

Aus dem Walther-Straub-Institut
für Pharmakologie und Toxikologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Kommissarischer Vorstand: Prof. Dr. P. Eyer

Untersuchung von Topiramaten, Rimonabant, Orlistat und neuer Forschungschemikalien in verschiedenen Fettsuchtmodellen an Ratten

Dissertation
zum
Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Magdalena Hagn
aus
Ingolstadt
2007

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Elmar Richter

Mitberichterstatter: Prof. Dr. K. Parhofer

Prof. Dr. B. Koletzko

Dekan: Prof. Dr. med. Dietrich Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 05. Juli 2007

Meinen Eltern und meiner Schwester

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGEN	VI
1 EINLEITUNG	1
1.1 Definition und Grenzwerte für Übergewicht	1
1.1.1 Body Mass Index (BMI).....	1
1.1.2 Messung des Taillenumfangs	2
1.1.3 Prävalenz und Ursachen von Übergewicht.....	2
1.1.4 Positive Energiebilanz	2
1.1.5 Genetik.....	3
1.1.6 Medikamente	3
1.1.7 Nikotinentzug	3
1.1.8 Hormonelle Erkrankungen.....	3
1.2 Mit Übergewicht assoziierte Erkrankungen	3
1.2.1 Krebs.....	4
1.2.2 Psychische Störungen	4
1.2.3 Metabolisches Syndrom und Dyslipidämie	4
1.2.4 Osteoarthritis.....	4
1.2.5 Diabetes Mellitus Typ II.....	5
1.2.6 Herz- und Kreislauferkrankungen	5
1.3 Pharmakotherapie des Übergewichts	5
1.3.1 Appetitzügler	6
1.3.1.1 Noradrenerge Wirkstoffe	6
1.3.1.2 Serotonerge Wirkstoffe.....	6
1.3.1.3 Gemischt serotonerg-noradrenerge Wirkstoffe	6
1.3.2 Lipasehemmer.....	6
1.3.3 Neue Substanzen in klinischer Erprobung.....	8
1.3.3.1 CB ₁ Rezeptorantagonisten (Rimonabant):.....	8
1.3.3.2 Topiramate.....	11
1.4 Die Rolle von Carboanhydrasehemmern in der <i>de novo</i> Lipogenese	12
1.5 Aktuelle Guidelines im „Obesity-Management“	14
1.6 Ziele der Arbeit	14
1.6.1 Versuch 1	14
1.6.2 Versuch 2.....	14
1.6.3 Versuch 3	15
1.6.4 Versuch 4.....	15

2	MATERIAL UND METHODEN	16
2.1	Rahmenbedingungen	16
2.2	Material	16
2.2.1	Tierversuche	16
2.2.1.1	Tiere	16
2.2.1.2	Tierfutter	16
2.2.1.3	Tierhaltung	17
2.2.1.4	Tägliches Wiegen	17
2.2.1.5	Tägliche Behandlung	17
2.2.1.6	Tötung der Versuchstiere	17
2.2.1.7	Aufbewahrung	17
2.3	Chemikalien	18
2.3.1	Verabreichte Substanzen	18
2.3.2	Lösungsmittel	18
2.4	Herstellen der Lösungen / Suspensionen	19
2.4.1	Versuch 1	19
2.4.1.1	Vehikellösung	19
2.4.1.2	SLV319-Suspension	20
2.4.1.3	Orlistat-Lösung	21
2.4.2	Versuch 2	21
2.4.2.1	Vehikellösung	21
2.4.2.2	Topiramatlösung	22
2.4.2.3	SLV335-Suspension	22
2.4.3	Versuch 3	23
2.4.3.1	Vehikellösung:	23
2.4.3.2	SLV330-Suspension	24
2.4.3.3	Rimonabant-Suspension	24
2.4.4	Versuch 4	25
2.4.4.1	Vehikellösung:	25
2.4.4.2	Topiramatlösung	25
2.5	Durchführung der Tierversuche	25
2.5.1	Haltung und Ernährung der Tiere	25
2.5.2	Adaptationsphase	26
2.5.3	Vorversuch	26
2.5.3.1	Dokumentation des Körpergewichts, des Futter- und des Wasserverbrauchs	26
2.5.3.2	Gruppeneinteilung und Randomisierung	26

2.5.4	Vorbehandlung	27
2.5.5	Hauptversuch	27
2.5.5.1	Versuch 1	28
2.5.5.2	Versuch 2	30
2.5.5.3	Versuch 3	31
2.5.5.4	Versuch 4	32
2.6	Analytik	33
2.7	Statistische Auswertung der Daten	33
3	ERGEBNISSE	36
3.1	Versuch 1: Untersuchung von SLV319 und Orlistat einzeln und in Kombination an Wistarratten	36
3.1.1	Körpergewicht	36
3.1.2	Futteraufnahme	40
3.1.3	Wasseraufnahme	46
3.1.4	Analyse der Blutproben	50
3.1.4.1	Gesamtcholesterin	50
3.1.4.2	LDL	50
3.1.4.3	HDL	50
3.1.4.4	Freies Cholesterin	51
3.1.4.5	Triglyzeride	52
3.1.4.6	Nicht-veresterte Fettsäuren	52
3.1.4.7	Insulin	52
3.1.4.8	Glucose	54
3.1.4.9	Insulinsensitivität	55
3.1.5	Carcass-Analyse	57
3.2	Versuch 2: Untersuchung von SLV335 und Topiramamat an Wistarratten	61
3.2.1	Körpergewicht	61
3.2.2	Futteraufnahme	65
3.2.3	Wasseraufnahme	71
3.2.4	Analyse der Blutproben	74
3.2.4.1	Gesamtcholesterin	75
3.2.4.2	LDL	75
3.2.4.3	HDL	75
3.2.4.4	Freies Cholesterin	75
3.2.4.5	Triglyzeride	76
3.2.4.6	Nicht-veresterte Fettsäuren	77

3.2.4.7	Insulin	78
3.2.4.8	Glucose	78
3.2.4.9	Insulinsensitivität	78
3.3	Versuch 3: Untersuchung von SLV330 und Rimonabant an Wistarratten	80
3.3.1	Körpergewicht	80
3.3.2	Futteraufnahme	83
3.3.3	Wasseraufnahme	87
3.3.4	Analyse der Blutproben	89
3.3.4.1	Gesamtcholesterin	90
3.3.4.2	LDL	90
3.3.4.3	HDL	92
3.3.4.4	Freies Cholesterin	92
3.3.4.5	Triglyzeride	92
3.3.4.6	Nicht-veresterte Fettsäuren	94
3.3.4.7	Insulin	94
3.3.4.8	Glucose	94
3.3.4.9	Insulinsensitivität	94
3.4	Versuch 4: Untersuchung von Topiramamat an Zuckerratten	99
3.4.1	Körpergewicht	99
3.4.2	Futteraufnahme	101
3.4.3	Wasseraufnahme	104
3.4.4	Analyse der Blutproben	106
3.4.4.1	Gesamtcholesterin	106
3.4.4.2	LDL	107
3.4.4.3	HDL	107
3.4.4.4	Freies Cholesterin	108
3.4.4.5	Triglyzeride	108
3.4.4.6	Nicht-veresterte Fettsäuren	109
3.4.4.7	Insulin	109
3.4.4.8	Glucose	110
3.4.4.9	Insulinsensitivität	110
3.4.5	Carcass-Analyse	111
4	DISKUSSION	115
4.1	Versuch 1: Untersuchung von SLV319 und Orlistat einzeln und in Kombination an Wistarratten	115
4.2	Versuch 2: Untersuchung von SLV335 und Topiramamat an Wistarratten	118

4.3	Versuch 3: Untersuchung von SLV330 und Rimonabant an Wistarratten	121
4.4	Versuch 4: Untersuchung von Topiramat an Zuckerratten.....	125
5	ZUSAMMENFASSUNG	129
5.1	Versuch 1	129
5.2	Versuch 2	130
5.3	Versuch 3	131
5.4	Versuch 4	131
6	LITERATURVERZEICHNIS.....	132

ABKÜRZUNGEN

2-AG	2-Arachidonoylglycerol
Acrp 30	Adiponectin
AMP	Adenosin-Monophosphat
Anandamid	Arachidonylethanolamid
Aqua dest	Reinstwasser, filtriertes deionisiertes Wasser
BMI	body mass index
CA	Carboanhydrase
CARP	Carbonic anhydrase related protein
CART	Cocaine-Amphetamine-Regulated Transcript
CB	Cannabinoid
CMC	Carboxymethylcellulose
FDA	Food and Drug Administration
HDL	High density lipoproteins
i.p.	Intraperitoneal
K	Kontrolle
KG	Körpergewicht
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low density lipoproteins
LPL	Lipoproteinlipase
MW	Mittelwert
N	Anzahl
NEFA	Nicht-veresterte Fettsäuren
PEG	Polyethylenglykol
POMC	Proopiomelanocortin
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptor
RIO	Rimonabant in Obesity
SD	Standardabweichung
SE	Standardabweichung vom Mittelwert
TG	Triglyzeride
THC	Tetrahydrocannabinol
WHO	World Health Organization
ZDF	Zucker diabetic fatty
ZNS	Zentrales Nervensystem

Versuch 1:

SLV319-3 Orale Gabe von SLV319 in einer Dosis von 3 mg/kg KG
SLV319-10 Orale Gabe von SLV319 in einer Dosis von 10 mg/kg KG

Versuch 2:

SLV335-30 Orale Gabe von SLV335 in einer Dosis von 15 mg/kg KG
SLV335-60 Orale Gabe von SLV335 in einer Dosis von 30 mg/kg KG
SLV335-100 Orale Gabe von SLV335 in einer Dosis von 50 mg/kg KG
T-30 Orale Gabe von Topiramamat in einer Dosis von 15 mg/kg KG
T-60 Orale Gabe von Topiramamat in einer Dosis von 30 mg/kg KG
T-100 Orale Gabe von Topiramamat in einer Dosis von 50 mg/kg KG

Versuch 3:

SLV330-3 i.p. Gabe von SLV330 in einer Dosis von 3 mg/kg KG
SLV330-10 i.p. Gabe von SLV330 in einer Dosis von 10 mg/kg KG
R-3 i.p. Gabe von Rimonabant in einer Dosis von 3 mg/kg KG
R-10 i.p. Gabe von Rimonabant in einer Dosis von 10 mg/kg KG

Versuch 4:

T-30 Orale Gabe von Topiramamat in einer Dosis von 30 mg/kg KG
T-100 Orale Gabe von Topiramamat in einer Dosis von 100 mg/kg KG

1 EINLEITUNG

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Entwicklung neuer Arzneimittel zur Therapie von Übergewicht.

1.1 Definition und Grenzwerte für Übergewicht

Übergewicht wird als eine über das Normalmaß hinausgehende Vermehrung des Körperfetts definiert, die zu einer Erhöhung des Körpergewichts führt. Sie wird ab einem bestimmten Grad Adipositas genannt.

1.1.1 Body Mass Index (BMI)

Der Body Mass Index (BMI) ist eine von der WHO standardisierte einfache Darstellung zur einheitlichen Klassifizierung von Unter-, Übergewicht und Adipositas bei Erwachsenen [1,2]. Die BMI-Werte sind dabei unabhängig vom Alter und identisch für beide Geschlechter. Sie werden definiert als Gewicht in Kilogramm dividiert durch die Größe im Quadrat (kg/m^2). So hat beispielsweise ein Erwachsener mit 80 kg und einer Größe von 1,85 m einen BMI von 23,4 [$\text{BMI} = 80 \text{ kg} / (1,85 \text{ m})^2 = 23,4$].

Tabelle 1-1: Internationale Klassifizierung von Unter-, Übergewicht und Adipositas dargestellt als BMI

Klassifikation	BMI (kg/m^2)	
	<i>Prinzipielle Unterteilung</i>	<i>Zusätzliche Unterteilung</i>
Untergewicht	<18,50	<18,50
Starkes Untergewicht	<16,00	<16,00
Mittleres Untergewicht	16,00 - 16,99	16,00 - 16,99
Leichtes Untergewicht	17,00 - 18,49	17,00 - 18,49
Normalgewicht	18,50 - 24,99	18,50 - 22,99
		23,00 - 24,99
Übergewicht	≥25,00	≥25,00
Präadipositas	25,00 - 29,99	25,00 - 27,49
		27,50 - 29,99
Adipositas	≥30,00	≥30,00
Adipositas Grad I	30,00 - 34,99	30,00 - 32,49
		32,50 - 34,99
Adipositas Grad II	35,00 - 39,99	35,00 - 37,49
		37,50 - 39,99
Adipositas Grad III	≥40,00	≥40,00

1.1.2 Messung des Taillenumfangs

Bestimmte Formen des Fettverteilungsmusters gehen mit einem erhöhten Risiko für Stoffwechsel- bzw. Herz-Kreislaufkrankungen einher [3,4]. Die Messung des Taillenumfangs ist dabei eine einfache und von der Größe unabhängige Methode zur Bestimmung des intraabdominalen Fetts und damit des individuellen Risikos. Sie korreliert stark mit dem BMI und der sog. waist-to-hip-ratio [5,6].

Tabelle 1-2: Geschlechtsspezifischer Taillenumfang und das Risiko damit verbundener Folgekrankheiten

Risiko von Folgekrankheiten	Taillenumfang (cm)	
	<i>Männer</i>	<i>Frauen</i>
erhöht	≥99	≥80
stark erhöht	≥102	≥88

1.1.3 Prävalenz und Ursachen von Übergewicht

Übergewicht hat weltweit epidemischen Charakter erreicht. So sind bereits 66% der erwachsenen Amerikaner übergewichtig, davon 32% adipös, und davon wiederum 5% extrem adipös (BMI ≥40). In Deutschland sind 44% übergewichtig bzw. 18% fettleibig (Europa: 43% übergewichtig, 17% adipös) [2,7,8]. Betrachtet man dabei die Populationen im mittleren Alter von 45 bis 59, steigen die Zahlen sogar auf höhere Werte an [9]. Die stetige Zunahme der Zahl der übergewichtigen Kinder stellt ein besonderes Problem dar, da diese Kinder im Erwachsenenalter kaum mehr Normalgewicht erreichen [10-13].

Grundsätzlich ist Übergewicht die Konsequenz aus vermehrter Energieaufnahme und verminderter Energieabgabe über einen längeren Zeitraum hinweg. Daraus resultiert eine positive Energiebilanz. Diese wird in der Regel nicht nur einseitig beeinflusst, sondern es spielen stets mehrere Faktoren auf beiden Seiten zusammen, wie im Folgenden dargestellt:

1.1.4 Positive Energiebilanz

Erhöhte Aufnahme an fett- und zuckerhaltigen Nahrungsmitteln führt in Kombination mit körperlicher Inaktivität (Fernsehen, Computerspiele) zu einer positiven Energiebilanz und damit zur Gewichtszunahme [14,15]. Angebot von Nahrung im Überfluss und Änderungen im Essverhalten wie zu schnelles Essen, nächtliches Essen und „snacking“ scheinen eine große Rolle zu spielen [16].

1.1.5 Genetik

Auch wenn es erwiesenermaßen Menschen mit einer erhöhten Neigung zur Fetteinlagerung gibt [17,18], stellt die Krankheit Adipositas eine multifaktorielle Erkrankung dar. Von rein genetischen Ursachen müssen Einflüsse wie die Weitergabe von Ernährungsgewohnheiten von Eltern an Kinder, das kulturelle und sozioökonomische Umfeld, abgegrenzt werden. Tatsächlich gibt es genetische Defekte, z.B. ein angeborenes Defizit an Leptin, die zu einer hereditären Adipositas führen [19]. Ihr Anteil an der epidemischen Adipositas ist jedoch minimal.

1.1.6 Medikamente

Glukokortikoide, manche steroidale Kontrazeptiva, Antidiabetika auf Basis der Sulfonylharnstoffe, Insulin, trizyklische Antidepressiva, Lithium oder Neuroleptika steigern den Appetit und können zu einer vermehrten Nahrungsaufnahme führen.

1.1.7 Nikotinentzug

Das verringerte Körpergewicht ist eine wichtige Motivation für das Rauchen insbesondere bei jungen Frauen [20]. Es beruht nicht nur auf der Appetithemmung, sondern auch auf weiteren größtenteils noch ungeklärten Einflüssen auf den Energiestoffwechsel [21]. Die regelmäßig bei Rauchentwöhnung zu beobachtenden Gewichtszunahmen treten selbst bei kontrollierter Nahrungsaufnahme, also auch ohne vermehrten Verzehr von Süßigkeiten, Nüssen etc., auf und sind eine Folge des Nikotinentzugs und nicht allein durch den Wegfall der Appetithemmung durch Nikotin zu erklären.

1.1.8 Hormonelle Erkrankungen

Hormonelle Erkrankungen wie Hypothyreose, der M. Cushing bzw. das Cushing-Syndrom oder bestimmte Hypothalamustumoren können ebenfalls zu Übergewicht führen.

1.2 Mit Übergewicht assoziierte Erkrankungen

Die mit Adipositas assoziierten Erkrankungen sind vielfältig. Angefangen bei weniger lebensgefährlichen Erkrankungen wie Gallensteine oder Gicht führen sie über ein erhöhtes Risiko für Diabetes, Krebs oder Herz-Kreislaufkrankungen zu einer mehr oder weniger deutlichen Herabsetzung der Lebenserwartung [2,22,23]. Die mit Übergewicht assoziierte vorzeitige Sterberate steigt mit zunehmendem Gewicht und mit verminderter physischer Aktivität an [24-26]. Es wurde außerdem eine direkte Assoziation von Adipositas und Mortalität, vor allem bei jüngeren Individuen (<55 Jahre) beobachtet [27].

1.2.1 Krebs

Übergewicht wird mit einem erhöhten Risiko für bestimmte Krebsarten in Verbindung gebracht: bei Männern mit dem Kolonkarzinom [28] und dem Adenocarcinom der Speiseröhre [29], bei Frauen mit dem postmenopausalen Brustkrebs [30] und dem Endometriumkarzinom, sowie bei beiden Geschlechtern mit dem Nierenzellkarzinom [31]. Neueste Studien lassen eine generelle Rolle von Übergewicht in der Kanzerogenese vermuten und damit ein insgesamt erhöhtes Risiko für alle Krebsarten als Todesursache. So schätzt man, dass jährlich in den USA ca. 90.000 und in Europa 36.000 Todesfälle durch Krebs vermieden werden, wenn Männer und Frauen ihre Normalgewichte halten könnten [29,32,33].

1.2.2 Psychische Störungen

Depression und Gewicht sind komplex miteinander verknüpft. Verschiedene soziale Faktoren wie Diskriminierung, Arbeitslosigkeit und Unzufriedenheit mit dem eigenen Körper können bei Übergewichtigen Depressionen hervorrufen. Umgekehrt können Depressionen auch zu Übergewicht führen, z.B. durch die medikamentöse Behandlung mit Antidepressiva. Studien zeigen, dass Adipositas das Risiko später an Depressionen zu erkranken deutlich erhöht [2,34,35].

1.2.3 Metabolisches Syndrom und Dyslipidämie

Adipositas kann mit einer Dyslipidämie, d.h. erhöhten Plasmatriglyzeridspiegeln, niedrigen HDL- und hohen LDL-Apo-B-Werten einhergehen [36]. Die Veränderungen werden häufig in Gesellschaft mit hoher intraabdominaler Fetteinlagerung beobachtet. In diesem Zusammenhang hat man das so genannte metabolische Syndrom definiert:

- Bauchbetonte Adipositas: Taillenumfang Männer ≥ 102 cm, Frauen: ≥ 88 cm
- Hypertriglyzeridämie: $\geq 1,69$ mmol/L
- Erniedrigte HDL-Spiegel: $< 1,04$ mmol/L (Männer), $< 1,29$ mmol/l (Frauen)
- Bluthochdruck: $\geq 130/85$ mm Hg
- Erhöhte Nüchtern-glucose: $\geq 6,1$ mmol/L

Das metabolische Syndrom ist weit verbreitet unter übergewichtigen Erwachsenen und adipösen Kindern, die Prävalenz steigt mit steigendem Gewicht an [37]. Es ist außerdem ein Risikofaktor für die Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ II und für Herz-Kreislauf-erkrankungen [38].

1.2.4 Osteoarthritis

Die Inzidenz von Osteoarthritis ist in adipösen Individuen erhöht und eine gängige Ursache von Schmerzen und Behinderung. Erhöhte mechanische Belastung zusammen mit metabo-

lischen Faktoren wie vermehrte Ausschüttung von Hormonen, Zytokinen und Wachstumsfaktoren aus dem Fettgewebe sollen hierfür Auslöser sein [39,40].

1.2.5 Diabetes Mellitus Typ II

Über 90% aller diagnostizierten Fälle von Diabetes Mellitus Typ II sind mit Übergewicht vergesellschaftet [23]. Auch scheint das Risiko an Diabetes Typ II zu erkranken mit steigendem Gewicht und Länge des Zeitraums der Adipositas anzusteigen. Anschließender Gewichtsverlust soll die Inzidenz der Erkrankung senken [41,42]. Trotzdem haben neueste Studien gezeigt, dass das Risiko im Laufe des Lebens an Diabetes Typ II zu erkranken auch nach erfolgter Gewichtsabnahme in vorher übergewichtigen Individuen immer noch erhöht ist im Vergleich zu Personen, die niemals übergewichtig waren [43].

1.2.6 Herz- und Kreislauferkrankungen

Unter den Todesursachen nehmen weltweit die Herz-Kreislauferkrankungen den ersten Platz ein [2]. Dabei stellt die Adipositas nicht nur einen großen und außerdem unabhängigen Risikofaktor für die Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit (KHK) dar [44,45], sondern sie ist auch unmittelbar mit den anderen Hauptrisikofaktoren wie Hypertension und erhöhten Blutcholesterinwerten vergesellschaftet [22,36]. Dabei steigt die Inzidenz für erhöhten Blutdruck schon mit nur geringer Gewichtszunahme an [46]. Kontrollierte Studien haben gezeigt, dass stark adipöse Individuen mit dilatativer Kardiomyopathie durch eine Prädisposition zu Arrhythmien außerdem ein erhöhtes Risiko für einen plötzlichen Herztod haben [23,47].

1.3 Pharmakotherapie des Übergewichts

Da Übergewicht insgesamt ein vermeidbares Risiko darstellt und geringe Gewichtsabnahmen bereits Senkungen in Mortalität und Morbidität von 5-10% bewirken [48-50], ist eine Behandlung von Übergewicht notwendig und wichtig. Als ersten Schritt im Sinne einer Prävention mit „public health“ Aspekt sind bereits nationale [51-53] und internationale [2,54] Konzepte in Planung und Ausführung, die sich an folgendem Leitfaden orientieren: „**Obesity-Management**“ = positive Beeinflussung des Bewegungs- und Ernährungsverhaltens. Da jedoch in verschiedenen Studien konventionelle Methoden wie Diät und Sport alleine zur Bekämpfung von Übergewicht entweder keinen, oder nur kurzfristigen Effekt zeigten [55], und auch chirurgische Interventionen wie Magenverkleinerung oder das Setzen eines Magenbands zwar einen guten langfristigen Erfolg aufweisen, aber bis jetzt nur stark adipösen Individuen vorbehalten sind [56,57], treten medikamentöse Behandlungsmethoden immer mehr in den Vordergrund. Bisher sind zwei Kategorien bekannt und etabliert, die Appetitzügler und

die Lipasehemmer. Neuerdings kommen Therapiekonzepte hinzu mit Angriff an spezifischen Rezeptoren und Veränderungen des Fett- und Energiestoffwechsels auf molekularer Ebene.

1.3.1 Appetitzügler

Unter den Appetitzüglern werden 3 Formen unterschieden:

1.3.1.1 Noradrenerge Wirkstoffe

Die Medikamente Phentermin, Diethylpropion, Phendimetrazin und Benzphetamin wirken über eine Erhöhung der Ausschüttung von appetithemmenden Neurotransmittern im ZNS (z.B. Serotonin, Dopamin) und sind derzeit nur in den USA zur Kurzzeitbehandlung (<12 Wochen) von Übergewicht empfohlen. In Europa (ausgenommen Schweiz) wurden sie wegen eines ungünstigen Nutzen/Risiko-Verhältnisses vom Markt genommen.

1.3.1.2 Serotonerge Wirkstoffe

Die beiden Medikamente Fenfluramin und Dexfenfluramin, die über eine Stimulation der Freisetzung und Hemmung der Wiederaufnahme von Serotonin wirken, wurden 1997 vom Markt genommen, da eine Assoziation mit Herzklappenfehlern und pulmonalem Überdruck beobachtet wurde [58].

1.3.1.3 Gemischt serotonerg-noradrenerge Wirkstoffe

Sibutramin (Reductil[®]) hemmt die Wiederaufnahme von Adrenalin und Serotonin, aber weniger Dopamin. In Kombination mit einer kalorienarmen Diät und vermehrter körperlicher Aktivität zeigte Sibutramin in einer Dosis zwischen 10 und 15 mg in mehreren klinischen Studien im Vergleich zu Placebo einen klinisch relevanten gewichtsreduzierenden Effekt, anhaltend auch über zwei Jahre hinweg. Zusätzlich wurden die Serumtriglyzeride und das HDL positiv beeinflusst [59-62]. Das Arzneimittel ist in Deutschland zur Behandlung adipöser Patienten unter ärztlicher Aufsicht zugelassen [63].

1.3.2 Lipasehemmer

Orlistat (Xenical[®] = Tetrahydrolipstatin; Strukturformel in Abbildung 1-1), ein semisynthetisches Derivat von Lipstatin, ist ein potenter und selektiver Hemmstoff der gastrointestinalen Lipasen, die eine entscheidende Rolle in der Fettverdauung im Magen und oberen Dünndarm spielen. Es hemmt die gastrische und pankreatische Lipase durch kovalente Bindung an den aktiven Serinresten [64]. In Verbindung mit der Aufnahme fettreicher Nahrung hemmt Orlistat partiell die Hydrolyse der Triglyzeride und vermindert die anschließende Resorption von Monoglyzeriden und freien Fettsäuren. Ein Teil der zugeführten Nahrungsfette (ca. 30%)

wird deshalb mit dem Stuhl wieder ausgeschieden (Abbildung 2-2) [65-67]. In Verbindung mit einer milden, hypokalorischen Diät kommt es zu einem weiteren Kalorienverlust von ca. 200 kcal [68].

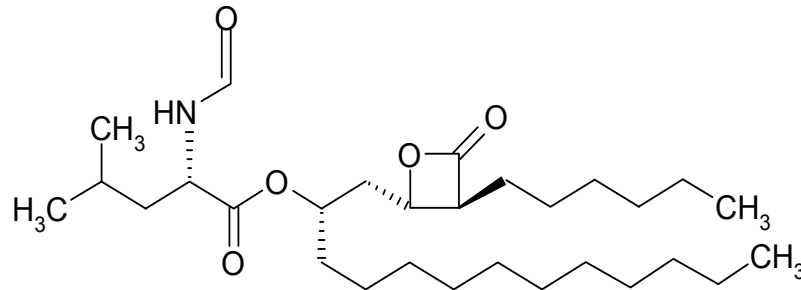


Abbildung 1-1: Strukturformel von Orlistat

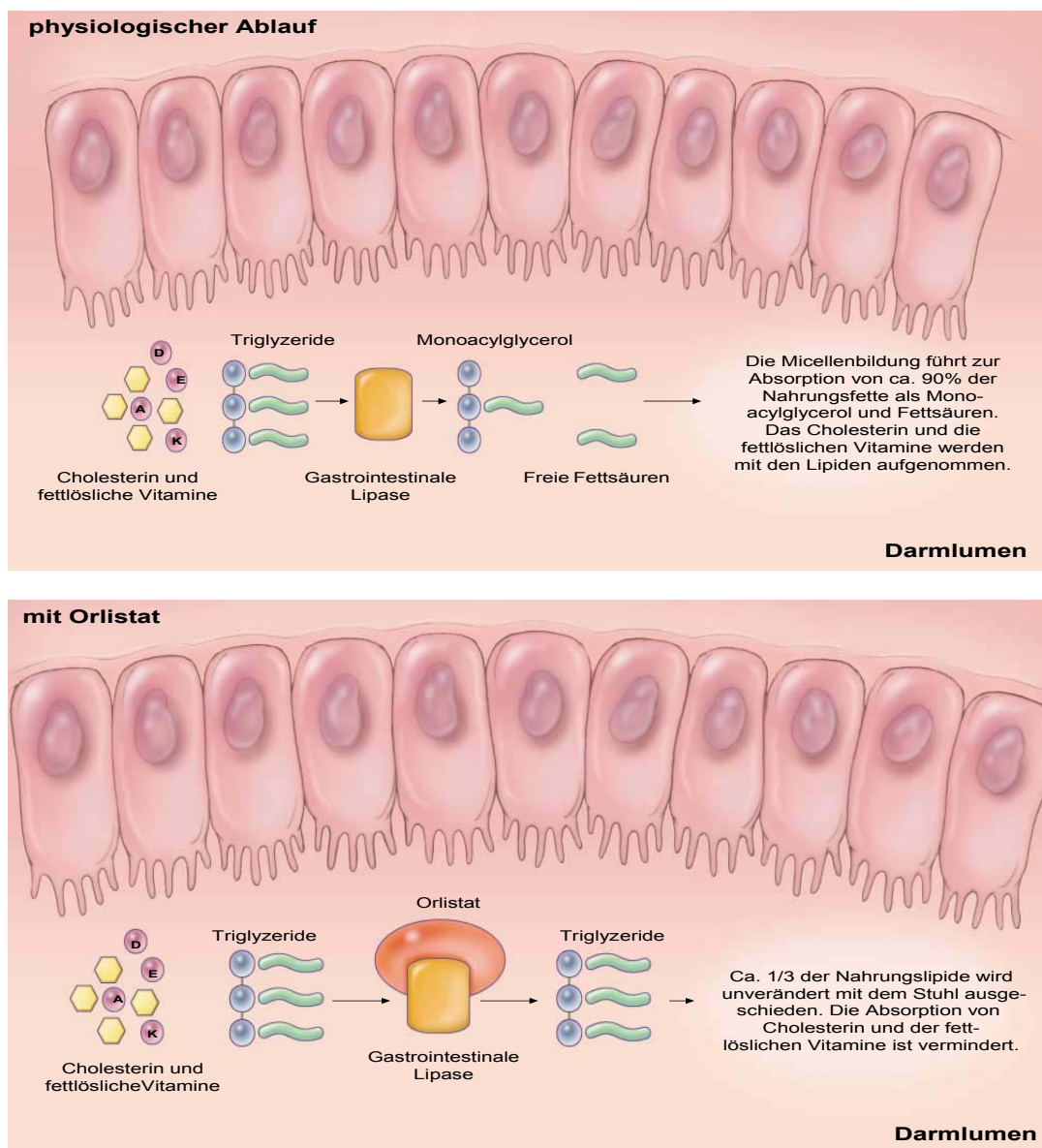


Abbildung 1-2: Hemmung der Fettabsorption unter Behandlung mit Orlistat [69].

In verschiedenen Langzeitstudien zeigte Orlistat nicht nur einen größeren Gewichtsverlust im Vergleich zu Placebo, sondern auch eine verminderte Rate an Wiedergewinnung. Außerdem wurden leichte Senkungen in den Blutdruckwerten, Nüchterninsulinwerten, Gesamtcholesterin- und LDL-Spiegeln unabhängig vom Gewichtsverlust beobachtet [70-72]. In neuesten Studien wurde zusätzlich gezeigt, dass Orlistat als Zusatz zu einer hypokalorischen Diät und vermehrter physischer Aktivität signifikant die Inzidenz eines Diabetes Typ II senkte [42]. Das Medikament ist in Deutschland seit Juli 1998 zur Behandlung von adipösen Patienten in Kombination mit einer leicht hypokalorischen Kost zugelassen [73].

1.3.3 Neue Substanzen in klinischer Erprobung

An dieser Stelle soll im Besonderen auf zwei Substanzen eingegangen werden, die aktuell in klinischen Studien mit übergewichtigen Patienten auf ihre Wirksamkeit und Verträglichkeit hin getestet werden.

1.3.3.1 *CB₁ Rezeptorantagonisten (Rimonabant):*

Marihuana, die weibliche Pflanze von *Cannabis sativa*, ist eine der ältesten Kulturpflanzen der Welt. Sie wurde schon vor Tausenden von Jahren auf vielen Teilen der Erde angebaut und zur Linderung von Krämpfen, rheumatischen und menstruationsbedingten Beschwerden angewendet [74]. Marihuana ist seit den sechziger Jahren die am häufigsten illegal konsumierte Droge weltweit [75]. Mechoulam et al. gelang 1964 die vollständige chemische Entschlüsselung seines psychoaktiven Agens, dem Δ^9 -Tetrahydrocannabinol [76]. Inzwischen sind vielzählige *Cannabis sativa*-Analoga entwickelt worden, unter anderem Dronabinol, welches in den USA seit über 20 Jahren von der *food and drug administration* (FDA) als appetitsteigerndes und antiemetisches Medikament bei fortgeschrittenen Stadien von AIDS oder Krebs zugelassen ist [77].

