Zur Wirkung von anabolen Steroiden auf das Unterkieferwachstum

Eine radiologische- und radioimmunologische Untersuchung an wachsenden und erwachsenen weiblichen Ratten

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Giessen

Vorgelegt von Alexander Gebhardt
aus Kassel

Giessen 2001

Aus dem Medizinischen Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Poliklinik für Kieferorthopädie
Direktor: Prof. Dr. Pancherz
des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Giessen

Betreuer: Prof. Dr. Pancherz
Gutachter: Prof. Dr. Pancherz
Gutachter: PD Dr. Klingmüller

Tag der Disputation: 14.02.2002

1 EINLEITUNG 1

PROBLEMSTELLUNG 1

WIRKUNGSMECHANISMUS VON ANABOLIKA 2

ANABOLIKA BEI EXPERIMENTELLEN WACHSTUMSSTUDIEN 3

2 ZIEL DER STUDIE 5

3 MATERIAL 6

TIERE 6

MEDIKAMENTE 6

3.1.1 Nembutal® 7

3.1.2 Deca-Durabolin® 6

3.1.3 Sequenzielle Knochenmarkierung 7

RÖNTGENAPPARATUR UND FILMMATERIAL 8

IMPLANTATE 8

4 METHODE 9

GRUPPENEINTEILUNG DER TIERE 9

TIERHALTUNG, FUTTER 10

VERSUCHSABLAUF 10

IMPLANTATE 11

OPERATION 12

RÖNTGENVERFAHREN 15

UNTERSUCHUNGSABLAUF 17

GEWICHTSENTWICKLUNG UNTER STEROIDZUFUHR 18

RÖNTGENKEPHALOMETRIE 19

4.1.1 Meßpunkte 19

4.1.2 Winkelmessung 20

4.1.3 Streckenmessungen 21

GEWINNUNG DER BLUTSERUMPROBEN 22

MESSUNG DER IGF-I- UND LEPTINSPIEGEL 23

STATISTISCHE AUSWERTUNG 34

5 ERGEBNISSE 36

GEWICHTSENTWICKLUNG UNTER STEROIDZUFUHR 36
RÖNTGENKEPHALOMETRISCHE VERMESSUNGEN 38
5.1.1 Winkelmessung 38
5.1.2 Streckenmessung 39
RADIOIMMUNOLOGISCHE BLUTUNTERSUCHUNGEN 45
5.1.3 IGF-1 45
5.1.4 Leptin 47

6 DISKUSSION 49

7 SCHLUßFOLGERUNG 60

8 ZUSAMMENFASSUNG 61

9 SUMMARY (ZUSAMMENFASSUNG IN ENGLISCH) 63

10 LITERATURNACHWEIS 65

11 ANHANG 70

1 Einleitung

Problemstellung

Anabole Steroide (Anabolika) werden als Therapiemittel zur Behandlung verschiedener Krankheiten eingesetzt, wie z.B.:
(1) als Ergänzung zu diätischen Maßnahmen, wenn diese nicht ausreichen, (2) um Anämien zu beseitigen oder zu lindern, (3) zur Schmerzlinderung bei malignen Tumoren und um das Wachstum des Tumors zu verlangsamen bzw. zu stoppen, (4) bei Behandlung von Wachstumsstörungen (z.B. Zwergenwuchs), verspätet oder verlangsamt ablaufender Pubertät sowie (5) zur Beschleunigung bei schlecht heilenden Knochenbrüchen.

Der Mißbrauch von Anabolika ist weit verbreitet. Diese Medikamente werden von Menschen in verschiedenster Art und Weise eingenommen, um die sportliche und körperliche Leistung sowie das äußere Erscheinungsbild zu „verbessern“. Eine Untersuchung (BUCKLEY et al 1988) an 46 High Schools in Amerika zeigte, daß 7% der männlichen Schüler Anabolika zu sich nehmen oder zu sich genommen haben, wovon etwa zweidrittel mit der Einnahme mit oder vor dem 16. Lebensjahr begonnen haben . Eine weitere Studie aus Amerika (JOHNSON et al 1989) zeigte, daß zwischen 9 und 19% der männlichen Schüler der elften Klasse Anabolika mißbrauchen oder mißbraucht haben.

Wirkungsmechanismus von Anabolika

Die Hormone aus der Nebennierenrinde und aus den Gonaden bilden die Gruppe der **Steroidhormone**. Sie lassen sich auf das Cyclopentanoperhydrophenanthren-Gerüst zurückführen, das auch den Herzglykosid-Molekülen zugrunde liegt. Die Synthese der Steroidhormone geht von Cholesterin aus. Als Zwischenstufe wird immer Progesteron durchlaufen. Steroidhormone lassen sich in vier funktionelle Gruppen einteilen. Jede dieser Gruppen hat bestimmte Struktureigentümlichkeiten im Molekül:

1. **Corticosteroide**, zu denen auch **Glucocorticoide** und **Mineralcorticoide** zählen,
2. **Androgene**,
3. **Estrogene** und
4. **Gestagene**.

Die Wirkung von Anabolika wird damit beschrieben, daß sie die Funktion der Hypophyse stimulieren und hauptsächlich eine Auswirkung auf den Körper und dessen Proteinbiosynthese haben (MUTSCHLER, 1991; GOODMANN UND GILMAN, 1965; KUSCHINSKY et al, 1993). Eine Hypophysenhyperfunktion führt beim Menschen zu einer Akromegalie (MUTSCHLER, 1991), die sich unter anderem in einem zusätzlichen craniofacialem Wachstum (vor allem des Unterkiefers im Verhältnis zum Mittelgesicht), auch nach Abschluß der skelettalen Wachstumsentwicklung (BEHRENTS, 1985), äußert. Weitere Auswirkungen von anabolen Steroiden auf die Entwicklung der skelettofacialen- und dentoalveolären Strukturen werden in den Untersuchungen von KOSOWICZ 1977 und SARNAT 1988 mit zwergwüchsigen Menschen sowie von PIRINEN 1995 im Rattenexperiment beschrieben.

Die geschlechtliche Reifung sowie die Knochenreifung werden durch Anabolika deutlich beschleunigt, was zur Folge hat, daß bei der Behandlung von Kindern vor und in der Pubertät mit der normal zu erreichenden Körpergröße ein Kompromiß eingegangen werden muß.

Anabolika bei experimentellen Wachstumsstudien

Zwei experimentelle Studien (PETROVI´C et al 1974 und BARRET et al 1993) bezüglich der Wirkung anaboler Steroide auf das Unterkieferwachstum sind bekannt.

In einer histologischen Untersuchung von PETROVI´C et al 1974 wurde im Rattenversuch die Einwirkung von Rinderwachstumshormon (Somatodin®) auf das Kondylenwachstum ermittelt. Die Verfasser konnten keine besonderen Auswirkungen auf das Kiefergelenksknorpelwachstum allein durch das Hormon feststellen, sondern nur in Verbindung mit auf den Unterkiefer einwirkende kieferorthopädische Apparaturen.

In einer radiologischen Untersuchung von BARRET et al 1993 wurde die Auswirkung von einem anabolen Steroid Durabolin® (Nandrolon Phenopropionat) auf die Zahngröße und die Unterkieferzahnbogenlänge und Oberkieferzahnbogenbreite bei weiblichen und männlichen Ratten untersucht. Als Ergebnis fand man heraus, daß bei der weiblichen Gruppe mit einer niedrigen Dosis des Hormons eine deutlichere Vergrößerung der Unterkieferzahnbogenlänge und der Oberkieferzahnbogenbreite vorlag als bei der männlichen Gruppe, der Kontrollgruppe und der höher dosierten weiblichen Gruppe.

Beide oben erwähnten Untersuchungen geben leider nur Teilaufschlüsse über die Auswirkung von anabolen Steroiden auf das Unterkieferwachstum. Die Untersuchung von PETROVI´C et al (1974) beschränkte sich auf bestimmte Bereiche des Unterkieferwachstums. Bei dem Versuch von BARRET et al (1993) wurden Zähne als Referenzpunkte für die Auswertung des Unterkieferbogenlänge verwendet. Da die Zahnstellung aber nicht stabil, ist könnten die Aussagen über des Unterkieferwachstums dadurch verfälscht werden.

Weiterhin zeigte keine dieser Arbeiten die Auswirkung von Anabolika auf das Unterkieferwachstum bei wachsenden und erwachsenen Tieren und in

Korrelation zu klinischen Parametern, wie Wachstumshormonspiegel (IGF-I = „insulin like growth-factor-I), Leptin als Ausdruck des metabolen Stoffwechsels des Körpers und Körpergewicht.

Um beantworten zu können, ob und wo Wachstumsveränderungen am Unterkiefer (Um-, Ab- und Anbau) auftreten bzw. stattfinden ist es notwendig, stabile Knochenmarkierungspunkte (=Implantate) zu setzen.

Erfahrungen mit der Anwendung von Metallimplantaten als Referenzpunkten bei Röntgenuntersuchungen gibt es von WHETTEN et JOHNSTON 1985, BJÖRK 1955, 1960, 1963 und 1968, sowie MCNAMARA 1975, 1977; MCNAMARA et BRYAN, 1987.

2 Ziel der Studie

Nachweis der Auswirkung anaboler Steroide auf das Unterkieferwachstum bei wachsenden und erwachsenen Ratten. Überprüfung der Steroidwirkung durch röntgenolisch-metrische sowie klinische Parameter und Bestimmung der Serum IGF-I- und Leptinspiegel als Antwort des Körpers auf die Verabreichung von anabolen Steroiden.

3 MATERIAL

Tiere

Weibliche wachsende und erwachsene Wistar-Kiyoto-Ratten aus einem Inzuchtstamm wurden verwendet. Die wachsenden Tiere wurden am 30. Lebenstag in die Studie aufgenommen. Das durchschnittliche Gewicht betrug 75,6 g. Die erwachsenen Tiere waren zu Beginn der Studie 120 Tage alt. Das durchschnittliche Gewicht betrug 265,1 g.

Es wurden folgende Daten, der Tiere an den Untersuchungstagen in einem Untersuchungsbogen, festgehalten:
Geschlecht, Gewicht [Gramm], röntgenmetrische Messung sowie IGF-I - und Leptinblutserumspiegel.

Medikamente

3.1.1 Anaboles Steroid Deca-Durabolin®

Hersteller:
Organon Laboratories Ltd.

Wirkstoff:
Nandrolon decanoat

Zusammensetzung:
1 ml enthält : Nandrolondecanoat 25 mg/ 50 mg.
weitere Bestandteile: Benzylalkohol 105 mg (0,1 ml), Erdnußöl.

Anwendungsgebiet:
Als Therapeutikum, bei denen eine eiweißaufbauende Wirkung wünschenswert ist, u. a.: Osteoporose, besonders im Verlauf chronisch rheumatischer Erkrankungen, metastasierendes Mammakarzinom, bei post-operativen oder traumatischen Stoffwechsel, während Glucocorticosteroid-Therapie, Proteinmangel, in Zusammenhang mit zytotoxischer Chemotherapie und

Anämien:

- Nierenmangelerscheinungen
- Aplastische Anämie

3.1.2 Nembutal®

Hersteller:

Sanofi CEVA

Wirkstoff:

Pentobarbitol-Natrium

Eigenschaften:

Nembutal® wurde 1931 in die Veterinärmedizin eingeführt und gilt in den meisten Ländern als Standardpräparat in der Barbiturat-Therapie. Es ist für jede Form der Cerebraldepression geeignet, von der milden Sedierung bis zur tiefen Narkose.

Die Wirkung tritt prompt ein, die Erholungsphase ist kurz. Innerhalb von 3-5 Minuten kommt es zu einer 45-90 Minuten anhaltenden Anästhesie.

Anwendungsgebiet:

I.v. Narkose für chirurgische Eingriffe, zur Beruhigung und Schmerzlinderung bei Lokalanästhesie und als Sedativum bei Tetanus.

3.1.3 Sequenzielle Knochenmarkierung

Folgende Azo-Farbstoffe fanden Anwendunget:

- Xylenol-orange
- Calcein (DCAF)
- Alizarin-Komplexon
- Tetrazyklin (Supramycin®)
- 2% igen Natriumhydrogencarbonat-Lösung

Röntgenapparatur und Filmmaterial

Für die Röntgenaufnahmen wurde ein Transportables Langtubusröntgengerät (Helio Dent MD) der Firma Siemens zusammen mit Kodak Ektaspeed Plus Occlusalfilm EO-41P (Größe: 57 x 76mm) verwendet.

Implantate

Als röntgendichte Markierung (Implantate) wurden Mikro- Titanschrauben der Dimension 1,0 x 2 mm der Fa. Leibinger, Freiburg verwendet.

4 METHODE

Gruppeneinteilung der Tiere

Sechzehn wachsende und 16 erwachsene Tiere wurden nach dem Zufallsprinzip in je zwei Gruppen aufgeteilt: 8 Experiment- und 8 Kontrolltiere. Die Tiere wurden im Wechsel nach dem Zufallsprinzip der Experiment- und Kontrollgruppe zugeordnet. Hierdurch wurde vermieden, daß die schnellsten und stärksten Tiere nur in einer Untersuchungsgruppe konzentriert waren. Zur Unterscheidung wurden Die Tiere durch eine Strich-Punkt-Zeichnung am Schwanz markiert. Zahlenwerte von eins wurden mit einem Punkt und Zahlenwerte von fünf mit einem Strich markiert (Abbildung 1).

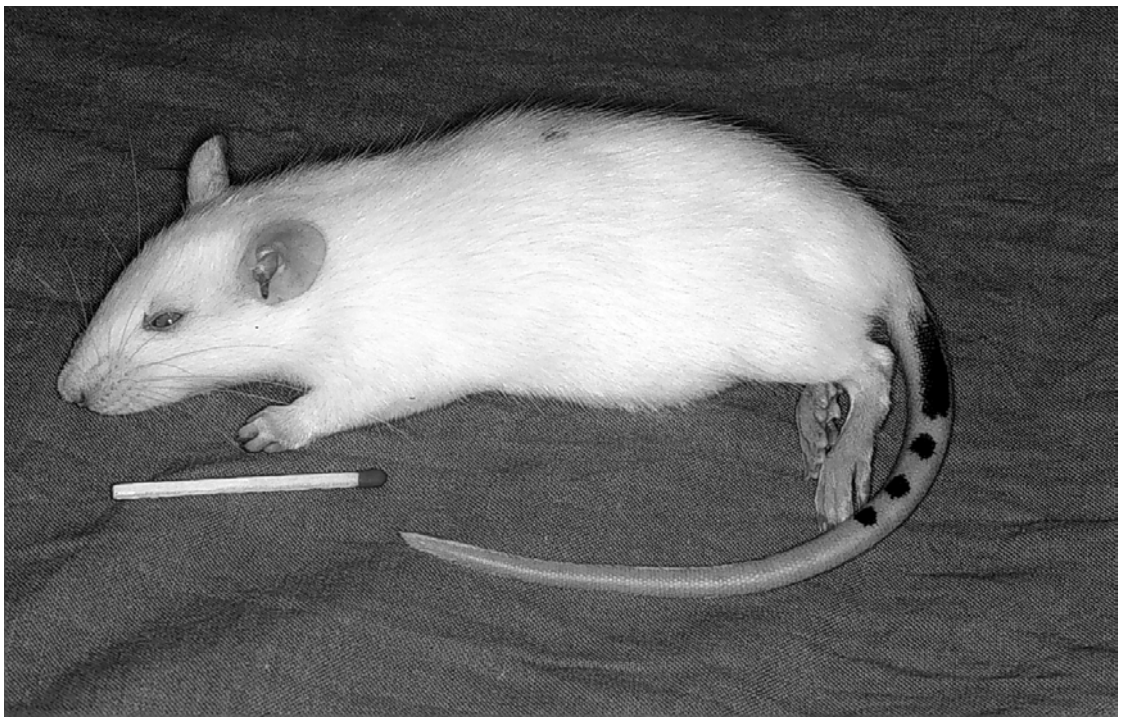

Abbildung 1: Markierung der Tiere zur Unterscheidung durch eine Strich-Punkt-Zeichnung am Schwanz. Hier Tier 8 (Strich=5, Punkt=1)

Tierhaltung, Futter

Eine Woche vor Beginn der Studie wurden die Tiere in Einzelkäfigen separiert. Wasser und Trockenfutter standen unbegrenzt zur Verfügung. Die Tiere wurden unter gleichen Bedingungen mit 12 Stunden Tag-Nacht- Rhythmus gehalten, welcher durch eine Zeitgesteuerte Licht-Dunkel-Phase erzeugt wurde. Die Raumtemperatur betrug 20 Grad Celsius bei einer Luftfeuchtigkeit von 55%.

Versuchsablauf

Das Einbringen der Implantate als röntgendichten Markierungen in die Mandibula erfolgte in Allgemeinnarkose mit Nembutal® (Fa. Sanofi CEVA) in der Dosierung 25mg/kg KG.

Das intramuskulär injizierte anabole Steroid Deca-Durabolin® (Fa. Organon (Akzo Nobel), Cambridge CB4 4FL, England) wurde wöchentlich immer zur gleichen Zeit in einer Dosierung von 1mg pro Kilogramm Körpergewicht verabreicht. Die Applikation wurde jeweils in die dorsale Oberschenkelmuskulatur links vorgenommen. Die Kontrolltiere bekamen eine Kontrollinjektion mit steriler Kochsalzlösung.

Zur späteren histologischen Untersuchung, der möglichen knöchernen Veränderungen der Ratten-Mandibula, welche in dieser Arbeit nicht weiter verfolgt wurde, ist eine sequentielle Knochenmarkierung entsprechend nachfolgendem Schema vorgenommen worden. Die Dosierungen der verwendeten Fluorochrome sind aus einer Empfehlung von Romeis (1989) entnommen:

- Am ersten Tag der Studie war allen Tieren Xylenol-Orange (2%-igen Natriumhydrogencarbonat-Lösung) in einer Dosierung von 90mg/kg Körpergewicht subcutan unter die Bauchhaut injiziert.
- Am 22. Tag wurde Calcein (DCAF) ebenfalls in gepufferter Lösung subcutan in einer Dosierung von 20mg/kg KG verabreicht.
- Am 43. Tag erfolgte die subcutane Injektion von Alizarin-Komplexon

30mg/kg KG in gepufferter Lösung.

- Am 64. Tag wurde Tetracyclin (Supramycin®) in wässriger Lösung in einer Dosierung von 25 mg/kg KG ebenfalls subcutan appliziert.

Zur besseren Darstellung der Abfolge siehe Tabelle 1.

Tabelle 1: Zeitliche Übersicht der sequentiellen Markierungen

1. Tag	22. Tag	43. Tag	64. Tag
Xylenol-orange	Calcein (DCAF)	Alizarin-Komplexon	Tetrazyklin
90mg/kg	20mg/kg	30mg/kg	25mg/kg

Implantate

Um eine zuverlässige Wachstumsmessung und der während der Untersuchung angefertigten Röntgenbilder der Rattenunterkiefer vornehmen zu können, wurden jeweils zwei Mikroschrauben der Größe 1,0 x 2 mm (Gewindedurchmesser x Länge) aus Titan in den Unterkiefer rechts eingeschraubt. Jeweils eine Schraube wurde ventral-kaudal des ersten Molaren (I_1) und dorsal-kaudal des dritten Molaren (I_2) eingebracht. (siehe Abbildung 2.) Diese Implantate sollten als fixe Punkte für die Superponierung der Anfangs- und Endröntgenbilder dienen.

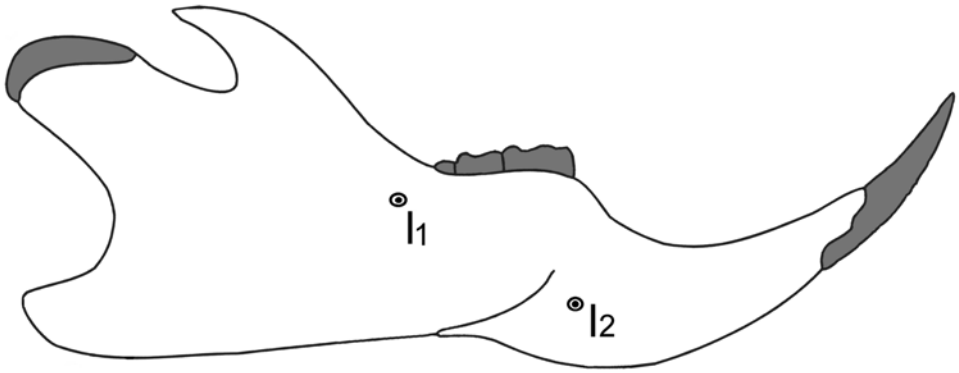

Abbildung 2: Darstellung der Implantatposition ventral-kaudal des ersten Molaren (I_1) und dorsal-kaudal des dritten Molaren (I_2)

Operation

In Nembutal®- Allgemeinnarkose wurde auf der rechten Seite des Unterkiefers von intraoral eine ventral des ersten Molaren gelegene Schleimhautinzision vorgenommen und das Mukoperiost nach dorsal bis zur Darstellung des Nervus mentalis abgeschoben. Danach wurde von vestibulär her eine Vorbohrung mit einem 0,8 mm starken Spiralbohrer (Fa. Friatec, Manheim) mit einem Dental-Handstück (Fa. KaVo) angebracht. Das Einbringen der Mikro-Titanschraube (I_2) mit der Dimension 1,0 x 2,0 mm (Fa. Leibinger, Freiburg) erfolgte mit einem Hand-Schraubendreher (Abbildung 3). Die Schleimhaut über dem Implantat wurde aufgrund der Größe der Inzision nicht verschlossen.

In einem zweiten Schritt wurde eine weitere identische Schraube (I_1) über einen horizontal verlaufenden Zugang nach Enthaarung des Operationsbereiches in stumpfer Präparation (Abbildung 4) durch den musculus masseter rechts nach Darstellung des aufsteigenden Unterkieferastes retromolar kaudal der Zahnreihe gesetzt (Abbildung 5).

Der Wund- und Hautverschluß erfolgte mit einem Prolenefaden der Stärke 4-0 in fortlaufender Nahttechnik (Abbildung 6).

Abbildung 3: Gesetztes Implantat ventral-kaudal des ersten Molaren (I_1).

Abbildung 4: Enthaarung des Operationsfeldes für das Setzen des Implantates dorsal-kaudal des dritten Molaren (I_2).

Abbildung 5: Gesetztes Implantat (I_2) dorsal-kaudal des dritten Molaren.

Abbildung 6: Wund- und Hautverschluß mit einem Prolenefaden der Stärke 4-0 in fortlaufender Nahttechnik nach setzen des Implantates (I_2) (siehe Abbildung 5)

Röntgenverfahren

Das Unterkieferwachstum wurde während des Untersuchungszeitraumes vom 30. Lebenstag an bis zum 100. Lebenstag der Gruppe der wachsenden Tiere bzw. vom 120. Lebenstag bis zum 190. Lebenstag der Gruppe der erwachsenen Tiere röntgenkephalometrisch erfaßt. Dies erfolgt einmal zum Beginn der Untersuchung im narkotisierten Zustand nach dem Setzen der Implantate (Startposition) und ein zweites Mal am Ende der Untersuchung (Endposition), nachdem die Tiere getötet wurden.

