenzijdige ovariëctomie op dag 0, 3 of 8 van pseudozwangerschap.

behandeling	lengte van de pseudo-zwangerschap in dagen	aantal corpora lutea	diameter van de corpora lutea (in mm)	aantal dieren
geen	14,6 ± 0,3	12,4 ± 0,5	1,12 ± 0,01 ⁺	10
eenzijdige ovariëctomie op dag:				
0	13,5 ± 0,2	6,3 ± 0,4	1,17 ± 0,02	9
3	14,3 ± 0,3	6,9 ± 0,3	1,11 ± 0,02	9
8	14,0 ± 0,3	7,0 ± 0,9	1,14 ± 0,03	5

⁺ de diameters van de corpora lutea werden gemeten op de eerste dioestrusdag na de pseudozwangerschap

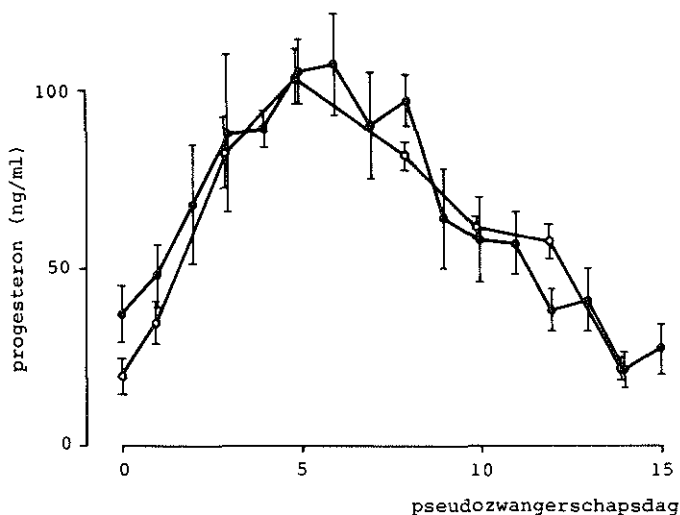
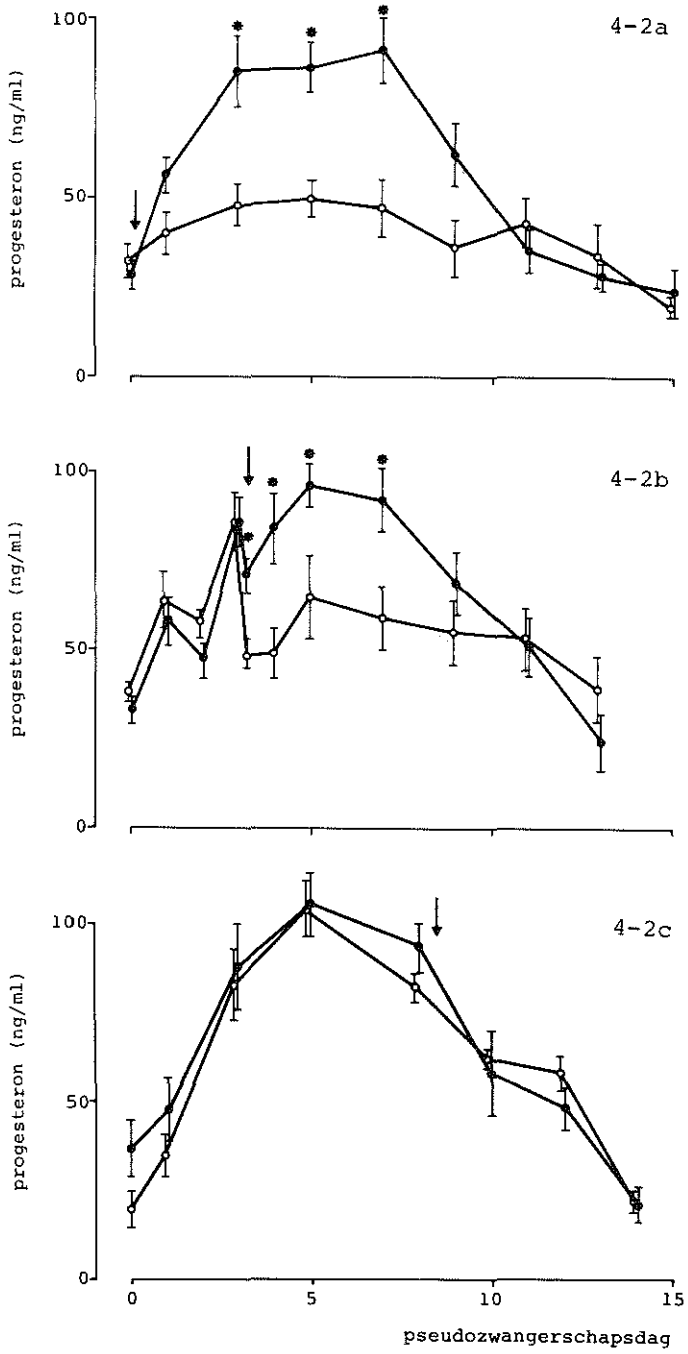


Fig. 4-1. Progesteronconcentraties in het bloed van pseudozwangere ratten. Pseudozwangerschap werd geïnduceerd door steriele copulatie (n= 10; ●—●) of door stimulatie van de cervix uteri (n= 5; ○—○).

werden lagere progesteronconcentraties gemeten dan bij de controle-dieren (Fig. 4-2a). Het verwijderen van één ovarium op dag 3 leidde binnen enkele uren tot een significante daling van de progesteronconcentraties, terwijl ook op de pseudozwangerschapsdagen 4, 5 en 7 lagere progesteronconcentraties gevonden werden (Fig. 4-2b). Na eenzijdige ovariëctomie op dag 8 werden geen verschillen tussen de progesteronconcentraties van geopereerde dieren en controledieren gevonden (Fig. 4-2c). Uit Tabel 4-1 blijkt dat eenzijdige ovariëctomie vrijwel geen effect heeft op de lengte van de pseudozwangerschap en op de maximale diameter van de corpora lutea.

Fig. 4-2. Progesteronconcentraties in het bloed van pseudozwangere ratten na eenzijdige ovariëctomie (○—○) of schijn-operatie (●—●) op de middag van dag 0 (Fig. 4-2a; n= 9), van dag 3 (Fig. 4-2b; n= 9) of van dag 8 (Fig. 4-2c; n= 6) van pseudozwangerschap. De pijl geeft het tijdstip van operatie aan.

* Deze waarden zijn significant verschillend van die van dieren met één ovarium.



De gemiddelde progesteronconcentraties gemeten in bloedmonsters verkregen na decapitatie op dag 5, 6, 7 of 8 van de pseudozwangerschap zijn weergegeven in Tabel 4-2. Het vergelijken van Fig. 4-2a en Tabel 4-2 laat zien dat na beide manieren van bloed verzamelen gelijke progesteronconcentraties werden gemeten. Geconcludeerd kan worden dat blijkbaar het meerdere malen bloed verzamelen van één dier geen invloed heeft op de progesteronconcentratie in het bloed.

Tabel 4-2. Progesteronconcentraties in bloed verkregen na decapitatie van pseudozwangere ratten. De ratten hadden op dag 0 van de pseudozwangerschap een eenzijdige ovariëctomie of een schijn-operatie ondergaan.

behandeling op dag 0	aantal dieren	progesteronconcentraties (ng/ml bloed) op dag:			
		5	6	7	8
schijn- operatie	6 ⁺	78 ± 10	88 ± 3	79 ± 7	58 ± 4
eenzijdige ovariëctomie	8 ⁺	38 ± 5 ^a	52 ± 4 ^a	43 ± 8 ^b	42 ± 5

⁺ aantal dieren dat iedere dag opgeofferd werd

^{a,b} significant verschillend van de controle-dieren (a: P < 0,005; b: P < 0,01)

4-3.1.3. Progesteronconcentraties in het bloed na cauterisatie van corpora lutea op dag 1 of dag 2 van pseudozwangerschap.

Cauterisatie van corpora lutea op dag 1 van pseudozwangerschap.

In 4 ratten bleef slechts één corpus luteum intact, en in deze ratten eindigde pseudozwangerschap. Na een door deze ingreep veroorzaakte oestruscyclus van 5 dagen werd in deze ratten een uitgestelde pseudozwangerschap* met een lengte van 9,8 ± 0,8 dagen geconstateerd. In 11 dieren bleven 2 corpora lutea intact na cauterisatie. In 6 van

*Zie ook hoofdstuk 1 en hoofdstuk 6.

deze ratten werd de pseudozwangerschap door de operatie afgebroken en ook in deze dieren werd een uitgestelde pseudozwangerschap met een lengte van $9,8 \pm 1,0$ dagen vastgesteld. Tijdens de uitgestelde pseudozwangerschap werd op de dagen 4, 5 en 6 bloed afgenomen. De op deze dagen gemeten progesteronconcentraties waren respectievelijk 63 ± 6 , 68 ± 5 en 39 ± 10 ng/ml ($n = 6$). Na afloop van de uitgestelde pseudozwangerschap werden $11,0 \pm 0,7$ corpora lutea in het overgebleven ovarium geteld, hetgeen op een compensatoire ovulatie wijst. Wanneer tenminste 3 corpora lutea intact gelaten werden na cauterisatie bleven de dieren pseudozwanger. De gegevens van dit experiment zijn vermeld in Tabel 4-3. Uit Tabel 4-3 blijkt dat het verwijderen van corpora lutea tot een verlaagde progesteronconcentratie gedurende pseudozwangerschap leidt en dat de duur van de pseudozwangerschap, zoals beoordeeld werd aan vagina-uitstrijkjes, bij de dieren met 2 - 4 intacte corpora lutea enigszins verkort was.

Cauterisatie van corpora lutea op dag 2 van pseudozwangerschap.

Bij 10 ratten werd één corpus luteum intact gelaten na cauterisatie; hierdoor eindigde bij 9 ratten de pseudozwangerschap, en na de door de operatie geïnduceerde oestruscyclus werd bij 7 van deze 9 ratten een uitgestelde pseudozwangerschap (lengte $9,5 \pm 1,0$ dagen) geconstateerd. Van 6 ratten bleven 2 corpora lutea intact. Bij 2 van deze 6 ratten eindigde pseudozwangerschap en werd een uitgestelde pseudozwangerschap met een lengte van respectievelijk 10 en 11 dagen waargenomen. Na de uitgestelde pseudozwangerschap werden $12,1 \pm 1,3$ corpora lutea ($n = 9$) geteld in het overgebleven ovarium.

Zonder uitzondering werd pseudozwangerschap voltooid bij dieren die 3 of 4 intacte corpora lutea hadden. De gegevens van dit experiment zijn vermeld in Tabel 4-4. Ook bij dit experiment bleek dat tijdens pseudozwangerschap de progesteronconcentraties in het bloed verlaagd waren na cauterisatie. Verder blijkt uit deze tabel dat de duur van de pseudozwangerschap iets verkort was in de dieren met 2 of 3 intacte corpora lutea. Uit de gegevens over de diameters van de corpora lutea (zie Tabel 4-3 en Tabel 4-4) blijkt dat na cauterisatie de overgebleven corpora lutea niet groter werden. Tabel 4-5 laat zien dat naast de progesteronconcentraties in het bloed ook de gewichten van deciduomenbevattende uterusuhoorns proportioneel zijn met het aantal

Tabel 4-3. Lengte van de pseudozwangerschap, maximale diameters van de corpora lutea en progesteronconcentraties in het bloed tijdens pseudozwangerschap na verwijdering van corpora lutea op dag 1 van pseudozwangerschap.

aantal intacte corpora lutea	aantal dieren	progesteronconcentraties (ng/ml) op dag:					lengte van de pseudozwangerschap in dagen	diameter van de corpora lutea (in mm)
		4	5	6	7	8		
2	5 [†]	19 ± 1	22 ± 2	27 ± 2	25 ± 3	21 ± 2	11,4 ± 0,5 ^c	1,16 ± 0,03 [†]
3	7	26 ± 3 ^b	32 ± 4 ^b	34 ± 3	28 ± 3	24 ± 4	12,3 ± 0,6 ^d	1,19 ± 0,04
4	4	34 ± 2 ^a	37 ± 2 ^a	34 ± 3	32 ± 2	28 ± 1 ^b	12,7 ± 0,3	1,09 ± 0,07
5	2	-	43 ± 5	59 ± 5	47 ± 1	33 ± 1	13,5 ± 0,7	1,13 ± 0,02
12,8 ± 0,6 ^{††}	4	62 ± 6 ^a	69 ± 5 ^a	83 ± 5 ^a	89 ± 10 ^a	67 ± 8 ^a	14,0 ± 0,4	1,09 ± 0,02

[†] de diameters van de corpora lutea werden gemeten op de eerste dioestrus dag na de pseudozwangerschap

[†] in zes andere dieren met twee corpora lutea eindigde de pseudozwangerschap

^{††} controle-dieren

^{a,b} significant verschillend van dieren met twee corpora lutea (a: P < 0,005; b: P < 0,01)

^{c,d} significant verschillend van de controle-dieren (c: P < 0,025; d: P < 0,05)

Tabel 4-4. Lengte van de pseudozwangerschap, maximale diameters van de corpora lutea en progesteronconcentraties in het bloed tijdens pseudozwangerschap na verwijdering van corpora lutea op dag 2 van pseudozwangerschap.

aantal intacte corpora lutea	aantal dieren	progesteronconcentraties (ng/ml) op dag:			lengte van de pseudozwangerschap in dagen	diameter van de corpora lutea (in mm)
		4	5	6		
2	4 [†]	24 ± 1	26 ± 2	26 ± 1	11,5 ± 0,8 ^b	1,13 ± 0,04 [†]
3	7	35 ± 2 ^a	36 ± 2 ^a	35 ± 2 ^a	11,2 ± 0,6 ^b	1,21 ± 0,04
4	2	43 ± 5	45 ± 10	48 ± 4	12,5 ± 0,7	1,16 ± 0,03
13,1 ± 0,4 ^{††}	5	79 ± 5 ^a	85 ± 9 ^a	86 ± 8 ^a	13,4 ± 0,2	1,12 ± 0,02

[†] de diameters van de corpora lutea werden gemeten op de eerste dioestrusdag na de pseudozwangerschap

[†] in twee andere dieren met twee corpora lutea eindigde de pseudozwangerschap

^{††} controle-dieren

^a significant verschillend van dieren met twee corpora lutea (P < 0,005)

^b significant verschillend van de controle-dieren (P < 0,01)

Tabel 4-5. Het gewicht van getraumatiseerde uterushoorns op dag 8 na verwijdering van corpora lutea op dag 2 van pseudozwangerschap.

behandeling op dag 2	aantal dieren	aantal intacte corpora lutea	uterusgewicht in mg	
			getraumatiseerde hoorn	controle hoorn
cauterisatie	7	3	288 ± 17	159 ± 6
eenzijdige ovariëctomie	10	6,7 ± 0,4	418 ± 14 [†]	151 ± 6
schijnoperatie	13	13,2 ± 0,5	589 ± 34 [†]	147 ± 6

[†] significant verschillend van dieren met drie corpora lutea (P < 0,005)

corpora lutea.

4-3.2. Gonadotrofinconcentraties in het serum van de pseudozwangere ratten en follikelontwikkeling tijdens pseudozwangerschap na eenzijdige ovariëctomie op dag 1.

Van pseudozwangere ratten werd op dag 1 van de pseudozwangerschap één ovarium verwijderd. De controle-dieren ondergingen op dag 1 een schijnoperatie. De lengte van pseudozwangerschap was 14,9 ± 0,3 dagen bij de controle-ratten en 13,5 ± 0,5 dagen bij de dieren met één ovarium. Het aantal nieuw gevormde corpora lutea na pseudozwangerschap was respectievelijk 12,4 ± 1,4 en 12,7 ± 1,2.

Progesteronconcentraties in het serum van de pseudozwangere ratten zijn in Fig. 4-3 vermeld. Weer bleek dat na eenzijdige ovariëctomie lagere progesteronconcentraties aanwezig waren. De op dag 5 van pseudozwangerschap gemeten progesteronafgifte door het linkerovarium was significant hoger bij dieren met één ovarium (15,0 ± 0,89 µg/uur/ovarium; n = 6) dan bij de controle-dieren (12,5 ± 0,48 µg/uur/ovarium; n = 6). Tussen beide groepen dieren bestond geen verschil in de hoeveelheid bloed, verzameld uit de ovariumvene (8,7 ± 1,3 ml/uur, respectievelijk 6,9 ± 1,7 ml/uur).

De LH-concentraties in het serum van dieren met één ovarium waren

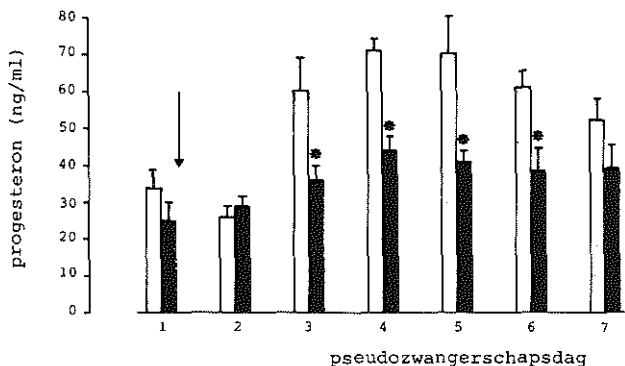


Fig. 4-3. Progesteronconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten na eenzijdige ovariëctomie (n=6; zwarte kolommen) of schijn-operatie (n=5; open kolommen) op dag 1 van pseudozwangerschap. De pijl geeft het tijdstip van operatie aan (15.00 uur). Van de ratten werd tussen 10.00 en 11.00 uur bloed afgenomen. * Deze waarden zijn significant verschillend van die van de controle-dieren (dag 3: $P < 0,05$; dag 4: $P < 0,005$; dag 5 en 6: $P < 0,025$).

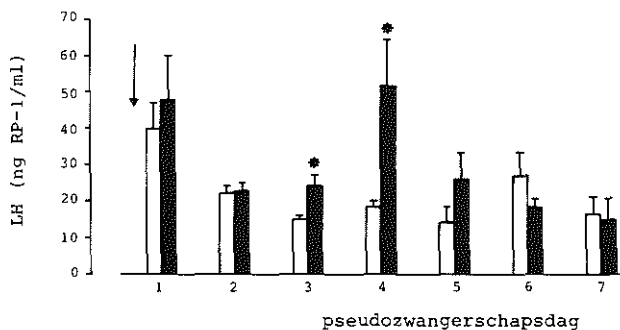


Fig. 4-4. LH-concentraties in het serum van pseudozwangere ratten na eenzijdige ovariëctomie (n= 6, op dag 4 n= 10; zwarte kolommen) of schijn-operatie (n= 5, op dag 4 n= 10; open kolommen) op dag 1 van pseudozwangerschap. De pijl geeft het tijdstip van operatie aan (15.00 uur). Op dag 1 werd om 20.00 uur bloed afgenomen, terwijl op de andere dagen tussen 10.00 en 11.00 uur bloed verzameld werd. * Deze waarden zijn significant verschillend van die van de controle-dieren (dag 3 en 4: $P < 0,025$).

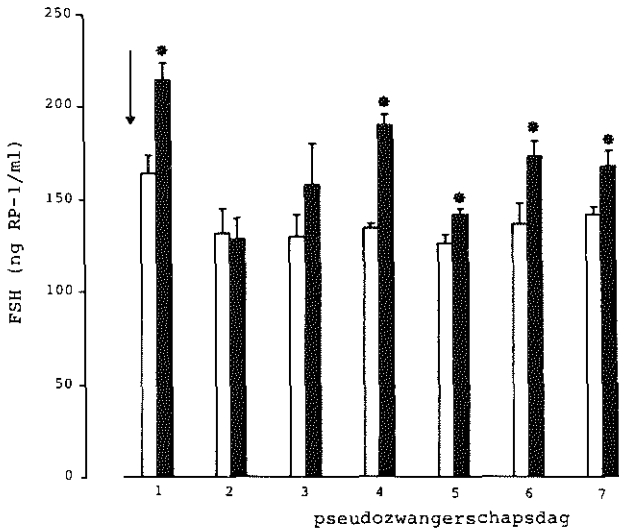


Fig. 4-5. FSH-concentraties in het serum van pseudozwangere ratten na eenzijdige ovariëctomie (n= 6, op dag 4 n= 10; zwarte kolommen) of schijn-operatie (n= 5, op dag 4 n= 10; open kolommen) op dag 1 van pseudozwangerschap. De pijl geeft het tijdstip van operatie aan (15.00 uur). Op dag 1 werd om 20.00 uur bloed afgenomen, terwijl op de andere dagen tussen 10.00 en 11.00 uur bloed verzameld werd.

*Deze waarden zijn significant verschillend van die van de controle-dieren (dag 1 en 4: $P < 0,005$; dag 5: $P < 0,025$; dag 6 en 7: $P < 0,05$).

op de dagen 3 en 4 van pseudozwangerschap hoger dan in controle-dieren (Fig. 4-4). Vijf uur na het verwijderen van één ovarium werd een stijging van de FSH-concentraties in het serum waargenomen (Fig. 4-5). Ook op de dagen 4-7 van pseudozwangerschap bleken de FSH-concentraties in het serum van pseudozwangere ratten met één ovarium hoger te zijn. Het verwijderen van één ovarium tijdens pseudozwangerschap leidde tot een geringe verhoging van de prolactineconcentraties 18 en 36 na de operatie (Fig. 4-6).

De verdeling van het aantal antrale follikels over drie volume-klassen en de ovulatiereactie na het toedienen van 15 I.U. HCG zijn weergegeven in Tabel 4-6. Uit deze tabel blijkt dat reeds 24 uur na het verwijderen van één ovarium het aantal middelgrote follikels in het overgebleven ovarium was toegenomen. Verder geeft deze tabel weer,

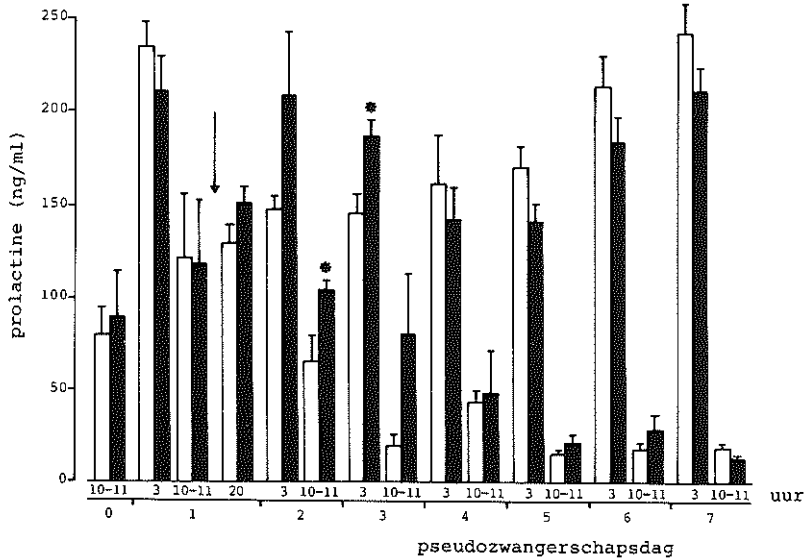


Fig. 4-6. Prolactineconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten na eenzijdige ovariëctomie (n= 6; zwarte kolommen) of schijn-operatie (n= 5; open kolommen) op dag 1 van pseudozwangerschap. De pijl geeft het tijdstip van operatie aan (15.00 uur). Het tijdstip van bloed afnemen is onder de kolommen aangegeven. *Deze waarden zijn significant verschillend van die van de controle-dieren (dag 2: P < 0,025; dag 3: P < 0,05).

dat door het toedienen van HCG eenzelfde ovulatiereactie werd teweeggebracht in beide groepen dieren.

4-4. Discussie.

Het is duidelijk dat een reductie van het aantal corpora lutea tijdens pseudozwangerschap tot een daling van de progesteronconcentraties in het bloed leidt. In een tweetal publicaties (81, 226) werd onlangs bevestigd dat de progesteronconcentratie in het bloed afhangt van de hoeveelheid aanwezig luteaal weefsel. Onze waarneming dat eenzijdige ovariëctomie op dag 0, 1 of 3 van de pseudozwangerschap tot een verlaagde progesteronconcentratie leidt, houdt in, dat

Tabel 4-6. Het aantal follikels aanwezig in verschillende volumeklassen in het rechterovarium en de ovulatie-reactie na het toedienen van 15 IU HCG op dag 2, 3 of 4 van pseudozwangerschap aan ratten die op dag 1 van pseudozwangerschap een eenzijdige ovariëctomie of een schijn-operatie hadden ondergaan.

behandeling op dag 1	dag van de pseudozwangerschap	aantal follikels in de volumeklasse ($\mu\text{m}^3 \times 10^5$)			aantal eicellen na behandeling met 15 IU HCG
		200-499	500-999	> 1000	
eenzijdige ovariëctomie	2	16,0 \pm 1,4	8,0 \pm 0,7 [†]	- (5) [†]	3,1 \pm 0,6 (7)
	3	8,8 \pm 0,4	10,4 \pm 0,6 ^{††}	0,8 \pm 0,3 (5)	3,5 \pm 1,0 (6)
	4	7,8 \pm 1,8	9,8 \pm 0,8 ^{††}	1,6 \pm 0,9 (5)	1,7 \pm 0,6 (6)
schijn- operatie	2	14,3 \pm 2,2	5,3 \pm 0,7	- (4)	4,6 \pm 0,9 (7)
	3	10,5 \pm 1,1	5,8 \pm 0,4	0,3 \pm 0,2 (5)	3,2 \pm 1,1 (6)
	4	9,0 \pm 0,6	5,3 \pm 0,3	0,3 \pm 0,1 (5)	1,7 \pm 0,6 (6)

^{†,††}
significant verschillend van controle-dieren (†: P < 0,05; ††: P < 0,005)

[†] aantal dieren

de overgebleven corpora lutea niet of nauwelijks reageren met een verhoogde progesteronproductie.

De overgebleven corpora lutea vertonen dus vrijwel geen functionele compensatiereactie. Deze conclusie is gebaseerd op de veronderstelling dat de progesteronconcentraties in het bloed een goede maat vormen voor de luteale progesteronproductie. Een tweetal argumenten pleiten vóór deze veronderstelling: 1) na eenzijdige ovariëctomie op dag 0 of dag 1 van pseudozwangerschap is de progesteronconcentratie in het serum 60% van die van de controledieren; in op dag 5 verzameld ovariëel veneus bloed blijkt de *totale* progesteronproductie in de experimentele dieren 60% te zijn van die in controledieren; 2) verder is gebleken dat de verdwijningssnelheid van progesteron uit het bloed van de rat onafhankelijk is van de endocriene toestand van de rat (239). Derhalve lijkt de conclusie gerechtvaardigd dat eenzijdige ovariëctomie niet tot een functionele compensatiereactie van de overgebleven corpora lutea leidt. De Tabellen 4-1, 4-3 en 4-4 bevestigen de waarneming van Chatterjee en Greenwald (64), dat eenzijdige ovariëctomie of cauterisatie van een aantal corpora lutea evenmin tot een morfologische compensatiereactie van de overgebleven corpora lutea leidt.

Na het verwijderen van één ovarium op dag 8 van de pseudozwangerschap werd geen daling van de progesteronconcentraties in het bloed waargenomen. Hieruit zou geconcludeerd kunnen worden dat de progesteronproductie door de corpora lutea in de dieren met één ovarium verhoogd zou zijn. Er zijn echter enige aanwijzingen dat de bijnier aan het eind van de pseudozwangerschap aanzienlijk bijdraagt aan de progesteronconcentraties in het bloed (31). Na het verwijderen van de bijnieren op dag 8 van pseudozwangerschap werden lagere progesteronconcentraties in het plasma waargenomen dan bij de controledieren, maar de duur van de pseudozwangerschap veranderde niet (de Greef, ongepubliceerde waarneming).

Werd slechts één corpus luteum intact gelaten dan werd in 93% van de dieren (n = 14) de pseudozwangerschap onderbroken. Wanneer na cauterisatie 2 intacte corpora lutea overbleven eindigde in 47% van de dieren (n = 17) de pseudozwangerschap, terwijl alle dieren met

3 of meer corpora lutea pseudozwanger bleven. Ook voor zwangere ratten werd beschreven dat tenminste 2 - 3 corpora lutea nodig zijn voor het in stand houden van de zwangerschap (162, 167). Smalstig c.s. (291) rapporteerden dat tenminste 7 - 10 corpora lutea nodig waren om de pseudozwangerschap in de rat te laten voortduren. De verschillen tussen onze waarnemingen en die van Smalstig c.s. berusten waarschijnlijk op verschillen in de methode om de corpora lutea te verwijderen: Smalstig c.s. onderbroken gedurende enige tijd de bloedtoevoer naar het ovarium om de corpora lutea uit het ovarium te kunnen knippen.

Ondanks de lage progesteronconcentraties bleek, dat de di-oestrusperiode aanhield bij de dieren die tenminste 2 - 3 corpora lutea hadden. Hieruit blijkt, dat de hoogte van de progesteronconcentratie in het bloed niet de belangrijkste factor is die de lengte van de pseudozwangerschap bepaalt. In onze studie bleek, dat eenzijdige ovariëctomie aan het begin van pseudozwangerschap geen effect had op de lengte van de pseudozwangerschap. Daarentegen rapporteerden Chatterjee & Harper (63) dat pseudozwangerschap eindigde na eenzijdige ovariëctomie aan het begin van een door reserpine geïnduceerde pseudozwangerschap. Dit berust waarschijnlijk op het feit dat er verschillen bestaan tussen pseudozwangerschappen die door cervixstimulatie of door reserpinebehandeling geïnduceerd worden (165).

Na het verwijderen van een aantal corpora lutea werd geen compensatiereactie van de overgebleven corpora lutea opgemerkt. Het uitblijven van een reactie betekent dat óf de progesteronproductie van achterblijvende corpora lutea niet of nauwelijks toeneemt óf dat na het verwijderen van een aantal corpora lutea een toename van de gonadotrofe stimulatie achterwege blijft. Uit het experiment beschreven in paragraaf 4-3.2. blijkt dat na eenzijdige ovariëctomie de concentratie van hypofysaire hormonen in het serum toeneemt. Hieruit kan geconcludeerd worden dat, ondanks een verhoging van de gonadotrofinen in het bloed, de activiteit van de corpora lutea slechts in geringe mate verhoogd kan worden tijdens pseudozwangerschap.