Erst in den letzten zwei Jahrzehnten wurde das therapeutische Potential des Endocannabinoidsystems genauer erforscht [78] und durch die Identifikation ihrer Rezeptorsubtypen CB₁ [79,80] und CB₂ [81] besser verstanden. Beide gehören zur Klasse der G_{i/o} Protein gekoppelten Rezeptoren und zeigen Affinität zu verschiedenen endogenen Cannabinoiden, von welchen Arachidonylethanolamid (Anandamid) und 2-Arachidonoylglycerol (2-AG) am genauesten erforscht sind [82-84]. Der CB₂-Subtyp findet sich vor allem in sekundären Organen des Immunsystems (Lymphknoten, Milz, Thymus oder Tonsillen) und auf Zellen, die der Immunabwehr dienen, wie Makrophagen, B-Lymphozyten und Natürlichen Killerzellen [81,85]. Die CB₁-Rezeptoren finden sich vor allem in Gehirnregionen wie Kortex, Hippocampus, Basal-

ganglien und Cerebellum [86], aber auch in peripheren Geweben wie Harnblase, Hoden, Prostata, Gastrointestinaltrakt, Herz, Lunge, Fettgewebe u.a. [81,85,87,88].

Der appetitsteigernde Effekt von Marihuana ist bereits seit Jahrzehnten bekannt [89]. Im Laufe weiterer Forschungen sind Hinweise auf eine Funktion des Endocannabinoidsystems in der Regulation des Essverhaltens aufgetreten. So induzierten Δ^9 -THC, Anandamid und 2-AG in verschiedenen Tiermodellen eine Hyperphagie [90,91]. Dieser Effekt wird durch den CB₁-Subtyp vermittelt, da er durch den CB₁-Rezeptorantagonisten SR141716 aufgehoben werden konnte. Selektive Blockade des CB₁-Rezeptors bewirkte eine verminderte Futteraufnahme [92-97], v.a. für Süßigkeiten [98,99], zusätzlich eine Aktivierung der Thermogenese und eine Verbesserung der Blutfettwerte in adipösen Mäusen [100,101], und stimulierte die Expression von Acrp 30 (Adiponectin) mRNA im Fettgewebe von adipösen *fa/fa* Ratten [88]. CB₁^{-/-} knockout Mäuse zeigen durch spontan verminderte Futteraufnahme eine geringere Körpergewichtszunahme [102,103]. Di Marzo et al. [104] zeigten eine leptingesteuerte Downregulation von Anandamid und 2-AG im Hypothalamus. Leptin spielt eine Schlüsselrolle im Fütterungsverhalten und in der Körpergewichtsregulation. Die Erkenntnisse über das Zusammenspiel von Leptin und Endocannabinoidsystem eröffnen neue Aspekte in Bezug auf Verständnis und Erforschung des komplexen Systems des Energiehaushaltes.

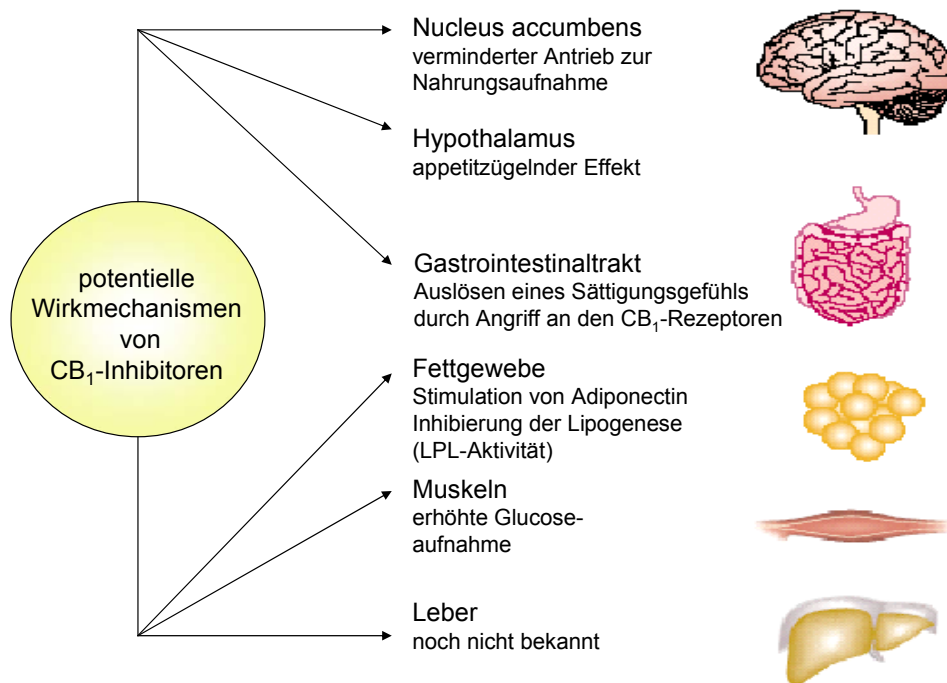


Abbildung 1-3: Potentielle Angriffspunkte und Wirkmechanismen von CB₁-Inhibitoren [105].

LPL=Lipoproteinlipase

Gegenstand aktueller klinischer Studien ist besonders Rimonabant (= SR141716, Strukturformel siehe Abbildung 1-4), ein selektiver CB₁-Antagonist, welcher 1994 erstmals von Rinaldi-Carmona et al. [106] synthetisiert wurde. Rimonabant (Acomplia[®] von Sanofi-Aventis) ist seit September 2006 in Deutschland zur medikamentösen Behandlung adipöser (BMI ≥ 30 kg/m²) oder übergewichtiger Patienten (BMI > 27 kg/m²) mit zusätzlichen kardiovaskulären Risikofaktoren wie Diabetes Typ II oder Dyslipidämie zugelassen [107].

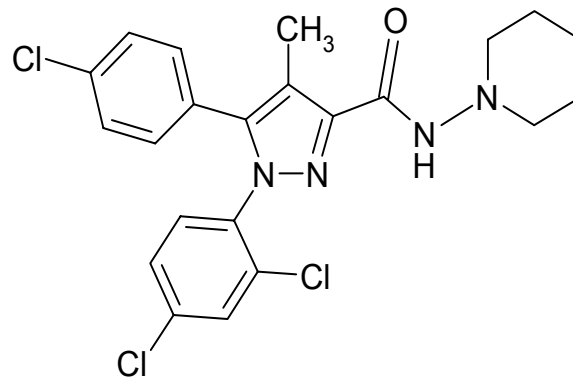


Abbildung 1-4: Strukturformel von Rimonabant

Die Wirksamkeit von Rimonabant wurde im RIO-Programm (*Rimonabant in obesity*) getestet, welches sich aus 4 klinischen Phase-III-Studien mit unterschiedlicher Laufzeit zusammensetzte (RIO North-America und RIO Europe: 2-Jahres-Studien, RIO-Lipids und RIO-Diabetes: 1-Jahres-Studien). Insgesamt wurden mehr als 6.600 Patienten in die Studien eingeschlossen, welche entweder einen BMI von ≥ 30 kg/m², oder einen über 27 kg/m² mit behandelter oder unbehandelter (RIO-Lipids) Dyslipidämie und mit oder ohne gleichzeitig bestehender Hypertonie aufwiesen. In RIO-Diabetes wurde die Wirksamkeit von Rimonabant bei Patienten mit Diabetes Typ II getestet, welche mit Metformin oder Sulfonylharnstoffen behandelt wurden. Währenddessen erhielten die Teilnehmer eine leicht hypokalorische Diät und wurden darüber hinaus angehalten, ihre körperliche Aktivität zu steigern. Im Vergleich zu Placebo zeigte Rimonabant in einer Dosis von 20 mg/Tag einen beständig anhaltenden Gewichtsverlust, reduzierte den Hüftumfang, erhöhte die HDL-Werte und die Insulinsensitivität, und erniedrigte die Serumtriglyzeride. Außerdem konnte im zweiten Jahr in der zu Rimonabant randomisierten Gruppe der erworbene Gewichtsverlust im Vergleich zu Placebo gehalten werden. Trotz der oben genannten Ergebnisse wird der Erfolg durch eine hohe Abbruchrate von 50% getrübt und es sind weitere Studien zur Langzeitwirkung und -sicherheit nötig [108-111]. Zur Zeit wird Rimonabant auch in Studien als Substanz zur Raucherentwöhnung getestet (STRATUS - *Studies with Rimonabant and tobacco use*), für diesen Zweck gilt jedoch die Zulassung vorerst nicht.

Es sind zahlreiche neue Präventionsstudien geplant, darunter:

CRESCENDO: Comprehensive *rimonabant evaluation study of cardiovascular endpoints and outcomes*. In dieser Studie soll gezeigt werden, ob Rimonabant bei 17.000 Patienten mit abdomineller Adipositas oder anderen kardiovaskulären Risikofaktoren die Inzidenz und/oder Mortalität von Infarkten und Schlaganfällen vermindern kann.

AUDITOR: *Atherosclerosis underlying development assessed by intima-media thickness in patients on rimonabant*. Es nehmen 600 adipöse Patienten mit zusätzlichen kardiovaskulären Risikofaktoren teil. Ziel der Studie ist die Messung der Veränderungen der Intima-Media-Dicke der Halsschlagader.

STRADIVARIUS: *Strategy to reduce atherosclerosis development involving administration of rimonabant - the intravascular ultrasound study*. Primärer Endpunkt ist das intravasal mit Ultraschall gemessene Atheromvolumen in den Herzkranzgefäßen bei 800 Patienten mit metabolischem Syndrom und/oder Nikotinabusus.

SERENADE: *Study evaluating rimonabant efficacy in drug-naive diabetic patients*. Aufgenommen wurden 264 übergewichtige Patienten mit einem unbehandelten, neu diagnostizierten Diabetes. Die Therapiedauer betrug sechs Monate, im Mittelpunkt stand die Kontrolle des HbA1c-Wertes.

ARPEGGIO: *Study evaluating rimonabant efficacy in insulin-treated diabetic patients*. Getestet wurde der Effekt von Rimonabant auf die HbA1c-Werte über 48 Wochen bei mit Insulin behandelten Diabetikern [112].

1.3.3.2 Topiramate

Topiramate ist ein sulfamatsubstituiertes Monosaccharid (Strukturformel siehe Abbildung 1-5), welches derzeit in Deutschland unter dem Namen Topamax[®] für die Indikation Epilepsie und unter dem Namen Topamax[®] Migräne zur Migräneprophylaxe [113-116] im Handel ist. Es entfaltet seine Wirkung über die zustandsabhängige Blockade der spannungsabhängigen Natriumkanäle [117-121], die Modulation von „high-voltage“ aktivierten Calciumkanälen des L-Typs [122], die Erhöhung der GABA-Aktivität an den A-Rezeptoren [123], die Antagonisierung von Glutamat am Kainat-Rezeptor [124,125] und die Aktivierung der Kaliumleitfähigkeit [126]. Außerdem hemmt es einige Untertypen der Carboanhydrase, vor allem die Subtypen II, IV und weniger V [127-129]. Im Gegensatz zu den meisten anderen Antiepileptika [128,129] führt Topiramate in der klinischen Anwendung [130-134] und in Versuchen an Ratten und Mäusen zu Gewichtsverlust [135-140]. Außerdem wird zur Zeit unter anderem Wirk-

samkeit in adipösen Individuen mit Bluthochdruck [141] oder Diabetes Typ II [142], bei essentiellen Tremor [143], bipolaren [144] oder affektiven Störungen [145], Alkohol- und Nikotinabhängigkeit [146-148] und Binge-Eating-Disorder untersucht [149,150].

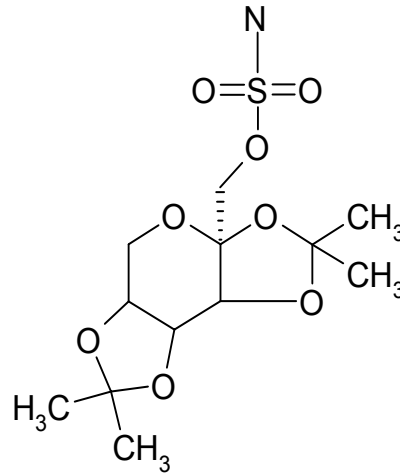


Abbildung 1-5: Strukturformel von Topiramate

1.4 Die Rolle von Carboanhydrasehemmern in der *de novo* Lipogenese

Die Carboanhydrase (CA) ist ein ubiquitäres zinkhaltiges Enzym, das die reversible Hydratation von Kohlendioxid katalysiert:



Diese Reaktion ist unter anderem wichtig für essentielle physiologische Austauschprozesse von Anionen in Niere, Lunge, Magen, Bauchspeicheldrüse und im Ziliarkörper des Auges. Es sind mindestens sechzehn Subtypen bekannt, deren Hemmung oder Aktivierung im Menschen Angriffspunkte für medikamentöse Behandlungsmöglichkeiten darstellt. Zur Zeit finden sie Anwendung in der Therapie von Glaukom, Epilepsie und Tumoren [151].

Tabelle 1-2: Überblick über die Carboanhydrase-Isoenzyme und ihre subzelluläre Lokalisation [151].

CA-Isoenzym	subzelluläre Lokalisation
CA I, II*, III*, VII, XIII, CARP VIII, CARP X, CARP XI	Zytosol
CA IV, XV	membrangebunden
CA VA*, VB*	Mitochondrium
CA VI	Sekretion in Speichel/Milch
CA IX, XII, XIV	transmembranär

CA=Carboanhydrase; CARP=Carbonic anhydrase related protein; * Expression u.a. im Adipozyten

Die Subtypen I, II, III und IV befinden sich im Zytosol, und V im Mitochondrium. Die Subtypen II, III und V werden unter anderem in den Adipocyten exprimiert (Tabelle 1-3) [152-155]. Verschiedene Studienergebnisse mit CA-Inhibitoren lassen eine Rolle der Carboanhydrase im Stoffwechsel der Adipocyten und in der hepatischen *de novo* Lipogenese vermuten [153,156,157]. Möglicherweise stellt die Carboanhydrase im Adipozyten Bicarbonat als Substrat für die Pyruvat-Carboxylase im Rahmen der Gluconeogenese bereit, welche wiederum überschüssiges Citrat für die Fettsäuresynthese bereitstellt. Durch die Hemmung dieses Mechanismus zeigte sich in kultivierten Adipozyten eine verminderte Lipogenese [127]. Zusätzlich zu diesen Ergebnissen wurden außerdem Gewichts- und Appetitverlust als Nebenwirkungen unter Behandlung mit Carboanhydrasehemmern beobachtet [158,159].

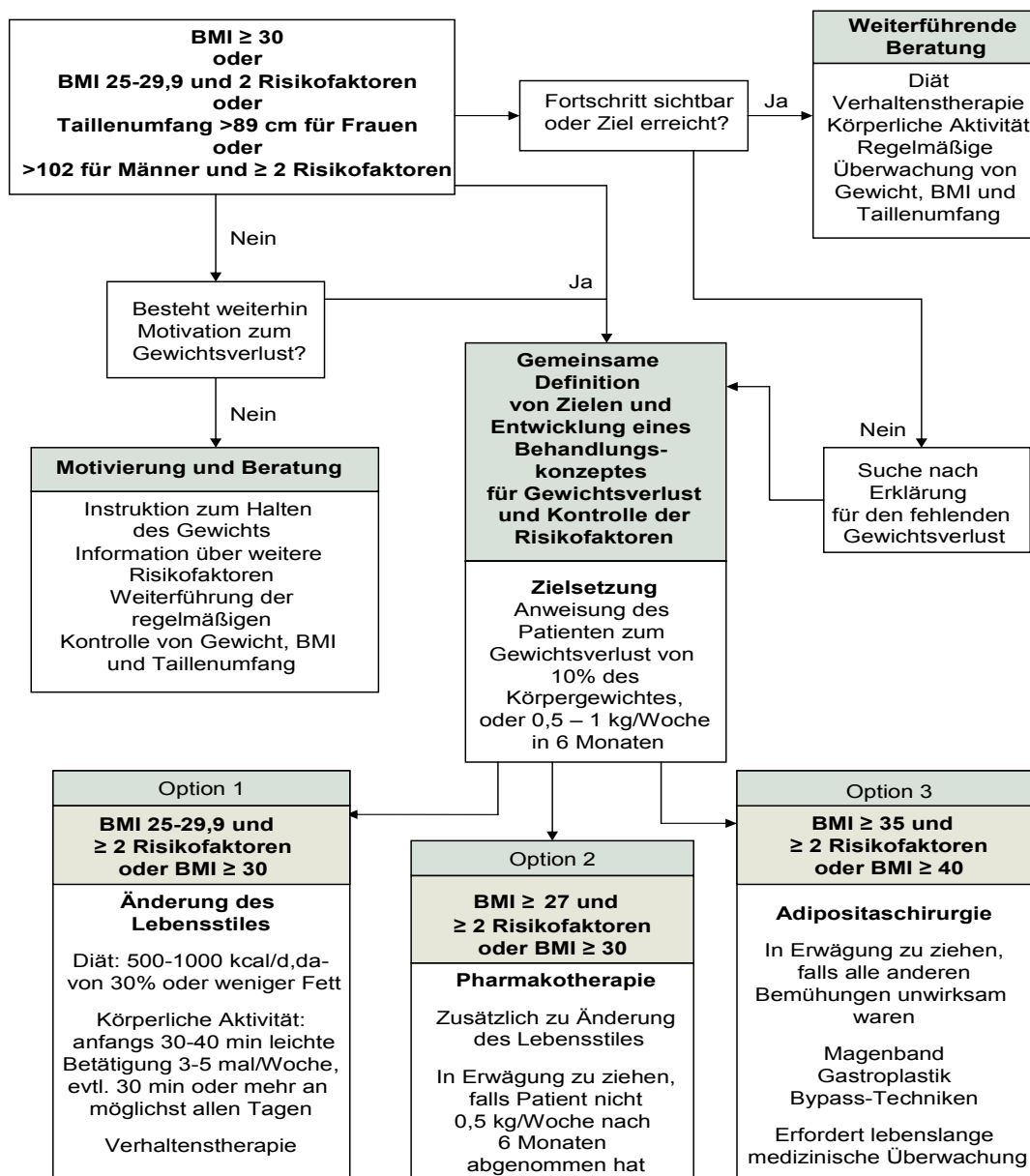


Abbildung 1-6: Aktuelle Guidelines in der Behandlung von Adipositas [69].

1.5 Aktuelle Guidelines im „Obesity-Management“

Die Abbildung 1-6 zeigt die aktuellen Guidelines in der Therapie der Adipositas [160]. Es wird je nach individuellem Fall eine Kombinationstherapie aus einer Änderung des Lebensstils mit Diät und Sport zusätzlich zu einer wirksamen medikamentösen Behandlung empfohlen [60,70,161-163].

1.6 Ziele der Arbeit

1.6.1 Versuch 1

In der Behandlung chronischer Krankheiten sind medikamentöse Kombinationstherapien aus verschiedenen therapeutischen Klassen zur Wirkungsverstärkung oder zur Verminderung unerwünschter Nebeneffekte wie z.B. bei der Behandlung einer Hypertonie oder eines Diabetes mellitus schon lange etabliert. Die heutige klinische Erfahrung in der Therapie von Übergewicht zeigt, dass auch dort häufig ein einzelner Wirkmechanismus eines bestimmten Medikaments nicht ausreicht, um einen anhaltenden und ausreichend starken Gewichtsverlust zu erreichen. Deshalb sind Überlegungen gerechtfertigt, unterschiedlich wirkende Medikamente zu kombinieren, um zufriedenstellende Ergebnisse zu erhalten. Es erscheint sinnvoll, ein peripher wirkendes Medikament mit einem zentral wirksamen zu kombinieren, um eventuelle starke ZNS-Nebenwirkungen zu relativieren. Versuch 1 der vorliegenden Arbeit erforscht die Wirksamkeit von SLV319, einem selektiven CB₁ Rezeptorantagonisten in Kombination mit Orlistat (Xenical[®]), einem bekannten und sich schon im Handel befindlichen wirksamen Inhibitor der gastrointestinalen Lipase. Es wurden Körpergewichtsentwicklung, Futter- und Wasseraufnahme, Blutwerte und Zusammensetzung der Karkasse im Tierversuch mit männlichen Wistar-Ratten untersucht. Das Ziel der Studie war die Erforschung einer eventuellen Wirkungsverstärkung von SLV319 in Kombination mit Orlistat.

1.6.2 Versuch 2

Zur Zeit sind Carboanhydrasehemmer als Therapeutika bei Glaukom, Epilepsie und bei Tumoren in Anwendung. Dabei ist die Hemmung bestimmter Subtypen der CA von Bedeutung. So werden beispielsweise in der Behandlung des Glaukoms die Subtypen II und XII gehemmt, in der Epilepsie die Subtypen VII und II. Versuch 2 untersucht ein mögliches Potential dieses Mechanismus in der Therapie der humanen Adipositas. Neueste Ergebnisse zeigen, dass dort die Hemmung des Subtyps V verantwortlich ist, welches unter anderem durch das Medikament Topiramate geschieht. Es sind bereits in zahlreichen Studien verschiedene Auswirkungen von Topiramate auf Fress- und Trinkverhalten, Körperzusammensetzung und Blutwerte festgestellt worden. Dennoch ist nicht vollständig verstanden, durch welchen

seiner vielen Wirkmechanismen der Energiehaushalt beeinflusst wird. Versuch 2 dieser Arbeit soll Klarheit über einen eventuellen Einfluss der Hemmung der Carboanhydrase bringen. Die vorliegende Studie erforscht somit die Auswirkungen von SLV335, einem neuen Carboanhydrasehemmer, auf Körpergewicht, Futter- und Wasseraufnahme bei weiblichen Wistarratten im Vergleich zu Topiramat, und damit die potenziellen Einsatzmöglichkeiten in der Pharmakotherapie von Übergewicht.

1.6.3 Versuch 3

Versuch 3 untersucht die Auswirkungen von SLV330, einem neuen CB₁-Antagonisten im Vergleich zu Rimonabant, das sich schon im Handel befindet. Letzteres hat bereits in einer Reihe von Tiermodellen einen appetitvermindernden Effekt gezeigt (s.o.). In vorhergehenden Studien im Solvay-Labor (persönliche Kommunikation, nicht veröffentlicht) wurde jedoch festgestellt, dass die Wirksamkeit von SLV330 entweder durch verminderte Bioverfügbarkeit und/oder durch zu schnelle Ausscheidung der Substanz eingeschränkt war. Um die Bioverfügbarkeit als einen möglichen Einflussparameter auszuschalten, wurden in der vorliegenden Studie sowohl SLV330 als auch Rimonabant intraperitoneal verabreicht. Also sollen hier die Effekte von SLV330 auf Körpergewicht, Futter- und Wasseraufnahme und besonders auf die Blutwerte bei männlichen Wistarratten im Vergleich zu Rimonabant dargestellt werden. Mit Hilfe mehrere Blutabnahmen über einen Zeitraum von 10 Stunden hinweg wurde versucht, besondere Erkenntnisse im Wirkmechanismus beider Substanzen im Vergleich zu gewinnen.

1.6.4 Versuch 4

Versuch 4 beschäftigt sich mit den Auswirkungen von Topiramat auf den Energiehaushalt. In vorausgehenden Studien mit Zuckerratten aus dem Solvay-Labor (nicht veröffentlicht, persönliche Kommunikation) zeigte sich ein Gewichtsverlust lediglich über eine Verminderung an Körperwasser, einem eventuellen diuretischen Effekt des Topiramats. Es wurde bei diesen Tieren, die mit kohlenhydratreicher Nahrung gefüttert worden waren, keine Auswirkung auf den Fettgehalt festgestellt. Infolgedessen untersucht der vorliegende Versuch die Wirkung von Topiramat an Zuckerratten, die durch Gabe einer zucker- und fettreichen Diät fettleibig gemacht werden, ein Umstand, der die klinische Situation möglicherweise besser widerspiegelt.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Rahmenbedingungen

Die Versuche waren von der Regierung Oberbayern genehmigt. Der experimentelle Teil sowie die statistische Auswertung wurden im Walther-Straub-Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt, die Analyse der Blutproben durch die Firma LPT, Hamburg, und die Carcass-Analyse durch die Firma RenaSci Consultancy Ltd., Nottingham, England. Die Versuche wurden von der Firma Solvay, Hannover, beauftragt und finanziert.

2.2 Material

Insgesamt beinhaltet die Arbeit 4 Versuche, die im Zeitraum November 2003 bis Mai 2004 durchgeführt wurden (Versuch 1: November/Dezember 2004; Versuch 2: Februar/März 2003). Versuch 3 und 4 fanden zeitgleich im selben Raum statt (April/Mai 2004).

2.2.1 Tierversuche

2.2.1.1 Tiere

Spezies:	Ratten
Stamm:	Wistar Unilever, HsdCpb:WU (Versuche 1-3)
Geschlecht:	männlich (Versuche 1 und 3) oder weiblich (Versuch 2)
Alter bei Lieferung:	6-7 Wochen
Gewicht bei Lieferung:	160-180 g (Versuche 1 und 3), 140–160 g (Versuch 2)
Lieferant:	Harlan Winkelmann, Borchten

Spezies:	Ratten
Stamm:	Zuckerratten, HsdHlr:Zucker- <i>fa/fa</i> (Versuch 4)
Geschlecht:	männlich
Alter bei Lieferung:	6-7 Wochen
Gewicht bei Lieferung:	175-205 g
Lieferant:	Harlan Winkelmann, Borchten

2.2.1.2 Tierfutter

Experimentalfutter, fett- und zuckerreich, hergestellt von ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, auf Basis der RD Western Diet **D-12079B** von Research Diet, USA (4.70 kcal/g: Fett 40,3% kcal, Kohlenhydrate 42,7% kcal, Proteine 17% kcal).

2.2.1.3 Tierhaltung

Polycarbonat-Käfig Typ II (B/T/H = 207/265/140 mm) mit Raufe und Trinkflasche (Ehret GmbH, Emmendingen)

Einstreu: Weichholzgranulat, Lignocel 3-4 (ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest)

2.2.1.4 Tägliches Wiegen

Waage für Tiere: 1-2000 g, 0,5 g Skala (Bizerba, Balingen)

Waage für Futter und Wasser: 0,1-200 g, 0,1 g Skala (Mettler-Toledo, Giessen)

2.2.1.5 Tägliche Behandlung

Spritzen: Polypropylen, 1 ml (Braun, Melsungen)

Knopfkanülen: Volumen 0,07 ml (Hauptner, Solingen)

Magnetrührer (IKA, Staufen)

2.2.1.6 Tötung der Versuchstiere

Tabelle 2-1: Verwendete Materialien zum Töten der Versuchstiere

Versuch 1	Versuch 2 und 4	Versuch 3
Schere	Ether-Box	Schere
Röhrchen	Glasspritze	Röhrchen
Papiertücher	Kanüle	Papiertücher
Stoppuhr	Heparin	Stoppuhr
Gefrierbeutel	Röhrchen	Gefrierbeutel
CO ₂ -Box	Papiertücher	CO ₂ -Box
Zentrifuge	Stoppuhr	Zentrifuge
Pipetten	Gefrierbeutel	Pipetten
	CO ₂ -Box	
	Zentrifuge	
	Pipetten	

2.2.1.7 Aufbewahrung

Tiefkühltruhe, - 20 °C (GFK, Labor Schubert, Schwandorf)

2.3 Chemikalien

2.3.1 Verabreichte Substanzen

- Orlistat Tetrahydrolipstatin, (1S)-1-[[[(3S,4S)-3-Hexyl-2-oxo-4-oxetanyl]methyl]dodecyl(2S)-2-formylamino-4-methylpentanoat isoliert von Solvay aus Xenical[®] (B 10550341; S 10147906)
- Rimonabant SR 141716A, N-Piperidiny-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methylpyrazole-3-carboxamide isoliert von Solvay aus Acomplia[®] (B 10720098; S 10065936)
- SLV319 (4S)-3-(4-Chlorophenyl)-4,5-dihydro-4-phenyl-N-methyl-N'-[(4-chlorophenyl)sulphonyl]-1H-pyrazol-1-carboximidamid (B 10715932; S 20199346)
- SLV330 Solvay Versuchssubstanz (B 10720313; S 20212990)
- SLV335 Solvay Versuchssubstanz (B 10718462; S 10194443)
- Topiramate 2,3:4,5-Di-*O*-Isopropyliden- β -*D*-fructopyranosesulfamat isoliert von Solvay aus Topamax[®] (B 10706768; S 10084654)

2.3.2 Lösungsmittel

Aqua dest (Reinstwasser) filtriertes deionisiertes Wasser, Membrapur, Bodenheim

Labrasol (Batch N^o 31132, Gattefossé, Weil am Rhein, Deutschland)

Carboxymethylcellulose (CMC) (medium viscosity, C-4888, Sigma, Taufkirchen, Deutschland)

Pluronic F-68 (10%) (P5556-100ML, Sigma, Taufkirchen, Deutschland)

Polyethylenglykol (PEG), Lutrol E 400, BASF, Ludwigshafen

Tabelle 2-2: Verwendete Chemikalien

Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
Orlistat	Topiramate	Rimonabant	Topiramate
SLV319	SLV335	SLV330	--
CMC	PEG-CMC	CMC	PEG-CMC
Pluronic	--	--	--
Labrasol	--	--	--

Alle Kontrolltiere erhielten die jeweilig in den Versuchen verwendeten Lösungsmittel ohne Substanzen (Placebo).

2.4 Herstellen der Lösungen / Suspensionen

Die Lösungen wurden jeweils für eine Woche angesetzt. Als Applikationsvolumen wurde 1 ml/kg Körpergewicht gewählt, damit bei dem zu erwartenden Höchstgewichten der Ratten von 500 g (Wistarratten) oder 700 g (Zuckerratten) genügend Spielraum blieb, um bei Verwendung von 1 ml Spritzen eine sichere Reserve für Applikationsfehler und den Verbleib im Totraum der Knopfkanülen (0,07 ml) zu haben. Die Lösungen wurden bei Raumtemperatur unter ständigem Rühren auf Magnetrührern aufbewahrt, auf welchen sie zur Behandlung auf Körpertemperatur (ca. 37 °C) angewärmt wurden. Die Lösungen wurden anschließend mit 1 ml Spritzen appliziert, an welche die Knopfkanülen mit einem Volumen von 0,07 ml zur Schlündelung der Tiere angeschlossen wurden.

2.4.1 Versuch 1

2.4.1.1 Vehikellösung

Als Vehikel (Placebo) diente:

1%iges CMC + 0,5%iges Pluronic: Gruppen Kontrolle und Orlistat im 1. Schlündeldurchgang

- 25%iges Labrasol: Gruppen Kontrolle, SLV319-3 und SLV319-10 im 2. und 3. Schlündeldurchgang

Tabelle 2-3: Erstellen der Vehikellösung für Versuch 1

Versuch 1:	Schlündeldurchgang 1 (Kontrolle bzw. Orlistat)	Schlündeldurchgang 2+3 (Kontrolle, SLV319-3 bzw. SLV319-10)
Anzahl der Tiere	16	24
Dosis	10 mg/ml	
Applikationsvolumen	1 ml/kg KG	
Volumen für 1 Woche	100 ml	
Volumen CMC	1 g	--
Volumen Pluronic	5 ml	--
Volumen CMC gesamt	95 ml	--
Volumen Labrasol	--	25 ml
Volumen Aqua dest	100 ml	75 ml

Für die 1%ige Carboxymethylcellulose-Lösung wurde je nach gewünschtem Volumen eine bestimmte Menge CMC in einem entsprechenden Volumen destilliertem Wasser gelöst. Dies geschah unter 2 Stunden Rühren bei 50 ° C auf einem Magnetrührer. Anschließend wurde eine dem Volumen Pluronic entsprechende Menge der Lösung abgenommen (z.B. 5 ml) und das entsprechende Volumen Pluronic (z.B. 5 ml) zugefügt. Danach wurde die Lösung über 24 Stunden gerührt. Für die Labrasol-Vehikellösung wurde eine bestimmte Menge Labrasol 1:4 mit Aqua dest verdünnt.

Die zum Vorversuch benötigten Vehikellösungen wurden nach dem gleichen Schema angesetzt. Die Tiere erhielten in allen Versuchen die 1%ige CMC-Lösung.

2.4.1.2 SLV319-Suspension

Es wurden 2 verschieden konzentrierte SLV319-Suspensionen verwendet:

- 3 mg SLV319/ml Suspension für die Gruppe SLV319-3 und SLV319-3+Orlistat im Schlündeldurchgang 1
- 10 mg SLV319/ml Suspension für die Gruppe SLV319-10 und SLV319-10+Orlistat im Schlündeldurchgang 1

Pulverisiertes SLV319 wurde unter zusätzlicher Verwendung von Pluronic in der 1%igen CMC Lösung suspendiert. Zuerst wurde eine bestimmte Menge SLV319 durch Zugabe von Pluronic angelöst, dies wurde durch zehn Minuten Rühren auf einem beheizbaren Magnetrührer (50 °C) erreicht. Dann wurden die entsprechende Menge der 1%igen CMC-Lösung zugegeben.

