

4 Ergebnisse

4.1 Der Vaginalabstrich der Maus

Alle 24 Stunden ist bei jeder Maus ein vaginaler Abstrich angefertigt worden, der auf einem Objektträger ausgestrichen und mittels Giemsa-Färbung gefärbt wurde. Es traten 4 charakteristische Bilder auf, die den vaginalen Zyklusstadien entsprechen. Alle Zyklusphasen sind durch das Auftreten von typischen Epithelzellen im Abstrich gekennzeichnet. Anhand der vaginalen Abstriche konnte bei der Maus eine durchschnittliche Zykluslänge von 4 - 5 Tagen ermittelt werden.

Proöstrus (Abb. 4.1.(1))

Der Proöstrus umfaßt einen Zeitraum von ca. 10 – 12 Stunden. In dieser Zeit werden vermehrt basophile Parabasal (P)- und Intermediärzellen (IM) im Abstrich mikroskopisch sichtbar. Teilweise treten Mitosen auf. Zum Östrus hin steigt die Anzahl der Intermediärzellen, zusätzlich kommen baso- bis azidophile Oberflächenzellen (OZ) vor. Schleim und Leukozyten sind nicht vorhanden.

Östrus (Abb. 4.1.(2))

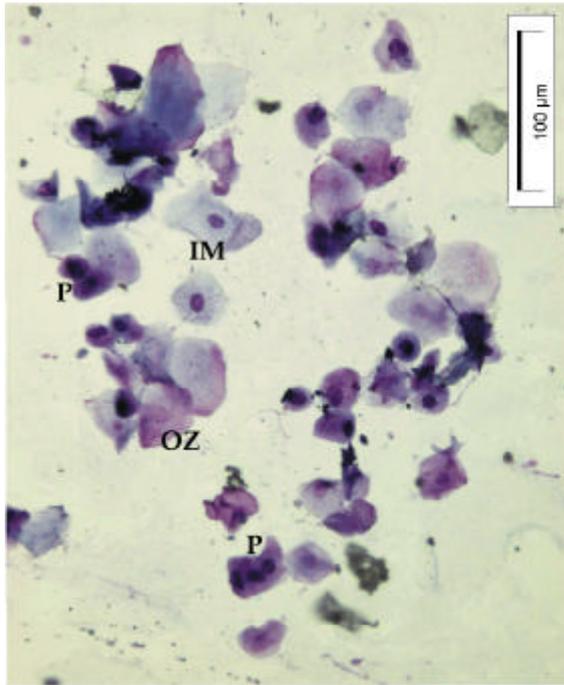
Dieses Zyklusstadium schließt sich dem Proöstrus an und ist durch große kernlose Schollen (S) mit einem basophilen Zytoplasma gekennzeichnet. Wenige Oberflächenzellen sind vorhanden. Der Östrus dauert ca. 14 Stunden.

Metöstrus (Abb. 4.1.(3))

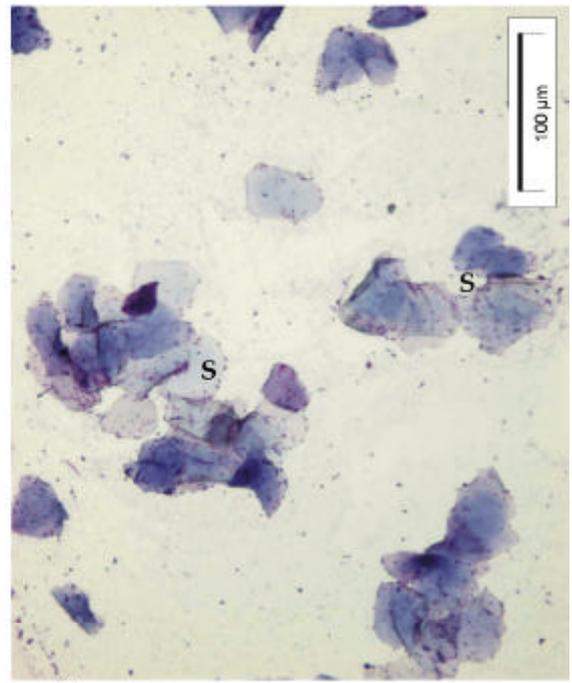
Typisch für den Metöstrus, mit einer Zeitdauer von ca. 24 Stunden, ist, daß sehr viel Zellmaterial gewonnen werden kann. Das Bild ist durch eine sehr große Zahl von Leukozyten gekennzeichnet. Vereinzelt treten Intermediärzellen und Schollen im mikroskopischen Bild auf. Reichlich zähflüssiger Schleim (SCH) ist vorhanden.