Het verwijderen van één ovarium veroorzaakt een stijging van de LH- en FSH-concentraties in het serum. Tijdens de oestruscyclus van de rat hebben een aantal auteurs óf met een biologische bepaling (38, 243) óf met een radio-immunologische bepaling (151, 256, 318) LH-

en FSH-concentraties gemeten na eenzijdige ovariëctomie. Uit deze metingen kan geconcludeerd worden dat vooral de FSH-concentraties in het serum na de verwijdering van één ovarium stijgen. Ook bij zwangere ratten leidde de vermindering van het aantal corpora lutea op dag 6 van de zwangerschap tot een toename van de FSH-concentraties in het serum (226). Uit de gegevens van Tabel 4-6 blijkt dat reeds 24 uur na het verwijderen van het ovarium op dag 1 van pseudozwangerschap het aantal middelgrote follikels was toegenomen in het overgebleven ovarium. Deze groei is waarschijnlijk de oorzaak van de compensatoire ovulatie na de pseudozwangerschap.

Een mogelijke verklaring voor het optreden van een compensatoire follikelgroei na eenzijdige ovariëctomie is, dat in het bloed de concentratie van ovariële steroïden enige tijd verlaagd is, waardoor de afgifte van gonadotrofinen toeneemt. Deze vermeerdering leidt dan tot compensatoire follikelgroei, compensatoire ovulatie en normalisatie van de gonadotrofinconcentraties. De gegevens van een aantal publicaties (38, 64, 316) en de in dit hoofdstuk beschreven experimenten zijn in overeenstemming met deze verklaring. Enige voorzichtigheid dient echter in acht genomen te worden aangezien de mogelijkheid bestaat dat naast de hoeveelheid, ook de biologische activiteit van de gonadotrofinen verandert na het verwijderen van één ovarium. Zo is bijvoorbeeld gebleken dat FSH uit een aantal molecuulsoorten bestaat (46, 236) en het is ook aangetoond dat in geovariëctomeerde apen voornamelijk de grote FSH-moleculen voorkomen, welke een langere biologische halfwaardetijd hebben (236).

Welschen & Dullaart (318) concludeerden uit hun studie dat FSH verantwoordelijk is voor de compensatoire follikelgroei na eenzijdige ovariëctomie in cyclische dieren. Zij baseerden deze conclusie op de waarneming dat reeds 5 uur na de eenzijdige ovariëctomie de FSH-concentraties verhoogd waren. Ook in het experiment beschreven bij 4-3.2. werd 5 uur na eenzijdige ovariëctomie een stijging van de FSH-concentraties waargenomen. Derhalve is aannemelijk dat, ook in de pseudozwangere rat, de toename van de FSH-concentraties na eenzijdige ovariëctomie de compensatoire follikelgroei initieert.

4-5. Samenvatting.

In dit hoofdstuk worden de gemeten veranderingen van de hormoonspiegels en van de follikelontwikkeling, na het verwijderen van corpora lutea tijdens pseudozwangerschap, beschreven. De beschreven experimenten hadden tot doel een mogelijke compensatiereactie van de corpora lutea tijdens pseudozwangerschap te bestuderen.

In vergelijking met de progesteronconcentraties van de controle-dieren, hadden ratten na eenzijdige ovariëctomie op dag 0 van pseudozwangerschap lage progesteronspiegels tijdens pseudozwangerschap. Eenzijdige ovariëctomie op dag 3 veroorzaakte een snelle daling van de progesteronconcentraties en tijdens het vervolg van de pseudozwangerschap bleven de spiegels laag. Eenzijdige ovariëctomie op dag 8 leidde echter niet tot significante verschillen. De duur van de pseudozwangerschap en de diameters van de corpora lutea veranderden niet na eenzijdige ovariëctomie.

Het effect van het verwijderen van corpora lutea door cauterisatie van de corpora lutea op dag 1 of dag 2 van pseudozwangerschap was afhankelijk van het aantal intact gelaten corpora lutea. Indien slechts één corpus luteum intact werd gelaten, dan eindigde de pseudozwangerschap bij vrijwel alle dieren, en werd door een uitgestelde pseudozwangerschap gevolgd. Bij de dieren die twee intacte corpora lutea behielden, eindigde de pseudozwangerschap in 47% van deze dieren. Ook bij deze dieren werd een uitgestelde pseudozwangerschap waargenomen. De andere 53% van de ratten bleef pseudozwanger ondanks lage progesteronspiegels. De ratten die tenminste 3 intacte corpora lutea behielden, bleven, zonder uitzondering, pseudozwanger na de operatie.

Na eenzijdige ovariëctomie op dag 1 van pseudozwangerschap werden significant hogere LH-concentraties gevonden op dag 3 en 4. Ook werd een significante stijging van de FSH-concentraties gevonden en wel 5 uur na de operatie. Ook op de dagen 4 - 7 werden, in vergelijking met de controle-dieren, verhoogde FSH-concentraties geconstateerd. Een toename van de prolactinespiegels werd 18 en 36 uur na de eenzijdige ovariëctomie geobserveerd. Het aantal middelgrote antrale follikels in het ovarium was reeds 24 uur na de operatie toegenomen.

- De volgende conclusies werden uit deze experimenten getrokken:
- progesteronspiegels tijdens pseudozwangerschap zijn proportioneel aan het aantal corpora lutea;
 - bij de pseudozwangere rat leidt het verwijderen van corpora lutea niet tot een morfologische compensatiereactie;
 - na eenzijdige ovariëctomie wordt een stijging van de gonadotrofe hormonen waargenomen, maar deze stijging veroorzaakt slechts een zeer geringe toename van de progesteronproductie door de achtergebleven corpora lutea;
 - een snelle stijging van de FSH-concentraties na eenzijdige ovariëctomie is waarschijnlijk verantwoordelijk voor de compensatoire follikelgroei;
 - 2 - 3 intacte corpora lutea zijn nodig voor het handhaven van de pseudozwangerschap.

HORMOONSPIEGELS TIJDENS PSEUDOZWANGERSCHAP BIJ DE GEHYSTERECTOMEERDE EN DE DECIDUOOMDRAGENDE RAT*

5-1. Inleiding.

De periode gedurende welke het corpus luteum van de rat progesteron produceert wordt mede bepaald door de uterus en de placenta. Na implantatie van de blastocyst aan het begin van de zwangerschap vormt een deel van het endometrium van de uterus het moederlijke deel van de placenta. De aanwezigheid van de placenta verlengt de periode van verhoogde luteale progesteronproductie (211), hetgeen ook geconstateerd wordt nadat de uterus op dag 4 van pseudozwangerschap getraumatiseerd is om deciduomen te induceren (240).

Ook na verwijdering van de uterus (hysterectomie) is in een groot aantal diersoorten de lengte van de luteale fase van de cyclus toegenomen (14). De verlenging van de luteale fase na hysterectomie werd voor het eerst door Loeb in 1923 beschreven bij de cavia (186). Hysterectomie leidt niet tot een verlengde cyclus van de rat (244), maar de duur van de pseudozwangerschap is wel toegenomen na hysterectomie (14, 49). Ondanks vele onderzoeken is nog steeds niet duidelijk op welke wijze de uterus invloed uitoefent op het functioneren van de corpora lutea bij de rat. Omdat de pseudozwangerschap verlengd is na hysterectomie werd gepostuleerd dat de uterus een luteolytische factor afscheidt (271). De verlenging van pseudozwangerschap in dieren met

*Dit hoofdstuk is voor een deel gebaseerd op gegevens uit de volgende publicaties:

- de Greef, Dullaart & Zeilmaker. *Endocrinology* 98: 1228, 1976 (ref. 124);
- de Greef, Dullaart & Zeilmaker. *Eur. J. Obstet. Gynec. Reprod. Biol.* (ter perse) (ref. 126).

deciduomen wordt toegeschreven aan een luteotrofe werking van het deciduoom (117, 144).

In dit hoofdstuk worden experimenten beschreven waarbij de effecten van hysterectomie en de vorming van deciduomen op het functioneren van het corpus luteum en op de gonadotrofinconcentraties tijdens pseudozwangerschap nader bestudeerd werden. Met deze experimenten werd getracht een beter inzicht te verkrijgen in de processen die tot de verlengde pseudozwangerschap na hysterectomie of vorming van deciduomen leiden.

5-2. Materiaal en Methoden.

Met uitzondering van één experiment (zie paragraaf 5-3.3.) werd hysterectomie op een leeftijd van 6 - 8 weken uitgevoerd. De dieren werden op een leeftijd van 3 - 7 maanden gebruikt voor de experimenten. Pseudozwangerschap werd geïnduceerd door steriele copulatie. Tijdens pseudozwangerschap werd van de dieren tussen 09.00 en 10.00 uur bloed verzameld. Van ieder dier werd tijdens pseudozwangerschap 2 - 4 maal een bloedmonster afgenomen, en tenminste 2 dagen verstreken tussen de opeenvolgende keren bloed afnemen.

Na inductie van de vorming van deciduomen op dag 4 van pseudozwangerschap werden van de dieren met deciduomen en van de controle-dieren 2 - 3 bloedmonsters afgenomen gedurende de rest van de pseudozwangerschap en tenminste 2 dagen verstreken tussen de opeenvolgende keren bloed afnemen. Tussen dag 8 en 11 werden de dieren onder ether-narcose gebracht om de aanwezigheid van deciduomen te kunnen vaststellen. In alle gevallen bleek dit het geval te zijn. Ook bij de controle-dieren vond een laparotomie plaats. Een aantal deciduoomdragende dieren en controle-dieren werden op dag 7 van de pseudozwangerschap gehypofysectomeerd. Van iedere rat werd driemaal bloed verzameld: één monster vlak voor hypofysectomie en twee monsters 6, 12, 18, 24, 36 of 48 uur na de operatie.

In de verzamelde bloedmonsters werd met radio-immunologische bepalingen LH, FSH, prolactine en/of progesteron bepaald.

5-3. Resultaten.

5-3.1. De lengte van de pseudozwangerschap bij intacte en gehysterectomeerde ratten met een onder het nierkapsel getransplanteerd ovarium.

De lengte van pseudozwangerschap was $13,9 \pm 0,3$ dagen in 8 intacte ratten en $20,9 \pm 0,6$ dagen in 8 gehysterectomeerde dieren. Na de pseudozwangerschap werd een ovarium van een prepuberale rat onder het nierkapsel gebracht. Tien dagen later werden de ovaria *in situ* verwijderd en na twee weken werden de dieren opnieuw pseudozwanger gemaakt. De lengte van deze pseudozwangerschap, in stand gehouden door het ovariumtransplantaat, was $15,0 \pm 0,3$ dagen in de dieren met een uterus en $18,9 \pm 0,7$ dagen in de dieren zonder uterus. In beide groepen dieren werd tussen de lengte van de eerste pseudozwangerschap en de lengte van de tweede pseudozwangerschap geen significant verschil gevonden.

5-3.2. Hormoonspiegels bij intacte en gehysterectomeerde pseudozwangere dieren.

De veranderingen van de progesteronconcentraties in het plasma waren de eerste 8 - 10 dagen van de pseudozwangerschap hetzelfde voor de intacte en de gehysterectomeerde dieren (Fig. 5-1). Na dag 8 verminderde de progesteronconcentratie in de intacte dieren, terwijl deze in de gehysterectomeerde dieren tot dag 18 - 20 verhoogd bleef. Het aantal en de maximale diameter van de corpora lutea op dag 6 van pseudozwangerschap van intacte en gehysterectomeerde dieren verschilden niet: in 10 intacte dieren werden $11,8 \pm 0,3$ corpora lutea gevonden met een maximale diameter van $1,11 \pm 0,20$ mm, terwijl in 13 gehysterectomeerde dieren $12,2 \pm 0,5$ corpora lutea met een maximale diameter van $1,13 \pm 0,05$ mm gevonden werden.

FSH-concentraties in het serum werden alleen op de dagen 2, 5, 8 en 11 van de pseudozwangerschap gemeten. De resultaten (Tabel 5-1) vertonen geen significante verschillen tussen intacte en gehysterecto-

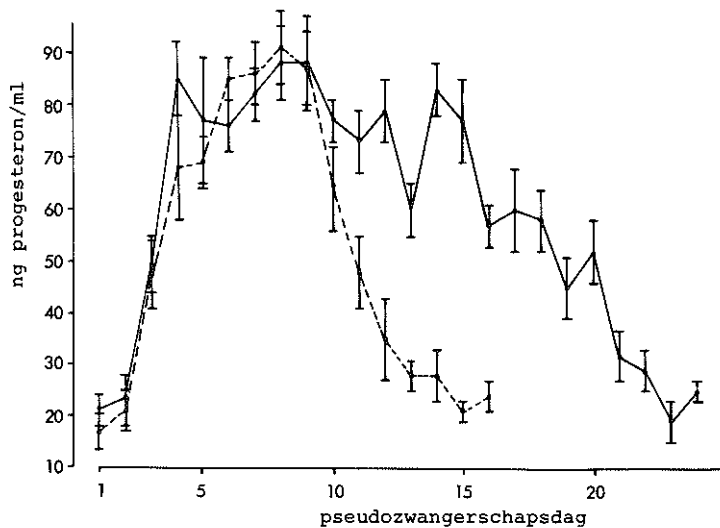


Fig. 5-1. Progesteronconcentraties in het serum van intacte (n= 6, echter op de dagen 4-8 n= 10; ●---●) en gehysterectomeerde (n= 6, echter op de dagen 4-8 n= 14; ●—●) pseudozwangere ratten. Na dag 10 waren de progesteronconcentraties in intacte ratten lager dan in gehysterectomeerde ratten (t test: dag 11 P< 0,05; dagen 12-16 P< 0,005).

Tabel 5-1. FSH-concentraties in het serum van intacte (n=8) en gehysterectomeerde (n=9) pseudozwangere dieren.

	dag van de pseudozwangerschap			
	2	5	8	11
intacte dieren	117,6 ± 9,3 [†]	80,6 ± 3,4	97,3 ± 4,8	78,1 ± 5,8
gehysterectomeerde dieren	109,1 ± 12,4	90,1 ± 5,8	89,2 ± 4,7	80,0 ± 3,8

[†] ng FSH RP-1/ml serum

meerde pseudozwangere dieren. LH-concentraties in het serum werden van dag 2 tot en met dag 8 van de pseudozwangerschap gemeten (Fig. 5-2). In deze periode werden in de gehysterectomeerde dieren signifi-

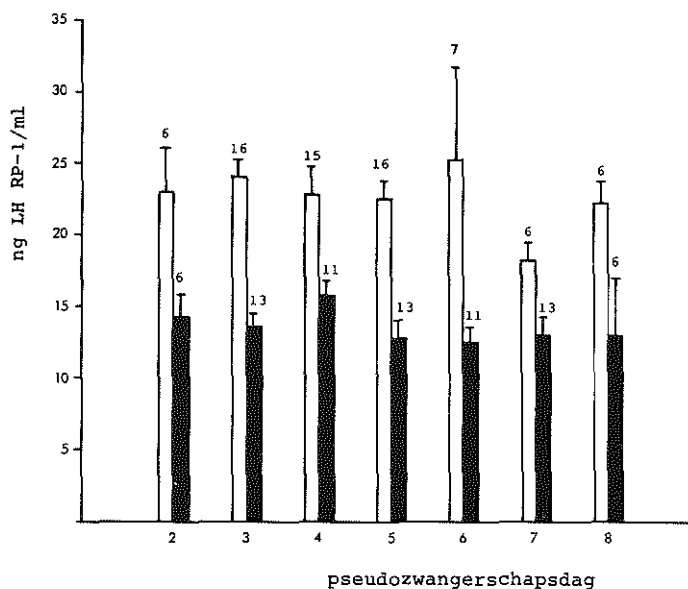


Fig. 5-2. LH-concentraties in het serum van intacte (open kolommen) en gehysterectomeerde (zwarte kolommen) pseudozwangere ratten. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. Op de dagen 2-7 waren de gemeten LH-concentraties bij de gehysterectomeerde dieren significant lager dan die bij de intacte ratten (*t* test: dag 2 $P < 0,05$; dagen 4, 6 en 7 $P < 0,025$; dagen 3 en 5 $P < 0,005$; variantie-analyse: dagen 2-7 $P < 0,005$).

cant lagere LH-concentraties gevonden dan in de intacte dieren.

5-3.3. Progesteron- en LH-concentraties in het serum van pseudozwangere dieren na het verwijderen van de uterus op dag 2 van pseudozwangerschap.

Op de middag van dag 2 van pseudozwangerschap werd van 24 dieren de uterus verwijderd, terwijl 28 controle-dieren een schijnoperatie ondergingen. De lengte van de pseudozwangerschap bij deze acuut gehysterectomeerde dieren was $21,6 \pm 0,7$ dagen en bij de controle-dieren $13,4 \pm 0,2$ dagen. De op de dagen 2 - 8 van pseudozwangerschap waargenomen progesteron- en LH-concentraties tonen geen verschillen tussen de progesteronconcentraties in het serum van de twee groepen dieren (Fig. 5-3), maar acute hysterectomie leidde echter wel tot lagere LH-concentraties in het serum (Fig. 5-4; variantie-analyse dag 2 - 8: $P < 0,01$).

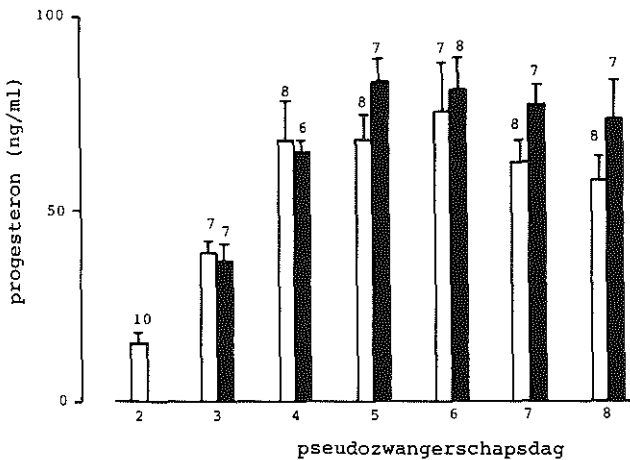


Fig. 5-3. Progesteronconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten na het verwijderen van de uterus (zwarte kolommen) of na schijn-operatie (open kolommen) op dag 2 van pseudozwangerschap. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven.

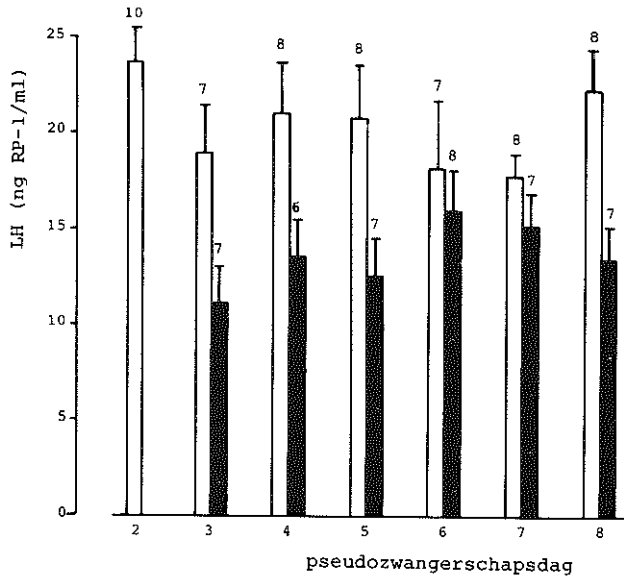


Fig. 5-4. LH-concentraties in het serum van pseudozwangere ratten na het verwijderen van de uterus (zwarte kolommen) of na schijn-operatie (open kolommen) op dag 2 van pseudo-zwangerschap. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. Op de dagen 3-5 en 8 waren de LH-concentraties bij gehysterectomeerde ratten lager dan bij de intacte ratten (t test: dag 3 $P < 0,025$; dagen 4 en 5 $P < 0,05$; dag 8 $P < 0,005$; variantie-analyse: dagen 2-8 $P < 0,01$).

5-3.4. LH-concentraties in het serum van intacte en gehysterectomeerde ratten na ovariëctomie.

Van 13 intacte en 12 gehysterectomeerde dieren werden de ovaria op een willekeurige dag van de cyclus verwijderd. Van ieder dier werd 1, 2 en 3 weken na de operatie tussen 09.00 en 11.00 uur bloed afgenomen. Ook werd onmiddellijk voorafgaand aan de operatie bloed verzameld van 8 intacte en 8 gehysterectomeerde ratten. In de verzamelde sera werd LH bepaald, en het bleek dat na ovariëctomie lagere LH-concentraties voorkwamen in de gehysterectomeerde dieren dan in de dieren met een uterus (Fig. 5-5). Uit dit experiment en de beide

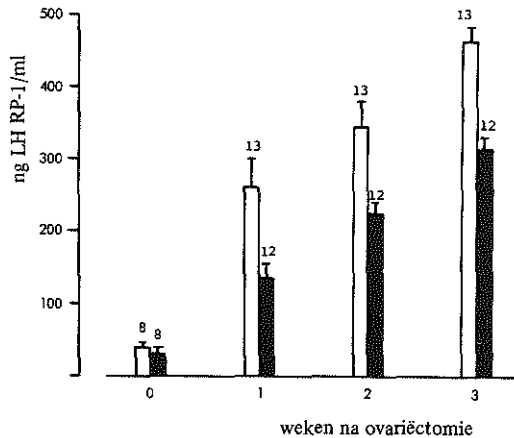


Fig. 5-5. LH-concentraties in het serum van ratten met intacte uteri (open kolommen) en van gehysterectomeerde ratten (zwarte kolommen) na het verwijderen van de ovaria. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. Na ovariëctomie werden bij de gehysterectomeerde ratten lagere LH-concentraties gemeten dan bij de ratten met uteri (t test: week 1 $P < 0,05$; week 2 en 3 $P < 0,005$).

vooraangaande kan geconcludeerd worden dat het verwijderen van de uterus tot een verminderde tonische LH-afgifte leidt.

5-3.5. LH-concentraties in het serum van intacte en gehysterectomeerde ratten tijdens de pro-oestrusmiddag.

In dit experiment werd nagegaan of naast de tonische LH-afgifte ook de LH-plek op pro-oestrus invloed ondervond van het wel of niet aanwezig zijn van de uterus. Daartoe werden van zowel 3 - 4 als 6 - 7 maanden oude dieren op de pro-oestrusmiddag 2 bloedmonsters afgenomen. De gebruikte dieren hadden alle regelmatige 5-daagse cycli. Op de oestrusdag werd gecontroleerd of de dieren, waarvan bloed afgenomen was op pro-oestrusmiddag, geovuleerd hadden; alleen in de sera van de

dieren waarbij dit het geval was ($\pm 95\%$) werd LH bepaald. De resultaten van dit experiment zijn in Fig. 5-6 weergegeven: zowel vorm

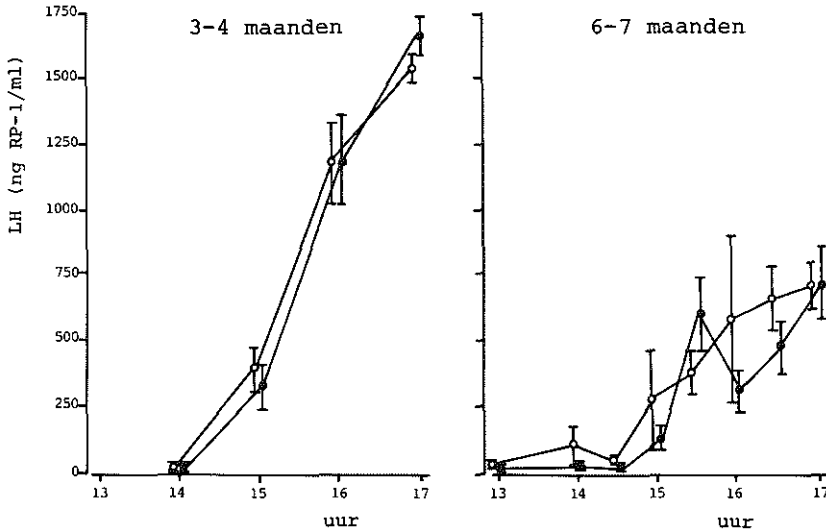


Fig. 5-6. LH-concentraties in het serum van intacte (o—o) en gehysterectomeerde (●—●) ratten op de middag van pro-oestrus (n = 7-18). Tussen intacte en gehysterectomeerde ratten werden geen significante verschillen gevonden. LH-concentraties waren echter significant hoger bij de 3-4 maanden oude ratten dan bij de 6-7 maanden oude ratten (variantie-analyse: $P < 0,005$).

als hoogte van de LH-piek zijn eender bij de intacte en de gehysterectomeerde ratten. Verder valt op dat in 3 - 4 maanden oude dieren de maximale LH-concentraties in het serum op de pro-oestrusdag hoger zijn dan bij de dieren van 6 - 7 maanden oud.

5.3.6. Hormoonspiegels in het serum van pseudozwangere ratten na de vorming van deciduomen.

Op dag 4 van pseudozwangerschap werden beide uterushoorns getraumatiseerd, en als controle-groep werden dieren gebruikt die een schijnoperatie ondergingen. De lengte van de pseudozwangerschap was $14,0 \pm 0,2$ dagen (n = 27) in de controle-dieren en $22,1 \pm 0,4$ dagen

in de dieren met deciduomen (n = 34). Deze verlengde pseudozwangerschap was een gevolg van de voortgezette activiteit van de corpora lutea na de inductie van de deciduomen, zoals uit de progesteronconcentraties (Fig. 5-7) blijkt. Tevens blijkt uit deze figuur dat

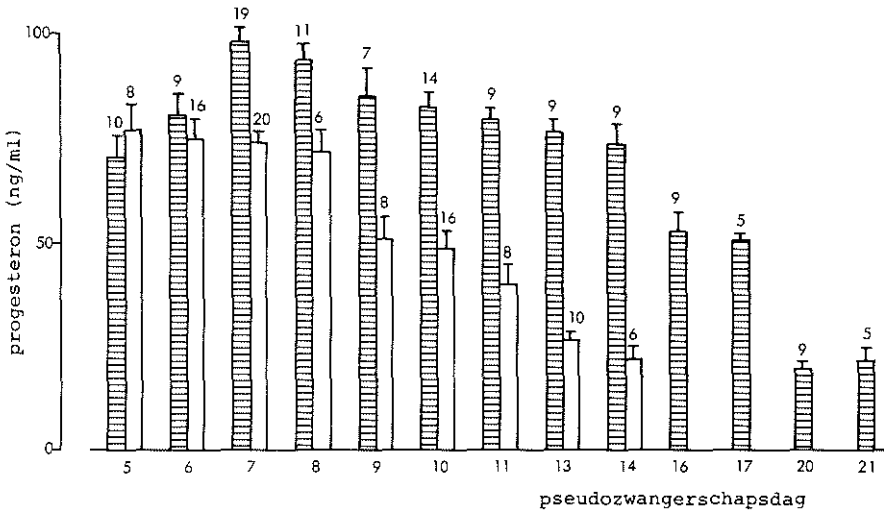


Fig. 5-7. Progesteronconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten na schijn-operatie (open kolommen) of inductie van de vorming van deciduomen (gestreepte kolommen) op dag 4 van pseudozwangerschap. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. Vanaf dag 7 werden hogere progesteronconcentraties gemeten bij de dieren met deciduomen (t test $P < 0,005$).

de maximale progesteronconcentraties in het serum van deciduoomdragen- de pseudozwangere dieren hoger waren dan in de controle-dieren. Tabel. 5-2 laat zien dat de maximale diameters van de corpora lutea van de twee groepen dieren op de dagen 7, 9 en 11 van pseudozwangerschap niet significant verschilden.

De gemeten LH-concentraties in het serum van beide groepen dieren zijn weergegeven in Fig. 5-8. Tot dag 8 bleven de LH-concentraties in de controle-dieren vrij constant (20 - 30 ng LH RP - 1/ml), waarna een

Tabel 5-2. Diameters en aantal van de corpora lutea in het rechterovarium en het gewicht van de uteri op de dagen 7, 9 en 11 na inductie van deciduomen op dag 4.

behandeling op dag 4	dag van de pseudozwangerschap	aantal corpora lutea	diameter van de corpora lutea (in mm)	gewicht van de uterus (in mg)	aantal dieren
schijn- operatie	7	5,5 ± 1,2	1,09 ± 0,04	343 ± 28	4
	9	7,4 ± 0,6	1,09 ± 0,02	318 ± 31	5
	11	6,0 ± 0,9	1,16 ± 0,02	407 ± 36	4
inductie van deciduomen	7	6,0 ± 0,5	1,13 ± 0,02	1378 ± 44	5
	9	7,8 ± 1,0	1,11 ± 0,02	2930 ± 105	5
	11	6,9 ± 0,9	1,18 ± 0,02	4263 ± 320	4

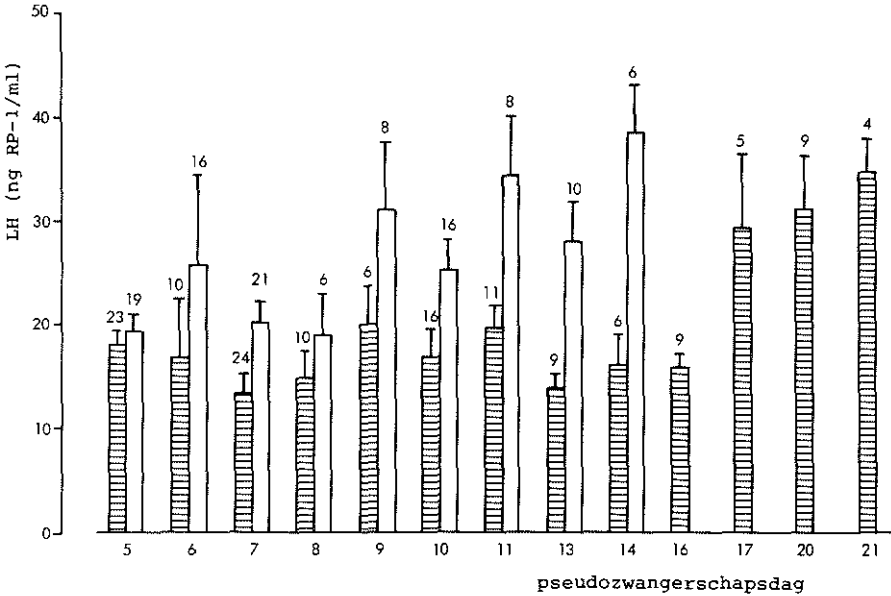


Fig. 5-8. LH-concentraties in het serum van pseudozwangere ratten na schijn-operatie (open kolommen) of inductie van de vorming van deciduomen (gestreepte kolommen) op dag 4 van pseudozwangerschap. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. Op dag 7 en vanaf dag 10 werden bij dieren met deciduomen significant lagere LH-concentraties gevonden (t test: dag 7 en 11 $P < 0,025$; dag 10 $P < 0,05$; dagen 13-16 $P < 0,005$).

stijging van de LH-concentraties tot 40 ng RP - 1/ml aan het einde van de pseudozwangerschap optrad. Een verhoging van de LH-concentraties in de deciduodragende dieren werd pas na dag 16 van pseudozwangerschap opgemerkt. Uit Fig. 5-8 blijkt verder dat de LH-concentraties in het serum van de deciduodragende dieren lager zijn dan in de controle-dieren; tot aan dag 10 zijn deze verschillen echter alleen op dag 7 significant.

