

4.2. Ergebnisse

Im folgenden werden die Ergebnisse der Versuche I-III vorgestellt. Nach Darstellung der allgemeinen Befunde wird auf die speziellen verwiesen. Zur besseren Übersicht werden in diesem Kapitel nicht alle Rohdaten jedes Parameters aufgeführt (diese befinden sich im Anhang S. 98 ff., sondern die Entwicklung der untersuchten Parameter wird durch Grafiken und Tabellen verdeutlicht.

4.2.1. Versuch I

Einfluß einer unterschiedlich dosierten E₂-Substitution auf die Knochendichte und die Östradiol-Serumkonzentration von ovariectomierten adulten Ratten

Allgemeine Befunde

Tiergewicht

Abbildung 5 zeigt die Tiergewichte der einzelnen Gruppen am Anfang und am Ende einer vierwöchigen 17- β -Östradiol-Substitution. Statistisch getestet wurden die relativen Körpergewichtsänderungen ($KG_{\text{Anfang}} - KG_{\text{Ende}} / KG_{\text{Anfang}} * 100$).

Signifikant größere Tiergewichtsänderungen gegenüber der SHAM-Kontrollgruppe konnten in der OVX- Kontrollgruppe und der Gruppe mit der geringsten Substitutionsdosis (0,05 $\mu\text{g E}_2$ / Tier/ Tag) festgestellt werden. Die Tiere der 0,3 $\mu\text{g E}_2$ / Tier/ Tag-Gruppe und der 0,1 $\mu\text{g E}_2$ / Tier/ Tag-Gruppe nahmen über den Versuchszeitraum etwa gleichermaßen an Körpergewicht zu, wie die der SHAM-Kontrollgruppe. Eine geringere Körpergewichtszunahme (nicht signifikant) im Vergleich zur SHAM-Kontrollgruppe war in der höchstdosierten Gruppe (0,5 $\mu\text{g E}_2$ / Tier/ Tag) zu verzeichnen.

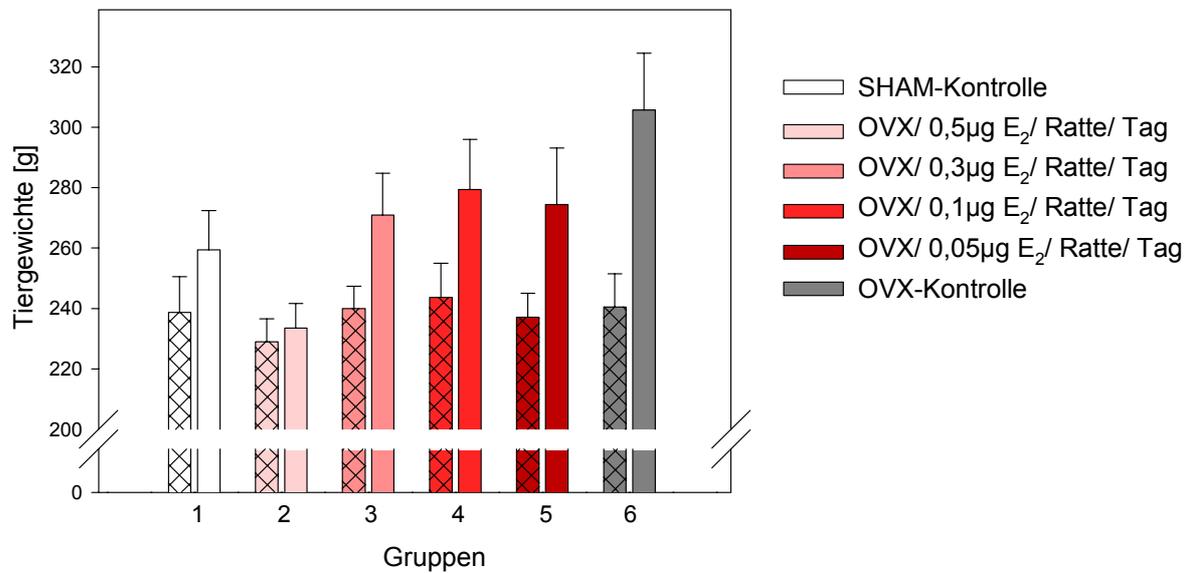


Abbildung 5 Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Körpergewichte ovarektomierter Ratten zu Beginn des Versuchs (gemusterte Säulen) und nach vier Wochen unterschiedlicher 17- β -Östradiol-Behandlung (leere Säulen).

Uterusgewicht

Abbildung 6 zeigt die Wirkung unterschiedlicher Östradiol-Behandlung auf das Uterusfeuchtgewicht im Verhältnis zum Körpergewicht ovarektomierter Ratten (relatives Uterusgewicht=Uterusfeuchtgewicht *100/ Körpergewicht). Deutlich zu erkennen ist, daß mit steigender Östradiol-Substitutionsdosis auch das mittlere Uterusfeuchtgewicht anstieg und in der höchsten Dosierung über der SHAM-Kontrolle lag. Ein signifikant geringeres relatives Uterusgewicht gegenüber der scheinoperierten Kontrolle ist nur in der OVX-Kontrolle festzustellen.

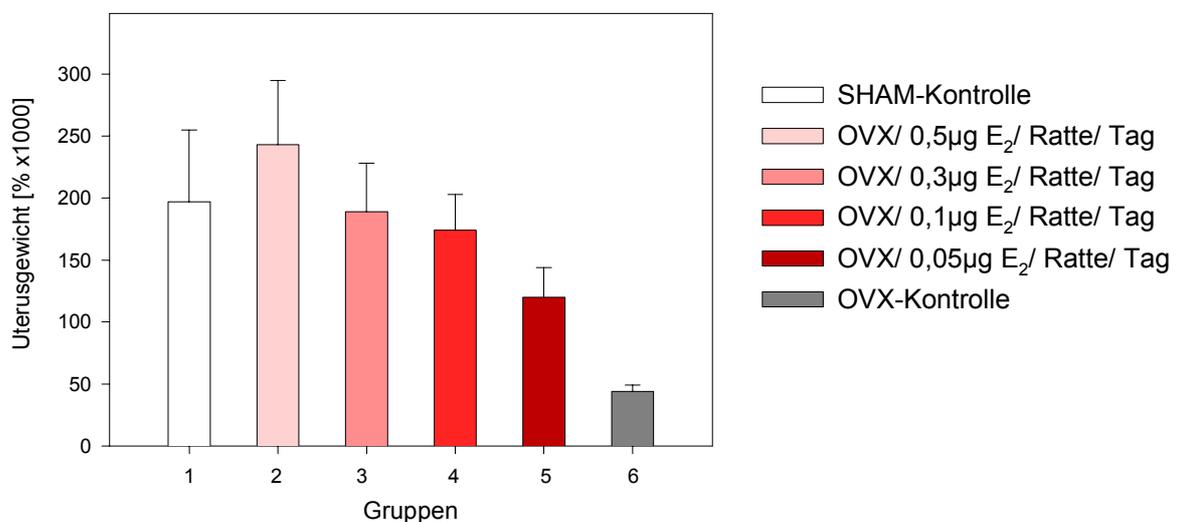


Abbildung 6 Auswirkung unterschiedlicher 17- β -Östradiolbehandlung auf das Uterusfeuchtgewicht relativ zum Körpergewicht ovarektomierter Ratten über vier Wochen.

17- β -Östradiol

Am Versuchstag 0 des Experiments befanden sich alle Tiere im Zyklusstadium Diöstrus und hatten etwa gleich hohe Östradiol-Serumkonzentrationen. Die Schwankungen in der SHAM-Kontrollgruppe im Versuchsverlauf resultierten aus den normalen Veränderungen des Östradiolserumspiegels im Zyklus intakter, unbehandelter Ratten. Ebenfalls zeigt Abbildung 7 (S. 37), daß die nahezu konstanten Östradiol-Serumspiegel jeder Behandlungsgruppe über den Versuchszeitraum deren Substitutionsdosis widerspiegeln, was auf eine einwandfreie Funktion der osmotischen Pumpen rückschließen läßt.

Bei der mit 0,5 $\mu\text{g E}_2$ / Tier/ Tag substituierten Gruppe lag die Östradiolkonzentration während des gesamten Behandlungszeitraumes durchschnittlich um 150 pmol/l und damit signifikant höher als die der SHAM-Gruppe. Bei den mit weniger Östradiol substituierten Gruppen fand sich auch entsprechen weniger Östradiol im Serum. Die Östradiolspiegel der Gruppe mit einer Substitution von 0,3 $\mu\text{g E}_2$ / Tier/ Tag lagen bei 58 pmol/l.

Die Gruppe mit 0,1 $\mu\text{g E}_2$ / Tier/ Tag Substitution zeigte durchschnittliche Werte von 50 pmol/l und bei der am geringsten substituierten Gruppe mit 0,05 $\mu\text{g E}_2$ / Tier/ Tag lagen die Östradiolserumspiegel etwa bei 32 pmol/l während des Behandlungszeitraums. In der ovariectomierten Kontrolle betrug der durchschnittliche Östradiolserumspiegel 23 pmol/l.

Die durchschnittlichen Östradiol-Serumkonzentrationen der vier letztgenannten Gruppen lagen im Vergleich zur SHAM-Gruppe signifikant niedriger. In Tabelle 1 (S. 38) sind die durchschnittlichen Östradiol-Serumkonzentrationen und die relative Knochendichteänderung pro Behandlungsgruppe nach vierwöchiger Behandlungszeit gegenübergestellt worden. Deutlich wird, daß sich mit steigender Substitutionsdosis die Serumöstradiolmittelwerte erhöhten und Knochendichteverluste verringern bzw. vermeiden ließen. Eine signifikante positive Korrelation ($R = 0,60$, $N = 52$) besteht zwischen Knochendichte und Östradiol-Serumkonzentration.