Die Röntgenaufnahmen wurden mit einem transportablen Langtubusröntgengerät, dem Helio Dent MD der Firma Siemens, durchgeführt.

Es wurde ein standartisiertes Röntgenverfahren verwendet, bei dem mit gleichbleibenden Abstand (10cm), gleicher Ausrichtung (Röntgentubus-Objekt) und mit gleicher Strahlendosis (0.25s und 60mA) die Tiere in der sagittalen Ebene geröntgt worden sind.

Bei der Ausrichtung der Tiere fanden die Bipupillarlinie (A) und die Scheitel-Steiß-Linie (B) Anwendung. Die Bipupillarlinie wurde parallel zur Tierauflage und die Scheitel-Steiß-Linie parallel zur Röntgenebene bzw. Filmebene ausgerichtet (Abbildung 7 und 8).

Die Röntgenbilder wurden mit einem Buchstaben-Zahlencode versehen, wodurch die Bilder nach abgeschlossener Auswertung den Tieren wieder zugeordnet werden konnten. Dadurch konnte eine Beeinträchtigung der Auswertung durch Befangenheit vermieden werden. Die Studie konnte somit im Sinne einer Blindstudie durchgeführt werden.

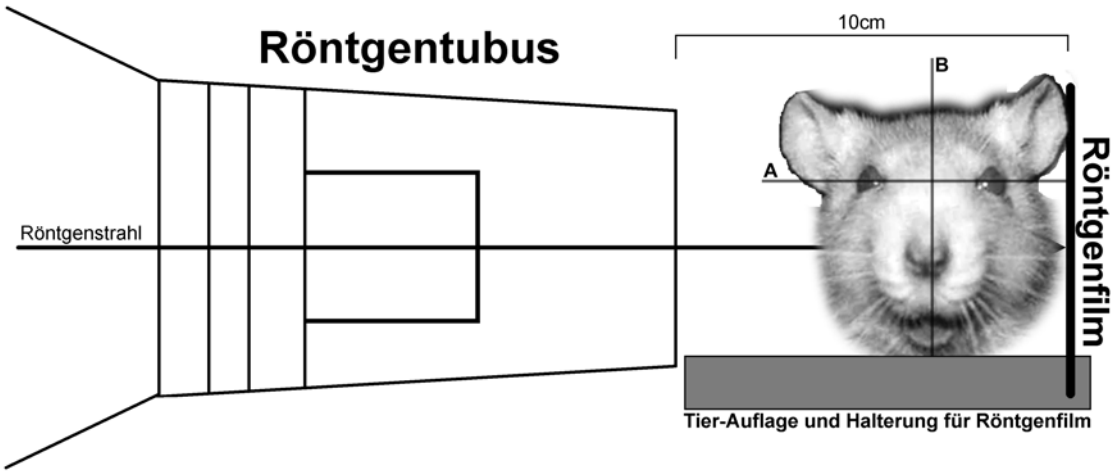

Abbildung 7: Röntgenapperatur-Aufbau in frontal Ansicht. Achse A ist über die Bipupillarlinie und Achse B über die Scheitel-Steiß-Linie ausgerichtet.

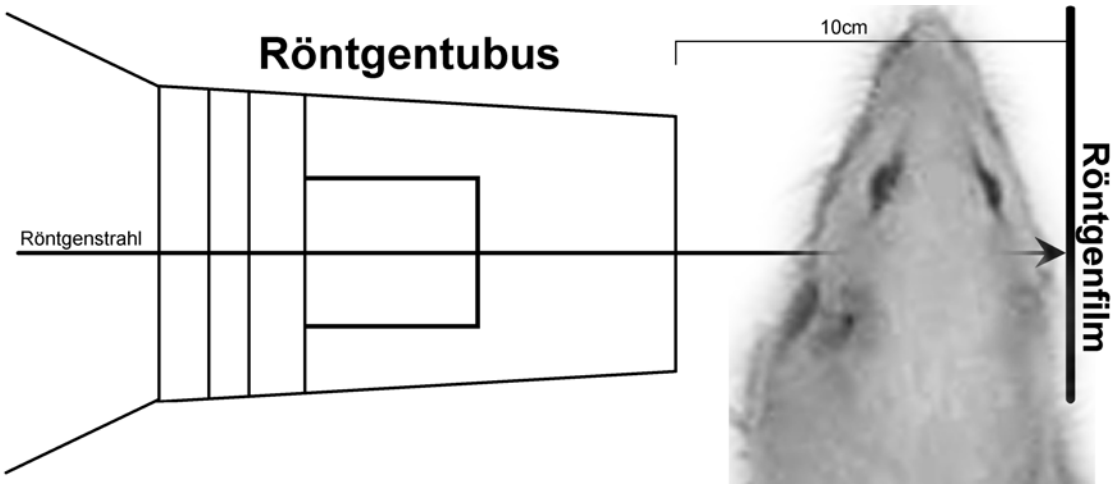

Abbildung 8: Röntgenapparatur-Aufbau in Aufsicht. Achse A ist über die Bipupillarlinie und Achse B über die Scheitel-Steiß-Linie ausgerichtet.

Untersuchungsablauf

Am Tag 1 erfolgte das Einbringen der Implantate, die Anfangs-röntgenaufnahme der Kiefer, die Bestimmung des Gewichtes und nach der Blutentnahme erfolgte die erste Fluorochrom- Markierung mit Xylenolorange.

Das Gewicht der Tiere wurde wöchentlich bestimmt und nach unter Punkt 4.8 beschriebenen Schema Blut abgenommen. Am 22. Tag erfolgte die zweite Fluorochrome- Markierung mit Calcein, am 43. Tag die dritte mit Alizarin-Komplexon und am 63. Tag die vierte mit Tetrazyklin. Zum Ende, am 70. Tag wurde von allen Tieren eine Abschluß-Röntgenaufnahme angefertigt. (Siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Zeitlicher Ablauf der Studie

TAG		RÖNTGEN-AUFNAHMEN	BLUTAB-NAHME (µl)	FUOROCHROME SEQUENZ-MARKIERUNG	GEWICHTS-MESSUNG
1.	ANFANG	X	500	XYLENOL-ORANGE	X
8.			100		X
15.			500		X
22.			100	CALCEIN	X
29.			500		X
36.			100		X
43.			500	ALIZARIN	X
50.			100		X
57.			500		X
63.			100	TETRAZYKLIN	X
70.	ENDE	X	500		X

Gewichtsentwicklung unter Steroidzufuhr

Als klinischer Parameter in Bezug auf die Reaktion der Ratten auf die Steroidzufuhr wurde in wöchentlichen Abständen das Gewicht der Versuchs- und Kontrolltiere im narkotisierten Zustand kontrolliert.

Es sollte hierbei beobachtet werden, in wie weit sich die Gewichtsentwicklung bei wachsenden und erwachsenen Tieren unter Verabreichung von anabolen Steroiden, im Bezug zum Anfangsgewicht, unterscheidet.
Die Gewichtskontrolle wurde mit einer Haushaltswaage der Fa. Dr. Oetker, mit einer Genauigkeit von 0,5g, durchgeführt.

Röntgenkephalometrie

4.1.1 Meßpunkte

Verwendete Referenzpunkte bei der röntgenkephalometrischen Auswertung der Röntgenbilder (Abbildung 9):

- Punkt Co_S: superiorster Tangentenpunkt des Kondylus
- Punkt Co_P: posteriorster Tangentenpunkt des Kondylus
- Punkt Co: Kondyluspunkt auf halber Strecke zwischen Co_S und Co_P
- Punkt Go_P: posteriorster Tangentenpunkt des hinteren Ramusrand im Bereich des Kieferwinkels
- Punkt Go_i: inferiorster Tangentenpunkt des unteren Korpusrand im Bereich des Kieferwinkels
- Punkt A: Übergang von der frontosuperioren Spitze des Mandibularknochens zum linguale Anteil des Unterkiefer-Incisivi.
- Punkt B: anteriorer Unterkiefer Tangentenpunkt des frontalen Korpusrandes

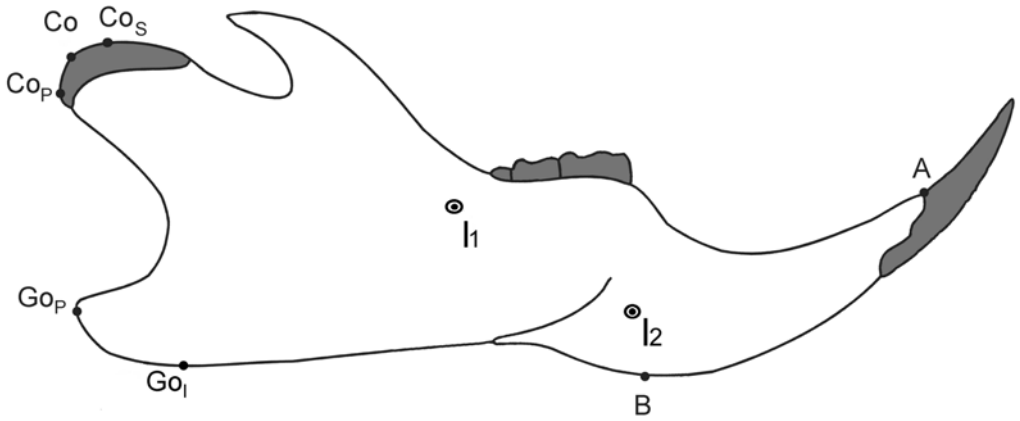

Abbildung 9: Referenzpunkte für die röntgenkephalometrische Auswertung.

4.1.2 Winkelmessung (Abbildung 10)

- Co_P-Go_P / Go_i-B : Der Kieferwinkel (Strecke Kondylus posterior (Co_P)/ Ramusrand posterior (Go_P) und Ramusrand inferior (Go_i)/ Punkt (B))

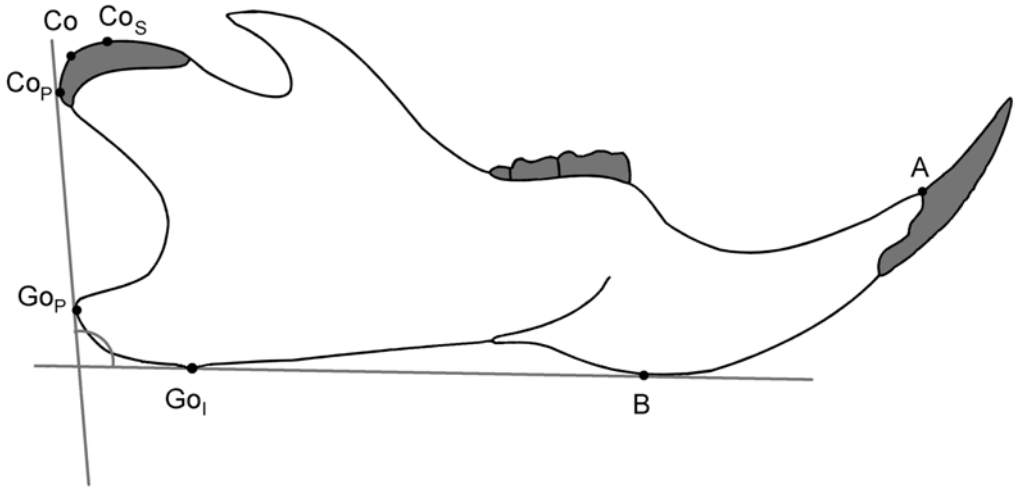

Abbildung 10: Der verwendete Winkel zur Kiefer-Winkelmessung (Co_P-Go_P / Go_i-B).

4.1.3 Streckenmessungen (Abbildung 11)

Horizontale Strecken

- Imp.: Die Strecke zwischen Implantat 1 (I_1) und Implantat 2 (I_2)
- 1.: Die Strecke zwischen Kondylus (Co) und Punkt A,
- 2.: Die Strecke zwischen Gonion posterior (Go_P) und Punkt A
- 3.: Die Strecke zwischen Kondylus (Co) und Punkt B,

Vertikale Strecken

- 4.: Die Strecke zwischen Kondylus superior (Co_S) und Gonion inferior (Go_i)
- 5.: Die Strecke zwischen Kondylus posterior (Co_P) und Gonion posterior (Go_P)

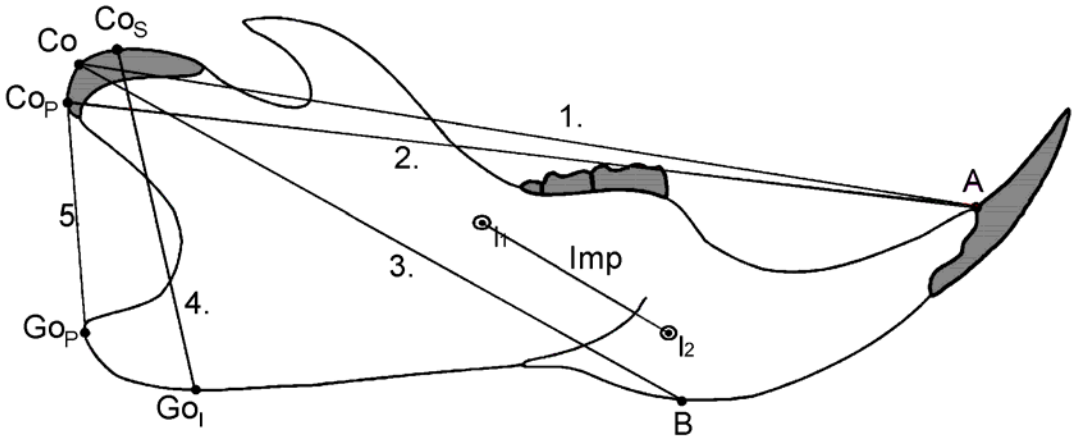

Abbildung 11: Die für die Streckenmessung verwendeten Referenzpunkte und die Streckenbezeichnung 1.- 6.

Gewinnung der Blutserumproben

Blutentnahmen

Die Entnahme von arteriovenösem Mischblut durch Resektion der Schwanzspitze erfolgte wöchentlich in Narkose (siehe Tabelle 2 Seite 16):

- Am 1., 15., 29., 43., 57. und am 70. Tag wurden jeweils 500µl Blut entnommen.
- Am 8., 22., 36., 50. und 64. Tag wurden 100µl gewonnen.

Dieses Mischblut wurde mit einer Hochgeschwindigkeitszentrifuge für 2 Minuten bei 10000 U/min bearbeitet. Das so gewonnene Serum wurde abpipettiert und ein zweites Mal mit o.g. Parametern zentrifugiert. So konnten 50µl bzw. 250µl Serum asserviert werden. Die so gewonnenen Proben wurden bei -20 Grad Celsius bis zur Auswertung und Bearbeitung im RIA aufbewahrt.

Messung der IGF-I- und Leptinspiegel

Der Blutserum-IGF-I- und Leptin-Spiegel wurden als endokrine Antwort auf die Verabreichung von anabolen Steroiden gemessen. Es sollten hierdurch zum einen evtl. Veränderungen der röntgenologisch-metrischen Vermessungen des Unterkiefers erklärt und untermauert werden und zum anderen die möglichen Zusammenhänge zwischen einer evtl. Veränderung und Entwicklung der oben genannten Blutserumspiegel und der Unterkieferentwicklung festgestellt werden.
Zur Messung der IGF-I sowie des Leptin im Serum der Schwanzvene wurden Radioimmunoassays (RIAs) benutzt.

RIA-Prinzip

Bei diesem Verfahren konkurrieren das zu messende Protein und ein im Überschuß zugesetztes radioaktiv markiertes Konkurrenzprotein (Tracer) um die Bindung an einem Antikörper. Beide Proteine müssen identisch in Bezug auf die Bindungsaffinität zum Antikörper sein. Durch den Zusatz eines zweiten Antikörpers werden die Komplexe aus erstem Antikörper und zu messendem Protein, bzw. Konkurrenzprotein präzipitiert. Das Präzipitat kann zentrifugiert, der Überstand verworfen, und die Radioaktivität des Präzipitates im γ-Zähler (γ = Gammastrahlung) gemessen werden.

Um unbekannte Untersuchungstierproben zu bestimmen, werden bekannte Konzentrationen von unmarkierten Antigenen (Standards) im Test eingesetzt und bestimmt. Dadurch erhält man eine konzentrationsabhängige Verdrängung des markierten Tracers aus dem Antigen-Antikörper-Komplex.

Da die Konzentrationen an Antikörper und Tracer konstant sind, wird durch die Erhöhung der Konzentration an unmarkiertem Antigen erreicht, daß weniger Aktivität vom Antikörper gebunden wird. Nach der Trennung der beiden Fraktionen wird der gebundene Anteil der Aktivität gegen die Konzentration an zugesetztem unmarkiertem Antigen aufgetragen.

Messung der Standart-Serum-Konzentration

Um eine sigmoide Standardkurve (siehe Abbildung 12) mit möglichst langem quasi-linearen Verlauf zu erhalten, wird sowohl die X-Achse mit den Konzentrationen der einzelnen Standards, als auch die Y-Achse mit der Zählrate des γ-Zählers transformiert.

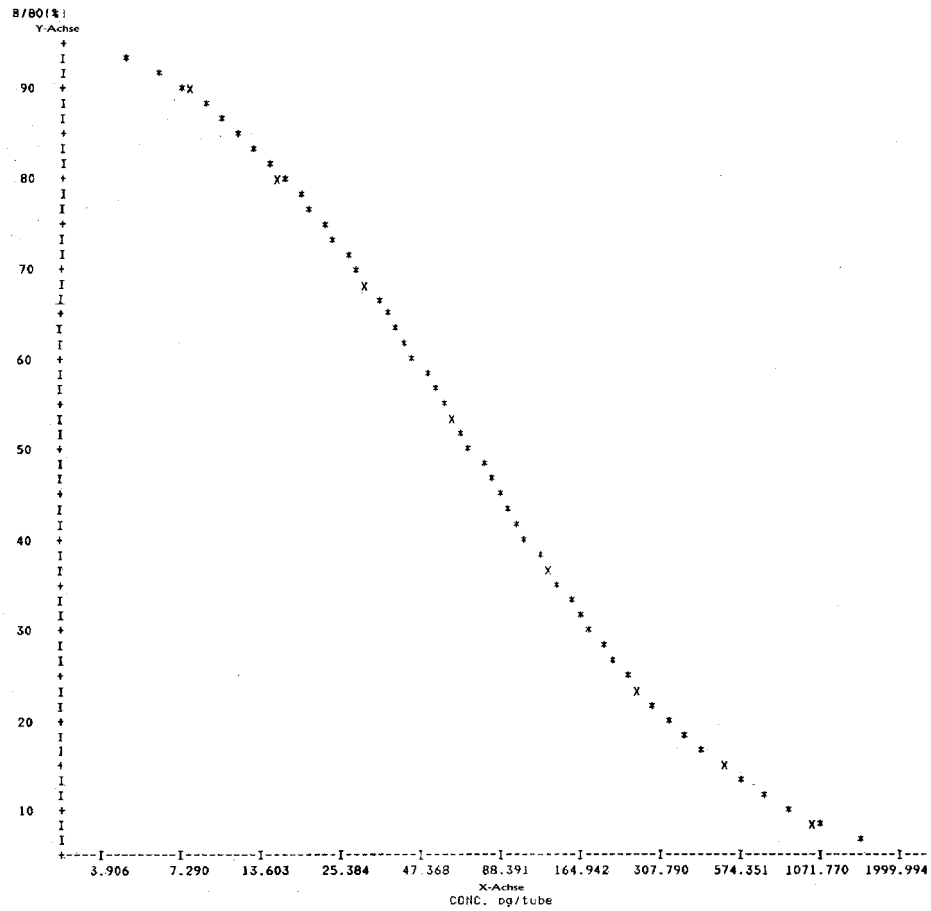

Abbildung 12: Sigmoide Standartkurve

Transformation der X-Achse

Auf der X-Achse werden die Konzentrationen der einzelnen Standards aufgetragen. Diese Standards, die durch die Verwendung einer geometrischen Verdünnungsreihe hergestellt werden, lägen bei linearer Achseneinteilung im Bereich niedriger Konzentrationen sehr eng beisammen, im Bereich hoher Konzentrationen dagegen weit auseinander. Daher trägt der Computer die Konzentrationen der Standards in logarithmischem Maßstab auf der Abszisse auf. Durch diese Transformation wird erreicht, daß die Abstände zwischen den einzelnen Standardkonzentrationen gleich sind. Die ursprünglich hyperbole Standardkurve nimmt somit eine sigmoide Form an.

Transformation der Y-Achse

Auf der Ordinate wird die Zählrate des γ-Zählers wiedergegeben. Da beim RIA der Tracer im Überschuß zum ersten Antikörper zugegeben wird, sind alle Antikörperbindungsstellen mit radioaktivem Tracer gesättigt, wenn kein nicht-markiertes Konkurrenzprotein (Standard oder Probe) zugesetzt ist. Die Zählrate am Sättigungspunkt des ersten Antikörpers mit Tracer wird B_0 genannt. Zur Spreizung der Y-Achse trägt der Rechner alle Zählratenwerte als Verhältnisse der gemessenen Bindung des Tracers an den Antikörper (B) zu der Zählrate bei Sättigung des Antikörpers mit markiertem Antigen (B_0) auf. Es resultiert die lineare Prozentskala B/B_0.

Nicht-Spezifische-Bindung

Nicht die gesamte Menge zugesetzten Tracers bindet an die spezifische Bindungsstelle des ersten Antikörpers, sondern ein kleiner Teil markiertes Antigen bindet an anderen, unspezifischen Stellen des Antikörpermoleküls. Der Rechner korrigiert daher jede gemessene Zählrate im Counter um den Zählratenwert dieser nicht-spezifischen Bindung (NSB).

Doppelbestimmungen als Qualitätskontrolle der RIA

Bei allen Messungen wurde jede Probe, d.h., alle Schwanzvenenseren, Standards und Kontrollen in zwei separaten Röhrchen bestimmt. Hierbei lag die obere Toleranzgrenze der Abweichung zwischen den beiden Röhrchen bei 5%. Innerhalb dieser Toleranz wurde der Mittelwert der beiden Messungen als

Meßergebnis angenommen.

Intra-Assay-Abweichung

Um eventuelle Veränderungen innerhalb eines Testansatzes, die die Ergebnisse der Messungen beeinflussen, zu erfassen, wurden in jedem Testansatz Experimenttierproben an verschiedenen Stellen mehrfach-bestimmt. Die Intra-Assay-Variation ergibt sich als Quotient der Standard-abweichungen und Mittelwerte dieser Messungen.

Inter-Assay-Abweichung

Bei jedem Testansatz wurden Kontrollen mitgemessen. Diese Kontrollen bieten zusammen mit den Ergebnissen der Messung der Standards die Möglichkeit, die Resultate des durchgeführten Testansatzes mit denen vorhergehender Tests zu vergleichen. Die Inter-Assay-Variation beschreibt also Unterschiede zwischen dem durchgeführten Testansatz und vorher unter gleichen Bedingungen durchgeführten Tests.