Tabelle 2-4: Erstellen der SLV319-Suspensionen für Versuch 1

Versuch 1:	SLV319-3 bzw. SLV319-3 + Orlistat	SLV319-10 bzw. SLV319-10 + Orlistat
Anzahl der Tiere	16	16
Dosis	3 mg/ml	10 mg/ml
Applikationsvolumen	1 ml/kg KG	
Volumen für 1 Woche	100 ml	
Menge SLV319	0,3 g	1 g
Volumen CMC	95 ml	
Volumen Pluronic	5 ml	

2.4.1.3 Orlistat-Lösung

- 50 mg Orlistat/ml Lösung für die Gruppen Orlistat, SLV319-3+Orlistat bzw. SLV319-10+Orlistat im Schlündeldurchgang 2 und 3

Zuerst wurde kristallines Orlistat zu einer bestimmten Menge Labrasol unter ständigem Rühren bei 40 °C auf dem beheizbaren Magnetprüher (20-30') gegeben, bis sich alle Kristalle in Lösung befanden. Anschließend wurde eine entsprechende Menge Aqua dest zugegeben, unter ständigem Rühren (30') bei 40 °C.

Tabelle 2-5: Erstellen der Orlistat-Lösung für Versuch 1

Versuch 1:	Orlistat, SLV319-3 + Orlistat bzw. SLV319-10 + Orlistat
Anzahl der Tiere	24
Dosis	50 mg/ml
Applikationsvolumen	1 ml/kg KG
Volumen für 1 Woche	200 ml
Menge Orlistat	10 g
Volumen Labrasol	50 ml
Volumen Aqua dest	150 ml

2.4.2 Versuch 2

2.4.2.1 Vehikellösung

- für die Kontrolle: 2%ige PEG-CMC-Lösung

Zur Herstellung der 2% Polyethylenglykol (PEG) enthaltenden Vehikellösung wurde einem bestimmten Volumen der 1%igen CMC-Lösung das entsprechende Volumen flüssiges PEG zugesetzt (nach 2 Stunden Rühren bei 50 °C auf Magnetprüher).

Tabelle 2-6: Erstellen der Vehikellösung für Versuch 2

Versuch 2:	Kontrolle
Anzahl der Tiere	8
Dosis	10 mg/ml
Applikationsvolumen	1 ml/kg KG
Volumen für 1 Woche	100 ml
Volumen CMC	1 g
Volumen PEG	2 ml
Volumen CMC gesamt	98 ml
Volumen Aqua dest	100 ml

2.4.2.2 Topiramatlösung

Es wurden drei verschieden konzentrierte Topiramat-Suspensionen verwendet:

- T 30:
 - die Morgensuspension mit 10 mg Topiramat/ml Suspension
 - die Abendsuspension mit 20 mg Topiramat/ml Suspension
- T 60:
 - die Morgensuspension mit 20 mg Topiramat/ml Suspension
 - die Abendsuspension mit 40 mg Topiramat/ml Suspension
- T 100:
 - die Morgensuspension mit 33,3 mg Topiramat/ml Suspension
 - die Abendsuspension mit 66,6 mg Topiramat/ml Suspension

Pulverisiertes Topiramat wurde unter zusätzlicher Verwendung von PEG in der 1%igen CMC Lösung gelöst. Zuerst wurde z.B. 1 g Topiramat durch Zugabe von 2 ml PEG innerhalb einige Minuten bei 40 °C angelöst. Nach der Zugabe von 98 ml 1%ige CMC-Lösung wurde diese Suspension für 24 Stunden in einem geschlossenen Erlenmeyer bei 60-70 °C gerührt.

Tabelle 2-7: Erstellen der Topiramat-Suspensionen für Versuch 2

Versuch 2:	T 30		T 60		T 100	
Anzahl der Tiere	8					
Dosis Morgens/Abends	10 mg/ml	20 mg/ml	20 mg/ml	40 mg/ml	33,3 mg/ml	66,6 mg/ml
Applikationsvolumen	1 ml/kg KG					
Volumen für 1 Woche	100 ml					
Menge Topiramat	1 g	2 g	2g	4 g	3,33 g	6,66 g
Volumen CMC	98 ml					
Volumen PEG	2 ml					

2.4.2.3 SLV335-Suspension

Es wurden jeweils drei verschieden konzentrierte SLV335-Suspensionen verwendet:

- SLV 30:
 - die Morgensuspension mit 10 mg SLV335/ml Suspension
 - die Abendsuspension mit 20 mg SLV335/ml Suspension

- SLV 60:
 - die Morgensuspension mit 20 mg SLV335/ml Suspension
 - die Abendsuspension mit 40 mg SLV335/ml Suspension
- SLV 100:
 - die Morgensuspension mit 33,3 mg SLV335/ml Suspension
 - die Abendsuspension mit 66,6 mg SLV335/ml Suspension

Für diese Suspensionen wurde pulverisiertes SLV335 unter zusätzlicher Verwendung von PEG in der 1%igen CMC Lösung gelöst. Dies geschah schrittweise in gleicher Weise wie oben für die Topiramat-Suspension beschrieben.

Tabelle 2-8: Erstellen der SLV335-Suspensionen für Versuch 2

Versuch 2:	SLV335-30		SLV335-60		SLV335-100	
Anzahl der Tiere	8					
Dosis Morgens/Abends	10 mg/ml	20 mg/ml	20 mg/ml	40 mg/ml	33,3 mg/ml	66,6 mg/ml
Applikationsvolumen	1 ml/kg KG					
Volumen für 1 Woche	100 ml					
Menge SLV335	1 g	2 g	2g	4 g	3,33 g	6,66 g
Volumen CMC	98 ml					
Volumen PEG	2 ml					

2.4.3 Versuch 3

2.4.3.1 Vehikellösung:

- für die Kontrolle: 1%ige CMC-Lösung

Tabelle 2-9: Erstellen der Vehikellösung für Versuch 3

Versuch 3:	Kontrolle
Anzahl der Tiere	8
Dosis	10 mg/ml
Applikationsvolumen	1 ml/kg KG
Volumen für 1 Woche	100 ml
Volumen CMC	1 g
Volumen Aqua dest	100 ml

Für die 1%ige Carboxymethylcellulose-Lösung wurde je nach gewünschtem Volumen eine bestimmte Menge CMC in einem entsprechenden Volumen destilliertem Wasser gelöst. Dies geschah unter 2 Stunden Rühren bei 50 °C auf einem Magnetrührer.

2.4.3.2 SLV330-Suspension

Es wurden zwei verschieden konzentrierte SLV330-Suspensionen verwendet:

- SLV330 (3 mg/kg KG und 10 mg/kg KG)

Pulverisiertes SLV330 wurde in der 1%igen CMC Lösung suspendiert und anschließend 12 Stunden in einem geschlossenen Erlenmeyer bei ca. 50 °C gerührt.

Tabelle 2-10: Erstellen der SLV330-Suspensionen für Versuch 3

Versuch 3:	SLV330-3	SLV330-10
Anzahl der Tiere	8	8
Dosis	3 mg/ml	10 mg/ml
Applikationsvolumen	1 ml/kg KG	
Volumen für 1 Woche	100 ml	
Menge SLV335	0,3 g	1 g
Volumen CMC	1 g	
Volumen Aqua dest	100 ml	

2.4.3.3 Rimonabant-Suspension

- Rimonabant (3 mg/kg KG und 10 mg/kg KG)

Pulverisiertes Rimonabant wurde in der 1%igen CMC Lösung suspendiert und anschließend 12 Stunden in einem geschlossenen Erlenmeyer bei ca. 50 °C gerührt.

Tabelle 2-11: Erstellen der Rimonabant-Suspensionen für Versuch 3

Versuch 3:	Rimonabant-3	Rimonabant-10
Anzahl der Tiere	8	8
Dosis	3 mg/ml	10 mg/ml
Applikationsvolumen	1 ml/kg KG	
Volumen für 1 Woche	100 ml	
Menge Rimonabant	0,3 g	1 g
Volumen CMC	1 g	
Volumen Aqua dest	100 ml	

2.4.4 Versuch 4

2.4.4.1 Vehikellösung:

- für die Kontrolle: 2%ige PEG-CMC-Lösung

2.4.4.2 Topiramatlösung

Es wurden zwei verschieden konzentrierte Topiramat-Suspensionen verwendet:

- T 30 :
 - die Morgensuspension mit 10 mg Topiramat/ml Suspension
 - die Abendsuspension mit 20 mg Topiramat/ml Suspension
- T 100:
 - die Morgensuspension mit 33,3 mg Topiramat/ml Suspension
 - die Abendsuspension mit 66,6 mg Topiramat/ml Lösung

Die Herstellung der Lösungen entspricht Versuch 2.

2.5 Durchführung der Tierversuche

Insgesamt wurden 4 Versuche durchgeführt. Versuch 3 und Versuch 4 fanden zeitgleich im selben Raum statt. In Versuch 1, Versuch 2 und Versuch 3 wurden etwa 6-7 Wochen alte männliche (Versuch 1 und Versuch 3) oder weibliche (Versuch 2) Wistarratten verwendet, in Versuch 4 6-7 Wochen alte männliche Zuckerratten. In Tabelle 2-16 findet sich eine Auflistung der wesentlichen Behandlungs- und Messparameter der einzelnen Versuche.

2.5.1 Haltung und Ernährung der Tiere

Der Tierstall war an eine automatische Klimaanlage angeschlossen, welche einen zehnfachen Raumluf austausch pro Stunde gewährleistete. Die Lufttemperatur lag bei 21 ± 2 °C. Mittels einer automatischen Zeitschaltuhr wurde ein 12 Stunden Tag-Nacht-Rhythmus simuliert (in Versuch 1: Licht von 22.00 Uhr bis 10.00 Uhr, bei Bedarf wurde für Behandlungs- und Futterentnahmezeiten in der Dunkelphase der Raum mit 3 Rotlichtlampen beleuchtet; in Versuch 2, Versuch 3 und Versuch 4: Licht von 7.00 Uhr bis 19.00 Uhr). Während des Versuches wurden die Tiere einzeln in Polykarbonatkäfigen gehalten, die mit einem Edelstahldeckel mit durchgehender Futterraufe versehen waren. Die Käfige wurden mit Weichholzgranulat eingestreut, welches alle drei Tage gewechselt wurde. Die Aufstellung der Gruppen erfolgte auf vier übereinander angebrachten, über die ganze Länge des Raumes reichenden Regalen. Die Käfige wurden nach einem bestimmten Schema positioniert, welches die gleichmäßige Verteilung der Tiere im Raum sicherstellte, und somit im Mittel für die ver-

schiedenen Gruppen gleiche Licht- und Luftzugsbedingungen galten. Ein möglicher Einfluss dieser beiden Parameter auf die Ergebnisse wurde dadurch minimiert. Das fett- und zuckerreiche Futter wurde den Ratten in die Raufe des Deckels gelegt. Der tägliche Futtermittelverzehr wurde durch Einwaage der vorgelegten Futtermenge (je 30 g in den Versuch 1 bis 3 und 50 g in Versuch 4) und Rückwaage der nach 24 Stunden verbliebenen Menge bestimmt. Die Trinkwasserversorgung (Leitungswasser) erfolgte ad libitum über Tränkeflaschen mit aufgesetzten Tränkenippeln, welche täglich gewogen und alle 2-3 Tage gereinigt und nachgefüllt wurden. Durch Rückwaage der Tränkeflaschen nach 24 Stunden wurde die tägliche Wasseraufnahme bestimmt.

2.5.2 Adaptationsphase

Nach der Anlieferung wurde der Allgemeinzustand der Tiere adspektorisch geprüft, bevor sie zur Gewöhnung an die neue Umgebung in Einzelkäfigen eingestallt wurden. Die ad libitum Versorgung der Tiere mit Futter und Trinkwasser während dieser Zeit wurde durch tägliche Kontrolle sichergestellt.

In Versuch 1 erfolgte außerdem eine 2 Wochen dauernde Tag-Nacht-Umstellung.

2.5.3 Vorversuch

Es folgte in Versuch 1, Versuch 2 und Versuch 4 eine 7 Tage dauernde und in Versuch 3 eine 14 Tage dauernde Vorversuchszeit (= Tag -7 bis -1 bzw. Tag -14 bis -1) zur Stabilisierung des täglichen Körpergewichtszuwachses, der Futter- und der Wasseraufnahme.

2.5.3.1 Dokumentation des Körpergewichts, des Futter- und des Wasserverbrauchs

Während dieser Vorbehandlungszeit wurden täglich morgens zum gleichen Zeitpunkt die Tiere gewogen. Dabei wurde das Gewicht der Ratten auf fünf Gramm genau, der tägliche Futter- und Wasserverbrauch jeweils auf ein Gramm genau bestimmt.

2.5.3.2 Gruppeneinteilung und Randomisierung

In **Versuch 1** erfolgte am 4. Tag nach Beginn der Vorschlundelung (s.u.) die Zuteilung der Tiere zu einer der sechs Behandlungsgruppen (Kontrolle, SLV319-3, SLV319-10, Orlistat, SLV319-3+Orlistat, SLV319-10+Orlistat, N = 8), d.h. an Tag -3 (Kontrolle und SLV319-3), -4 (SLV319-10 und Orlistat) und -5 (SLV319-3+Orlistat und SLV319-10+Orlistat).

Im Gegensatz dazu wurden alle Tiere in **Versuch 2** die ersten Tage der Vorversuchsphase „anonym“ ad libitum gefüttert, und erst am Tag -3 (Kontrolle und Topiramid (T) 30), -4 (T 60 und T 100), -5 (SLV335-30 und SLV335-60) und -6 (SLV335-100) vor Beginn der Vor-

schlündelung (Tag -3) den einzelnen Behandlungsgruppen zugeteilt (Kontrolle, T 30, T 60, T 100, SLV330-30, SLV335-60, SLV335-100, N=8).

Im Gegensatz zu den anderen Versuchen erfolgte bei **Versuch 3** eine 13 Tage dauernde Vorversuchszeit, in der die Tiere ebenfalls „anonym“ ad libitum gefüttert wurden und dann am Tag -3 (Kontrolle und SLV330-3), Tag -4 (SLV330-10 und Rimonabant, R-3) bzw. Tag -5 (R-10) vor Beginn der Vorbehandlung (Tag -3) den einzelnen Gruppen zugeteilt wurden (Kontrolle, SLV330-3, SLV330-10, R-3, R-10, N=8).

In **Versuch 4** erfolgte der Vorversuch entsprechend Versuch 2, d.h. die Tiere wurden ebenfalls die ersten Tage der Vorversuchsphase „anonym“ ad libitum gefüttert und dann am Tag -3 (Kontrolle und T-30) und -4 (T-100) vor Beginn der Vorschlündelung (Tag -2) den einzelnen Behandlungsgruppen zugeteilt (Kontrolle, T-30, T-100, N=8).

In allen vier Versuchen wurden die Tiere einer Gruppe jeweils von 1 bis 8 nummeriert. Bei der Gruppeneinteilung wurde darauf geachtet, dass das mittlere Gewicht der vier Gruppen annähernd gleich war. Es fand aber keine gezielte Randomisierung in Hinblick auf die Körpergewichte der einzelnen Tiere statt.

2.5.4 Vorbehandlung

In allen vier Versuchen wurden alle Tiere vor Beginn des Hauptversuches mit einer 1%igen CMC-Lösung (1 ml/kg KG) behandelt. In den Versuch 1, 2 und 4 erhielten die Ratten die Lösung über eine Schlundsonde, in Versuch 3 intraperitoneal (i.p.).

Es wurde für die Dauer von 7 Tagen (Versuch 1) bzw. 3 Tagen (Versuche 2- 4) vorbehandelt, dabei wurde sich jeweils an das gleiche Zeitprotokoll gehalten (s.u.) wie es im Hauptversuch Anwendung fand.

Diese Vehikelbehandlung vor Beginn des eigentlichen Versuches wurde durchgeführt, um die Tiere an das Einführen der Schlundsonde oder an das i.p. Spritzen zu gewöhnen. Somit sollten eventuelle Einflüsse auf das Körpergewicht und die Futter-/Wasseraufnahme zu Beginn des Hauptversuchs vermieden werden.

2.5.5 Hauptversuch

An diese Vorversuchszeit schloss sich der 28-tägige (Versuche 1, 2 und 4) bzw. 14-tägige (Versuch 3) Hauptversuch an. Der Tag der ersten Behandlung wurde jeweils als Tag 0 festgelegt. Von diesem Tag an wurden die Tiere je nach Gruppenzugehörigkeit wie folgt behandelt:

2.5.5.1 Versuch 1

Es fanden 3 Schlündeldurchgänge statt (s.u.):

Schlündeldurchgang 1:

- Kontrolle und Orlistat erhielten ein gewichtsadaptiertes Volumen (1 ml/kg KG) der Vehikellösung (1% CMC + 0,5% Pluronic)
- SLV319-3 und SLV319-3+Orlistat erhielten 3 mg/kg KG SLV319 durch Gabe eines gewichtsadaptierten Volumens (1 ml/kg KG) der entsprechenden SLV319-Suspension
- Gruppe SLV319-10 und SLV319-10+Orlistat erhielten 10 mg/kg KG SLV319 durch Gabe eines gewichtsadaptierten Volumens (1 ml/kg KG) der entsprechenden SLV319-Suspension

Schlündeldurchgang 2+3:

- Kontrolle, SLV319-3 und SLV319-10 erhielten ein gewichtsadaptiertes Volumen (1 ml/kg KG) der Labrasol-Lösung
- Orlistat, SLV319-3+Orlistat und SLV319-10+Orlistat erhielten 50 mg/kg KG Orlistat durch Gabe eines gewichtsadaptierten Volumens (1 ml/kg KG) der entsprechenden Orlistat-Lösung

Tabelle 2-12: Zeitprotokoll über Schlündelung und Fütterung in Versuch 1

Versuch 1	Schlündelung 1	Schlündelung 2	Schlündelung 3
<i>Zeit:</i>	<i>8.00 Uhr</i>	<i>9.00 Uhr</i>	<i>14.30 Uhr</i>
<i>Gruppe:</i>	<i>(Lichtphase)</i>	<i>(Lichtphase)</i>	<i>(Dunkelphase)</i>
Kontrolle	CMC Vehikel	Labrasol Vehikel	Labrasol Vehikel
SLV319-3	3 mg/kg SLV319	Labrasol Vehikel	Labrasol Vehikel
SLV319-10	10 mg/kg SLV319	Labrasol Vehikel	Labrasol Vehikel
Orlistat	CMC Vehikel	50 mg/kg Orlistat	50 mg/kg Orlistat
SLV319-3+Orlistat	3 mg/kg SLV319	50 mg/kg Orlistat	50 mg/kg Orlistat
SLV319-10+Orlistat	10 mg/kg SLV319	50 mg/kg Orlistat	50 mg/kg Orlistat
		Fütterung 1 (2,5 h)	Fütterung 2 (2,5 h)

Die Tiere erhielten jeweils nach Schlündeldurchgang 2 und 3, also nach Gabe von entweder Labrasol-Vehikel oder Orlistat-Lösung genau für 2,5 Stunden Futter ad libitum. Wasser wurde die ganze Versuchszeit ad libitum zur Verfügung gestellt.

Dokumentation des Körpergewichts, des Futter- und der Wasserverbrauchs

Die während der Vorbehandlung begonnene tägliche Dokumentation der Körpergewichte, des Futterverbrauchs und der Trinkwasseraufnahme wurde im Hauptversuch fortgeführt. Morgens wurde zuerst der Wasserverbrauch bestimmt, anschließend jedes Tier gewogen und entsprechend seines Körpergewichtes geschlündelt. Für jede Ratte wurde dabei eine Minute gerechnet. Folglich betrug die Dauer für einen Schlündeldurchgang ca. 50 Minuten. Im Anschluss an Schlündelung 1 folgte unmittelbar Schlündeldurchgang 2. Die letzte Schlündelung wurde in der Dunkelphase durchgeführt, dabei galt das am Vormittag bestimmte Gewicht als Grundlage für das Schlündelvolumen.

Um gleiche Bedingungen für alle Gruppen zu gewährleisten, wurde ein Rotationsprinzip entwickelt, demzufolge jeden Tag eine andere Gruppe zuerst geschlündelt wurde. Wenn z. B. an Tag x die Gruppe A die erste war, gefolgt von Gruppe B usw. und Gruppe F die zuletzt behandelte Gruppe war, dann wurde am Tag x+1 mit Gruppe F begonnen, es folgte Gruppe A und zuletzt folglich die Gruppe E. Dabei wurde für jede Ratte individuell eine Fütterungszeit von 2,5 Stunden eingehalten. Es wurde also täglich jeweils ab 11.30 Uhr und ein zweites Mal ab 17.00 Uhr pro Minute aus dem jeweilig zugehörigen Käfig Futter entnommen und der Verbrauch bestimmt.

Blutentnahme, Tötung und Aufbewahrung der Tiere am Versuchsende

Die Tiere waren zur Blutentnahme nüchtern. Das Futter wurde ihnen in der vorangehenden Nacht 17 Stunden vor der geplanten Blutentnahme entzogen (Tag 27; 17.00 Uhr). Am Tag 28 wurde am Ende der Lichtphase, 2 Stunden nach dem 1. Schlündeldurchgang, die Blutabnahme vorgenommen. Zur Vasodilatation wurde der Schwanz einige Minuten in warmen Wasser massiert, bevor die Schwanzspitze um 1 cm gekappt wurde. Das Vollblut (ca. 1 ml) wurde in Probenröhrchen aufgefangen und für ca. 20 Minuten bei Raumtemperatur gelagert, um die Blutgerinnung zu gewährleisten. Bei der anschließenden Zentrifugation (10 Min., 3500 x g bei 4 °C) wurde das Serum von der Zellfraktion getrennt, in separate Probenröhrchen pipettiert (ca. 0,5 ml) und bis zur weiteren Aufarbeitung für die Bestimmung von Glucose, Insulin, freiem und Gesamtcholesterin, HDL, LDL und Triglyzeride, sowie der nicht-veresterten Fettsäuren bei -20 °C gelagert.

Die Ratten wurden unmittelbar nach der Blutentnahme in einer CO₂-Kammer getötet, die Kadaver einzeln in Gefrierbeutel verpackt und anschließend gruppenweise bei -20 °C eingefroren.

2.5.5.2 Versuch 2

In Versuch 2 fanden zwei Schlündeldurchgänge statt. Die Tiere wurden nach folgendem Schema je nach Gruppenzugehörigkeit behandelt:

- Die Kontrollgruppe erhielt zweimal täglich ein gewichtsadaptiertes Volumen (1 ml/kg KG) der Vehikellösung (2%ige PEG-CMC-Lösung).
- Die mit Topiramat behandelten Tiere erhielten täglich morgens 10, 20 oder 33,3 mg/kg KG und abends 20, 40 oder 66,6 mg/kg KG Topiramat, durch Gabe eines gewichtsadaptierten Volumens (1 ml/kg KG) der entsprechenden Topiramat-Suspension.
- Die mit SLV335 behandelten Tiere erhielten täglich morgens 10, 20 oder 33,3 mg/kg KG und abends 20, 40 oder 66,6 mg/kg KG SLV335, durch Gabe eines gewichtsadaptierten Volumens (1 ml/kg KG) der entsprechenden SLV335- Suspension.
- Die Tiere erhielten Futter und Wasser ad libitum

Die Tagesdosen (30, 60 und 100 mg/kg KG für Topiramat und SLV335) wurden zweimal täglich im acht Stunden Intervall (ca. 9 Uhr und 17 Uhr) verabreicht. Dabei wurde morgens ein Drittel und abends zwei Drittel der Dosis gegeben. Die Begründung für dieses Vorgehen liegt in der Pharmakokinetik des Topiramats. Aus Gründen der Gleichbehandlung wurde dieses Schema auf SLV335 und die Kontrolltiere übertragen.

Tabelle 2-13: Zeitprotokoll über Schlündelung in Versuch 2

Versuch 2	Schlündelung 1	Schlündelung 2
Zeit:	<i>9.00 Uhr</i>	<i>17.00 Uhr</i>
Gruppe:		
Kontrolle	PEG-CMC-Vehikel	PEG-CMC-Vehikel
SLV335-30	10 mg/kg KG SLV335	20 mg/kg KG SLV335
SLV335-60	20 mg/kg KG SLV335	40 mg/kg KG SLV335
SLV335-100	33,3 mg/kg KG SLV335	66,6 mg/kg KG SLV335
T 30	10 mg/kg KG Topiramat	20 mg/kg KG Topiramat
T 60	20 mg/kg KG Topiramat	40 mg/kg KG Topiramat
T 100	33,3 mg/kg KG Topiramat	66,6 mg/kg KG Topiramat

Dokumentation des Körpergewichts, des Futter- und der Wasserverbrauchs

Wie in Versuch 1 wurde morgens zuerst der Wasserverbrauch bestimmt, anschließend jedes Tier gewogen, geschlündelt und der jeweilige Futterverbrauch bestimmt. Um einen even-

tuellen Einfluss des genauen Schlündelzeitpunktes innerhalb dieses Zeitfensters zu verringern wurde entsprechend dem Rotationsverfahren in Versuch 1 jeden Tag mit einer anderen Gruppe begonnen und die jeweilige erste Gruppe am nächsten Tag als Letzte geschlündelt.

Nüchternsetzen, Blutentnahme, Tötung und Aufbewahrung am Versuchsende

In diesem Versuch waren die Tiere zur Blutentnahme ebenfalls nüchtern (Tag 28). Das Futter wurde ihnen in der vorangehenden Nacht 12 Stunden vor der geplanten Blutentnahme entzogen. Wasser wurde bis zum Ende ad libitum bereitgestellt.

Die zuerst geplante Blutentnahme aus den Schwanzvenen wurde wegen zu geringer Ausbeute nach der zweiten Ratte abgebrochen und auf die Entnahme per Herzpunktion umgestellt. Dazu wurden die Ratten für ca. 1 Minute durch Ether betäubt und das Blut mittels einer heparinisierten Glaskanüle direkt aus der rechten Herzkammer entnommen (ca. 3 ml). Anschließend wurde bei der Zentrifugation (10 Minuten, 3500 x g bei 4 °C) das Plasma von der Zellfraktion getrennt, in separate Probenröhrchen pipettiert (ca. 1,5 ml) und bis zur weiteren Aufarbeitung für die Bestimmung von Glucose, Insulin, freiem und Gesamtcholesterin, HDL, LDL und Triglyzeride, sowie der nicht-veresterten Fettsäuren bei -20 °C gelagert.

Entsprechend Versuch 1 wurden die Tiere unmittelbar nach der Blutentnahme in einer CO₂-Kammer getötet, die Kadaver einzeln in Gefrierbeutel verpackt und anschließend gruppenweise bei -20 °C eingefroren.

2.5.5.3 Versuch 3

In Versuch 3 wurden die Tiere täglich morgens einmal i.p. gespritzt:

- Die Kontrollgruppe erhielt ein gewichtsadaptiertes Volumen (1 ml/kg KG) der Vehikellösung (1%ige CMC-Lösung).
- Die mit SLV330 (3 oder 10 mg/kg) behandelten Tiere erhielten ein gewichtsadaptiertes Volumen (1 ml/kg KG) der entsprechenden SLV330- Suspension
- Die mit Rimonabant (3 oder 10 mg/kg) behandelten Tiere erhielten ein gewichtsadaptiertes Volumen (1 ml/kg KG) der entsprechenden Rimonabant- Suspension
- Die Tiere erhielten Futter und Wasser ad libitum

Dokumentation des Körpergewichts, des Futter- und der Wasserverbrauchs

Hier wurde ebenfalls morgens zuerst der Wasserverbrauch bestimmt, anschließend jedes Tier gewogen, dann i.p. gespritzt und gleichzeitig der jeweilige Futterverbrauch bestimmt.

Tabelle 2-14: Zeitprotokoll über die Behandlung (i.p.) in Versuch 3

Versuch 3	Behandlung (i.p.)
<i>Zeit:</i>	8.00 Uhr
<i>Gruppe:</i>	
Kontrolle	CMC-Vehikel
SLV330-3	3 mg/kg KG SLV330
SLV330-10	10 mg/kg KG SLV330
R-3	3 mg/kg KG Rimonabant
R-10	10 mg/kg KG Rimonabant

Blutentnahme, Tötung und Aufbewahrung der Tiere am Versuchsende

Am Tag 28 wurden pro Ratte 4 Blutentnahmen vorgenommen: eine Stunde vor dem morgendlichen i.p. Spritzen und 2, 5 und 8 Stunden nach dem Spritzen. Bis zur Behandlung hatten die Tiere uneingeschränkten Zugang zu Futter und Wasser, d.h. die erste Blutentnahme (-2) erfolgte nicht nüchtern. Bei den folgenden Blutentnahmen waren die Ratten zunehmend nüchtern.

Zur Vasodilatation wurde der Schwanz einige Minuten in warmem Wasser massiert, bevor die Schwanzspitze um 1 cm gekappt wurde. Das Blut (ca. 0,5 ml) wurde pro Entnahme in Probenröhrchen aufgefangen und für ca. 20 Minuten bei Raumtemperatur gelagert, um die Blutgerinnung zu gewährleisten. Bei der anschließenden Zentrifugation (10 Minuten, 3500 x g bei 4 °C) wurde das Serum von der Zellfraktion getrennt, in separate Probenröhrchen pipettiert (ca. 0,2 ml) und bis zur weiteren Aufarbeitung für die Bestimmung von Glucose, Insulin, freiem und Gesamtcholesterin, HDL, LDL und Triglyzeride, sowie der nicht-veresterten Fettsäuren bei -20 °C gelagert.

Die Tiere wurden unmittelbar nach der 4. Blutentnahme in einer CO₂-Kammer getötet, die Kadaver einzeln in Gefrierbeutel verpackt und anschließend gruppenweise bei -20 °C eingefroren.

2.5.5.4 Versuch 4

In Versuch 4 fanden 2 Schlündeldurchgänge statt. Die Tiere wurden nach folgendem Schema je nach Gruppenzugehörigkeit behandelt:

- Die Kontrollgruppe erhielt zweimal täglich ein gewichtsadaptiertes Volumen (1 ml/kg KG) der Vehikellösung (2%ige PEG-CMC-Lösung).

- Die mit Topiramat behandelten Tiere erhielten täglich morgens 10, oder 33,3 mg/kg KG und abends 20 oder 66,6 mg/kg KG Topiramat, durch Gabe eines gewichtsadaptierten Volumens (1 ml/kg KG) der entsprechenden Topiramat- Suspension.

Die Tagesdosen (30 und 100 mg/kg KG für Topiramat) wurden entsprechend Versuch 2 zweimal täglich im acht Stunden Intervall (ca. 9 Uhr und 17 Uhr) verabreicht.

Tabelle 2-15: Zeitprotokoll über die Schlündelung in Versuch 4

Versuch 4	Schlündelung 1	Schlündelung 2
<i>Zeit:</i>	9.00 Uhr	17.00 Uhr
<i>Gruppe:</i>		
Kontrolle	PEG-CMC-Vehikel	PEG-CMC-Vehikel
T 30	10 mg/kg KG Topiramat	20 mg/kg KG Topiramat
T 100	33,3 mg/kg KG Topiramat	66,6 mg/kg KG Topiramat

Dokumentation des Körpergewichts, des Futter- und der Wasserverbrauchs

Hier wurde ebenfalls morgens zuerst der Wasserverbrauch bestimmt, anschließend jedes Tier gewogen, dann geschlündelt und gleichzeitig der jeweilige Futterverbrauch bestimmt.

Blutentnahme, Tötung und Aufbewahrung der Tiere am Versuchsende

Das Vorgehen zum Versuchsende fand entsprechend Versuch 2 statt.

2.6 Analytik

In allen Versuchen wurden die eingefrorenen Serum- oder Plasmaproben zur Bestimmung von Glucose, Insulin, freiem und Gesamtcholesterin, HDL, LDL und Triglyzeriden, sowie der nicht-veresterten Fettsäuren auf Trockeneis zu LPT Hamburg geschickt. In den Versuchen 1 und 4 wurden die eingefrorenen Rattenkadaver zur Analyse Fett-, Protein-, Wasser- und Aschegehalts im Körper ebenfalls auf Trockeneis nach Nottingham zu RenaSci Consultancy Ltd. geschickt.

2.7 Statistische Auswertung der Daten

Die in den Tierversuchen gewonnen Daten über Körpergewicht, Futter- und Wasserverbrauch wurden in die Datenblätter des Tabellenkalkulationsprogramms Microsoft für Windows Excel 2003 (Microsoft, Seattle, USA) eingetragen. Anhand dieser Basisdaten wurden zusätzliche Berechnungen (Prozent-, Kumulativ-, Relativwerte) ausgeführt und es wurden die Mittelwerte, die Standardabweichungen (standard deviation = SD) und die Standardabweichungen vom Mittelwert (standard error = SE) berechnet.