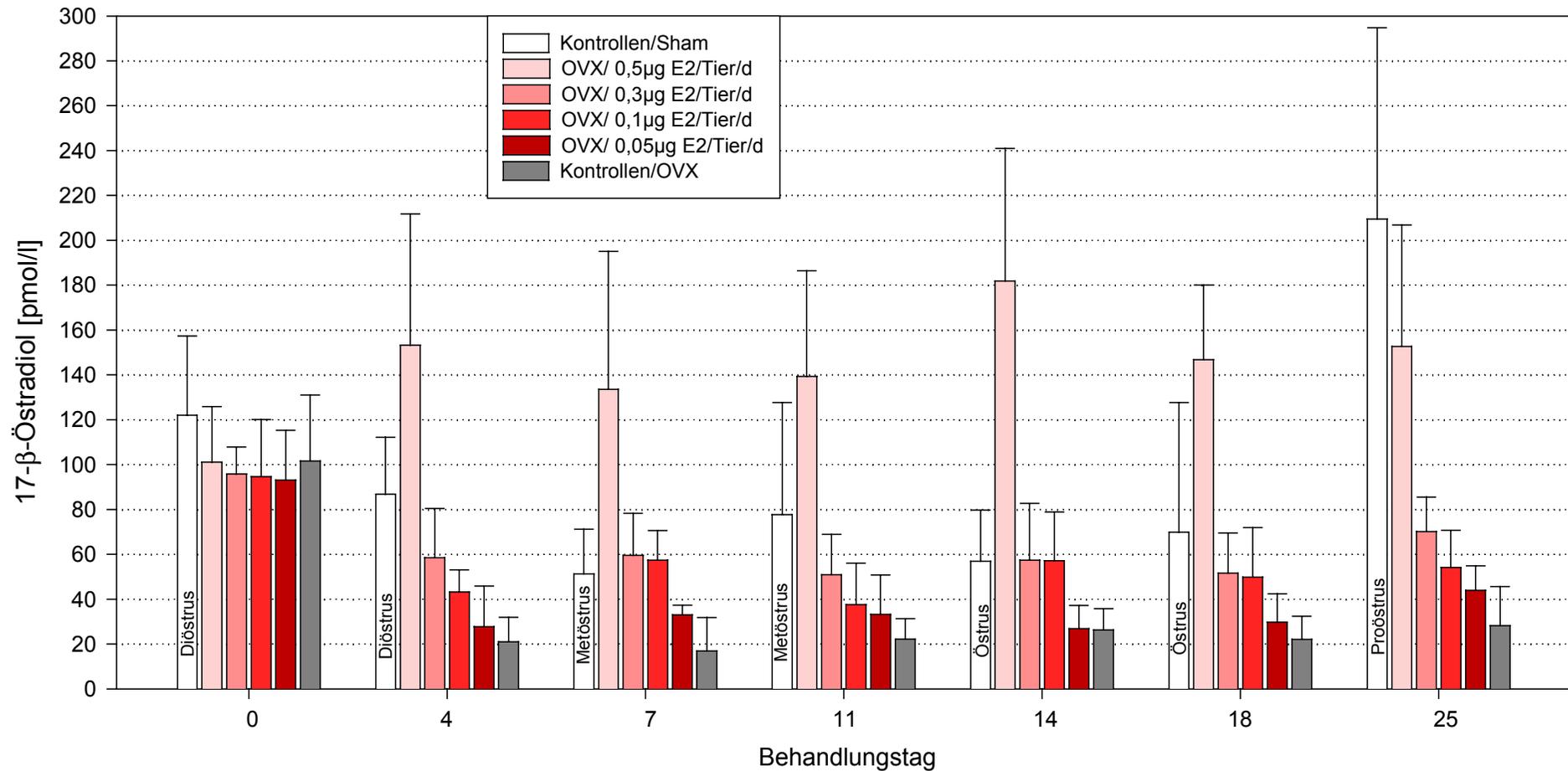


Abbildung 7 Dargestellt sind die Östradiolserumkonzentrationen ovariectomierter Ratten, die mit unterschiedlichen 17-β-Östradiol-Dosierungen substituiert wurden. Deutlich konstant zeigten sich die Östradiolserumspiegel der Behandlungsgruppen über den vierwöchigen Versuchszeitraum. Die Schwankungen in der SHAM-Kontrollgruppe im Versuchsverlauf resultierten aus dem normalen Zyklusgeschehen. Am Tag 0 befanden sich alle Versuchstiere im Zyklusstadium Diöstrus.

Tabelle 1 Einfluß unterschiedlicher 17- β -Östradiolsubstitution auf die relative Knochendichteänderung ($KD_{\text{ENDE}} - KD_{\text{ANFANG}} / KD_{\text{ANFANG}} * 100$) und die durchschnittliche 17- β -Östradiol-Serumkonzentration ovariectomierter Ratten über einen Zeitraum von vier Wochen/ direkter Vergleich Knochendichteänderung und durchschnittliche 17- β -Östradiol-Serumkonzentration pro Behandlungsgruppe

Behandlungsgruppen	relative Knochendichteänderung [%]	durchschnittlicher Östradiol-Serumspiegel [pmol/l]
Kontrollen/ SHAM	-3,9	92,0
0,5 μ g E ₂ /Tier/Tag	1,8	151,2
0,3 μ g E ₂ /Tier/Tag	-6,1	58,0
0,1 μ g E ₂ /Tier/Tag	-9,6	49,9
0,05 μ g E ₂ /Tier/Tag	-13,9	32,4
Kontrollen/ OVX	-30,6	22,8

Osteocalcin

Im Versuchsverlauf zeigten sich die Osteocalcinwerte jeder Gruppe, wie in Abbildung 8 ersichtlich, relativ konstant. Es wurde festgestellt, daß die durchschnittlichen Osteocalcin-Serumkonzentrationen der ovariectomierten Kontrollgruppe und der geringst substituierten Gruppe (0,05 μ g E₂/ Tier/ Tag) gegenüber der SHAM-Kontrollgruppe signifikant erhöht waren. Mit denen der scheinoperierten Kontrollgruppe vergleichbare Serumkonzentrationen fanden sich in der am höchsten substituierten Gruppe (0,5 μ g E₂/ Tier/ Tag).

Ebenfalls höhere mittlere Serumwerte (nicht signifikant) als in der scheinoperierten Kontrollgruppe lagen in der 0,3 μ g E₂/Tier/Tag-Gruppe und in der 0,1 μ g E₂/Tier/Tag-Gruppe vor. Insgesamt war eine Dosisabhängigkeit der Osteocalcin-Serumkonzentration von der Östradiol-Substitution zu erkennen. Eine signifikante negative Korrelation ($R = 0,57$; $N = 51$) bestand zwischen der Knochendichte am Ende des Versuchs und der Osteocalcin-Serumkonzentration.

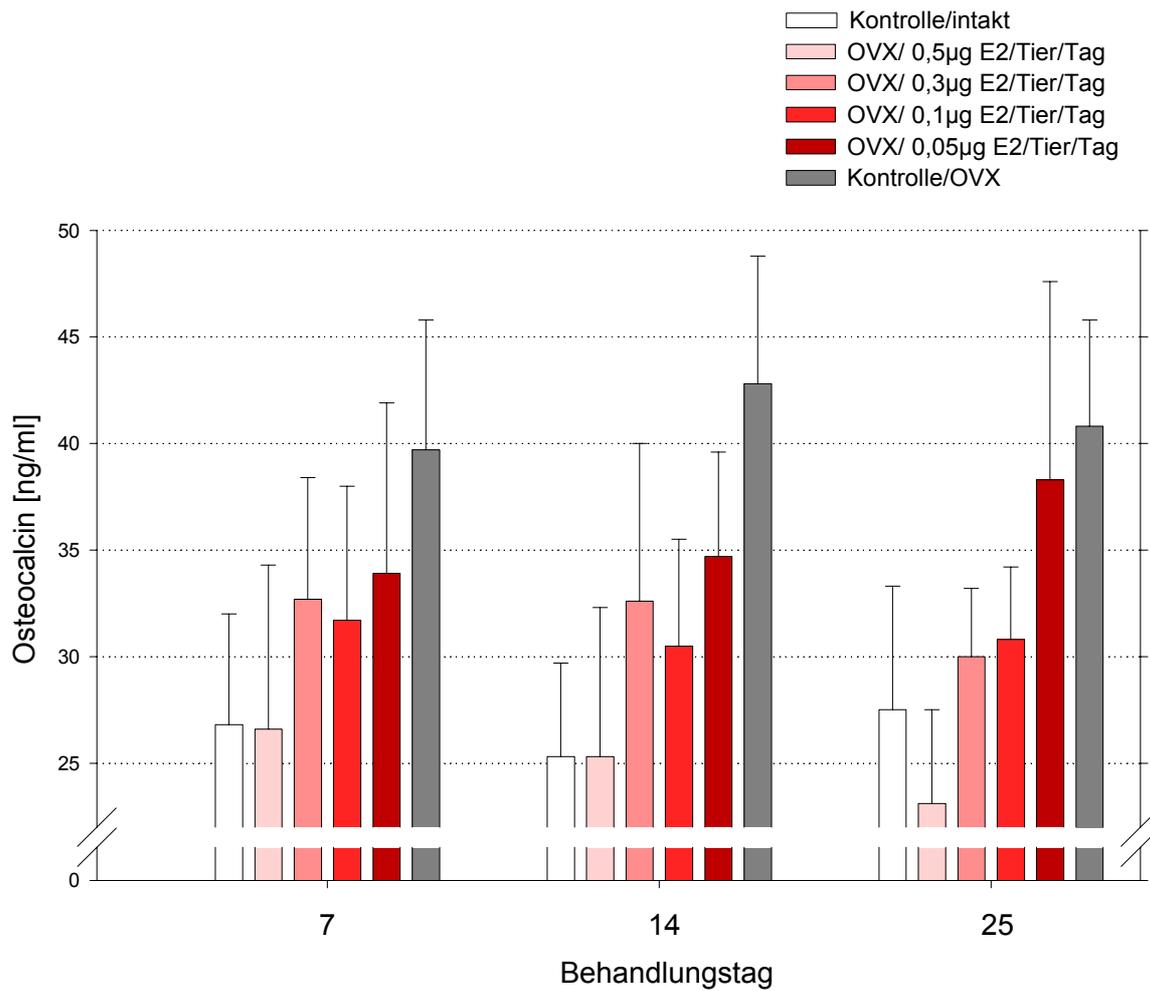


Abbildung 8 Dargestellt ist der Einfluß unterschiedlicher 17- β -Östradiol-Substitution ovariectomierter Ratten auf den im Serum bestimmten Knochenparameter Osteocalcin. Jede Gruppe zeigte über den Versuchszeitraum relativ konstante Serumspiegel. Deutlich wird die Dosisabhängigkeit des Osteocalcin-Serumspiegels von der Östradiolsubstitution. Mit steigender Substitutionsdosis sinkt der Osteocalcin-Serumspiegel bis auf Werte der SHAM-Kontrollgruppe und darunter.

Knochenbefunde

Spongiosadichten am QCT

In diesem ersten Versuch wurde die Knochendichte der Tiere individuell vor und am Ende des Versuchs bestimmt. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in der Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2 Mittlere Spongiosadichten im Versuch I. Aufgeführt sind Mittelwerte und Standardabweichungen der am Versuchsanfang und -ende im QCT ermittelten Spongiosadichten aller in Versuch I eingesetzten Gruppen (MW-Mittelwert, SD-Standardabweichung)

Behandlungsgruppen		mittlere Spongiosadichten [mg/ccm]		
		Anfang/invivo	Ende/invitro	Differenz
Kontrollen	MW	391,6	375,0	-16,7
SHAM	SD	43,1	30,4	12,9
Kontrollen	MW	381,6	265,9	-115,7
OVX	SD	29,3	38,0	16,5
0,5µgE ₂ /Tier/d	MW	380,6	386,9	6,3
	SD	30,00	27,90	19,20
0,3µgE ₂ /Tier/d	MW	404,0	378,3	-25,7
	SD	41,0	39,3	24,7
0,1µgE ₂ /Tier/d	MW	378,9	342,5	-36,5
	SD	31,9	46,9	36,8
0,05µgE ₂ /Tier/d	MW	386,3	333,1	-53,2
	SD	28,5	35,2	16,5

Abbildung 9 (S. 41) zeigt die Spongiosadichten am Ende des Versuches. Um die Veränderung der Knochendichte nach Ovariectomie und Östradiolsubstitution zu verdeutlichen, wurden die relativen Spongiosadichten errechnet (Endwerte-Anfangswerte/ Anfangswerte * 100) und in Abbildung 10 (S. 41) dargestellt. In dieser ist insgesamt eine Dosisabhängigkeit der Knochendichte von der Östradiolsubstitutiondosis zu erkennen. Auffällig ist, daß die Knochendichte auch in der SHAM-Kontrollgruppe im Vergleich zu den Ausgangswerten um etwa 4 % abnahm. Unter Beachtung dieses Ergebnisses ließ sich feststellen, daß die mit 0,5 µg E₂/ Tier/ Tag und mit 0,3 µg E₂/ Tier/ Tag substituierten Tiere ihre Spongiosadichte zu fast 100 % erhielten. Die 0,1 µg E₂/ Tier/ Tag-Gruppe verlor etwa 10 % ihrer Spongiosadichte, wobei dieser Verlust nicht signifikant war und die Knochendichtewerte innerhalb der Gruppe stärker schwankten. Ein signifikanter Knochendichteverlust wurde mit etwa 14 % in der niedrigst substituierten Gruppe mit 0,05 µg E₂/ Tier/ Tag und mit etwa 30 % in der ovariectomierten Kontrollgruppe (OVX) festgestellt.