Die IGF Messungen

Wie bereits erwähnt, ergibt sich eine Hauptschwierigkeit bei der IGF Messung mit kompetitiven Ligandenbindungs-assays daraus, daß die Affinitäten der IGF-Bindungsproteine und der Anti-IGF-Antikörper zum IGF ähnlich hoch sind. Daher müssen IGFs und IGFBPs getrennt werden. Bei den hier verwendeten Tests geschieht diese Trennung durch Verdünnung der Serumprobe in saurem Puffer. Nach der Dissoziation des IGF von seinen Bindungsproteinen unter sauren Bedingungen wird der Probe neben dem Anti-IGF-Antikörper noch das jeweils nicht gemessene IGF-Protein im Überschuß zugesetzt. Somit werden die Bindungsproteine in der Probe nach der Neutralisation durch alkalischen Puffer im Falle der IGF-I Messung durch IGF-II gesättigt, bei IGF-II Messung durch einen Überschuß an IGF-I. Wegen der erheblichen Ähnlichkeit der IGF Moleküle untereinander setzt dieses Verfahren allerdings eine sehr hohe Spezifität, d.h eine niedrige Kreuzreaktivität des verwendeten ersten Antikörpers voraus.

Der IGF-I Radioimmunoassay

Im ersten Schritt wurden alle Proben und Kontrollen mit dem Dilutor im Verhältnis 1/50 in saurem Puffer A verdünnt. Danach wurde die geometrische Standardreihe hergestellt. Hierbei enthielt der höchste Standard eine Konzentration an 2000 pg/µl rekombinantem IGF-I. Auch die Standardreihe wurde mit Puffer A (Tabelle 4) verdünnt. Zur Herstellung des Tracers wurde die I^{125}-IGF-I Tracerstammlösung in Puffer B (Tabelle 4) so verdünnt, daß 100 µl gebrauchsfertiger Tracer eine Aktivität von 14000 Zerfällen pro Minute (cpm = counts per minute) aufwiesen. Danach wurde der Testansatz gemäß dem Schema (Tabelle 3) fertigpipettiert, auf dem Schüttelgerät geschüttelt und bei 4°C für zwei Tage inkubiert.

Nach der Inkubation wurde jedem Röhrchen (außer Total Counts) 500µl der Präzipitationsantikörperlösung zugesetzt, der Testansatz erneut geschüttelt und für eine Stunde bei 4°C inkubiert.
Zum Waschen des Präzipates wurden die Röhrchen danach für 15 Minuten bei 4°C und 3800 Umdrehungen/Minute zentrifugiert, der Überstand verworfen und jedes Röhrchen, mit 1ml 0,1%iger kalter Tritonlösung versetzt, bei gleicher Temperatur und Tourenzahl erneut zentrifugiert. Nach Abkippen des Überstandes konnte die Radioaktivität des Präzipitates im γ-Zähler gemessen werden. Danach wurden die IGF-I Konzentrationen in ng/ml gemäß der Standardkurve vom Computer berechnet.

Die Leptin Messungen (Arbeitsanleitung für ultrasensitiven Leptinmarker)

1. Tag

1. Tierproben und Kontrollen verdünnen

- für jede Tierprobe, sowie für die Kontrollen jeweils ein 4,5ml Röhrchen beschriften.
- Dilutor 2x mit RIA-Puffer mit Gelatine (ph 7,4) spülen.
- Dilutor entsprechen der erforderlichen Verdünnung programmieren.
- Proben und Kontrollen schütteln (Vortex oder Schüttler von Baxter)
- Proben und Kontrollen mit Hilfe des Dilutors in RIA-Puffer verdünnen.
- Dilutor sofort nach Gebrauch gut mit deionisiertem Wasser spülen (mindestens 3-4 mal).

2. Herstellen der Standardreihe

Je 1 Röhrchen mit S1-S8 beschriften.

Herstellen einer geometrischen Verdünnungsreihe

- in jedes Röhrchen (S1-S8) 250µl RIA-Puffer vorlegen
- Standart 9 (625pg/ml) schütteln (Vortex) und 250µl Standart 9 in Röhrchen S8 pipettieren. Schütteln.
- 250µl Standart 8 in Röhrchen S7 pipettieren; schütteln; usw.

3. Testansatz

- Röhrchen beschriften. (Doppelbestimmung) TC, NSB, B=, S1-S9, K low, K high, Probe 1-Probe X
- Die Röhrchen für den Tieransatz, sowie für die Versuchsverdünnungen der Tierproben werden mit den gleichen Synonymen beschriften, wie die Originalproben.
- Testansatz mit Parafilm abdecken, beschriften (Name, Datum, Test) auf dem Multitube-Vortexer (15 Sek. Bei Starke 2) schütteln und ein Tag bei Raumtemperatur inkubieren.

Tabelle 3: Pipettierschema für IGF-I und Leptin ultrasensitiv Testansatz

Röhrchen	1/2	3/4	5/6	7-24	25-28	29-X
Messwert	TC	NSB	B0	Standard 1-9	Kontrolle 1+2	Probe 1-X
Kaninchen-γ-Globulin	-	100µl	-	-	-	-
RIA-Puffer (Gelatine)	-	25µl	100µl	-	-	-
Standard	-	-	-	100µl	-	-
Kontrolle	-	-	-	-	100µl	-
Probe	-	-	-	-	-	100µl
1.Antikörper 1:8000 verd.	-	-	25µl	25µl	25µl	25µl

2.Tag

Herstellen der Tracerverdünnung:

Tracergebrauchsverdünnung auf eine Aktivität von 6000CPM/25µl einstellen

- 25µl Tracerstocklösung im Counter messen.
- Mit Hilfe des Dreisatzes berechnen, wie viel µl Tracerlösung in 25µl gebrauchsfertigem Tracer enthalten sein müssen, um einen gebrauchsfertigen Tracer mit einer Aktivität von 6000CPM/25µl zu erhalten.
- Das Ergebnis mit der Anzahl der Röhrchen im Testansatz multiplizieren.
- Die errechnete Menge an Tracerstocklösung mit der entsprechenden Menge RIA-Puffer (=Anzahl der Röhrchen * 25µl) verdünnen.

Dabei immer für einige Röhrchen mehr die Tracergebrauchslösung berechnen.

- In jedes Röhrchen 25µl Tracergebrauchslösung pipettieren.

- Den fertigpipettierten Testansatz wieder mit Parafilm abdecken, und auf dem Schüttelgerät von Baxter schütteln (ca. 15 Sekunden bei einer Schüttelstärke von max. 2).
- Den Ansatz 1 Tag bei Raumtemperatur inkubieren lassen.

3. Tag

- In jedes Röhrchen, außer TC, 500µl 2.AK (=Ziege-anti-Kaninchen 1:150 in 4%iger kalter PEG-Lösung) geben.
- 1 Stunde im Kühlschrank inkubieren.
- Alle Röhrchen -außer TC- 15 Minuten bei 4°C und 3800RPM zentrifugieren.
- Überstand abkippen.
- Pelet mit 1ml 0,1%iger kalter Tritonlösung waschen 5 Minuten bei 4°C und 3800RPM zentrifugieren.
- Überstand abkippen.
- CPM mit Programm 22 im Counter messen.

Tiersynonyme auf Computerausdruck übertragen.

Serumverdünnung:
1:10 bei wachsenden Tieren
1:50 bei erwachsenen Tieren

Der Leptin Radioimmunoassay

Der Leptin Radioimmunoassay ist bis auf oben genannter Arbeitsanleitung von den technischen Vorraussetzung und Durchführung identisch mit der IGF-I-Radioimmunoassay.

Tabelle 4: Reagenzien für IGF-I Bestimmung

(A) Puffer-A (20mM Phosphat-Puffer) für 2l Aqua dest.		
410 µl	ortho-Phosphorsäure	2,5926 mM
2,70 g	NaH_2PO_4 x H_2O	16,409 mM
3,72 g	EDTA	5 mM
14,02 g	NaCl	120 mM
0,4 g	NaN_3	0,02 %
4,00 ml	Gelatine	0,2 %
pH-Wert mit HCL auf 2,8 einstellen		
2,00 ml	Triton X-100	0,1 %
bei Raumtemperatur lagern		
(B) Puffer B (100 mM Phosphat-Puffer) für 1l Aqua dest.		
13,45 g	Na_2HPO_4 x $2H_2O$	75,55 mM
3,37 g	NaH_2PO_4 x H_2O	24,45 mM
2,34 g	NaCl	40,0 mM
0,2 g	NaN_3	0,02 %
2 ml	Gelatine	0,2 %
pH-Wert mit NaOH auf 7,8 einstellen		
1 ml	Triton X-100	0,1 %
bei 4°C lagern		
(C) Puffer für Zellkulturüberstände für 100 ml		
3,37 ml	ortho-Phosphorsäure	0,5 M
1 g	BSA	1 %
0,1 g	NaN_3	0,1 %
20 µl	PMSF	0,5 M
pH-Wert mit HCl auf 1,25 einstellen		
1 ml	Triton X-100	1 %
(D) NSB (Kaninchen-γ-Globulin-Lsg.)		
50µg/ml Kaninchen-γ-Globulin-Lsg. In RIA-Puffer lösen.		

Tabelle 4 (Fortsetzung): Reagenzien für IGF-I Bestimmung

(E) 1. Antikörper 1:7000 verdünnt

Puffer B (B)

Kaninchen-γ-Globulin (Sigma)

Anti-h-IGF-I (Mediagnost)

IGF-II 100µg/ml (Mediagnost)

(F) I^{125}-Tracer

Stammlsg. Mit Puffer B (B) auf entsprechende CPM pro 100 µl einstellen.

Frischer Tracer 20.000 CPM; pro Woche Abnahme um 500 CPM.

(G) 2. Antikörper

Ziege-anti-Kaninchen-Immunglobulin-Serum 1:300 mit 4% PEG 84°C) verdünnen.

(H) 4% PEG

80 g Polyethylenglycol 6000 in 2l Aqua dest. lösen.

Tabelle 5: Reagenzien für Leptin Bestimmung

(A) RIA-Puffer (Gelatine) für 2l Aqua dest.		
14,20 g	Na_2HPO_4 x $2H_2O$	0,05 mol/l
2,70 g	NaH_2PO_4 x H_2O	0,05 mol/l
11,66 g	NaCl	0,10 mol/l
1,00 g	NaN_3	0,05 %
4,00 ml	Gelatine	0,2 %
pH-Wert mit NaOH auf 7,4 einstellen		
2,00 ml	Triton X-100	0,1%
Bei 4°C lagern		
(B) NSB (Kaninchen-γ-Globulin-Lsg.)		
150µg/ml Kaninchen-γ-Globulin-Lsg. in RIA-Puffer lösen.		
(C) 1. Antikörper 1:8000 verdünnt		
18,75µl 1.AK-Stocklsg. Rabbit B_1 (Dez.95)		
22,5 mg Kanninchen-γ-Globulin Sigma I-5006		
150 ml RIA-Puffer mit Gelatine		
(D) I^{125}-Tracer		
m-OB Stammlsg.		
Mit Puffer auf eine Aktivität von 6000 CPM/25µl eingestellt.		
(E) 2. Antikörper		
Ziege-anti-Kaninchen-Immunglobulin-Serum 1:150 mit 4% PEG (Polyethylenglykol) verdünnt		
(F) 4% PEG		

Standart (Std) c= 625 pg/ml

15µl Stdstock (m-OB) c= 625ng/ml

14,985ml RIA-Puffer mit Gelatine

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit der Tabellenkalkulations-Software „SPSS 10.0“ und „Excel (Office 2000)“ durchgeführt.

Zur graphischen Darstellung der Entwicklung des (1) Gewichtes, (2) Blutserumleptinspiegels und (3) Blutserum-IGF-I-Spiegels unter Zufuhr von Anabolika wurden Liniendiagramme erstellt, welche den Mittelwert der prozentualen Differenz der Kontroll- bzw. Experimentgruppe von wachsenden und erwachsenen Tieren im Vergleich zeigten.

Bei der Analyse der röntgenmetrischen Strecken und Winkelmessung fanden zur Darstellung Box-und-Whisker-Diagramme Verwendung (Abbildung 13). Diese Diagramme gehen auf eine 5-Zahlen-Zusammenfassung zurück:

1.Median
Der Wert einer geordneten Datenreihe, der diese in zwei gleiche Teile zerlegt.

2.Minimum
Der niedrigste Wert der Datenreihe.

3.Maximum
Der höchste Wert der Datenreihe.

4. Unteres Quartil
Zwischen diesem Wert und dem Minimum liegen 25% der Werte der Datenreihe.

5.Oberes Quartil
Zwischen diesem Wert und dem Maximum liegen 25% der Werte der Datenreihe.

Die Box stellt somit das Intervall zwischen dem oberen und dem unteren Quartil dar. In diesem Intervall liegen 50% aller Werte. In der Box werden die Quartile durch den Median getrennt. Die Whiskers breiten sich nach oben und unten bis zum höchsten bzw. niedrigsten Wert aus.

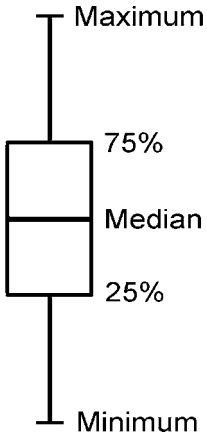

Abbildung 13: Aufbau eines Box- und Whiskersdiagrammes

Für die statistische Auswertung wurde eine Explorative Datenanalyse durchgeführt. Es fand hierfür der Mann-Whitney U-Test Anwendung.

Statistischer Test

Da die getestete Variablen nicht normalverteilt waren, wurde der Mann-Whitney U-Test verwendet.

Folgende Signifikanzniveaus wurden festgelegt:

$p < 0{,}001$

$p < 0{,}01$

$p < 0{,}05$

$p \geq 0{,}05$ bedeutet nicht signifikant (n.s.)

5 ERGEBNISSE

Gewichtsentwicklung unter Steroidzufuhr

Bei der Untersuchung der **wachsenden** Ratten zeigte sich beim Vergleich des Körpergewichts zum Anfang und zum Ende der Untersuchung eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 289% (215,5g) der wöchentlich mit anabolen Steroiden gespritzten Tiere und von 170% (128,5g) der Kontrolltiere (Abbildung 14). Der Gruppenunterschied war statistisch signifikant ($p < 0,001$).

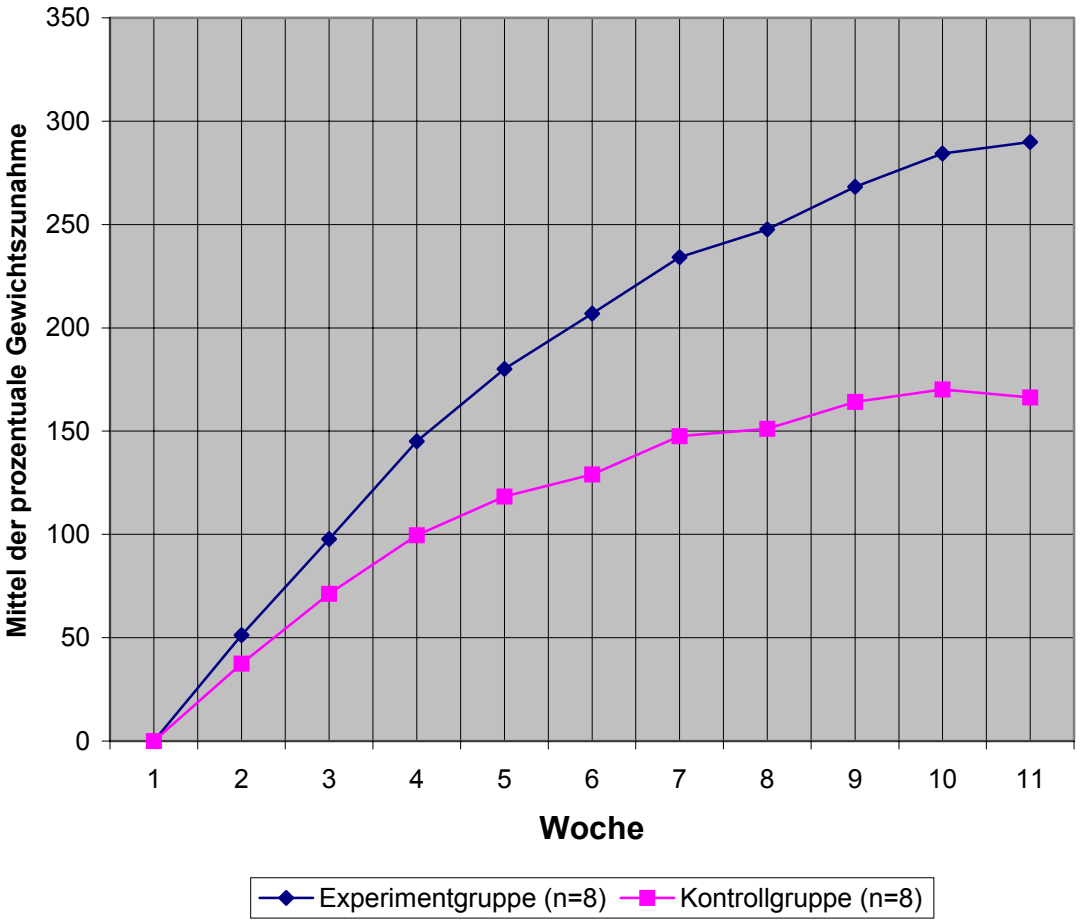

Abbildung 14: Wöchentliche durchschnittliche Gewichtszunahme (in %) der **wachsenden** Ratten.

Bei der Untersuchung der **erwachsenen** Ratten zeigte sich beim Vergleich des Körpergewichts zum Anfang und zum Ende der Untersuchung eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 18,1% (48g) der wöchentlich mit anabolen Steroiden gespritzten Tiere und von 0,3% (0,8g) der Kontrolltiere (Abbildung 15). Der Gruppenunterschied war statistisch signifikant ($p < 0,001$).

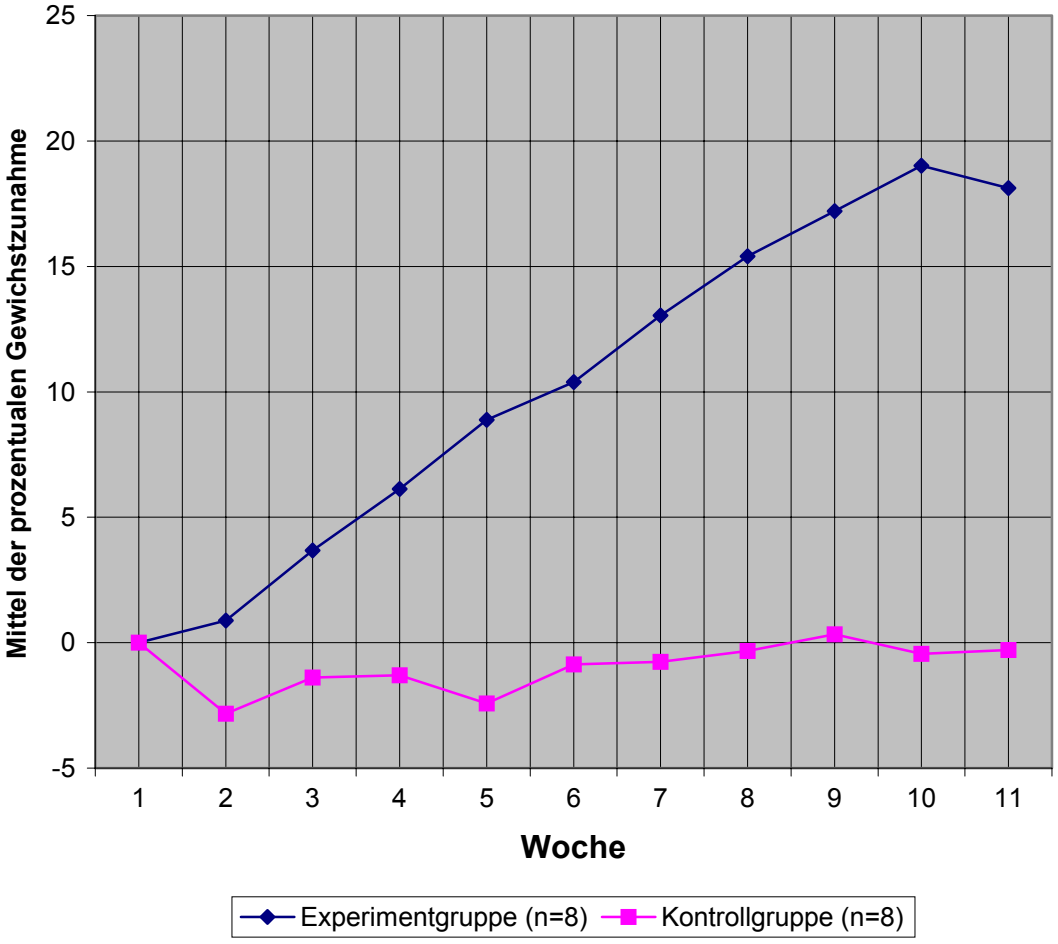

Abbildung 15: Wöchentliche durchschnittliche Gewichtszunahme (in %) der **erwachsenen** Ratten.

Röntgenkephalometrische Vermessungen

5.1.1 Winkelmessung

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen vergrößerte sich der Kieferwinkel bei den wachsenden Experimenttieren im Medianwert mit 0,1% (0,1°) und bei den **wachsenden** Kontrolltieren mit 0,2% (0,2°); (Abbildung 16). Kein statistischer Gruppenunterschied (n.s.) lag vor.

Bei den **erwachsenen** Experimenttieren und Kontrolltieren waren die entsprechende Vergrößerung des Kieferwinkels 0,5% (0,3°) und 0,6% (0,6°); (Abbildung 16). Auch hier war kein statistischer Gruppenunterschied (n.s.) zu finden.