De gegevens over de FSH-concentraties in het serum van deciduodragende dieren en controle-dieren zijn vermeld in Fig. 5-9. Het bleek dat de FSH-concentraties tijdens pseudozwangerschap weinig veranderen.

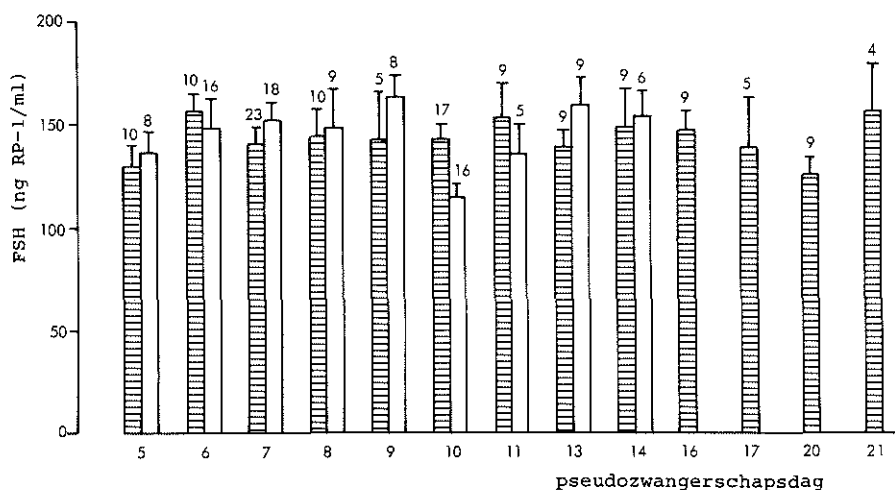


Fig. 5-9. FSH-concentraties in het serum van pseudozwangere ratten na schijn-operatie (open kolommen) of inductie van de vorming van deciduomen (gestreepte kolommen) op dag 4 van pseudozwangerschap. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. Op dag 10 van pseudozwangerschap waren de FSH-concentraties in het serum van de controle-dieren lager dan in de deciduomen-dragende dieren (t test $P < 0,025$).

Alleen op dag 10 werden verlaagde FSH-concentraties gevonden in het serum van de controle-dieren ($P < 0,025$ in vergelijking met deciduoom-dragende dieren). Bij de deciduoomdragende dieren werd op dag 20 van pseudozwangerschap een iets verlaagde FSH-concentratie in het serum gevonden; deze afname was echter niet significant verschillend van de waarden gevonden tijdens de voorafgaande periode.

Om 03.00 en 19.00 uur werden hoge prolactineconcentraties gemeten (Fig. 5-10). Tot 19.00 uur van dag 11 van de pseudozwangerschap werden tussen de 2 groepen geen verschillen in het patroon en de waarden van prolactine geconstateerd. Bij de controle-dieren werd echter voor het laatst een verhoging van de prolactinespiegels gemeten om 03.00 uur op dag 11 van pseudozwangerschap. Bij de deciduoom-

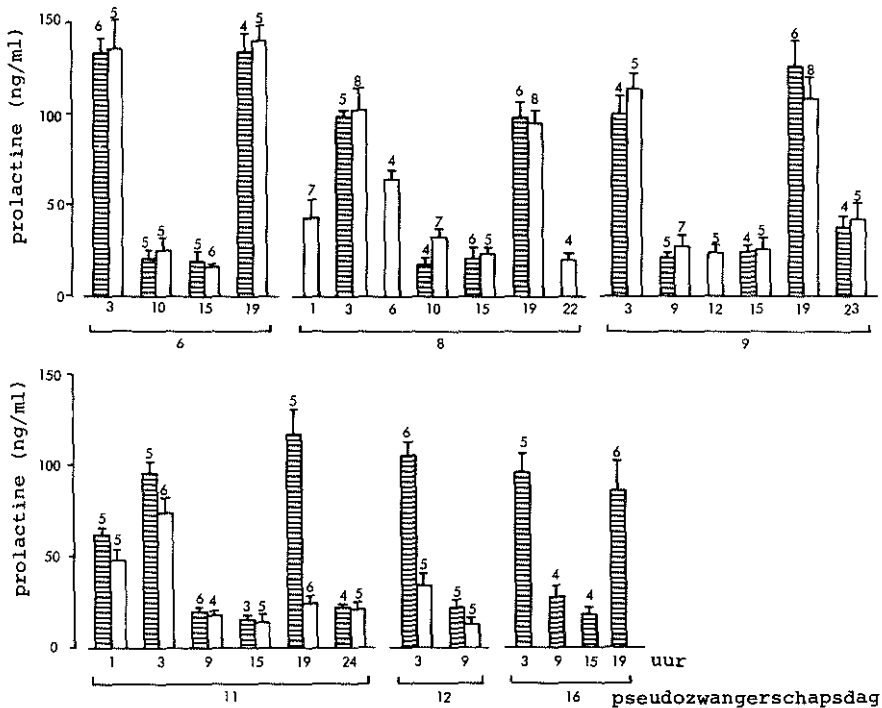


Fig. 5-10. Prolactineconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten na schijn-operatie (open kolommen) of inductie van de vorming van deciduomen (gestreepte kolommen) op dag 4 van pseudozwangerschap. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven, terwijl onder de kolommen het tijdstip van bloed verzamelen gegeven is. Bij de controle-dieren werd de laatste prolactine-verhoging op dag 11 om 03.00 uur waargenomen, terwijl op dag 16 beide prolactine-pieken nog aanwezig waren bij de dieren met deciduomen.

dragende dieren werden ook nog op dag 16 zowel de verhoging om 03.00 als om 19.00 uur opgemerkt.

5-3.7. Progesteronconcentraties in het plasma van deciduoomdragende dieren en controle-dieren na hypofysectomie op dag 7 van pseudozwangerschap.

Deciduoomdragende dieren en controle-dieren werden om 12.00 uur

op dag 7 van pseudozwangerschap gehypofysectomeerd om na te gaan of het deciduoom mogelijk een *luteotrofe* stof zou produceren. Vlak voor hypofysectomie, en 6, 12, 18, 24, 36 en 48 uur na hypofysectomie werd bloed afgenomen. Zoals uit Fig. 5-11 blijkt veroorzaakte hypofysectomie een aanzienlijke daling van de progesteronconcentraties in het plasma van beide groepen dieren. Uit Fig. 5-11 blijkt verder dat de

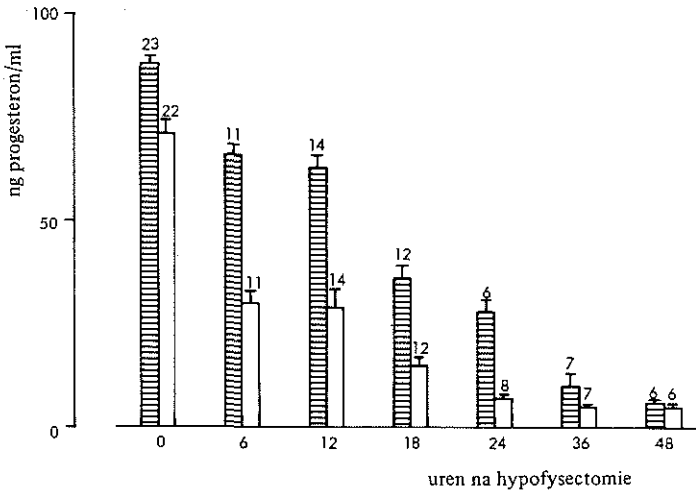


Fig. 5-11. Progesteronconcentraties in het serum van controle-dieren en deciduoom-dragende dieren na hypofysectomie op dag 7 van pseudozwangerschap. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. Bij de controle-dieren werden tot en met 36 uur na hypofysectomie lagere progesteronconcentraties gemeten dan in de dieren met deciduomen (t test: 0-24 uur $P < 0,005$; 36 uur $P < 0,05$).

daling van de progesteronconcentraties minder abrupt was in de dieren met deciduomen dan in de controle-dieren.

Door hypofysectomie verminderde ook het gewicht van de getraumatiseerde uterus (vergelijk Tabel 5-2): 48 en 96 uur na hypofysectomie was het gewicht van de getraumatiseerde uteri 1133 ± 72 mg ($n = 4$),

respectievelijk 487 ± 49 mg (n = 5).

5-4. Discussie.

Uit hun experimenten concludeerden Butcher c.s. (26), dat in de rat de uterus een voornamelijk lokale luteolytische werking bezit. Na eenzijdige hysterectomie werd wel een verlenging van de pseudozwangerschap waargenomen wanneer het contralaterale ovarium werd weggenomen, maar niet wanneer het ipsilaterale ovarium werd verwijderd (26). Ook na het doorsnijden van verbindingen tussen ovarium en uterus werd bij de rat een verlenging van de pseudozwangerschap waargenomen (26, 229; J. Lodder, ongepubliceerde waarnemingen). Een verlenging van de pseudozwangerschap trad vooral op wanneer de uterusarterie vlakbij de tuba werd doorgesneden (229). De verlenging werd zowel opgemerkt wanneer de doorsnijding plaatsvond tijdens de pseudozwangerschap als ook wanneer enkele weken voor de inductie van de pseudozwangerschap de verbindingen tussen uterus en ovarium verbroken werden (229; J. Lodder, ongepubliceerde waarnemingen). Wanneer van een rat beide ovaria onder het nierkapsel (13) of in de abdominale musculatuur (30) werden gebracht, werd een enigermate verlengde pseudozwangerschap waargenomen. Bartosik & Szarowski (30) constateerden echter dat het celbeeld in de vagina-uitstrijkjes aan het einde van de pseudozwangerschap meer geleek op pro-oestrus dan op dioestrus. In onze studie (zie 5-3.1.) werd evenwel geen significante verlenging van de pseudozwangerschap gevonden wanneer één ovarium onder het nierkapsel werd gebracht. Uit dit experiment en de bovengenoemde experimenten (13, 30) kan misschien gekonkludeerd worden dat de luteolytische werking van de uterus voornamelijk systemisch is, hoewel locale invloeden niet mogen worden uitgesloten (zie ook 26, 229).

Tijdens pseudozwangerschap verschilden de maximale progesteronconcentraties niet in de intacte -of controle-, gehysterectomeerde en acuut-gehysterectomeerde dieren, hoewel de verwijdering van de uterus wel tot een verlengde activiteit van de corpora lutea leidde zoals uit de gemeten progesteronconcentraties is gebleken. De progesterongegevens van de controle-dieren en acuut-gehysterectomeerde dieren

uit onze studie bevestigen die van andere auteurs (145, 240). Daarentegen rapporteerden Pepe & Rothchild (240) dat tijdens pseudozwangerschap in gehysterectomeerde dieren hogere maximale progesteronconcentraties voorkwamen dan in intacte dieren. Gezien een toename van de grootte van de corpora lutea gedurende de zwangerschap (209) samen gaat met een vermeerdering van de progesteronconcentraties (211), kan misschien de afwezigheid van een verschil in de maximale diameter van de corpora lutea van intacte en de gehysterectomeerde ratten (zie 5-3.2.) erop wijzen, dat ook de maximale activiteit van de corpora lutea van deze twee groepen gelijk is. Aan de andere kant werd evenmin een verschil in de maximale diameter van de corpora lutea van controle en deciduoomdragende ratten gevonden, terwijl wel hogere progesteronconcentraties in het serum van de deciduoomdragende ratten gemeten werden (zie 5-3.6.).

Er werd geen verschil in de FSH-concentraties in het serum gevonden tussen intacte en gehysterectomeerde ratten. De LH-concentraties in het serum van gehysterectomeerde en acuut-gehysterectomeerde dieren waren echter lager dan in het serum van intacte ratten. Morishige & Rothchild (zie discussie 265) vonden ook dat de LH-concentraties in gehysterectomeerde dieren lager waren dan in de intacte dieren. Een andere studie, waarbij LH tijdens pseudozwangerschap in het serum van intacte en acuut-gehysterectomeerde ratten gemeten werd, is die van Bast en Melampy (33). Aangezien geen statistische evaluatie van de verkregen resultaten door Bast & Melampy (33) werd gegeven, kan door ons niet nagegaan worden of er bij die studie al dan niet verschillen gevonden werden tussen intacte en acuut-gehysterectomeerde dieren op dag 6 en op dag 9 van pseudozwangerschap. Verdere gegevens van Bast & Melampy hebben alle betrekking op de periode na dag 9 van pseudozwangerschap en de dan optredende verschillen in de LH-concentraties tussen intacte en gehysterectomeerde dieren zijn waarschijnlijk het gevolg van verschillen in progesteronspiegels (zie hoofdstukken 3 en 7).

Na ovariëctomie werden in gehysterectomeerde dieren lagere LH-concentraties gevonden dan bij dieren die wel een uterus hadden. Dit wijst erop dat de verminderde LH-concentraties in het serum van de

gehysterectomeerde, geovariëctomeerde dieren niet het gevolg zijn van een veranderde terugkoppeling van ovariumsteroiden op de hypofyse.

In hoofdstuk 1 werd reeds vermeld dat er aanwijzingen zijn dat LH bij de rat luteolytisch is. LH induceerde zowel functionele als structurele luteolyse in gehypofysectomeerde ratten met een hypofyse-autotransplantaat onder het nierkapsel (145, 176, 264). Yoshinaga c.s. (334) vonden dat LH een acute daling van de ovariële progesteronproductie in de pseudozwangere rat veroorzaakte, en Bishof c.s. (41) concludeerden dat LH een reductie van de ovariële progesteronproductie in de pseudozwangere rat bewerkstelligde. Aangezien LH onder bepaalde omstandigheden luteolytisch is, kan de verlenging van de pseudozwangerschap na hysterectomie mogelijk het gevolg zijn van de verlaagde LH-spiegels in de gehysterectomeerde rat. Deze suggestie werd voor het eerst door Silbiger & Rothchild (289) geformuleerd, maar het idee werd later verworpen toen bleek dat met een biologische bepaling voor LH geen verschil aantoonbaar was tussen de hypofysaire concentraties van LH bij intacte en gehysterectomeerde dieren (67).

Wanneer een verminderde perifere LH-spiegel essentieel is voor de verlenging van de pseudozwangerschap mag verwacht worden dat ook in deciduoomdragende dieren lagere LH-concentraties voorkomen dan bij intacte dieren gedurende de pseudozwangerschap. De in Fig. 5-8 weergegeven LH-concentraties in het serum van controle en deciduoomdragende dieren laten zien, dat de gemiddelde LH-concentraties op de dagen 6 - 10 van pseudozwangerschap inderdaad enigszins lager zijn bij de deciduoomdragende dieren dan bij de controle-dieren. Echter, de verlenging van pseudozwangerschap wordt ook wel toegeschreven aan een door de deciduomen geproduceerd luteotroof hormoon (117, 144). Aangezien de maximale progesteronconcentraties in het serum van de deciduoomdragende dieren significant hoger zijn dan die in het serum van pseudozwangere controle-dieren (zie ook 266) is het mogelijk dat deciduomen gedurende een zekere tijd een luteotroof hormoon produceren. Uit Fig. 5-11 blijkt dat na hypofysectomie de daling van de progesteronconcentraties in het plasma van deciduoomdragende dieren

minder abrupt was dan bij de controle-dieren. Ook deze gegevens pleiten ervoor dat deciduomen *enige* luteotrofe werking bezitten. Echter, de deciduomen alleen kunnen de activiteit van het corpus luteum in een gehypofysectomeerd dier niet handhaven. Ons experiment steunt het experiment van Gibori c.s. (117), die vonden dat 24 uur na ergocorninebehandeling de progesteronconcentraties in het plasma van deciduoomdragende dieren duidelijk hoger waren dan in het plasma van intacte ratten. Echter, in beide groepen dieren werd de pseudozwangerschap afgebroken na de ergocorninebehandeling (117).

Bij de deciduoomdragende dieren kan de verlenging van de pseudozwangerschap toegeschreven worden aan de luteotrofe werking van het deciduoom, terwijl de verlengde pseudozwangerschap in gehysterectomeerde dieren *misschien* het gevolg is van de verlaagde LH-concentraties. In twee andere soorten van pseudozwangerschap kan aannemelijk gemaakt worden dat de verlaagde LH-concentraties in het serum tijdens die pseudozwangerschappen verantwoordelijk kunnen zijn voor de verlenging van de luteale fase. Wanneer na de inductie van pseudozwangerschap de hypofyse verwijderd en daarna onder het nierkapsel gebracht wordt, blijven de corpora lutea tenminste enige maanden lang progesteron produceren (3, 95, 192, 248). Tijdens deze luteale fase worden zeer lage LH-concentraties in het serum gemeten (205), en het toedienen van LH induceert in deze dieren luteolyse (145, 176, 264). Het tweede type pseudozwangerschap, waarop boven gedomd werd, is de lactatiepseudozwangerschap. Tijdens lactatiepseudozwangerschap, welke een duur van 20 tot 30 dagen heeft, worden lage LH-concentraties in het serum gemeten (108, 189). Dit zou veroorzaakt worden door de zoogstimulus (108, 261). De verlenging van de pseudozwangerschap bij de lacterende ratten en de gehypofysectomeerde hypofyse-autotransplantaat dieren steunt derhalve de bewering dat bij de rat LH als een luteolytisch hormoon beschouwd moet worden. Een verlengde pseudozwangerschap welke wordt waargenomen na hysterectomie op dag 8 of 9 (289) valt echter moeilijk te rijmen met het idee dat verlaagde LH-concentraties in het serum de oorzaak zouden zijn van de verlengde pseudozwangerschap in de rat. Verder inzicht zou worden verkregen wanneer de LH-concentraties in het serum van gehysterectomeerde dieren enigszins verhoogd zouden worden door het toedienen van LH. Dagelijkse

toediening van schape-LH aan gehysterectomeerde dieren gaf geen significante verkorting van de pseudozwangerschap, maar wel een daling van de progesteronconcentraties in het serum (zie hoofdstuk 7: 7-3.4.). Dit wijst erop dat LH alléén niet het luteolytische hormoon is in de rat. Ondersteld moet wel worden dat de hypofyse wel een rol *moet* spelen tijdens de luteolyse; immers ook in gehysterectomeerde dieren en in dieren met een extra hypofyse (252) wordt luteolyse waargenomen.

In vele studies is aangetoond dat tijdens pseudozwangerschap en zwangerschap twee dagelijkse prolactinepieken aanwezig zijn (34, 52, 113, 123, 152, 205, 294). Recent werd beschreven dat beide pieken verdwenen wanneer functionele luteolyse werd waargenomen (294) en de gegevens in Fig. 5-10 bevestigen dit: nadat de progesteronconcentraties dalen, verdwijnen beide prolactinepieken in de controle-dieren. In de deciduoomdragende dieren worden beide pieken ook nog op dag 16 gemeten. Blijkbaar is een verhoogde progesteronspiegel nodig voor de afgifte van prolactine. Dit werd reeds eerder gesuggereerd door Rothchild (261, 262) en Alloiteau (8). Bewijs voor het gestelde dat progesteron een positieve invloed heeft op de prolactine-afgifte, zou verkregen kunnen worden door na dag 8 van pseudozwangerschap in controle-dieren de progesteronconcentraties hoog te houden door toediening van progesteron.

5-5. Samenvatting.

In dit hoofdstuk worden de gemeten hormoonspiegels bij gehysterectomeerde en deciduoomdragende pseudozwangere ratten beschreven. Het doel van deze experimenten was, na te gaan waardoor hysterectomie en de vorming van deciduomen tot een verlengde pseudozwangerschap leidden.

Tot aan dag 10 van pseudozwangerschap werden geen verschillen gevonden tussen de progesteronconcentraties van intacte en gehysterectomeerde ratten. Bij de intacte ratten daalden de progesteronconcentraties na dag 8, maar bij de gehysterectomeerde ratten werden verhoogde progesteronconcentraties geconstateerd tot aan dag 18 - 20.

De FSH-concentraties van de intacte ratten verschilden niet van die van de gehysterectomeerde ratten. De LH-concentraties, echter, waren bij de gehysterectomeerde ratten lager dan bij de intacte ratten. Bij dieren, waarbij de uterus op dag 2 van pseudozwangerschap verwijderd werd (acute hysterectomie), werden ook lagere LH-concentraties gevonden dan bij dieren, die een schijnoperatie ondergingen. Tussen acut-gehysterectomeerde dieren en controle-dieren werden geen verschillen in de progesteronconcentraties gezien. Na ovariëctomie werden lagere LH-concentraties gevonden bij gehysterectomeerde ratten dan bij ratten met een uterus. Daarentegen had het wel of niet aanwezig zijn van de uterus geen invloed op de LH-piek tijdens de prooestrusmiddag. Zowel bij intacte als bij gehysterectomeerde dieren veranderde de duur van de pseudozwangerschap niet indien de pseudozwangerschap slechts door een ovariumtransplantaat onderhouden werd.

Na traumatisatie van de uterus op dag 4 van pseudozwangerschap werden hogere progesteronconcentraties gemeten op de dagen 7 en 8 dan bij controle-dieren. Verder bleven de progesteronspiegels bij de deciduoomdragende ratten gedurende een langere periode hoog dan bij de controle-ratten. Tot en met dag 8 werden lage LH-concentraties gemeten bij de controle-ratten, waarna een stijging werd waargenomen. In ratten met deciduomen werden, in vergelijking met de controle-dieren, op de dagen 6 - 10 lagere LH-concentraties gevonden en de stijging van de LH-concentraties werd pas na dag 16 gezien. De FSH-concentraties varieerden weinig bij beide groepen ratten, en uitsluitend op dag 10 werd een daling van de FSH-concentraties geconstateerd bij de controle-dieren. Bij beide groepen ratten werden dagelijks twee prolactinepieken gezien. De laatste verhoging van de prolactineconcentraties werd bij de controle-dieren op dag 11 waargenomen. Beide prolactinepieken waren echter nog op dag 16 aanwezig bij de deciduoomdragende dieren.

Om na te gaan of deciduomen een luteotrofe werking hebben, werd de hypofyse op dag 7 verwijderd. Bij beide groepen ratten werd een zeer duidelijke afname van de perifere progesteronconcentraties geconstateerd. Deze afname verliep bij de deciduoomdragende dieren echter duidelijk langzamer.

Op grond van deze experimenten komen wij tot de volgende conclusies:

- de verlenging van de luteale fase door hysterectomie of vorming van deciduomen berust waarschijnlijk op verschillende mechanismen;
- hysterectomie veroorzaakt, op een nog onbekende manier, een verminderde LH-afscheiding door de hypofyse;
- de verlengde pseudozwangerschap bij de gehysterectomeerde dieren kan misschien het gevolg zijn van de verlaagde LH-concentraties, maar het bestaan van een luteolytische factor uit de uterus mag ook niet uitgesloten worden;
- hysterectomie heeft geen invloed op de maximale progesteronconcentraties tijdens pseudozwangerschap;
- deciduomen bezitten enige luteotrofe werking, en het is waarschijnlijk hieraan te danken dat de pseudozwangerschap verlengd is bij dieren met deciduomen;
- de aanwezigheid van deciduomen kan echter niet voorkomen dat de corpora lutea ophouden met het produceren van progesteron indien de hypofyse verwijderd is;
- functionele luteolyse gaat gepaard met het verdwijnen van beide prolactinepieken.

PROLACTINE EN UITGESTELDE PSEUDOZWANGERSCHAP BIJ DE RAT*

6-1. Inleiding.

Het stimuleren van cervix uteri van een rat tijdens pro-oestrus of oestrus leidt tot activatie van de recent gevormde corpora lutea. Wanneer de stimulatie van de cervix uteri op de tweede di-oestrusdag van de 4-daagse cyclus geschiedt, dan worden de corpora lutea van die cyclus niet geactiveerd. Pas na het optreden van een nieuwe ovulatie wordt een pseudozwangerschap waargenomen (131). Aangezien deze pseudozwangerschap niet direct na de stimulus optreedt, maar pas nadat een ovulatie heeft plaatsgevonden, wordt deze pseudozwangerschap een *uitgestelde pseudozwangerschap* genoemd. Uitgestelde pseudozwangerschap werd ook geconstateerd na elektrische stimulatie van de hypothalamus op de tweede di-oestrusdag bij 4-daagse cyclische ratten (253). Voorts werd bij ratten die in constante oestrus waren (89), of bij ratten waarvan de spontane ovulatie geblokkeerd was door toedienen van pentobarbital (93, 98), na paring een pseudozwangerschap waargenomen die voorafgegaan werd door een oestruscyclus. Het afbreken van pseudozwangerschap (zie hoofdstuk 4) of zwangerschap (166) door het verwijderen van de corpora lutea wordt veelal gevolgd, na een ovulatie, door een nieuwe, uitgestelde pseudozwangerschap. In Fig. 6-1 is het bovenstaande schematisch samengevat.

Zeilmaker (340) toonde aan dat in ratten met een *extra* ovarium onder het nierkapsel, het verwijderen van de ovaria *in situ* op de dag na copulatie een oestruscyclus induceerde, die gevolgd werd door een

* Dit hoofdstuk is onder meer gebaseerd op gegevens van de volgende publicatie:

- de Greef & Zeilmaker, *Endocrinology* 98: 305, 1976 (ref. 123).

UITSTRIJKPATROON BIJ:

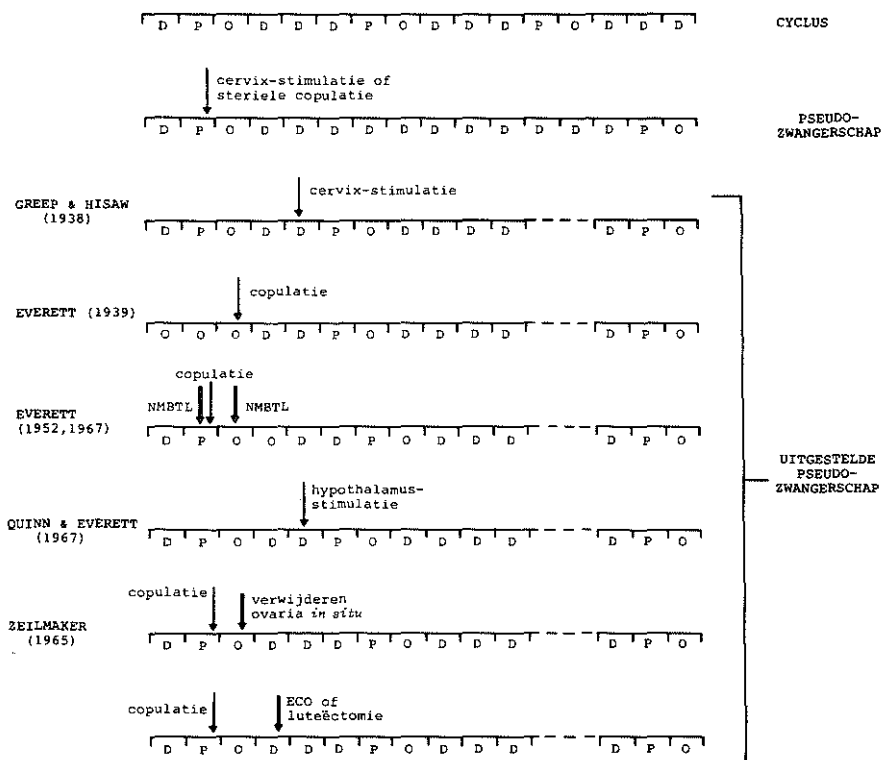


Fig. 6-1. Schema van de verschillende manieren om uitgestelde pseudozwangerschap bij de rat te induceren. Voor verdere gegevens wordt naar de tekst verwezen. Ter vergelijking zijn ook de uitstrijkpatronen tijdens cyclus en pseudozwangerschap gegeven.

uitgestelde pseudozwangerschap (zie Fig. 6-1). Deze uitgestelde pseudozwangerschap wordt dus alleen door het ovariumtransplantaat in stand gehouden. Wanneer de oestruscyclus (of experimentele cyclus) verlengd werd tot 7 of meer dagen door de ovaria *in situ* op een later tijdstip dan op de oestrusdag na copulatie te verwijderen werd geen uitgestelde pseudozwangerschap meer waargenomen (340), en Zeilmaker concludeerde uit dit experiment dat copulatie een periode van prolactine-afgifte induceerde die ongeveer 8 dagen duurde. Indien corpora lutea in deze periode ontstaan, worden deze corpora lutea door de verhoogde prolactineconcentraties geactiveerd, zodat deze de corpora lutea van pseudozwangerschap worden (zie hoofdstuk 3).

In dit hoofdstuk worden experimenten beschreven waarbij de hypothese van Zeilmaker (340) getoetst werd. Hiertoe werd op drie verschillende wijzen een uitgestelde pseudozwangerschap geïnduceerd en prolactine werd tijdens de experimentele cyclus en het begin van de uitgestelde pseudozwangerschap gemeten. Verder werd nagegaan of het meerdere malen bloed afnemen van één dier effect had op de prolactinespiegels.

6-2. Materiaal en Methoden.

6-2.1. Het effect op de prolactinespiegels van meerdere malen bloed afnemen bij individuele ratten.

Nagegaan werd of het meerdere malen bloed afnemen van één dier effect had op de prolactineconcentraties in het serum. Hiertoe werden 36 ratten pseudozwanger gemaakt en over zes groepen verdeeld. Van zes dieren werden op dag 2, 4 en 6 om 03.00 uur bloed verzameld (groep 1), terwijl op dezelfde dagen van zes dieren tussen 10.00 en 11.00 uur bloed werd afgenomen (groep 2). Op dag 4 en 6 werd om 03.00 uur bloed verzameld van zes dieren (groep 3) en van een andere groep van zes dieren (groep 4) tussen 10.00 en 11.00 uur. Tenslotte werd op dag 6 van zes dieren om 03.00 uur bloed afgenomen (groep 5) en van zes andere dieren tussen 10.00 en 11.00 uur (groep 6).

6-2.2. Inductie van uitgestelde pseudozwangerschap.

Nadat de dieren door steriele copulatie pseudozwanger waren gemaakt, werd op drie manieren getracht een uitgestelde pseudozwangerschap te induceren:

1. verwijderen van alle recent gevormde corpora lutea op dag 2 van pseudozwangerschap door cauterisatie (zie ook hoofdstuk 4);
2. verwijderen van de ovaria *in situ* op dag 0 van pseudozwangerschap van dieren met een *extra* ovarium onder het nierkapsel;
3. toedienen van 1 mg ergocorninehydrogenmaleïnaat (ECO) op dag 1 van pseudozwangerschap; toediening van 1 mg ECO aan pseudozwangere ratten veroorzaakt nl. een drastische daling van de progesteronconcentraties in het bloed (Fig. 6-2), waardoor de pseudozwangerschap eindigt.