Diöstrus (Abb. 4.1.(4))

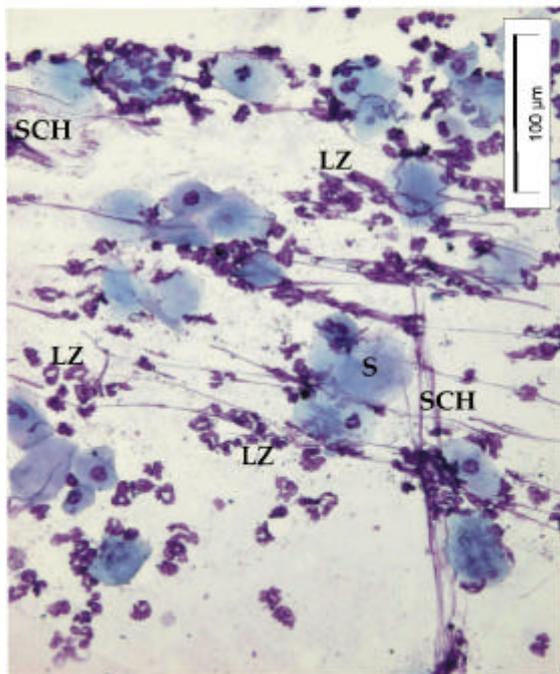
Im Diöstrus, mit ca. 48 Stunden der längste Zyklusabschnitt, befinden sich bis auf die Schollen alle Zelltypen im Vaginalabstrich. Alle Zellen unterliegen der Degeneration, so daß sehr viele einzelne Fragmente sichtbar sind. Auch hier ist Schleim vorhanden, jedoch weniger als im Metöstrus. Der Schleim wird dünnflüssig.



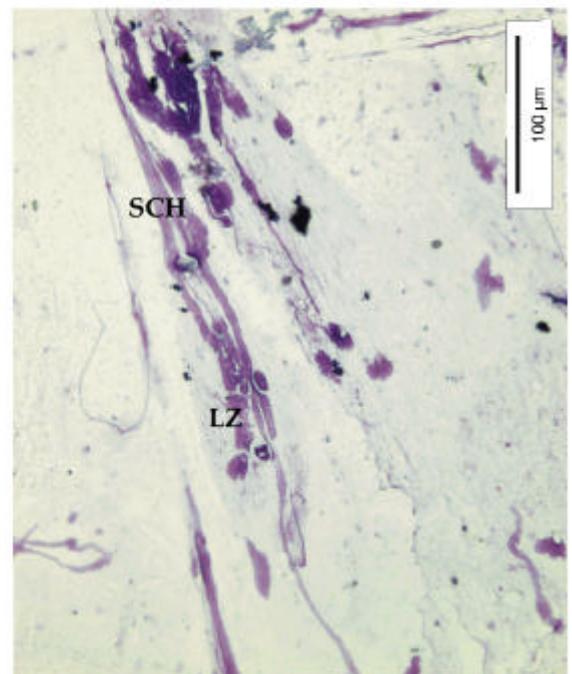
(1) Proöstrus



(2) Östrus



(3) Metöstrus



(4) Diöstrus

Abbildung 4.1 Vaginalabstrich der Maus in verschiedenen Zyklusstadien

Giemsa-Färbung

P – Parabasalzelle, IM – Intermediärzelle, S – Schollen,

LZ – Leukozyten, OZ – Oberflächenzelle, SCH - Schleim

4.2 Proteinbestimmung in den Superfusaten

Von 45 Superfusat-Gruppen (eine Gruppe = 16 Fraktionen) können 44 Superfusat-Gruppen ausgewertet werden. 5 Superfusatgruppen stammen von der Kontrolle (K), jeweils 4 Gruppen von der Östradiolbehandlung Ö-5; Ö-0,5; Ö-0,05; Ö-0,0005 sowie 3 Superfusatgruppen von Ö-0,005. Bei der Progesteronbehandlung können von jeder Konzentration (P₄-5 bis P₄-0,0005) 4 Gruppen untersucht werden.

Die photometrische Messung des Gesamtproteingehaltes bei 570 nm ergibt die in Tab. 4.1 (Östradiolbehandlung) und Tab. 4.2 (Progesteronbehandlung) dargestellten Ergebnisse.

4.2.1 Allgemeine Betrachtung

Die gemessene Proteinkonzentration in den Superfusaten unterliegt einer biphasischen Schwankung, unabhängig vom Hormon bzw. dessen Konzentration (Abb. 4.2). Die Werte schwanken zwischen einer nicht nachweisbaren Konzentration (= 0 µg/ml) als Minimum und $37,5 \pm 6,5$ µg/ml als maximalem Wert. Es gibt bei jeder Behandlung zwei minimale und eine maximale Proteinmenge. Das erste Minimum tritt nach ca. 10 - 20 min auf. Anschließend steigt die Proteinmenge und erreicht 35 – 40 min nach Behandlungsbeginn die maximale Proteinkonzentration. Nachfolgend sinkt die Konzentration wieder. Der zweite minimale Wert wird nach 55 - 60 min erreicht. Nach dem zweiten Minimum kommt es bis zur 90. Minute meist zu einem kontinuierlichen Anstieg der Proteinkonzentration (Abb. 4.2). Das Erreichen der einzelnen Minimal- und Maximalwerte ist hormon- und konzentrationsabhängig (Tab. 4.1 und 4.2).