Tabelle 2-16: Übersicht und Zusammenfassung aller Versuche

	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
Tiere	Wistar-Ratten	Wistar-Ratten	Wistar-Ratten	Zucker-Ratten
Anzahl gesamt (pro Gruppe)	48 (8)	56 (8)	40 (8)	24 (8)
Alter bei Lieferung	10 Wochen	10 Wochen	6-7 Wochen	6-7 Wochen
Vorversuch	7 Tage	7 Tage	13 Tage	7 Tage
Vorbehandlung	7 Tage	3 Tage	3 Tage	3 Tage
Therapiedauer	28 Tage	28 Tage	14 Tage	28 Tage
Gruppeneinteilung	4. Tag nach Beginn der Vorschlündefelung	vor Beginn der Vorschlündefelung	vor Beginn der i.p. Applikation	vor Beginn der Vorschlündefelung
Gruppen	<ul style="list-style-type: none"> • Kontrolle • SLV319-3 • SLV319-10 • Orlistat • SLV319-3+Orlistat • SLV319-10+Orlistat 	<ul style="list-style-type: none"> • Kontrolle • SLV335-30 • SLV335-60 • SLV335-100 • T 30 • T 60 • T 100 	<ul style="list-style-type: none"> • Kontrolle • SLV330-3 • SLV330-10 • Rimonabant-3 • Rimonabant-10 	<ul style="list-style-type: none"> • Kontrolle • T 30 • T 100
Dosierungen der Substanzen	<ul style="list-style-type: none"> • Vehikel • Orlistat (50 mg/kg) • SLV319 (3 oder 10 mg/kg) 	<ul style="list-style-type: none"> • Vehikel • SLV335 (30, 60 oder 100 mg/kg) • Topirammat (30, 60 oder 100 mg/kg) 	<ul style="list-style-type: none"> • Vehikel • SLV330 (3 oder 10 mg/kg) • Rimonabant (3 oder 10 mg/kg) 	<ul style="list-style-type: none"> • Vehikel • Topirammat (30 oder 100 mg/kg)
Applikation	Orlistat morgens und abends; SLV319 morgens	ein Drittel morgens zwei Drittel abends	morgens	ein Drittel morgens zwei Drittel abends
Schlündefelungsvolumen	1 ml/kg	1 ml/kg	1 ml/kg	1 ml/kg
nüchtern zur Blutentnahme	17 Stunden	12 Stunden	s. Text	12 Stunden

Die statistische Analyse wurde mit dem Programm WinSTAT für Excel (Greulich Software, Staufen) angefertigt. Nach Prüfung auf Normalverteilung wurde der statistische Vergleich auf signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen mit der einfaktoriellen Varianzanalyse (one-way-ANOVA) ausgeführt und anschließend mit Bonferroni korrigiert, welches ein angepasstes Signifikanzniveau und die kritische Spannweite für jedes der Gruppenpaare anhand einer t-Verteilung berechnet.

Alle Eichkurven und Abbildungen wurden mit dem Programm GraphPad Prism V.4.0 (GraphPad Inc., San Diego, USA) erstellt. Soweit nicht anders angegeben, werden die Ergebnisse als Mittelwerte mit der Standardabweichung vom Mittelwert (SE) dargestellt.

Die tägliche Futter- und Wasseraufnahme wurde entweder als g/Tag oder ml/Tag oder als g/kg KG oder ml/kg KG oder als kumulative relative Futter-/Wasseraufnahme dargestellt. Die Körpergewichte wurden entweder als Absolutwerte (g), oder relativ zum Gewicht des Vortages (% KG, z.B. bezogen auf Tag 0) dargestellt.

Die Ergebnisse der Blutproben wurden als Boxplot entweder in mmol/l oder $\mu\text{g/l}$ dargestellt und mit der einfaktoriellen Varianzanalyse (one-way-ANOVA) und Bonferroni ausgewertet. Dabei entspricht die waagerechte Linie innerhalb des Rechtecks bzw. der Box dem Median der jeweiligen Variablen. Die unteren und oberen Begrenzungen der Box repräsentieren die 25. bzw. 75. Perzentile. Entsprechend liegen 50% aller Messwerte der betreffenden Variablen innerhalb des Rechtecks und 50% außerhalb. Die außerhalb der Box vertikal angeordneten Spannweitenlinien (Whisker) markieren die 5. und 95. Perzentile. Rote Kreuze symbolisieren Minimum bzw. Maximum des Datensatzes. Die Insulinsensitivität wurde nach QUICKI definiert [164], einem quantitativen Insulinsensitivitätsberechnungsindex:

$$\text{QUICKI} = 1 / [\log(I_0) + \log(G_0)]; I_0/G_0 = \text{Nüchterninsulin/-glucose}$$

Die Variablen der Carcass-Analyse wurden wie folgt festgelegt: Carcass-Gewicht (g), Wasser, Fett, Asche und Proteine (je relativ in % und absolut in g pro Tier). Sie wurden mittels einer einseitigen Kovarianzanalyse (ANCOVA) mit dem Grundkörpergewicht von Tag 1 als Kovariable dargestellt. Dabei wurden multiple Vergleiche zur Kontrolle für SLV319 (Versuch 1) und Topiramate (Versuch 4) mit dem Williams-Test, für Orlistat mit einem multiplen t-Test, und für SLV319+Orlistat (Versuch 1) mittels eines separaten Williams-Tests ausgeführt. Die Konfidenzintervalle wurden gemäß der Methode nach Channon und McEntegart festgelegt [165].

3 ERGEBNISSE

3.1 Versuch 1: Untersuchung von SLV319 und Orlistat einzeln und in Kombination an Wistarratten

In Versuch 1 sollte die Wirkung des neuen CB₁-Rezeptorantagonisten SLV319 alleine und in Kombination mit Orlistat, einem bekannten Hemmer der gastrointestinalen Lipase, im Modell der extrem kalorienreich ernährten Wistarratte (Western Diet) untersucht werden.

Die Randomisierung erfolgte am 4. Tag nach Beginn der Vehikelgabe. Die Zuteilung zu einer der sechs Behandlungsgruppen erfolgte an Tag -3 für Kontrolle und SLV319-3, an Tag -4 für SLV319-10 und Orlistat und an Tag -5 für SLV319-3 + Orlistat und SLV319-10 + Orlistat vor Beginn des Experiments (Tag 0).

Im Laufe des Hauptversuches verstarb jeweils ein Tier in der Kontrollgruppe an Tag 23, in der SLV319-3 Gruppe an Tag 8 und in der SLV319-10 Gruppe an Tag 14 aus nicht erklär-baren Gründen. Diese wurden anschließend aus allen graphischen Darstellungen und statistischen Analysen ausgeschlossen.

3.1.1 Körpergewicht

In Versuch 1, der mit Wistarratten durchgeführt wurden, zeigte die Entwicklung des Körpergewichts der Tiere den in Abbildung 3-1 und Abbildung 3-2 dargestellten Verlauf. Es sind die absoluten Körpergewichte für den gesamten Versuch (Tag -7 bis Tag 28) und das prozentuale Körpergewicht der Ratten jeweils im Vergleich zu Tag 0 dargestellt. Abbildung 3-3 zeigt die gesamte Körpergewichtszunahme im Hauptversuch bis zu dem letzten Tag der *ad libitum* Fütterung (Tag 27).

Während des 7-tägigen Vorversuchs mit Vehikelgabe konnte ein kontinuierlicher Körpergewichtszuwachs in allen Gruppen beobachtet werden, außer in der später mit SLV319 3 mg/kg gefütterten Gruppe, welche einen Gewichtsverlust an Tag -6 und -5 (-0,9%) verzeichnete, außerdem auch für die Tiere der zukünftigen Orlistat 50 mg/kg-Gruppe, welche ebenfalls an Tag -7 und -6 (-0,9%; Abbildung 3-1) an Gewicht abgenommen haben. Im Gegensatz dazu wurden die Körpergewichte der anderen Gruppen nicht durch die Vehikelgabe beeinflusst, lediglich in der Kontrollgruppe führte sie zu einem vorübergehenden Stopp an Gewichtszunahme am ersten Tag. Von Tag 0 an bis zum Ende des Experiments verzeichnete die Kontrollgruppe einen kontinuierlichen Zuwachs an Gewicht (Tag 27: 29% Körpergewichtszuwachs und $82,9 \pm 7,14$ g Gesamtzunahme; Abbildung 3-1).

Die Behandlung mit SLV319 3 mg/kg führte zunächst bis Tag 6 (+8%) zu einem stetigen Körpergewichtszuwachs, welcher von einer Periode der weiteren Gewichtszunahme gefolgt wurde, in welcher lediglich an den Tagen 7 und 8 (-1%), 10 und 11 (-3%) und 18 (-1%) eine akute Abnahme an Gewicht beobachtet werden konnte. Am Ende der Studie an Tag 27 verzeichneten die Ratten 15% Körpergewichtszuwachs und $41,4 \pm 6,6$ g Gesamtzunahme, 50% im Vergleich zur Kontrolle (Kontrolle=100%, $p < 0,05$).

In der Gruppe, welche mit der höheren Dosierung von SLV319 (10 mg/kg) behandelt wurde, konnte eine geringere Unterdrückung des Körpergewichtszuwachses beobachtet werden, als in der Gruppe mit der niedrigeren Dosierung (3 mg/kg). Abgesehen von einem leichten Abfall in den ersten Tagen zeigte die SLV319-10 Gruppe bis Tag 12 einen Verlauf parallel zur Kontrollgruppe. Anschließend blieb das Gewicht konstant, mit Ausnahme eines leichten Gewichtsverlustes an Tag 15 und 16, den sie schließlich in den nächsten Tagen wieder aufholten. Im Vergleich zur SLV319-3 Gruppe nahmen die Tiere in der ersten Hälfte des Experiments schneller zu, ab Tag 12 wurde dann der Körpergewichtsunterschied zwischen den beiden Gruppen immer geringer und letztendlich näherten sich die Kurven ab Tag 22 so einander an, dass am Ende der Studie kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Dosierungen von SLV319 festgestellt werden konnte. An Tag 27 zeigten die Ratten der SLV319-10 Gruppe 17% Körpergewichtszuwachs und $47,9 \pm 5,1$ g Gesamtzunahme, welches 58% im Vergleich zur Kontrolle darstellt.

Unter Behandlung mit Orlistat 50 mg/kg konnte ein relativ kontinuierlicher Gewichtszuwachs beobachtet werden. Die Ratten zeigten an Tag 27 +13% an Körpergewichtszuwachs, $39,4 \pm 11,4$ g Gesamtzunahme, welches 47% im Vergleich zur Kontrolle darstellt ($p < 0,05$).

Die Tiere, die gleichzeitig mit SLV319-3 +Orlistat behandelt wurden, zeigten folgenden Verlauf: Sie nahmen während der ersten Tage kaum zu und anschließend konnte für den Rest der Studie ein leichter Körpergewichtszuwachs beobachtet werden, welcher an Tag 15 bis 16 (<1%) und 23 (-1%) von einer Abnahme unterbrochen wurde. Ihr höchstes Körpergewicht wurde am Ende der Studie verzeichnet (Tag 27): +7% an Körpergewichtszuwachs, $20,0 \pm 12,4$ g Gesamtzunahme, 24% im Vergleich zur Kontrolle ($p < 0,001$). Somit war die Gesamtzunahme geringer als in den Gruppen, die entweder mit SLV319 oder Orlistat alleine behandelt wurden, auch wenn keine statistische Signifikanz festgestellt werden konnte.

Die Kombinationsgruppe von SLV319-3 mit Orlistat zeigte einen ähnlichen Effekt während des Hauptversuches wie die nur mit Orlistat alleine behandelten Tiere: Sie nahmen während der ersten 13 Tage zu (+9%), außer an Tag 5 (-1%). Anschließend nahmen sie an den Tagen

14 bis 16 ab (-3%), erholten sich an Tag 17 und nahmen bis zum Ende des Experiments stetig zu. An Tag 27 zeigten sie +12% Körpergewichtszuwachs, $34,4 \pm 6,2$ g Gesamtzunahme, welches 41% im Vergleich zu Kontrolle darstellt ($p < 0,01$).

Die Kombinationsgruppe von SLV319-10 mit Orlistat führte zu einem weniger intensiven Gewichtszuwachs als die alleinige Behandlung mit SLV319-10. Obwohl die Unterdrückung des Körpergewichtszuwachses geringer ausgeprägt war, als in der Kombination von Orlistat mit der niedrigeren Dosierung von SLV319 (3 mg/kg), konnte doch keine statistische Signifikanz zwischen den Gruppen erreicht werden.

Abbildung 3-3 zeigt die statistischen Unterschiede zwischen den Gruppen an Tag 27: mit Ausnahme der SLV319-10 Gruppe zeigten alle anderen Behandlungsgruppen signifikante Unterschiede zu Kontrolle (SLV319-3 und Orlistat: $p < 0,05$; SLV319-10+Orlistat: $p < 0,01$; SLV319-3+Orlistat: $p < 0,001$).

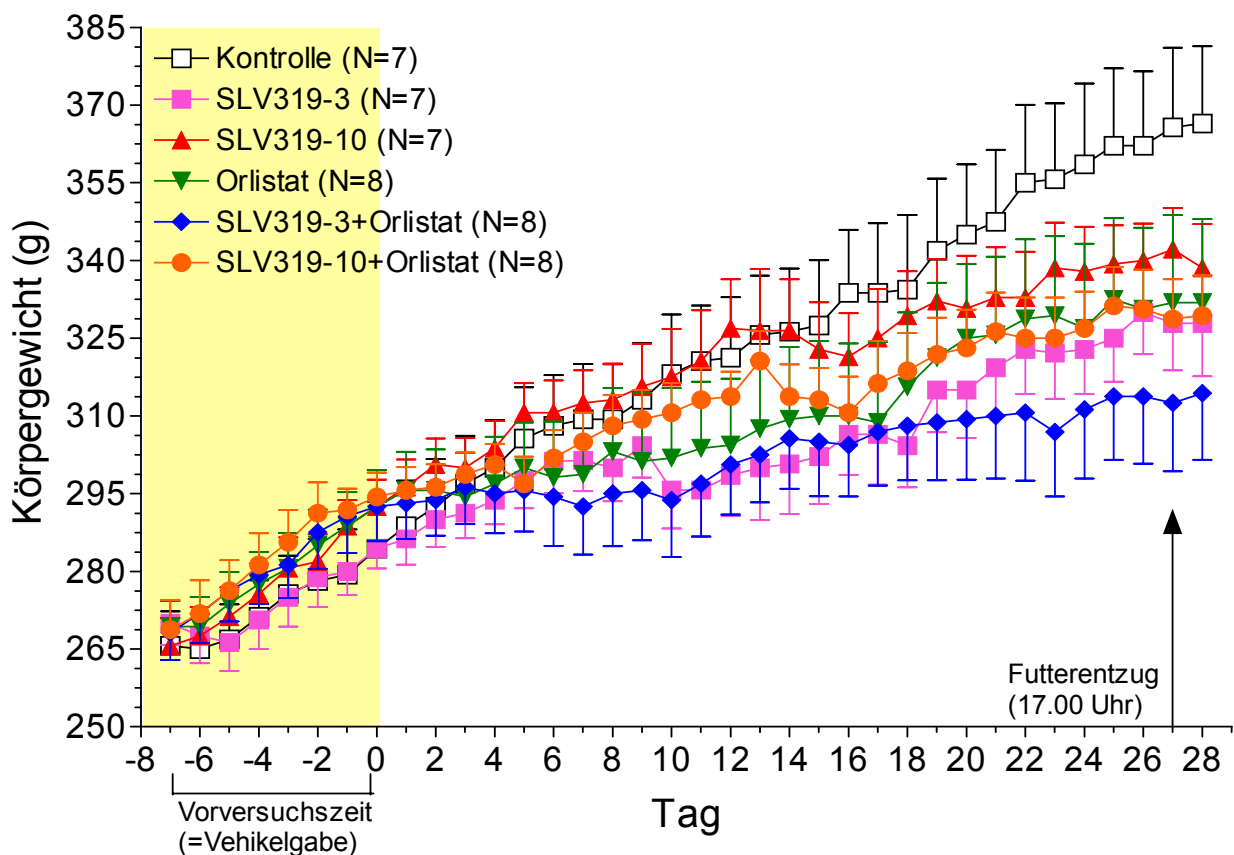


Abbildung 3-1: Körpergewichte der Wistarratten in Versuch 1 (MW±SE).

Von Tag 0 an erhielten die Ratten täglich 3 Schlündeldurchgänge: Schlündeldurchgang 1: Kontrolle und Orlistat erhielten Vehikel (1% CMC + 0,5% Pluronic), SLV-3 und SLV-3+Orlistat erhielten 3 mg/kg KG SLV319, und SLV 10 und SLV 10+Orlistat erhielten 10 mg/kg KG SLV319; Schlündeldurchgang 2+3: Kontrolle, SLV-3 und SLV-10 erhielten Labrasol-Lösung, Orlistat, SLV-3+Orlistat und SLV-10+Orlistat erhielten 50 mg/kg KG Orlistat. Nach Schlündeldurchgang 2 und 3 erhielten die Tiere jeweils für genau 2,5 Stunden Futter ad libitum.

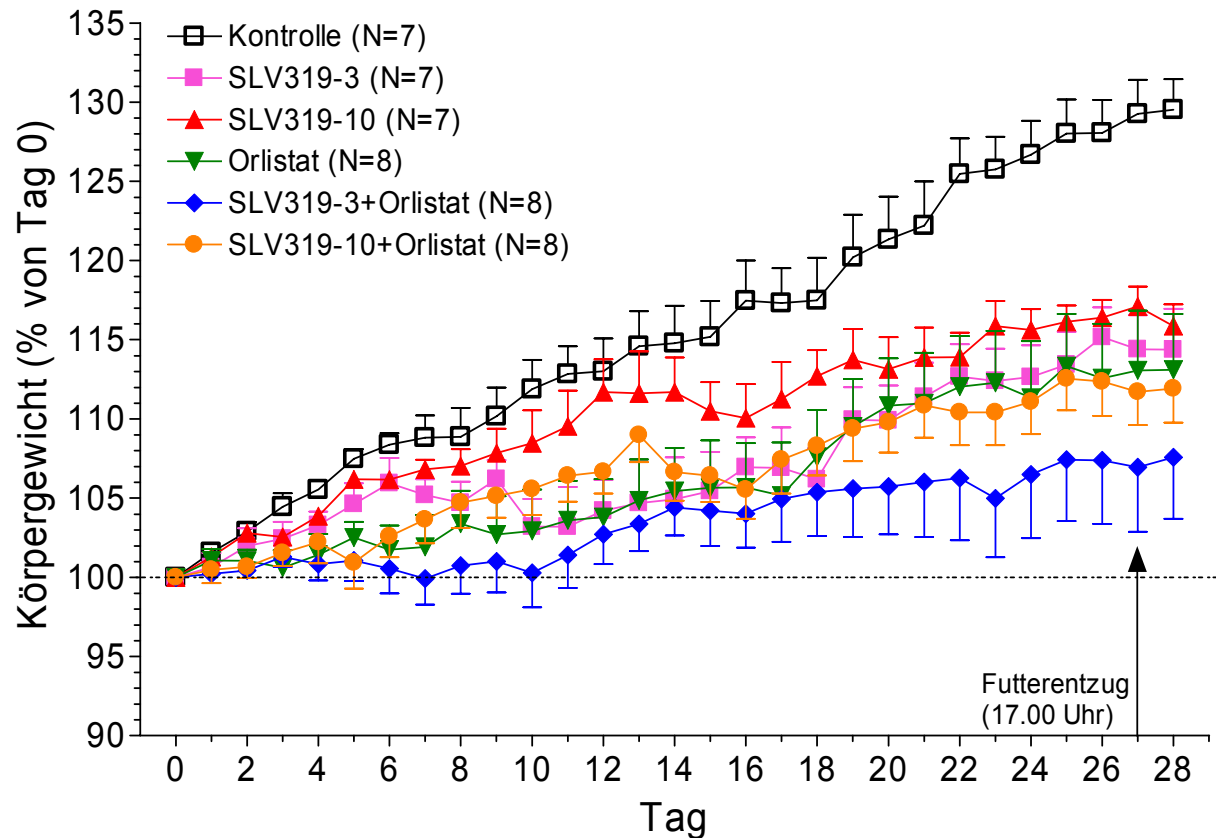


Abbildung 3-2: Prozentuale Veränderung der Körpergewichte der Wistarratten im Vergleich zu Tag 0 in Versuch 1 (MW±SE).

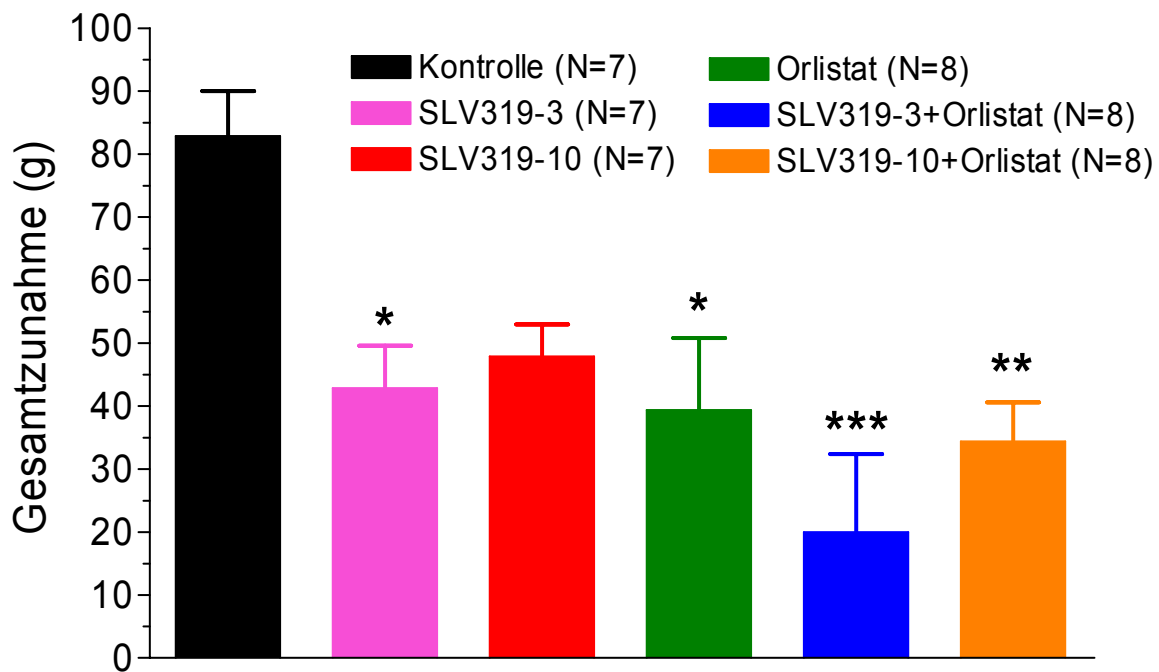


Abbildung 3-3: Gesamte Körpergewichtszunahme der Wistarratten während des vierwöchigen Hauptversuchs in Versuch 1 (Tag 27) (MW±SE).

Signifikant verschieden zur Kontrolle: * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

3.1.2 Futteraufnahme

Die Ratten wurden nur zweimal pro Tag für 2,5 Stunden gefüttert. Das erste Mal am Morgen gegen Ende der Lichtphase nach der zweiten Schlündelung, das zweite Mal am Abend während der Dunkelphase. Die gesamte tägliche Futteraufnahme ist in der Abbildung 3-4 dargestellt, die Abbildung 3-5 zeigt die Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht (g/kg KG). Die hohe Variabilität in der Futteraufnahme wurde von vergleichbaren Schwankungen in der Wasseraufnahme begleitet. Um einen besseren Überblick über die behandlungsbezogenen Effekte auf die Futteraufnahme zu gewährleisten, wurde in den Abbildungen 3-6 bis 3-11 eine wöchentliche Darstellung gewählt (Vorversuch: Tage -6 bis -1, 1. Woche: Tage 0 bis 6, 2. Woche: Tage 7 bis 13, 3. Woche: Tage 14 bis 20, 4. Woche: Tage 21 bis 27).

In der Vorversuchswoche konnten keine signifikanten Unterschiede in der Futteraufnahme zwischen den Gruppen festgestellt werden (Abbildung 3-6). Eine leichte Tendenz zu erhöhter Futteraufnahme während der Abendfütterung zeigte sich bereits bei vier der sechs Gruppen, wenn auch der Effekt viel schwächer war als im Hauptversuch.

Während des vierwöchigen Hauptversuchs zeigten alle Gruppen eine erhöhte Futteraufnahme am Abend (Abbildung 3-7). Die Behandlung mit SLV319 reduzierte den Futtermittelverzehr gegenüber der Kontrolle am Morgen und etwas weniger ausgeprägt auch am Abend. In den ersten beiden Wochen war der Effekt stärker nach der niedrigeren Dosis als nach der hohen Dosis. Die Orlistatgabe erhöhte dagegen mit Ausnahme der Abendfütterung in der ersten Woche den Futtermittelverzehr durchgehend, die Unterschiede erreichten Signifikanzniveau für die Morgenfütterung in der letzten Woche. Außer in der ersten Woche war Orlistat auch in der Lage den reduzierenden Effekt der SLV319-Behandlung auf den Futtermittelverzehr nicht nur aufzuheben, sondern sogar gegenüber der Kontrolle zu steigern, am stärksten in der zweiten Woche.

Fasst man die Morgen- und Abendfütterung zusammen (Abbildung 3-8), dann bestätigt sich die verminderte Futteraufnahme unter SLV319-Behandlung und die Erhöhung durch Orlistat (signifikant verschieden zur Kontrolle in der 3. Woche). Die alleinige Behandlung mit der niedrigeren Dosis von SLV319 (3 mg/kg) reduzierte die Futteraufnahme am stärksten, sie schwächte auch in der Kombination mit Orlistat den Futtermittelverzehr gegenüber der alleinigen Orlistatbehandlung ab, jedoch abgesehen von der ersten Woche nicht mehr unter die Werte der Kontrollen. Die höhere Dosis von SLV319 (10 mg/kg) senkte die Futteraufnahme am stärksten in der 3. Woche. Nur in dieser Woche war auch bei Kombination mit Orlistat eine geringe, nicht signifikante Verminderung des durch Orlistat erhöhten Futtermittelverzehrs zu sehen.

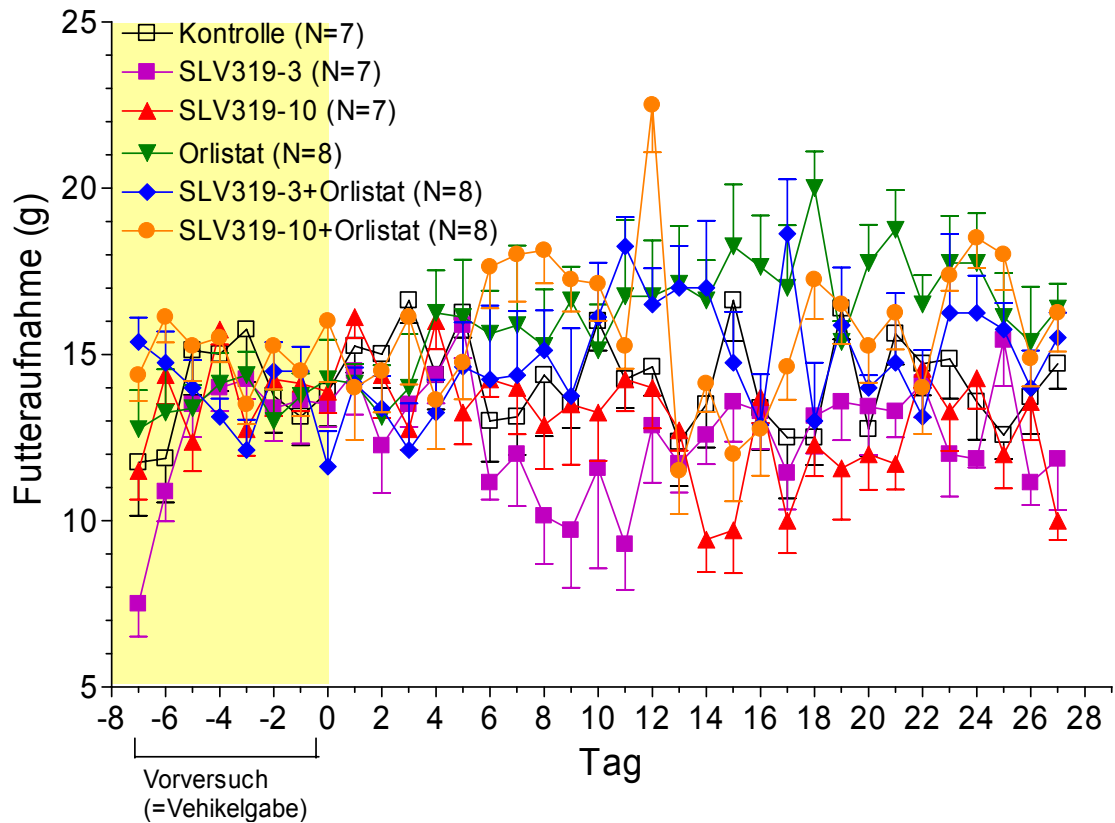


Abbildung 3-4: Futteraufnahme der Wistarratten in Versuch 1 (MW \pm SE).

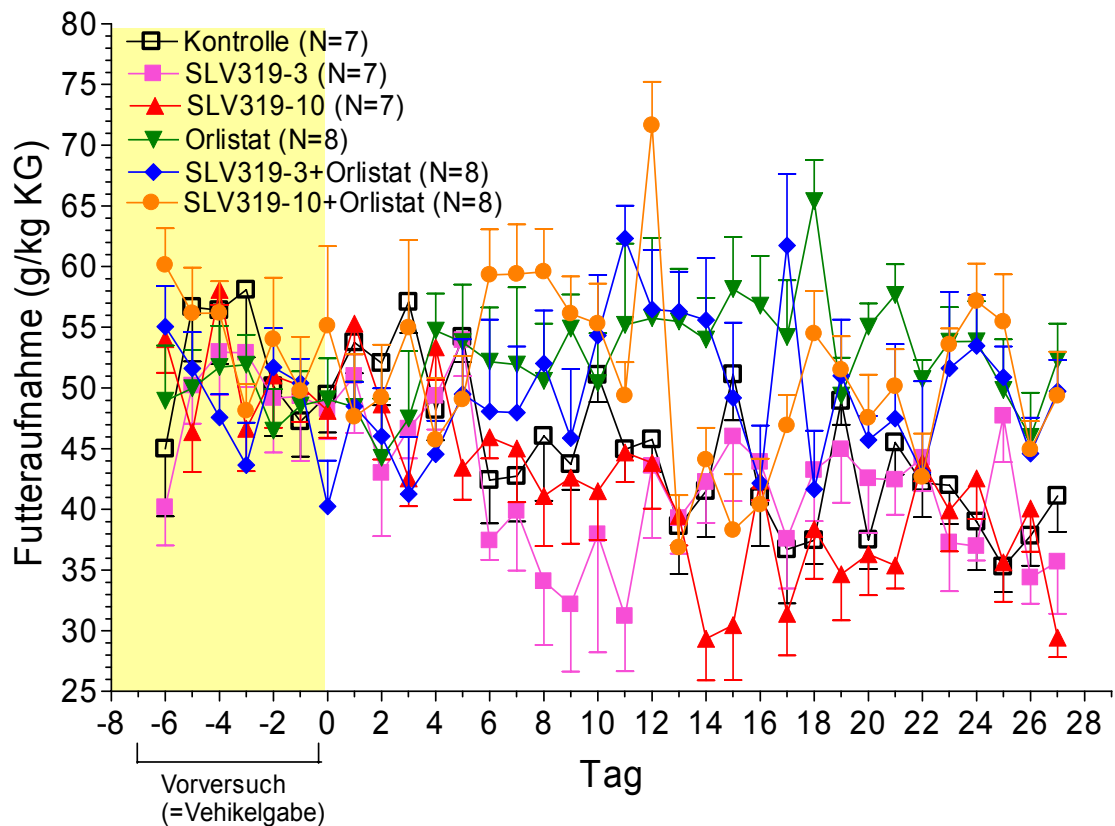


Abbildung 3-5: Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Versuch 1 (MW \pm SE).

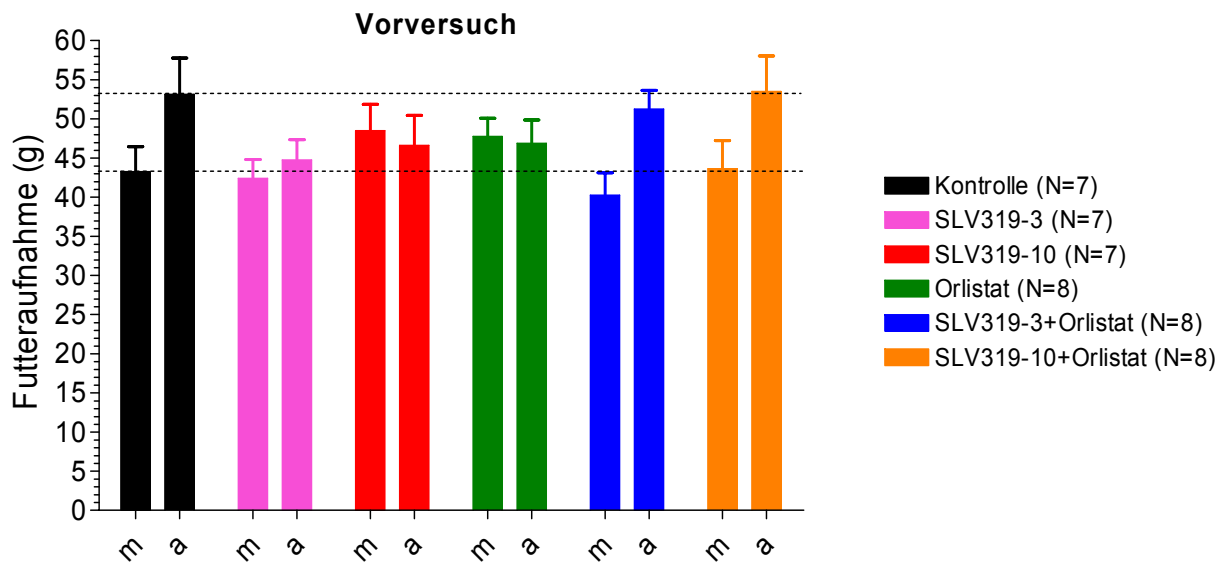


Abbildung 3-6: Futteraufnahme der Wistarratten in Versuch 1 während des Vorversuchs getrennt nach Morgen (m)- und Abendfütterung (a) (MW±SE).