In alle gevallen eindigde de geïnduceerde pseudozwangerschap wanneer één van de boven beschreven methoden werd gebruikt. Het optreden van een uitgestelde pseudozwangerschap werd vastgesteld aan de hand van dagelijkse vagina-uitstrijkjes. Op grond van de uitstrijkgegevens werden de dieren heringedeeld in dieren waarbij een uitgestelde pseudozwangerschap werd waargenomen en in dieren die cyclisch bleven. Van ieder dier werden 2 tot 4 bloedmonsters afgenomen gedurende de experimentele cyclus en tijdens het begin van de uitgestelde pseudozwangerschap of tijdens de op de experimentele cyclus volgende oestruscyclus. Tussen de opeenvolgende keren bloed afnemen verstreken tenminste 2 dagen. In de monsters werd prolactine gemeten. Van een aantal dieren werd ook op de dagen 4 - 8 van uitgestelde pseudozwangerschap bloed verzameld. In deze monsters werd progesteron gemeten met behulp van de radio-immunologische bepaling.

6-3. Resultaten.

6-3.1. Het effect op de prolactineconcentraties in het bloed van meerdere malen bloed afnemen bij individuele ratten.

Van pseudozwangere ratten werd 1, 2 of 3 keer bloed afgenomen. De

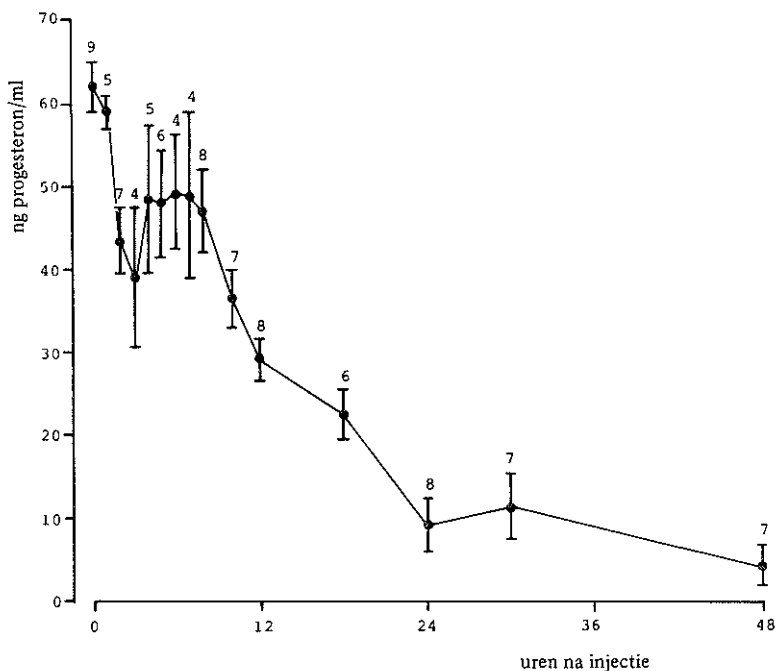


Fig. 6-2. Progesteronconcentraties in het plasma van pseudozwangere ratten na injectie van 1 mg ergocornine-hydrogenmaleïnaat op dag 5 van pseudozwangerschap. Het aantal dieren is in de figuur aangegeven. Van iedere rat werd driemaal bloed afgenomen in de periode van 48 uur.

resultaten (Fig. 6-3) laten zien dat het meerdere malen bloed afnemen vrijwel geen effect heeft op de prolactineconcentraties in het serum. Uit de gegevens die in hoofdstuk 3 gepresenteerd zijn is gebleken dat tijdens pseudozwangerschap de prolactineconcentraties in het serum hoog zijn om 03.00 en 19.00 uur. In de hierna beschreven experimenten werd daarom voornamelijk bloed verzameld om 03.00 en 19.00 uur. Dit betekent, dat wanneer de prolactinepieken in de tijd verschuiven door de experimentele omstandigheden, dit niet bemerkte werd.

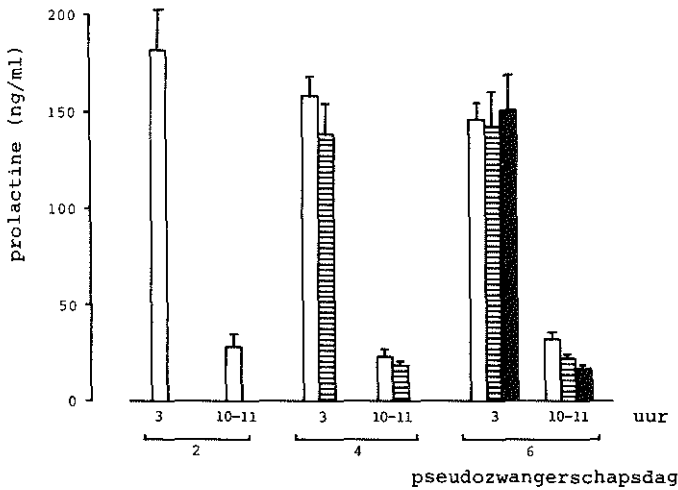


Fig. 6-3. Het effect van meerdere malen bloed afnemen op de prolactineconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten. Van de dieren werd eenmaal (n= 6; zwarte kolommen), tweemaal (n= 6; gestreepte kolommen) of driemaal (n= 6; open kolommen) bloed afgenomen tijdens de pseudozwangerschap. Het schema van bloed verzamelen is onder 6-2.1. vermeld.

6-3.2. Prolactineconcentraties vóór en na de verwijdering van de corpora lutea op dag 2 van pseudozwangerschap.

Van 127 pseudozwangere dieren werden alle recent gevormde corpora lutea verwijderd op dag 2 van pseudozwangerschap tussen 16.00 en 17.00 uur. Hierdoor werd in alle dieren de pseudozwangerschap afgebroken en werd na $3,1 \pm 0,1$ dagen een pro-oestrusuitstrijk waargenomen. Na deze experimentele cyclus werd in 61 dieren een uitgestelde pseudozwangerschap geconstateerd. De duur van de uitgestelde pseudozwangerschap was $9,9 \pm 0,2$ dagen (spreidingsbreedte 6 - 14 dagen). De andere dieren bleven cyclisch na de experimentele cyclus. De lengte van de eerste cyclus na de experimentele cyclus was $4,2 \pm 0,1$ dagen.

Na de inductie van de pseudozwangerschap werden hoge prolactineconcentraties in het serum gevonden om 03.00 en 19.00 uur (Fig. 6-4).

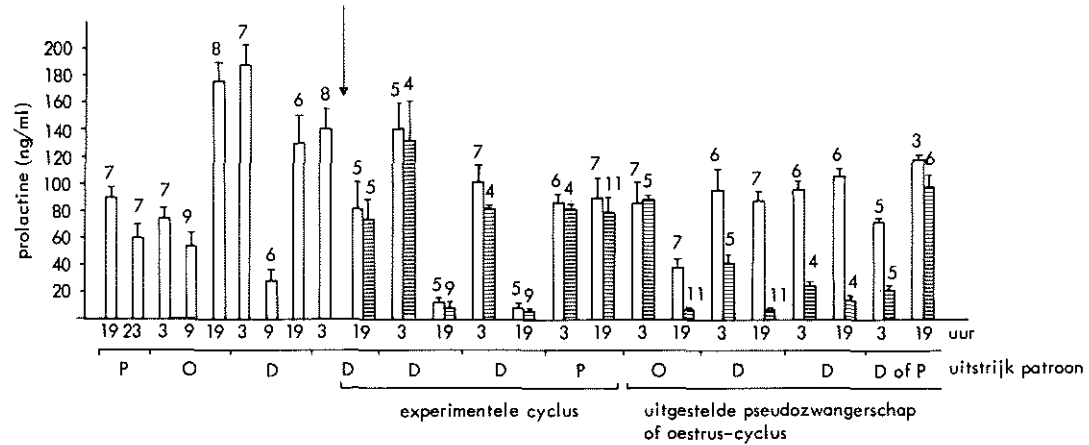


Fig. 6-4. Prolactineconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten na het verwijderen van alle recent gevormde corpora lutea op dag 2 van pseudozwangerschap. De pijl geeft het tijdstip van operatie aan. Open kolommen vertegenwoordigen de gemeten prolactineconcentraties bij de dieren die uitgesteld pseudozwanger werden, terwijl de gestreepte kolommen de prolactineconcentraties aangeven van de dieren die cyclisch bleven na luteëctomie. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven.

Na verwijdering van de corpora lutea verdwenen echter de hoge waarden om 19.00 uur. Tot aan de oestrusdag van de experimentele cyclus werden geen verschillen gevonden in de prolactineconcentraties om 03.00 of 19.00 uur tussen de dieren die uitgesteld pseudozwanger werden en degene die cyclisch bleven. Bij de dieren die cyclisch bleven verdwenen de hoge waarden om 03.00 uur geleidelijk en zij werden 7 - 9 dagen na de copulatie niet meer waargenomen. In de dieren die uitgesteld pseudozwanger werden, waren de prolactineconcentraties op de oestrusdag van de experimentele cyclus verhoogd, en van deze dag af werden zowel om 03.00 als 19.00 uur verhoogde prolactineconcentraties opgemerkt.

6-3.3. Prolactineconcentraties in het serum na de verwijdering van de ovaria *in situ* op dag 0 van pseudozwangerschap bij dieren met een ovariumtransplantaat onder het nierkapsel.

Voor dit experiment werden 46 dieren met een extra ovarium onder het nierkapsel gebruikt. Na de verwijdering van de ovaria *in situ* op dag 0 van de pseudozwangerschap tussen 15.00 en 16.00 uur werd bij 7 dieren een verlengde oestrusperiode waargenomen. De gegevens van deze dieren worden verder niet meer beschouwd. De ovarige dieren vertoonden een experimentele cyclus met een duur van $4,9 \pm 0,1$ dagen. Een uitgestelde pseudozwangerschap werd waargenomen in 23 dieren. Deze uitgestelde pseudozwangerschap duurde $11,2 \pm 0,3$ dagen (spreidingsbreedte 6 - 15 dagen). De overige 16 dieren hadden alle een 4-daagse cyclus na de experimentele cyclus.

De gegevens van de prolactineconcentraties in het serum na het verwijderen van de *in situ* ovaria zijn in Fig. 6-5 vermeld. Evenals in het vorige experiment werd tijdens de experimentele cyclus geen verhoging van de prolactineconcentraties om 19.00 uur waargenomen. Tot de oestrusdag van de experimentele cyclus werden geen verschillen in prolactineconcentraties waargenomen tussen de dieren die uitgesteld pseudozwanger werden of de dieren die cyclisch bleven. Op de volgende dagen verminderden de prolactineconcentraties in de dieren die cyclisch bleven, terwijl in de dieren met een uitgestelde pseudo-

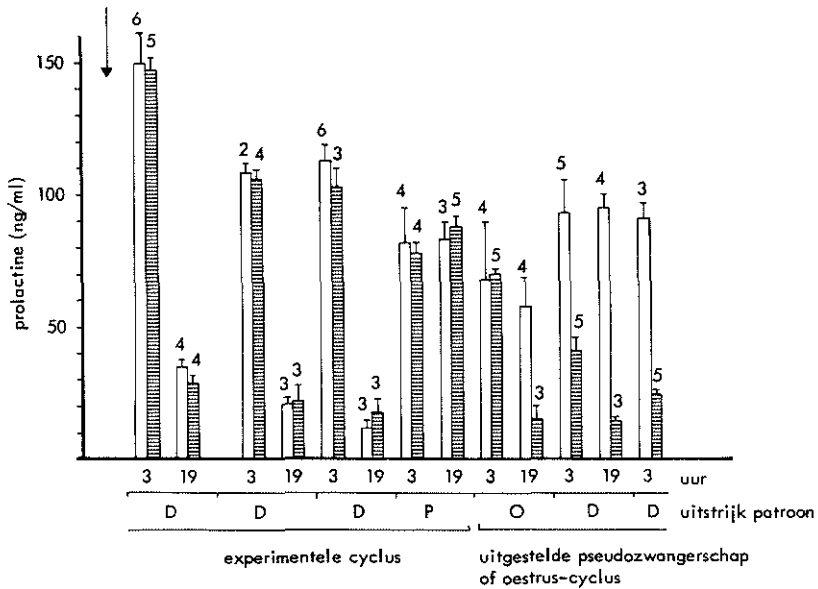


Fig. 6-5. Prolactineconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten na het verwijderen van de ovaria *in situ* uit ratten met een juveniel ovarium onder het nierkapsel. De operatie werd op dag 0 van pseudozwangerschap uitgevoerd. Open kolommen geven de gevonden prolactinespiegels bij ratten die uitgesteld pseudozwanger werden, terwijl de gestreepte kolommen de prolactineconcentraties bij dieren die cyclisch bleven aangeven. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. De pijl geeft het tijdstip van operatie aan.

zwangerschap hoge prolactineconcentraties gevonden werden op 03.00 en 19.00 uur.

6-3.4. Prolactineconcentraties in het serum na toediening van 1 mg ergocorninehydrogenmaleïnaat op dag 1 van pseudozwangerschap.

Ergocorninehydrogenmaleïnaat (ECO) werd gegeven aan 92 dieren

tussen 18.00 en 19.00 uur op dag 1 van pseudozwangerschap. Deze behandeling maakte een eind aan de pseudozwangerschap bij alle dieren. De lengte van de experimentele cyclus was $5,5 \pm 0,1$ dagen. Bij 9 dieren werd een verlengde oestrusperiode waargenomen. Na de experimentele cyclus werden 49 dieren pseudozwanger. De lengte van deze uitgestelde pseudozwangerschap was $13,5 \pm 0,2$ dagen (spreidingsbreedte 11 - 15 dagen). Vierendertig dieren bleven cyclisch na de experimentele cyclus en bij alle dieren was dit een 4-daagse cyclus.

Na de behandeling met ECO was zowel de verhoging om 03.00 als om 19.00 uur afwezig tot de pro-oestrusavond van de experimentele cyclus (Fig. 6-6). Vanaf de oestrusdag van de experimentele cyclus werden beide prolactineverhogingen weer gevonden in dieren die uitgesteld pseudozwanger werden.

6-3.5. Progesteronconcentraties in het serum tijdens uitgestelde pseudozwangerschap.

Bij een beperkt aantal dieren werd op dag 4 - 7 van de uitgestelde pseudozwangerschap progesteron bepaald. Relatief lage progesteronconcentraties werden gevonden wanneer de duur van de pseudozwangerschap tussen de 6 en 9 dagen was. Hogere progesteronconcentraties werden gemeten wanneer de uitgestelde pseudozwangerschap 10 of meer dagen duurde. De gegevens, samen met die van een normale pseudozwangerschap, staan vermeld in Tabel 6-1.

6-4. Discussie.

Uit het experiment beschreven in paragraaf 6-3.1. blijkt, dat het meerdere malen bloed afnemen van een rat vrijwel geen effect heeft op de prolactineconcentraties in het serum. Door een aantal auteurs werd beschreven dat wanneer prolactineconcentraties laag zijn deze stijgen als de rat in een toestand van stress werd gebracht door bijv. etherverdoving (212, 220, 298). Dit zou kunnen betekenen dat de basale prolactinewaarden die door ons gemeten werden te hoog zouden zijn. Aan de andere kant werd door Wuttke en Meites (328) gevonden

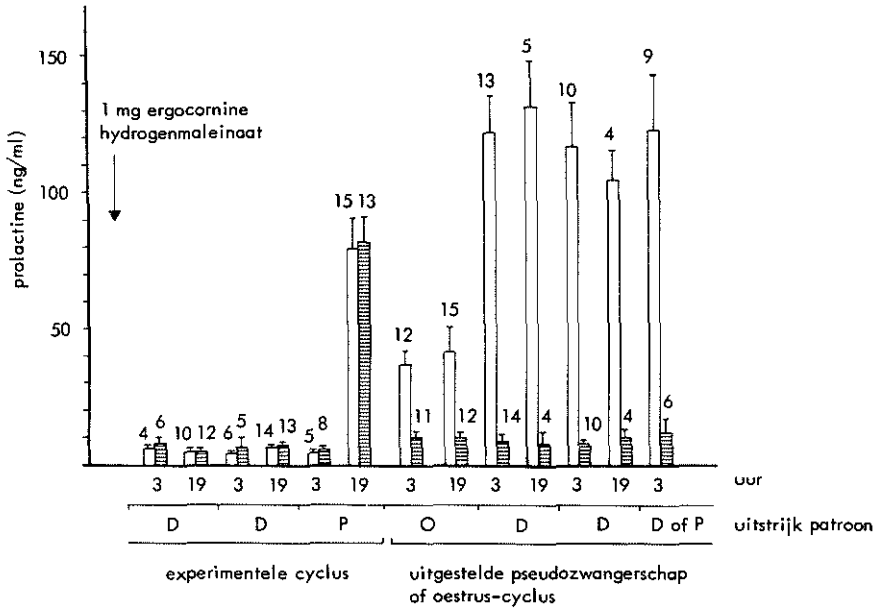


Fig. 6-6. Prolactineconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten na het toedienen van 1 mg ergocornine-hydrogenmaleinaat op dag 1 van pseudozwangerschap. Open kolommen geven de prolactinewaarden van de dieren die uitgesteld pseudozwanger werden, terwijl de gestreepte kolommen de prolactineconcentraties aangeven van de dieren die cyclisch bleven. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. De pijl geeft het tijdstip van de behandeling aan.

dat de prolactineconcentraties in het serum van ratten, die korte tijd (een halve minuut) blootgesteld waren aan etherdamp, vrijwel hetzelfde waren als die van ratten die onmiddellijk na het verwijderen uit de kooi gedecapiteerd waren.

Door ons werden 3 methoden gebruikt om uitgestelde pseudozwangerschap te induceren. Na het beëindigen van de pseudozwangerschap werd, na een experimentele cyclus, in ongeveer de helft van de dieren een uitgestelde pseudozwangerschap geconstateerd. Eén van deze methoden was het geven van 1 mg ECO. Zoals reeds in hoofdstuk 1 vermeld, is

Tabel 6-1. Progesteronconcentraties in het serum van ratten waarvan op de dagen 4-7 van normale of van uitgestelde pseudozwangerschap bloed afgenomen was.

dag van de pseudozwangerschap	normale pseudozwangerschap		uitgestelde pseudozwangerschap	
			duur 6-9 dagen	duur \geq 10 dagen
4	62,1 \pm 4,2 ⁺	(10) ⁺⁺	43,0 \pm 3,8 ^a (6)	72,8 \pm 4,5 (5)
5	78,8 \pm 4,8	(10)	47,5 \pm 6,8 ^a (6)	75,7 \pm 4,3 (6)
6	80,4 \pm 4,7	(10)	57,3 \pm 3,6 ^a (5)	82,7 \pm 5,1 (6)
7	72,4 \pm 4,0	(10)	46,7 \pm 5,6 ^a (5)	58,7 \pm 3,4 ^b (5)

⁺ ng progesteron/ml

⁺⁺ aantal dieren

^{a,b} significant verschillend van waarden tijdens normale pseudozwangerschap (a: P < 0,005; b: P < 0,05)

ECO een stof die de afgifte van het luteotrofe hormoon prolactine uit de hypofyse sterk remt (329, 338). Wanneer wij echter een ander ergot-alkaloid, 2-Br- α -ergokryptinemethaansulfonaat (CB 154, Sandoz), injecteerden (30 dieren; 1 mg/dier), dan werd nooit een uitgestelde pseudozwangerschap opgemerkt, hoewel de behandeling wel tot een afbreken van de pseudozwangerschap leidde. Dit gegeven illustreert dat er verschillen in het werkingsspectrum van deze ergot-alkaloiden bestaan, zoals reeds eerder aangetoond werd door Flückiger & Wagner voor implantatie en lactatie bij de rat (107).

De duur van de uitgestelde pseudozwangerschap varieerde van 6 - 15 dagen. Wanneer een verlengde di-oestrusperiode wordt waargenomen bestaat de mogelijkheid dat dit geen periode van luteale activiteit is (zie bijv. 109). Onze waarnemingen over de progesteronconcentraties tijdens de uitgestelde pseudozwangerschap pleiten echter wel voor het bestaan van een luteale fase. Tijdens een uitgestelde pseudozwangerschap van korte duur werden echter relatief lage progesteronconcentraties gemeten. Deze kort durende uitgestelde pseudozwangerschap werd alleen waargenomen bij dieren waarvan alle recente corpora lutea verwijderd en na verwijdering van de ovaria *in situ*, bij

dieren met een extra ovarium. Echter niet bij de dieren die met ECO behandeld werden. Het is mogelijk dat het ovarium tijdens de transplantatie of cauterisatie op een zodanige wijze beschadigd werd, dat een normale functie van het corpus luteum niet mogelijk was.

Bij de meeste dieren die cyclisch bleven na de experimentele cyclus, werd een 4-daagse cyclus waargenomen. Ook de cyclus na de pseudozwangerschap van dieren die normaal gesproken een 5-daagse cyclus vertonen, is meestal 4-daags (228, 275).

Na het cauteriseren van alle recente corpora lutea of na de verwijdering van de ovaria *in situ* van dieren met een ovariumtransplantaat werd om 19.00 uur geen verhoging van de prolactineconcentratie meer geconstateerd. De verhoging van de prolactineconcentraties om 03.00 uur bleef echter bestaan. Freeman c.s. (113) beschreven dat ook na ovariëctomie op dag 0 van de pseudozwangerschap de 19.00 uur prolactinepiek verdween, terwijl de 03.00 uur piek bleef bestaan. Blijkbaar is de 19.00 uur prolactinepiek steroïdafhankelijk en de 03.00 uur piek niet. Smith & Neill (293) lieten zien dat na cervicale stimulatie van langdurig ovariumloze en bijnierloze dieren alléén een 03.00 uur prolactinepiek geïnduceerd werd. Samenvattend kan derhalve gesteld worden dat cervicale stimulatie of copulatie 2 dagelijkse prolactinepieken induceert, en dat alleen de nachtelijke prolactinepiek ook zonder de aanwezigheid van steroïden afgescheiden wordt. Dat de beide prolactinepieken tijdens de pseudozwangerschap onafhankelijk gereguleerd worden blijkt ook uit het werk van McLean & Nikitovitch-Winer (205).

De gegevens van Freeman c.s. (113) en de gegevens gepresenteerd in dit hoofdstuk, steunen de hypothese van Zeilmaker (340), dat na copulatie gedurende ongeveer 8 dagen prolactine afgescheiden wordt, waardoor in deze periode nieuw gevormde corpora lutea geactiveerd kunnen worden. Het is echter niet duidelijk om welke reden in slechts 50 - 60% van de dieren een uitgestelde pseudozwangerschap wordt vastgesteld, hoewel bij alle dieren tijdens de experimentele cyclus om 03.00 uur verhoogde prolactineconcentraties werden waargenomen. Het is mogelijk dat de na de experimentele cyclus gevormde corpora lutea niet alle reageren op de verhoogde prolactinespiegels. Een andere mogelijkheid zou kunnen

zijn dat de mate van sexuele activiteit van de steriele mannelijke ratten, gebruikt om de pseudozwangerschap te induceren, van belang is voor het ontstaan van de uitgestelde pseudozwangerschap.

In een publicatie van Beach c.s. (34) worden gegevens gepresenteerd over de prolactineconcentraties bij 4-daags cyclische ratten na elektrische cervicale stimulatie op de tweede di-oestrusdag van de cyclus. Ook bij deze dieren wordt een uitgestelde pseudozwangerschap waargenomen (34, 131). Tot de ochtend van de oestrusdag na het einde van de experimentele cyclus werden echter geen verschillen gevonden in de prolactineconcentraties bij controle 4-daags cyclische dieren en ratten waarbij de cervix op de tweede di-oestrusdag gestimuleerd was (34). Deze resultaten komen goed overeen met die, welke verkregen werden bij de met ECO behandelde dieren. Als mogelijke verklaring voor het optreden van de uitgestelde pseudozwangerschap noemen Beach c.s. (34), dat de stimulus gegeven op de tweede di-oestrusdag als het ware latent blijft en zich pas na de vorming van nieuwe corpora lutea manifesteert. Zoals reeds vermeld werd, is deze verklaring gebaseerd op de afwezigheid van prolactinepieken na de cervicale stimulatie. Aangezien geen verhoogde prolactineconcentraties werden gemeten vóór het optreden van de uitgestelde pseudozwangerschap bij het experiment van Beach c.s. (34) en bij onze dieren na toediening van ECO, kan men betwijfelen of de verhoogde prolactineconcentraties tijdens de experimentele cyclus, zoals die in dit hoofdstuk beschreven zijn, van betekenis zijn voor het optreden van de uitgestelde pseudozwangerschap.

6-5. Samenvatting.

In dit hoofdstuk worden de gemeten prolactinespiegels voor en na het eindigen van de pseudozwangerschap beschreven. Het oogmerk van deze experimenten was, na te gaan of prolactine betrokken is bij het optreden van uitgestelde pseudozwangerschap.

Pseudozwangerschap werd geïnduceerd door steriele copulatie. Drie verschillende manieren werden gebruikt om uitgestelde pseudozwangerschap te induceren:

1. verwijderen van alle recent gevormde corpora lutea op dag 2 van pseudozwangerschap;
2. verwijderen van de ovaria *in situ* van dieren met een ovariumtransplantaat onder het nierkapsel op dag 0 van pseudozwangerschap;
3. toedienen van 1 mg ergocorninehydrogenmaleïnaat (ECO) op dag 1 van pseudozwangerschap.

In alle gevallen eindigde de pseudozwangerschap wanneer één van deze methoden gebruikt werd. De pseudozwangerschap werd door een experimentele cyclus gevolgd en bij de helft van het aantal dieren volgde hierna een uitgestelde pseudozwangerschap.

Na de inductie van pseudozwangerschap werden dagelijks twee prolactinepieken vastgesteld. Na het verwijderen van de ovaria *in situ* van dieren met een ovariumtransplantaat of het verwijderen van de recent gevormde corpora lutea werd de prolactinepiek om 19.00 uur niet meer waargenomen. De prolactinepiek om 03.00 uur bleef echter aanwezig. Na het toedienen van 1 mg ECO werden beide pieken niet meer geconstateerd. Tot aan de oestrusdag aan het eind van de experimentele cyclus werden geen verschillen van prolactinespiegels vastgesteld tussen dieren die uitgesteld pseudozwanger werden of die cyclisch bleven. Bij de dieren die cyclisch bleven na het beëindigen van de pseudozwangerschap door het verwijderen van corpora lutea of de ovaria *in situ*, verdwenen de prolactinepieken om 03.00 uur langzaam en zij waren niet meer aanwezig 7 - 9 dagen na de copulatie. Bij de dieren echter die na de experimentele cyclus uitgesteld pseudozwanger werden, waren beide prolactinepieken weer aanwezig van dag 0 van uitgestelde pseudozwangerschap af.

Wanneer de uitgestelde pseudozwangerschap 6 - 9 dagen duurde, werden in vergelijking met de normale pseudozwangerschap, relatief lage progesteronconcentraties gemeten. Wanneer de uitgestelde pseudozwangerschap echter 10 dagen of langer duurde, werden progesteronwaarden gevonden die gelijk waren aan die van een normale pseudozwangerschap.

Uit de experimenten kan noch geconcludeerd worden, noch kan ontkend worden, dat verhoogde prolactinespiegels tijdens de experimentele cyclus essentieel zijn voor het optreden van een uitgestelde pseudozwangerschap.

HORMOONSPIEGELS BIJ PSEUDOZWANGERE RATTEN BEHANDELD MET MEDROXYPROGESTERONACETAAT, LH, LH-RH OF OESTRADIOLBENZOAT*

7-1. Inleiding.

In hoofdstuk 3 werden de hormoonspiegels tijdens de pseudo-zwangerschap beschreven. Gevonden werd, dat er een relatie bestond tussen progesteron- en LH-concentraties in het bloed. Wanneer progesteronconcentraties in het plasma toenamen, daalden de LH-concentraties in het serum. Verder werd gevonden dat, aan het einde van de pseudozwangerschap een gelijktijdige stijging van de basale LH-concentraties en een daling van de progesteronconcentraties optrad. Blijkbaar bestaat er in de pseudozwangere rat een negatieve correlatie tussen progesteron- en LH-concentraties. Een dergelijke relatie tussen progesteron en LH werd ook bij de zwangere rat beschreven (211). De vraag kan nu gesteld worden of de stijging van de LH-concentraties noodzakelijk is voor de daling van de progesteronconcentraties aan het einde van de pseudozwangerschap, met andere woorden: is de stijging van de basale LH-concentraties in het serum aan het einde van de pseudozwangerschap een *conditio sine qua non* voor het optreden van de functionele luteolyse? Zoals reeds in hoofdstuk 1 werd vermeld, wordt onder functionele luteolyse verstaan "het proces dat tot een verandering in het steroidmetabolisme van de corpora lutea leidt, waardoor de luteale progesteronproductie

*Dit hoofdstuk is voor een deel gebaseerd op gegevens uit de volgende publicatie:

- de Greef, Dullaart & Zeilmaker, J. *Endocrinol.* (ter perse)
(ref. 125).

sterk vermindert" (196). Bij de rat gaat de functionele luteolyse gepaard met een toegenomen omzetting van progesteron naar 20α -dihydroprogesteron (31) als gevolg van een toename van de activiteit van het enzym 20α -hydroxysteroiddehydrogenase (326). Teneinde na te gaan of de stijging van de LH-concentraties in het serum van belang is voor de inductie van de functionele luteolyse werd een progestatieve stof (medroxyprogesteronacetaat; 6α -methyl-17-acetoxy-pregn-4-ene-3,20-dion) toegediend aan pseudozwangere ratten. Medroxyprogesteronacetaat is een krachtige, lang werkende ovulatieremmer. De remming van de ovulatie komt waarschijnlijk tot stand doordat medroxyprogesteronacetaat de gonadotrofine-afgifte uit de hypofyse remt (76, 169, 172, 259). Derhalve mag verwacht worden dat bij ratten die eenmalig met medroxyprogesteronacetaat behandeld worden, de LH-concentraties laag blijven. Aangezien er een aanwijzing is dat medroxyprogesteronacetaat een direct effect heeft op de corpora lutea van het varken (1), werd deze stof zowel op dag 1 als op dag 3 van de pseudozwangerschap aan intacte ratten gegeven. Ook aan gehysterectomeerde dieren werd eenmalig medroxyprogesteronacetaat op dag 5 van de pseudozwangerschap gegeven. Op deze wijze was het mogelijk, na te gaan of een daling van de progesteronconcentraties altijd een bepaalde tijd na de toediening van medroxyprogesteronacetaat optrad.