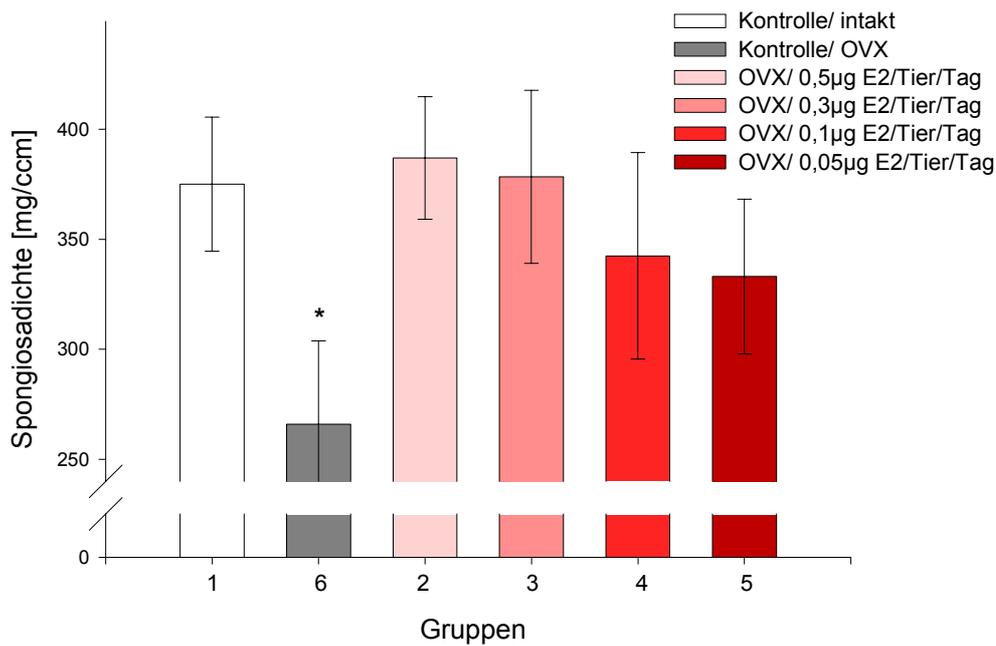


Abbildung 9 Spongiosadichten im Versuch I nach vier Wochen Behandlungszeit. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichungen der verschiedenen Behandlungsgruppen.

*signifikant verschieden von der SHAM-Kontrollgruppe

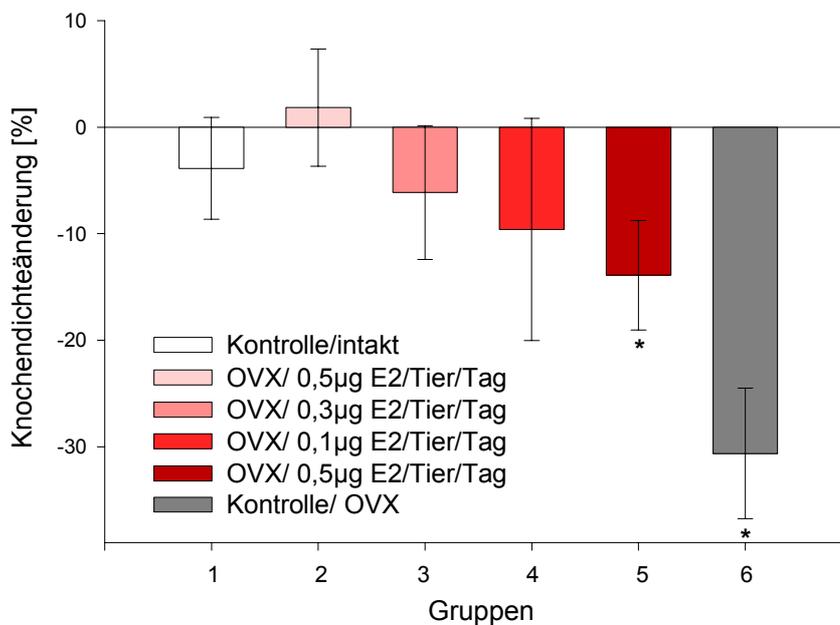


Abbildung 10 Relative Spongiosadichteänderung ($KD_{\text{ENDE}} - KD_{\text{ANFANG}} / KD_{\text{ANFANG}}$) ovariectomierter, vier Wochen mit unterschiedlichen Dosen 17- β -Östradiol substituierter Ratten, dargestellt als Mittelwert \pm Standardabweichung. (KD-Knochenichte)

*signifikant verschieden zur SHAM-Kontrollgruppe

Knochenhistomorphometrie

Die knochenhistomorphometrischen Ergebnisse sind zur besseren Übersicht in der Tabelle 3 dargestellt. Die Meßdaten befinden sich im Anhang S. 100

Keiner der bestimmten Parameter war in den Östradiol-behandelten Gruppen signifikant verschieden zur SHAM-Kontrolle. Im Vergleich der OVX-Kontrolle zur SHAM-Kontrolle sind bis auf die "Strecke: Knoten-Freie Enden", der "Trabekelbreite" und "Trabekelanzahl" alle Parameter signifikant voneinander verschieden.

Die Abbildung 11 zeigt anhand des histologischen Präparates der proximalen Tibia beispielhaft den Knochendichteverlust vier Wochen nach Ovariectomie.

Tabelle 3 **Histomorphometrische Parameter der sekundären Spongiosa der Rattentibia.**

Vergleich der einzelnen Parameter jeder Behandlungsgruppe mit der scheinoperierten Kontrolle (SHAM). Bedeutung der Zeichen:

- >> statistisch signifikant größer
- << statistisch signifikant kleiner
- < kleiner (statistisch nicht signifikant)
- > größer (statistisch nicht signifikant)
- = kein Unterschied
- ≤ Tendenz zur Abnahme
- ≥ Tendenz zur Zunahme

Die Rohdaten der histomorphometrischen Messung des Versuchs I befinden sich im Anhang, S. 100.

Parameter	OVX	OVX	OVX	OVX	OVX	
	Kontrolle	+ 0,05µg E2/Tier/d	+ 0,1µg E2/Tier/d	+ 0,3µg E2/Tier/d	+ 0,5µg E2/Tier/d	
Knochenfläche	<<	<	<	=	=	Sham
Knochenumfang	<<	≤	≤	=	=	Sham
Trabekelbreite	≤	≤	=	=	=	Sham
Trabekelanzahl	=	=	=	=	=	Sham
Trabekelfläche	<<	<	<	=	=	Sham
Trabekuläre Separation	>>	>	>	=	=	Sham
Anzahl der Knoten	<<	<	<	=	=	Sham
Anzahl der Freien Enden	<<	≤	≤	=	=	Sham
Gesamt-STRUT-Länge	<<	<	<	=	=	Sham
Länge Knoten-Knoten	<<	<	<	=	=	Sham
Länge Freie Enden-Freie Enden	>>	>	>	=	=	Sham
Länge Knoten -Freie Enden	=	=	=	=	=	Sham
Knoten : Freie Enden	<<	<	<	=	=	Sham

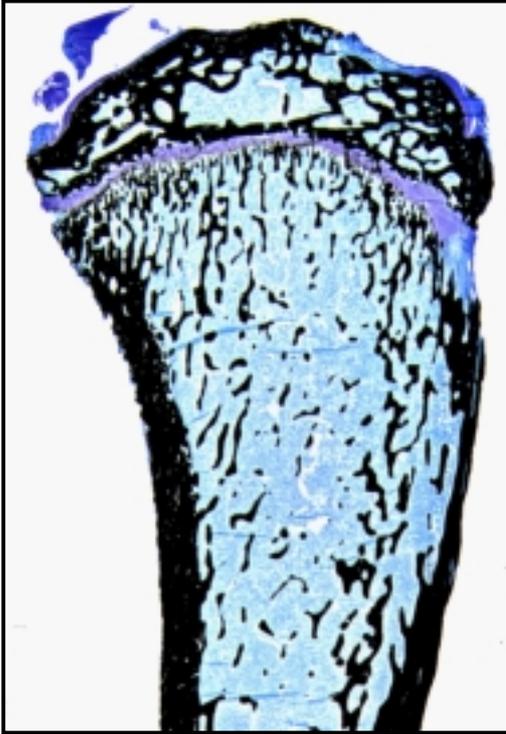


Abb. 11a

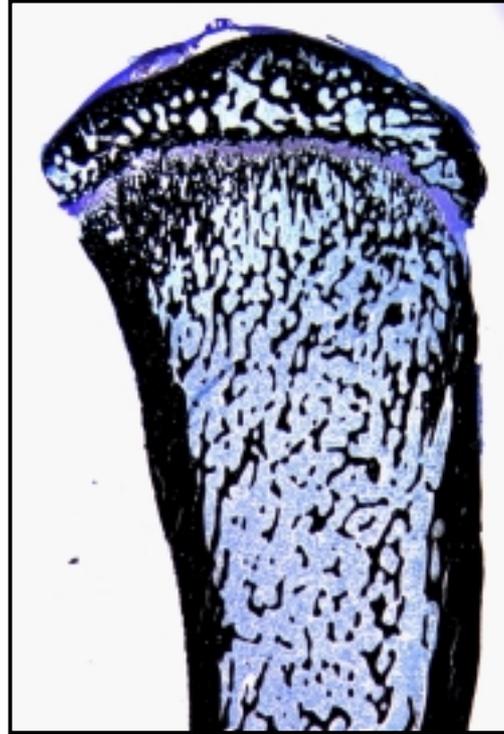


Abb. 11b

Abbildung 11 Dargestellt sind die histologischen Präparate der proximalen Tibien **a)** einer ovariectomierten Ratte und **b)** einer intakten Ratte (Versuch I). Deutlich läßt sich in der Abbildung 11 a eine geringere Trabekeldichte als in der Abbildung 11 b erkennen.

4.2.2. Versuch II

Austestung der bei Ratten ovulationshemmenden Dosis der Gestagene Levonorgestrel, Medroxyprogesteronacetat und Promegeston unter Beachtung ihrer Wirkung auf die Knochendichte und die 17- β -Östradiol-Serumkonzentration

4.2.2.1. Teilversuch II/1 Behandlung intakter weiblicher Ratten mit Levonorgestrel

allgemeine Befunde

Tiergewicht

Abbildung 12 stellt die Körpergewichte von intakten weiblichen Ratten am Anfang und am Ende einer Levonorgestrel-Behandlung über vier Wochen dar. Die relative Tiergewichtsänderung ($KG_{\text{Anfang}} - KG_{\text{Ende}} / KG_{\text{Anfang}} * 100$) war in allen drei Dosierungsgruppen (100 μg , 30 μg , 10 μg / Tier/ Tag) im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht.