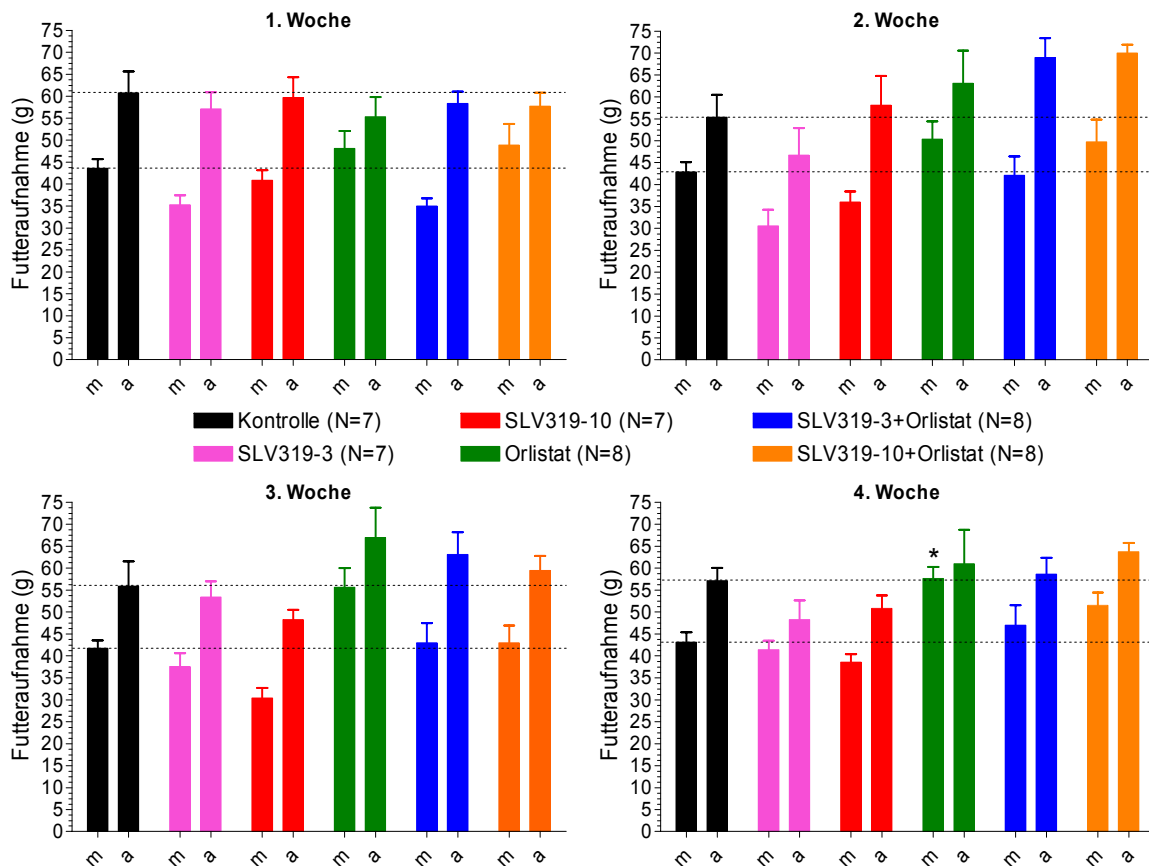


Abbildung 3-7: Wöchentliche Futteraufnahme der Wistarratten in Versuch 1 während des vierwöchigen Hauptversuchs getrennt nach morgens (m) und abends (a) (MW±SE).

* Signifikant verschieden zur Kontrolle: $p < 0,05$

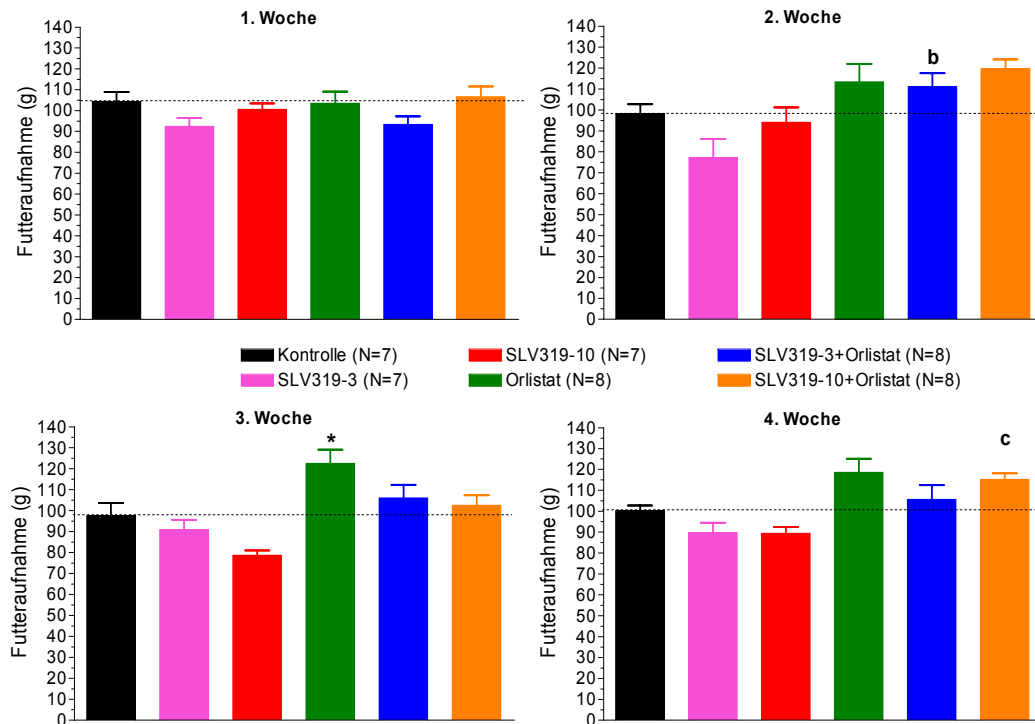


Abbildung 3-8: Wöchentliche Futtermittelaufnahme der Wistar-Ratten in Versuch 1 während des Hauptversuchs (MW±SE).

Signifikant verschieden * zur Kontrolle ($p < 0,05$), ^b zu SLV319-3 ($p < 0,05$) und ^c zu SLV319-10 ($p < 0,01$).

Die Futtermittelaufnahme relativ zum Körpergewicht der Tiere (Abbildungen 3-5, 3-9 und 3-10), zeigt ein weitgehend gleiches Ergebnis. Der Effekt von SLV319 ist etwas weniger ausgeprägt als bei den absoluten Werten. Im Vergleich zur Kontrollgruppe verminderte SLV319-3 die Futtermittelaufnahme nur an einigen wenigen Tagen in den ersten 2 Wochen, und nur vereinzelt über die 4 Wochen hinweg für die höhere Dosierungsgruppe. In der wöchentlichen Darstellung ergeben sich etwas geringe Varianzen innerhalb der einzelnen Gruppen und die Unterschiede zwischen Orlistat und der Kontrolle (3. und 4. Woche, $p < 0,001$), zwischen den Kombinationstherapien und der Kontrolle (SLV319-3+Orlistat: 4. Woche $p < 0,05$; SLV319-10+Orlistat: 2. Woche, $p < 0,05$; 4. Woche, $p < 0,01$) und zwischen Orlistat und SLV319 (SLV319-3 vs. Orlistat: 2., 3. und 4. Woche $p < 0,001$; SLV319-10 vs. Orlistat: 3. und 4. Woche $p < 0,001$) erreichen öfter Signifikanzniveau (Abbildung 3-10).

Die Kurve für die kumulative relative Futtermittelaufnahme (Abbildung 3-11) trennt deutlich die mit Orlistat alleine oder in Kombination mit SLV319 behandelten Gruppen von den Kontrolltieren und den mit SLV319 alleine behandelten Tieren. Über den gesamten Hauptversuch (bis Tag 27) war die relative Gesamtfuttermittelaufnahme in allen mit Orlistat behandelten Gruppen signifikant höher als in der Kontrollgruppe, während der reduzierende Effekt der alleinigen Behandlung mit SLV319 gegenüber der Kontrolle nicht signifikant war (Abbildung 3-12).

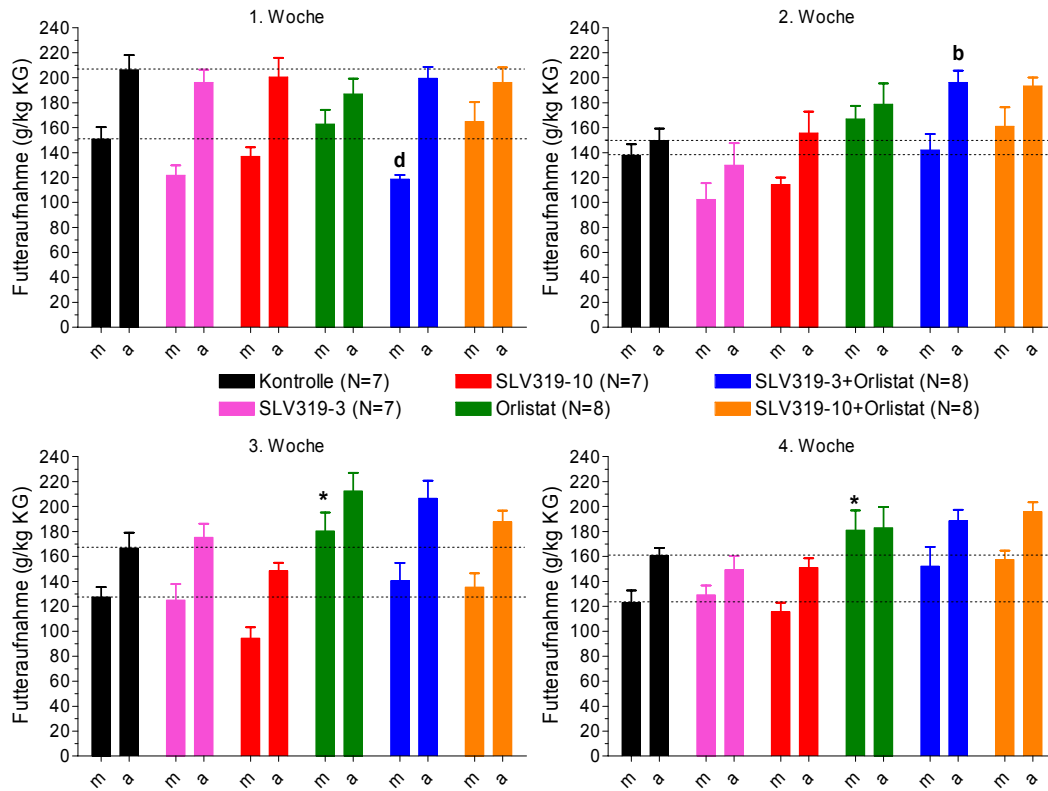


Abbildung 3-9: Wöchentliche Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistar-ratten in Versuch 1 während des vierwöchigen Hauptversuchs, getrennt nach morgens (m) und abends (a) (MW±SE).

Signifikant verschieden ($p < 0,05$) * zur Kontrolle, ^b zu SLV319-3 und ^d zu Orlistat.

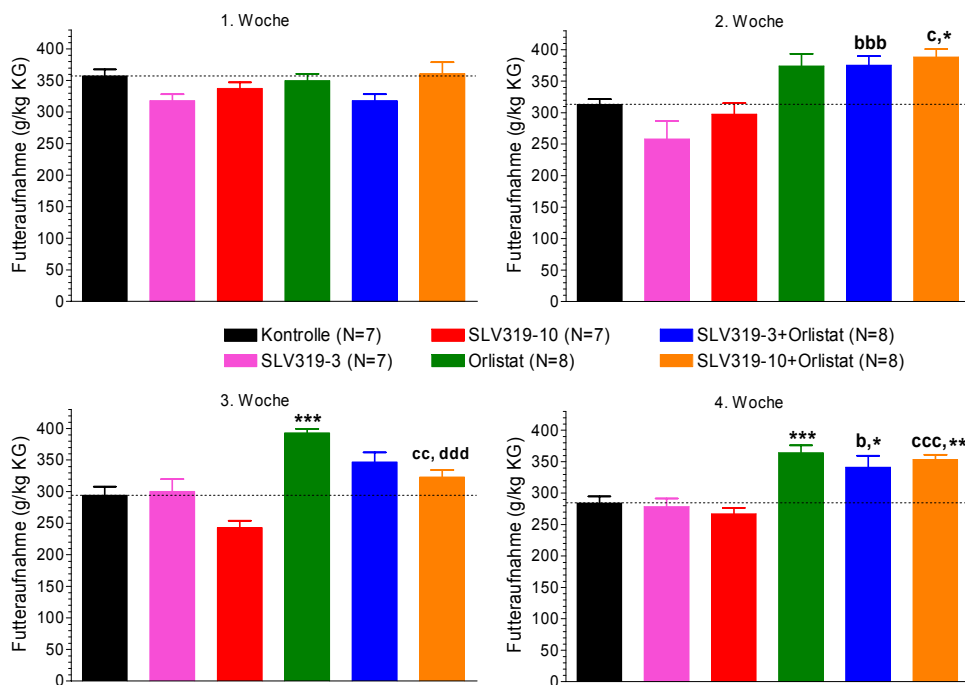


Abbildung 3-10: Wöchentliche Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistar-ratten in Versuch 1 pro Woche während des Hauptversuchs (MW±SE).

Signifikant verschieden zur Kontrolle: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, zu SLV319-3: ^b $p < 0,05$, ^{bbb} $p < 0,001$ zu SLV319-10: ^c $p < 0,05$, ^{ccc} $p < 0,01$, ^{ccc} $p < 0,001$ und zu Orlistat: ^{ddd} $p < 0,001$

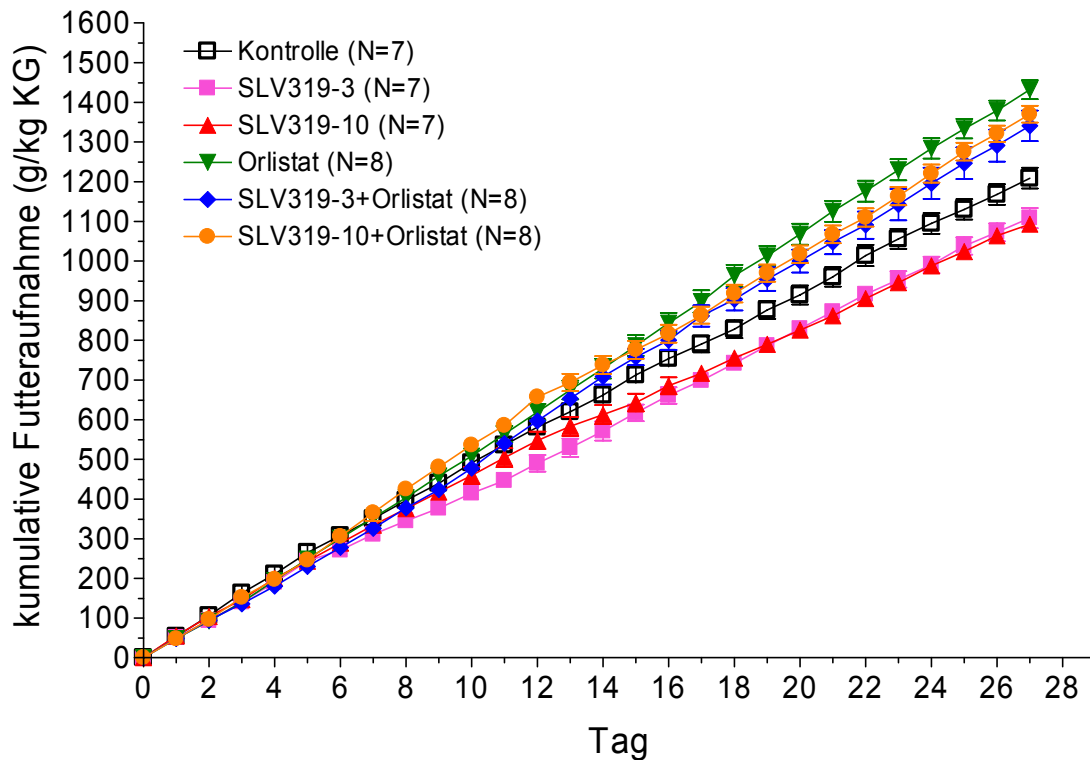


Abbildung 3-11: Kumulative Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistaratten in Versuch 1 während des vierwöchigen Hauptversuchs (MW±SE).

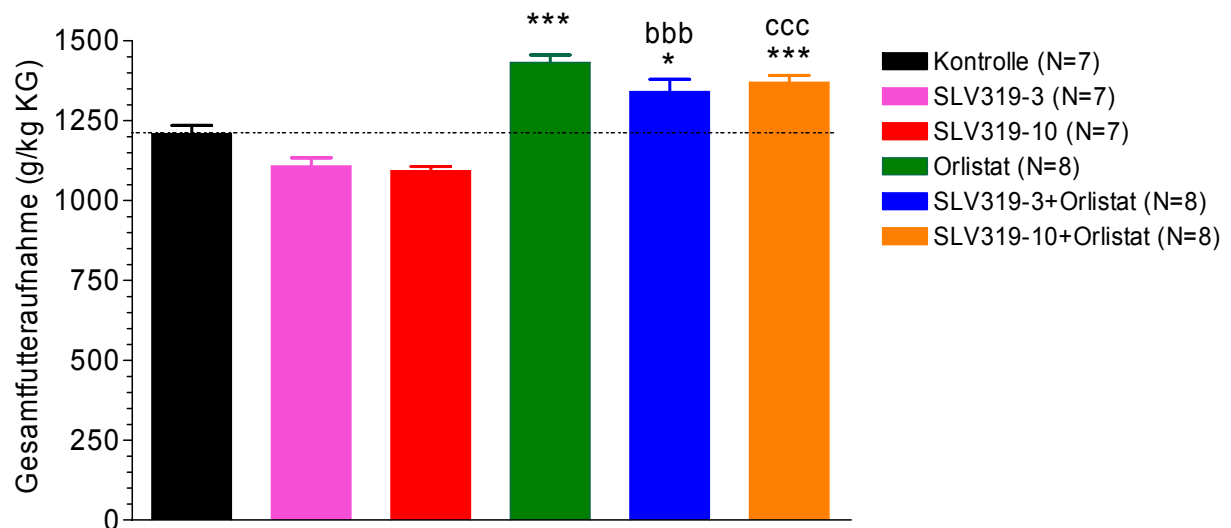


Abbildung 3-12: Gesamte Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistaratten in Versuch 1 während des vierwöchigen Hauptversuchs (Tag 27) (MW±SE).

Signifikant verschieden zur Kontrolle: * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$, zu SLV319-10: ^{bbb} $p < 0,001$ und zu SLV319-3: ^{ccc} $p < 0,001$.

3.1.3 Wasseraufnahme

Die Wasseraufnahme wurde täglich um 9.00 Uhr morgens bestimmt. Sie unterlag ähnlich der Futtermittelaufnahme über den Zeitraum der ganzen Studie hinweg starken Schwankungen innerhalb der Gruppen (Abbildung 3-13). Nur die mit SLV319-3 behandelten Ratten tranken weniger als die Kontrolltiere, mit einem konstanten Abfall der Wasseraufnahme während der ersten 11 Tage. Die Orlistatgruppen tranken am meisten, davon an erster Stelle die Ratten, die mit SLV319-10+Orlistat behandelt wurden, anschließend die Orlistatgruppe, gefolgt von den Tieren, die SLV319-3+Orlistat erhielten.

Die Darstellung der Wasseraufnahme relativ zum Körpergewicht (Abbildung 3-14) zeigt einen weitgehend ähnlichen Verlauf bei etwas geringerer Streuung. Der im Vergleich zur Kontrolle negative Effekt von SLV319-3 auf die Wasseraufnahme ist weniger augenscheinlich. Die gesamte Wasseraufnahme über den vierwöchigen Hauptversuch (Abbildung 3-15) wie auch die kumulative Wasseraufnahme (Abbildung 3-16), beide relativ zum Körpergewicht betrachtet, wurde gegenüber der Kontrolle durch die niedrige Dosis von SLV319 leicht verringert, durch die hohe Dosis von SLV319 dagegen geringfügig erhöht, beide Effekte waren jedoch nicht signifikant. Dagegen erhöhte die Orlistatbehandlung die Wasseraufnahme signifikant gegenüber der Kontrolle. SLV319-3 bzw. SLV319-10 hatte auch in Kombination mit Orlistat wieder eine gegensätzliche Wirkung, leichte Hemmung durch die niedrige Dosis und minimale Stimulation durch die hohe Dosis. Auch diese Effekte waren nicht signifikant gegenüber der alleinigen Orlistatgabe.

Der unmittelbare Vergleich der gesamten Futter- und Wasseraufnahme im Hauptversuch ergibt, dass mit Ausnahme der Behandlung mit SLV319-10 alle Ratten, die weniger bzw. mehr als die Kontrollgruppe gefressen haben, auch weniger bzw. mehr als diese getrunken haben (Abbildung 3-17). Die Quotienten aus Wasser- und Futtermittelaufnahme (Kontrolle: 1,52; SLV319-3: 1,47; SLV319-10: 1,74; Orlistat: 1,59; SLV319-3+Orlistat: 1,57; SLV319-10+Orlistat: 1,63) zeigen am deutlichsten die Stimulation der Wasseraufnahme durch die hohe Dosis von SLV319, die den größten Unterschied zur Kontrolle (+14,5%) aufweist.

Abbildung 3-18 zeigt, dass während des ganzen Experiments die Kurven für Wasser- und Futtermittelaufnahme in allen Gruppen die gleichen Tendenzen zeigen, Perioden der erhöhten Futtermittelaufnahme wurden von erhöhter Wasseraufnahme begleitet und umgekehrt.

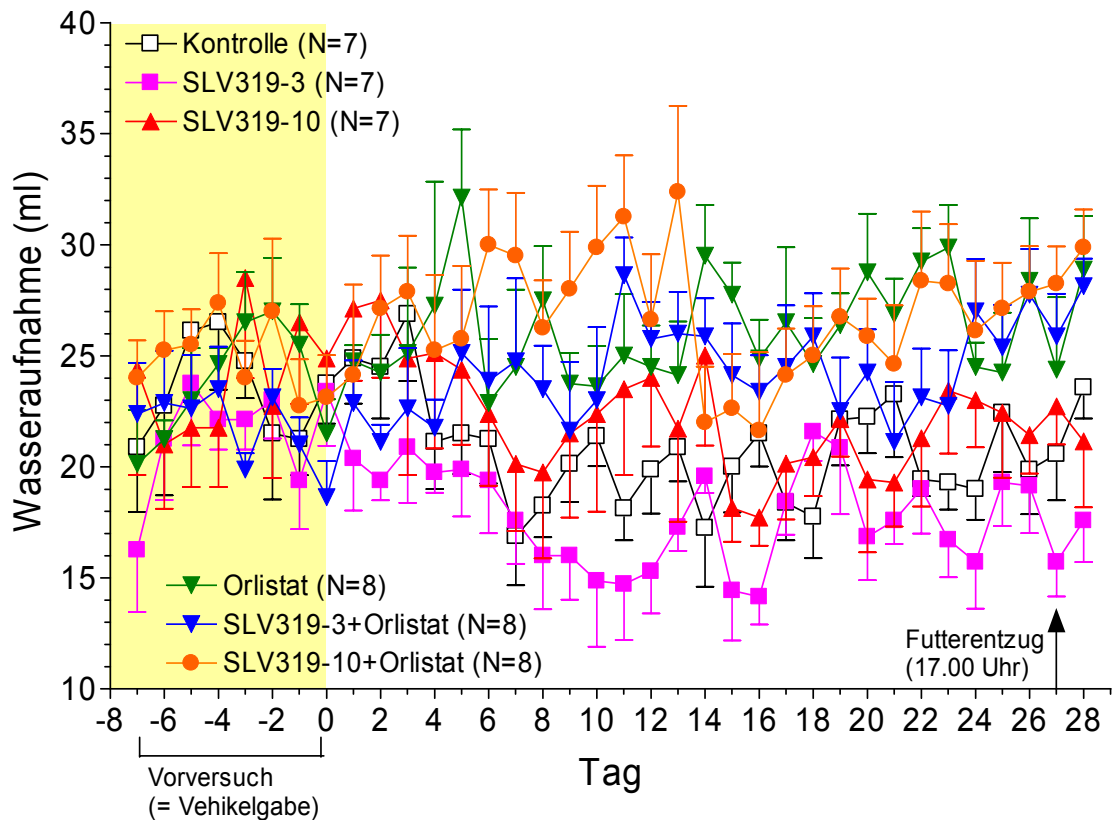


Abbildung 3-13: Wasseraufnahme der Wistarratten in Versuch 1 (MW±SE).

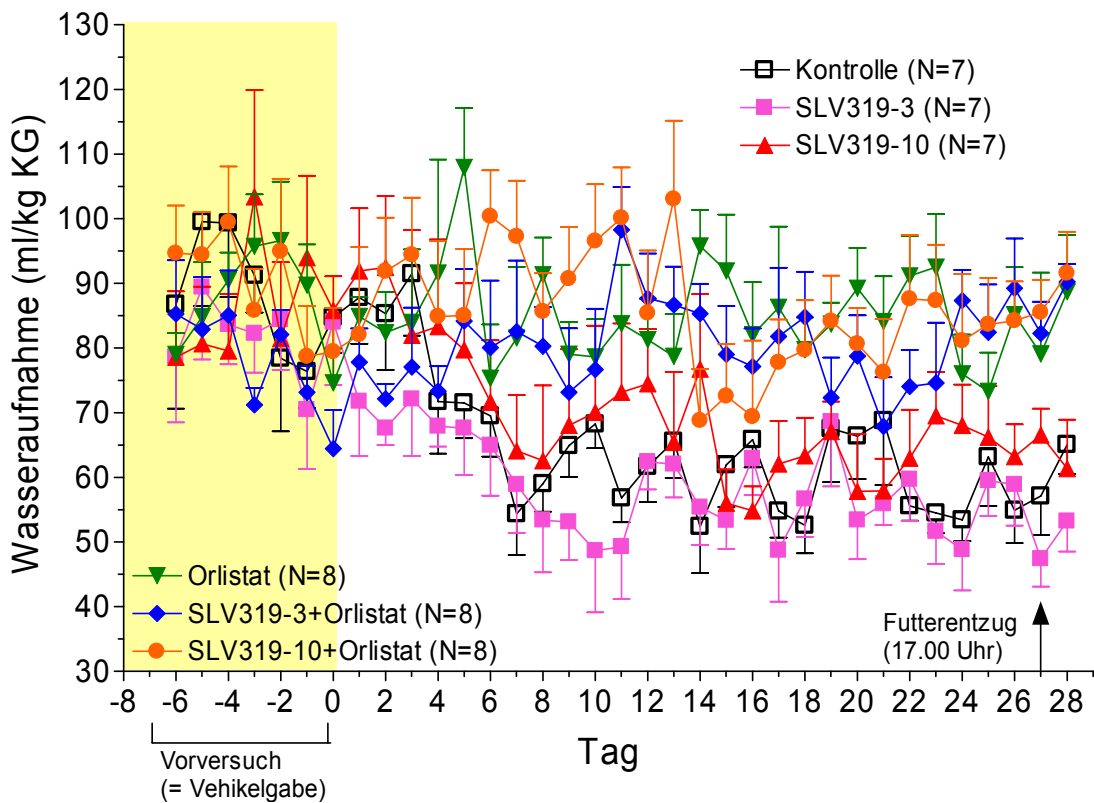


Abbildung 3-14: Wasseraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Versuch 1 (MW±SE).

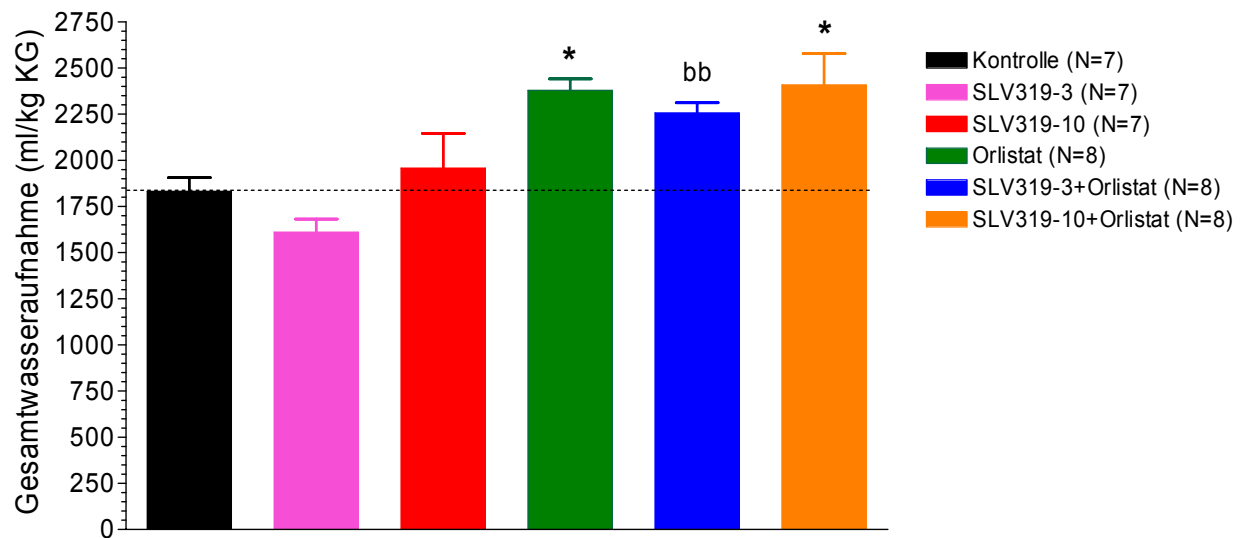


Abbildung 3-15: Gesamte Wasseraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistar-ratten in Versuch 1 während des Hauptversuchs bis Tag 28 (MW±SE).

Signifikant verschieden zur Kontrolle: * $p < 0,05$, SLV319 3: $^{bb} p < 0,01$.

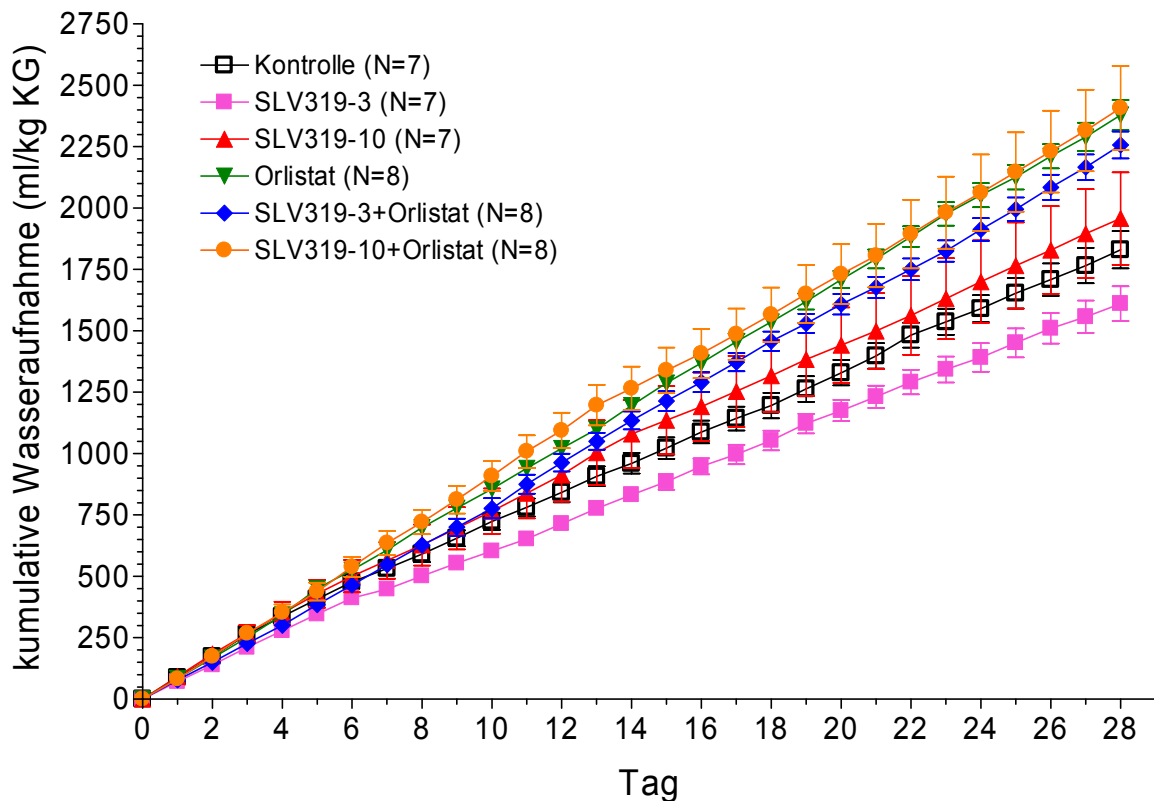


Abbildung 3-16: Kumulative Wasseraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistar-ratten in Versuch 1 während des Hauptversuchs (MW±SE).