In hoofdstuk 5 werd gevonden, dat tijdens pseudozwangerschap de LH-concentraties in het serum van gehysterectomeerde dieren lager waren dan die van controle-dieren (zie paragraaf 5-3.2.). In de discussie van dat hoofdstuk werd de verlenging van de luteale fase bij de gehysterectomeerde dieren met het (veronderstelde) luteolytische effect van LH verklaard. Indien het juist is, dat de verlenging van de pseudozwangerschap bij de gehysterectomeerde dieren veroorzaakt wordt door de verlaagde LH-concentraties, dan zal verwacht kunnen worden dat behandeling met LH tot een verkorten van de pseudozwangerschap bij gehysterectomeerde dieren leidt. In dit hoofdstuk worden een aantal experimenten beschreven die tot doel hadden om na te gaan of LH inderdaad een luteolytische werking bezit.

In dit hoofdstuk wordt verder het effect van het toedienen van oestradiolbenzoaat op de progesteronspiegels in de pseudozwangerschap

beschreven. Bischof c.s. (40, 41) rapporteerden, dat het dagelijks toedienen van oestradiolbenzooat in een lage dosis (10 - 100 ng oestradiolbenzooat/kg lichaamsgewicht) tijdens pseudozwangerschap tot een duidelijk verminderde ovariële progesteronproductie op dag 6 van pseudozwangerschap leidde. Daar dit effect van oestradiolbenzooat niet werd geconstateerd als gelijktijdig een antiserum tegen LH werd gegeven (41), concludeerden de auteurs dat de behandeling met lage doses oestradiolbenzooat tot een verhoogde afgifte van LH leidde. Deze verhoging van de perifere LH-concentraties zou luteolytisch zijn, zodat een daling van de ovariële progesteronproductie zou optreden (41). Daar ook in gehysterectomeerde dieren een verminderde progesteronafgifte werd gevonden na het dagelijks toedienen van een lage dosis oestradiolbenzooat, lijkt het effect van oestradiolbenzooat niet via de uterus tot stand te komen (41). In dit hoofdstuk wordt de hypothese van Bischof c.s. (41), dat het effect van oestradiolbenzooat op de luteale progesteronproductie *via* het verhogen van de LH-afgifte verloopt, getoetst.

7-2. Materiaal en Methoden.

Medroxyprogesteronacetaat (Depo-Provera, Upjohn) werd verdund met 0,9% NaCl oplossing, waardoor suspensies met 1 of 10 mg medroxyprogesteronacetaat/0,5 ml werden verkregen. Schape-LH (NIH S8 of S17) werd opgelost in een 50% oplossing van polyvinylpyrrolidon in aquadest (w/w). Dit werd gedaan om de opname van LH in het dier te vertragen (213). Het gebruikte polyvinylpyrrolidon (K 30 van Fluka) heeft een moleculair gewicht van ongeveer 40000. De dagelijkse dosis LH (0, 2, 5 of 10 µg) was opgelost in 0,2 ml 50% polyvinylpyrrolidonoplossing. Oestradiolbenzooat werd in olie opgelost, en de volgende doses werden gebruikt: 0, 5, 20 en 1000 ng oestradiolbenzooat/0,1 ml. Alle gebruikte stoffen werden subcutaan ingespoten. Tussen 09.00 en 11.00 uur werden bloedmonsters van de dieren afgenomen. Ieder dier werd 2 - 4 maal gebloed, en tenminste 2 dagen verstreken tussen opeenvolgende keren bloed afnemen. In de verkregen sera werden met radio-immunologische

bepalingen de concentraties van LH, FSH en/of progesteron gemeten.

Het is aannemelijk dat medroxyprogesteronacetaat niet interfereert met de radio-immunologische bepaling voor progesteron aangezien tijdens de bepaling 50 µg medroxyprogesteronacetaat slechts 10% van het radioactieve progesteron van het antiserum verdringt. Verder werd gevonden dat na het toedienen van 10 mg medroxyprogesteronacetaat aan geovariëctomeerde ratten de gemeten progesteronconcentraties in het plasma niet veranderen (n = 8).

In één experiment werd tijdens pseudozwangerschap 200 ng LH-RH (Beckman) geïnjecteerd in de vena jugularis. De pseudozwangere ratten werden voor de intraveneuze injectie onder lichte etheranarcose gebracht. Het gebruikte LH-RH was met fysiologische zoutoplossing verdund tot een concentratie van 500 ng/ml. Vlak voor de injectie en op verschillende tijdstippen na de injectie werd bloed verzameld van de ratten. Van iedere rat werd viermaal bloed afgenomen. In de verkregen monsters werd progesteron gemeten met de radio-immunologische bepaling. Tevens werd LH gemeten in de monsters verkregen vlak voor de injectie en 15, 30 en 60 minuten na de injectie.

7-3. Resultaten.

7-3.1. FSH-, LH- en progesteron-concentraties in het serum van pseudozwangere ratten na het toedienen van medroxyprogesteronacetaat op dag 3 van pseudozwangerschap.

Pseudozwangere ratten werden op dag 3 van pseudozwangerschap tussen 17.00 en 18.00 uur met 1 of 10 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld. De controle-groep werd subcutaan met 0,5 ml fysiologische zoutoplossing ingespoten. De lengte van de pseudozwangerschap was $13,5 \pm 0,2$ dagen (n = 35) in de controle-ratten. De behandeling met 1 mg medroxyprogesteronacetaat verlengde de periode met di-oestrus-uitstrijkjes tot $21,4 \pm 0,3$ dagen (n = 38). Wanneer 10 mg medroxyprogesteronacetaat werd gegeven, werd een nog langere periode met leucocyten in de uitstrijk gevonden: in alle dieren (n = 37) werden gedurende de waarnemingsperiode (2 maanden) alleen uitstrijkjes met

leucocyten gevonden.

Van dag 4 tot dag 10 varieerden de gemiddelde FSH-concentraties tussen 90 en 110 ng FSH RP-1/ml (Fig. 7-1) en tussen de drie groepen

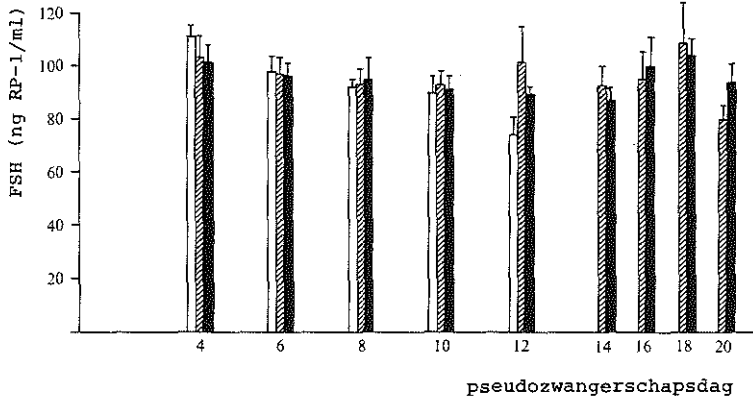


Fig. 7-1. FSH-concentraties in het serum van pseudozwangere ratten na behandeling met fysiologische zoutoplossing (n= 6; open kolommen), 1 mg medroxyprogesteronacetaat (n= 6; gestreepte kolommen) of 10 mg medroxyprogesteronacetaat (n= 5; zwarte kolommen) op dag 3 van pseudozwangerschap. Tussen de drie groepen werden geen significante verschillen gevonden. Bij de controle-dieren, echter, waren de FSH-concentraties op dag 12 lager dan op de dagen 8 of 10 (*t* test $P < 0,05$).

dieren werd geen significant verschil gevonden. In de controle-ratten werden op dag 12 van pseudozwangerschap lagere FSH-concentraties in het serum aangetroffen dan op de dagen 8 of 10 ($P < 0,05$). Bij de met 1 mg medroxyprogesteronacetaat behandelde ratten werden aan het eind van de di-oestrusperiode (dag 20) gemiddeld lagere FSH-concentraties gevonden dan op de voorafgaande dagen (dag 16 of 18). Dit verschil was echter juist niet significant.

Het LH-profiel tijdens pseudozwangerschap in de controle-ratten is afgebeeld in Fig. 7-2. Wird aan pseudozwangere ratten medroxyprogesteronacetaat gegeven, dan werden lagere LH-concentraties in het serum gemeten dan in de controle-dieren (Fig. 7-2); de hoogste dosis medroxyprogesteronacetaat (10 mg/rat) had meer invloed op de LH-

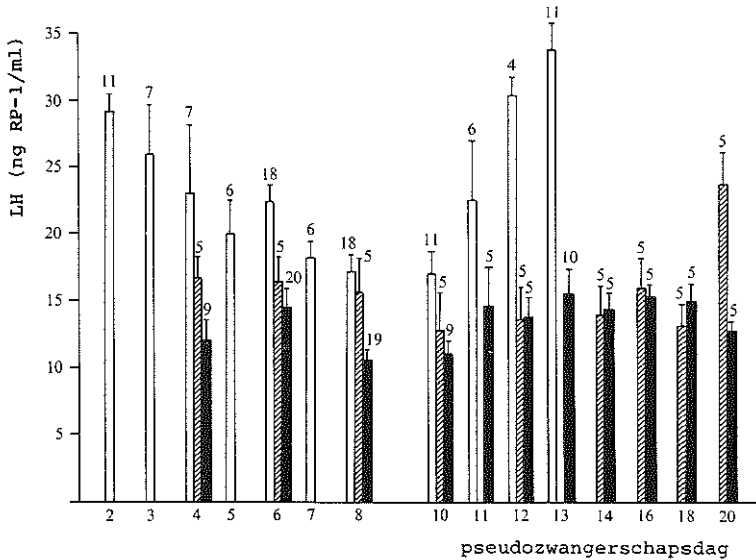


Fig. 7-2. LH-concentraties in het serum van pseudozwangere ratten na behandeling met fysiologische zoutoplossing (open kolommen), 1 mg medroxyprogesteronacetaat (gestreepte kolommen) of 10 mg medroxyprogesteronacetaat (zwarte kolommen) op dag 3 van pseudozwangerschap. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. De dieren die met medroxyprogesteronacetaat behandeld waren hadden op de dagen 4-10 lagere LH-concentraties dan de controle-dieren (variantie-analyse: 1 mg $P < 0,05$ en 10 mg $P < 0,005$).

concentraties dan de dosis van 1 mg/rat (variantie-analyse dag 4 - 10: 1 mg $P < 0,05$ en 10 mg $P < 0,005$ in vergelijking met de waarden van de controle-ratten). Een toename van de LH-concentraties in het serum werd opgemerkt na dag 10 van de pseudozwangerschap in de controle-dieren, terwijl in de dieren die met 1 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren een stijging van de LH-concentraties van dag 18 tot dag 20 werd gevonden ($P < 0,025$). Echter, bij de dieren die met 10 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren werd geen stijging van de LH-concentraties waargenomen (Fig. 7-2).

Bij de controle-ratten stegen de progesteronconcentraties in het serum van dag 2 af tot aan dag 5, bleven relatief constant tot en met

dag 8, en namen na dag 8 van de pseudozwangerschap af (Fig. 7-3).

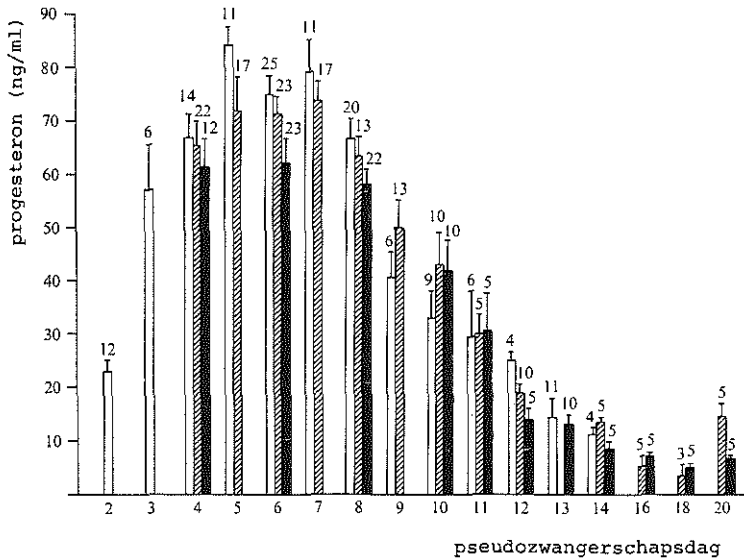


Fig. 7-3. Progesteronconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten na behandeling met fysiologische zoutoplossing (open kolommen), 1 mg medroxyprogesteronacetaat (gestreepte kolommen) of 10 mg medroxyprogesteronacetaat (zwarte kolommen) op dag 3 van pseudozwangerschap. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. De dieren die met 10 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren hadden op de dagen 4-8 lagere progesteronconcentraties dan de controle-dieren (variantie-analyse: $P < 0,05$).

Hetzelfde profiel werd gevonden in de dieren die met medroxyprogesteronacetaat behandeld waren (Fig. 7-3). Er was geen significant verschil tussen progesteronconcentraties van de controle-dieren en de dieren die met 1 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren. Na behandeling met 10 mg medroxyprogesteronacetaat werd op de dagen 4 - 8 een geringe, doch significante, daling van de progesteronconcentraties in het serum t.o.v. de controle-dieren waargenomen (variantie-analyse $P < 0,025$).

7-3.2. Progesteronconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten na toedienen van 10 mg medroxyprogesteronacetaat op dag 1 van pseudozwangerschap.

In dit experiment werd nagegaan of de afname van de progesteronproductie door de corpora lutea het gevolg is van een direct effect van medroxyprogesteronacetaat. Na het toedienen van 10 mg medroxyprogesteronacetaat op dag 1 van pseudozwangerschap werd een vrijwel identieke progesteronprofiel waargenomen als bij dieren die op dag 3 van de pseudozwangerschap met 10 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren (Fig. 7-4). Dit betekent, dat de afname van de progesteron-

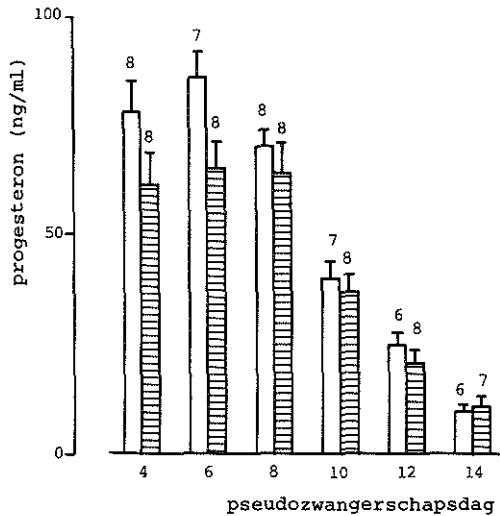


Fig. 7-4. Progesteronconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten na behandeling met fysiologische zoutoplossing (open kolommen) of 10 mg medroxyprogesteronacetaat (gestreepte kolommen) op dag 1 van pseudozwangerschap. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. De dieren die met 10 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren hadden op de dagen 4-8 lagere progesteronconcentraties in het serum dan de controle-dieren (variantie-analyse: $P < 0,01$).

concentraties na dag 8 van de pseudozwangerschap bij de dieren die met medroxyprogesteronacetaat behandeld werden, blijkbaar niet gerelateerd is met het tijdstip van het toedienen van medroxyprogesteronacetaat. Zoals uit Fig. 7-4 blijkt werd ook een geringe daling van de progesteronconcentraties in het serum op de dagen 4 - 8 van pseudozwangerschap gemeten, wanneer 10 mg medroxyprogesteronacetaat op dag 1 werd gegeven (variantie-analyse: $P < 0,01$, in vergelijking met de waarden van de controle-dieren).

7-3.3. Progesteron- en LH-concentraties in het serum van gehysterectomeerde pseudozwangere ratten na toedienen van 10 mg medroxyprogesteronacetaat op dag 5 van pseudozwangerschap.

Op dag 5 van de pseudozwangerschap werden gehysterectomeerde dieren met fysiologische zoutoplossing of met 10 mg medroxyprogesteronacetaat ingespoten. De lengte van de pseudozwangerschap was $22,7 \pm 0,4$ dagen ($n = 18$) bij de controle-dieren, terwijl bij de dieren die met 10 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren een dioestrusperiode van $73,6 \pm 2,5$ dagen ($n = 24$) waargenomen werd. Op verschillende dagen van pseudozwangerschap werd bloed afgenomen van de ratten. Van iedere rat werd 4 maal bloed afgenomen en tussen de opeenvolgende keren bloed afnemen verstreek 4 dagen.

De LH-concentraties in het serum (Fig. 7-5) tonen dat vanaf dag 16 van pseudozwangerschap de LH-concentraties bij de controle-dieren stijgen, terwijl geen stijging van de LH-concentraties werd gezien bij de dieren die met 10 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren. Verder blijkt uit Fig. 7-5 dat de behandeling met 10 mg medroxyprogesteronacetaat tot een verlaging van de LH-concentraties leidt.

Het toedienen van 10 mg medroxyprogesteronacetaat op dag 5 van pseudozwangerschap aan gehysterectomeerde ratten veranderde het progesteronprofiel niet (Fig. 7-6). Evenwel, evenals bij de beide voorafgaande experimenten, werden echter bij dieren die met medroxyprogesteronacetaat behandeld waren enigszins lagere progesteronconcentraties gevonden dan bij de controle-dieren.

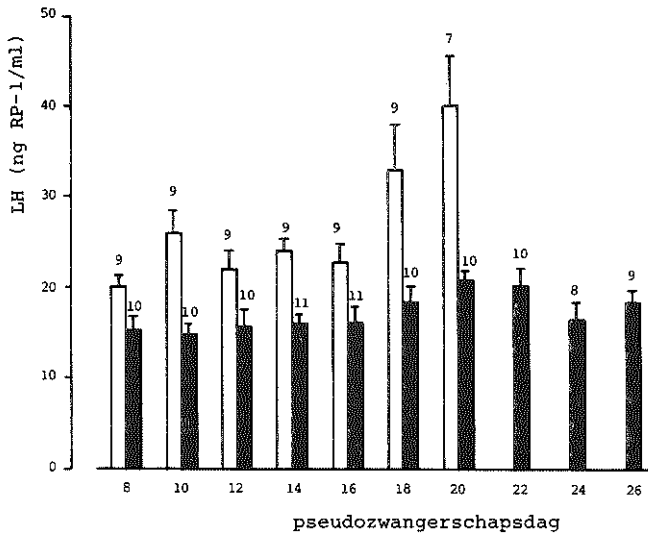


Fig. 7-5. LH-concentraties in het serum van pseudozwangere gehysterectomeerde ratten na behandeling met fysiologische zoutoplossing (open kolommen) of 10 mg medroxyprogesteronacetaat (zwarte kolommen) op dag 5 van pseudozwangerschap. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. De dieren die met 10 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren hadden op de dagen 8-16 lagere LH-concentraties in het serum dan de controle-dieren (variantie-analyse: $P < 0,01$).

7-3.4. Progesteronconcentraties in het plasma en de lengte van pseudozwangerschap bij intacte en gehysterectomeerde ratten behandeld met schape-LH of LH-RH.

Van dag 2 tot en met dag 8 van pseudozwangerschap werd aan ratten 0, 2, 5 of 10 μg LH (S8) per dag gegeven. De lengte van pseudozwangerschap was in deze dieren respectievelijk $13,8 \pm 0,4$ ($n = 14$), $13,3 \pm 0,3$ ($n = 12$), $12,2 \pm 0,7$ ($n = 10$) en $14,2 \pm 1,3$ ($n = 12$) dagen. De op de dagen 4 - 7 van pseudozwangerschap in het serum gemeten progesteron- en LH-concentraties staan vermeld in Fig. 7-7 en Fig. 7-8. Uit Fig. 7-7 blijkt dat de progesteronconcentraties in het serum verlaagd waren in geval 2 of 5 μg LH/dag gegeven werd. Ondanks de verlaagde progesteron-

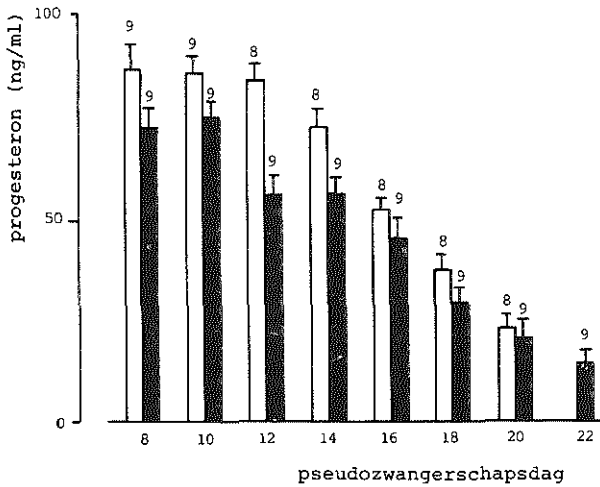


Fig. 7-5. Progesteronconcentraties in het serum van pseudozwangere gehysterectomeerde ratten na behandeling met fysiologische zoutoplossing (open kolommen) of 10 mg medroxyprogesteronacetaat (zwarte kolommen) op dag 5 van pseudozwangerschap. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. De dieren die met 10 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren hadden op de dagen 8-16 lagere progesteronconcentraties in het serum dan de controle-dieren (variantie-analyse: $P < 0,05$).

teronconcentraties veranderde de gemiddelde lengte van de pseudozwangerschap niet (zie boven).

Een eenmalige intraveneuze injectie van 200 ng LH-RH in intacte pseudozwangere ratten op de ochtend van dag 5 van pseudozwangerschap leidde tot een tijdelijke verlaging van de progesteronconcentraties in het plasma (Fig. 7-9). De na de LH-RH-injectie waargenomen stijging in het serum van de LH-concentraties staat vermeld in Fig. 7-10. Er werd geen significante verandering in de lengte van de pseudozwangerschap gevonden na de eenmalige LH-RH-injectie: controle-dieren $14,5 \pm 0,3$ dagen ($n = 16$); experimentele dieren $14,0 \pm 0,3$ dagen ($n = 14$). Om na te gaan of meerdere malen toedienen van LH-RH invloed

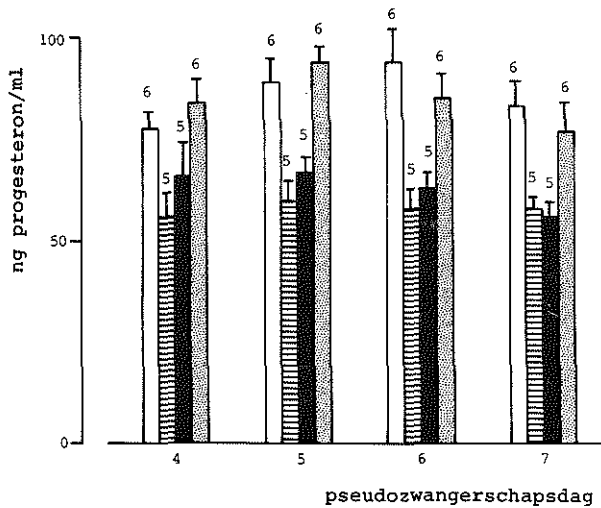


Fig. 7-7. Progesteronconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten die van dag 2 tot en met dag 8 van pseudozwangerschap dagelijks met 0 µg (open kolommen), 2 µg (gestreepte kolommen), 5 µg (zwarte kolommen) of 10 µg (gestippelde kolommen) LH-S8 behandeld werden. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. Bij dieren die dagelijks met 2 of 5 µg LH-S8 werden behandeld, werden lagere progesteronconcentraties gemeten dan bij de controle-dieren (variantie-analyse: dagen 4-7 $P < 0,01$).

had op de lengte van pseudozwangerschap, werd bij 12 dieren op dag 2 van de pseudozwangerschap om 19.00 uur een canule in de vena jugularis gebracht. Op de dagen 3, 4, 5 en 6 werd 's ochtends en 's avonds tussen 09.00 en 10.00 uur fysiologische zoutoplossing ($n = 6$) of 200 ng LH-RH ($n = 6$) intraveneus via de ingebrachte canule toegediend. De lengte van pseudozwangerschap was $14,2 \pm 0,2$ dagen bij de controle-dieren en $13,4 \pm 0,4$ dagen bij de dieren die LH-RH gekregen hadden.

Van dag 2 tot en met dag 20 van pseudozwangerschap werd dagelijks 0, 2 of 5 µg schape-LH (S17) toegediend aan gehysterectomeerde dieren. De behandeling veranderde de lengte van de pseudozwangerschap vrijwel niet: $22,9 \pm 1,1$ dagen bij de controle-dieren ($n = 14$), $19,1 \pm 0,9$ dagen bij de dieren die met 2 µg LH/dag behandeld werden ($n = 16$), en $22,8 \pm 0,8$ dagen bij de dieren waaraan 5 µg LH/dag gegeven werd

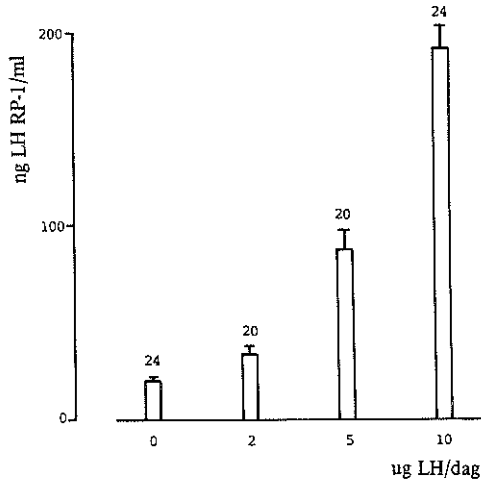


Fig. 7-8. LH-concentraties in het serum van pseudozwangere ratten die van dag 2 tot en met dag 8 van pseudozwangerschap dagelijks met 0, 2, 5 of 10 µg LH-S8 behandeld werden. Per dosis is de gemiddelde LH-concentratie van dag 4 tot en met dag 7 weergegeven. Het aantal dieren is boven de kolommen vermeld.

(n = 18). Van de helft van de dieren van iedere groep werd bloed afgenomen op dag 5, 11 en 17 van pseudozwangerschap, terwijl van de andere dieren bloed op de dagen 8, 14 en 20 verzameld werd. In de verkregen bloedmonsters werd progesteron bepaald. Uit Fig. 7-11 blijkt dat een dosis van 2 µg LH/dag tot een verlaagde progesteronspiegel in het plasma leidde; daarentegen veranderde de progesteronconcentratie ten opzichte van die van de controle-dieren niet wanneer 5 µg LH/dag gegeven werd.

Hoewel de behandeling met LH niet leidde tot een significante verandering van de lengte van de pseudozwangerschap, werden vaak afwijkende vagina-uitstrijkjes waargenomen in de met LH behandelde dieren. De belangrijkste verandering was dat het aantal cellen toegenomen was en dat relatief veel gave epitheelcellen aangetroffen werden in de uitstrijk.

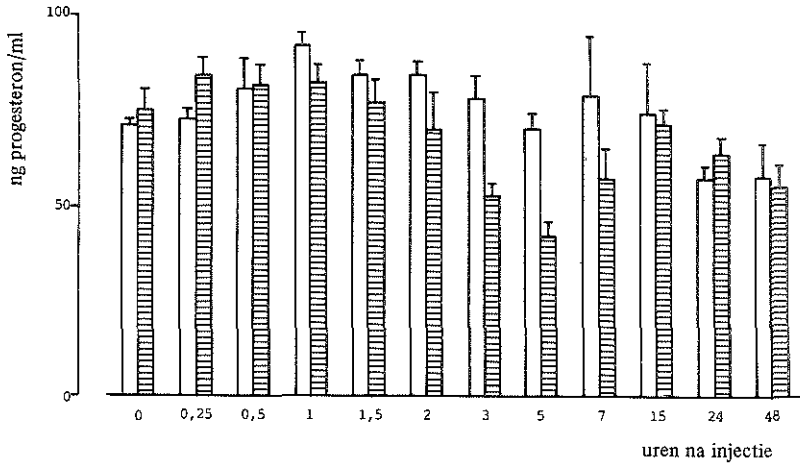


Fig. 7-9. Progesteronconcentraties in het plasma van pseudozwangere ratten na een intraveneuze injectie met fysiologische zoutoplossing (n= 7; open kolommen) of 200 ng LH-RH (n= 12; gestreepte kolommen) op dag 5 van pseudozwangerschap. Drie en vijf uur na de injectie waren de progesteronconcentraties bij de met LH-RH behandelde dieren significant lager dan bij de controle-dieren (t test: $P < 0,005$).

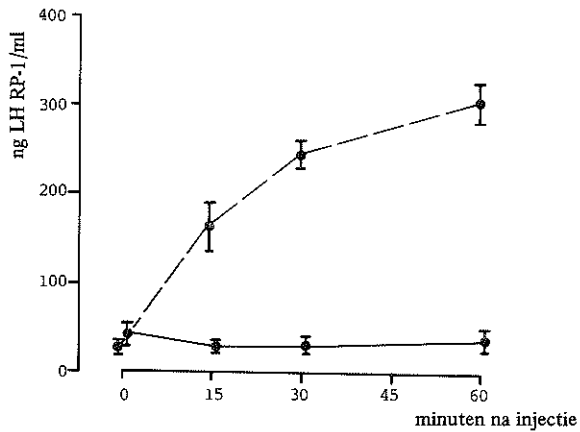


Fig. 7-10. LH-concentraties in het plasma van pseudozwangere ratten na een intraveneuze injectie met fysiologische zoutoplossing (n= 7; ●—●) of 200 ng LH-RH (n= 12; ●-●) op dag 5 van pseudozwangerschap.

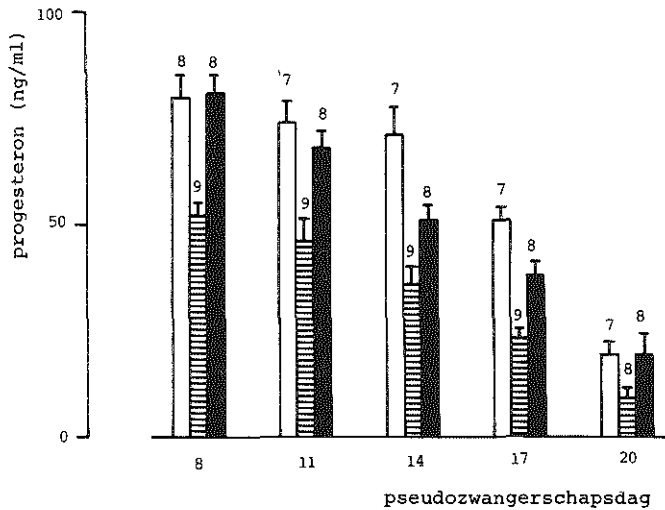


Fig. 7-11. Progesteronconcentraties in het serum van gehysterectomeerde pseudozwangere ratten die van dag 2 tot en met dag 20 van pseudozwangerschap dagelijks met 0 µg (open kolommen), 2 µg (gestreepte kolommen) of 5 µg (zwarte kolommen) LH-S17 behandeld werden. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. Bij dieren die met 2 µg LH-S17 behandeld werden, waren de progesteronconcentraties lager dan bij de controle-dieren (variantie-analyse: dagen 8-20 $P < 0,025$).