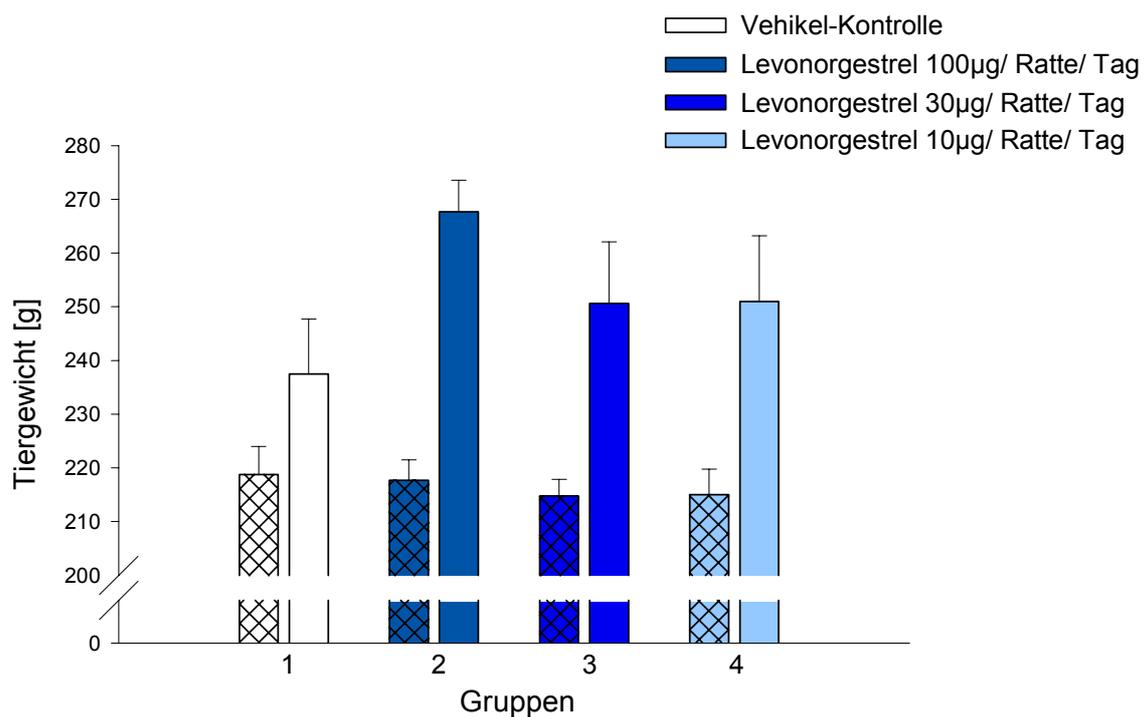


Abbildung 12 Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Körpergewichte von intakten weiblichen Ratten zu Beginn des Versuchs II/1 (gemusterte Säulen) und nach vier Wochen unterschiedlicher Levonorgestrelbehandlung (leere Säulen).

Uterusgewicht

Ein signifikant geringeres relatives Uterusfeuchtgewicht gegenüber der Kontrollgruppe war in der Behandlungsgruppe mit 100 µg/ Ratte/ Tag festzustellen. Abbildung 13 zeigt die Wirkung unterschiedlicher Levonorgestrel-Dosierung auf das relative Uterusgewicht.

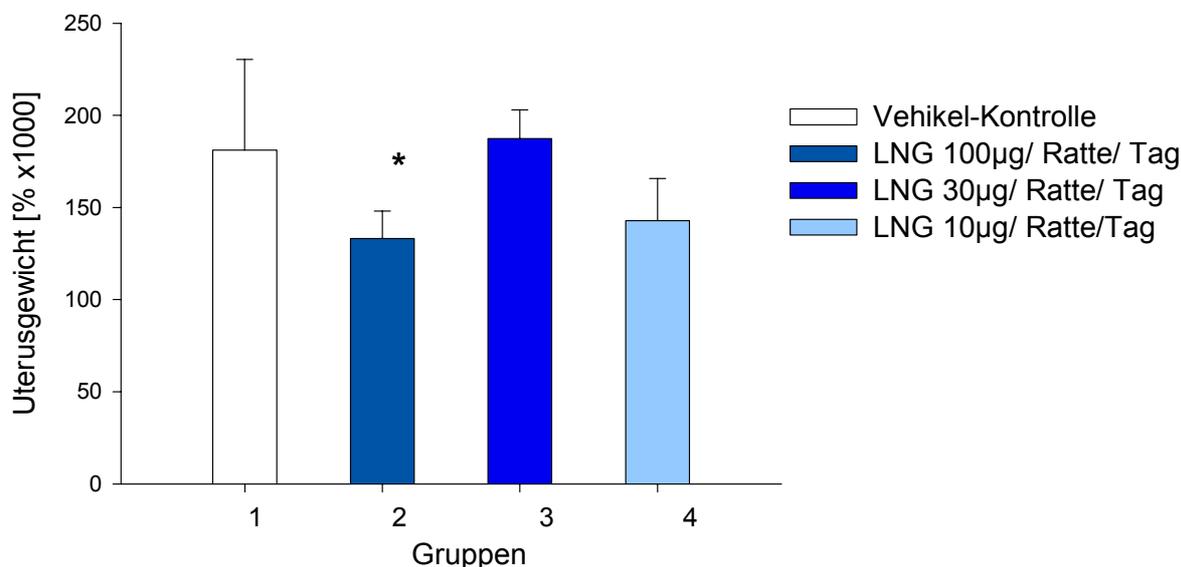


Abbildung 13 Relatives Uterusgewicht (Uterusfeuchtgewicht * 100/ Körpergewicht). Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichungen nach vierwöchiger, unterschiedlicher Levonorgestrelbehandlung.

* = statistisch signifikant verschieden zur Vehikel-Kontrollgruppe
LNG-Levonorgestrel

Ovulationshemmung

Während des Behandlungszeitraumes waren alle Tiere der 100 µg/ Tier/ Tag-Gruppe azyklisch, im täglichen vaginalen Abstrich wurde stets ein Diöstrus festgestellt. Im Quetschpräparat der Tuben aller Tiere dieser Gruppe waren keine Eizellen auffindbar (siehe dazu Kapitel 2.4. der vorliegenden Arbeit). Es lag somit bei allen Tieren dieser Behandlungsgruppe über den Zeitraum von vier Wochen eine vollständige Hemmung der Ovulation vor.

In den Dosierungsgruppen 30 µg und 10 µg/Tier/Tag waren bei den Tieren Zyklusstörungen (kein permanenter Diöstrus im Abstrichbild) vorhanden, aber keine vollständige Zyklushemmung. Im Tubenquetschpräparat einiger Tiere dieser Gruppen waren Eizellen zu finden. Demzufolge lag keine vollständige Ovulationshemmung über den Behandlungszeitraum vor.

Serumparameter

17- β -Östradiol

Am Versuchstag 0 hatten alle Ratten etwa gleich hohe Östradiol-Serumkonzentration und befanden sich im Zyklusstadium Proöstrus. Abbildung 14 zeigt den kurzfristigen Abfall der Östradiol-Serumkonzentration der höchsten Dosierungsgruppe auf einen über den restlichen Versuchszeitraum relativ konstant bleibenden Wert von etwa 60 pmol/l.

Die Östradiol -Serumspiegel der 30 $\mu\text{g}/\text{Tier}/\text{Tag}$ und 10 $\mu\text{g}/\text{Tier}/\text{Tag}$ -Gruppen waren ebenfalls nach achttägiger Behandlung deutlich abgesenkt und zeigten sich im weiteren Versuchsverlauf schwankend.

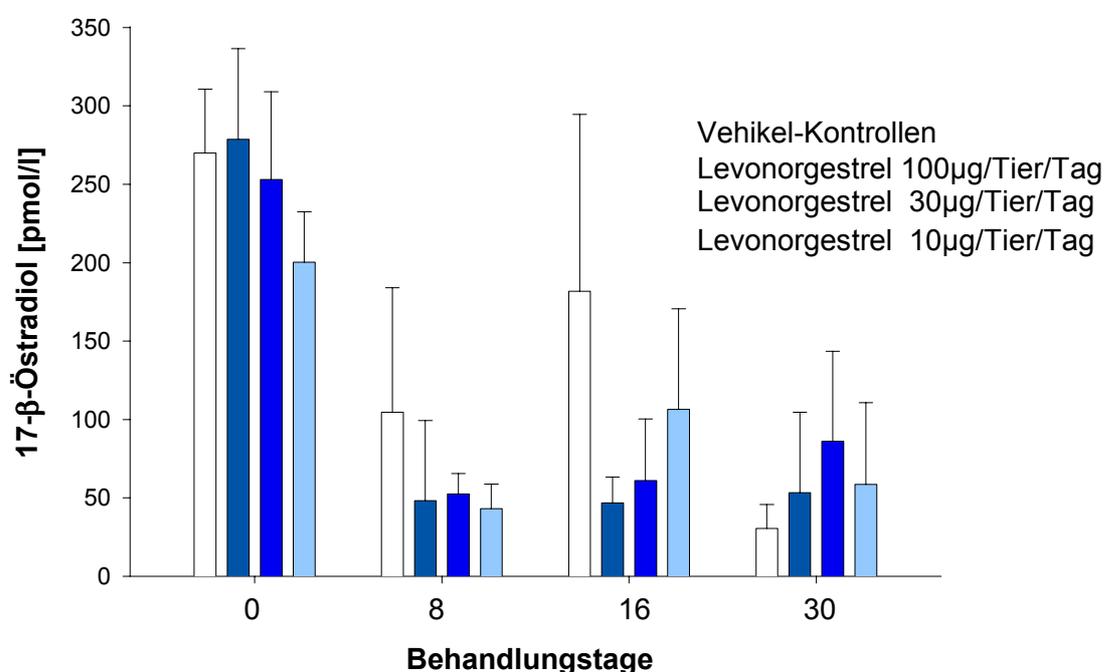


Abbildung 14 Einfluß einer vierwöchigen Levonorgestrelbehandlung auf die 17- β -Östradiol-Serumkonzentration intakter weiblicher Ratten. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

Die Schwankungen der Kontrollgruppe über den Versuchsverlauf sind durch ein intaktes Zyklusgeschehen zu erklären. An den Behandlungstagen 0, 8, 16 befanden sich die Tiere der Kontrollgruppe im Proöstrus, am Tag 30 im Metöstrus. Zur besseren Vergleichbarkeit zwischen den Bestimmungstagen wurde in den folgenden beiden Teilversuchen die letzte Östradiolbestimmung auf den Tag 28 verlegt, an dem die Tiere der Kontrollgruppe sich wieder im Proöstrus befanden. Vgl. dazu auch Abbildung 18, S. 50 und Abbildung 22, S. 54

Knochenbefunde

Nach vier Wochen unterschiedlicher Levonorgestrel-Behandlung intakter weiblicher Ratten wurden in keiner Behandlungsgruppe signifikante Veränderungen der im QCT ermittelten Spongiosadichten im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt (Abbildung 15).

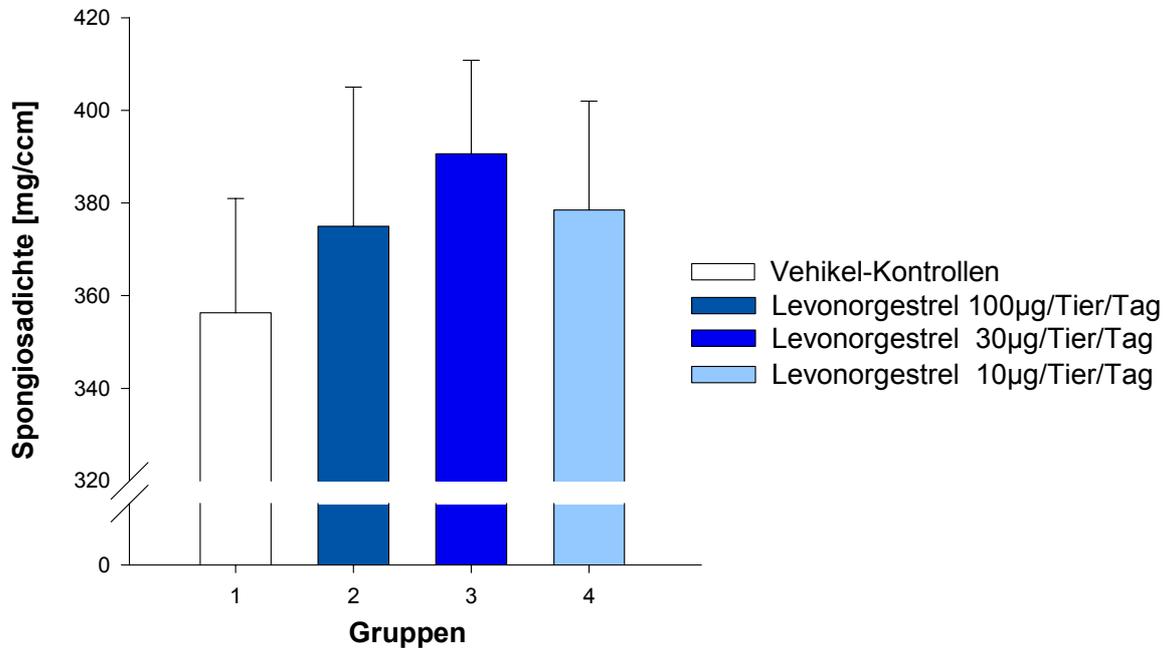


Abbildung 15 Auswirkungen einer vierwöchigen Levonorgestrelbehandlung auf die Spongiosadichte intakter weiblicher Ratten/ Messung der Rattentibia *in vitro*. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

4.2.2.2. Teilversuch II/2

Behandlung intakter weiblicher Ratten mit Medroxyprogesteronacetat

allgemeine Befunde

Tiergewicht

Abbildung 16 stellt die Körpergewichte von intakten weiblichen Ratten am Anfang und am Ende einer vierwöchigen Behandlung mit Medroxyprogesteronacetat dar.