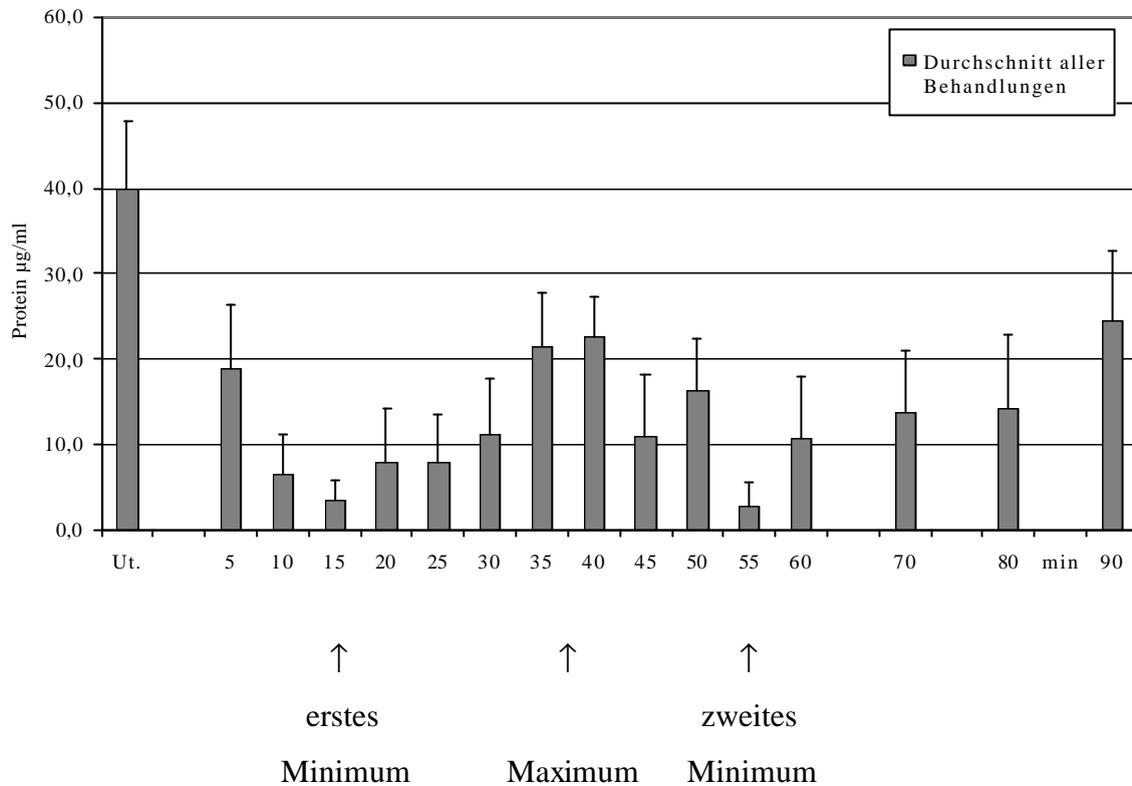


Abbildung 4.2 schematische Darstellung der Proteinkonzentrationen (Durchschnitt) in den fraktioniert aufgefangenen Superfusaten (unabhängig von der Behandlung); Ut. – Uteruspülung mit NaCl

4.2.2 Beurteilung der Uteruspülung (Ut.)

Die unbehandelte Uteruspülung mit NaCl hat mit $40,0 \pm 7,7$ µg/ml meistens den höchsten Proteingehalt. Nur bei Ö-0,005 steigt die Konzentration nach 90 min über den Ausgangswert der entsprechenden Uteruspülung mit NaCl an. Hier ist die Proteinkonzentration der Uteruspülung mit $28,3 \pm 3,7$ µg/ml sehr gering. Bei allen anderen Hormonbehandlungen liegen die gemessenen Proteinkonzentrationen unter den Werten der dazugehörigen Uteruspülung mit NaCl.

4.2.3 Beurteilung der Kontrolle (K)

Die Proteinkonzentration der K zeigt den typischen Verlauf, der in Abbildung 4.2 beschrieben ist. Die durchschnittliche Konzentration des gemessenen Proteins in den Superfusaten beträgt $8,1 \pm 4,9$ µg/ml (Tab. 4.1; 4.2).