7-3.5. Progesteron- en LH-concentraties in het serum van pseudozwangere ratten die van dag 0 tot en met dag 8 van pseudozwangerschap met oestradiolbenzooat behandeld werden.

Na inductie van pseudozwangerschap werd van dag 0 tot en met dag 8 aan de ratten dagelijks 0, 5, 20 of 1000 ng oestradiolbenzooat gegeven. De lengte van pseudozwangerschap was respectievelijk $13,8 \pm 0,2$ (n = 20), $14,0 \pm 0,2$ (n = 20), $15,2 \pm 0,3$ (n = 18), en $17,3 \pm 0,4$ (n = 18) dagen.

De gemeten progesteronconcentraties in het serum staan vermeld in Fig. 7-12, terwijl de gevonden LH-concentraties in Fig. 7-13 gegeven zijn. Uit Fig. 7-13 blijkt dat oestradiolbenzooat in alle doseringen de LH-concentraties in het serum verlaagt, waarbij de dosis van

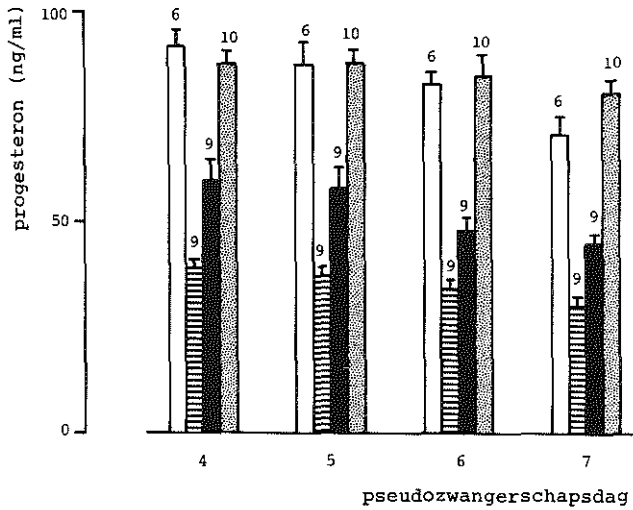


Fig. 7-12. Progesteronconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten die van dag 0 tot en met dag 8 van pseudozwangerschap dagelijks met 0 ng (open kolommen), 5 ng (gestreepte kolommen), 20 ng (zwarte kolommen) of 1000 ng (gestippelde kolommen) oestradiolbenzoaat in olie behandeld werden. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. De dieren die met 5 of 20 ng oestradiolbenzoaat behandeld werden hadden in vergelijking met de controle-dieren lagere progesteronconcentraties (variantie-analyse dagen 4-7: 5 ng/dag $P < 0,005$; 20 ng/dag $P < 0,01$).

1000 ng oestradiolbenzoaat/dag het meeste effect had. Verlaagde progesteronconcentraties tijdens de pseudozwangerschap werden gevonden bij de dieren die dagelijks 5 of 20 ng oestradiolbenzoaat ontvingen, maar bij de dieren die 1000 ng oestradiolbenzoaat/dag kregen, veranderde de progesteronspiegel niet in vergelijking met die van de controle-dieren (Fig. 7-12).

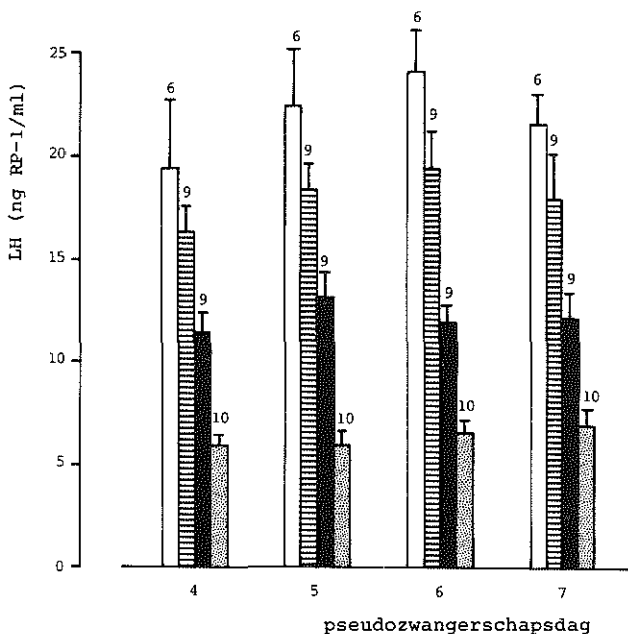


Fig. 7-13. LH-concentraties in het serum van pseudo-zwangere ratten die van dag 0 tot en met dag 8 van pseudozwangerschap dagelijks met 0 ng (open kolommen), 5 ng (gestreepte kolommen), 20 ng (zwarte kolommen) of 1000 ng (gestippelde kolommen) oestradiolbenzooat in olie behandeld werden. Het aantal dieren is boven de kolommen aangegeven. De dieren die met oestradiolbenzooat behandeld werden hadden in vergelijking met de controle-dieren lagere LH-concentraties (variantie-analyse dagen 4-7: 5 ng/dag $P < 0,05$; 20 ng/dag $P < 0,01$; 1000 ng/dag $P < 0,005$).

7-4. Discussie.

7-4.1. Medroxyprogesteronacetaat.

De in dit hoofdstuk beschreven experimenten bevestigen de waarnemingen van Dickmann (76), dat ratten na behandeling met medroxyprogesteronacetaat een verlengde periode van di-oestrus hebben. Het

is waarschijnlijk dat in deze periode van di-oestrus geen ovulaties optreden (172). De uitstrijkgegevens suggereren dat de duur van luteale activiteit verlengd is na toediening van medroxyprogesteronacetaat. Onze waarnemingen laten echter zien dat de door medroxyprogesteronacetaat geïnduceerde verlenging van di-oestrus niet geassocieerd is met een verlengde luteale activiteit.

De stijging van de LH-concentraties in het serum die bij intacte dieren na dag 10 van de pseudozwangerschap waargenomen wordt, werd niet op dit tijdstip gezien wanneer de dieren met medroxyprogesteronacetaat behandeld waren. Na toedienen van 1 mg medroxyprogesteronacetaat op dag 3 van pseudozwangerschap werd op dag 20, dit was 2 - 3 dagen vóór het waarnemen van gecornificeerde cellen in de uitstrijk, een stijging van de LH-concentraties gevonden. Echter na toedienen van 10 mg medroxyprogesteronacetaat werd geen verhoging van de LH-concentraties gevonden in de eerste 20 - 22 dagen van de di-oestrusperiode (zie 7-3.1. en 7-3.3.). Uit de onder 7-3.1., 7-3.2. en 7-3.3. vermelde experimenten blijkt, dat er geen vaste tijdsrelatie tussen de toediening van medroxyprogesteronacetaat en de afname van de progesteronconcentraties bestaat tijdens de luteale fase. Dit maakt het onwaarschijnlijk dat medroxyprogesteronacetaat een direct effect op de corpora lutea heeft.

Ondanks de lage LH-concentraties, gevonden in het serum van de dieren die met medroxyprogesteronacetaat behandeld waren, trad de functionele luteolyse —zoals die bepaald werd door het meten van de progesteronspiegels— voor alle groepen dieren op hetzelfde tijdstip op. Dit maakt het aannemelijk, dat de functionele luteolyse aan het einde van de pseudozwangerschap niet afhankelijk is van een stijging van de LH-concentraties in het serum. Het is veeleer waarschijnlijk dat de toename van de LH-concentraties aan het einde van de pseudozwangerschap het gevolg is van de daling van de progesteronconcentraties. Deze suggestie werd reeds in hoofdstuk 3 geoppend (zie ook 319). Of het uitblijven van de stijging van de LH-concentraties in het serum het optreden van de *structurele* luteolyse vertraagt is een nog niet beantwoorde vraag.

Het toedienen van 10 mg medroxyprogesteronacetaat aan pseudo-zwangere ratten verlaagde de progesteronconcentraties in het serum enigermate. Wanneer vrouwen na de ovulatie behandeld werden met synthetische progestativa (medroxyprogesteronacetaat, norethisteron, norgestrel of chlormadinon-acetaat) werden ook duidelijk verlaagde progesteronconcentraties tijdens de luteale fase waargenomen (155). De verminderde progesteronproductie door het corpus luteum na toedienen van een synthetisch progestativum kan veroorzaakt worden doordat het progestativum óf rechtstreeks op het ovarium inwerkt óf de gonadotrofine-afgifte beïnvloedt. Na het toedienen van HCG werd bij vrouwen die met norgestrel of norethisteron behandeld werden, een verhoging van de progesteronconcentraties in het bloed gevonden. Dit kan als argument gebruikt worden voor de stelling dat de door de synthetische progestativa veroorzaakte daling van de progesteronspiegels het gevolg is van een daling van de gonadotrofinespiegels. De observatie, dat medroxyprogesteronacetaat de gonadotrofineconcentraties in de urine bij de mens doet dalen (169, 174, 259), ondersteunt dit idee. De daling van de gonadotrofineconcentraties zou tot een verminderde progesteronsynthese door het corpus luteum kunnen leiden. Ook de in dit hoofdstuk beschreven experimenten laten zien dat de behandeling met medroxyprogesteronacetaat tot een verlaagde LH-concentratie in het serum van de pseudozwangere rat leidt. Aangezien LH een stimulerend effect heeft op de progesteronsynthese bij de rat (15, 17) pleiten onze resultaten ervoor dat medroxyprogesteronacetaat effect heeft op de progesteronproductie via de LH-afgifte. De mogelijkheid dat medroxyprogesteronacetaat een direct effect heeft op de ovariële progesteronsecretie kan echter niet geheel uitgesloten worden (zie 1).

FSH-concentraties in het serum waren niet veranderd na medroxyprogesteronacetaat toediening. In de controle-dieren werd een verlaging van de FSH-concentraties op dag 12 van de pseudozwangerschap waargenomen, en ook bij de dieren die met 1 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren, werd enige aanwijzing voor een verlaging van de FSH-concentraties aan het einde van de di-oestrusperiode gevonden. Zoals reeds in hoofdstuk 3 werd gesuggereerd is het waarschijnlijk,

dat de waargenomen daling van de FSH-concentraties aan het einde van de pseudozwangerschap veroorzaakt wordt door een stijging van de concentraties van oestradiol-17 β in het bloed (zie 319).

7-4.2. Luteolytische effecten van oestradiolbenzoaat en LH.

Werd aan pseudozwangere dieren dagelijks oestradiolbenzoaat toegediend, dan daalden de progesteronconcentraties in het serum bij de doses van 5 en 20 ng oestradiolbenzoaat/dag, terwijl 1000 ng oestradiolbenzoaat/dag vrijwel geen effect had op de progesteronconcentraties. Zoals reeds in de inleiding vermeld werd, zagen Bischof c.s. (40, 41) dat dagelijks toedienen van lage doses oestradiolbenzoaat tot een verlaagde ovariële progesteronproductie op dag 6 van de pseudozwangerschap leidde. Daar dit verschijnsel ook in gehysterectomeerde dieren werd gevonden (41), moet geconcludeerd worden dat het gesignaleerde effect van oestradiolbenzoaat niet via een verhoogde productie van de luteolytische factor uit de uterus verloopt. Door Bischof c.s. (41) werd gevonden dat het luteolytische effect van oestradiolbenzoaat kan worden voorkomen door het gelijktijdig toedienen van een antiserum tegen LH. Hieruit werd door deze auteurs geconcludeerd dat de lage dosering van oestradiolbenzoaat een verhoging van de perifere LH-spiegels bewerkstelligde waardoor de ovariële progesteronproductie verminderde. Aangezien in ons experiment bij de met oestradiolbenzoaat behandelde dieren verlaagde LH-concentraties in het serum gevonden werden, zijn onze gegevens niet in overeenstemming met de verklaring van Bischof c.s. (41). Op welke wijze het gebruikte antiserum tegen LH dan wel een stijging van de ovariële progesteronafgifte induceert in de met lage doses oestradiolbenzoaat behandelde dieren is niet duidelijk. Het is evenwel toch mogelijk dat de interpretatie van Bischof c.s. (41) juist is, namelijk dat lage doses oestradiolbenzoaat een verhoging van de LH-concentraties veroorzaken. Het is mogelijk dat een dergelijke *positieve* feed-back van oestradiol-17 β op de LH-spiegels alleen 'smiddags aantoonbaar is: proeven van Legan & Karsch (177) laten zien dat bij geovariëctomeerde dieren die een implantaat met oestradiol-17 β kregen (bereikte oestradiolconcentratie: 100 pg/ml), de LH-concentraties alleen 's middags verhoogd zijn.

7-4.3. Mogelijke verklaringen voor de luteolytische werking van oestradiolbenzoaat en LH.

Onze gegevens betreffende het dagelijks toedienen van oestradiolbenzoaat kunnen op tenminste 3 manieren verklaard worden. In de eerste plaats is het mogelijk dat oestradiol een direct luteotroof effect heeft, waardoor oestradiol rechtstreeks de luteale progesteronproductie zou bevorderen. Naast deze directe luteotrofe werking heeft oestradiol-17 β een remmende werking op de afgifte van LH (zie bijv. 278). Een verlaging van de LH-spiegel kan de progesteronproductie door de corpora lutea doen verminderen (15, 17). Men kan zich voorstellen dat de directe luteotrofe werking van oestradiol en de daling van de LH-spiegels elkaar compenseren, zodat toch een normale hoeveelheid progesteron door de corpora lutea geproduceerd wordt.

Ook bij de tweede verklaring wordt aan oestradiol een tweeledige werking toegekend. Naast het effect op de luteale progesteronproductie via het uitoefenen van een remmende invloed op de LH-afgifte, zal een voldoende hoge concentratie van oestradiol de prolactine-afgifte doen toenemen (zie 278). Deze verhoging van de prolactineconcentratie in het bloed zal dan tot een stimulatie van de ovariële progesteronproductie kunnen leiden, waardoor het effect van de verlaging van de LH-concentratie in het bloed teniet wordt gedaan. Uit Fig. 7-13 blijkt echter dat de LH-concentraties in het serum nauwelijks verlaagd zijn wanneer pseudozwangere ratten dagelijks met 5 ng oestradiolbenzoaat behandeld werden. Deze dosis veroorzaakt echter wel een sterke daling van de progesteronspiegels (zie Fig. 7-12). Dit maakt het niet waarschijnlijk dat de luteolytische werking van oestradiolbenzoaat via invloed op de hypofysaire LH-afgifte verloopt. Dit houdt tevens in dat de twee bovengenoemde verklaringen waarschijnlijk niet juist zijn.

Als derde verklaring kan het volgende dienen: oestradiol heeft een rechtstreekse werking op het corpus luteum van de rat; in lage concentraties remt oestradiol de progesteronsynthese van het corpus luteum, terwijl hoge doseringen een luteotrofe werking bezitten. Het is de vraag of er experimentele gegevens zijn die deze verklaring ondersteunen of althans aannemelijk kunnen maken. Voor een luteotrofe

werking van oestrogenen zijn aan de literatuur enige argumenten te ontleenen (45, 118, 282, 283, 304); echter, de mogelijkheid dat oestradiol luteotroof is door het vrijmaken van LH of prolactine uit de hypofyse kan niet uitgesloten worden. Tot nu toe is één artikel verschenen dat duidelijk heeft gemaakt dat oestradiol onder bepaalde omstandigheden een directe luteotrofe werking bij de rat heeft: Takayama & Greenwald (302) hypofysectomeerden en hysterectomeerden ratten op dag 12 van de zwangerschap, hetgeen tot een drastische vermindering van de progesteronconcentratie in het plasma leidde; het dagelijks toedienen van grote doses oestrogenen voorkwam de daling van de progesteronconcentratie in het plasma, terwijl dagelijkse behandeling met prolactine, LH, FSH of de combinatie van deze hormonen de afname van de progesteronconcentratie niet kon voorkomen. Uit het bovenstaande kan geconcludeerd worden dat oestrogenen, in ieder geval na dag 12 van de zwangerschap, een luteotrofe werking in de rat bezitten.

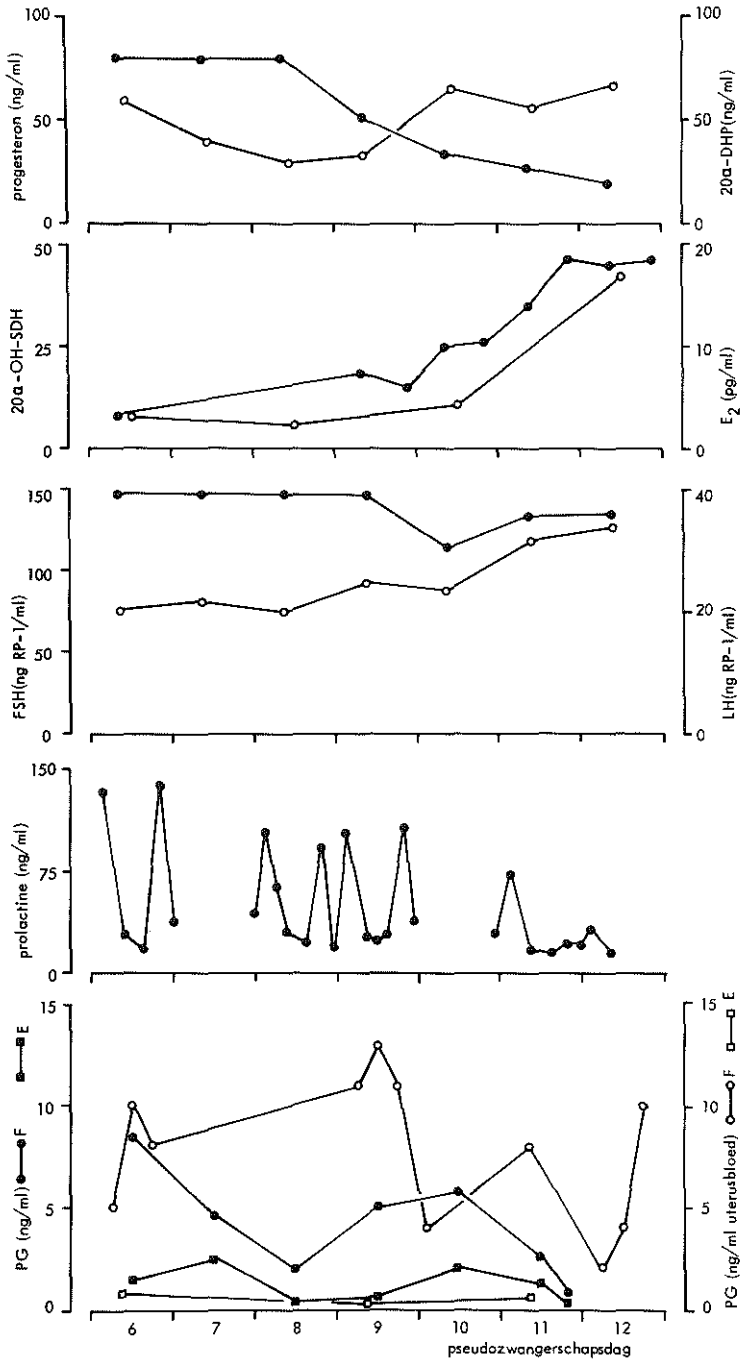
Tot nu toe zijn echter geen experimenten beschreven waaruit geconcludeerd kan worden dat oestradiol, mits aanwezig in een lage concentratie, een directe luteolytische werking heeft op het corpus luteum van de rat. Het onder 7-3.5. beschreven experiment kan misschien als argument hiervoor gebruikt worden. Immers, een dosis van 5 ng oestradiolbenzoesaat/dag verlaagde de progesteronconcentraties in het serum aanzienlijk, waarbij slechts een gering effect op de LH-concentraties werd geconstateerd. Ook na het dagelijks toedienen van 2 µg schape-LH werd een verlaging van de progesteronconcentraties in het serum van intacte en gehysterectomeerde ratten gevonden (Fig. 7-7 en 7-11). Deze verlaging van de progesteronspiegels kan verklaard worden door aan te nemen dat de behandeling met LH de oestradiolsynthese in het ovarium deed toenemen; een lage dosis LH veroorzaakt dan een geringe stijging van de oestradiolconcentraties, terwijl hogere doses LH een grotere toename van de oestradiolconcentraties bewerkstelligden. Het zal duidelijk zijn dat alleen door het meten van de oestradiolconcentraties het bovenstaande geverifieerd kan worden. Of oestradiol-17β werkelijk een direct effect heeft op de progesteronsynthese van het corpus luteum van de rat kan nagegaan worden door te bestuderen of ook tijdens pseudozwangerschap in gehypofysectomeerde ratten met een hypofyse-auto-

transplantaat oestradiol-17 β een effect heeft op de corpora lutea. Hoewel tot nu toe nog geen experimenten beschreven zijn waaruit blijkt dat oestradiol-17 β een directe luteolytische werking heeft op het corpus luteum van de rat, werd onlangs echter gerapporteerd dat oestradiol-17 β de progesteronsynthese in geïsoleerde granulosa-cellen van het varken duidelijk verminderde (272).

7-4.4. Luteolyse bij de rat.

Mocht oestradiol-17 β ook een direct effect hebben op de progesteronsynthese van het corpus luteum van de rat, dan kan gesteld worden dat de stijging van de oestradiolconcentraties in het ovarium aan het einde van de pseudozwangerschap van groot belang is voor de *inductie* van de luteolyse. Immers een geringe verhoging van de oestradiolconcentraties in het corpus luteum zal dan tot een verminderde progesteronsynthese leiden. Het zal moeilijk zijn om aan te tonen dat een stijging van de oestradiolconcentraties in het ovarium de aanleiding zal zijn voor de luteolyse. Een mogelijkheid is het remmen van de oestradiolsynthese in het ovarium, wat gedaan kan worden door dieren met de aromatiseringsremmer androst-1,4,6-trien-3,17-dion te behandelen. Van deze stof is bekend dat het de omzetting van androsteendion naar oestradiol-17 β vrijwel volledig remt (66, 280), zodat met behulp van deze stof nagegaan kan worden of oestradiol-17 β inderdaad de luteolyse initieert. Een andere mogelijkheid is het gedetailleerd bestuderen van de veranderingen van de hormoonconcentraties rondom het tijdstip van de luteolyse. Een dergelijke studie, waarbij een groot aantal hormonen gemeten zou moeten worden, is nog niet beschreven. Tot nu toe zijn slechts studies gedaan waarbij meestal eenmaal per dag verschillende hormonen gemeten worden. In Fig. 7-14 is een samenvatting van de resultaten van een aantal studies gegeven. De veranderingen in de hormoonconcentraties die in deze figuur weergegeven zijn, kunnen als volgt beschreven worden:

1. door een activiteitstoename van het 20 α -hydroxysteroiddehydrogenase na dag 8 van pseudozwangerschap neemt de hoeveelheid door het corpus luteum gesynthetiseerde progesteron af, terwijl de hoeveelheid



gesynthetiseerde 20 α -dihydroprogesteron toeneemt;

2. de verminderde perifere concentratie aan progesteron veroorzaakt van dag 9 af een stijging van de LH-concentratie in het bloed, als gevolg waardoor de oestradiolconcentratie in het bloed zal stijgen;
3. door het verminderen van de progesteronconcentraties in het bloed verdwijnen mogelijk ook beide prolactinepieken vanaf dag 11;
4. de toegenomen hoeveelheid oestradiol-17 β in het bloed veroorzaakt een kort durende daling van de FSH-concentraties en induceert misschien de synthese van prostaglandines in de uterus (zie 58, 267).

Bij het aandachtig bestuderen van Fig. 7-14 zal duidelijk zijn dat de belangrijke hormonale veranderingen vrijwel gelijktijdig op dag 9 en 10 plaatsvinden. Zolang geen gedetailleerde studie is gedaan, kan geen uitspraak gedaan worden welke verandering de keten van gebeurtenissen initieert die leidt tot de dood van het corpus luteum. Duidelijk is wel dat de stijging van de LH-spiegels niet de daling van de progesteronconcentraties veroorzaken (zie hoofdstuk 5). Een andere factor die niet vergeten moet worden is dat het corpus luteum in verschillende stadia verschillende hormonale stimulatie behoeft (zie hoofdstuk 1). Een goede kennis van de hoeveelheid en soort van de receptoren van het corpus luteum is een absolute noodzaak voor het begrijpen van de waarschijnlijke hormoonbehoeften van het corpus luteum. Slechts wanneer een totaal en gedetailleerd overzicht beschikbaar is van de veranderingen in de hormoonspiegels en van de veranderingen van de receptorpopulaties zal het mogelijk zijn een verantwoord model voor de luteolyse bij de rat te maken.

Fig. 7-14. Veranderingen van de concentraties van progesteron, 20 α -dihydroprogesteron (20 α -DHP), oestradiol-17 β (E₂), FSH, LH, prolactine en prostaglandines (PG) en van de activiteit van het enzym 20 α -hydroxysteroiddehydrogenase (20 α -OH-SDH) aan het einde van de pseudozwangerschap bij de rat. De enzymactiviteit is gegeven als mU/mg eiwit. Deze figuur is gebaseerd op het werk van Bartosik & Szarowski (ref. 31), Bast & Melampy (ref. 33), Castracane & Shaikh (ref. 59), Saksena c.s. (ref. 268), Weems c.s. (ref. 313), Welschen c.s. (ref. 319) en eigen werk. Voor toelichting wordt naar de tekst verwezen.

7-5. Samenvatting.

In dit hoofdstuk worden de gemeten hormoonspiegels bij pseudozwangere ratten, behandeld met medroxyprogesteronacetaat, LH, LH-RH of oestradiolbenzooat, beschreven. Met deze experimenten werd getracht nader inzicht te krijgen in het proces van de functionele luteolyse.

Op dag 3 van de pseudozwangerschap kregen ratten een injectie met 1 of 10 mg medroxyprogesteronacetaat en tijdens het vervolg van de pseudozwangerschap werden FSH-, LH- en progesteron-concentraties zowel bij de behandelde als controle-ratten gemeten. Na behandeling met medroxyprogesteronacetaat werd een verlengde periode met leucocytaire vagina-uitstrijkjes geconstateerd. De FSH-concentraties van de dieren die met medroxyprogesteronacetaat waren behandeld, verschilden niet met die van controle-dieren. Bij de controle-dieren werd op dag 12 van pseudozwangerschap een geringe daling van FSH-concentraties gezien. Het progesteronprofiel verschilde niet bij de behandelde en de onbehandelde ratten. Dit betekent dat de functionele luteolyse bij alle dieren op hetzelfde moment optreedt. Bij de dieren die met 10 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren, werden echter enigszins verlaagde progesteronconcentraties gemeten. Bij controle-ratten namen de LH-concentraties af van dag 2 tot aan dag 5 en zij bleven laag tot dag 10 van de pseudozwangerschap; na dag 10 stegen de LH-concentraties weer. Een dergelijke stijging van de LH-concentraties werd pas op dag 20 gezien bij de ratten die met 1 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren, maar zulk een toename van de LH-concentraties werd niet geobserveerd bij ratten die met 10 mg medroxyprogesteronacetaat behandeld waren. Gelijke progesteronprofielen werden ook waargenomen wanneer medroxyprogesteronacetaat op dag 1 van pseudozwangerschap aan intacte ratten of op dag 5 van pseudozwangerschap aan gehysterectomeerde ratten werd gegeven. Uit deze experimenten werd geconcludeerd dat de *stijging* van LH aan het eind van pseudozwangerschap niet de functionele luteolyse veroorzaakt. Uit onze experimenten blijkt dat de stijging van de LH-concentraties aan het eind van pseudozwangerschap waarschijnlijk wordt veroorzaakt door de afname van de hoeveelheid progesteron in het bloed.

Aangezien er aanwijzingen zijn dat LH betrokken is bij de functionele luteolyse (zie hoofdstuk 5), werd LH dagelijks aan intacte en gehysterectomeerde ratten tijdens pseudozwangerschap gegeven. Een dagelijkse dosis van 2 of 5 µg schape-LH, gegeven aan intacte pseudozwangere ratten, deed de progesteronconcentraties in het bloed verminderen. De progesteronspiegels veranderden echter niet indien dagelijks 10 µg LH werd toegediend. Ook bij gehysterectomeerde dieren kon een dergelijk verschijnsel worden aangetoond: 2 µg LH/dag veroorzaakte een daling van de progesteronconcentraties, terwijl 5 µg LH/dag duidelijk minder effect had. Verder werd gevonden dat het intraveneus toedienen van 200 ng LH-RH tot een kort durende verlaging van de progesteronconcentraties leidde. Hoewel zowel behandeling met LH als met LH-RH tot een verminderde progesteronproductie van de corpora lutea leidde, hadden deze behandelingen geen effect op de duur van de pseudozwangerschap.

Ook het dagelijks geven van lage doses oestradiolbenzooat (5 of 20 ng/dag) leidde tot een verminderde perifere progesteronconcentratie. Dagelijkse behandeling met 1000 ng oestradiolbenzooat had, in vergelijking met de controle-dieren, geen effect op de concentraties van progesteron in het bloed. Evenmin als bij de behandeling met LH of LH-RH, leidde behandeling met oestradiolbenzooat tot een verkorting van de pseudozwangerschap.

Daar zowel dagelijkse toediening van lage doses LH als van lage doses oestradiolbenzooat tot een verlaging van de progesteronconcentraties tijdens pseudozwangerschap leidde, is het mogelijk dat het effect van beide hormonen door eenzelfde mechanisme tot stand komt. Bij de discussie wordt daarom besproken op welke mogelijke manier(en) LH en oestradiolbenzooat de daling van de progesteronconcentraties tijdens pseudozwangerschap kunnen bewerkstelligen. Het waargenomen luteolytisch effect van oestradiolbenzooat kan misschien betekenen dat een stijging van de oestradiolconcentraties in het ovarium aan het eind van de pseudozwangerschap van belang is voor het begin van luteolyse. Tot nu toe is er echter geen experimenteel bewijs voor deze bewering.