Die mittlere relative Tiergewichtsänderung ($KG_{\text{Anfang}} - KG_{\text{Ende}} / KG_{\text{Anfang}} * 100$) der höchstdosierten Behandlungsgruppe (300 µg/ Tier/ Tag) war im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht. Die relativen Tiergewichtszunahmen der 100 µg/ Tier/ Tag- und der 30 µg/ Tier/ Tag-Gruppen unterschieden sich nicht signifikant von den Tiergewichtszunahmen der Kontrollgruppe.

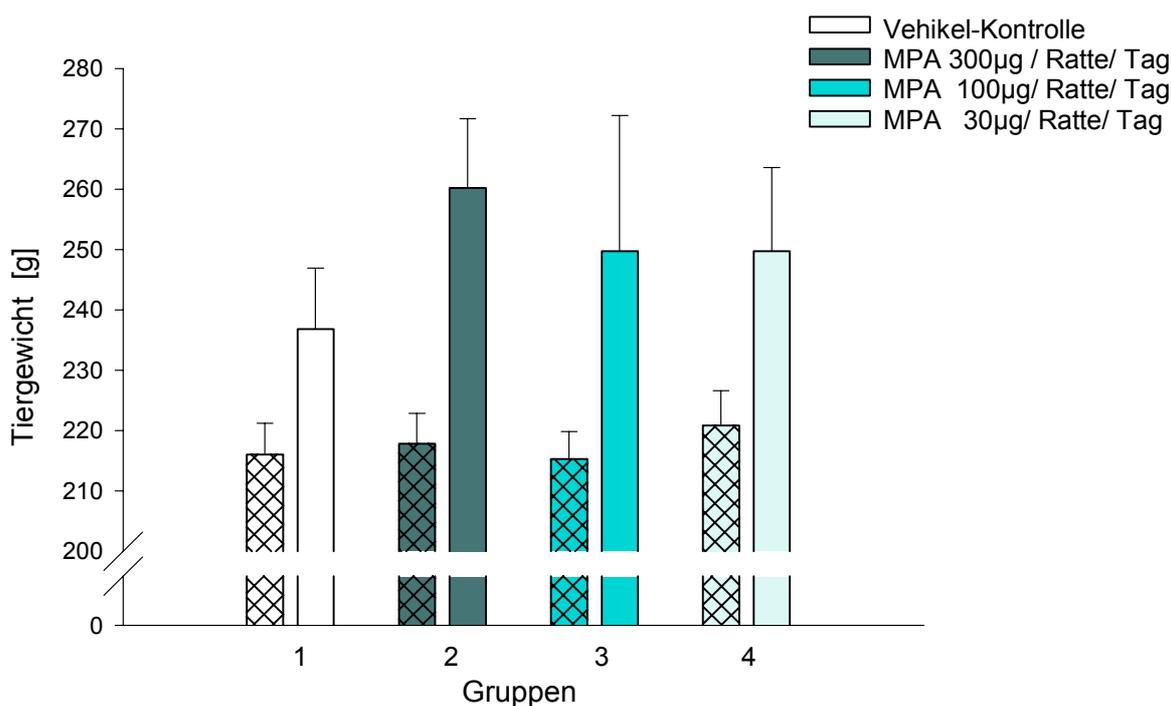


Abbildung 16 Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Körpergewichte von Ratten zu Beginn des Versuchs II/2 (gemusterte Säulen) und nach vier Wochen unterschiedlicher Medroxyprogesteronacetatbehandlung (leere Säulen). MPA- Medroxyprogesteronacetat

Uterusgewicht

Abbildung 17 zeigt die Wirkung unterschiedlicher Medroxyprogesteronacetat-Dosierung auf das relative Uterusgewicht. Es wurde in allen Behandlungsgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied festgestellt.

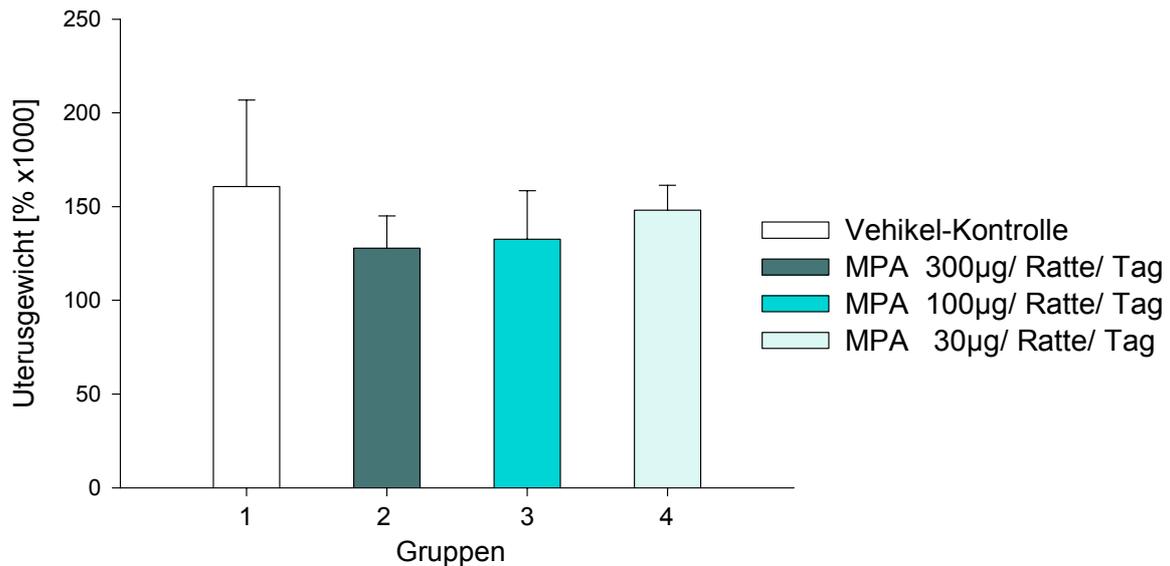


Abbildung 17 Relatives Uterusgewicht (Uterusfeuchtgewicht * 100/ Körpergewicht) Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen nach vierwöchiger, unterschiedlicher Medroxyprogesteronacetatbehandlung.
MPA-Medroxyprogesteronacetat

Ovulationshemmung

Während des Behandlungszeitraumes waren alle Tiere der höchstdosierten Gruppe (300 µg/ Tier/ Tag) azyklisch; es wurde im täglichen Vaginalabstrich immer ein Diöstrus festgestellt. Im Quetschpräparat der Tuben waren bei einem von sechs Tieren dieser Gruppe Eizellen auffindbar. Daher kann von einer vollständigen Hemmung der Ovulation über den Zeitraum von vier Wochen in dieser Behandlungsgruppe nur bei fünf Tieren ausgegangen werden.

Zyklusstörungen, aber keine vollständige Ovulationshemmung, ließen sich anhand der Abstrichbilder (kein andauernder Diöstrus) bei den mit 100 µg und 30 µg/ Tier/ Tag behandelten Tieren feststellen. In den Tubenquetschpräparaten einiger Tiere wurden Eizellen entdeckt.

Serumparameter

17- β -Östradiol

Am Versuchstag 0 hatten alle Tiere eine etwa gleich hohe Östradiol-Serumkonzentration und befanden sich im Zyklusstadium Proöstrus. Abbildung 18 zeigt über den Versuchszeitraum eine signifikant niedrigere Östradiol -Serumkonzentration in allen Behandlungsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe, wobei dieser Effekt in der höchsten Dosierungsgruppe (durchschnittlich 90 pmol/l) am deutlichsten war. Nur in dieser Gruppe zeigten alle Tiere das Abstrichbild eines permanenten Diöstrus (vgl. siehe oben).

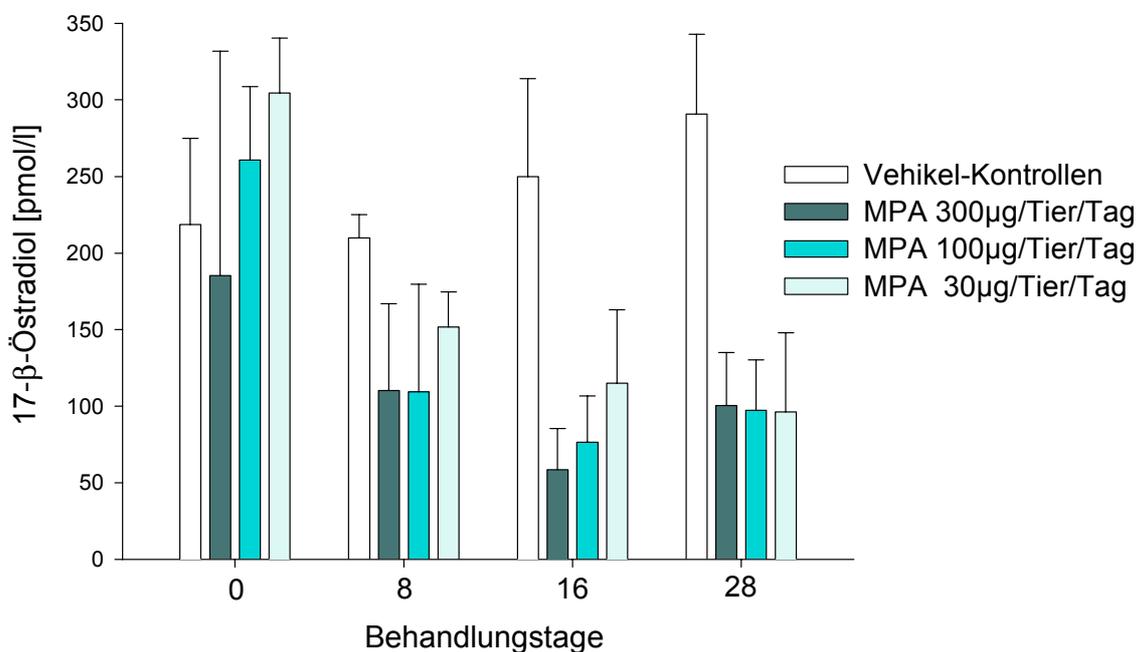


Abbildung 18 Einfluß einer vierwöchigen Medroxyprogesteronacetatbehandlung auf die 17- β -Östradiol-Serumkonzentration intakter weiblicher Ratten. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen. Die Tiere der weiß dargestellten Kontrollgruppe befinden sich an allen Bestimmungstagen im Zyklusstadium Proöstrus.