Alle Hormonbehandlungen werden mit der Kontrolle verglichen, da auf diese Weise die Wirkung der Hormone sichtbar wird.

4.2.4 Beurteilung der Östradiolbehandlungen

Unabhängig von der Östradiolkonzentration in der Testlösung steigt die Proteinkonzentration in den Spüllösungen (Tab. 4.1), wobei sich die Menge um das 1,6 (Ö-0,05)- bis 2,3 (Ö-5)-fache der Kontrolle erhöht. Auffällig ist, daß bei Ö-0,05 die Proteinkonzentration mit $13,2 \pm 6,8 \mu\text{g/ml}$ ($p=0,171$) am geringsten ist. Bei Ö-5 steigt sie auf $18,5 \pm 9,3 \mu\text{g/ml}$ ($p=0,022$) bzw. bei Ö-0,0005 auf $16,6 \pm 9,3 \mu\text{g/ml}$ ($p=0,024$) an.

Bei der Darstellung der Proteinkonzentrationen aus den einzelnen Fraktionen ist ersichtlich, daß Ö-5 (Abb. 4.3 (1)) schon 20 Minuten nach Behandlungsbeginn zu einem steilen Anstieg der Proteine führt. Die Konzentration sinkt innerhalb der nächsten 25 Minuten ab, um nochmals bis zur 90. Minute kontinuierlich anzusteigen, wobei allgemein eine sehr hohe Proteinkonzentration auffällig ist. Ähnlich verhält sich Ö-0,5 (Abb. 4.3 (2)). Während der Anstieg bei Ö-5 sehr stark ist, steigt hier die Konzentration langsamer an und erreicht nach ca. 35 Minuten eine Plateau-Phase, die sich bis 70 Minuten nach beginnender Behandlung erstreckt. In der 90. Minute ist die Proteinkonzentration gegenüber der 70. Minute verdoppelt. Ö-0,05 (Abb. 4.3 (3)) und Ö-0,005 (Abb. 4.3 (4)) haben die geringste Proteinkonzentration der Östradiolbehandlung. Bei Ö-0,05 ist über die gesamte Zeit der Behandlung die Proteinmenge relativ konstant. Im Vergleich zur Kontrolle ist wenig Protein vorhanden. Bei Ö-0,005 schwankt die Proteinkonzentration sehr stark. In den letzten 30 Minuten steigt die Proteinkonzentration. Bei Ö-0,0005 (Abb. 4.3 (5)) steigt die Proteinkonzentration kontinuierlich und erreicht nach 70 Minuten ein Maximum von $23,9 \pm 2,5 \mu\text{g/ml}$. Anschließend sinkt die Konzentration stark ab.

Bei allen Östradiolbehandlungen fällt die Proteinkonzentration nach 55 Minuten stark ab.

4.2.5 Beurteilung der Progesteronbehandlungen

P_4 -0,05, P_4 -0,5, P_4 -5 haben einen steigernden Effekt auf die Proteinkonzentration. Bei diesen Konzentrationen wird 2,1 (P_4 -0,5) bis 1,6 (P_4 -5) mal mehr Protein gemessen als in der K (Tab. 4.2). P_4 -0,0005 und P_4 -0,005 führen zu einer 1- bzw. 1,1-fachen Steigerung der Proteinkonzentration. Bei P_4 -0,005 sinkt die Konzentration auf $7,1 \mu\text{g/ml}$ ab. Die Proteinmenge bei P_4 -5 ($p=0,029$) und P_4 -0,5 ($p=0,001$) kann statistisch abgesichert werden. P_4 -0,05, P_4 -0,005 und P_4 -0,0005 sind im Vergleich zur K nicht signifikant.

Bei allen Fraktionen der Progesteronbehandlung sind die meisten Proteinkonzentrationen kleiner als 30,0 µg/ml, viele schwanken zwischen 5,0 - 20,0 µg/ml. Bei P₄-5 (Abb. 4.4 (1)) steigt die Konzentration kontinuierlich an, und erreicht nach 70 Minuten eine maximale Konzentration (18,7 ± 6,6 µg/ml). Bei P₄-0,5 (Abb. 4.4 (2)) liegen die Werte (bis auf 55 Minuten) über denen der K. Hier wird das meiste Protein unter Progesteroneinfluß gemessen (17,7 ± 1,2 µg/ml). Bei P₄-0,05 (Abb. 4.4 (3)), P₄-0,005 (Abb. 4.4 (4)) und P₄-0,0005 (Abb. 4.4 (5)) sind stark schwankende Proteinmengen zu erkennen. Bei P₄-0,005 liegen viele Proteinkonzentrationen unter der vergleichbaren Proteinkonzentration der Kontrolle.