SUMMARY

The experiments described in this thesis are mainly concerned with the regulation of luteal function in the rat. The general introduction (CHAPTER 1) consists of two parts: 1. a historical introduction describing the first experiments on the discovery of the function of the corpus luteum, and on the role played by the pituitary gland in ovarium function; 2. a review discussing several aspects of the reproductive cycle in the rat. The following topics have been reviewed in the second part of chapter 1: 1. the development of the follicles, the levels of various hormones, and the relationships between these hormones and follicular development during the oestrus cycle of the rat; 2. regulation of luteal function in the rat (activity of luteal 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase, luteotrophic hormones, and luteolysis). Furthermore, the objective of our investigations is given. In CHAPTER 2, the general techniques used during the investigations are described.

The observed follicular development and the measured concentrations of LH, FSH, prolactin, progesterone, and oestradiol-17 β in the circulation of pseudopregnant rats are described in CHAPTER 3. For comparison, data for the 5-day cycle are also given. During the oestrus cycle an increase in the number of large antral follicles was seen from the first di-oestrous day onwards, and this growth was accompanied by a rise in plasma oestradiol-17 β concentrations of LH, FSH, prolactin, progesterone and oestradiol-17 β were recorded. Another increase of progesterone was found on the second day of dioestrus, but during dioestrus low levels of LH, FSH, and prolactin were measured. Pseudopregnancy, however, was characterized by: a prolonged dioestrus, an absence of full maturation of the follicles, low oestradiol-17 β levels, elevated progesterone concentrations, LH concentrations below that of dioestrus of the cycle, low FSH-concentrations, and finally, the occurrence of two daily surges of prolactin.

On the basis of our data and data from the literature, it is

suggested that the following interactions exist in the pseudopregnant rat:

- after induction of pseudopregnancy two daily surges of prolactin are present, and the elevated prolactin concentrations are the cause for the activation of the corpora lutea (progesterone synthesis!);
- the high progesterone concentrations present result in decreased LH concentrations, but have no effect on FSH levels;
- the low LH levels are neither sufficient to cause full maturation of the follicles nor to stimulate oestradiol-17 β secretion to the levels required for induction of the ovulatory surge of LH;
- after day 8 of pseudopregnancy a decrease, in a yet unknown way, of progesterone levels is observed, which probably causes the increase in the LH concentrations;
- luteal regression is also accompanied by the disappearance of both prolactin surges;
- the increased LH concentrations are likely the cause of the preovulatory growth of the follicles and of the elevation of the oestradiol-17 β concentrations towards the end of pseudopregnancy;
- the increased oestradiol-17 β concentration is perhaps the cause of the temporary decrease of FSH levels, and will eventually result in the release of an ovulatory surge of LH.

In CHAPTER 4, the effects of the removal of corpora lutea by unilateral ovariectomy (ULO) or by luteectomy were studied. In this way it was possible to study a possible compensatory reaction of the corpora lutea during pseudopregnancy. In comparison with progesterone levels in the sham-operated animals, pseudopregnant animals had, following ULO on day 0 of pseudopregnancy, low progesterone levels during pseudopregnancy. ULO on day 3 induced within hours a fall in progesterone concentrations and the levels remained low during the remainder of pseudopregnancy. By contrast, ULO on day 8 did not lead to significant changes in progesterone levels. Neither the duration of pseudopregnancy nor the diameter of the corpora lutea was influenced by ULO. The removal of corpora lutea by cauterization on days 1 or 2 had different effects depending on the number of intact corpora lutea left *in situ*. The removal of all but one corpus luteum caused termination

of pseudopregnancy in nearly all animals, and this was followed by a "delayed pseudopregnancy". In animals with 2 corpora lutea pseudopregnancy was ended in 47% of the animals, and pseudopregnancy was followed in these animals by a "delayed pseudopregnancy". In the rest of the animals with 2 intact corpora lutea pseudopregnancy was continued but very low progesterone concentrations were present in these animals. Animals possessing 3 - 5 intact corpora lutea remained pseudopregnant in spite of low progesterone levels. After ULO on day 1, progesterone concentrations remained low as compared with control values but the progesterone secretion per ovary was increased slightly. After ULO, LH concentrations were significantly increased on days 3 and 4 of pseudopregnancy. FSH concentrations were significantly increased 5 h after operation and again on days 4 - 7 of pseudopregnancy when compared with sham-operated control-rats. Increased prolactin levels were observed 18 and 36 h after ULO. The number of medium-sized follicles had increased already 24 h after ULO.

The following conclusions were drawn from these experiments:

- progesterone levels during pseudopregnancy are proportional to the number of corpora lutea;
- in the pseudopregnant rat removal of luteal tissue does not lead to morphological compensatory reaction of the remaining corpora lutea;
- after ULO progesterone secretion by the corpora lutea can be increased to only a limited degree by the increased release of gonadotrophins;
- a rapid increase in FSH concentrations after ULO is probably responsible for the initiation of the compensatory follicular growth;
- 2 - 3 intact corpora lutea are needed for the maintenance of pseudopregnancy.

CHAPTER 5 describes the effects of hysterectomy and decidualization on the peripheral concentrations of LH, FSH, prolactin and progesterone. No significant differences in progesterone concentrations between intact and long-term hysterectomized rats were observed until day 10 of pseudopregnancy. In intact rats, progesterone concentrations declined after day 8, but in the hysterectomized rats they remained

elevated until days 18 - 20. No differences between FSH concentrations were found between intact and long-term hysterectomized rats, but LH concentrations were lower than those in intact rats on days 2 - 7 of pseudopregnancy. When hysterectomy was performed on day 2 (acute hysterectomy) lower LH concentrations were found in comparison with sham-operated rats. No differences in progesterone concentrations were found between acutely hysterectomized and sham-operated controls on days 3 - 8. Following ovariectomy, lower LH concentrations were found in long-term hysterectomized rats than in rats with an uterus. In contrast to its effect on tonic LH secretion, hysterectomy had no influence on the surge of LH during the afternoon of pro-oestrus. In both intact and long-term hysterectomized rats the duration of pseudopregnancy was not altered after transplantation of an immature ovary under the kidney capsule and removal of the ovaries *in situ*. After decidualization, higher progesterone concentrations were observed on days 7 and 8 than in sham-operated controls, and furthermore, in deciduomata-bearing animals elevated progesterone levels were observed until day 17. In control rats LH concentrations were low until day 8, thereafter an increase was observed. In deciduomata-bearing animals somewhat lower LH concentrations were observed on days 6 - 10, and the increase in LH was found after day 16. In both groups of rats, serum FSH concentrations varied between 130 and 160 ng FSH RP-1/ml and only on day 10 of pseudopregnancy lower FSH concentrations were found in the sham-operated animals. In control rats as well as in deciduomata-bearing rats two daily prolactin surges were observed, and in control rats the last occurring elevation was observed on day 11. However, in rats bearing decidual tissue both prolactin surges were still present on day 16. In order to detect a possible luteotrophic action of decidual tissue, hypophysectomy was performed on day 7. A drastic decline in progesterone levels was observed in both control rats and deciduomata-bearing rats. However, the decrease in progesterone levels was less abrupt in deciduomata-bearing rats.

From these experiments with intact, hysterectomized and deciduomata-bearing rats, the following conclusions are drawn:

- the effects of hysterectomy or decidualization on prolongation of pseudopregnancy are probably based on different mechanisms;
- hysterectomy results via a yet unknown mechanism in a decreased LH secretion by the pituitary gland;
- the prolongation of pseudopregnancy observed in hysterectomized rats may be caused by these low LH concentrations, but the involvement of an uterine luteolytic factor can not be excluded;
- hysterectomy has no influence on the maximal progesterone concentrations during pseudopregnancy;
- decidual tissue has some lutetrophic action in the rat, and this action is perhaps responsible for the prolongation of pseudopregnancy following decidualization;
- decidual tissue, however, lacks the ability to maintain luteal function in hypophysectomized rats;
- luteal regression is followed by the disappearance of both daily prolactin surges.

The possible involvement of prolactin in the occurrence of *delayed pseudopregnancy* was investigated in experiments described in CHAPTER 6. Three different methods were used to induce delayed pseudopregnancy, i.e.: 1. removal of all recent corpora lutea on day 2 of pseudopregnancy; 2. removal of the ovaries *in situ* from ovarian graft-bearing animals on day 0 of pseudopregnancy; 3. administration of 1 mg ergocornine hydrogenmaleinate (ECO) on day 1 of pseudopregnancy. These procedures ended pseudopregnancy and in 50 - 60% of the rats a delayed pseudopregnancy was observed after the induced experimental cycle. After sterile copulation two daily prolactin surges were observed. Removal of the ovaries *in situ* (from ovarian graft-bearing animals) or recently formed corpora lutea (from non-grafted rats) caused the disappearance of the prolactin peak at 19.00 h, without affecting the occurrence of the 03.00 h peak. Both prolactin peaks disappeared following administration of ECO. Until the day of oestrus at the end of the experimental cycle, no differences in prolactin levels at 03.00 or 19.00 h were observed between the animals becoming delayed pseudopregnant and those remaining cyclic. In the latter animals, the elevations at 03.00 h decreased slowly in

luteotomized or ovariectomized rats, and were no longer present 7 - 9 days after copulation. In animals becoming delayed pseudopregnant both prolactin peaks were present from day 0 of delayed pseudopregnancy. In comparison to normal pseudopregnant rats, relatively low progesterone concentrations were found during delayed pseudopregnancy when delayed pseudopregnancy lasted 6 - 9 days. When delayed pseudopregnancy had a duration of 10 days or more, normal progesterone concentrations were found. From these experiments, it can neither be concluded nor denied that elevated prolactin concentrations are instrumental in the induction of delayed pseudopregnancy.

The experiments described in CHAPTER 7, concern the effects of administration of medroxyprogesterone acetate, LH, LH-RH or oestradiolbenzoate to pseudopregnant rats. These experiments were designed in order to study possible mechanisms involved in the process of luteolysis. Pseudopregnant rats were treated early in pseudopregnancy with 1 or 10 mg of medroxyprogesterone acetate (MPA), and FSH, LH, and progesterone concentrations were determined on days 2 - 20 of pseudopregnancy in treated and control rats. Treatment with MPA caused a prolongation of the period with leucocytic vaginal smears. Injection with MPA on day 3 of pseudopregnancy did not affect the FSH-concentrations during the subsequent days. On day 12, however, a decrease in FSH concentrations was observed in the control rats. The progesterone pattern in animals treated with 0, 1 or 10 mg MPA was not different, i.e. the duration of the activity of the corpora lutea was similar in all groups; however, 10 mg MPA slightly lowered progesterone concentrations on days 4 - 8 of pseudopregnancy. In the control rats, LH concentrations decreased from days 2 - 5, and remained low until they increased after day 10 of pseudopregnancy. This increase was delayed until day 20 in rats treated with 1 mg MPA, and was not observed in the rats treated with 10 mg MPA. Similar progesterone profiles were also observed in control and treated rats when MPA was administered on day 1 of pseudopregnancy in intact rats or on day 5 of pseudopregnancy in hysterectomized rats. It is argued that the increase of LH concentrations at the end of pseudopregnancy is not instrumental in the decrease of peripheral progesterone

concentrations, but that this increase in LH concentrations is probably caused by the decrease of progesterone in the circulation.

Since, as was discussed in chapter 5, it is possible that LH is involved in the process of luteolysis, LH was administered daily to intact and hysterectomized pseudopregnant rats. It was found that daily doses of 2 or 5 μg ovine LH given to intact rats suppressed progesterone concentrations, whereas 10 μg LH/day has no effect on the progesterone levels. A similar finding was made in hysterectomized rats: 2 μg LH/day causes a decrease in progesterone concentrations, whereas 5 μg LH/day was less effective in this respect. In addition, the effect of LH-RH administration was studied. When 200 ng LH-RH were given intravenously to pseudopregnant intact rats on day 5 of pseudopregnancy, a short lasting decrease of the concentrations of progesterone was observed. In both intact and hysterectomized rats, however, no significant effect of LH-RH on the duration of pseudopregnancy was seen. A decrease of peripheral progesterone concentrations was found when low doses of oestradiolbenzoate (5 or 20 ng/day) were injected daily (days 0 - 8 of pseudopregnancy), but no effect on progesterone concentrations was observed when animals were daily treated with 1000 ng oestradiolbenzoate. As in the case of administration of LH or LH-RH, treatment with oestradiolbenzoate does not shorten the duration of pseudopregnancy.

The similarity of the response after daily treatment with low doses of LH or oestradiolbenzoate is striking, and it was discussed whether the decrease of progesterone concentrations seen after daily treatment with LH or oestradiolbenzoate, could have a similar basis. Lack of knowledge about the cause of the decrease observed in progesterone levels prevents, however, further speculation. The observed luteolytic effect of oestradiolbenzoate, could perhaps indicate that a rise in oestradiol-17 β concentrations in the ovary at the end of pseudopregnancy is of importance in the initiation of luteolysis.

LITERATUURLIJST

1. Aakvaag, A., *Acta Endocrinol.* 65: 261, 1970.
2. Ahmad, N., W.R. Lyons & H. Papkoff, *Anat. Rec.* 164: 291, 1969.
3. Ahmad, N., M. Serón-Prizant & A. Goldfien, *Neuroendocrinology* 11: 101, 1973.
4. Aldred, J.P., P.H. Sammelwitz & A.V. Nalbandov, *J. Reprod. Fertil.* 2: 394, 1961.
5. Allen, W.M. & O. Wintersteiner, *Science* 80: 190, 1934.
6. Allen, W.H., A. Butenandt, G.W. Corner & K.H. Slotta, *Ber. Deutsche Chem. Ges.* 68: 1746, 1935.
7. Alloiteau, J.J., *C.R. Soc. Biol. (Paris)* 151: 2009, 1957.
8. Alloiteau, J.J., *Biol. Méd.* 51: 250, 1962.
9. Alloiteau, J.J. & J. Bouhours, *C.R. Acad. Sci.* 260: 306, 1964.
10. Alonso, N. & R.P. Deis, *Neuroendocrinology* 13: 63, 1973.
11. Amenomori, Y., C.L. Chen & J. Meites, *Endocrinology* 86: 506, 1970.
12. Amoroso, E.C. & C.A. Finn, In: *The Ovary* (ed. S. Zuckermann), Academic Press New York, London 1962, blz. 451.
13. Anderson, L.L., R.M. Melampy & C.L. Chen, *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.* 56: 373, 1967.
14. Anderson, L.L., In: *Biology of Mammalian Fertilization and Implantation* (eds. K.S. Moghissi & E.S. Hafez), C.C. Thomas Springfield, Illinois 1972, blz. 379.
15. Armstrong, D.T., J. O'Brien & R.O. Greep, *Endocrinology* 75: 488, 1964.
16. Armstrong, D.T., *Rec. Progr. Horm. Res.* 24: 255, 1968.
17. Armstrong, D.T., L.S. Miller & K.A. Knudsen, *Endocrinology* 85: 393, 1969.
18. Armstrong, D.T., K.A. Knudsen & L.S. Miller, *Endocrinology* 86: 634, 1970.
19. Armstrong, D.T., M.A. Kraemer & J.E. Hixon, *Biol. Reprod.* 12: 599, 1975.
20. Aschheim, P., *C.R. Soc. Biol., Paris* 148: 185, 1954.
21. Aschheim, S., *Archiv für Gynäkologie* 155: 44, 1933.
22. Astwood, E.B. & R.O. Greep, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 38: 713, 1938.
23. Astwood, E.B., *Endocrinology* 28: 309, 1941.
24. Averill, S.C., E.W. Ray & W.R. Lyons, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 75: 3, 1950.
25. Balogh, K., *J. Histochem. Cytochem.* 12: 670, 1964.
26. Barley, D.A., R.L. Butcher & E.K. Inskeep, *Endocrinology* 79: 119, 1966.
27. Barraclough, C.A., *Endocrinology* 88: 1437, 1971.
28. Barrett, S., M.A. Blockley, J.M. Brown, I.A. Cumming, J.R. Goding, B.J. Mole & J.M. Obst, *J. Reprod. Fert.* 24: 136, 1971.
29. Bartke, A., *J. Endocrinol.* 49: 317, 1971.
30. Bartosik, D. & D.H. Szarowski, *J. Reprod. Fert.* 23: 505, 1970.
31. Bartosik, D. & D.H. Szarowski, *Endocrinology* 92: 949, 1973.
32. Bassett, D.L., *Am. J. Anat.* 73: 251, 1943.
33. Bast, J.D. & R.M. Melampy, *Endocrinology* 91: 1499, 1972.

34. Beach, J.E., F. Tyrey & J.W. Everett, *Endocrinology* 96: 1241, 1975.
35. Beard, J., *Anat. Anzeiger* 14: 97, 1897.
36. Behrman, H.R., G.P. Orczyk, G.J. MacDonald & R.O. Greep, *Endocrinology* 87: 1251, 1970.
37. Behrman, H.R., K. Yoshinaga & R.O. Greep, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 180: 462, 1971.
38. Benson, B., S. Sorrentino & J.S. Evans, *Endocrinology* 84: 369, 1969.
39. Berson, S.A. & R.S. Yalow, *Fed. Proc.* 18: 11, 1959.
40. Bischof, P., C. Krähenbühl & P.A. Desaulles, *Experientia* 30: 200, 1974.
41. Bischof, P., C. Krähenbühl & P.A. Desaulles, *Experientia* 30: 1101, 1974.
42. Bishop, W., R. Orias, C.P. Fawcett, L. Krulich & S.M. McCann, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 137: 1411, 1971.
43. Bjersing, L., *Acta Endocr.* 56, suppl. 125, 1967.
44. Blatchley, F.R., B.T. Donovan, E.W. Horton & N.L. Poysner, *J. Physiol. (London)* 223: 69, 1972.
45. Bogdanove, E.M., *Endocrinology* 79: 1011, 1966.
46. Bogdanove, E.M., G.T. Campbell & W.D. Peckham, *Endocrine Res. Comm.* 1: 87, 1974.
47. Boling, J.L., *Anat. Rec.* 82: 131, 1942.
48. Bouin, P. en P. Ancel, *J. Physiol. et de Path. Générale* 12: 1, 1910.
49. Bradbury, J.T., W.E. Brown & L.A. Gray, *Rec. Progr. Horm. Res.* 5: 151, 1950.
50. Brambell, F.W.R., In: *Marshall's Physiology of Reproduction* vol. 1 part 1 (ed. A.S. Parkes), 1956, blz. 397.
51. Brown-Grant, K., C.S. Corker & F. Naftolin, *J. Endocrinol.* 53: 31, 1972.
52. Butcher, R.L., N.W. Fugo & W.E. Collins, *Endocrinology* 90: 1125, 1972.
53. Butcher, R.L., W.E. Collins and N.W. Fugo, *Endocrinology* 94: 1704, 1974.
54. Butcher, R.L., W.E. Collins en N.W. Fugo, *Endocrinology* 96: 576, 1974.
55. Butenandt, A. & U. Westphal, *Ber. Deutsche Chem. Ges.* 67: 1440, 1934.
56. Carlson, R.R. & V.J. de Feo, *Endocrinology* 77: 1014, 1965.
57. Canivenc, R. & G. Mayer, *C.R. Soc. Biol.* 147: 1067, 1953.
58. Castracane, V.D. & V.C. Jordan, *Biol. Reprod.* 13: 587, 1975.
59. Castracane, V.D. & A.A. Shaikh, *J. Reprod. Fert.* 46: 101, 1976.
60. Chabardès, D. & G. Acker, *Compt. Rendus Soc. Biol.* 164: 2417, 1970.
61. Channing, C.P., *Nature* 210: 5042, 1966.
62. Channing C.P. & V. Grieves, *J. Endocrinol.* 43: 391, 1969.
63. Chatterjee, A. & M.J.K. Harper, *Endocrinology* 87: 173, 1970.
64. Chatterjee, A. & G.S. Greenwald, *Endocrinology* 88: 491, 1971.
65. Chatterton, jr., R.T., A.J. Chatterton & R.O. Greep, *Endocrinology* 84: 252, 1969.
66. Christensen, L.W. & L.G. Clemens, *Endocrinology* 97: 1545, 1975.
67. Christian, jr., R.M., L. Yuan & I. Rothchild, *Acta Endocrinol.* 58: 57, 1968.
68. Corner, G.W. & F.H. Humni, *Amer. J. Physiol.* 46: 483, 1918.
69. Coudert, S.P., G.D. Phillips, C. Faiman, W. Chermacki & M. Palmer, *J. Reprod. Fert.* 35: 319, 1974.

70. Coudert, S.P., G.D. Phillips, C. Faiman, W. Chernecki & M. Palmer, J. Reprod. Fert. 36: 333, 1974.
71. Crisp, T.M., A.D. Dessanky & R.D. Francis, Am. J. Anat. 127: 37, 1970.
72. Cutuly, E., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48: 315, 1941.
73. Deane, H.W., Am. J. Anat. 91: 363, 1952.
74. Dempsey, E.W., Am. J. Physiol. 120: 126, 1937.
75. Desclin, L., Ann. Endocrinol. 10: 1, 1949.
76. Dickmann, Z., J. Reprod. Fert. 32: 447, 1973.
77. Dobrowolski, W., M. Snochowski & R. Stupnicki, Endocr. Exp. 8: 13, 1974.
78. Donaldson, L. & W. Hansel, J. Dairy Sci. 48: 905, 1965.
79. Drummond-Robinson, G. & S.A. Asdell, J. Physiol. 61: 608, 1925.
80. Dupon, C. & M.H. Kim, J. Endocrinol. 59: 653, 1973.
81. Elbaum, D.J., E.M. Bender, J.M. Brown & P.L. Keyes, Biol. Reprod. 13: 541, 1975.
82. El-Fouly, M.A., B. Cook, M. Nekola & A.V. Nalbandov, Endocrinology 87: 288, 1970.
83. Ely, C.A. & N.B. Schwartz, Endocrinology 89: 1103, 1971.
84. Enders, A.C. & W.R. Lyons, J. Cell Biol. 22: 127, 1964.
85. Evans, H.M. & M.E. Simpson, J. Am. Med. Assoc. 91: 1337, 1928.
86. Evans, H.M., K. Korpi, R.J. Pencharz & M.E. Simpson, Univ. Calif. Publ. Anat. 10: 237, 1936.
87. Evans, H.M., M.E. Simpson, W.R. Lyons & K. Turpeinen, Endocrinology 28: 933, 1941.
88. Evans, H.M., M.E. Simpson & W.R. Lyons, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 46: 586, 1941.
89. Everett, J.W., Endocrinology 25: 123, 1939.
90. Everett, J.W., Am. J. Anat. 77: 293, 1945.
91. Everett, J.W., C.H. Sawyer & J.E. Markee, Endocrinology 44: 234, 1949.
92. Everett, J.W. & C.H. Sawyer, Endocrinology 47: 198, 1950.
93. Everett, J.W., In: Ciba Found. Coll. Endocrinol. 4: 167, 1952.
94. Everett, J.W., Endocrinology 54: 685, 1954.
95. Everett, J.W., Endocrinology 58: 786, 1956.
96. Everett, J.W., In: Sex and Internal Secretions vol. 1 (ed. W.C. Young), The Williams & Wilkins Co. Baltimore, 1961, biz. 497.
97. Everett, J.W., Physiol. Rev. 44: 373, 1964.
98. Everett, J.W., Endocrinology 80: 145, 1967.
99. Everett, J.W., A. Rev. Physiol. 31: 383, 1969.
100. Exley, D., M.W. Johnson & P.D.G. Dean, Steroids 18: 605, 1971.
101. Fajer, A.B. & C.A. Barraclough, Endocrinology 81: 617, 1967.
102. Falck, B., Acta Physiol. Scand. 47, suppl. 163, 1959.
103. Faulkner, L.C. & W. Hansel, Physiologist 5: 138, 1962.
104. Ferin, M., A. Tempone, P. Zimmering & R.L. Vande Wiele, Endocrinology 85: 1070, 1969.

105. Fevold, H.L., F.L. Hisaw & S.L. Leonard, *Am. J. Physiol.* 97: 291, 1931.
106. Fink, G., M.S. Aiyer, M.G. Jamieson & S.A. Chiappa, In: *Hypothalamic Hormones* (eds. M. Motta, P.G. Crosignani & L. Martini), Academic Press London, New York, San Francisco 1975, blz. 139.
107. Flückiger, E. & H.R. Wagner, *Experientia* 24: 1130, 1968.
108. Ford, J.J. & R.M. Melampy, *Endocrinology* 93: 540, 1973.
109. Ford, J.J. & K. Yoshinaga, *Biol. Reprod.* 13: 353, 1975.
110. Fraenkel, L. & F. Cohn, *Anat. Anzeiger* 20: 294, 1901.
111. Freeman, M.E. & J.D. Neill, *Endocrinology* 90: 1292, 1972.
112. Freeman, M.E., L.E. Reichert, jr. & J.D. Neill, *Endocrinology* 90: 232, 1972.
113. Freeman, M.E., M.S. Smith, S.J. Nazian & J.D. Neill, *Endocrinology* 94: 875, 1974.
114. Friedrich, F., G. Breitenecker, H. Salzer & J.H. Holzner, *Acta Endocrinol.* 75: 343, 1974.
115. Fuchs, A.R. & E. Mok, *Biol. Reprod.* 10: 24, 1974.
116. Gay, V.L., *Science* 184: 75, 1974.
117. Gibori, G., I. Rothchild, G.J. Pepe, W.K. Morishige & P. Lam, *Endocrinology* 95: 1113, 1974.
118. Gilmore, D.P. & P.G. McDonald, *Endocrinology* 85: 946, 1969.
119. Gley, P., *J. Physiol. et de Path. Generale* 27: 398, 1928.
120. Goldman, B.D., J.A. Kamberi, P.R. Siiteri & J.C. Porter, *Endocrinology* 85: 1137, 1969.
121. de Greef, W.J. & G.H. Zeilmaker, *Endocrinology* 95: 565, 1974.
122. de Greef, W.J., J. Dullaart & G.H. Zeilmaker, *J. Endocrinol.* 66: 249, 1975.
123. de Greef, W.J. & G.H. Zeilmaker, *Endocrinology* 98: 305, 1976.
124. de Greef, W.J., J. Dullaart & G.H. Zeilmaker, *Endocrinology* 98: 1228, 1976.
125. de Greef, W.J., J. Dullaart & G.H. Zeilmaker, *J. Endocrinol.* (ter perse).
126. de Greef, W.J., J. Dullaart & G.H. Zeilmaker, *Eur. J. Obstet. Gynec. Reprod. Biol.* (ter perse).
127. Greenwald, G.S., *Endocrinology* 79: 572, 1966.
128. Greenwald, G.S. & D.C. Johnson, *Endocrinology* 83: 1052, 1968.
129. Greenwood, F.C., W.M. Hunter & J.S. Glover, *Biochem. J.* 89: 114, 1963.
130. Greep, R.O., *Endocrinology* 23: 154, 1938.
131. Greep, R.O. & F.L. Hisaw, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 39: 359, 1938.
132. Greep, R.O., H.B. van Dyke & B.F. Chow, *Endocrinology* 30: 635, 1942.
133. Greep, R.O., In: *Sex and Internal Secretions* vol. 1 (ed. W.C. Young), The Williams & Wilkins Co. Baltimore 1961, blz. 240-301.
134. Greep, R.O., In: *Hormonal Steroids*; Proc. 3rd Int. Congr. on Hormonal Steroids, Hamburg 1970 (eds. V.H.T. James & L. Martini).
135. Grinwich, D.L., M. Hichens & H.R. Behrman, *Biol. Reprod.* 14: 212, 1976.
136. Grotta, L.J. & K.B. Eik-Nes, *J. Reprod. Fert.* 13: 83, 1967.
137. van der Gugten, A.A. & A.A. Verstraeten, In: *Methods in Cancer Research* Vol. X (ed. H. Busch), Academic Press New York, London 1973, blz. 161-200.

138. Guraya, S.S., J. *Reprod. Fert.* 42: 59, 1975.
139. Haberlandt, L., *Klin. Wochenschr.* 2: 1938, 1923.
140. Hammons, J.A., M. Velasco & I. Rothchild, *Endocrinology* 92: 206, 1973.
141. Hartmann, C.G. & A. Wettstein, *Helv. Chim. Acta* 17: 1365, 1934.
142. Hashimoto, I., D.M. Henricks, L.L. Anderson & R.M. Melampy, *Endocrinology* 82: 333, 1968.
143. Hashimoto, I. & W.G. Wiest, *Endocrinology* 94: 886, 1969.
144. Hashimoto, I. & W.G. Wiest, *Endocrinology* 84: 873, 1969.
145. Hausler, C.L. & P.M. Malven, *Biol. Reprod.* 5: 262, 1971.
146. Heap, R.B., J.S. Perry & J.W. Rowlands, *J. Reprod. Fert.* 13: 537, 1967.
147. Hechter, O., M. Fraenkel, M. Lev & S. Soskin, *Endocrinology* 26: 680, 1940.
148. Hisaw, F.L., R.K. Meyer & C.K. Weichert, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 28: 754, 1927.
149. Hisaw, F.L., *Physiol. Rev.* 27: 95, 1947.
150. Holt, J.A., J.S. Richards, A.R. Midgley, jr. & L.E. Reichert, jr., *Endocrinology* 98: 1005, 1976.
151. Howland, B.E. & K.R. Skinner, *J. Reprod. Fert.* 32: 501, 1973.
152. Hsueh, S.-C. & J.L. Voegt, *Biol. Reprod.* 13: 233, 1975.
153. Huggett, A.St.G. & J. Hammond, In: *Marshall's Physiology of Reproduction* Vol. II (ed. A.S. Parkes), Longmans, Green and Co. London 1964, blz. 312.
154. Ichikawa, S., H. Morioka & T. Sawada, *Endocrinology* 90: 1356, 1972.
155. Johansson, E.D.B., *Acta Endocrinol.* 68: 779, 1971.
156. de Jong, F.H. & H.J. van der Molen, *Ann. Clin. Res.* 2: 381, 1970.
157. de Jong, F.H., A.H. Hey & H.J. van der Molen, *J. Endocrinol.* 57: 277, 1973.
158. de Jong, F.H., D.T. Baird & H.J. van der Molen, *Acta Endocrinol.* 77: 575, 1974.
159. Kalra, S.P. & P.S. Kalra, *Endocrinology* 94: 845, 1974.
160. Kalra, S.P. & P.S. Kalra, *Endocrinology* 95: 1711, 1974.
161. Kelly, P.A., R.P.C. Shiu, M.C. Robertson & H.G. Friesen, *Fed. Proc.* 32: 213, 1973.
162. Kelsey, R.C. & R.K. Meyer, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 75: 736, 1950.
163. Kennedy, W.P., *Quart. J. Exp. Physiology* 15: 104, 1925.
164. Kisch, E.S. & M.C. Shelesnyak, *J. Reprod. Fert.* 15: 401, 1968.
165. Kisch, E.S., *Acta Endocrinol.* 67: 203, 1971.
166. Kraicer, P.F. & M.C. Shelesnyak, *Acta Endocrinol.* 58: 251, 1968.
167. Kraicer, P.F., *J. Reprod. Fert.* 18: 75, 1969.
168. Krehbiel, R.H., *Physiol. Zoöl.* 10: 212, 1937.
169. Kupperman, H.S. & J.A. Epstein, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 22: 456, 1962.
170. Kwa, H.G., A.A. van der Gugten & F. Verhofstad, *Eur. J. Cancer* 5: 559, 1969.
171. Kwa, H.G., A.A. Verstraeten & M.G.M. Scheijde-Bakker, *Eur. J. Cancer* 8: 33, 1972.
172. Labhsetwar, A.P., *J. Reprod. Fert.* 12: 445, 1966.
173. Lamprecht, S.A., H.R. Lindner & J.F. Strauss, *Biochem. Biophys. Acta* 187: 133, 1969.