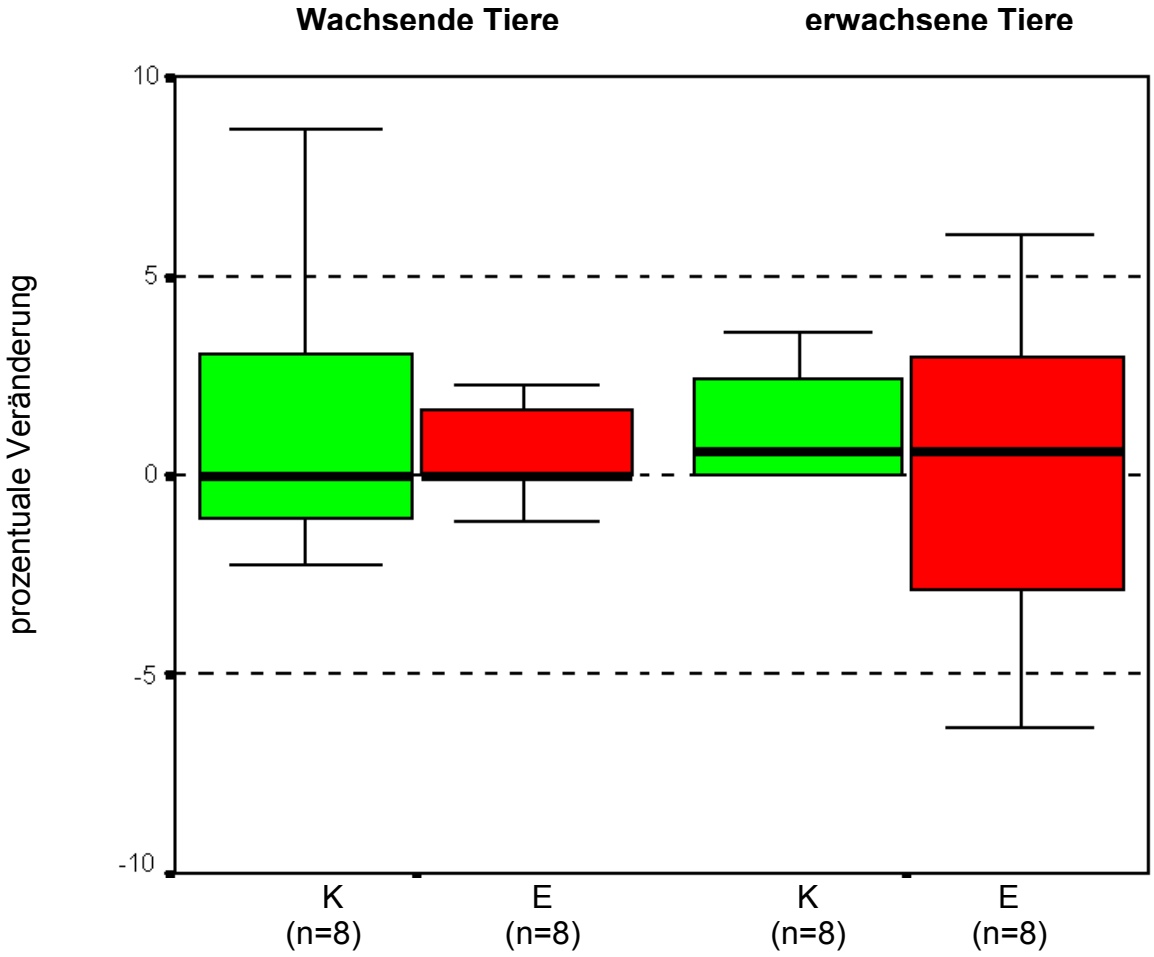

Abbildung 16: Veränderung des Kieferwinkels bei wachsenden und erwachsenen Ratten der Experimentgruppe (E) und der Kontrollgruppe (K) während des Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen. Darstellung der Ergebnisse anhand von Box- und Whiskers Diagrammen. (positiver Wert = Vergrößerung der Strecke; negativer Wert = Verkleinerung des Winkels)

5.1.2 Streckenmessung

Strecke Imp

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen vergrößerte sich die Meßstrecke Imp bei den **wachsenden** Experimenttieren im Medianwert mit 48,5% (7,6mm) und bei den wachsenden Kontrolltieren mit 42,9% (7,2mm); (Abbildung 17). Kein statistischer Gruppenunterschied (n.s.) lag vor.

Bei den **erwachsenen** Experimenttieren und Kontrolltieren war die entsprechende Vergrößerung der Meßstrecke Imp 5,9% (1,5mm) und 2,0% (0,5mm); (Abbildung 17). Der Gruppenunterschied war statistisch signifikant ($p < 0,01$).

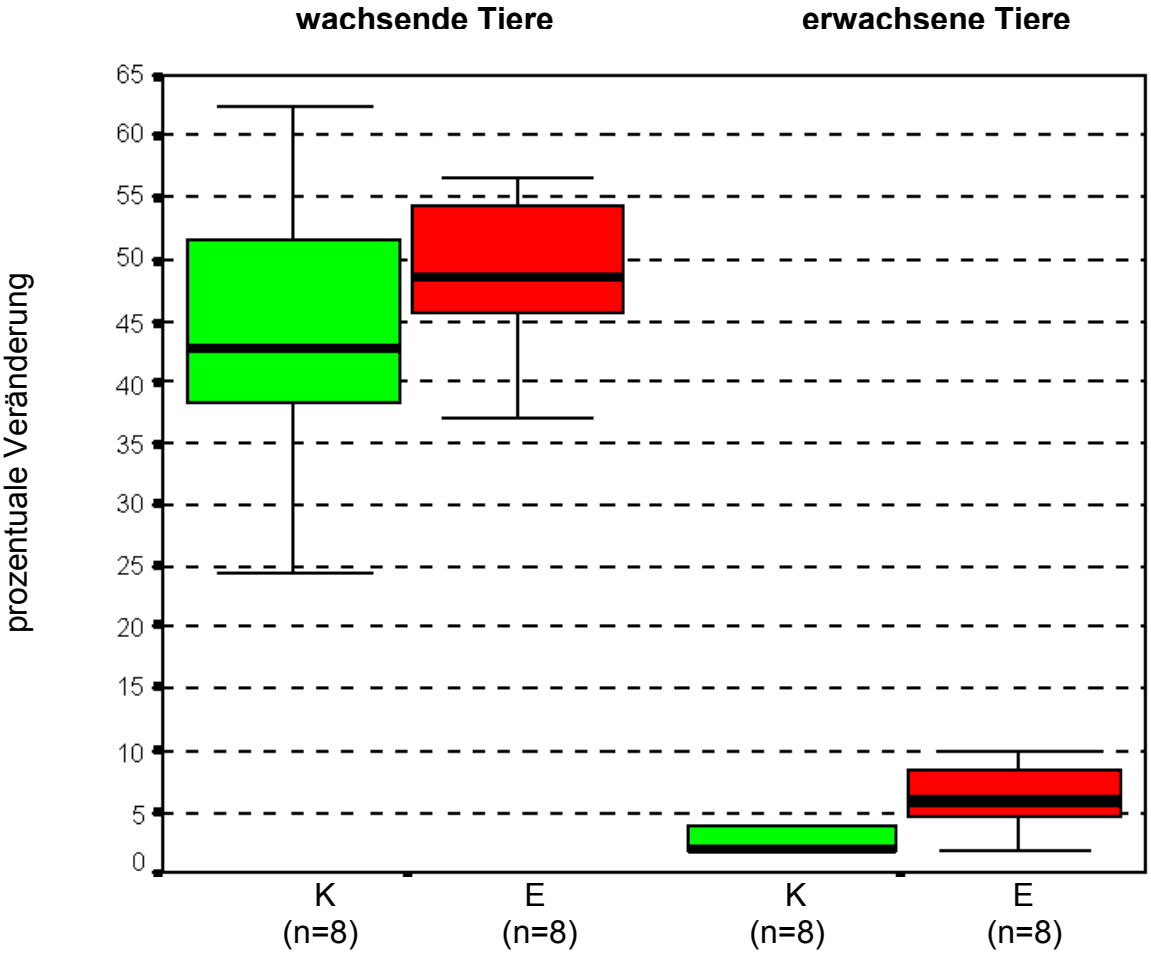

Abbildung 17: Vergrößerung der Strecke Imp bei wachsenden und erwachsenen Ratten der Experimentgruppe (E) und der Kontrollgruppe (K) während des Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen. Darstellung der Ergebnisse anhand von Box- und Whiskers Diagrammen.

Strecke 1

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen vergrößerte sich die Meßstrecke 1 bei den **wachsenden** Experimenttieren im Medianwert mit 28,0% (16,0mm) und bei den wachsenden Kontrolltieren mit 25,8% (14,4mm); (Abbildung 18). Kein statistischer Gruppenunterschied (n.s.) lag vor.

Bei den **erwachsenen** Experimenttieren und Kontrolltieren war die entsprechende Vergrößerung der Meßstrecke 1 5,4% (4,0mm) und 1,7% (1,3mm); (Abbildung 18). Der Gruppenunterschied war statistisch signifikant ($p < 0,01$).

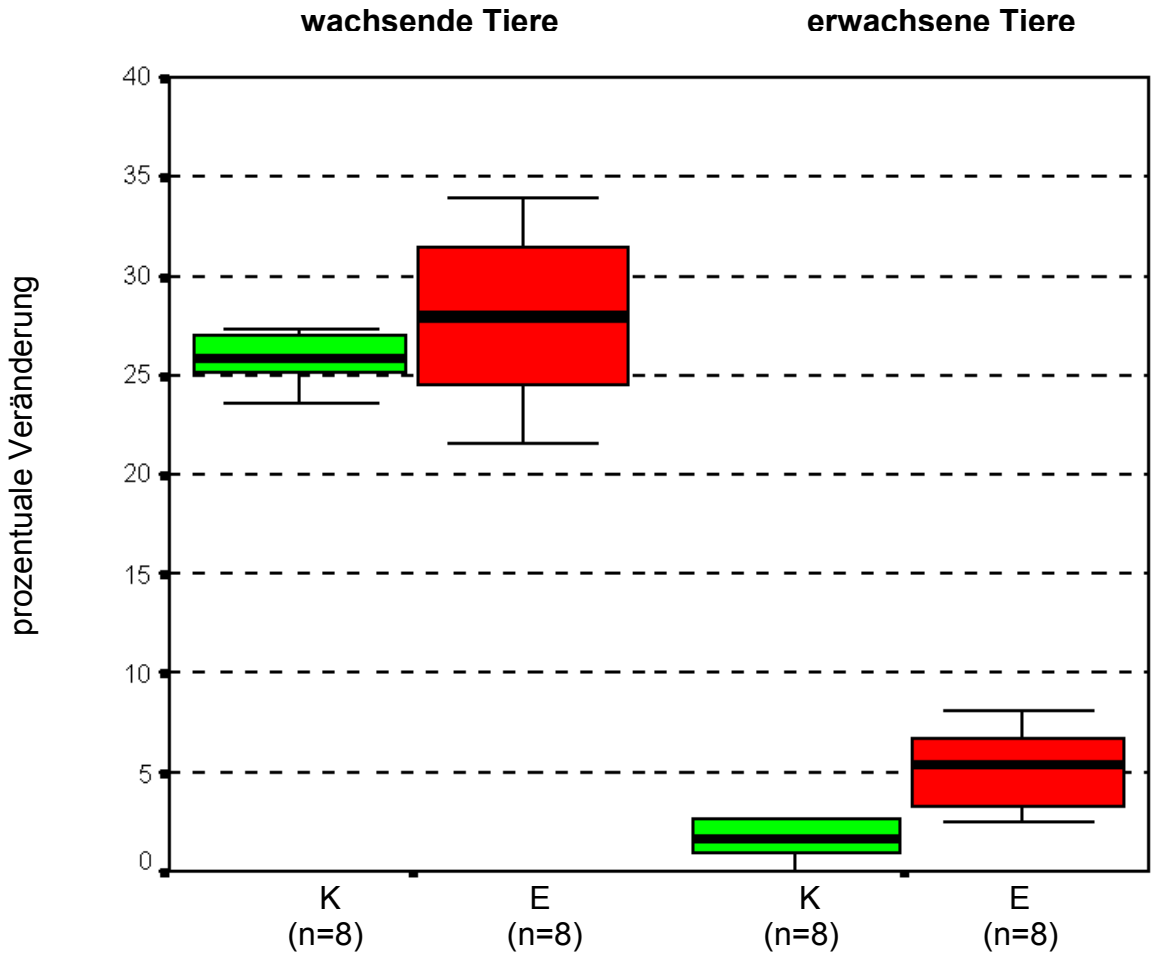

Abbildung 18: Vergrößerung der Strecke 1 bei wachsenden und erwachsenen Ratten der Experimentgruppe (E) und der Kontrollgruppe (K) während des Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen. Darstellung der Ergebnisse anhand von Box- und Whiskers Diagrammen.

Strecke 2

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen vergrößerte sich die Meßstrecke 2 bei den **wachsenden** Experimenttieren im Medianwert mit 27,2% (15,8mm) und bei den wachsenden Kontrolltieren mit 24,5% (14,0mm); (Abbildung 19). Kein statistischer Gruppenunterschied lag (n.s.) vor.

Bei den **erwachsenen** Experimenttieren und Kontrolltieren war die entsprechende Vergrößerung der Meßstrecke 2 4,7% (3,6mm) und 0,3% (0,2mm); (Abbildung 19). Der Gruppenunterschied war statistisch signifikant ($p < 0,001$).

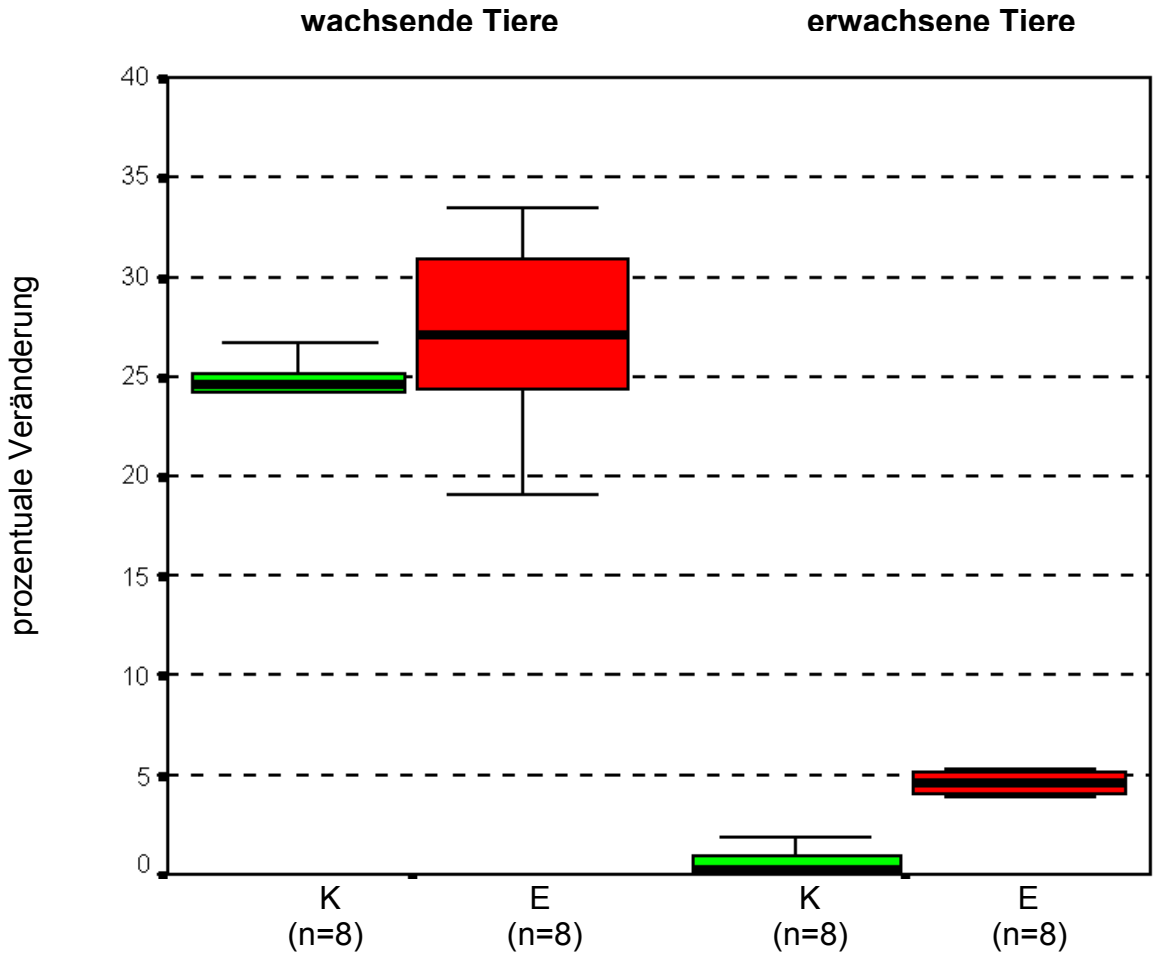

Abbildung 19: Vergrößerung der Strecke 2 bei wachsenden und erwachsenen Ratten der Experimentgruppe (E) und der Kontrollgruppe (K) während des Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen. Darstellung der Ergebnisse anhand von Box- und Whiskers Diagrammen.

Strecke 3

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen vergrößerte sich die Meßstrecke 3 bei den **wachsenden** Experimenttieren im Medianwert mit 33,6% (15,9mm) und bei den wachsenden Kontrolltieren mit 26,5% (12,6mm); (Abbildung 20). Der Gruppenunterschied war statistisch signifikant ($p < 0,001$).

Bei den **erwachsenen** Experimenttieren und Kontrolltieren war die entsprechende Vergrößerung der Meßstrecke 3 4,8% (3,0mm) und 1,1% (0,7mm); (Abbildung 20). Auch hier war ein statistischer Gruppenunterschied ($p < 0,001$) zu finden.

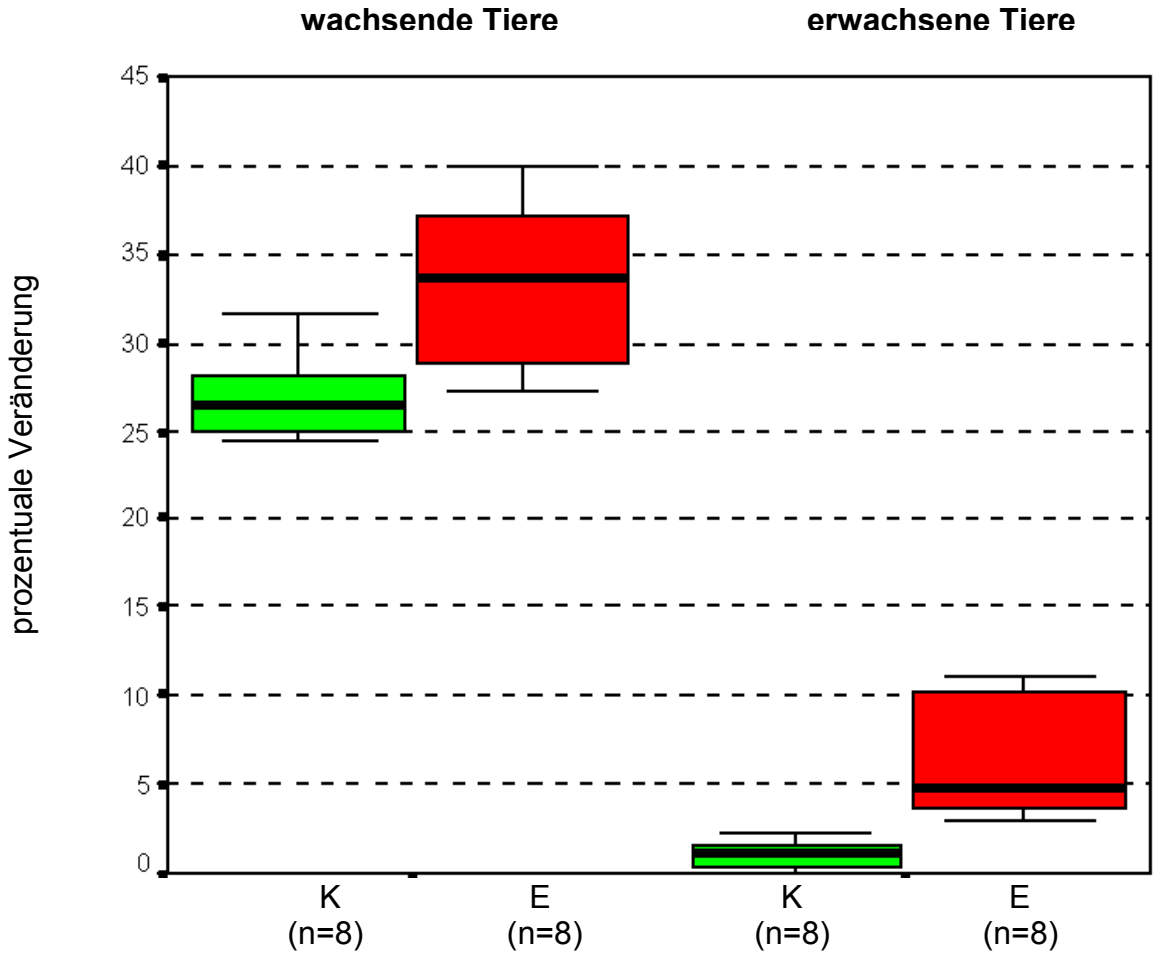

Abbildung 20: Vergrößerung der Strecke 3 bei wachsenden und erwachsenen Ratten der Experimentgruppe (E) und der Kontrollgruppe (K) während des Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen. Darstellung der Ergebnisse anhand von Box- und Whiskers Diagrammen.

Strecke 4

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen vergrößerte sich die Meßstrecke 4 bei den **wachsenden** Experimenttieren im Medianwert mit 41,2% (10,2mm) und bei den wachsenden Kontrolltieren mit 32,0% (8,1mm); (Abbildung 21). Der Gruppenunterschied war statistisch signifikant ($p < 0,05$).

Bei den **erwachsenen** Experimenttieren und Kontrolltieren war die entsprechende Vergrößerung der Meßstrecke 4 2,0% (0,8mm) und 1,4% (0,5mm); (Abbildung 21). Kein statistischer Gruppenunterschied (n.s.) lag vor.

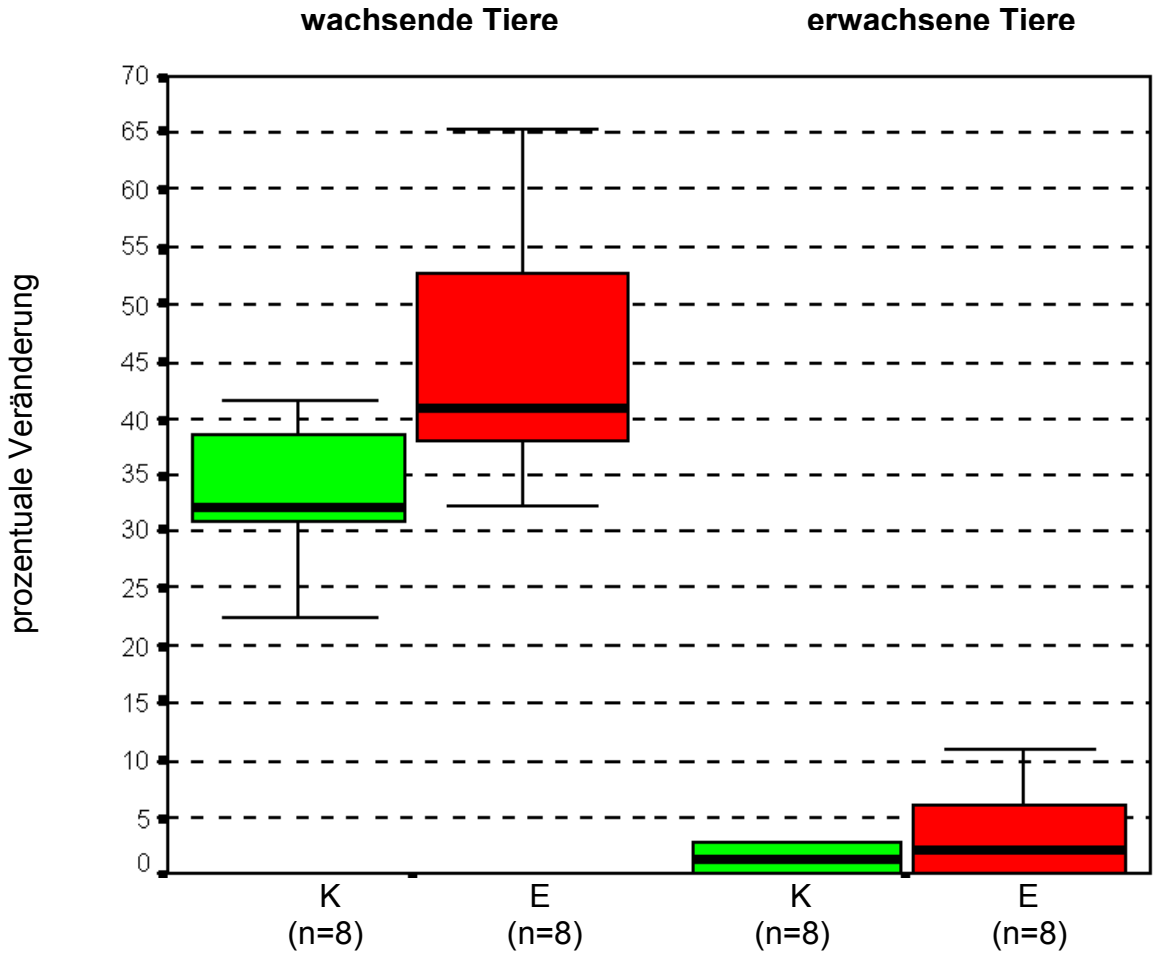

Abbildung 21: Vergrößerung der Strecke 4 bei wachsenden und erwachsenen Ratten der Experimentgruppe (E) und der Kontrollgruppe (K) während des Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen. Darstellung der Ergebnisse anhand von Box- und Whiskers Diagrammen.