Knochenbefunde

Die Abbildung 19 zeigt die Spongiosadichten der über vier Wochen mit Medroxyprogesteronacetat behandelten Ratten. Im Vergleich zur Kontrollgruppe wurde in keiner Behandlungsgruppe eine signifikante Veränderung der Spongiosadichte ermittelt.

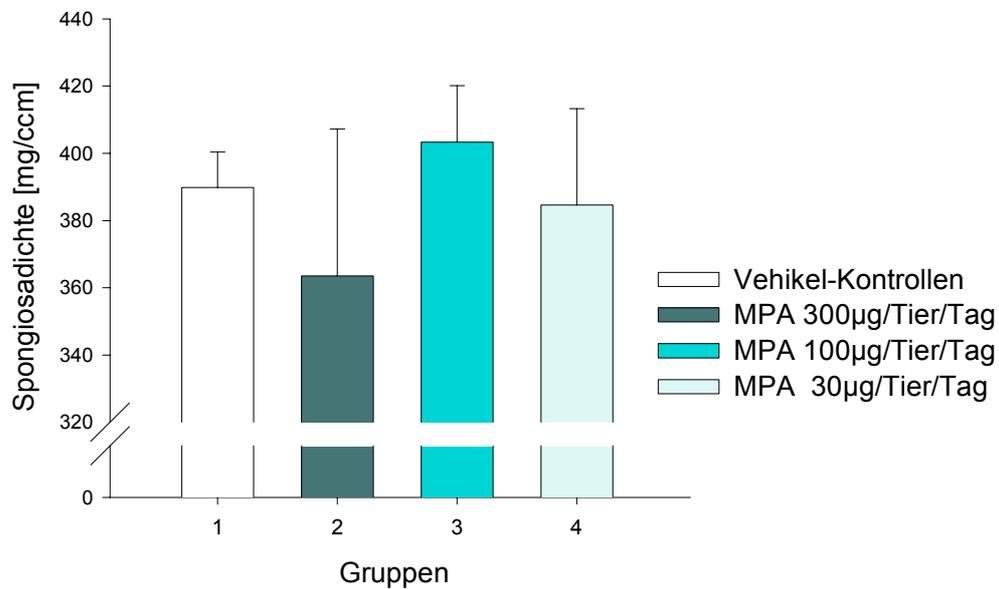


Abbildung 19 Auswirkungen einer vierwöchigen Medroxyprogesteronacetatbehandlung auf die Spongiosadichte intakter weiblicher Ratten/ Messung der Rattentibia *in vitro*. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen.

4.2.2.3. Teilversuch II/3

Behandlung intakter weiblicher Ratten mit Promegeston

allgemeine Befunde

Tiergewicht

Die Abbildung 20 stellt die Tiergewichte am Anfang und am Ende der vierwöchigen Promegestonbehandlung dar. Bei der höchstdosierten Behandlungsgruppe (100 µg/ Tier/ Tag) lagen die relativen Tiergewichtsänderungen über den Versuchszeitraum signifikant höher als die der Kontrollgruppe. Die relativen Tiergewichtszunahmen der 30µg/ Tier/ Tag- und der 10 µg/ Tier/ Tag-Gruppen unterschieden sich nicht signifikant von denen der Kontrollgruppe.

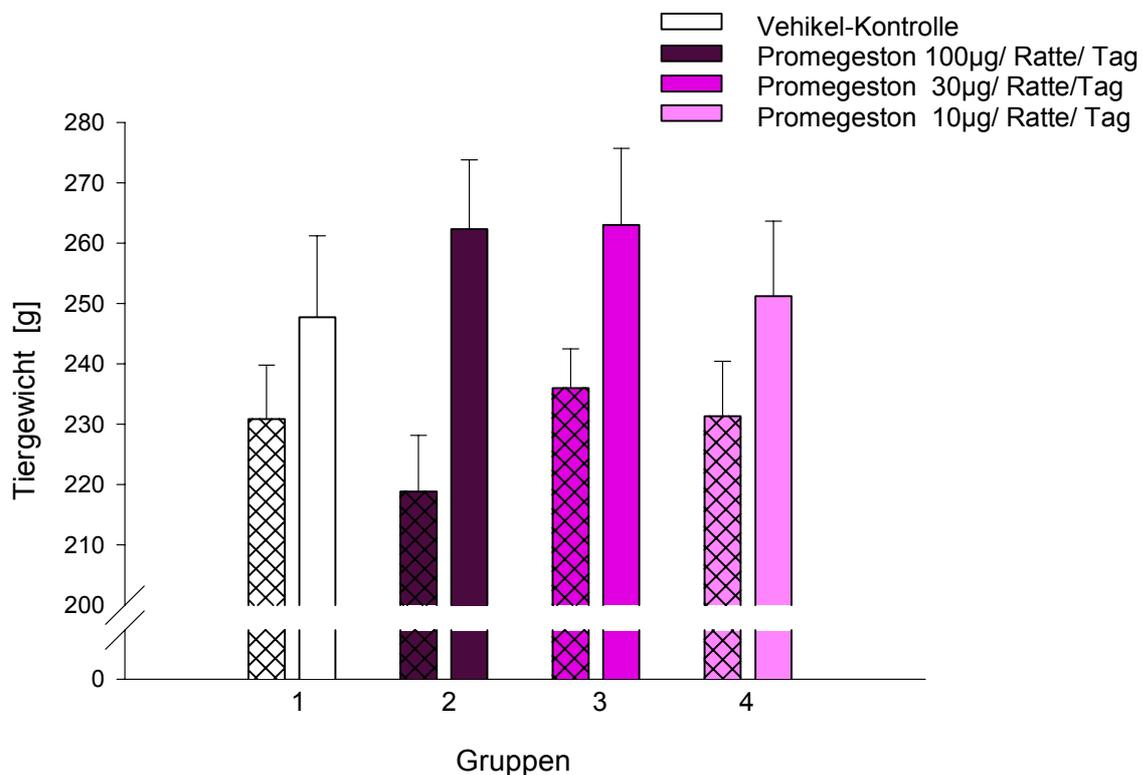


Abbildung 20 Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Körpergewichte von Ratten zu Beginn des Versuchs II/3 (gemusterte Säulen) und nach vierwöchiger unterschiedlicher Promegestonbehandlung (leere Säulen).

Uterusgewicht

Beim Vergleich der relativen Uterusgewichte der Behandlungsgruppen mit der Kontrollgruppe konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Abbildung 21 zeigt, daß insgesamt kein Einfluß unterschiedlicher Promegestonbehandlung über vier Wochen auf das relative Uterusgewicht festgestellt werden kann.

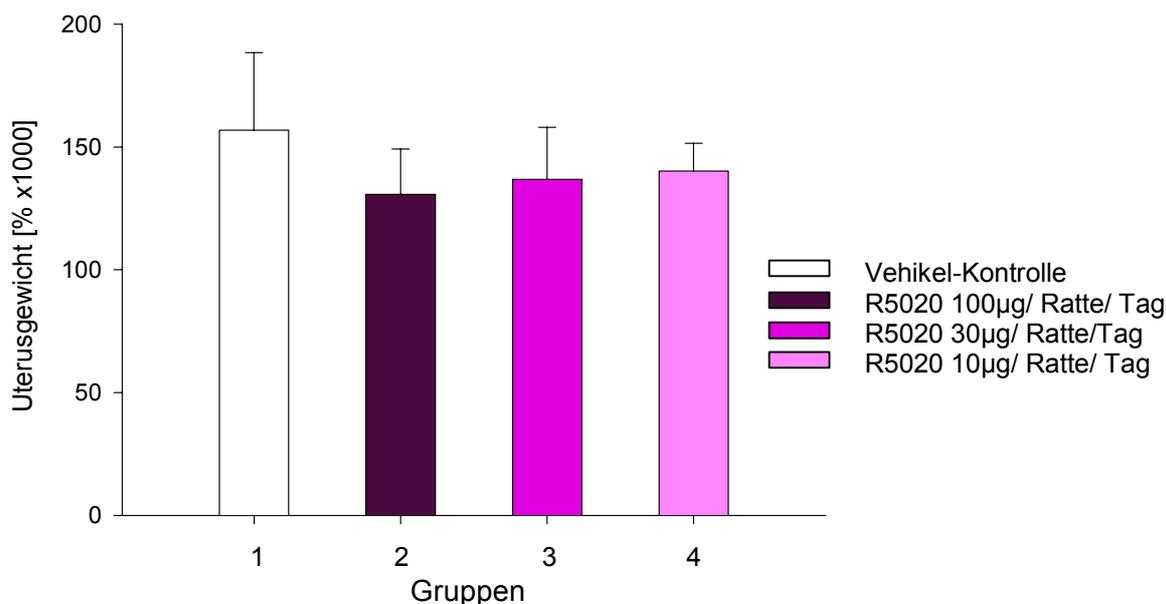


Abbildung 21 Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen des relativen Uterusgewichts (Uterusfeuchtgewicht * 100/ Körpergewicht) nach vierwöchiger, unterschiedlicher Promegestonbehandlung R 5020-Promegeston

Ovulationshemmung

Es wurde im täglichen vaginalen Abstrich stets ein Diöstrus festgestellt. Deshalb wurden alle Tiere der 100 µg und 30 µg/ Tier/ Tag-Behandlungsgruppen während des Behandlungszeitraumes als azyklisch angesehen. Im Quetschpräparat der Tuben waren bei keinem Tier dieser Gruppen Eizellen auffindbar. Somit wurde bei allen Tieren eine vollständige Hemmung der Ovulation über den Zeitraum von vier Wochen festgestellt.

Die Tiere der 10 µg/ Tier/ Tag-Behandlungsgruppe zeigten im Abstrichbild keinen permanenten Diöstrus, sondern auch andere Zyklusstadien. In den Quetschpräparaten einiger Tiere dieser Gruppe waren Eizellen zu finden, deshalb ist hier von keiner vollständigen Ovulationshemmung über den Behandlungszeitraum auszugehen.

Serumparameter

17- β -Östradiol

Alle im Versuch II/ 3 eingesetzten Tiere befanden sich am Versuchstag 0 im Zyklusstadium Proöstrus und hatten etwa gleich hohe Östradiol-Serumkonzentration. Abbildung 22 zeigt eine signifikant niedrigere Östradiol-Serumkonzentration der drei Behandlungsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe, wobei die 100 μg und 30 μg / Tier/ Tag-Dosierungsgruppen über den Versuchszeitraum den tiefsten, relativ konstant bleibenden Wert von etwa 60 pmol/l erreichten und dabei stets das Zyklusstadium Diöstrus zeigten (vgl. siehe oben).