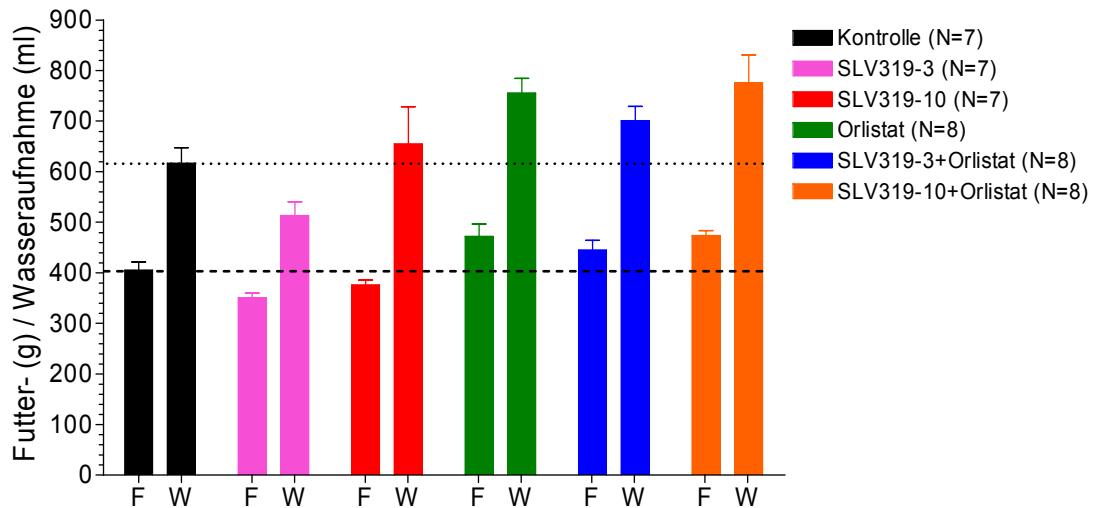


Abbildung 3-17: Vergleich der Gesamtaufnahme von Futter (F) und Wasser (W) der Wistarratten in Versuch 1 (MW±SE).

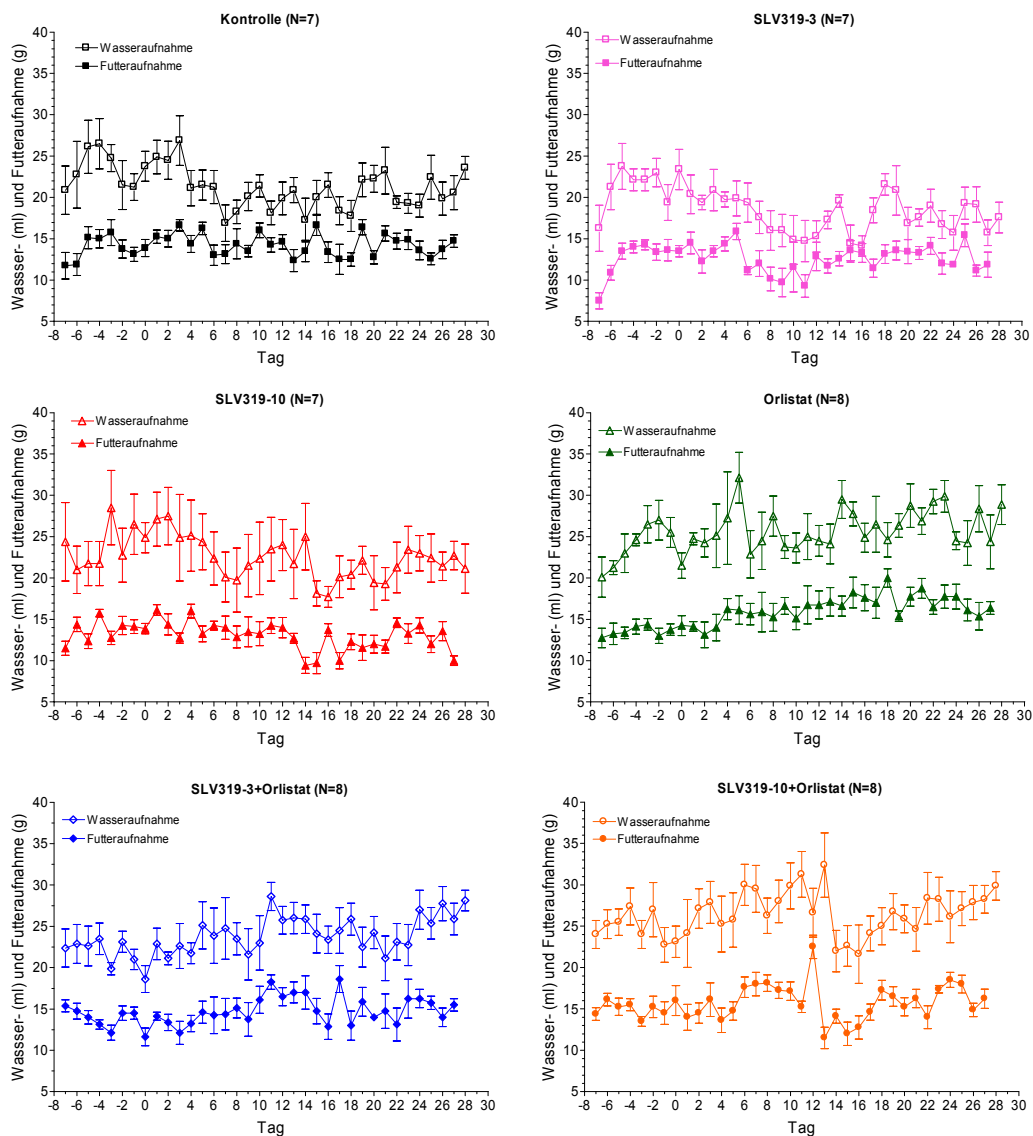


Abbildung 3-18: Wasseraufnahme (ml) und Futtermittel- (g) Aufnahme der Wistarratten in Versuch 1 im Vergleich (MW±SE).

3.1.4 Analyse der Blutproben

Die Behandlungen hatten zahlreiche Einflüsse auf die Blutwerte. Die Daten sind nachfolgend als Box Plots dargestellt. Die Insulinsensitivität wurde nach QUICKI definiert, einem quantitativen Insulinsensitivitätsberechnungsindex ($\text{QUICKI} = 1 / [\log(I_0) + \log(G_0)]$; $I_0/G_0 = \text{Nüchterninsulin/-glucose}$) [165]. In Tabelle 3-1 sind die statistischen Auswertungen zusammengefasst.

3.1.4.1 Gesamtcholesterin

Orlistat hatte keinen Effekt auf das Gesamtcholesterin im Serum (Abbildung 3-19). Dagegen senkte die Behandlung mit SLV319 dosisabhängig den Gesamtcholesterinspiegel um 10% (3 mg/kg) und 19% (10 mg/kg). In Kombination mit Orlistat war der SLV319-Effekt abgeschwächt. Keiner der Effekte erreichte jedoch statistische Signifikanz (Tabelle 3-1).

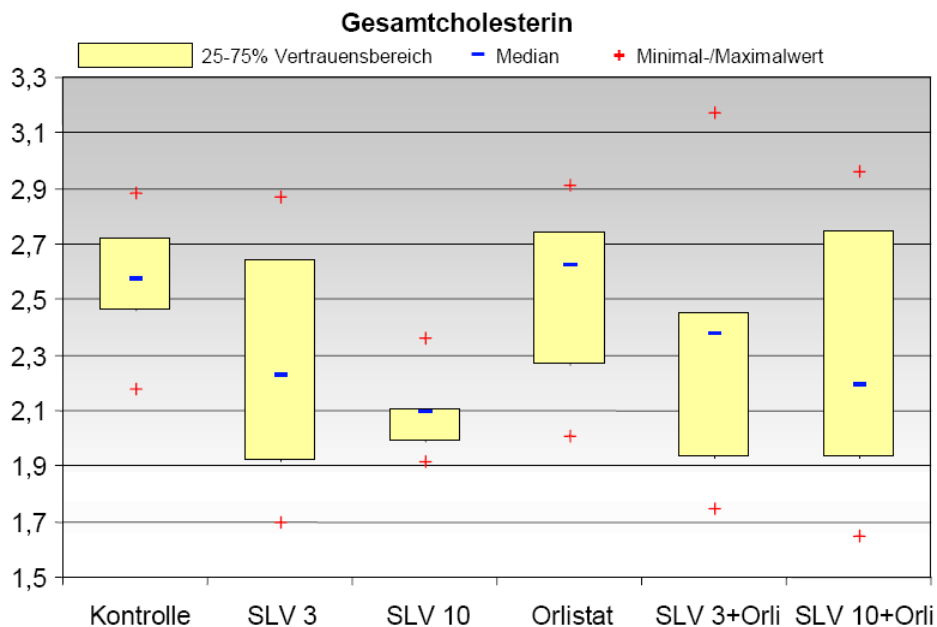


Abbildung 3-19: Gesamtcholesteringehalt der Blutprobe in mmol/l

MW±SD (N): Kontrolle: 2,57±0,23 (7); SLV-3: 2,30±0,42 (7); SLV-10: 2,09±0,14 (7); Orlistat: 2,56±0,30 (8); SLV-3+Orlistat: 2,31±0,44 (8); SLV-10+Orlistat: 2,28±0,45 (8).

3.1.4.2 LDL

Die LDL-Werte im Serum wurden durch SLV319 nicht beeinflusst, auch die Erhöhung um 25% durch Orlistat war nicht signifikant (Abbildung 3-20).

3.1.4.3 HDL

Die HDL-Spiegel im Serum waren in allen Gruppen höher als bei den Kontrollen (+103% bei Orlistat; +40% bei SLV319-10; +57% bei SLV319-10+Orlistat; +45% bei SLV319-3 und +42% bei SLV319-3+Orlistat). Nur die deutliche Erhöhung in der Orlistatgruppe war signi-

fikant gegenüber der Kontrolle ($p < 0,001$) und der Kombination mit SLV319-3 ($p < 0,05$). Die Unterschiede zwischen SLV319-3 und SLV319-10, alleine oder in Kombination mit Orlistat erreichten keine Signifikanz (Tabelle 3-1).

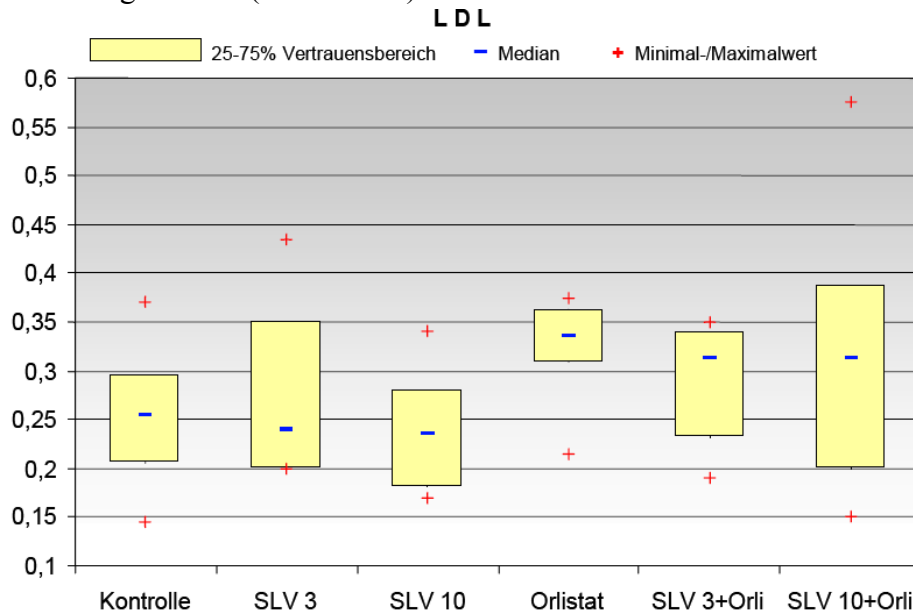


Abbildung 3-20: LDL-Gehalt der Blutprobe in mmol/l

MW±SD (N): Kontrolle: $0,25 \pm 0,07$ (7); SLV-3: $0,28 \pm 0,09$ (7); SLV-10: $0,24 \pm 0,06$ (7); Orlistat: $0,32 \pm 0,05$ (8); SLV-3+Orlistat: $0,29 \pm 0,06$ (8); SLV-10+Orlistat: $0,32 \pm 0,13$ (8).

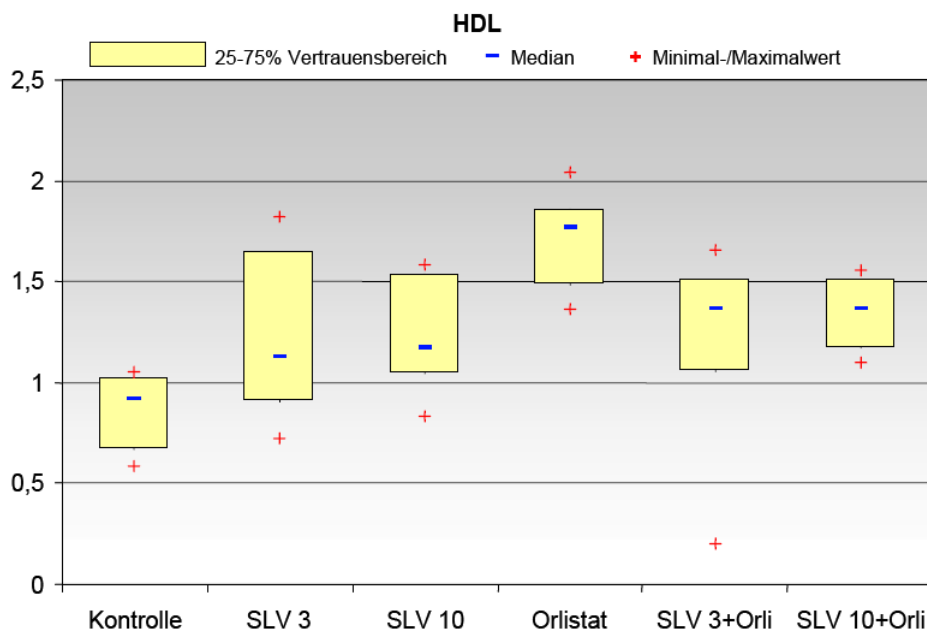


Abbildung 3-21: HDL-Gehalt der Blutprobe in mmol/l

MW±SD (N): Kontrolle: $0,86 \pm 0,18$ (7); SLV-3: $1,25 \pm 0,39$ (7); SLV-10: $1,21 \pm 0,27$ (7); Orlistat: $1,75 \pm 0,21$ (8); SLV-3+Orlistat: $1,22 \pm 0,46$ (8); SLV-10+Orlistat: $1,34 \pm 0,17$ (8).

3.1.4.4 Freies Cholesterin

Die alleinige Behandlung sowohl mit SLV319 (dosisabhängig -37% bei SLV319-3 und -58% bei SLV319) als auch mit Orlistat (-44%) senkte die Serumkonzentration von freiem Choles-

terin. Trotzdem konnte kein additiver Effekt bei gleichzeitiger Behandlung mit Orlistat und SLV319 beobachtet werden. Wegen der hohen Streuungen erreichten die Unterschiede keine Signifikanz (Tabelle 3-1).

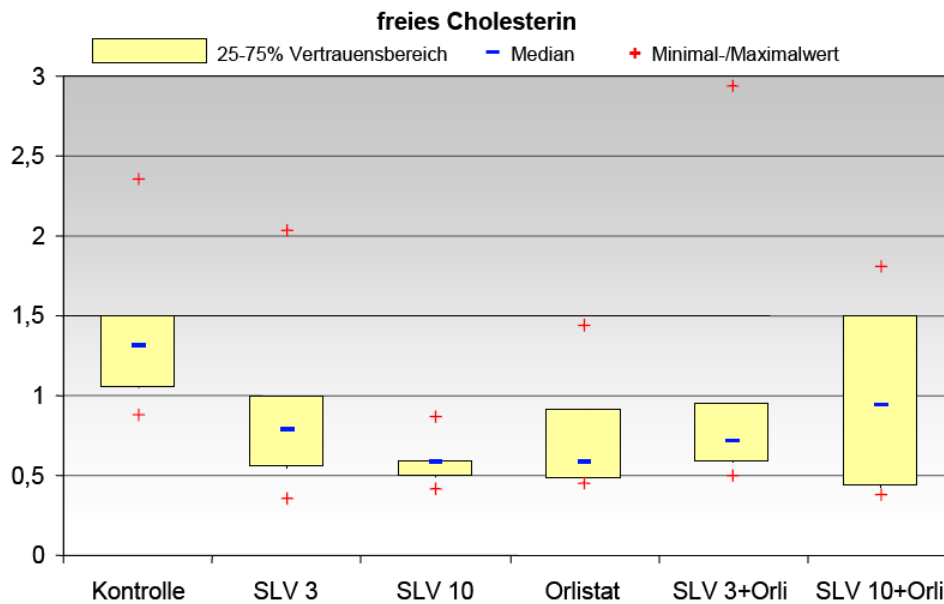


Abbildung 3-22: Gehalt an freiem Cholesterin der Blutprobe in mmol/l

MW±SD (N): Kontrolle: 1,34±0,48 (7); SLV-3: 0,87±0,56 (7); SLV-10: 0,58±0,15 (7); Orlistat: 0,77±0,39 (8); SLV-3+Orlistat: 0,99±0,80 (8); SLV-10+Orlistat: 0,98±0,56 (8)

3.1.4.5 Triglyzeride

Alle Einzelbehandlungsgruppen führten zu einem signifikanten Abfall des Triglyzeridspiegels in den Serumproben (Tabelle 3-1), am stärksten ausgeprägt in der Orlistat Gruppe (-74%). Dagegen konnte keine Dosisabhängigkeit bei SLV319 (-58% bei SLV319-3 und -61% bei SLV319-10) beobachtet werden. Die Kombinationsbehandlung von SLV319 mit Orlistat zeigte keine additiven Effekte, die Unterschiede waren wegen der höheren Streuung nicht mehr signifikant zur Kontrolle.

3.1.4.6 Nicht-veresterte Fettsäuren

Nur die Einzelbehandlungsgruppen führten zu einem Abfall der NEFA-Spiegel in den Serumproben, jedoch ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Abbildung 3-24, Tabelle 3-1). Dies war am stärksten ausgeprägt in den SLV319 Gruppen (jeweils -38%). Wiederum konnte kein additiver Effekt bei Kombination von SLV319 und Orlistat festgestellt werden.

3.1.4.7 Insulin

Die Nüchterninsulinwerte im Serum wurden durch SLV319 und Orlistat gegensätzlich beeinflusst (Abbildung 3-25). Orlistat erhöhte die Insulinspiegel (+84%, n.s.), SLV319 ließ sie

dosisabhängig um 35% und 96% abfallen. Bei Kombination von Orlistat mit SLV319 dominierte der stimulierende Effekt von Orlistat, es konnten fast ebenso hohe Insulinwerte beobachtet werden wie mit Orlistat alleine. Signifikant waren die Unterschiede zwischen SLV319-3 und SLV319-3+Orlistat ($p < 0,05$) sowie zwischen SLV319-10 und SLV-10+Orlistat ($p < 0,001$).

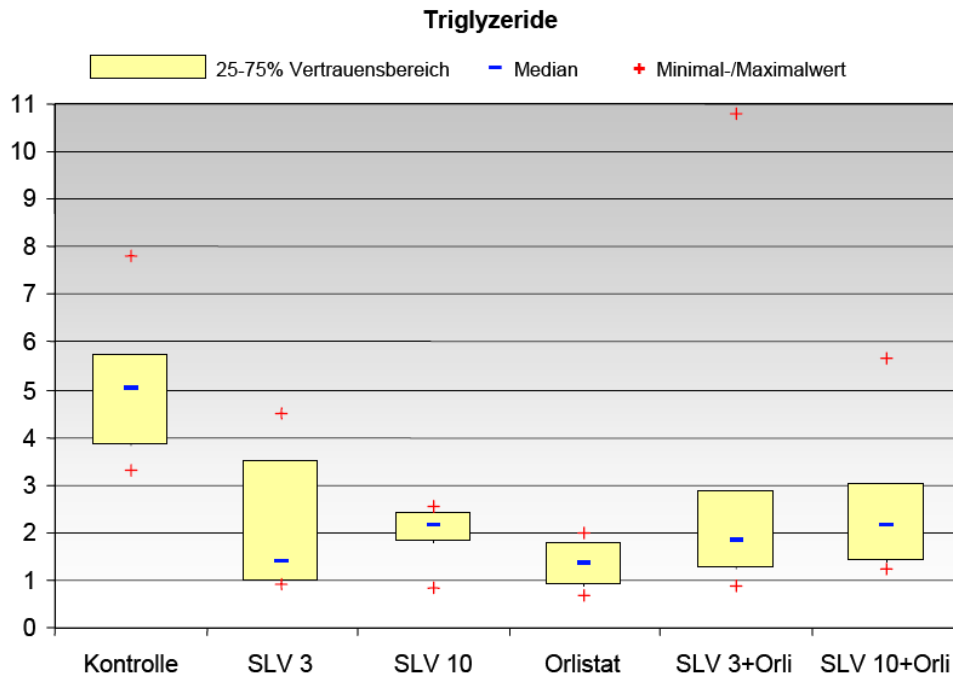


Abbildung 3-23: Triglyzeridgehalt der Blutprobe in mmol/l

MW \pm SD (N): Kontrolle: 5,10 \pm 1,46 (7); SLV-3: 2,15 \pm 1,43 (7); SLV-10: 2,01 \pm 0,58 (7); Orlistat: 1,35 \pm 0,54 (8); SLV-3+Orlistat: 2,93 \pm 3,26 (8); SLV-10+Orlistat: 2,49 \pm 1,47 (8).

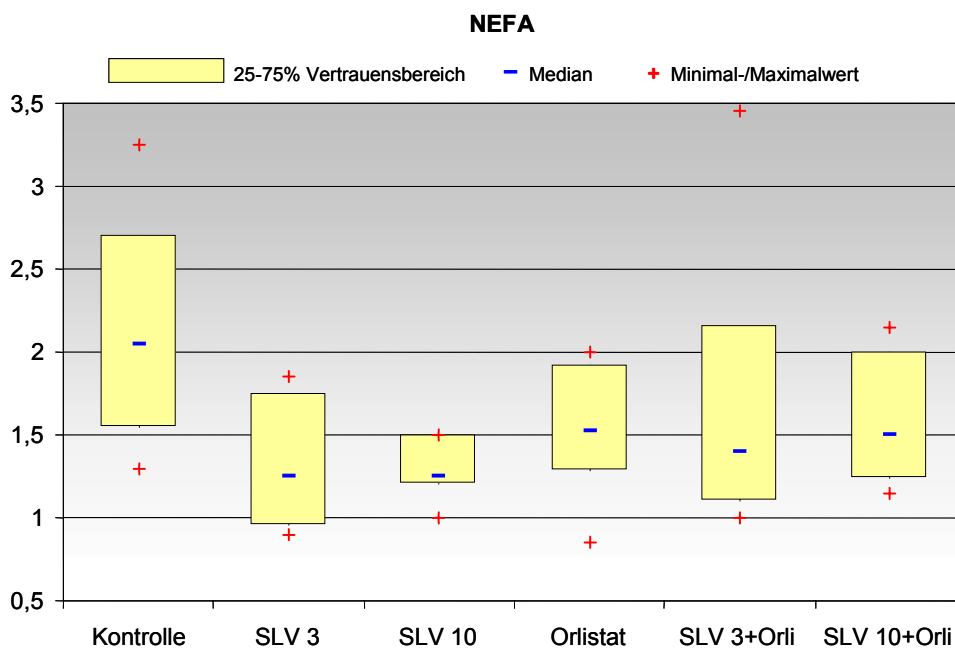


Abbildung 3-24: Gehalt an nicht-veresterten Fettsäuren der Blutprobe in mmol/l

MW \pm SD (N): Kontrolle: 2,11 \pm 0,68 (7); SLV-3: 1,31 \pm 0,37 (7); SLV-10: 1,30 \pm 0,18 (7); Orlistat: 1,50 \pm 0,42 (8); SLV-3+Orlistat: 1,68 \pm 0,84 (8); SLV-10+Orlistat: 1,61 \pm 0,40 (8).

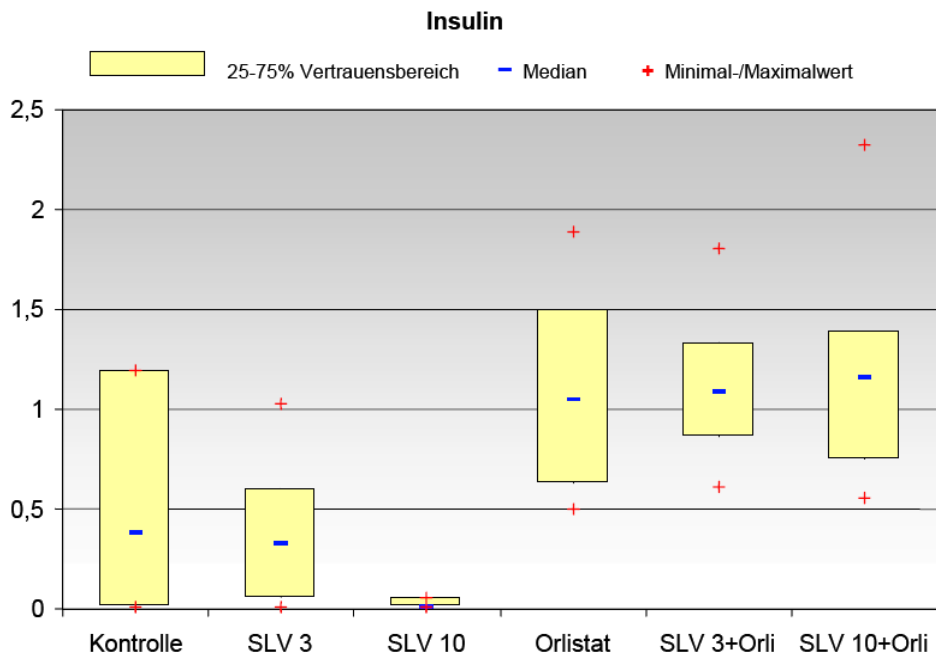


Abbildung 3-25: Insulingehalt der Blutprobe in µg/l

MW±SD (N): Kontrolle: 0,57±0,57 (7); SLV-3: 0,39±0,36 (7); SLV-10: 0,02± 0,02 (7); Orlistat: 1,08±0,48 (8); SLV-3+Orlistat: 1,13±0,37 (8); SLV-10+Orlistat: 1,20±0,54 (8).

3.1.4.8 Glucose

Die Effekte von SLV319 und Orlistat auf die Insulinwerte finden kein Äquivalent in den Glucosespiegeln (Abbildung 3-26). Die leichte Anhebung durch Orlistat (+21%) und der Abfall durch SLV319-10 (-10%) zeigten keine Signifikanz (Tabelle 3-1).

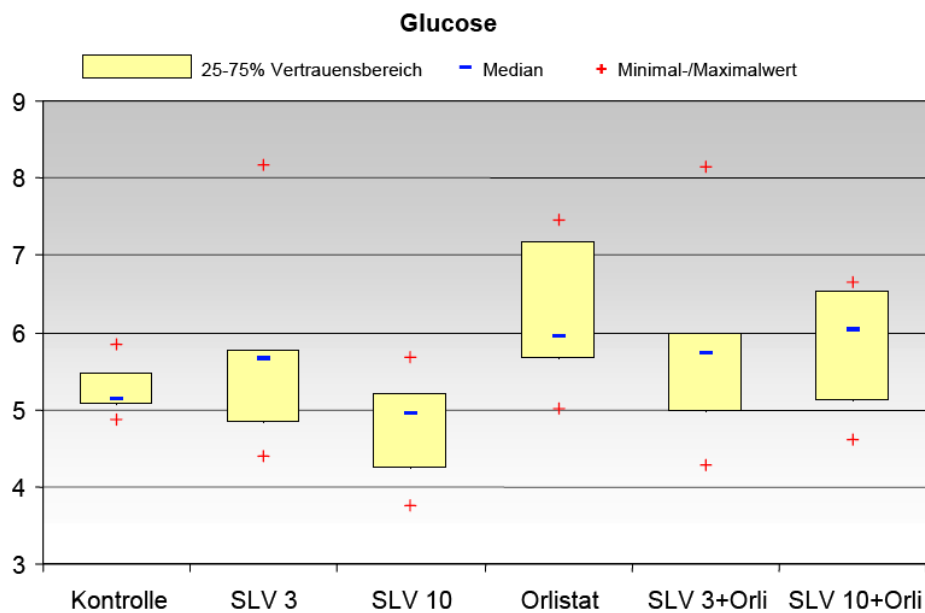


Abbildung 3-26: Glucosegehalt der Blutprobe in µg/l

MW±SD (N): Kontrolle: 5,26±0,23 (7); SLV-3: 5,65±1,23 (7); SLV-10: 4,76±0,67 (7); Orlistat: 6,41±0,94 (8); SLV-3+Orlistat: 5,73±1,14 (8); SLV-10+Orlistat: 5,81±0,76 (8).

3.1.4.9 Insulinsensitivität

Die von den Nüchterninsulin- und Glucosekonzentrationen abgeleiteten QUICKI-Werte schwankten stark innerhalb der Kontrolle (Abbildung 3-27). Die hohe Dosis von SLV319 verbesserte die Insulinsensitivität signifikant im Vergleich zur Kontrolle (+56%; $p < 0,01$) und auch zur niedrigen Dosis (+66%; $p < 0,01$; Tabelle 3-1). Alle mit Orlistat behandelten Ratten zeigten eine Verschlechterung der Insulinsensitivität (-33% gegenüber der Kontrolle) bei nur sehr geringen Schwankungen der QUICKI-Werte. Der Unterschied war signifikant zwischen der Einzelbehandlung mit SLV319-10 und der Kombination SLV319-10+Orlistat ($p < 0,001$).

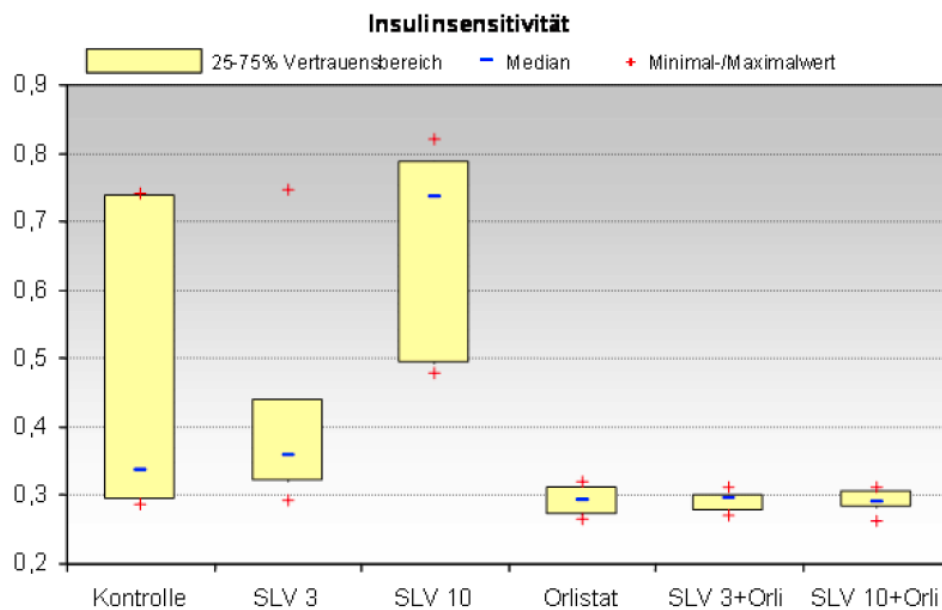


Abbildung 3-27: Insulinsensitivität der Blutprobe

MW \pm SD (N): Kontrolle: 0,44 \pm 0,21 (7); SLV-3: 0,41 \pm 0,16 (7); SLV-10: 0,68 \pm 0,14 (7); Orlistat: 0,29 \pm 0,02 (8); SLV-3+Orlistat: 0,29 \pm 0,01 (8); SLV-10+Orlistat: 0,29 \pm 0,02 (8).

Tabelle 3-1: Statistische Auswertung der Blutwerte mit ANOVA und Bonferroni-Korrektur der p-Werte in Versuch 1.

	Cholesterin	Glocose	LDL	HDL	TG	freies Cholesterin	NEFA	Insulin	Insulin-sensitivität
Kontrolle/SLV-3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,05	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Kontrolle/SLV-10	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,05	n.s.	n.s.	n.s.	0,01
Kontrolle/Orlistat	n.s.	n.s.	n.s.	0,001	0,01	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Kontrolle/SLV-3+Orlistat	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Kontrolle/SLV-10+Orlistat	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SLV-3/SLV-10	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,01
SLV-3/SLV-3+Orlistat	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,05	n.s.
SLV-10/SLV-10+Orlistat	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,001	0,001
Orlistat/SLV-3+Orlistat	n.s.	n.s.	n.s.	0,05.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Orlistat/SLV-10+Orlistat	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

n.s. = nicht signifikant

3.1.5 Carcass-Analyse

Die Carcass-Gewichte der Tiere waren zwischen 1,3 g (Kontrolle) und 15,7 g (SLV319-10+Orlistat) geringer als die 2 Stunden vor der Tötung und noch vor der ersten Blutabnahme bestimmten Lebendgewichte (Tabelle 3-2A). Auch bei den Carcass-Gewichten zeigte sich bei der niedrigen Dosis von SLV319 alleine und in Kombination mit Orlistat ein stärkerer Gewichtsverlust gegenüber der Kontrollgruppe als bei der hohen Dosis (Abbildung 3-28, Tabelle 3-3B).