Strecke 5

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen vergrößerte sich die Meßstrecke 5 bei den **wachsenden** Experimenttieren im Medianwert mit 27,7% (7,2mm) und bei den wachsenden Kontrolltieren mit 7,9% (1,1mm); (Abbildung 22). Der Gruppenunterschied war statistisch signifikant ($p < 0,01$).
Bei den **erwachsenen** Experimenttieren und Kontrolltieren war die entsprechende Vergrößerung der Meßstrecke 5 1,2% (0,4mm) und -2,0% (-0,7mm); (Abbildung 22). Kein statistischer Gruppenunterschied (n.s.) lag vor.

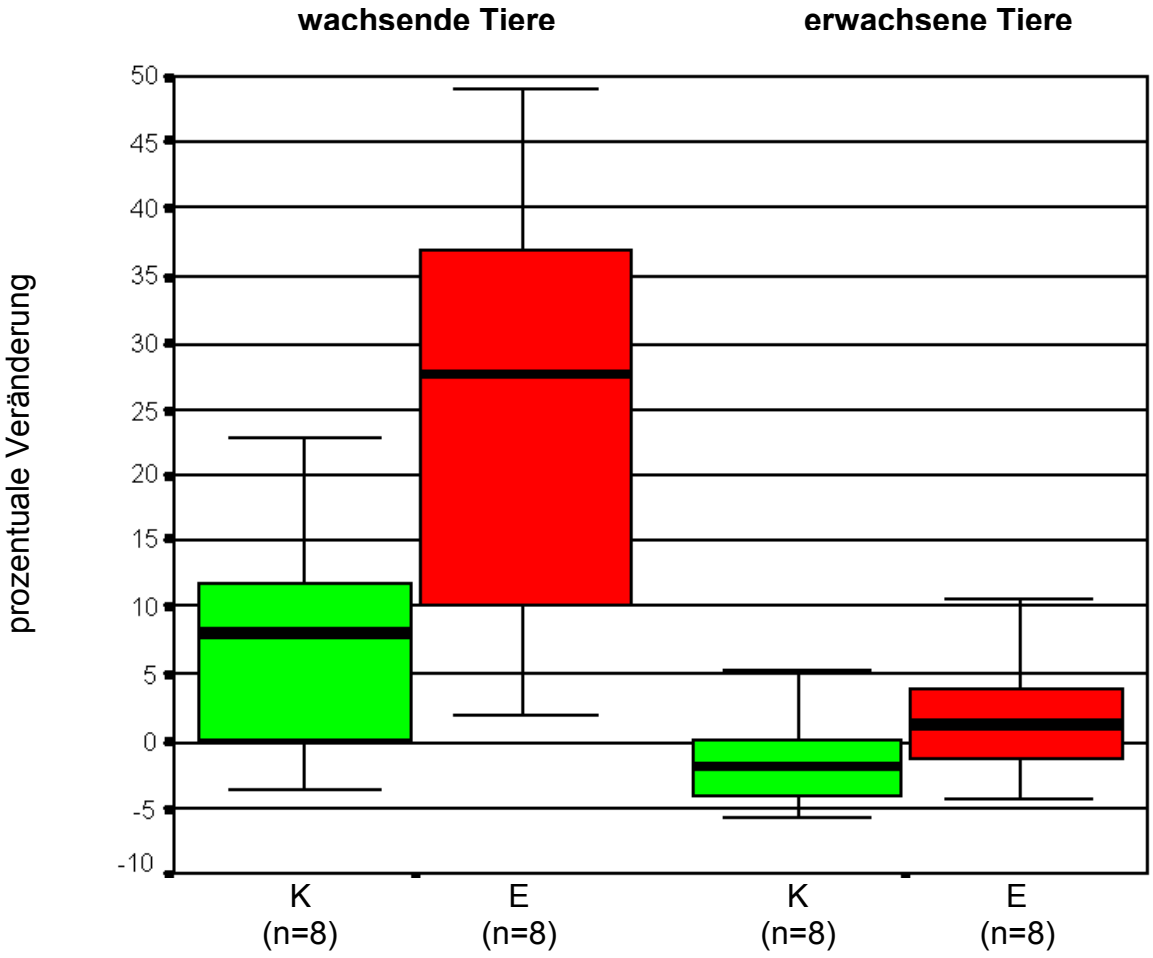

Abbildung 22: Veränderung der Strecke 5 bei wachsenden und erwachsenen Ratten der Experimentgruppe (E) und der Kontrollgruppe (K) während des Untersuchungszeitraumes von 70 Tagen. Darstellung der Ergebnisse anhand von Box- und Whiskers Diagrammen. (positiver Wert = Vergrößerung der Strecke; negativer Wert = Verkleinerung der Strecke)

Radioimmunologische Blutuntersuchungen

5.1.3 IGF-1

Bei der Untersuchung der **wachsende** Ratten zeigte sich beim Vergleich des IGF-I-Blutserumspiegel zum Anfang und zum Ende der Untersuchung eine durchschnittliche IGF-I-Blutserumspiegelzunahme von 283,1% der wöchentlich mit anabolen Steroiden gespritzten Tiere und von 254,7% der Kontrolltiere (Abbildung 23). Kein statistischer Gruppenunterschied (n.s.) lag vor.

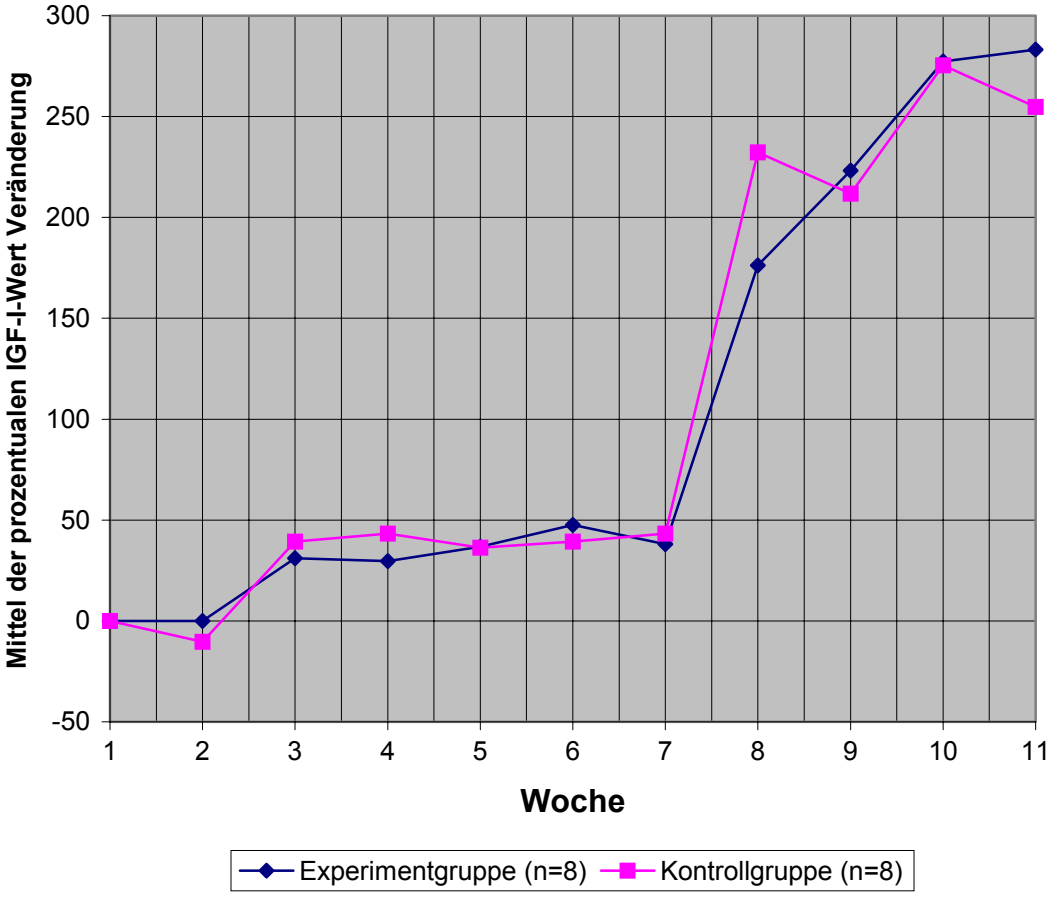

Abbildung 23: Wöchentliche durchschnittliche IGF-I-Blutserumspiegel Veränderung (in %) der **wachsenden** Ratten.

Bei der Untersuchung der **erwachsenen** Ratten zeigte sich beim Vergleich des IGF-I-Blutserumspiegel zum Anfang und zum Ende der Untersuchung eine durchschnittliche IGF-I-Blutserumspiegelabnahme von -54,9% der wöchentlich mit anabolen Steroiden gespritzten Tiere und von -70,30% der Kontrolltiere (Abbildung 24). Der Gruppenunterschied war statistisch signifikant ($p < 0,01$).

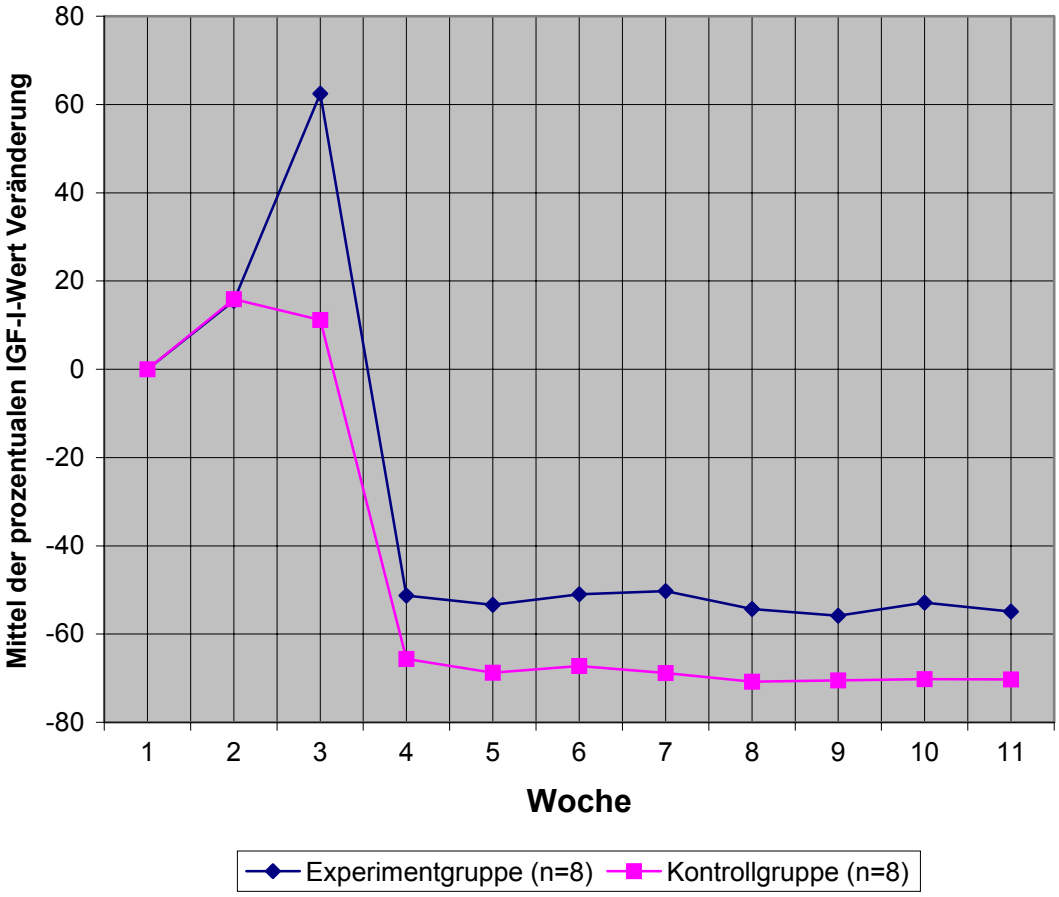

Abbildung 24: Wöchentliche durchschnittliche IGF-I-Blutserumspiegel Veränderung (in %) der **erwachsenden** Ratten.

5.1.4 Leptin

Bei der Untersuchung der **wachsende** Ratten zeigte sich beim Vergleich des Leptin-Blutserumspiegel zum Anfang und zum Ende der Untersuchung eine durchschnittliche Leptin-Blutserumspiegelzunahme von 308,9% der wöchentlich mit anabolen Steroiden gespritzten Tiere und von 75,9% der Kontrolltiere (Abbildung 25). Der Gruppenunterschied war statistisch signifikant ($p < 0,01$).

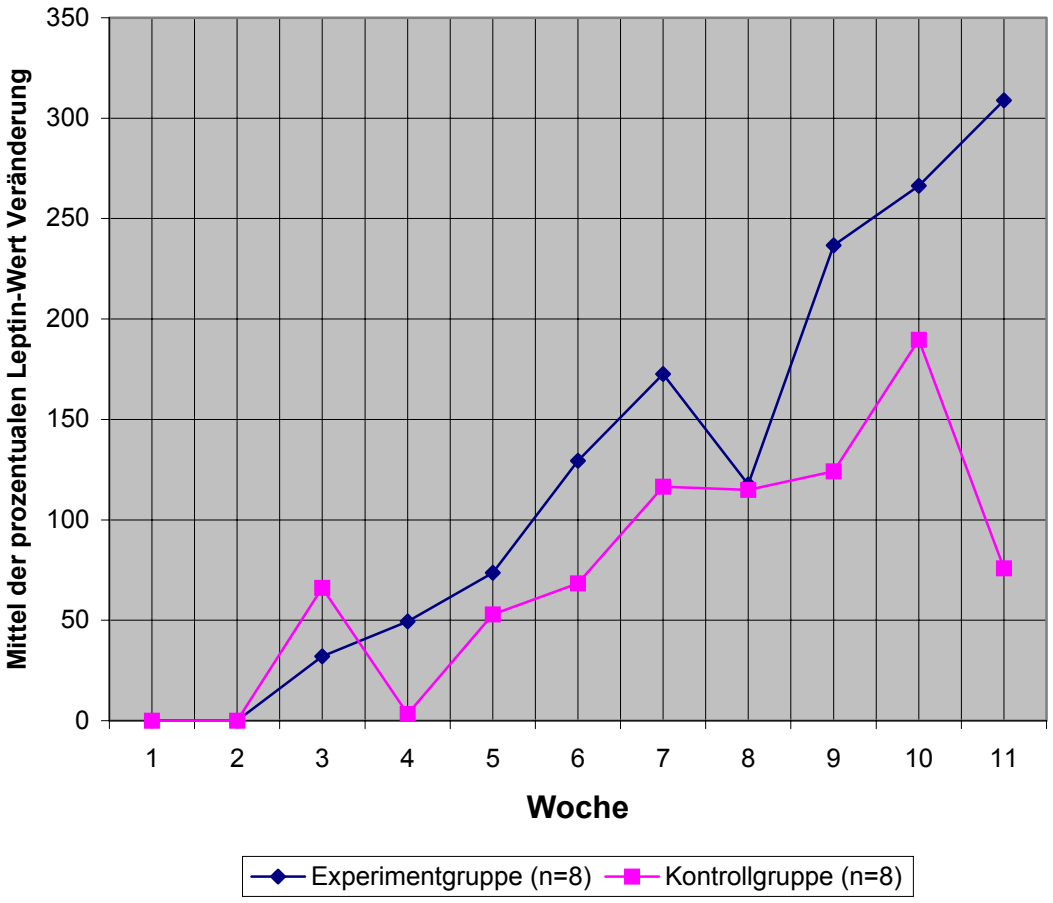

Abbildung 25: Wöchentliche durchschnittliche Leptin-Blutserumspiegel Veränderung (in %) der **wachsenden** Ratten.

Bei der Untersuchung der **erwachsenen** Ratten zeigte sich beim Vergleich des Leptin-Blutserumspiegel zum Anfang und zum Ende der Untersuchung eine durchschnittliche Leptin-Blutserumspiegelzunahme von 23,7% der wöchentlich mit anabolen Steroiden gespritzten Tiere und von 2,9% der Kontrolltiere (Abbildung 26). Kein statistischer Gruppenunterschied (n.s.) lag vor.

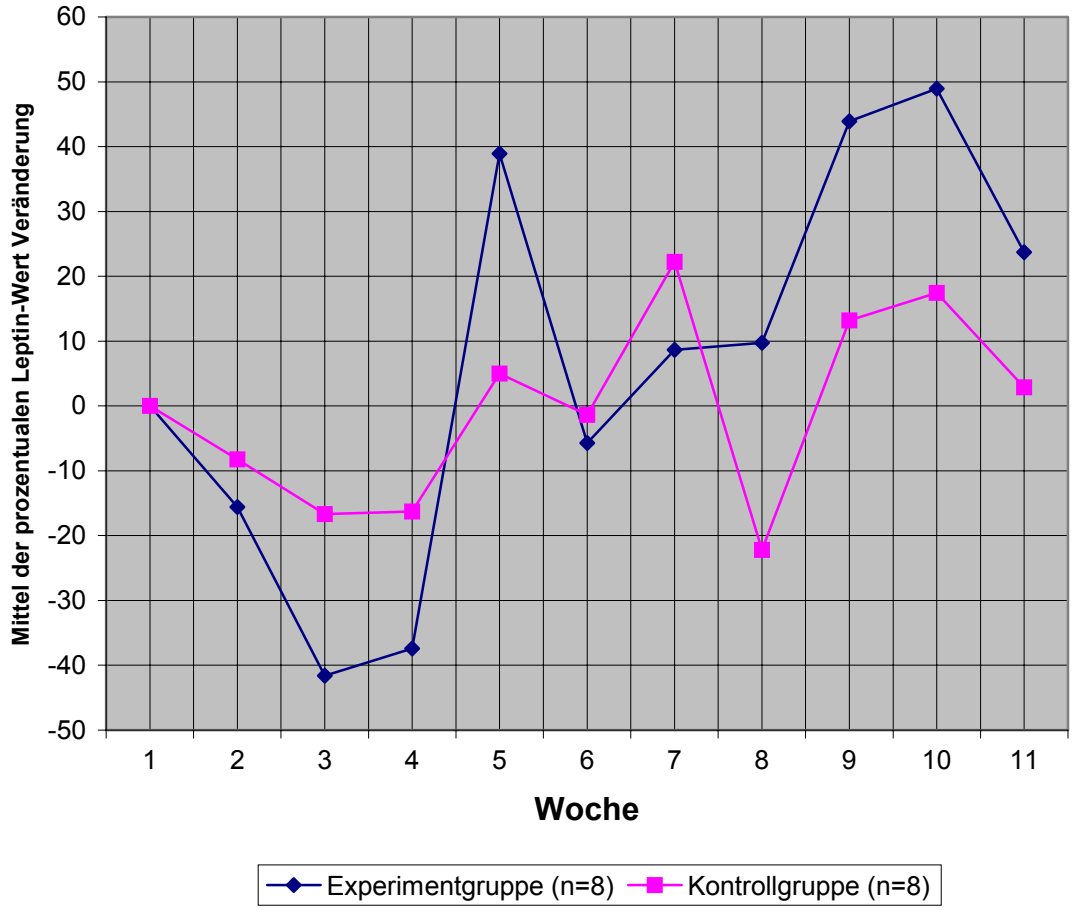

Abbildung 26: Wöchentliche durchschnittliche Leptin-Blutserumspiegel Veränderung (in %) der **erwachsenden** Ratten.

6 DISKUSSION

Wie schon in der Einleitung erwähnt, finden in unserer heutigen Zeit anabole Steroide ein breites Anwendungsspektrum im medizinisch-therapeutischen Bereich. Nebenwirkungen wie Steigerung der Leistung und des Metabolismus möchte sich einige Menschen aber auch anders zum Nutzen machen, z.B. um die sportliche Leistung sowie das äußere Erscheinungsbild zu „verbessern“ [JOHNSON et al 1989]. Bestes Beispiel sind hierfür die Olympischen Spiele 2000 in Sidney, Australien. Trotz Reglementierungen und der Androhung von Strafen für die Anwendung von Anabolika schien der Drang nach Erfolg, Ruhm und Anerkennung größer zu sein. Wie groß der Anteil des Mißbrauches bei den Olympischen Spielen wirklich war, läßt sich weder erahnen noch schätzen. Es ist aber schon erschreckend, wenn neben den aufgedeckten Vorfällen ganze Mannschaften vor den Spielen zurückgetreten sind um mögliche Entdeckungen bei Dopingtests zu vermeiden.

In welchem Ausmaß Anabolika im Freizeitbereich in der breiten Bevölkerung verwendet werden, ist ebenfalls unklar. Der Boom von „Wellness & Fitneß“ ist in unserer Gesellschaft ungebrochen und geht manchmal über ein gesundes und vernünftiges Maß am Ziel vorbei. Allein wenn man heute in die Medien schaut, sieht man, daß der Drang nach körperlicher Perfektion und das Erreichen eines Schönheitsideales immer mehr eine Geissel unserer Gesellschaft wird. Dies stellt sich verschiedenster Art und Weise dar. Sei es durch Eßstörungen oder durch Einnahme von Hilfspräparaten wie Anabolika.