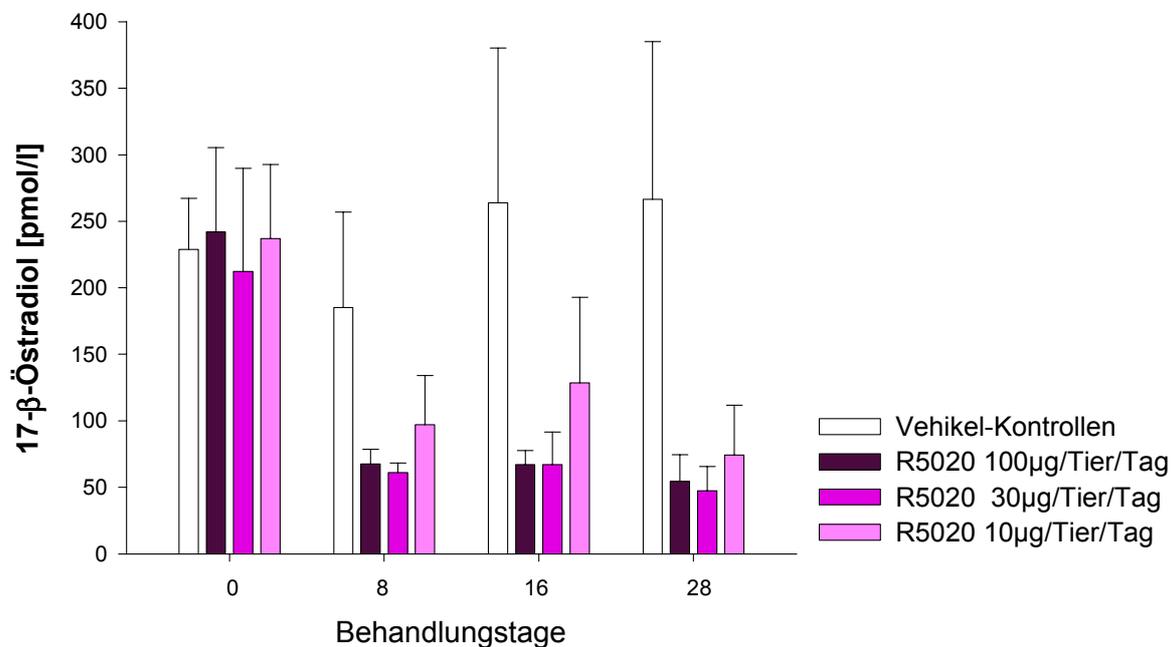


Abbildung 22 Einfluß einer vierwöchigen Promegestonbehandlung auf die 17- β -Östradiol-Serumkonzentration intakter weiblicher Ratten. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

Die Tiere der weiß dargestellten Kontrollgruppe befinden sich an allen Bestimmungstagen im Zyklusstadium Proöstrus.

R 5020-Promegeston

Knochenbefunde

Im Vergleich zur Kontrollgruppe wurden in keiner Behandlungsgruppe signifikante Unterschiede der im QCT ermittelten Spongiosadichte festgestellt. Abbildung 23 zeigt die Spongiosadichten der mit Promegeston behandelten Tiere über einen vierwöchigen Versuchszeitraum.

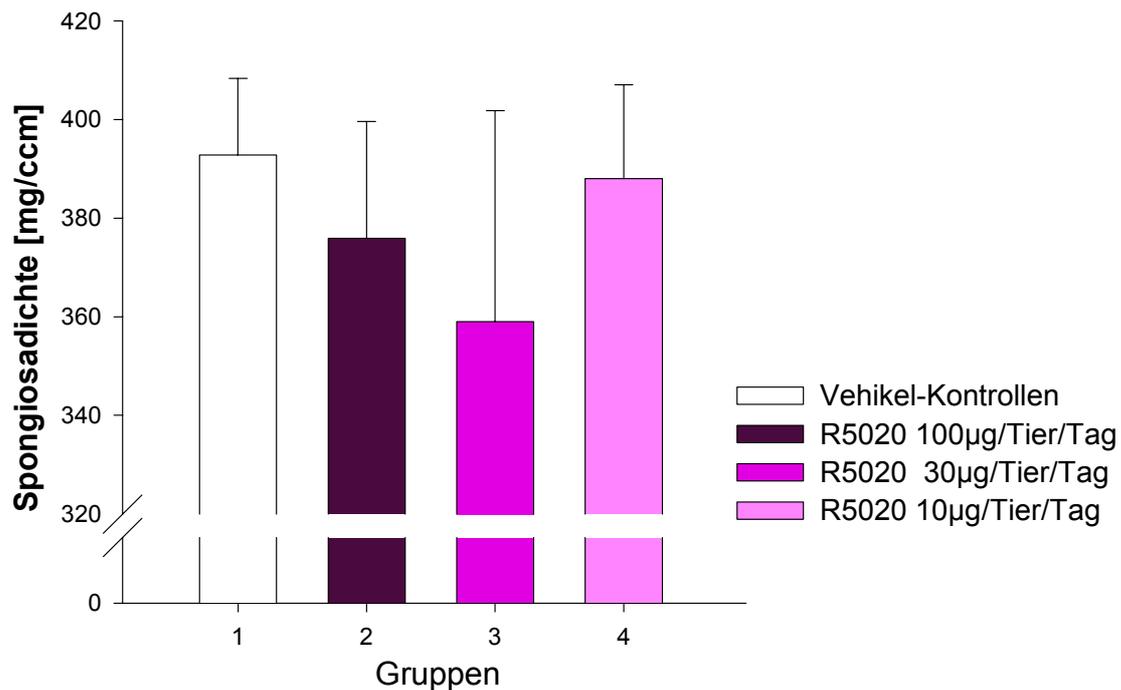


Abbildung 23 Auswirkungen einer vierwöchigen Promegestonbehandlung auf die Spongiosadichte intakter weiblicher Ratten/ Messung der Rattentibia *in vitro*. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

4.2.3. Versuch III

Behandlung von intakten weiblichen Ratten mit den Gestagenen Levonorgestrel, Medroxyprogesteronacetat und Promegeston in ovulationshemmender Dosierung über einen Zeitraum von sieben Wochen

allgemeine Befunde

Tiergewicht

Abbildung 24 stellt die Körpergewichte weiblicher, intakter Ratten am Anfang und am Ende einer siebenwöchigen Behandlung mit den Gestagenen Levonorgestrel, Medroxyprogesteronacetat und Promegeston dar. Signifikante relative Zunahmen der Körpergewichte im Vergleich zur Kontrollgruppe konnten in den Behandlungsgruppen Medroxyprogesteronacetat und Levonorgestrel, sowie in der ovariectomierten Kontrollgruppe festgestellt werden. Die relativen Tiergewichtszunahmen der mit Promegeston behandelten Gruppe wurden der intakten Kontrollgruppe gegenüber nicht signifikant.

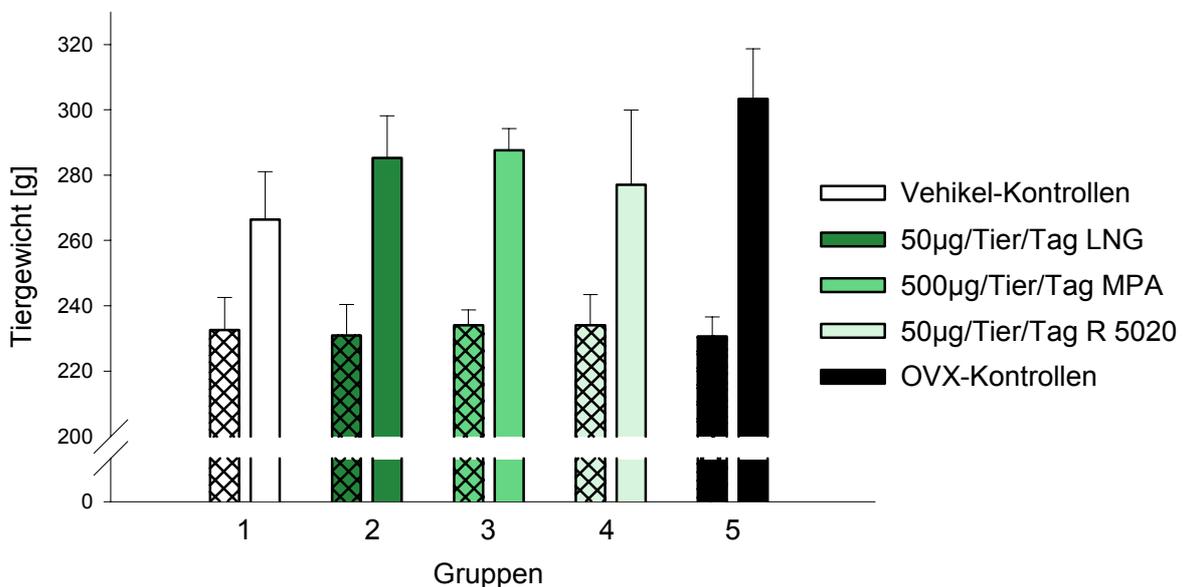


Abbildung 24 Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Anfangs- (gemusterte Säulen) und der Endgewichte (leere Säulen) der mit den Gestagenen Medroxyprogesteronacetat, Levonorgestrel und Promegeston über einen Zeitraum von sieben Wochen behandelten weiblichen, intakten Ratten.

LNG- Levonorgestrel

MPA- Medroxyprogesteronacetat

R5020- Promegeston

Uterusgewicht

In Abbildung 25 ist der Einfluß der Gestagenbehandlung auf das relative Uterusgewicht dargestellt. Die mit Gestagenen behandelten Gruppen und die ovariectomierte Kontrolle zeigen gegenüber der intakten Kontrollgruppe ein signifikant niedrigeres Uterusgewicht.

Weiterhin liegt das Uterusgewicht der ovariectomierten Kontrollgruppe signifikant niedriger als das der Gestagenen behandelten Gruppen.

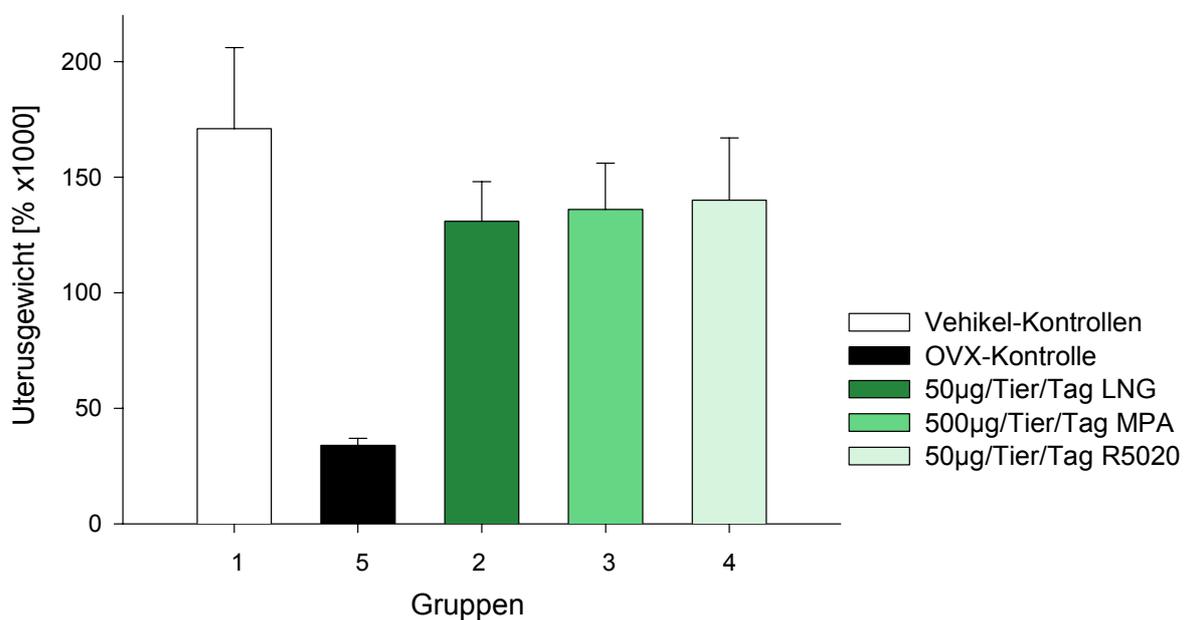


Abbildung 25 Auswirkung der siebenwöchigen Behandlung mit den Gestagenen Medroxyprogesteronacetat, Levonorgestrel und Promegeston auf das relative Uterusgewicht (Uterusfeuchtgewicht*100/Körpergewicht). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

* statistisch signifikant verschieden zur Vehikel-Kontrollgruppe

statistisch signifikant verschieden zur OVX-Kontrollgruppe

LNG- Levonorgestrel

MPA- Medroxyprogesteronacetat

R5020- Promegeston

Ovulationshemmung

Während des Behandlungszeitraumes waren alle Tiere der Promegeston-Gruppe azyklisch; im täglichen Vaginalabstrich wurde stets ein Diöstrus festgestellt.