Entsprechend der Gewichtsverluste nahmen auch die absoluten Gewichte der hauptsächlich Körperbestandteile, Wasser, Fett, Protein und Asche bei allen behandelten Ratten im Vergleich zur Kontrollgruppe ab (Tabelle 3-2A). Der Beitrag zur gesamten Gewichtsabnahme war aber sehr unterschiedlich (Abbildung 3-28, Tabelle 3-2B). Der relative Anteil des Wassers am Gewicht der Carcasse stieg in allen Gruppen signifikant an, mit nur geringen Unterschieden (1,8 bis 3,0%) zwischen den Gruppen. Dagegen verringerte sich der Fettanteil deutlich, insbesondere bei allen mit SLV319 behandelten Tieren (-3,6 bis -4,9%). Auch die leichte Erhöhung des Proteinanteils um 0,7 bis 1,5% erreichte in allen Testgruppen Signifikanz gegenüber der Kontrolle. Der quantitativ unbedeutende Aschegehalt war behandlungsbedingt ebenfalls erhöht, die minimalen Unterschiede (0,06 bis 0,24%) waren nicht signifikant.

In der Tabelle 3-3 sind die Ergebnisse der Carcass-Analysen noch mal in Relation zum Gewichtsverlust durch die verschiedenen Behandlungen zusammengefasst. Obwohl das Fett bei den Kontrollen nur ein Viertel des Körpergewichts ausmacht, tragen die Fettverluste bei den SLV319-behandelten Ratten stärker zum gesamten Gewichtsverlust bei, als das Körperwasser. Bei SLV319-3 gehen 44,6% auf das Konto des Fettverlusts und nur 41,5% sind durch Abnahme des Wassergewichts bedingt, bei SLV-319-10 sind dies sogar 51,4% (Fett) gegenüber nur 36,9% (Wasser). Dies ist bei Orlistat nicht der Fall, Wasser trägt hier zu 48%, das Fett nur zu 34,6% zum Gewichtsverlust bei. In der Kombination schwächt Orlistat den relativen Effekt von SLV319 auf die Fettverluste ab.

Tabelle 3-2: Auswirkungen von SLV und Orlistat auf Wasser-, Fett-, Protein- und Aschegehalt der Zuckerrattenkadaver in Versuch 1.

A: Absolute Gewichte (g)

Gruppe	N	Wasser (g)		Fett (g)		Proteine (g)		Asche (g)		Carcass-Gewicht (g)		KG an Tag 28 (g)	
		MW	SE	MW	SE	MW	SE	MW	SE	MW	SE	MW	SE
Kontrolle	7	221,3	2,1	57,9	3,9	71,7	0,9	10,53	0,32	365,7	5,8	366,4	14,9
SLV319-3	7	203,6	7,3	38,9	2,1***	67,6	2,1	9,48	0,29*	323,0	7,7**	327,9	10,2***
SLV319-10	7	207,1	2,2	38,2	2,7***	69,0	0,8	9,75	0,17*	327,2	3,9**	338,6	8,4***
Orlistat	8	198,9	5,9**	41,8	2,6***	64,6	1,7**	9,91	0,39	319,0	9,5***	331,9	16,1***
SLV319-3+Orlistat	8	193,7	7,0**	33,3	4,0***	63,8	2,2**	9,46	0,22*	303,7	13,0***	314,4	12,9***
SLV319-10+Orlistat	8	199,6	4,3**	35,2	1,2***	65,8	1,3**	9,23	0,26*	313,7	6,4***	329,4	7,8***

B: Prozentuale Zusammensetzung der Kadaver

Gruppe	N	Wasser (%)		Fett (%)		Proteine (%)		Asche (%)		Total (%)
		MW	SE	MW	SE	MW	SE	MW	SE	
Kontrolle	7	60,6	0,7	15,7	0,8	19,6	0,2	2,89	0,07	98,9
SLV319-3	7	63,0	0,8**	12,1	0,9**	20,9	0,3***	2,96	0,12	99,0
SLV319-10	7	63,2	0,5**	11,7	0,7***	21,1	0,2***	2,98	0,06	99,0
Orlistat	8	62,4	0,5*	13,0	0,7*	20,3	0,2*	3,12	0,11	98,8
SLV319-3+Orlistat	8	63,8	0,5***	10,9	0,9***	21,0	0,2***	3,14	0,12	98,8
SLV319-10+Orlistat	8	63,4	0,3***	11,2	0,4***	20,9	0,1***	2,95	0,07	98,7

Dargestellt sind die Mittelwerte der einzelnen Gruppen, angepasst an das Körpergewicht (als Grundlage für die Unterschiede zwischen den Gruppen) und der Standardfehler. Die statistischen Vergleiche wurden mit ANCOVA (Grundkörpergewicht als Kovariable) dargestellt, gefolgt von einem separaten Williams-Test für SLV319 und die Kombination mit Orlistat, und einem multiplen t-Test für Orlistat. Signifikant unterschiedlich zur Kontrolle: * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

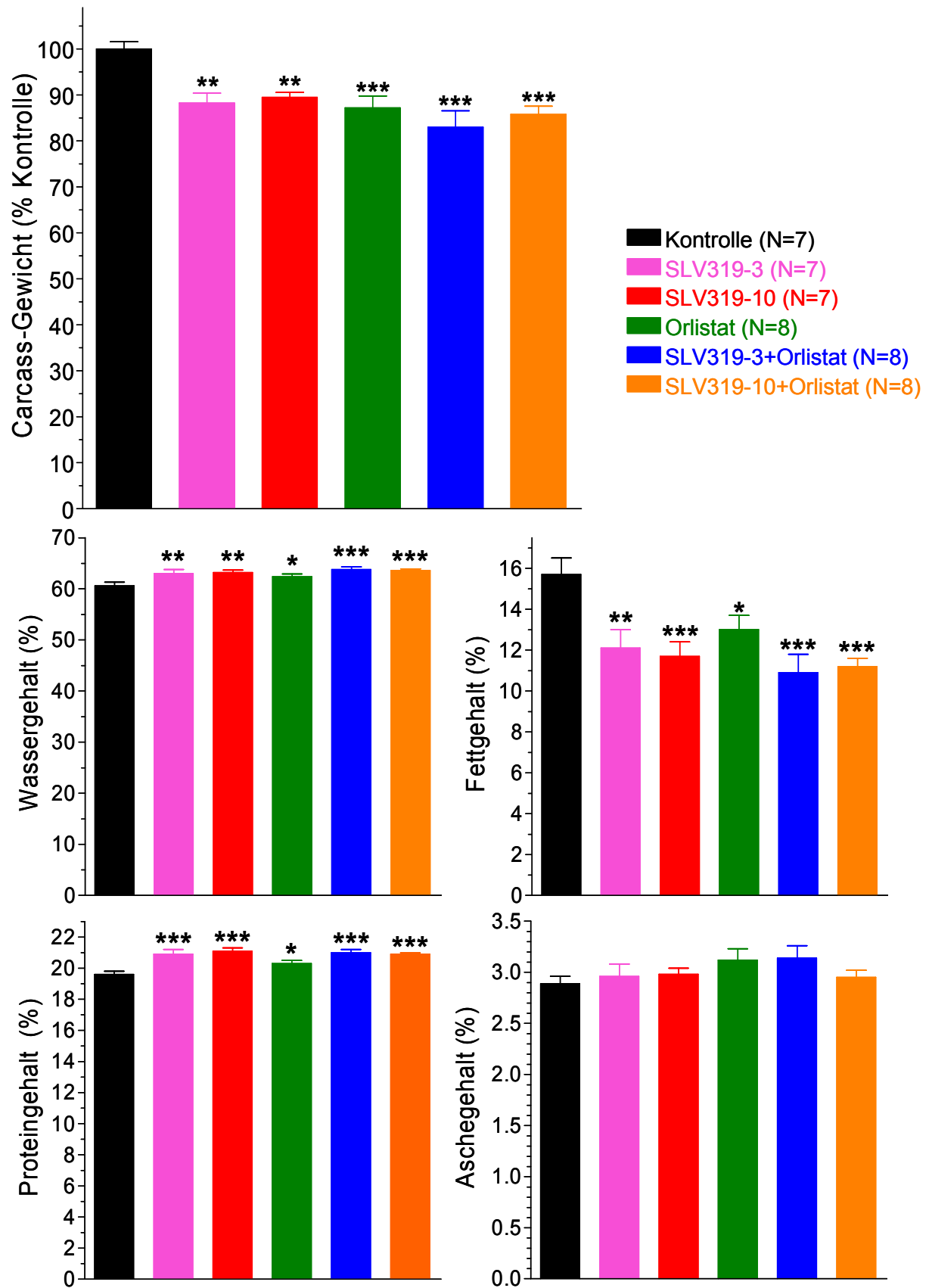


Abbildung 3-28: Effekt von SLV319 und Orlistat, alleine oder in Kombination gegeben, auf das Carcass-Gewicht der Wistarratten und die prozentualen Anteile von Wasser, Fett, Protein und Asche in Versuch 1 (MW±SE).

Signifikant verschieden zur Kontrolle : * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Tabelle 3-3: Zusammenfassung der Auswirkung von SLV und Orlistat auf die Zusammensetzung der Wistarrattenkadaver in Versuch 1.

A: Unterschiede im mittleren Gewicht der Parameter pro Ratte (g) und die folgende Beteiligung am Gewichtsunterschied (% Total).

Gruppe	Wasser		Fett		Protein		Asche		Carcass-Gewicht (g)
	(g)	% Total	(g)	% Total	(g)	% Total	(g)	% Total	
SLV319-3	-17,7	41,5	-19,0	44,6	-4,1	9,5	-1,1	2,5	-42,7
SLV319-10	-14,2	36,9	-19,8	51,4	-2,7	6,9	-0,8	2,0	-38,5
Orlistat	-22,4	48,0	-16,2	34,6	-7,1	15,1	-0,6	1,3	-46,7
SLV319-3+Orlistat	-27,6	44,5	-24,7	39,8	-7,8	12,6	-1,1	1,7	-62,0
SLV319-10+Orlistat	-21,7	41,7	-22,7	43,7	-5,9	11,3	-1,3	2,5	-52,0

B: Prozentuale Abnahme der Parameter im Vergleich zur jeweiligen Abnahme im Carcass-Gewicht.

Gruppe	Wasser (%)	Fett (%)	Proteine (%)	Asche (%)	Carcass-Gewicht (%)
SLV319-3	-8,0	-32,8	-5,7	-10,0	-11,7
SLV319-10	-6,4	-34,0	-3,8	-7,4	-10,5
Orlistat	-10,1	-27,8	-9,9	-5,9	-12,8
SLV319-3+Orlistat	-12,5	-42,5	-11,0	-10,2	-17,0
SLV319-10+Orlistat	-9,8	-39,2	-8,2	-12,3	-14,2

Die Ergebnisse von A sind als die absoluten Unterschiede zur Kontrolle in g, und ebenso als zugehörige prozentuale totale Körpergewichtsunterschiede einer jeden Gruppe im Vergleich zur Kontrolle dargestellt. Dieses wurde aus Tabelle 3-2A berechnet. Die Ergebnisse von B zeigen die prozentuale Abnahme eines jeden Parameters und sind zusammen mit der jeweiligen prozentualen Abnahme im Carcass-Gewicht im Vergleich zur Kontrolle dargestellt. Diese Daten wurden ebenfalls aus Tabelle 3-2A berechnet.

3.2 Versuch 2: Untersuchung von SLV335 und Topiramamat an Wistar-ratten

Es wurde die Wirkung eines neuen Carboanhydrasehemmers mit der Wirkung von Topiramamat im Modell der extrem kalorienreich ernährten Wistar-ratte (Western Diet) verglichen.

Die Randomisierung fand am 5. Tag des Vorversuchs statt. Die Zuteilung zu einer der sieben Behandlungsgruppen erfolgte somit an Tag -3 für Kontrolle und T 30, an Tag -4 für T 60 und T 100, an Tag -5 für SLV335-30 und SLV335-60, und an Tag -6 für SLV335-100 vor Beginn des Experiments (Tag 0).

3.2.1 Körpergewicht

In Versuch 2 zeigte die Entwicklung des Körpergewichts der Tiere den in Abbildung 3-29 bis Abbildung 3-32 dargestellten Verlauf. Es sind die absoluten Körpergewichte für den gesamten Versuch (Tag -7 bis Tag 28) und das prozentuale Körpergewicht der Ratten jeweils im Vergleich zu Tag 0 dargestellt. Abbildung 3-33 zeigt die gesamte Zunahme der Körpergewichte im Hauptversuch bis zum letzten Tag der *ad libitum* Fütterung (Tag 27).

Während der Vorversuchswoche, die auch die dreitägige Vorschlämmlung mit Vehikelgabe einschloss, nahmen alle Tiere kontinuierlich an Gewicht zu, mit Ausnahme der Ratten der späteren SLV335-30 Gruppe, welche vorübergehend an Tag -4 an Gewicht verloren (< 1%). Die Vehikelgabe selbst beeinflusste die Wachstumsrate der Tiere nicht, außer in der späteren SLV335-100 Gruppe, die am dritten Tag der Vehikelgabe einen minimalen Einbruch ihres Körpergewichts zeigten (Abbildung 3-29).

Mit Ausnahme einer minimalen Abnahme des Körpergewichts am ersten Tag des Experiments nahmen die Tiere der Kontrollgruppe bis zu Tag 27 an Gewicht zu (+18% Körpergewichtszuwachs und 37,5±3 g Gesamtzunahme; Abbildungen 3-29 und 3-30), mit lediglich einem kleinen Einbruch an Tag 15 (-1%). Die Behandlung mit Topiramamat führte zu einem starken Abfall des Körpergewichts am ersten Behandlungstag (T 30 -1,6%, T 60 -1,8%, T 100 -2,4%;). Die T 30 Gruppe erholte sich sofort am nächsten Tag und kehrte auf ihr Ausgangsgewicht von Tag 0 zurück, während die T 60 und T 100 Tiere vier Tage benötigten. Anschließend zeigten die T 30 und T 60 Ratten in etwa eine ähnlich gleichmäßige, aber im Vergleich zur Kontrolle geringere Gewichtszunahme bis zum Ende der Studie. Lediglich an Tag 22 und Tag 24 konnte in den T 60 Ratten ein kleiner Gewichtsverlust beobachtet werden. Die beiden Gruppen mit den niedrigeren Dosierungen von Topiramamat erreichten schließlich ihr höchstes Gewicht an Tag 27 (T 30: +11% / 23,1±4 g, 62% im Vergleich zur Kontrolle; T 60: +11% / 22,5±3 g, 60% im Vergleich zur Kontrolle; Abbildungen 3-30 und 3-33).

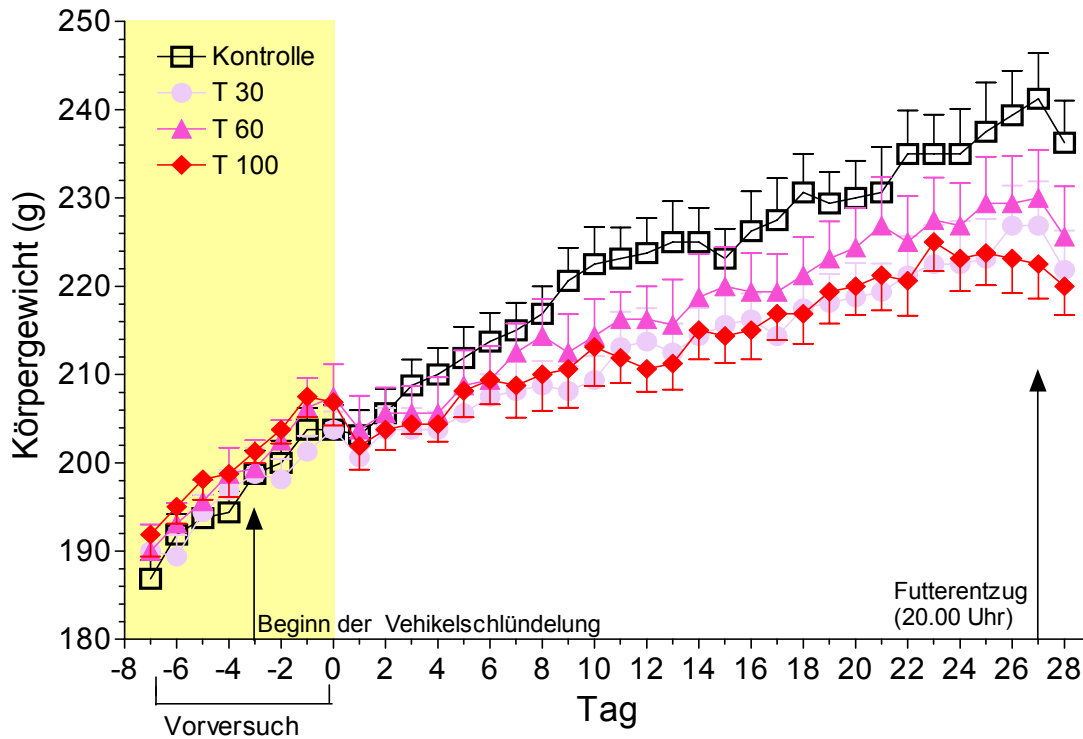


Abbildung 3-29: Körpergewichte der Wistarratten in Versuch 2: Behandlung mit Topiramat (N=8; MW \pm SE).

Von Tag 0 an erhielten die Ratten täglich 2 Schlüdelndurchgänge: Die Kontrollgruppe erhielt zweimal täglich Vehikel (2%ige PEG-CMC-Lösung), die Topiramat- bzw. SLV335-Gruppe morgens 10, 20 oder 33,3 mg/kg KG und abends 20, 40 oder 66,6 mg/kg KG Topiramat bzw. SLV335. Die Tiere erhielten Futter und Wasser *ad libitum*.

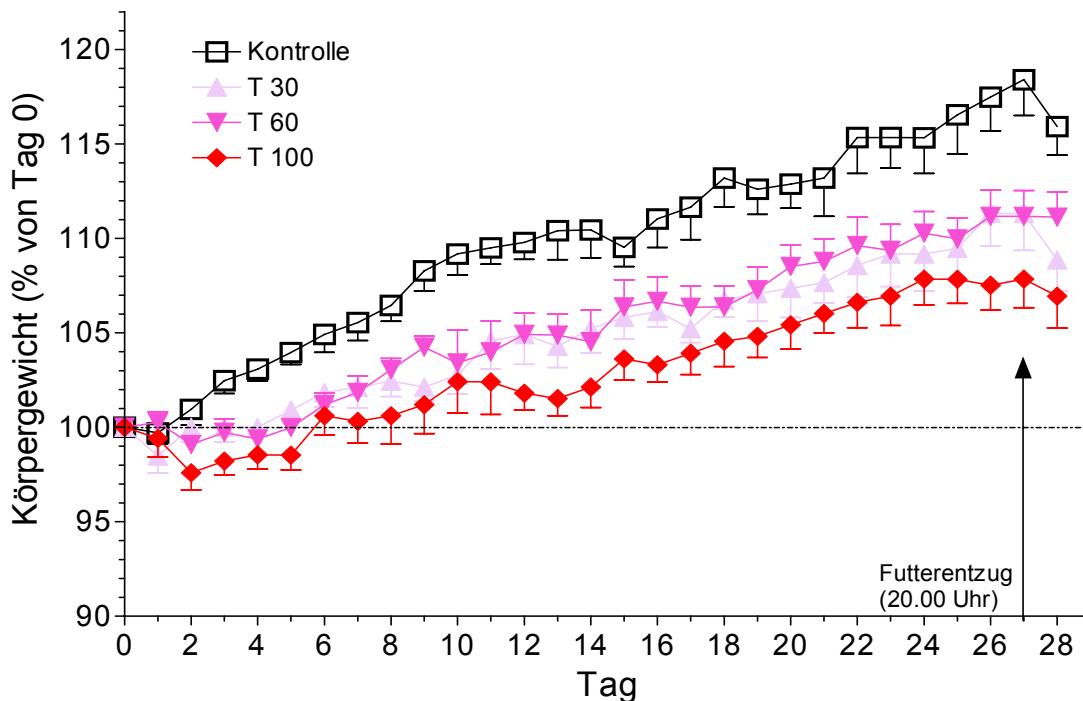


Abbildung 3-30: Prozentuale Veränderung der Körpergewichte der Wistarratten im Vergleich zu Tag 0 in Versuch 2: Behandlung mit Topiramat (N=8; MW \pm SE).

Ein ähnlicher, aber etwas unregelmäßigerer Verlauf zeigte sich bei der höchsten Topiramatdosis. Die T 100-Ratten erreichten ihr höchstes Gewicht an Tag 23 (+9%) und hatten am Ende der Studie an Tag 27 ein etwas geringeres Gewicht (+8% / $15,6 \pm 4,6$ g, 42% im Vergleich zur Kontrolle, $p < 0,01$). Alle Topiramatgruppen blieben während der ganzen Studie stets unterhalb der Kurve der Kontrolltiere.

Die Behandlung mit SLV335 führte nicht zu dem für Topiramat typischen akuten Gewichtsverlust an Tag 1 (Abbildungen 3-31 und 3-32). Bei den SLV335-30-Ratten stagnierte die Gewichtszunahme in den ersten 3 Tagen, anschließend verlief die Entwicklung mit Ausnahme von einem kleinen Abfall an Tag 4 und Tag 12 parallel zur Kontrollgruppe. Sie erreichten ihr höchstes Gewicht an Tag 27 (+15% / $30,6 \pm 3,5$ g, 82% im Vergleich zur Kontrolle). Die Behandlung mit den beiden höheren Dosierungen, SLV335-60 und SLV335-100; führte zu einem weniger intensiven, dafür aber länger anhaltenden Gewichtsverlust als die Behandlung mit Topiramat. Die Ratten erreichten ihr Ausgangsgewicht von Tag 0 erst wieder an Tag 9 (SLV335-60) bzw. 14 (SLV335-100). Auch anschließend blieben die Gewichtszunahmen deutlich und dosisabhängig hinter jener der Kontrollgruppe zurück. Die SLV335-60-Ratten erreichten ihr höchstes Körpergewicht an Tag 27 (+9% / $18,1 \pm 3,9$ g, 48% im Vergleich zur Kontrolle, $p < 0,05$). Die SLV335-100 Tiere folgten im Verlauf etwa den T 100-Ratten, erreichten ihr höchstes Gewicht an Tag 23 (+4%) und endeten an Tag 27 auf einem etwas geringeren Level (+3% / $5,6 \pm 4,3$ g, 15% im Vergleich zur Kontrolle, $p < 0,001$).

Abbildung 3-33 stellt die statistische Auswertung des Gesamtkörpergewichtzuwachses dar: Die Behandlung mit SLV335 zeigt eine klare Dosisabhängigkeit und zur Kontrolle statistisch signifikante Unterschiede bei den beiden höheren Dosen (SLV335-60: $p < 0,05$, SLV335-100: $p < 0,001$). Bei der Topiramatbehandlung gab es keinen Unterschied zwischen den beiden niedrigeren Dosen, statistisch signifikante Unterschiede zur Kontrolle wurde nur mit der höchsten Topiramatdosis (T 100, $p < 0,001$) erreicht.

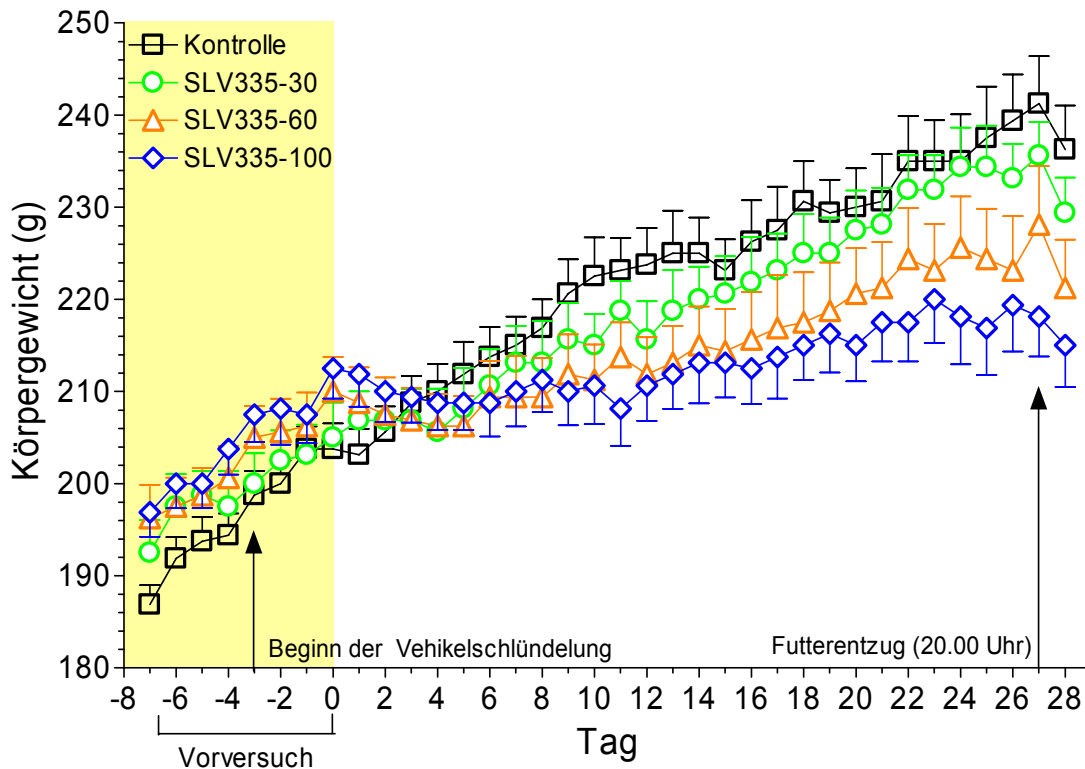


Abbildung 3-31: Körpergewichte der Wistarratten in Versuch 2: Behandlung mit SLV335 (N=8; MW±SE).

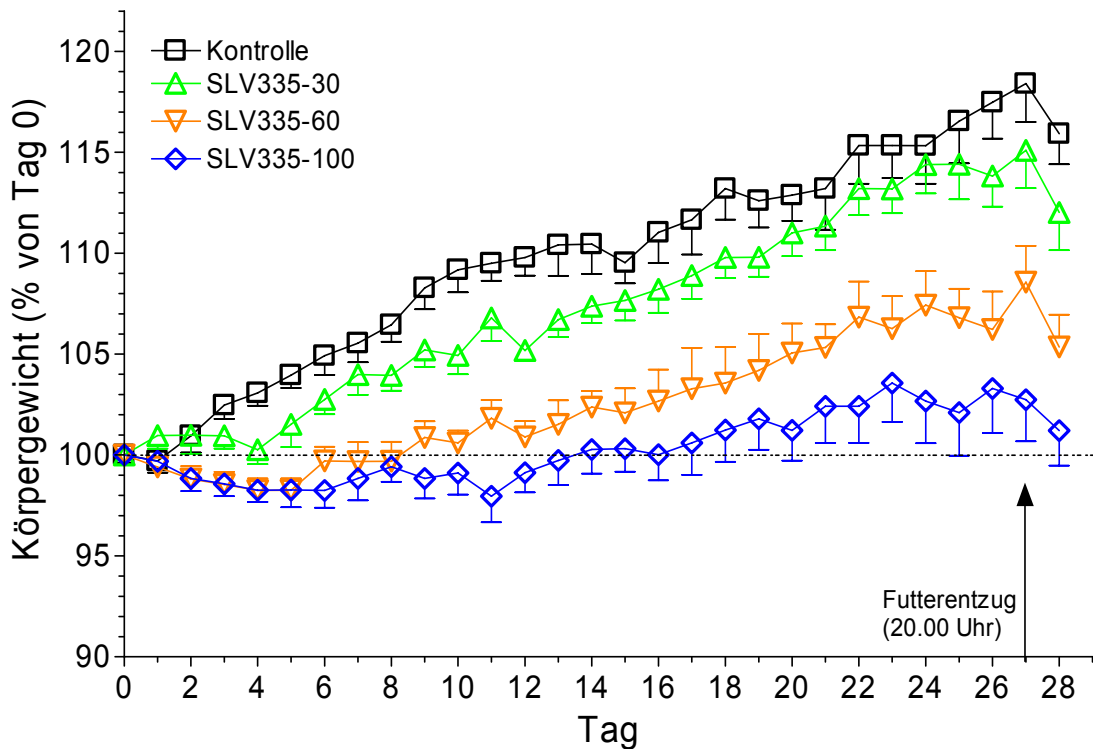


Abbildung 3-32: Prozentuale Veränderung der Körpergewichte der Wistarratten im Vergleich zu Tag 0 in Versuch 2: Behandlung mit SLV335 (N=8; MW±SE).

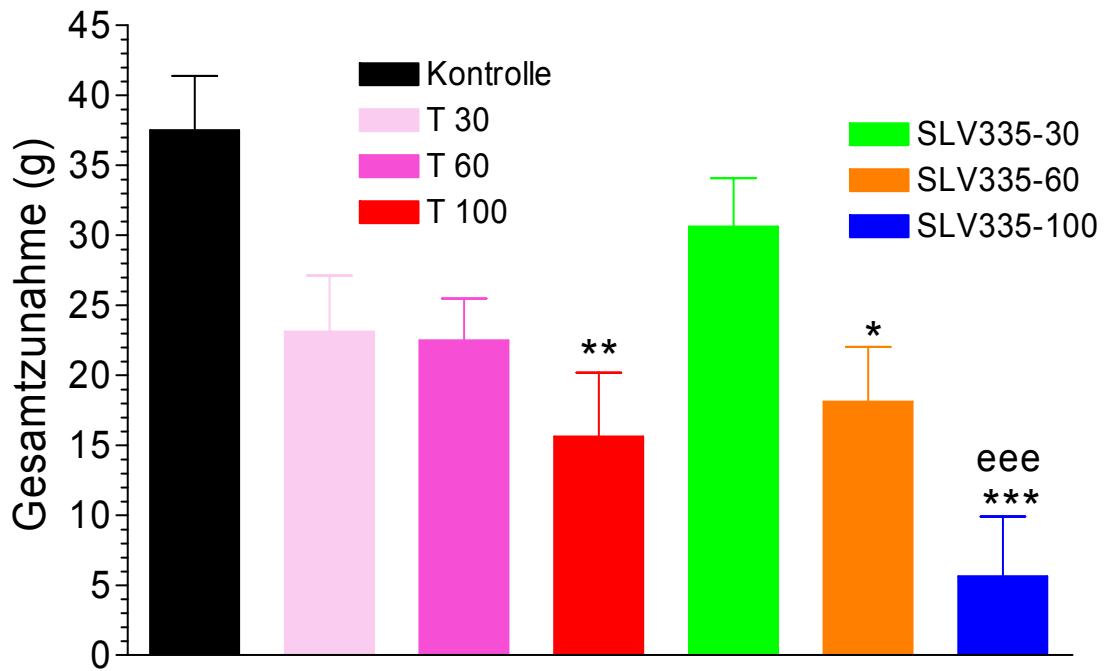


Abbildung 3-33: Gesamte Körpergewichtszunahme der Wistarratten während des vierwöchigen Hauptversuchs in Versuch 2 (Tag 27) (N=8; MW±SE).

Signifikant verschieden zu Kontrolle: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; zu SLV335-30: eee $p < 0,001$.

3.2.2 Futteraufnahme

In Versuch 2 veränderte sich die Futteraufnahme im Verlauf des Versuches wie im Folgenden beschrieben und in den Abbildungen 3-35 bis 3-38 dargestellt. Es sind jeweils die absoluten Werte in g und jene im Verhältnis zur Körpergewichtsentwicklung dargestellt (g/kg KG). Einen besseren Überblick über die behandlungsbezogenen Effekte gibt die Darstellung der wöchentlichen Futteraufnahme in den Abbildungen 3-34, 3-9 und 3-40 (1. Vorversuchswoche: Tage -12 bis -7; 2. Vorversuchswoche: Tage -6 bis -1; 1. Woche: Tage 0 bis 6; 2. Woche: Tage 7 bis 13, 3. Woche: Tag 14 bis 20; 4. Woche: Tage 11 bis 27). Abbildung 3-41 zeigt die statistische Auswertung der gesamten relativen Futteraufnahme im Hauptversuch.