In dieser Untersuchung sollte herausgestellt werden, wie der Organismus auf die Einnahme von anabolen Steroiden reagiert. Auch wenn in vielen früheren Studien untersucht worden ist, wie anabole Steroide u.a. auf Knochen, Knorpel, Größe, Gewicht und vieles mehr Einfluß haben [Referenzen: BARRET et al. 1993; DUNCKER et al. 1984; HEDNER et al 1995; HOSKINS et al 1977; KLEIN 1975; MEYER et al. 1967; NODA et al. 1994; PETROVI´C et al. 1974, 1975; PIRINEN 1995; STUTZMANN et al. 1978; VOGL et al. 1993], sind die Zusammenhänge verschiedener Faktoren und Reaktionen nicht näher analysiert worden. Daher sollte in dieser Untersuchung an Ratten

Zusammenhänge zwischen metrischen Parametern des Unterkiefers und verschiedenen klinischen und labortechnischen Parameter (des Körpergewichte, IGF-I- und Leptin-Blutserumspiegel) untersucht und dargelegt werden.

Die Untersuchungen von BARRET et al. (1993) sowie die von PETROVI´C et al. (1974) geben leider nur Teilaufschlüsse über die Auswirkung von anabolen Steroiden auf das Unterkieferwachstum. Weiterhin beschränken sich diese Untersuchungen nur auf bestimmte Bereiche des Unterkiefers.

Ratten als Versuchsobjekte haben große Vorteile. Ihr Verhalten und ihr Erbgut sind weitestgehend erforscht. Für bestimmte Experimentziele und -anforderungen können Inzuchtstämme mit gewünschten Verhaltensmerkmalen gewählt werden. Auch ihre Robustheit als Versuchstiere sollte erwähnt werden. Sie sind aus der Gruppe der Nager die Tiere, die sich auf engstem Raum halten lassen und trotzdem eine ausreichende Größe für z.B. röntgenkephalometrische Untersuchungen haben. Andere Tiere wie Mäuse sind für solche Versuche zu klein und Kaninchen oder gar Schweine in der Haltung zu aufwendig.

Bei Ratten ist es außerdem möglich, viele Tiere aus einem Wurf zu verwenden. Damit wird möglichst identisches Erbgut sichergestellt. In dieser Untersuchung bestand die Gruppe der wachsenden- sowie die Gruppe der erwachsenen Tiere aus maximal zwei Würfen, die höchstens 2 Tage auseinanderlagen.

Um die Untersuchungsgruppe nicht zu groß zu gestalten hielt man die Experiment- und Kontrollgruppe eingeschlechtlich und es wurden ausschließlich weibliche Ratten ausgewählt. Dies hatte den Vorteil, daß bei weiblichen Ratten die Dosierung von Durabolin bekannt ist (BARRET et al. 1993). Des weiteren reagieren weibliche Ratten deutlich besser auf Testosteronderivate als männliche Tiere.

In der Gruppe der wachsenden Ratten sollte die Auswirkung von Anabolika in der Wachstumsphase (auch mit dem Zeitpunkt des größten Wachstumsschubes „Pubertät“) untersucht werden. Der Beginn der Untersuchung wurde daher in der Gruppe der wachsenden Tiere mit dem 30. Lebenstag festgelegt. Die Auswahl dieses Zeitpunktes wurde durch den frühest möglichen Zeitpunkt der Entwöhnung der wachsenden Ratten vom Muttertier (30. Lebenstag) bestimmt, d.h. daß kein früherer Zeitpunkt möglich war.

In der Gruppe der erwachsenen Tiere sollte die Auswirkung von Anabolika auf ausgewachsene Tiere untersucht werden, wo kein Wachstum (speziell Unterkieferwachstum) mehr vorhanden sein sollte. Der Beginn der Untersuchung der erwachsenen Gruppe wurde unter der zur Hilfenahme der Grafik von Charles River Laboratories, 1998 (Abbildung 27) bestimmt. Die Grafik zeigt das Alter und Gewichtszunahme von weiblichen- und männlichen Wistar-Kyoto-Ratten auf. Mit Ende der Gewichtszunahme wird auch ein abgeschlossenes Größenwachstum angenommen. Dieser Zeitpunkt (105. Lebenstag) plus einem Sicherheitszeitraum von 15 Tagen ergaben somit den 120. Lebenstag als Alter für den Beginn der Untersuchung.

Die Haltung der Tiere erfolgte unter standardisierten Bedingungen, wie in Kapitel 4.1/.2 Seite 9 beschrieben. Die Einzelhaltung der Tiere gewährleistete, daß sich die Tiere nicht gegenseitig verletzen konnten, wie z.B. in Streßsituationen nach Operation und/oder Narkose. Des weiteren wurde sichergestellt, daß alle Tiere nach Bedarf Flüssigkeit und Nahrung zu sich nehmen konnten ohne, daß es durch evtl. Rangordnungen zu ungleicher Nahrungsaufnahme kam. Dies hätte eine Beeinträchtigung der Untersuchung für das Wachstums, der Gewichtsentwicklung und des Verlaufes des IGF-I- und Leptin-Blutserumspiegel zur Folge haben können (BLUM 1993).

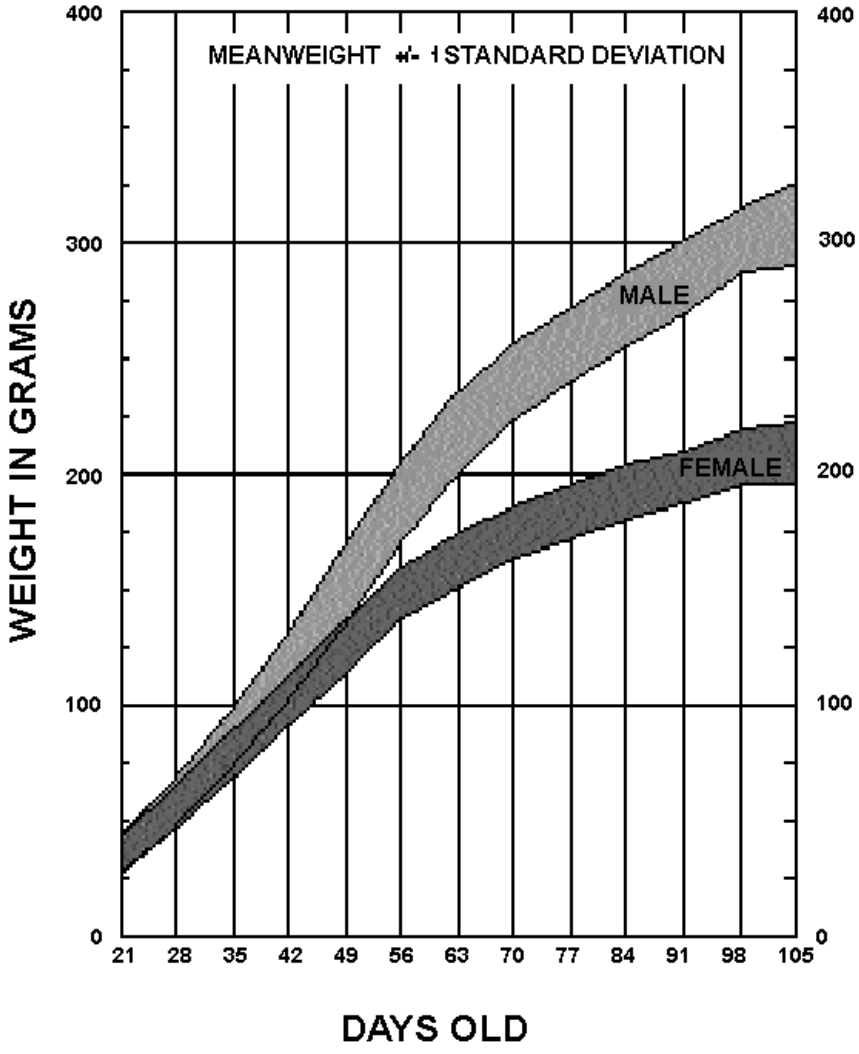

Abbildung 27: Gewichtsentwicklung im Verhältnis zum Alter von Wistar Ratten. Charles River Laboratories, 2000.

Gewichtsentwicklung

Die Analyse der Gewichtsentwicklung war kein primäres Ziel dieser Untersuchung, da die Reaktion auf die Zufuhr von Anabolika hierzu schon weitestgehend und ausreichend bekannt ist. Es sollten aber alle möglichen Faktoren zu Erläuterung der Ergebnisse der röntgenologisch-metrischen Vermessung herangezogen werden.

Zur Messung des Gewichtes waren die Tiere narkotisiert. Ungenauigkeiten durch Bewegung bei der Gewichtsmessung seitens der Tiere konnten somit ausgeschlossen werden. Die Aufnahme der Futtermenge fand hierbei als Kontrollparameter keine Anwendung.

Die Gruppe der wachsenden Experimenttiere zeigte im Mittel eine deutlich stärkere Gewichtszunahme als die in der Gruppe der Kontrolltiere (215,5g = 289% bzw. 128,5g = 170%). Der Verlauf der Gewichtsentwicklung der wachsenden Kontrolltiere (Abbildung 5, Seite 34) deckt sich mit dem Verlauf der Gewichtsentwicklung von anderen gezüchteten und unbehandelten weiblichen Wistar Ratten (Charles River Laboratories, 2000, Abbildung 27, Seite 53; NODA et al. 1994).

Die der Gruppe der erwachsenen Experimenttieren zeigte im Mittel eine Gewichtszunahme von 48g (18,1%). Dies ist in Übereinstimmung mit NODA et al. 1994, welcher eine Gewichtszunahme von 20% beschrieb NODA et al. 1994, bei weibliche erwachsenen Ratten beschrieben, die 5 Wochen lang mit Nandrolone Decanoat (Deca Durabolin©) behandelt wurden. Auch die Untersuchung von MEYER et al. 1967 an erwachsenen weiblichen Ratten, welche mit Wachstumshormonen behandelt wurden, zeigte diesen Verlauf der Gewichtsentwicklung.

Die Kontrollgruppe zeigte dagegen keine Gewichtsveränderung im Vergleich von Anfangs- und Endgewicht. am Anfang der Untersuchung nahmen die Kontrolltiere sogar leicht ab, was sich durch Streß- und Schmerzfaktoren beim Einbringen der Implantate erklären läßt.

Röntgenkephalometrische Vermessungen

Bei Vermessung der Röntgenbilder wurden diese mit einem Scanner eingescannt, digital nachgearbeitet und auf 300% vergrößert. Hierdurch war es möglich die Konturen von Hart- und Weichgewebe besser abzuzeichnen sowie die Strecken genauer zu messen.

Um den Methodenfehler zu vermindern wurde jedes Röntgenbild zweimal ausgewertet und der Mittelwert der hierbei gewonnen Ergebnisse als eigentlicher Meßwert verwendet. Das Stillhalten der Tiere in der Röntgenapparatur wurde durch die Narkose sichergestellt.

Beim Vergleich von Anfangs- und Endröntgenbefund zeigte der Kieferwinkel weder in der Gruppe der wachsenden- noch in der Gruppe der erwachsenen Experiment- und Kontrolltiere eine deutliche Veränderung. Ähnliches zeigte auch die Untersuchung von KOSOWICZ et al. 1977, welche den Effekt von anabolen Steroiden als Therapiemittel bei Minder- und Zwergwüchsigen Kindern untersuchtem.

Die Strecke zwischen den beiden Implantaten (Strecke Imp) sollte als Kontrollstrecke und zur Superponierung der Röntgenbilder dienen. Da der Abstand der Implantate I_1 und I_2 sich veränderte und somit nicht stabil war konnte keine Superponierung der Anfangs- und Endröntgenbilder durchgeführt werden.

Die Lageveränderung der Implantate im Unterkiefer läßt sich durch den dünnen Korpus der Rattenmandibula erklären (Abbildung 28). Anstatt im Korpus-Knochen fest verankert zu sein waren die Implantate vermutlich mit dem Periost verbunden und mit dem appositionellen Wachstum mitgewandert.

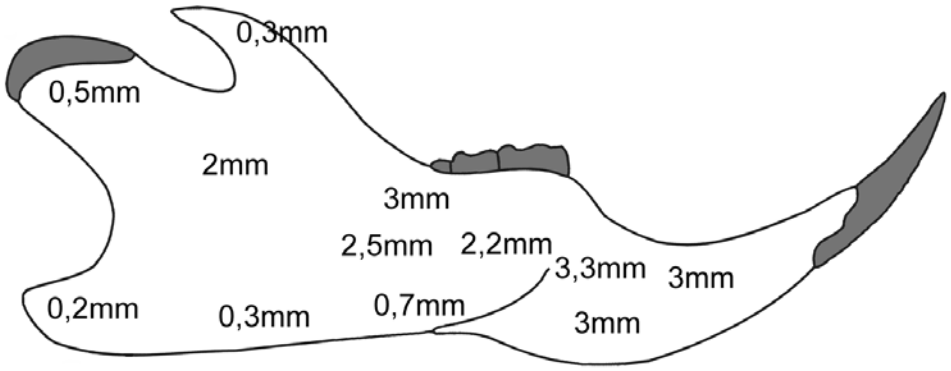

Abbildung 28: Korpusstärke des Rattenmandibula in mm.

Bei der morphologischen Streckenmessungen zeigte der Vergleich von Experiment- und Kontrollgruppen und derer Anfangs- und Endröntgen-befunde, daß eine größere Längen- und Höhenzunahme des Unterkiefers in den beiden Experimentgruppen (wachsende und ausgewachsene Tiere) zu beobachten war.

Bei den wachsenden Tieren gab es für alle Strecken eine größere Verlängerung während des Untersuchungszeitraumes in der Experiment-Gruppe als in der Kontrollgruppe (3,7mm bzw. 0,9mm). Erklären läßt sich dies mit Hilfe des IGF-I-Blutserumspiegel, der das Niveau des Wachstumshormons darstellt. Der Spiegel ließ sich bei den Experimenttieren (283,1%) im Vergleich zu den Kontrolltieren (254,7%), durch anabole Steroide erhöhen (siehe Abbildung 23, Seite 46). Der ohnehin hohe Grundblutserumspiegel des IGF-I bei wachsenden Ratten ließ sich also durch die Verabreichung von anabolen Steroiden noch um ca. 30% steigern.

Auch bei den erwachsenen Tieren gab es für alle Strecken eine größere Verlängerung während des Untersuchungszeitraumes in der Experiment-Gruppe als in der Kontrollgruppe (die Verlängerung der Strecken lag im Mittel bei 3,1mm bzw. 0,8mm).

Auffällig war hierbei, daß anabole Steroide bei den wachsenden Experimenttieren besonders einen Einfluß auf die vertikale- und in der erwachsenen Experimentgruppe auf die horizontale Streckenverlängerung hatten.

Aufschluß hierüber könnte die mit in dieser Arbeit, für eine später geplante Arbeit, vorbereitete Fluorochrome-Sequenzmarkierung geben.

Bei der Untersuchung der erwachsenen Tiere schien es als wäre das Wachstum zu Beginn der Untersuchung (120. Lebenstag) noch nicht ganz abgeschlossen. In der Abbildung 24, Seite 47 sieht man, einen recht hohen IGF-I-Blutserumspiegel, der erst ab der dritten Untersuchungswoche absinkt,
Ein Restwachstum bis zur 3. Versuchswoche (141. Lebenstag) ist somit zu vermuten, welches die Längenveränderungen der Strecken 1-5, in der erwachsenen Kontrollgruppe erklären könnte.

Für die mögliche Ursache einer Wachstumsveränderung von Knochen und Kiefer, als endokrine Antwort auf die Verabreichung von anabolen Steroiden, werden zwei verschiedene Möglichkeiten in der Literatur beschrieben: (1) direkten Wirkung auf den Knochen über die erhöhte Ausschüttung von Wachstumshormonen (primäres Wachstum) oder (2) indirekt über die Muskulatur die auf den Knochen einwirkt (sekundäres Wachstum).

Primäres Wachstum und ein direkter Einfluß auf den Knochenentwicklungs- und -heilungsprozeß von Wachstumshormonen wird in der Arbeit von HEDNER et al. 1996 beschrieben. Ebenso GEUSENS and DEQUEKER 1986 schlußfolgerten eine positive direkte Wirkung von Nandrolone Decanoat

(Durabolin©) auf die Knochenbildung und Heilung. In der Arbeit von KLEIN 1975 wird auch ein positiver Effekt von Durabolin© auf die Entwicklung von Knochen beschrieben. Weiterhin fanden ISGAARD et al. 1986 heraus, daß die direkte lokale Applikation von WH (Wachstumshormon und IGF-I) einen lokal stimulierenden Effekt auf das Knochenwachstum haben. Ebenso zeigte eine Untersuchung von ITO et al. 1993, daß Wachstumshormone Einfluß auf das Körperwachstum und Muskelwachstum aber nicht auf Zahnstellungen haben. ISGAARD et al. 1986 berichten davon, daß lokal gebildetes IGF-I ein lokaler Mediator für den direkt stimulierenden Effekt von WH auf das Muskelwachstum zu sein scheint.

Für die indirekte Wirkungsweise der Steroide spricht die Untersuchung von MEYER et al. 1967 und VOGL et al. 1993. Hier wurde eine Kaskade beschrieben, wobei das Wachstumshormon direkt auf die Vermehrung von Muskulatur und Knorpel wirkt und diese dann sekundär und indirekt ein vermehrtes Knochenwachstum hervorruft.

In der Kieferorthopädie ist besonders auf den endokrinen Effekt (Wachstumsstimulation) von anabolen Steroiden zu achten, da diese immer häufiger als Therapiemittel eingesetzt werden. SARNAT et al. 1988 zeigten, daß bei Kindern mit Wachstumsstörungen anabole Steroide einen deutlichen (stimulierenden) Einfluß auf das Unterkieferwachstum haben. Ebenfalls PIRINEN 1995 beschrieb bei Ratten den Einfluß von Wachstumshormonen und Androgenen auf das Unterkieferwachstum bei Ratten.

Blutserumspiegel

Der Blutserum IGF-I- und Leptinspiegel wurden als endokrine Antwort auf die Verabreichung von anabolen Steroiden gemessen.

Der IGF-I Blutserumspiegel ist als Korrelat zum Wachstumshormonspiegel zu sehen, da IGF-I durch das Wachstumshormon (WH) gesteuert wird (ISGAARD et al. 1989). Der Leptin-Spiegel ist eine endokrine Antwort des Hypotalamus und ist mit in die Steuerung von Nahrungsaufnahme und Energieumsatz einbezogen (JOCKENHÖVEL et al. 1997).

Der Blutserum-IGF-I-Spiegel von Experiment- und Kontrollgruppe verliefen während des Untersuchungszeitraumes parallel. Prozentual war der IGF-I-Blutserumspiegel der wachsenden Experimentgruppe im Schnitt um ca. 15% höher als der Blutserumspiegel der wachsenden Kontrollgruppe (siehe Abbildung 24, Seite 47). Man kann jedoch nicht behaupten, daß der IGF-I-Blutserumspiegel direkt mit der Streckenverlängerung korreliert.

Leptin spielt eine Schlüsselrolle in der Regulation des menschlichen Körperfettmassehaushaltes d.h., daß mit einem höherem Leptin-Spiegel auch ein höherer Körperfettanteil einhergeht (Abbildung 28, BLUM et al. 1997).

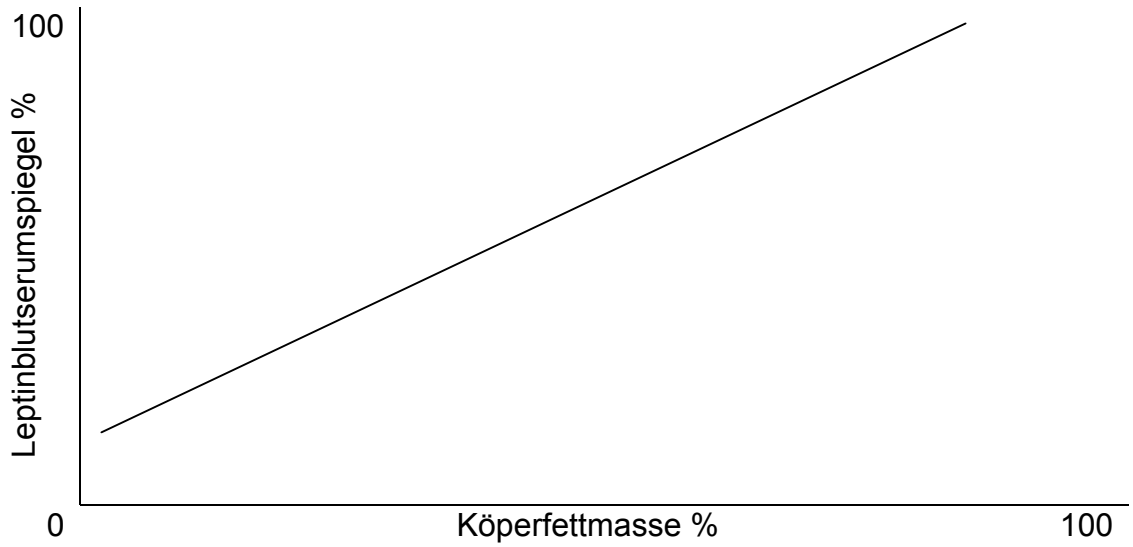

Abbildung 28: Abhängigkeit von Leptinblutserumspiegel und Köperfettmasse

Der Leptinspiegel ist weiterhin deutlich Geschlechts- und Altersabhängig. Frauen haben einen höheren Leptinspiegel als Männer (durchschnittlich liegt der Körperfettanteil bei Frauen um ca. 5% höher als bei Männern). In der pubertären Phase entwickelt sich diese Differenz durch Erhöhung des Spiegels bei Frauen (Mädchen) und Verringerung bei Männern (Jungen).

Ein Problem bei dieser Untersuchung war, daß der Leptinspiegel im Tageszyklus zu schwanken schien (Abbildung 29, SINHA AND CARO 1998) und der Tagesverlauf des Leptinspiegels bei Ratten nicht bekannt ist und

weiterhin, daß es nicht möglich war, die Blutentnahme stets zur gleichen Uhrzeit durchzuführen..

Auch wenn die Abhängigkeit von Leptin und anabolen Steroiden derzeit noch nicht genau geklärt ist, so konnte man eine gewisse Abhängigkeit in dieser und in anderen Studien zeigen (SINHA AND CARO 1998; BLUM et al. 1997). Anabolika zeigten einen kurzzeitig stimulierenden Effekt auf den Leptinspiegel. Dieses läßt sich vor allem in der Gruppe der Erwachsenen Tiere Erkennen. Dort sinkt der Leptinblutserumspiegel in der Experimentgruppe in den ersten vier Wochen, bevor dann eine Adaptation des Leptinspiegels zur Anabolika gabe entsteht. Ob es sich dabei um eine direkt oder indirekte Wirkung von anabolen Steroiden auf den Leptinspiegel handelt ist aber unbekannt.