Sechs von sieben Tieren zeigten eine Ovaratrophie, bei einem Tier wurden auf den Ovarien Gelbkörper gefunden. Im Tubenquetschpräparat dieses Tieres waren Eizellen zu finden.

Bei sechs von sieben Tieren dieser Behandlungsgruppe lag daher eine vollständige Ovulationshemmung vor.

In der Medroxyprogesteron-behandelten Gruppe wurde während des Behandlungszeitraumes bei sieben von acht Tieren der Zyklus dauerhaft unterbrochen. Bei ihnen wurde im täglichen Vaginalabstrich stets ein Diöstrus festgestellt. Ein Tier zeigte in der letzten Behandlungswoche wieder einen normalen Zyklus.

Beim Betrachten der Ovarien in der Sektion wurden bei zwei Tieren Gelbkörper (dabei das o. g. Tier) gefunden, während sich die Ovarien der restlichen sechs Tiere atrophiert darstellten. Es kann festgestellt werden, daß eine vollständige Ovulationshemmung bei sechs von acht Tieren dieser Behandlungsgruppe über den Versuchszeitraum stattfand.

Während des Behandlungszeitraumes waren alle Tiere der Levonorgestrel-Gruppe azyklisch; der tägliche Vaginalabstrich zeigte stets ein Diöstrus.

Bei Untersuchung der Ovarien wurden bei vier von sieben Tieren Gelbkörper gefunden. Bei nur drei Tieren stellten sich die Ovarien atrophisch dar.

In dieser Behandlungsgruppe wurde eine vollständige Hemmung der Ovulation bis zum Versuchsende nur bei drei von sieben Tieren festgestellt.

Serumparameter

17- β -Östradiol

Abbildung 26 zeigt die Entwicklung der Östradiol-Serumkonzentrationen über den siebenwöchigen Versuchszeitraum. Die durchschnittlichen Östradiol-Serumkonzentrationen aller drei Gestagen-behandelten Gruppen, sowie der ovariectomierten Kontrolle, waren signifikant niedriger, als die der intakten, Vehikel-behandelten Kontrolle. Weiterhin wurde gegenüber den drei Gestagen-behandelten Gruppen eine signifikant niedrigere Östradiol-Serumkonzentrationen in der ovariectomierten Kontrollgruppe festgestellt.

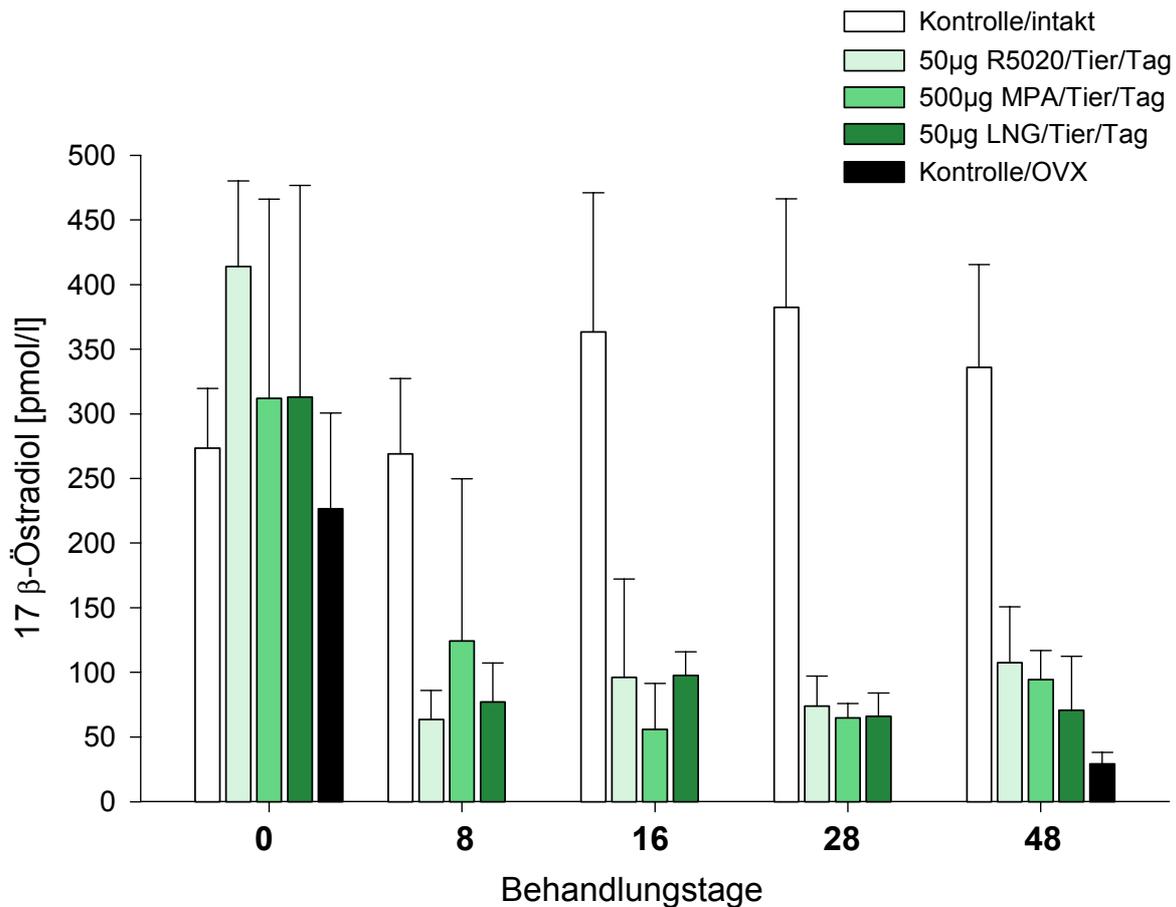


Abbildung 26 Einfluß einer siebenwöchigen Behandlung mit den Gestagenen Medroxyprogesteronacetat, Levonorgestrel und Promegeston auf die 17- β -Östradiol-Serumkonzentration intakter weiblicher Ratten. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Die Tiere der weiß dargestellten Kontrollgruppe befinden sich an allen Bestimmungstagen im Zyklusstadium Proöstrus.

LNG- Levonorgestrel

MPA- Medroxyprogesteronacetat

R5020- Promegeston

Knochenbefunde

QCT-Messung

In keiner der Gestagen-Behandlungsgruppen waren die im QCT ermittelten Spongiosadichten im Vergleich zur intakten Kontrollgruppe signifikant verschieden (Abbildung 27). Dem gegenüber steht eine signifikant niedrigere Spongiosadichte der ovariectomierten Kontrollgruppe. Nur ca. 65 % der Spongiosadichte, die in der intakten Kontrollgruppe bestimmt wurde, ist in der ovariectomierten Kontrollgruppe ermittelt worden.

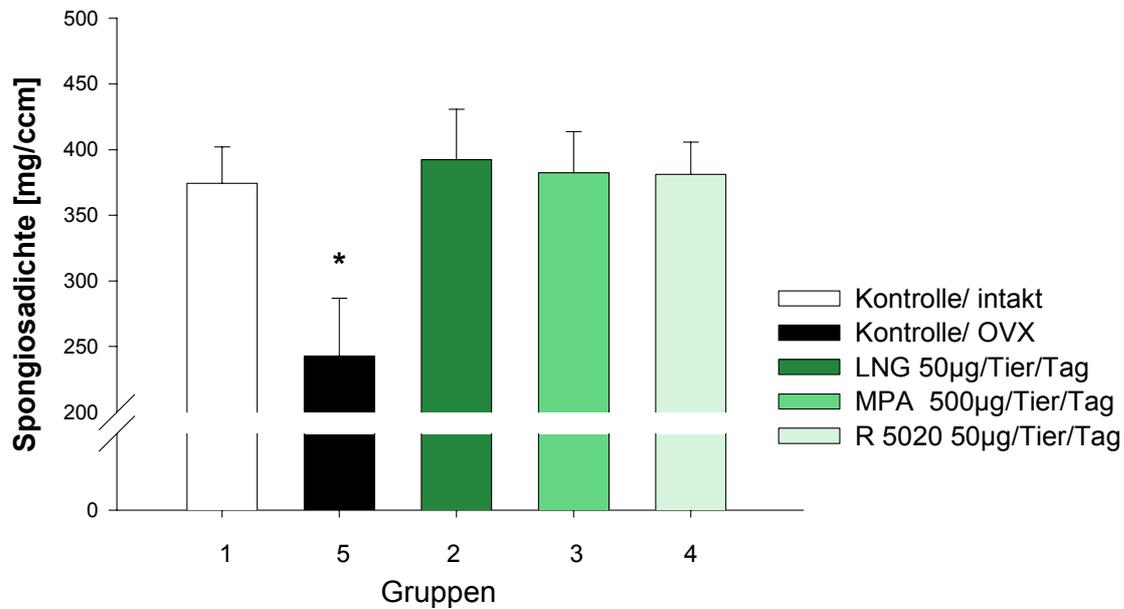


Abbildung 27 Einfluß einer siebenwöchigen Behandlung mit den Gestagenen Medroxyprogesteronacetat, Levonorgestrel und Promegeston auf die Spongiosadichte intakter weiblicher Ratten. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

*=statistisch signifikant verschieden zur Vehikel-Kontrollgruppe

LNG- Levonorgestrel

MPA- Medroxyprogesteronacetat

R5020- Promegeston

Knochenhistomorphometrie

Bei keinem der gemessenen Parameter wurde ein Unterschied zwischen den Gestagen-behandelten Gruppen und der intakten Kontrolle ermittelt. Tabelle 4 zeigt signifikante Unterschiede verschiedener histomorphometrischer Parameter der ovariectomierten Kontrollgruppe im Vergleich zur intakten Kontrolle.

Tabelle 4 Auswertung der histomorphometrischen Parameter der sekundären Spongiosa der Rattentibia/ Darstellung der Entwicklung der einzelnen Parameter unter Einfluß der Gestagene Medroxyprogesteronacetat, Levonorgestrel und Promegeston im Vergleich zur intakten und zur ovariectomierten Kontrollgruppe (Rohdaten befinden sich im Anhang, S.110)

LNG-Levonorgestrel

MPA-Medroxyprogesteronacetat

R5020-Promegeston

Bedeutung der Zeichen:

>> statistisch signifikant größer

<< statistisch signifikant kleiner

> größer (statistisch nicht signifikant)

< kleiner (statistisch nicht signifikant)

= keine Veränderung

≥ Tendenz zur Zunahme

≤ Tendenz zur Abnahme

Parameter	Kontrolle OVX	R5020 50µg /Tier/d	MPA 500µg /Tier/d	LNG 50µg /Tier/d	
Knochenfläche	<<	=	=	=	Kontrolle/ intakt
Knochenumfang	<<	=	=	=	Kontrolle/ intakt
Trabekelbreite	≤	=	=	=	Kontrolle/ intakt
Trabekelanzahl	=	=	=	=	Kontrolle/ intakt
Trabekelfläche	<<	=	=	=	Kontrolle/ intakt
Trabekuläre Separation	>>	=	=	=	Kontrolle/ intakt
Anzahl der Knoten	<<	=	=	=	Kontrolle/ intakt
Anzahl der Freien Enden	<<	=	=	=	Kontrolle/ intakt
Gesamt-STRUT-Länge	<<	=	=	=	Kontrolle/ intakt
Länge Knoten-Knoten	<<	=	=	=	Kontrolle/ intakt
Länge Freie Enden-Freie Enden	>>	=	=	=	Kontrolle/ intakt
Länge Knoten -Freie Enden	=	=	=	=	Kontrolle/ intakt
Knoten : Freie Enden	<<	=	=	=	Kontrolle/ intakt