174. Laron, Z., G. Rumney, L. Rat & N. Najji, *Acta Endocrinol.* 44: 75, 1963.
175. Lau, J.F., S.R. Saksena & M.C. Chang, *Acta Endocrinol.* 78: 343, 1975.
176. Leavitt, W.W. & R.D. Acheson, *Endocrinology* 90: 415, 1972.
177. Legan, S.J. & F.J. Karsch, *Endocrinology* 96: 57, 1975.
178. Lindner, H.R. & M.C. Shelesnyak, *Acta Endocrinol.* 56: 27, 1967.
179. Linkie, D.M. & G.D. Niswender, *Endocrinology* 90: 632, 1972.
180. Linkie, D.M. & G.D. Niswender, *Biol. Reprod.* 8: 48, 1973.
181. Lobel, L.L., R.M. Rosenbaum & H.W. Deane, *Endocrinology* 58: 232, 1961.
182. Loeb, L., *Zentralbl. für Allg. Path.* 18: 563, 1907.
183. Loeb, L., *Zentralbl. für Physiologie* 24: 16, 1910.
184. Loeb, L., *Deutsche Med. Wochenschrift* 37: 17, 1911.
185. Loeb, L., *Surg. Gynecol. and Obstetrics* 25: 300, 1917.
186. Loeb, L., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 20: 441, 1923.
187. Long, J.A. & H.M. Evans, *Mem. Univ. Calif.* 5: 5; 1922.
188. Long, J.A., *Biol. Reprod.* 8: 87, 1973.
189. Lu, K.H., H.T. Chen, H.H. Huang, L. Grandison, S. Marshall & J. Meites, *J. Endocrinol.* 68: 241, 1975.
190. Lyons, W.R., M.E. Simpson & H.M. Evans, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 52: 134, 1943.
191. MacDonald, G.J., A.H. Tashjian, jr. & R.O. Greep, *Biol. Reprod.* 2: 202, 1970.
192. MacDonald, G.J., N.R. Moudgal, H.G.M. Raj & R.O. Greep, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 144: 923, 1973.
193. Magnus, V., *Norsk Magazin for Laege Videnskaben* 62: 1138, 1901.
194. Malven, P.V. & C.H. Sawyer, *Endocrinology* 79: 268, 1966.
195. Malven, P.V., H. Hansel & C.H. Sawyer, *J. Reprod. Fertil.* 13: 205, 1967.
196. Malven, P.V., In: *The Gonads* (ed. K.W. McKerns), Appleton-Century-Crafts New York 1969, blz. 367.
197. Malven, P.V. & W.R. Hoge, *Endocrinology* 88: 445, 1971.
198. Mandl, A.M. & S. Zuckermann, *J. Endocrinol.* 8: 126, 1952.
199. Maneckjee, R., H.G.M. Raj & N.R. Moudgal, *Biol. Reprod.* 8: 43, 1973.
200. Mann, D.R. & C.A. Barraclough, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 142: 1226, 1973.
201. Matthies, D.L., *Anat. Rec.* 159: 55, 1967.
202. McCann, S.M., *Am. J. Physiol.* 202: 395, 1962.
203. McCracken, J.A., J.C. Carlson, M.E. Glew, J.R. Goding, D.T. Baird, K. Green & B. Samuelsson, *Nature New Biol.* 238: 129, 1972.
204. McLean, B.K., N. Chang & M.B. Nikitovitch-Winer, *Endocrinology* 96: 196, 1975.
205. McLean, B.K. & M.B. Nikitovitch-Winer, *Endocrinology* 97: 763, 1975.
206. du Mesnil du Buisson, F. & P.C. Leglise, *C.R. Acad. Sci. (Paris)* 257: 261, 1963.
207. Meijs-Roelofs, H.M.A., J.Th.J. Uilenbroek, W.J. de Greef, F.H. de Jong & P. Kramer, *J. Endocrinol.* 67: 275, 1975.
208. Midgley, A.R., jr., G.D. Niswender, V.L. Gay & L.E. Reichert, jr., *Rec. Progr. Horm. Res.* 27: 235, 1971.
209. Miyagawa, N., K. Noguchi, R. Okamoto & M. Saito, *Endocrinol. Jap.* 22: 261, 1975.

210. van der Molen, H.J., F.H. de Jong & B.A. Cooke, *Clin. Chim. Acta* 34: 169, 1971.
211. Morishige, W.K., G.J. Pepe & I. Rothchild, *Endocrinology* 92: 1527, 1973.
212. Morishige, W.K. & I. Rothchild, *Neuroendocrinology* 16: 95, 1974.
213. Morishige, W.K. & I. Rothchild, *Endocrinology* 95: 260, 1974.
214. Mossman, H.W. & K.L. Duke, In: *Handbook of Physiology section 7: Endocrinology* vol. II (eds. R.O. Greep & E.B. Astwood), American Physiological Society Washington D.C. 1973, blz. 389.
215. Moudgal, N.R., *Nature (London)* 222: 286, 1969.
216. Moudgal, N.R., H.R. Behrman & R.O. Greep, *J. Endocrinol.* 52: 413, 1972.
217. Murphy, B.E.P., W. Engelberg & C.J. Pattee, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 23: 293, 1963.
218. Murphy, B.E.P., In: *Handbook of Physiology section 7: Endocrinology* vol. II part 1 (eds. R.O. Greep & E.B. Astwood), American Physiol. Soc. Washington D.C. 1973, blz. 631.
219. Nakane, P.K., *J. Histochem. Cytochem.* 18: 9, 1970.
220. Neill, J.D., *Endocrinology* 87: 1197, 1970.
221. Neill, J.D., M.E. Freeman & S.A. Tillson, *Endocrinology* 88: 548, 1971.
222. Nekola, M.V. & A.V. Nalbandov, *Biol. Reprod.* 4: 154, 1971.
223. Nicoll, C.S., Z. Yaron, N. Nutt & E. Daniels, *Biol. Reprod.* 5: 59, 1971.
224. Nicoll, C.S. & H.A. Bern, In: *Lactogenic Hormones* (eds. Wolstenholme & Knight), Churchill Livingstone London 1971, blz. 299-324.
225. Nikitovitch-Winer, M.B., A.H. Pribble & A.D. Winer, *Am. J. Physiol.* 208: 1286, 1965.
226. Nuti, K.M. & R.K. Meyer, *Biol. Reprod.* 13: 415, 1975.
227. Okamura, H., S.-L. Yang, K.H. Wright & E.E. Wallach, *Fertil. Steril.* 23: 475, 1972.
228. O'Shea, J.D. & C.S. Lee, *J. Reprod. Fertil.* 28: 281, 1972.
229. O'Shea, J.D. & C.S. Lee, *J. Reprod. Fertil.* 33: 245, 1973.
230. Osman, P., *J. Endocrinol.* 67: 259, 1975.
231. Papanicolaou, G.N., *Anat. Rec.* 18: 251, 1920.
232. Papanicolaou, G.N., *J. Am. Med. Ass.* 86: 1422, 1926.
233. Parkes, A.S. & C.W. Bellerby, *J. Physiol.* 62: 145, 1926.
234. Payne, W.B., H. van Peenan & G.F. Cartland, *Am. J. Physiol.* 86: 243, 1926.
235. Pearl, R. & F.M. Surface, *J. Biol. Chem.* 19: 263, 1914.
236. Peckham, W.D., T. Yamaji, D.J. Dierschke & E. Knobil, *Endocrinology* 92: 1660, 1973.
237. Pederson, E.S., *Am. J. Anat.* 88: 397, 1951.
238. Pencharz, R.J. & J.A. Long, *Am. J. Anat.* 53: 117, 1933.
239. Pepe, G.J. & I. Rothchild, *Endocrinology* 93: 1200, 1973.
240. Pepe, G.J. & I. Rothchild, *Endocrinology* 95: 275, 1974.
241. Peppler, R.D. & G.S. Greenwald, *Am. J. Anat.* 127: 1, 1970.

242. Peppler, R.D. & G.S. Greenwald, *Am. J. Anat.* 127: 9, 1970.
243. Peppler, R.D., *Acta Endocrinol.* 69: 267, 1972.
244. Perry, J.S. & J.W. Rowlands, *J. Reprod. Fertil.* 2: 332, 1961.
245. Peterson, A.J., R.J. Fairclough, E. Payne & J.F. Smith, *Prostaglandins* 10: 675, 1975.
246. Pharriss, B.B. & L.J. Wijngarden, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 130: 92, 1969.
247. Pharriss, B.B., S.A. Tillson & R.R. Erickson, *Rec. Progr. Horm. Res.* 28: 51, 1972.
248. Piacsek, B.E. & H.W. Hostetter, *Biol. Reprod.* 5: 282, 1971.
249. Piacsek, B.E., T.C. Schneider & V.L. Gay, *Endocrinology* 89: 93, 1971.
250. Prenant, A., *Revue Générale des Sciences Pures et Appliquées* 9: 646, 1898.
251. Quattropiani, S.L. & J. Weisz, *Endocrinology* 93: 1269, 1973.
252. Quilligan, E.J. & I. Rothchild, *Endocrinology* 67: 48, 1960.
253. Quinn, D.L. & J.W. Everett, *Endocrinology* 80: 155, 1967.
254. Rabii, J. & C.L. Kragt, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 141: 359, 1972.
255. Raj, H.G.M. & N.R. Moudgal, *Endocrinology* 86: 874, 1970.
256. Ramirez, V.D. & C.H. Sawyer, *Endocrinology* 94: 475, 1974.
257. Ray, E.W., S.C. Averill, W.R. Lyons & R.E. Johnson, *Endocrinology* 56: 359, 1955.
258. van Rees, G.P., J.A.M.J. van Dieten, E. Bijleveld & E.R.A. Muller, *Neuroendocrinology* 3: 220, 1968.
259. Rifkind, A.B., H.E. Kulin, C.M. Cargille, P.C. Rayford & G.T. Ross, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 29: 506, 1969.
260. Robertson, M.C. & H.G. Friesen, *Endocrinology* 97: 621, 1975.
261. Rothchild, I., *Endocrinology* 67: 9, 1960.
262. Rothchild, I., *Endocrinology* 67: 54, 1960.
263. Rothchild, I., *Vitamins and Hormones* 23: 272, 1965.
264. Rothchild, I., *Acta Endocrinol.* 49: 107, 1965.
265. Rothchild, I., G.J. Pepe & W.K. Morishige, *Endocrinology* 95: 280, 1974.
266. Rothchild, I. & G. Gibori, *Endocrinology* 97: 838, 1975.
267. Ryan, M.J., K.E. Clark, D.E. van Orden, D. Farley, L. Edvinson, N.O. Sjoberg, L.S. van Orden & M.D. Brody, *Prostaglandins* 5: 257, 1974.
268. Saksena, S.R., D.T. Watson, J.F. Lau & A.A. Shaikh, *Prostaglandins* 25: 557, 1974.
269. Savard, K., *Biol. Reprod.* 8: 183, 1973.
270. Schally, A.V., A. Arimura, A.J. Kastin, H. Matsuo, Y. Baba, T.W. Redding, R.M.G. Nair & L. Debeljuk, *Science* 173: 1036, 1971.
271. Schomberg, D.W., In: *The Gonads* (ed. K.W. McKerns), Appleton-Century-Crofts New York 1969, blz. 383.
272. Schomberg, D.W., R.L. Stouffer & L. Tyrey, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 68: 77, 1976.
273. Schönwetter, H.P., *Inaugural-Dissertation Universität Zürich 1968 (Zürcher medizingeschichtliche Abhandlungen Nr. 61)*.
274. v.d. Schoot, P.J.C.M., *Ac. Proefschrift Rotterdam 1973*.

275. v.d. Schoot, P. & W.J. de Greef, J. *Endocrinol.* 70: 61, 1976.
276. Schwartz, N.B., *Am. J. Physiol.* 207: 1251, 1964.
277. Schwartz, N.B., *Rec. Progr. Horm. Res.* 25: 1, 1969.
278. Schwartz, N.B. & C.E. McCormack, *A. Rev. Physiol.* 34: 425, 1972.
279. Schwartz, N.B., *Biol. Reprod.* 10: 236, 1974.
280. Schwarzel, W.C., W.G. Kruggel & H.J. Brodie, *Endocrinology* 92, 866, 1973.
281. Selye, H., J.B. Collip & D.L. Thomson, *Anat. Rec.* 58: 139, 1934.
282. Shaikh, A.A. & K. Yoshinaga, *Biol. Reprod.* 3: 31, 1970.
283. Shaikh, A.A. & D.P. Gilmore, *J. Reprod. Fertil.* 36: 387, 1974.
284. Shaikh, A.R. & S.A. Shaikh, *Endocrinology* 96: 37, 1975.
285. Shelesnyak, M.C., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 87: 377, 1954.
286. Shelesnyak, M.C., *Am. J. Physiol.* 180: 47, 1955.
287. Shirley, B., J. Wolensky & N.B. Schwartz, *Endocrinology* 82: 959, 1968.
288. Short, R.V., *J. Endocrinol.* 24: 59, 1962.
289. Silbiger, M. & I. Rothchild, *Acta Endocrinol.* 43: 521, 1963.
290. Slotta, K.H., H. Ruschig & E. Fells, *Ber. Deutsche Chem. Ges.* 67: 1270, 1934.
291. Smalstig, E.B., D.R. Bennett & R.L. Cochrane, *J. Reprod. Fertil.* 32: 137, 1973.
292. Smith, M.S., M.E. Freeman & J.D. Neill, *Endocrinology* 96: 219, 1975.
293. Smith, M.S. & J.D. Neill, *Endocrinology* 98: 324, 1976.
294. Smith, M.S. & J.D. Neill, *Endocrinology* 98: 696, 1976.
295. Smith, M.S., B.K. McLean & J.D. Neill, *Endocrinology* 98: 1370, 1976.
296. Smith, P.E., *J. Am. Med. Assoc.* 88: 158, 1927.
297. Spies, H.G. & G.D. Niswender, *Endocrinology* 88: 937, 1971.
298. Stern, J.M. & J.L. Voogt, *Neuroendocrinology* 13: 173, 1973.
299. Stolzenberg, S.J., L.C. Faulkner & W. Hansel, *Acta Endocrinol.* 58: 101, 1968.
300. Strauss, J.F. & R.L. Stambaugh, *Prostaglandins* 5: 73, 1974.
301. Takayama, M. & G.S. Greenwald, *J. Endocrinol.* 56: 421, 1973.
302. Takayama, M. & G.S. Greenwald, *Endocrinology* 92: 1405, 1973.
303. Uchida, K., M. Kadowaki & T. Miyake, *Endocrinol. Jap.* 16: 227, 1969.
304. Uchida, K., M. Kadowaki, T. Miyake & K. Wakabayashi, *Endocrinol. Japon.* 20: 103, 1973.
305. Uilenbroek, J.Th.J., *Ac. Proefschrift Rotterdam 1974 (hoofdstuk 2)*.
306. Van Dijke, H.B. & Z. Wallen-Lawrence, *J. Pharmacol.* 47: 163, 1933.
307. Velardo, J.T., *Anat. Rec.* 122: 477, 1955.
308. Veomett, M.J. & J.C. Daniel, jr., *J. Reprod. Fertil.* 44: 529, 1975.
309. Vermeiden, J.P.W. & G.H. Zeilmaker, *Endocrinology* 95: 341, 1974.
310. Vermeiden, J.P.W., *Ac. Proefschrift Rotterdam 1974*.
311. Waynforth, H.B., *J. Endocrinol.* 33, xi, 1965.
312. Waynforth, H.B., *Acta Endocrinol.* 66: 296, 1971.
313. Weems, C.W., J.E. Pexton, R.L. Butcher & E.K. Inskip, *Biol. Reprod.* 13: 282, 1975.

314. Welschen, R. & M. Rutte, *Acta Endocrinol.* 68: 41, 1971.
315. Welschen, R., *Ac. Proefschrift Rotterdam* 1972.
316. Welschen, R., *J. Endocrinol.* 55: 227, 1972.
317. Welschen, R., *Acta Endocrinol.* 72: 137, 1973.
318. Welschen, R. & J. Dullaart, *J. Endocrinol.* 63: 421, 1974.
319. Welschen, R., P. Osman, J. Dullaart, W.J. de Greef, J.Th.J. Uilenbroek & F.H. de Jong, *J. Endocrinol.* 64: 37, 1975.
320. Welschen, R. & J. Dullaart, *J. Endocrinol.* 70: 301, 1976.
321. White, A., *Vitam. and Horm.* 7: 253, 1949.
322. Wiesner, B.P. & F.A.E. Crew, *Proc. Roy. Soc. Edinburgh* 50: 79, 1930.
323. Wiesner, B.P. & P.G. Marshall, *Quart. J. Exp. Physiol.* 21: 147, 1931.
324. Wiest, W.G., *J. Biol. Chem.* 221: 461, 1956.
325. Wiest, W.G., *Endocrinology* 65: 825, 1959.
326. Wiest, W.G., W.R. Kidwell & K. Balogh, jr., *Endocrinology* 82: 844, 1968.
327. Wilcox, R.B. & W.G. Wiest, *Endocrinology* 67: 281, 1960.
328. Wuttke, W. & J. Meites, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 135: 648, 1970.
329. Wuttke, W., E. Cassell & J. Meites, *Endocrinology* 88: 737, 1971.
330. Wuttke, W. & J. Meites, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 137: 988, 1971.
331. Wuttke, W. & J. Meites, *Endocrinology* 90: 438, 1972.
332. Yoshinaga, K. & C.E. Adams, *J. Reprod. Fertil.* 13: 505, 1967.
333. Yoshinaga, K., *J. Endocrinol.* 38: 423, 1967.
334. Yoshinaga, K., S.A. Grieves & R.V. Short, *J. Endocrinol.* 38: 423, 1967.
335. Yoshinaga, K., N.R. Moudgal & R.O. Greep, *Endocrinology* 88: 1126, 1971.
336. Young, W.C., In: *Sex and Internal Secretions* vol. 1 (ed. W.C. Young), The Williams and Wilkins Co. Baltimore 1961, blz. 449.
337. Younglai, E.V. & R.V. Short, *J. Endocrinol.* 47: 321, 1970.
338. Zeilmaker, G.H. & R.A. Carlsen, *Acta Endocrinol.* 41: 321, 1962.
339. Zeilmaker, G.H., *Ac. Proefschrift Amsterdam* 1964.
340. Zeilmaker, G.H., *Acta Endocrinol.* 49: 558, 1965.
341. Zeilmaker, G.H., *J. Endocrinol.* 41: 455, 1968.
342. Zeilmaker, G.H., *Acta Endocrinol.* 59: 442, 1968.
343. Zeilmaker, G.H., In: *International Encyclopaedia of Pharmacology and Therapeutics* 48 (ed. M. Tausk), Pergamon Press Oxford 1971, blz. 331.
344. Zondek, B. & S. Aschheim, *Archiv für Gynäkologie* 130: 1, 1927.
345. Zondek, B., *Klin. Wochenschr.* 9: 245, 1930.
346. Zschokke, E., *Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz* 12: 252, 1898.

INHOUD

VOORWOORD	7
HOOFDSTUK 1. INLEIDING	
1-1. HISTORISCHE INLEIDING.	9
1-1.1. Ontdekking en functie van het corpus luteum.	9
1-1.2. Regulatie van de ovariumfunctie door de hypofyse.	11
1-2. DE VOORTPLANTINGSCYCLUS VAN DE VROUWELIJKE RAT.	14
1-2.1. Inleiding.	14
1-2.2. De oestruscyclus van de rat.	16
1-2.2.1. Follikelontwikkeling tijdens de oestruscyclus.	16
1-2.2.2. Hormoonspiegels tijdens de oestruscyclus.	17
1-2.2.3. Verband tussen hormonale veranderingen tijdens de oestruscyclus.	20
1-2.3. De luteale fase van de rat.	24
1-2.3.1. Inleiding.	25
1-2.3.2. Correlatie tussen de functionele toestand van het corpus luteum en de activiteit van het enzym 20 α -hydroxysteroiddehydrogenase.	27
1-2.3.3. Luteotrofe hormonen.	28
1-2.3.3.1. Inleiding.	28
1-2.3.3.2. Luteotrofe werking van prolactine.	30
1-2.3.3.3. Luteotrofe werking van de placenta.	32
1-2.3.3.4. Luteotrofe werking van LH.	34
1-2.3.4. Luteolyse.	37
1-2.3.4.1. Inleiding.	37
1-2.3.4.2. Luteolytische werking van hormonen uit de hypofyse.	38
1-2.3.4.3. Luteolytische werking van de uterus.	40
1-3. HET EIGEN ONDERZOEK.	42
HOOFDSTUK 2. MATERIAAL EN METHODEN	
2-1. PROEFDIEREN.	44
2-1.1. Operatieve ingrepen.	45
2-1.1.1. Ovariëctomie.	45

2-1.1.2. Het verwijderen van de laatstgevormde groep corpora lutea.	45
2-1.1.3. Hysterectomie.	46
2-1.1.4. Hypofysectomie.	46
2-1.1.5. Inductie van de vorming van deciduomen.	46
2-1.1.6. Transplantatie van een hypofyse of een ovarium onder het nierkapsel.	46
2-1.2. Het verzamelen van bloed.	47
2-1.3. Histologische procedures.	47
2-2. HORMOONBEPALINGEN.	47
2-2.1. Competitieve eiwitbinding.	48
2-2.2. Radio-immunologische bepaling van steroiden en gonadotrofinen.	49
2-2.2.1. Radio-immunologische bepaling van progesteron.	49
2-2.2.2. Radio-immunologische bepaling van LH en FSH.	52
2-2.2.3. Radio-immunologische bepaling van prolactine.	53
2-2.2.4. Radio-immunologische bepaling van oestradiol-17 β .	53
2-3. GEBRUIKTE STATISTISCHE TOETSEN.	54

HOOFDSTUK 3. HORMOONSPIEGELS EN FOLLIKELONTWIKKELING TIJDENS PSEUDOZWANGERSCHAP EN CYCLUS BIJ DE RAT

3-1. INLEIDING.	55
3-2. MATERIAAL EN METHODEN.	56
3-3. RESULTATEN.	58
3-3.1. Prolactinespiegels in het serum tijdens cyclus en pseudozwangerschap.	58
3-3.2. Progesteronspiegels in het plasma tijdens cyclus en pseudozwangerschap.	59
3-3.3. LH- en FSH-spiegels in het serum tijdens cyclus en pseudozwangerschap.	59
3-3.4. Oestradiolspiegels in het plasma tijdens cyclus en pseudozwangerschap.	61
3-3.5. Ovarium- en uterus-gewicht tijdens pseudozwangerschap.	61
3-3.6. Follikelontwikkeling tijdens cyclus en pseudozwangerschap.	61
3-4. DISCUSSIE.	63

3-5. SAMENVATTING.	66
HOOFDSTUK 4. HORMOONSPIEGELS EN FOLLIKELONTWIKKELING BIJ DE PSEUDOZWANGERE RAT NA HET VERWIJ- DEREN VAN CORPORA LUTEA	
4-1. INLEIDING.	68
4-2. MATERIAAL EN METHODEN.	69
4-2.1. Progesteronconcentraties in het bloed van pseudo- zwangere ratten en het effect van het verwijderen van corpora lutea.	69
4-2.2. Gonadotrofinenspiegels en follikelontwikkeling bij de pseudozwangere rat na eenzijdige ovariëctomie.	69
4-3. RESULTATEN.	70
4-3.1. Progesteronconcentraties in het bloed van pseudo- zwangere ratten en het effect van het verwijderen van luteaal weefsel.	70
4-3.1.1. Progesteronconcentraties in het bloed tijdens pseudozwangerschap.	70
4-3.1.2. Progesteronconcentraties in het bloed na een- zijdige ovariëctomie op dag 0, 3 of 8 van de pseudozwangerschap.	70
4-3.1.3. Progesteronconcentraties in het bloed na cauteri- satie van de corpora lutea op dag 1 of dag 2 van pseudozwangerschap.	74
4-3.2. Gonadotrofinenconcentraties in het serum van pseudo- zwangere ratten en follikelontwikkeling tijdens pseu- dozwangerschap na eenzijdige ovariëctomie op dag 1.	78
4-4. DISCUSSIE.	81
4-5. SAMENVATTING.	86
HOOFDSTUK 5. HORMOONSPIEGELS TIJDENS PSEUDOZWANGER- SCHAP BIJ DE GEHYSTERECTOMEERDE EN DE DECIDUOOMDRAGENDE RAT	
5-1. INLEIDING.	88
5-2. MATERIAAL EN METHODEN.	89

5-3. RESULTATEN.	90
5-3.1. De lengte van de pseudozwangerschap bij intacte en gehysterectomeerde ratten met een onder het nierkapsel getransplanteerd ovarium.	90
5-3.2. Hormoonspiegels bij intacte en gehysterectomeerde pseudozwangere dieren.	90
5-3.3. Progesteron- en LH-concentraties in het serum van pseudozwangere dieren na het verwijderen van de uterus op dag 2 van pseudozwangerschap.	93
5-3.4. LH-concentraties in het serum van intacte en gehysterectomeerde ratten na ovariëctomie.	94
5-3.5. LH-concentraties in het serum van intacte en gehysterectomeerde ratten tijdens de pro-oestrusmiddag.	95
5-3.6. Hormoonspiegels in het serum van pseudozwangere ratten na de vorming van deciduomen.	96
5-3.7. Progesteronconcentraties in het plasma van deciduomdragende dieren en controle-dieren na hypofysectomie op dag 7 van pseudozwangerschap.	101
5-4. DISCUSSIE.	103
5-5. SAMENVATTING.	107

HOOFDSTUK 6. PROLACTINE EN UITGESTELDE PSEUDOZWANGERSCHAP BIJ DE RAT

6-1. INLEIDING.	110
6-2. MATERIAAL EN METHODEN.	112
6-2.1. Het effect op de prolactinespiegels van meerdere malen bloed afnemen bij individuele ratten.	112
6-2.2. Inductie van uitgestelde pseudozwangerschap.	113
6-3. RESULTATEN.	113
6-3.1. Het effect op de prolactineconcentraties in het bloed van meerdere malen bloed afnemen bij individuele ratten.	113
6-3.2. Prolactineconcentraties vóór en na de verwijdering van de corpora lutea op dag 2 van pseudozwangerschap.	115

6-3.3. Prolactineconcentraties in het serum na de verwijdering van de ovaria <i>in situ</i> op dag 0 van pseudozwangerschap bij dieren met een ovariumtransplantaat onder het nierkapsel.	117
6-3.4. Prolactineconcentraties in het serum na toediening van 1 mg ergocorninehydrogenmaleïnaat op dag 1 van pseudozwangerschap.	118
6-3.5. Progesteronconcentraties in het serum tijdens uitgestelde pseudozwangerschap.	119
6-4. DISCUSSIE.	119
6-5. SAMENVATTING.	123

HOOFDSTUK 7. HORMOONSPIEGELS IN PSEUDOZWANGERE RATTEN BEHANDELD MET MEDROXYPROGESTERONACETAAT, LH, LH-RH OF OESTRADIOLBENZOAT

7-1. INLEIDING.	125
7-2. MATERIAAL EN METHODEN.	127
7-3. RESULTATEN.	128
7-3.1. FSH-, LH- en progesteron-concentraties in het serum van pseudozwangere ratten na het toedienen van medroxyprogesteronacetaat op dag 3 van pseudozwangerschap.	128
7-3.2. Progesteronconcentraties in het serum van pseudozwangere ratten na toedienen van 10 mg medroxyprogesteronacetaat op dag 1 van pseudozwangerschap.	132
7-3.3. Progesteron- en LH-concentraties in het serum van gehysterectomeerde pseudozwangere ratten na toedienen van 10 mg medroxyprogesteronacetaat op dag 5 van pseudozwangerschap.	133
7-3.4. Progesteronconcentraties in het plasma en de lengte van pseudozwangerschap bij intacte en gehysterectomeerde ratten behandeld met schape-LH of LH-RH.	134
7-3.5. Progesteron- en LH-concentraties in het serum van pseudozwangere ratten die van dag 0 tot en met dag 8 van pseudozwangerschap met oestradiolbenzoaat behandeld werden.	139

7-4. DISCUSSIE.	141
7-4.1. Medroxyprogesteronacetaat.	141
7-4.2. Luteolytische effecten van oestradiolbenzoaat en LH.	144
7-4.3. Mogelijke verklaringen voor de luteolytische werking van oestradiolbenzoaat en LH	145
7-4.4. Luteolyse bij de rat.	147
7-5. SAMENVATTING.	150
HOOFDSTUK 8. SUMMARY	152
LITERATUURLIJST	159
INHOUD	169
CURRICULUM VITAE	175

CURRICULUM VITAE

De schrijver van dit proefschrift werd geboren in 1948 te Utrecht. Het diploma HBS-B werd in 1966 behaald aan het Thorbeckelyceum te Utrecht. In hetzelfde jaar werd een aanvang gemaakt met de studie in de biologie aan de Rijksuniversiteit te Utrecht. Het kandidaatsexamen werd in 1969 behaald. Het practisch werk voor het doctoraalexamen werd verricht onder leiding van Dr. J.A.M. Mattheij (Zoölogisch Laboratorium; Prof. Dr. P.G.W.J. van Oordt), Dr. A. de Zwaan (Laboratorium voor Scheikundige Dierfysiologie; Prof. Dr. D.I. Zandee) en Dr. B. de Kruyff (Biochemisch Laboratorium; Prof. Dr. L.L.M. van Deenen). Het doctoraalexamen werd behaald in 1971. Sinds december 1971 is de schrijver van dit proefschrift als wetenschappelijk medewerker verbonden aan de afdeling Endocrinologie, Groei en Voortplanting van de Erasmus Universiteit (Medische Faculteit) te Rotterdam.