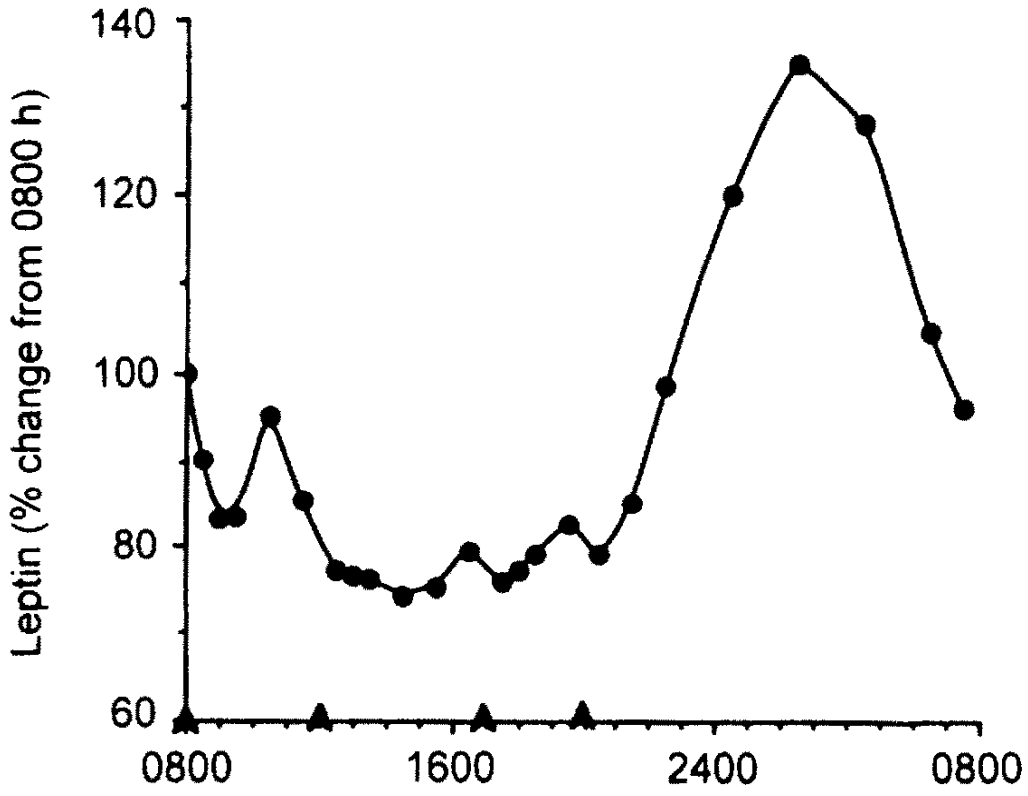

Abbildung 29: Zyklus des Blutserumleptinspiegels während 24 Stunde bei erwachsenen Menschen (von 8 Uhr bis 8 Uhr) (SINHA AND CARO 1998).

7 SCHLUßFOLGERUNG

- Anabole Steroide (Nandrolone) haben eine deutliche Auswirkung auf das Unterkieferwachstum und den Organismus (Körpergewicht, IGF-I- und Leptin-Blutserumspiegel) bei sowohl wachsenden wie auch erwachsenen Ratten. Der Vergleich zum Menschen und die Auswirkung von Anabolika auf dessen Organismus lassen sich somit vermuten.

- Der endokrine Effekt von anabolen Steroiden sollte in der Kieferorthopädie nicht außer Acht gelassen werden und in der Therapieplanung und –durchführung berücksichtigt werden.

8 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war der Nachweis der Auswirkung anaboler Steroide auf das Unterkieferwachstum bei wachsenden und erwachsenen Ratten. Überprüft werden sollte die Steroidwirkung durch röntgenologisch-metrische sowie klinische Parameter und Bestimmung des IGF-I- und Leptin-Blutserumspiegel als Antwort des Körpers auf die Verabreichung von anabolen Steroiden.

Untersucht wurden 16 wachsende und 16 erwachsene weibliche Wistar-Kyoto-Ratten aus einem Inzuchtstamm. Die Tiere wurden aufgeteilt in zwei Untergruppen zu je 8 Experiment- und 8 Kontrolltiere.

Deca-Durabolin® (anabole Steroid) wurde in einer Dosierung von 1mg pro Kilogramm Körpergewicht gespritzt. Die Applikation wurde jeweils in die dorsale Oberschenkelmuskulatur links vorgenommen. Die Kontrolltiere bekamen eine Kontrollinjektion mit steriler Kochsalzlösung.

Für die röntgenologisch-metrische Vermessung der Rattenunterkiefer wurden Anfangs- und Endröntgenbilder der Experiment- und Kontrolltiere ausgewertet. Des weiteren wurden wöchentlich die klinischen Parameter: Körpergewicht, IGF-I- und Leptin-Blutserumspiegel gemessen.

Die Zufuhr von Deca-Durabolin® zeigte in dieser Untersuchung folgende Effekte:

- röntgenologisch-metrische Streckenverlängerungen der Mandibula bei sowohl wachsende (besonders vertikale Strecken) und erwachsene (besonders horizontale Strecken) Experimenttieren.
- deutliche Erhöhung des Körpergewichtes bei wachsenden und erwachsenen Experimenttieren im Vergleich zu den entsprechenden Kontrolltieren.
- geringfügige Beeinflussung der IGF-I-Blutserumspiegel bei wachsenden

Experimenttieren; deutliche Erhöhung des IGF-I- Blutserumspiegel bei erwachsenen Tieren.

- stimulierende Wirkung auf den Leptin-Blutserumspiegel bei sowohl wachsenden und erwachsenen Experimenttieren.

Schlußfolgernd konnte festgestellt werden, daß:

- anabole Steroide einen deutlichen Einfluß bei wachsenden sowie erwachsenen Ratten auf das Unterkieferwachstum sowie auf die klinischen Parameter: Gewicht, IGF-I- und Leptin-Blutserumspiegel haben.

- der endokrine Effekt von anabolen Steroiden in der Kieferorthopädie nicht außer Acht gelassen werden darf und bei der Therapieplanung und -durchführung berücksichtigt werden sollte.

9 SUMMARY (Zusammenfassung in Englisch)

The aim of this study was to assess the effect of anabole steroids on mandibular growth in growing and non-growing rats using the methods of cephalometry radiographic and immunoradiology.

Two groups of growing (n=16) and non-growing (n=16) inbread female Wistar-Kyoto rats were compared. Each group was devided in two subgroups with 8 experimental- and 8 control animals in each subgroup.

Deca-Durabolin® (anabole Steroid) was given in a dosage of 1mg/kg/week. The steroid was injected in the femoralis muscle. The control-group was injected with steril NaCl-fluid.

Lateral head films of the rat mandibula from before and after an experimental period of 70 days were analysed. Furthermore, the body-weight, blood serum IGF-I and Leptin levels were monitored weekly.

The injection of deca-durabolin showed the following effects:

- Marked mandibular morphological growth changes occurred in both growing (especialy vertical growth) and non-growing (especialy sagittal growth) experimental rats.
- Body-weight increase of the experimental-animals was significantly higher than that of the control animals. This was true for both growing and non-growing animals.
- The IGF-I blood serum level was comparable in growing experimental- and control-animals but was increased in non-growing experimental animals compared to their controls.
- The Leptin level was stimulated in both growing and non-growing experimental-animals.

In conclusion the following can be pointed out:

- In both growing and non-growing rats anabolic steroids have a marked effect on mandibular growth as well as on body-weight, IGF-I- and Leptin blood serum levels.

- In orthodontics attention should be paid to the endocrinologic effect of anabolic steroids and considering it in diagnostics and treatment planing.

10 LITERATURNACHWEIS

1. BARRET R.L., D.D.S., M.S.; EDWARD F. HARRIS, PH.D.; ELISABETH A. TOLLEY, PH.D. AND DAVID F. NUTTING, PH.D.: Anabolic Steroid Abuse and Tooth Size-Arch Dimensions in the Rat. J. Tennessee Dental Ass.; 73: 12 -14, 1993

2. BEHRENTS, ROLF G.: Growth in the craniofacial Skeleton. Monograph 18, Craniofacial Growth Series, Center of Human Growth and Development, the University of Michigan, Ann Arbor, Michigan 1985

3. BJÖRK, A.: Facial growth in man, studied with the aid of metallic implants. Acta odont. Scand. 13: 9-34, 1955

4. BJÖRK, A.: The relationship of jaws to the cranium. In Lundström, A. (editor). Introductions to orthodontics, New York, McGraw-Hill Book Company, Inc., 1960

5. BJÖRK, A.: The use of metallic Implants in the study of facial growth in children: method and application. Am. J. Phys. Anthrop., 29: 243-254, 1968

6. BJÖRK, A.: Variations in the growth pattern of the human mandible. A longitudinal radiographic study by the Implant method, J.D. Res. 42: 400-411, 1963

7. BLUM W.F., ENGLARO P., HANITSCH S., JUUL A., HERTL N., MÜLLER J., SKAKKEBAEK N., HEIMAN M., BIRKETT M., ATTANASIO A., KIES W., AND RASCHER W.: Plasma Leptin Levels in Healthy Children and Adolescents: Depence on Body Mass Index, Body Fat Mass, Gender, Pubertal Stage, and Testosteron. J. Clin. Endocrine Society. 82: 2904-2910, 1997

8. BLUM W.F., ENGLARO P., S., HEIMAN M., JUUL A., ATTANASIO A., KIES W., AND RASCHER W.:Clinical Studies of Serum Leptin. J.A. Barth Verlag Leipzig, 1997

9. BLUM W.F.P.: Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein 3: Entwicklung eines Radioimmunoassays und Untersuchungen zur klinischen Bedeutung. Habil. med. Universität Tübingen, 1993

10. BUCKLEY W.E., YESALIS C.E., FRIEDL K.E., ANDERSON W. A., STREIT A.L., AND WRIGHT J.E.: Estimated prevalence of anabolic steroid use among male high school seniors. JAMA 260: 3441 - 3445, 1988

11. DUNCKER M., DÖCKE F., MOLDENHAUER U., ZGLINICKI TH.V., WIEMANN C.: Experimentelle Untersuchungen zum Einfluß der Ovarialhormone auf die Entwicklung der Rattenmandibula. Fortschr. Kieferorthop. 45: 428-434, 1984.

12. GEUSENS P. UND DEQUEKER J.: Long-term effect of nandrolone decanoate, 1α-hydroxyvitamin D3 or intermittent calcium infusion therapy on bone mineral content, bone remodeling and fracture rate in syptomatic osteoporosis: a double-blind controlled study. Bone and Miner 1: 347-357, 1986

13. GOODMAN AND GILMAN: The Pharmacological Basis of Therapeutics, Joel Griffith Hardman, Lee Limbird and Theodore R. Rall (Hrsg.), 9th Ed. McGraw-Hill Inc., New York, 1247-1307, 1398-1543, 1996

14. HEDNER E., LINDE A., NILSSON A.: Systemically and Locally Administered Growth Hormone Stimulates Bone Healing in Combination with Osteopromotive Membranes: An Experimental Study in Rats. J. Bone Miner. Res. 11:1952-1960, 1996

15. HOSKINS W.E., ASLING C.W.: Influence of Growth Hormone and Thyroxine on Endochondral Osteogenesis in the Mandibular Condyle and Proximal Tibial Epiphysis. J. Dent. Res. 56: 509-517, 1977

16. ISGAARD J., NILSSON A., LINDAHL A., JANSSON J.-0., ISAKSSON O.: Effects of local administration of GH and IGF-I on longitudinal bone growth in rats. Am J Physiol 250: 367-372.

17. ISGAARD J., NILSSON A., VIKMAN K., ISAKSSON O.: Growth hormone regulates the level of insulin-like growth factor-I mRNA in rat skeletal muscle. J Endocrinol 120: 107-112, 1989

18. ITO R.K., GARN S.M., HOPWOOD N.J., LOOS P.J., SPALDING P.M.: The influence of growth hormone (rhGH) therapy on tooth formation in idiopathic short statured children. Am J Orthod Dentofacial Orthop 103: 358-364, 1993

19. JOCKENHÖVEL F., BLUM W.F., VOGEL E., ENGLARO P., MÜLLER-WIELAND D., REINWEIN D., RASCHER W. AND KRONE W.: Testosteron Substitution Normalizes Elevated Serum Leptin Levels in Hypogonadal Men. J. Clin. Endocrine Society. 82: 2510-2513, 1997

20. JOHNSON M.D., JAY M.S., SHOPUP B., AND RICKERTZ V.I.: Anabolic steroid use by male adolescents. Pediatrics. 83: 921-924, 1989

21. KLAUWER D.: Insulin-like Growth Factor (IGF)-I, freies IGF-I, IGF-II und die IGF-Bindungsproteine-1, -2, -3 im Nabelvenenblut: Korrelation zum fetalem Wachstum. Diss. med., Justus-Liebig-Universität Gießen, 1997

22. KLEIN-I.E., D.D.S.: The effect of thyrocacitonin and growth hormones on bone metabolism. J. Prosthet. Dent. 33: 365-379, 1975

23. KOSOWIZ J., M.D., UND K. RZYMSKI, M.D. UND POZNAN: Anormalities of tooth development in pituitary dwarfism. J. of Oral. Surg. 44: 853-863, 1977

24. KUSCHINSKY, G., LÜLLMANN, H., MOHR, K.: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1993

25. MCNAMARA, J. A., JR., D.D.S., PH.D. UND F. ALLEN BRYAN, D.D.S., M.S.: Long-term mandibular adaptations to protrusive function. Amer. J. Orthod. Dentofac. Orthop. 92: 98-108, 1987

26. MCNAMARA, J. A., JR., D.D.S., PH.D.: An experimental study of increased vertical dimension in the growing face. Amer. J. Orthod. 71: 382-395, 1977

27. MCNAMARA, J. A., JR., D.D.S., PH.D.: Functional adaption in the temporomandibular joint. Dent. Clin. N. Amer. 19: 457-471, 1975

28. MEYER J., PH.D., SCHNEIDER B.J., D.D.S., M.S., UND DAS A.K., D.D.S., M.S.: Experimental Studies on the Interrelations of Condylar Growth and Alveolar Bone Formation. II. Effects of Growth Hormone. Angle. Orthod. 37: 309-319, 1967

29. MUTSCHLER, E.: Arzneimittelwirkungen. 8. Ausg., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbh Stuttgart: 338-339, 1991

30. NODA K., CHANG H.-P., TAKAHASHI R., KINOSHITA Z., KAWARNOTO T.: Effects of the anabolic steroid nandrolone phenylpropionate on craniofacial growth in rats. J Morphol 33: 220-225, 1994

31. OHLSSON C., ISAKSSON 0., LINDAHL A.: Clonal analysis of rat tibia growth plate chondrocytes in suspension culture - differential effects of growth hormone and insulin-like growth factor I. Growth Regul 4: 1-7, 1994

32. PETROVI´C, A., GASSON N. , OUDET C.: Wirkung der übertriebenen

posturalen Vorschubstellung des Unterkiefers auf das Kondylenwachstum der normalen und der mit Wachstumshormon behandelten Ratte. Fortschr. Kieferorthop. 36: 86-97, 1975

33. PETROVI´C, A., J.STUTZMANN, C.OUDET UND N.GASSON: Kontrollfaktoren des Kondylenwachstums. Fortschr. Kieferorthop., 35:347-364, 1974

34. PIRINEN S.: Edocrine regulation of craniofacial growth. Acta Odont. Scand. 53: 179-185, 1995

35. ROMEIS: Mikroskopische Technik. P. Böck (Hrsg.), 17. Aufl., Urban und Schwarzenberg Verlag München: 530-531, 1989

36. SARNAT H., KAPLAN I., PERTZELAN A., LARON Z.: Comparison of dental findings in patients with isolated growth hormone deficiency treated with human growth hormon (hGH) and in untreated patients with Laron-type dwarfism. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 66: 581-600, 1988

37. SINHA M., AND CARO J.: Clinical Aspects of Leptin. Vitamins and Hormones. 54: 1-29, 1998

38. STUTZMANN J., PETROVIC A. G.: Der Einfluß von Testosteron auf die Wachstumsgeschwindigkeit des Kondylenknorpels der jungen Ratte. Die Rolle des „Vergleichers" des Servosystems, welches das Längenwachstum des Unterkiefers kontrolliert. Fortschr. Kieferorthop. 39: 345-362, 1978

39. VOGL C., ATCHLEY W.R., COWLEY D.E., CRENSHAW P., MURRAY J.D., POMP D.: The Epigenetic Influence of Growth Hormone on Skeletal Development. Growth,Development & Aging 57: 163-182, 1993

40. WHETTEN, LANCE L., D.D.S., M.S., UND JOHNSTON, LYSLE E., JR., D.D.S., PH.D.: The control of condylar growth. Amer. J. Orth. 88: 181-190, 1985

11 ANHANG

Die Messergebnisse der individuellen Tiere sind die in folgenden Tabellen dargestellt:

- Tabelle A1 und A2 - Gewichtsentwicklung.
- Tabelle A3 - Veränderung des Kieferwinkels.
- Tabelle A4 - Veränderung der Strecke Imp.
- Tabelle A5 - Veränderung der Strecke 1.
- Tabelle A6 - Veränderung der Strecke 2.
- Tabelle A7 - Veränderung der Strecke 3.
- Tabelle A8 - Veränderung der Strecke 4.
- Tabelle A9 - Veränderung der Strecke 5.
- Tabelle A10 und A11 - Veränderung des Blutserum IGF-I-Spiegel.
- Tabelle A12 und A13 - Veränderung des Blutserum Leptin-Spiegel.

Tabelle A1: **Gewichtsentwicklung** (in g) der **wachsenden** Experiment- (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15) und Kontrolltiere (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16). Das Gewicht wurde jeweils am ersten Tag der Wochen 1-11 gemessen.

Woche	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	82	80	84	81	62	86	68	89	59	97	78	88	76	72	64	77
2	123	117	126	117	93	119	109	119	89	126	115	116	114	98	96	116
3	161	143	163	149	121	151	126	142	124	154	159	150	151	123	126	131
4	195	169	192	172	148	175	156	173	160	176	202	171	191	143	156	153
5	225	179	212	181	174	191	189	192	187	194	222	198	208	156	179	167
6	243	188	232	190	198	199	207	204	202	209	244	201	226	164	195	174
7	262	202	258	208	220	214	231	207	220	247	260	211	237	177	213	176
8	274	208	258	214	231	220	240	219	231	227	269	217	251	180	222	190
9	289	218	272	218	244	229	248	233	256	247	285	229	261	190	235	203
10	300	225	292	227	265	239	265	237	253	248	294	229	269	194	245	207
11	305	220	299	225	263	232	267	233	262	247	291	234	279	211	279	227

Tabelle A 2: **Gewichtsentwicklung** (in g) der **erwachsenen** Experiment- (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15) und Kontrolltiere (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16). Das Gewicht wurde jeweils am ersten Tag der Wochen 1-11 gemessen.

Woche	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	255	269	268	251	285	271	251	282	279	256	259	266	265	267	254	264
2	254	261	271	254	283	263	265	269	271	245	264	263	266	251	259	259
3	270	270	285	266	294	270	269	269	282	249	265	260	270	251	258	260
4	271	260	283	252	296	262	263	266	298	258	275	269	278	263	281	267
5	279	265	293	257	304	262	281	264	295	254	28	253	281	257	289	261
6	285	263	295	272	315	260	276	265	302	255	278	261	290	258	294	271
7	293	264	307	264	320	272	281	264	309	252	289	269	292	255	300	268
8	298	263	309	257	324	270	288	272	322	256	296	267	299	266	305	267
9	303	259	312	265	326	266	290	270	331	262	302	272	300	266	315	271
10	311	263	318	257	327	262	301	270	337	260	304	267	304	272	315	264
11	310	256	311	258	327	263	302	270	334	266	290	266	310	271	314	268

Tabelle A3: Veränderung des **Kieferwinkel** (in °) bei 8 **wachsenden** (1-8) und 8 **erwachsenen** (9-16) Rattenpaaren der Experiment- (E) und Kontrollgruppe (K). Paarung der Tiere nach Gewicht zu Beginn der Untersuchung. Angegeben sind die Streckenlängen zu Beginn und Ende der Untersuchung.

	Beginn		Ende		Beginn - Ende		
Rattenpaare wachsend							
	E	K	E	K	Δ E	Δ K	Δ E - K
1 (Tier 11 und 2)	84	84	83	85	-1	1	-2
2 (Tier 1 und 4)	87	80	87	80	0	0	0
3 (Tier 3 und 6)	89	90	89	88	0	-2	2
4 (Tier 13 und 12)	88	81	88	85	0	4	-4
5 (Tier 7 und 8)	89	81	89	88	0	7	-7
6 (Tier 5 und 10)	89	90	91	90	2	0	2
7 (Tier 9 und 14)	85	88	89	86	4	-2	6
8 (Tier 15 und 16)	86	90	87	90	1	0	1
MW	87,13	85,50	87,88	86,50	0,75	1,00	-0,25
SD	1,96	4,47	2,36	3,30	1,58	3,07	2,54
Rattenpaare erwachsen							
9 (Tier 7 und 4)	88	82	89	82	1	0	1
10 (Tier 1 und 10)	96	84	90	877	-6	3	-9
11 (Tier 15 und 14)	87	86	84	86	-3	0	-3
12 (Tier 11 und 16)	88	84	89	84	1	0	1
13 (Tier 13 und 12)	83	86	88	87	5	1	4
14 (Tier 3 und 2)	85	83	83	84	-2	1	-3
15 (Tier 9 und 6)	83	88	83	88	0	0	0
16 (Tier 5 und 8)	84	82	88	85	4	3	1
MW	86,75	84,38	86,75	85,38	0,00	1,00	-1,00
SD	4,27	2,13	2,92	2,00	3,63	1,31	6,28

Tabelle A4: Veränderung der **Meßstrecke lmp** (mm) bei 8 **wachsenden** (1-8) und 8 **erwachsenen** (9-16) Rattenpaaren der Experiment- (E) und Kontrollgruppe (K). Paarung der Tiere nach Gewicht zu Beginn der Untersuchung. Angegeben sind die Streckenlängen zu Beginn und Ende der Untersuchung.

	Beginn		Ende		Beginn - Ende		
Rattenpaare wachsend							
	E	K	E	K	∆ E	∆ K	∆ E - K
1 (Tier 11 und 2)	17,5	19,0	24,0	27,5	6,5	8,5	-2,0
2 (Tier 1 und 4)	15,5	16,0	23,0	26,0	7,5	10,0	-2,5
3 (Tier 3 und 6)	17,5	18,5	26,0	23,0	8,5	4,5	4,0
4 (Tier 13 und 12)	16,5	16,5	24,5	23,0	8,0	6,5	1,5
5 (Tier 7 und 8)	13,5	15,5	24,0	23,5	10,5	8,0	2,5
6 (Tier 5 und 10)	15,0	16,5	23,5	25,0	8,5	8,5	0,0
7 (Tier 9 und 14)	17,5	17,0	25,0	24,0	7,5	7,0	0,5
8 (Tier 15 und 16)	15,5	16,0	23,5	22,0	8,0	6,0	2,0
MW	16,06	16,88	24,19	24,25	8,13	7,38	0,75
SD	1,45	1,25	0,96	1,81	1,16	1,73	2,22
Rattenpaare erwachsen							
9 (Tier 7 und 4)	24,0	24,5	26,0	25,0	2,0	0,5	1,5
10 (Tier 1 und 10)	25,5	25,0	27,0	26,0	1,5	1,0	0,5
11 (Tier 15 und 14)	25,5	26,0	27,0	26,5	1,5	0,5	1,0
12 (Tier 11 und 16)	25,0	26,5	27,5	27,0	2,5	0,5	2,0
13 (Tier 13 und 12)	26,0	27,0	27,0	27,5	1,0	0,5	0,5
14 (Tier 3 und 2)	23,5	24,5	25,5	24,0	2,0	-0,5	2,5
15 (Tier 9 und 6)	26,5	26,0	27,0	27,0	0,5	1,0	-0,5
16 (Tier 5 und 8)	26,5	26,0	28,0	27,0	1,5	1,0	0,5
MW	25,31	25,69	26,86	26,25	1,56	0,56	1,0
SD	1,10	0,92	0,79	1,20	0,62	0,50	0,96

Tabelle A5: Veränderung der **Meßstrecke 1** (mm) bei 8 **wachsenden** (1-8) und 8 **erwachsenen** (9-16) Rattenpaaren der Experiment- (E) und Kontrollgruppe (K). Paarung der Tiere nach Gewicht zu Beginn der Untersuchung. Angegeben sind die Streckenlängen zu Beginn und Ende der Untersuchung.

	Beginn		Ende		Beginn - Ende		
Rattenpaare wachsend							
	E	K	E	K	Δ E	Δ K	Δ E - K
1 (Tier 11 und 2)	60,5	57,0	75,0	70,5	14,5	13,5	1,0
2 (Tier 1 und 4)	54,5	57,0	70,5	72,5	16,0	15,5	0,5
3 (Tier 3 und 6)	57,5	56,0	72,5	70,5	15,0	14,5	0,5
4 (Tier 13 und 12)	56,0	56,5	75,0	70,5	19,0	14,0	5,0
5 (Tier 7 und 8)	58,0	54,5	70,5	68,5	12,5	14,0	-1,5
6 (Tier 5 und 10)	55,0	56,5	71,5	72,0	16,5	15,5	1,0
7 (Tier 9 und 14)	57,5	56,0	72,0	70,5	14,5	14,5	0,0
8 (Tier 15 und 16)	58,0	54,0	73,5	68,5	15,5	14,5	1,0
MW	57,13	55,94	72,56	70,44	15,44	14,50	0,94
SD	1,92	1,12	1,80	1,43	1,88	0,71	3,01
Rattenpaare erwachsen							
9 (Tier 7 und 4)	75,0	74,5	81,0	76,5	6,0	2,0	4,0
10 (Tier 1 und 10)	75,0	74,0	80,0	75,0	5,0	1,0	4,0
11 (Tier 15 und 14)	72,0	74,0	77,0	76,0	5,0	2,0	3,0
12 (Tier 11 und 16)	75,0	74,0	77,0	76,0	2,0	2,0	0,0
13 (Tier 13 und 12)	74,0	74,0	78,0	75,0	4,0	1,0	3,0
14 (Tier 3 und 2)	76,0	76,0	79,0	76,5	3,0	0,5	2,5
15 (Tier 9 und 6)	75,0	76,5	79,0	78,0	4,0	1,5	2,5
16 (Tier 5 und 8)	77,0	75,0	79,0	75,0	2,0	0,0	2,0
MW	74,88	74,75	78,75	76,0	3,88	1,25	2,63
SD	1,46	1,00	1,39	1,04	1,46	0,76	1,98

Tabelle A6: Veränderung der **Meßstrecke 2** (mm) bei 8 **wachsenden** (1-8) und 8 **erwachsenen** (9-16) Rattenpaaren der Experiment- (E) und Kontrollgruppe (K). Paarung der Tiere nach Gewicht zu Beginn der Untersuchung. Angegeben sind die Streckenlängen zu Beginn und Ende der Untersuchung.

	Beginn		Ende		Beginn - Ende		
Rattenpaare wachsend							
	E	K	E	K	Δ E	Δ K	Δ E - K
1 (Tier 11 und 2)	62,0	58,0	77,0	72,0	15,0	14,0	1,0
2 (Tier 1 und 4)	56,0	57,0	72,0	69,0	16,0	12,0	4,0
3 (Tier 3 und 6)	58,0	57,0	75,0	71,0	17,0	14,0	3,0
4 (Tier 13 und 12)	57,0	57,0	76,0	71,0	19,0	14,0	5,0
5 (Tier 7 und 8)	60,5	56,0	72,0	71,0	11,5	15,0	3,5
6 (Tier 5 und 10)	55,0	58,0	73,0	73,0	18,0	15,0	3,0
7 (Tier 9 und 14)	58,0	58,0	73,0	72,0	15,0	14,0	1,0
8 (Tier 15 und 16)	57,0	57,0	71,0	71,0	14,0	14,0	0,0
MW	57,94	57,25	73,63	71,25	15,69	14,0	1,69
SD	2,31	0,71	2,13	1,16	2,37	0,93	3,17
Rattenpaare erwachsen							
9 (Tier 7 und 4)	78,0	77,0	82,0	77,0	4,0	0,0	4,0
10 (Tier 1 und 10)	78,0	75,0	82,0	76,0	4,0	1,0	3,0
11 (Tier 15 und 14)	75,0	75,0	78,0	75,5	3,0	0,5	2,5
12 (Tier 11 und 16)	75,0	75,5	78,0	77,0	3,0	1,5	1,5
13 (Tier 13 und 12)	76,0	76,0	79,0	76,0	3,0	0,0	3,0
14 (Tier 3 und 2)	75,0	77,0	79,0	77,0	4,0	0,0	4,0
15 (Tier 9 und 6)	76,0	77,5	80,0	78,0	4,0	0,5	3,5
16 (Tier 5 und 8)	77,0	76,0	80,0	76,0	3,0	0,0	3,0
MW	76,25	76,13	79,75	76,56	3,5	0,44	3,06
SD	1,28	0,95	1,58	0,82	0,53	0,56	0,79

Tabelle A7: Veränderung der **Meßstrecke 3** (mm) bei 8 **wachsenden** (1-8) und 8 **erwachsenen** (9-16) Rattenpaaren der Experiment- (E) und Kontrollgruppe (K). Paarung der Tiere nach Gewicht zu Beginn der Untersuchung. Angegeben sind die Streckenlängen zu Beginn und Ende der Untersuchung.

	Beginn		Ende		Beginn - Ende		
Rattenpaare wachsend							
	E	K	E	K	Δ E	Δ K	Δ E - K
1 (Tier 11 und 2)	51,5	49,0	65,5	62,0	14,0	13,0	1,0
2 (Tier 1 und 4)	45,0	49,0	63,0	61,0	18,0	12,0	6,0
3 (Tier 3 und 6)	49,5	48,5	67,0	60,5	17,5	12,0	5,5
4 (Tier 13 und 12)	47,0	49,0	61,0	61,5	14,0	12,5	1,5
5 (Tier 7 und 8)	50,0	48,0	64,0	61,0	14,0	13,0	1,0
6 (Tier 5 und 10)	46,0	46,0	63,0	60,5	17,0	14,5	2,5
7 (Tier 9 und 14)	46,0	47,0	63,0	59,5	17,0	12,5	4,5
8 (Tier 15 und 16)	47,0	46,5	62,0	60,0	15,0	13,5	1,5
MW	47,75	47,88	63,56	60,75	15,81	12,88	2,94
SD	2,30	1,22	1,92	0,80	1,73	0,83	2,97
Rattenpaare erwachsen							
9 (Tier 7 und 4)	63,0	64,5	70,0	64,5	7,0	0,0	7,0
10 (Tier 1 und 10)	64,0	63,0	70,0	64,0	6,0	1,0	5,0
11 (Tier 15 und 14)	64,0	65,0	66,0	65,5	2,0	0,5	1,5
12 (Tier 11 und 16)	62,0	64,0	65,0	65,5	3,0	1,5	1,5
13 (Tier 13 und 12)	63,0	65,0	70,0	66,0	7,0	1,0	6,0
14 (Tier 3 und 2)	64,0	66,5	66,0	67,0	2,0	1,5	0,5
15 (Tier 9 und 6)	66,0	66,0	69,0	67,0	3,0	1,0	2,0
16 (Tier 5 und 8)	64,0	67,0	67,0	67,0	3,0	0,0	3,0
MW	63,75	65,0	67,88	65,81	4,13	0,81	3,31
SD	1,16	1,22	2,10	1,16	2,17	0,59	3,96

Tabelle A8: Veränderung der **Meßstrecke 4** (mm) bei 8 **wachsenden** (1-8) und 8 **erwachsenen** (9-16) Rattenpaaren der Experiment- (E) und Kontrollgruppe (K). Paarung der Tiere nach Gewicht zu Beginn der Untersuchung. Angegeben sind die Streckenlängen zu Beginn und Ende der Untersuchung.

	Beginn		Ende		Beginn - Ende		
Rattenpaare wachsend							
	E	K	E	K	Δ E	Δ K	Δ E - K
1 (Tier 11 und 2)	28,0	27,0	37,0	33,0	10,0	6,0	4,0
2 (Tier 1 und 4)	23,0	25,0	38,0	33,0	15,0	8,0	7,0
3 (Tier 3 und 6)	27,0	26,0	38,0	34,0	11,0	8,0	3,0
4 (Tier 13 und 12)	25,5	26,0	35,0	34,0	9,5	8,0	1,5
5 (Tier 7 und 8)	22,5	24,0	35,5	34,0	13,0	10,0	3,0
6 (Tier 5 und 10)	23,0	25,0	34,0	35,0	11,0	10,0	1,0
7 (Tier 9 und 14)	25,5	25,0	35,5	33,0	10,0	8,0	2,0
8 (Tier 15 und 16)	24,0	24,0	34,0	33,0	10,0	9,0	1,0
MW	24,81	25,25	35,88	33,63	11,19	8,38	2,81
SD	2,02	1,04	1,62	0,74	1,89	1,30	2,59
Rattenpaare erwachsen							
9 (Tier 7 und 4)	36,0	37,0	40,0	37,0	4,0	0,0	4,0
10 (Tier 1 und 10)	37,0	36,5	38,0	37,0	1,0	0,5	0,5
11 (Tier 15 und 14)	36,0	36,0	38,5	37,0	2,5	1,0	1,5
12 (Tier 11 und 16)	36,0	37,0	36,0	37,0	0,0	0,0	0,0
13 (Tier 13 und 12)	37,0	37,5	39,0	38,5	2,0	1,0	1,0
14 (Tier 3 und 2)	36,5	37,0	36,5	37,5	0,0	0,5	-0,5
15 (Tier 9 und 6)	38,0	38,0	38,5	38,0	0,5	0,0	0,5
16 (Tier 5 und 8)	39,0	36,0	39,0	37,0	0,0	1,0	-1,0
MW	36,94	36,88	38,19	37,36	1,25	0,5	0,75
SD	1,08	0,69	1,33	0,58	1,46	0,46	2,54

Tabelle A9: Veränderung der **Meßstrecke 5** (mm) bei 8 **wachsenden** (1-8) und 8 **erwachsenen** (9-16) Rattenpaaren der Experiment- (E) und Kontrollgruppe (K). Paarung der Tiere nach Gewicht zu Beginn der Untersuchung. Angegeben sind die Streckenlängen zu Beginn und Ende der Untersuchung.

	Beginn		Ende		Beginn - Ende		
Rattenpaare wachsend							
	E	K	E	K	Δ E	Δ K	Δ E - K
1 (Tier 11 und 2)	24,5	24,0	36,5	29,5	12,0	5,5	6,5
2 (Tier 1 und 4)	25,0	25,5	26,5	27,0	1,0	2,0	-1,0
3 (Tier 3 und 6)	25,5	27,0	34,5	26,0	9,0	-1,0	10,0
4 (Tier 13 und 12)	27,5	26,0	28,0	29,0	0,5	3,0	-2,5
5 (Tier 7 und 8)	28,0	25,0	32,0	25,5	4,0	0,5	3,5
6 (Tier 5 und 10)	26,0	27,5	36,0	27,0	10,0	-,0,5	10,5
7 (Tier 9 und 14)	26,5	25,0	32,0	27,5	0,0	2,5	-2,5
8 (Tier 15 und 16)	26,0	25,0	35,0	28,0	9,0	3,0	6,0
MW	26,13	25,56	32,5	27,44	5,69	1,88	3,81
SD	1,19	1,18	3,81	1,37	4,85	2,13	8,03
Rattenpaare erwachsen							
9 (Tier 7 und 4)	38,0	39,0	38,0	38,0	0,0	-1,0	1,0
10 (Tier 1 und 10)	36,5	39,0	36,5	38,5	0,0	-0,5	0,5
11 (Tier 15 und 14)	33,0	35,0	36,5	33,0	3,5	-2,0	5,5
12 (Tier 11 und 16)	43,0	31,5	44,0	30,5	1,0	-1,0	2,0
13 (Tier 13 und 12)	34,5	36,0	33,0	35,5	-1,5	-0,5	-1,0
14 (Tier 3 und 2)	33,0	46,0	34,5	43,5	1,5	-2,5	4,0
15 (Tier 9 und 6)	35,5	37,5	34,5	39,5	-1,0	2,0	-3,0
16 (Tier 5 und 8)	33,5	34,0	34,5	34,5	1,0	0,5	0,5
MW	35,88	37,25	36,44	36,63	0,56	0,63	1,19
SD	3,38	4,36	3,44	4,09	1,57	1,41	2,85

Tabelle A10: Entwicklung des **IGF-I-Blutserumspiegel** (in pg/Meßröhrchen) der **wachsenden** Experiment- (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15) und Kontrolltiere (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16). Das Gewicht wurde jeweils am ersten Tag der Wochen 1-11 gemessen.

Woche	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	1126	859	1031	916	749	872	827	1068	1070	514	1219	970	1088	1088	923	847
2	1126	859	1031	916	749	872	827	1068	1070	514	1219	970	1088	1088	828	759
3	1419	1210	1349	1062	1193	1130	1362	1048	1009	1302	1449	952	1350	1350	1282	1179
4	1446	1279	1421	1231	1178	1449	1466	1102	578	1306	1433	520	1472	1472	1323	1214
5	1514	1215	1539	1060	1239	1143	1256	987	1198	1212	1415	985	1404	1404	1258	1154
6	1398	1293	1382	994	1632	1082	1397	1029	1243	1210	1523	1174	1609	1609	1585	1179
7	1454	1217	1338	1023	1379	1174	1226	1136	1298	1333	1380	1026	1536	1536	1322	1213
8	1408	1176	1279	1210	1688	1354	1357	3158	5180	4029	4449	4761	4864	4864	3067	2814
9	4275	3368	4349	3282	4966	3238	1313	2922	1291	1000	1130	2726	4642	4642	2877	2640
10	1318	3860	5157	1095	4954	3095	1691	3520	3504	3623	4974	2864	4605	4605	3465	3179
11	1249	3700	1211	1041	4636	4140	5349	3083	3450	3782	5571	833	4457	4457	3274	3004

Tabelle A11: Entwicklung des **IGF-I-Blutserumspiegel** (in pg/Meßröhrchen) der **erwachsenen** Experiment- (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15) und Kontrolltiere (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16). Das Gewicht wurde jeweils am ersten Tag der Wochen 1-11 gemessen.

Woche	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8	Tier 9	Tier 10	Tier 11	Tier 12	Tier 13	Tier 14	Tier 15	Tier 16
1	2704	3407	3682	3357	3538	3436	3319	3591	988	3815	3420	3519	3344	3055	3673	1151
2	3494	3300	3990	865	1282	1047	4633	1062	1128	3910	4400	4303	5239	4071	4082	4448
3	1343	3730	1364	4007	5534	4492	4521	3576	4780	3734	5092	3933	4696	4052	5405	1015
4	1046	916	1345	870	1429	1094	1253	1017	1238	796	1306	850	1363	853	1170	1022
5	1194	822	1222	866	1233	840	1124	858	1298	862	1046	752	1067	634	1202	1002
6	1071	753	1216	689	1326	809	1223	781	1326	931	1279	970	1238	931	1345	1056
7	1241	868	1193	708	1348	883	1064	971	1419	890	1228	769	1229	743	1211	925
8	1157	753	1251	789	1158	768	1040	816	1208	808	1184	771	1078	723	1306	873
9	1091	703	712	705	1449	740	1103	922	1208	753	1120	903	984	873	1283	840
10	1203	701	1170	732	1194	690	1052	894	1297	1003	1148	840	1188	711	1279	894
11	1043	587	1133	621	1155	589	1237	778	1271	782	1021	819	988	727	1221	1098

Tabelle A12: Entwicklung des **Leptin-Blutserumspiegel** (in pg/Meßröhrchen) der **wachsenden** Experiment- (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15) und Kontrolltiere (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16). Das Gewicht wu rde jeweils am ersten Tag der Wochen 1-11 gemessen.

Woche	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8	Tier 9	Tier 10	Tier 11	Tier 12	Tier 13	Tier 14	Tier 15	Tier 16
1	1879	1364	1293	774	785	1192	799	3113	1129	905	1620	1387	1411	1323	1419	983
2	1879	1364	1293	774	785	1192	799	3113	1129	905	1620	1387	1411	1323	1419	983
3	2127	1913	1358	1517	963	2883	1703	1638	1333	1789	1486	2332	2260	1799	1837	1337
4	1486	811	2411	915	1583	977	1630	934	721	2572	1516	640	3071	1367	2120	1015
5	1864	1609	2706	1563	1756	2815	1915	1599	2130	1631	2079	1801	1786	2023	2463	1503
6	3531	1219	2591	1243	2363	1908	2545	3776	1987	2977	3852	2086	2605	2228	3256	1655
7	5102	2255	4770	3661	3382	3500	3360	2054	1473	1312	1948	2161	2342	2863	3868	2127
8	2591	2348	5282	1800	2157	3004	1771	----	1428	2701	3432	1655	2005	2843	3087	2112
9	4315	2028	5391	1310	3370	2535	2078	4599	3583	3928	5340	3229	5280	2966	4779	2203
10	5801	2704	6083	3218	4223	4301	2712	3344	2689	3906	6288	3108	3970	3832	5198	2647
11	5106	1478	4330	1499	4354	2786	4678	1971	4716	3178	4364	1458	6049	2327	5802	1728

Tabelle A13: Entwicklung des **Leptin-Blutserumspiegel** (in pg/Meßröhrchen) der **erwachsenen** Experiment- (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15) und Kontrolltiere (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16). Das Gewicht wurde jeweils am ersten Tag der Wochen 1-11 gemessen.

Woche	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8	Tier 9	Tier 10	Tier 11	Tier 12	Tier 13	Tier 14	Tier 15	Tier 16
1	2315	2368	1327	1153	2110	2299	2065	2759	5066	3942	3666	1819	4688	3415	3152	3141
2	1879	1038	1799	2430	2291	2679	2435	2883	1075	2075	1974	1587	2590	1350	3113	2483
3	1036	921	1173	1435	1118	1353	936	1238	2219	3900	2336	2832	2979	3301	2036	1518
4	1559	1201	1131	1148	2065	1507	902	1776	2167	1884	2268	4038	1882	2281	1943	1666
5	2368	2435	2600	2387	3723	2094	3250	3622	3767	1851	8505	1875	2800	2508	3565	2648
6	2512	1018	2560	2347	2829	2835	1962	2881	3209	1753	2386	2708	1677	1941	1881	2026
7	1668	1589	2658	1398	2157	1939	1321	2112	4372	2518	4381	7057	5509	3144	3389	2660
8	3520	1143	3215	1713	1586	2154	1696	2250	3271	1533	1933	1381	4553	2118	3530	2313
9	3439	1377	3663	1920	2629	2429	2087	2546	7302	2580	4100	3197	4734	4707	4538	3267
10	3995	1025	3668	2019	3122	2856	2890	3100	5193	3341	5455	4593	4949	2564	3052	2271
11	4165	1117	2255	1505	2114	1875	2281	2463	5251	3166	3286	3025	4640	3909	4318	3564

DANKSAGUNG

Dank möchte ich all denen sagen, die mich bei und während meiner Arbeit unterstützt haben.

Dies gilt im Besonderen für meinen Doktorvater Professor Dr. Hans Pancherz - ein Doktorvater im wirklich ursprünglichen Sinne.

Ein herzliches Dankeschön ebenfalls an Dr. J.C. Blecher, der mir in jeder Lage der Doktorarbeit unterstützte und zur Seite stand.

Herrn Professor Dr. W.F. Blum, der mir mit seinem Team, im IGF-Labor in der Kinderklinik der Universität Giessen, mich bei der Auswertung der Blutserumproben unterstützte.

Und wie weit kommt man in der Forschung ohne die nötige Materialien? daher vielen Dank an:

- DFG
- Fa. Leibinger
- Fa. Kodak
- Fa. Merck
- Fa. Eppendorf
- Fa. Friatec
- Fa. Braun

Weiter meinen Eltern und meiner Freundin für ihre Unterstützung und Verständnis.

LEBENSLAUF

Name:	Alexander Gebhardt
Geburtsdatum:	31.10.1972
Geburtsort:	Kassel
Eltern:	Dieter Gebhardt Franca Gebhardt (geb. Busellato)
1979 – 1983	Grundschule Kassel–Waldau
1983 – 1992	Gymnasium Goetheschule Kassel
Juni 1992	Abitur
Oktober 1993	Praktikum im Zahntechnischen Labor BADURA (bis Dezember 1993)
Sommersemester 1994	Beginn des Studiums der Zahnheilkunde an der Justus–Liebig-Universität Giessen
Wintersemester 1994/95	Vorphysikum
Sommersemester 1996	Physikum
Wintersemester 1998/99	Beginn des Staatsexamens
17. Juli 1999	Erteilung der Approbation als Zahnarzt
26. Juli 1999	Anstellung als Weiterbildungsassistent für Kieferothopädie in der Praxis Dres.Witschel/Wrede in Bad Oeynhausen

Ergänzungen zum Tabellarischen Lebenslauf

ERGÄNZUNGEN ZUR SCHULZEIT:

1989, 1990 und 1991	1. Bundessieger im Bundeswettbewerb der Schulen „Jugend trainiert für Olympia“ in der Sportart Rudern. Des weiteren Kadermitglied, für Auslandsregatten nominiert. Neben des eigenen Leistungssportes Betreuung von Kindern und Jungendlichen (bis zum Beginn des Studiums im April 1994)

ERGÄNZUNGEN ZUR STUDIENZEIT:

Ab Sommersemster 1994	Mitglied in der Fachschaft (studentische Vertretung) des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Ab Sommersemester 1994	Mitglied des Fachbereichsrates
Ab Sommersemster 1995	Sprecher der Liste -Humane Zahnheilkunde für ein besseres Studium-
Ab Sommersemester 1997	Mitglied des Direktoriums des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Ab Sommersemester 1997 bis Sommersemester 1998	Stellv. Mitglied im Ausschuß für Lehr- und Studienangelegenheiten Stellv. Bundesvorsitzender des BdZM e.V.