Die Futteraufnahme wurde täglich um 9.00 Uhr bestimmt. Sie zeigte während der ganzen Studie große Schwankungen. Während des Vorversuchs war die Futteraufnahme aller Tiere ähnlich mit Ausnahme in der späteren T 60 Gruppe, die an Tag -6 sehr wenig fraßen (Abbildung 3-35). Die Vehikelgabe bewirkte in allen Gruppen eine leichte Abnahme der Futteraufnahme, außer in der Kontrollgruppe und der späteren SLV335-100 Gruppe. Die Futteraufnahme in der gesamten Vorversuchswoche war bei allen späteren Behandlungsgruppen geringer als bei der Kontrolle (signifikant bei der die T 30-Gruppe, $p < 0,01$), ausgenommen der

späteren SLV335-100 Gruppe, die einen signifikant höheren Futterverzehr hatte als die Kontrollen ($p < 0,05$, Abbildung 3-34)

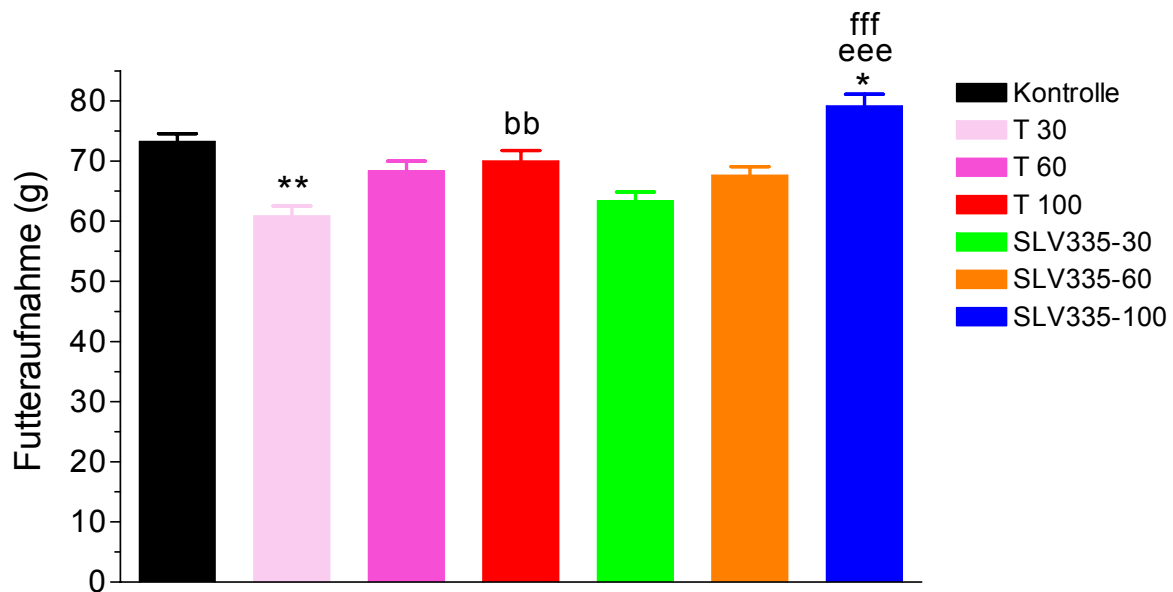


Abbildung 3-34: Futteraufnahme der Wistarratten während des Vorversuchs in Versuch 2 (N=8; MW±SE).

Signifikant verschieden zu Kontrolle: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, zu T 30: bb $p < 0,01$, zu SLV335 30: eee $p < 0,001$, zu SLV335-60: fff $p < 0,001$.

An Tag 0 waren die Ausgangswerte aller Gruppen in etwa vergleichbar. Die Kontrollgruppe zeigte ein sehr variables Fressverhalten, stets auf einem höheren Level als die restlichen Gruppen, außer in der dritten Woche, in der sie weniger fraßen und gleichzeitig die Futteraufnahme in den T 60, T 100 und SLV335-30 Ratten anstieg. Die Topiramatbehandlung führte in allen Gruppen zu einem einschneidenden Abfall der Futteraufnahme an Tag 1. Die Ratten erholten sich sogleich am darauf folgenden Tag, blieben aber anschließend stets unter den Ausgangswerten von Tag 0 (Abbildungen 3-35 und 3-36). Aus der wöchentlichen Perspektive betrachtet fraßen die T 30 Ratten genauso wenig wie die T 60 und T 100 Tiere, jedoch angesichts ihrer sehr viel geringeren Futteraufnahme im Vorversuch, zeigten sie eine relativ konstante, insgesamt geringe Futteraufnahme in der ganzen Studie (Abbildungen 3-34 und 3-39). Die Behandlung mit T 60 und T 100 zeigte einen scheinbaren Wirkungsverlust in der 3. Woche, auch weil die Kontrollgruppe weniger fraß. In der letzten Woche stieg die Futteraufnahme der T 60 und T 100 Tiere wieder an, so dass sich in allen Topiramatgruppen die Werte in etwa gleich darstellten. Somit war die Futteraufnahme in allen Topiramatgruppen signifikant unterschiedlich zur Kontrolle in der ersten und zweiten Woche, und zusätzlich für T 30 und T 60 auch in der vierten Woche. Zusammengefasst war die kumulative Aufnahme in

allen Gruppen 87-89% im Vergleich zur Kontrolle, alle Topiramatgruppen fraßen in etwa gleiche Mengen, stets unterhalb der Kurve der Kontrolltiere.

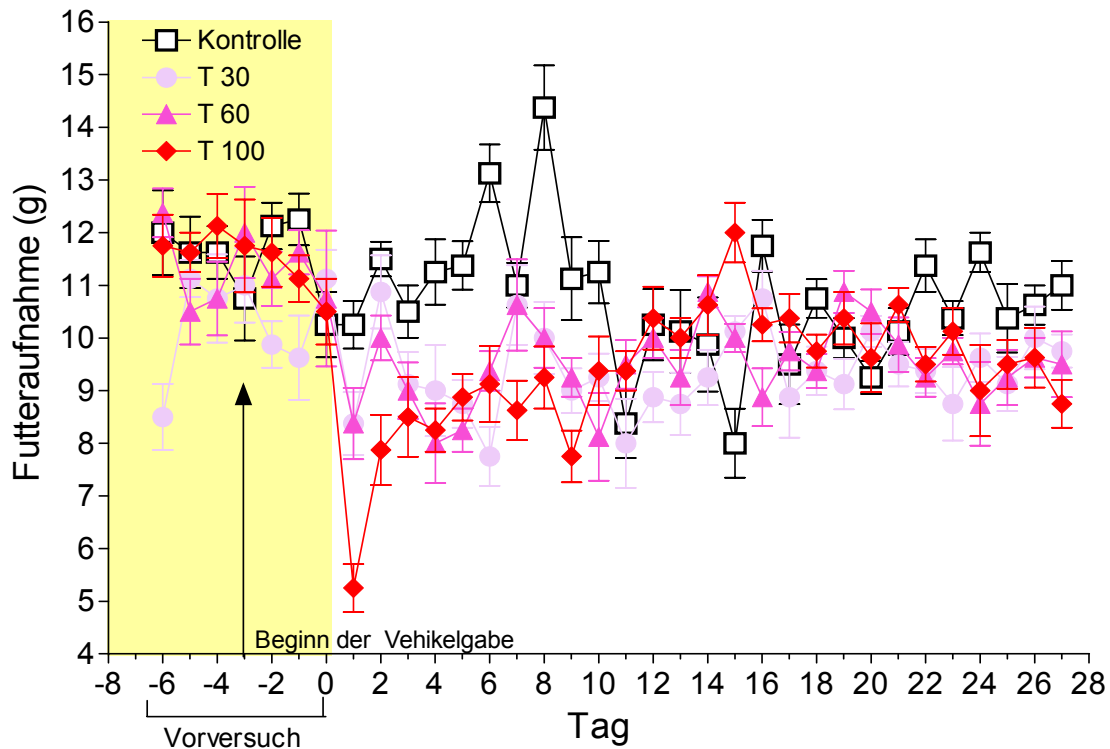


Abbildung 3-35: Absolute Futteraufnahme der Wistarratten in Behandlung mit Topiramat in Versuch 2 (N=8; MW±SE).

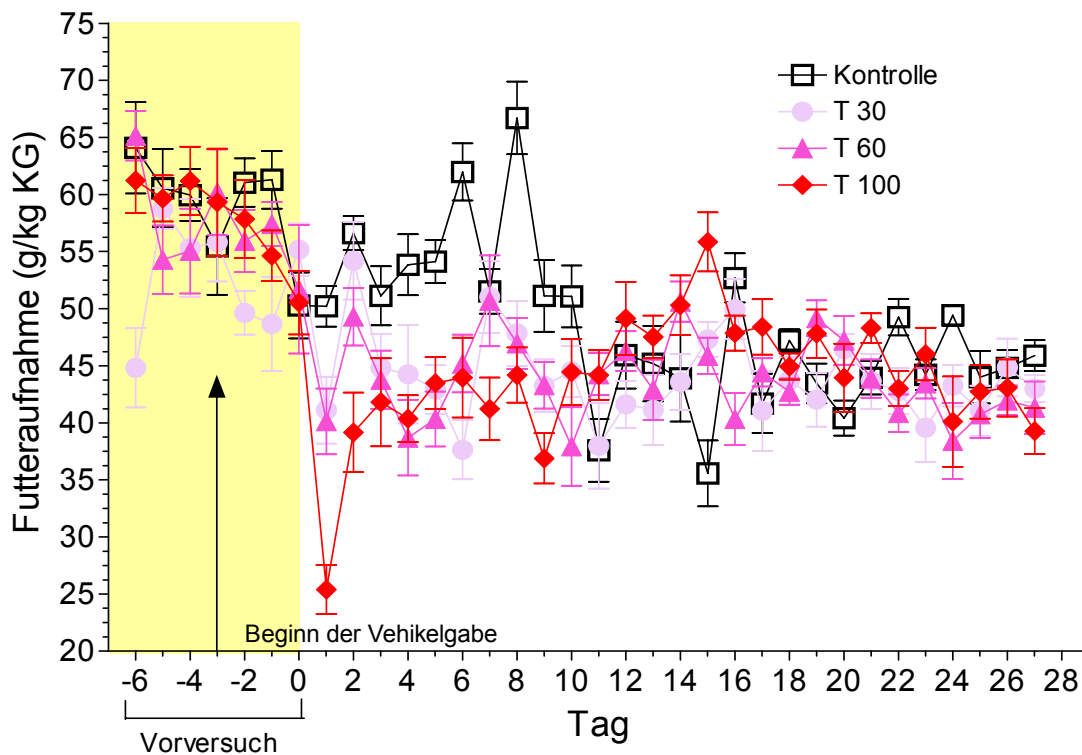


Abbildung 3-36: Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Behandlung mit Topiramat in Versuch 2 (N=8; MW±SE).

Die Behandlung mit SLV335-60 und SLV335-100 führte wie Topiramat zu einem akuten Einbruch der Futteraufnahme an Tag 1 (Abbildungen 3-37 und 3-38). In den SLV335-30-Ratten zeigte sich dieser Effekt um einen Tag verzögert, sie fraßen am ersten Tag kurzfristig sogar etwas mehr. Alle SLV335 Gruppen zeigten weiterhin niedrige Aufnahmen für die erste Woche, anschließend erholten sie sich zu unterschiedlichen Werten hin. Während der letzten 10 Tage des Experiments zeigte sich die Futteraufnahme der SLV335-30 Gruppe ähnlich zur Kontrolle, wohingegen die SLV335-100 und die SLV335-60 sich auf niedrigeren Werten im Vergleich zur Kontrolle bewegten. Die tägliche Futteraufnahme war besonders am Ende der ersten und Anfang der zweiten Woche in allen SLV335 Gruppen sehr großen Schwankungen unterworfen. Die wöchentliche Darstellung zeigt eine signifikant geringere Futteraufnahme aller SLV335 Gruppen im Vergleich zur Kontrolle in der ersten und zweiten Woche, bei der höchsten Dosis auch in der dritten und vierten Woche (Abbildungen 3-34 und 3-39). Insgesamt war – im Gegensatz zu Topiramat – eine deutliche Dosisabhängigkeit zu erkennen (signifikante Unterschiede in der dritten Woche: SLV335-100 vs. SLV335-60 $p < 0,05$; SLV335-100 vs. SLV335-30 $p < 0,01$ und in der vierten Woche: SLV335-100 vs. SLV335-30 $p < 0,001$), welche auch in der Abbildung 3-41 für die gesamte Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht bis Tag 27 dargestellt sind und bei der alle SLV335 Gruppen signifikant unter dem Kontrollwert liegen. Über die gesamte Studie hinweg errechnet sich für die SLV335 Tiere eine kumulative Aufnahme von 91%, 85% und 77% im Vergleich zur Kontrolle (jeweils für 30, 60 und 100 mg/kg).

Die Futteraufnahme in Relation zur Körpergewichtsentwicklung betrachtet zeigt weniger ausgeprägte Effekte als in der absoluten Darstellung (Abbildungen 3-36, 3-38 und 3-40).

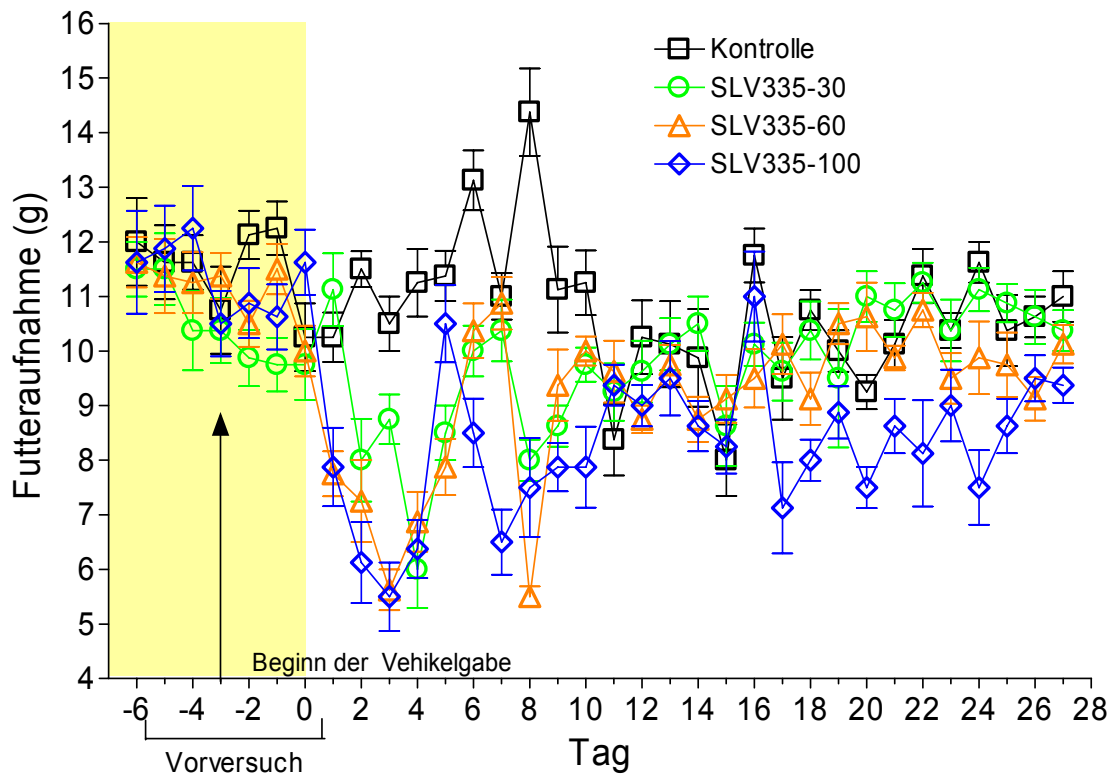


Abbildung 3-37: Futteraufnahme der Wistarratten in Behandlung mit SLV335 in Versuch 2 (N=8; MW±SE).

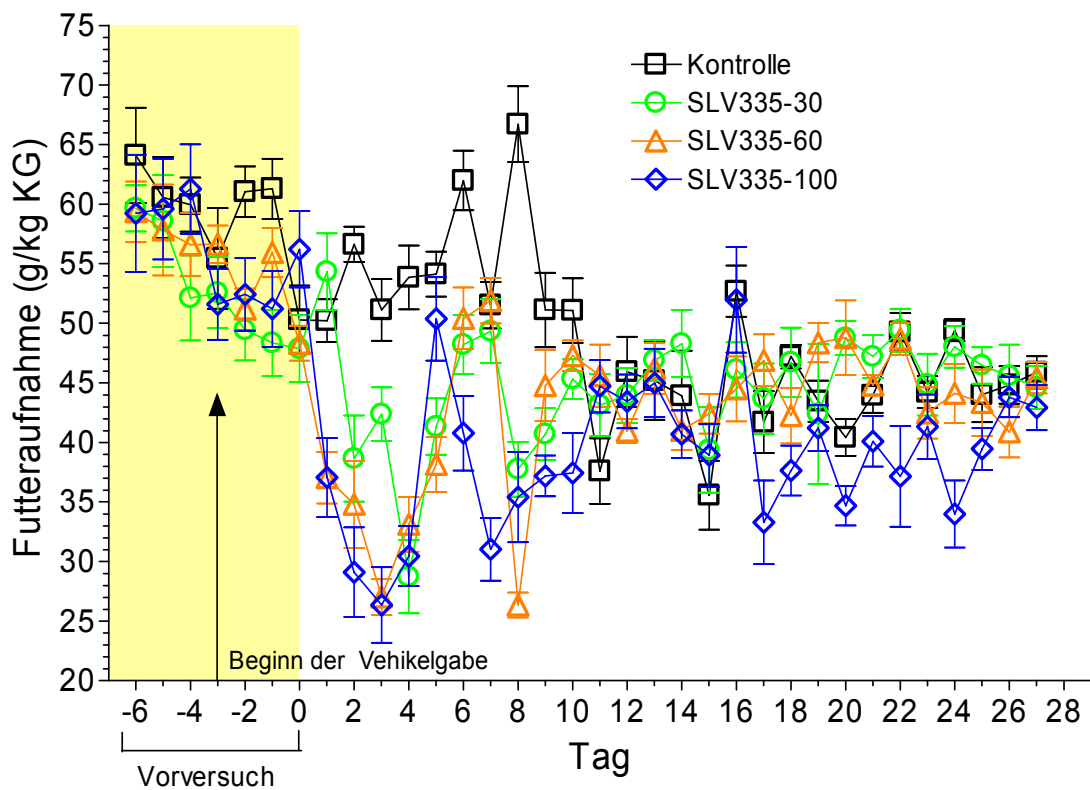


Abbildung 3-38: Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Behandlung mit SLV335 in Versuch 2 (N=8; MW±SE).

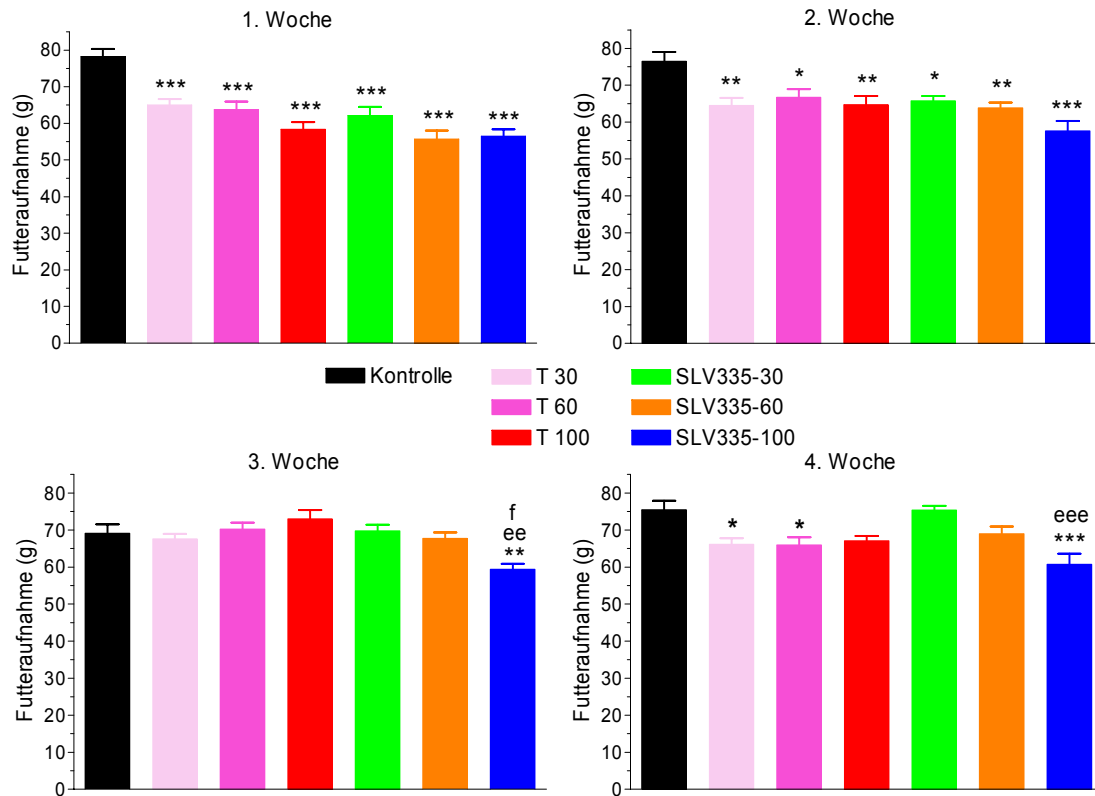


Abbildung 3-39: Wöchentliche Futtermittelaufnahme der Wistar-Ratten in Versuch 2 während des vierwöchigen Hauptversuchs (N=8; MW±SE).

Signifikant verschieden zu Kontrolle: * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; zu SLV335-30: ^{cc} p<0,01; ^{ccc} p<0,001; zu SLV335-60 ^f p<0,05

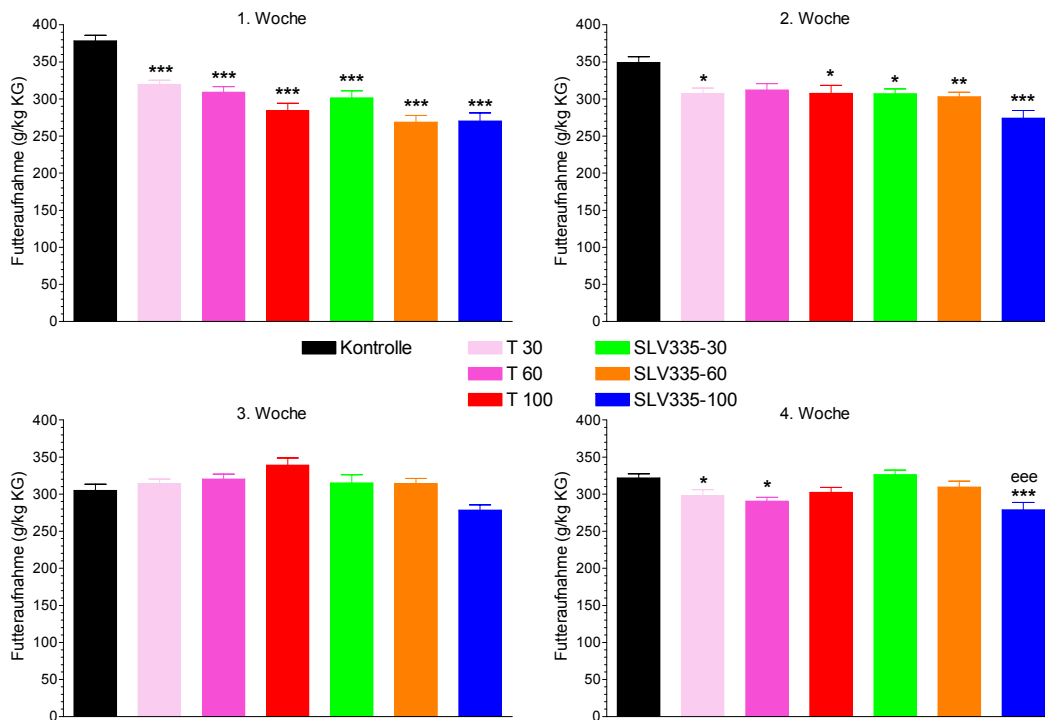


Abbildung 3-40: Wöchentliche Futtermittelaufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistar-Ratten in Versuch 2 während des Hauptversuchs (N=8; MW±SE).

Signifikant verschieden zu Kontrolle: * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; zu SLV335-30: ^{cc} p<0,01; ^{ccc} p<0,001.

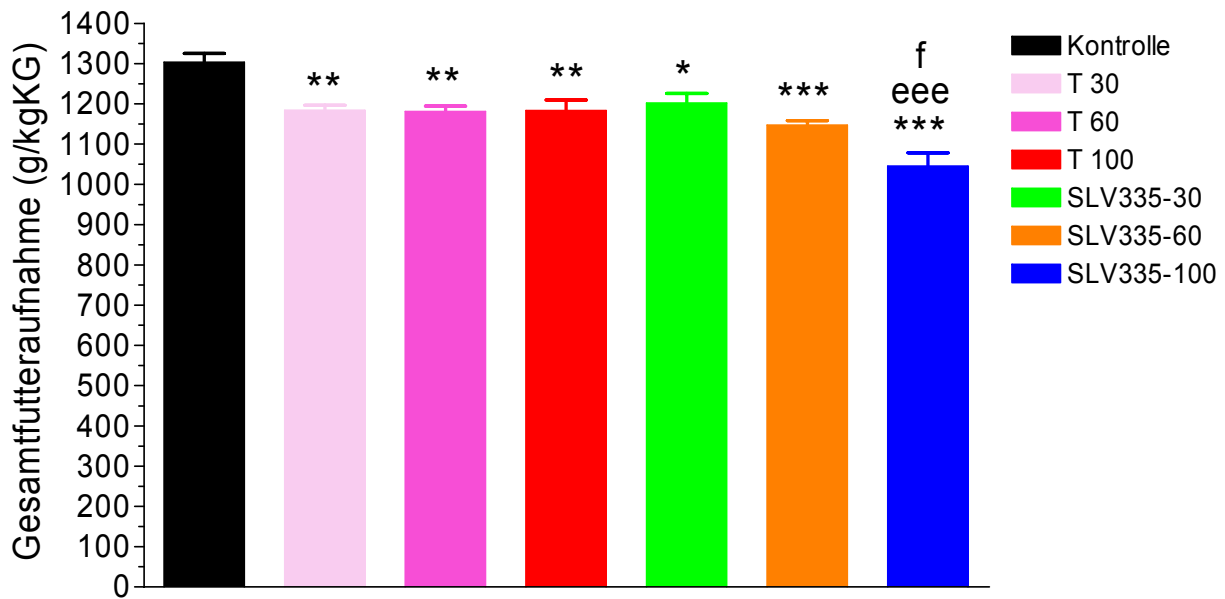


Abbildung 3-41: Gesamtfuttermenge relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Versuch 2 während des Hauptversuchs bis Tag 27 (N=8; MW±SE).

Signifikant verschieden zu Kontrolle * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$; zu SLV335-30: ^{eee} $p < 0,001$; zu SLV335-60: f $p < 0,05$;

3.2.3 Wasseraufnahme

Den Einfluss der Behandlungen mit Topiramaten und SLV335 auf die Wasseraufnahme der Wistarratten in Versuch 2 zeigen die Abbildungen 3-42 bis 3-45. Es sind jeweils die absoluten Werte in ml und jene im Verhältnis zur Körpergewichtsentwicklung dargestellt (ml/kg KG). Abbildung 3-46 zeigt die statistische Auswertung der gesamten relativen Wasseraufnahme im Hauptversuch bis Tag 28.

Die Wasseraufnahme wurde täglich um 9.00 Uhr morgens bestimmt. Sie zeigte große Schwankungen über den gesamten Zeitraum der Studie hinweg, einschließlich des Vorversuchs mit Vehikelgabe. Die Kontrollgruppe verzeichnete ein mehr oder weniger konstantes Trinkverhalten über die Studie hinweg. Die Wasseraufnahme schwankte um ± 5 ml, blieb jedoch stets unterhalb des Levels der Topiramaten-Gruppen. Die Topiramaten-Behandlung führte trotz verminderter Futtermenge zu einem starken Anstieg der Wasseraufnahme. Dabei war in der ersten Woche der Anstieg am höchsten bei gleichzeitig geringster Futtermenge (Abbildung 3-35), bevor Wasseraufnahme schrittweise wieder bis zum Ende der Studie auf die Ausgangswerte von Tag 0 abfielen. Die Abbildung 3-46 für die gesamte Wasseraufnahme zeigt die Reihenfolge T 100 > T60 = T30 >> Kontrolle, während im Gegensatz dazu die Futtermenge keine signifikante Dosisabhängigkeit zeigte (Abbildung 3-41). Alle Topiramaten-Gruppen erreichten statistische Signifikanz im Vergleich zur Kontrolle.

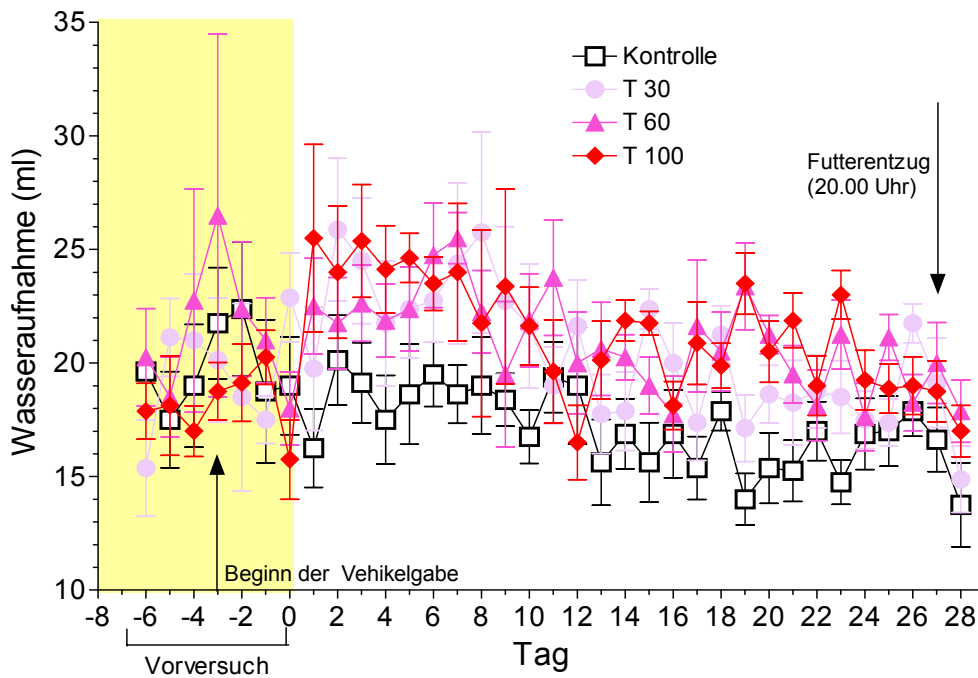


Abbildung 3-42: Wasseraufnahme der Wistarratten in Versuch 2: Behandlung mit Topiramamat (N=8; MW±SE).

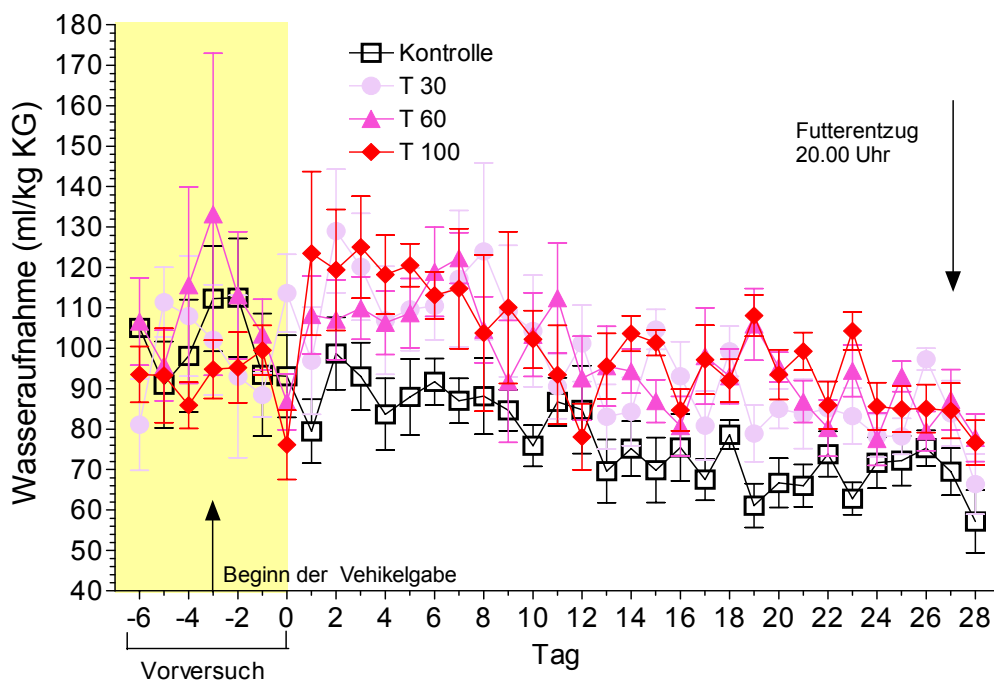


Abbildung 3-43: Wasseraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Versuch 2: Behandlung mit Topiramamat (N=8; MW±SE).

Der Effekt von SLV335 auf die Wasseraufnahme war im Vergleich zu Topiramamat geringer ausgeprägt, es wurde ein nicht-signifikanter Anstieg in der SLV335-60 Gruppe beobachtet, jedoch keinerlei Änderung in Behandlung mit SLV335-30 oder SLV335-100. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle am Ende der Studie (Abbildung 3-46), auch

wenn leichte Tendenzen zu einem Anstieg der Wasseraufnahme in der letzten Woche in der SLV335-60 und SLV335-100 Gruppe beobachtet werden konnten.

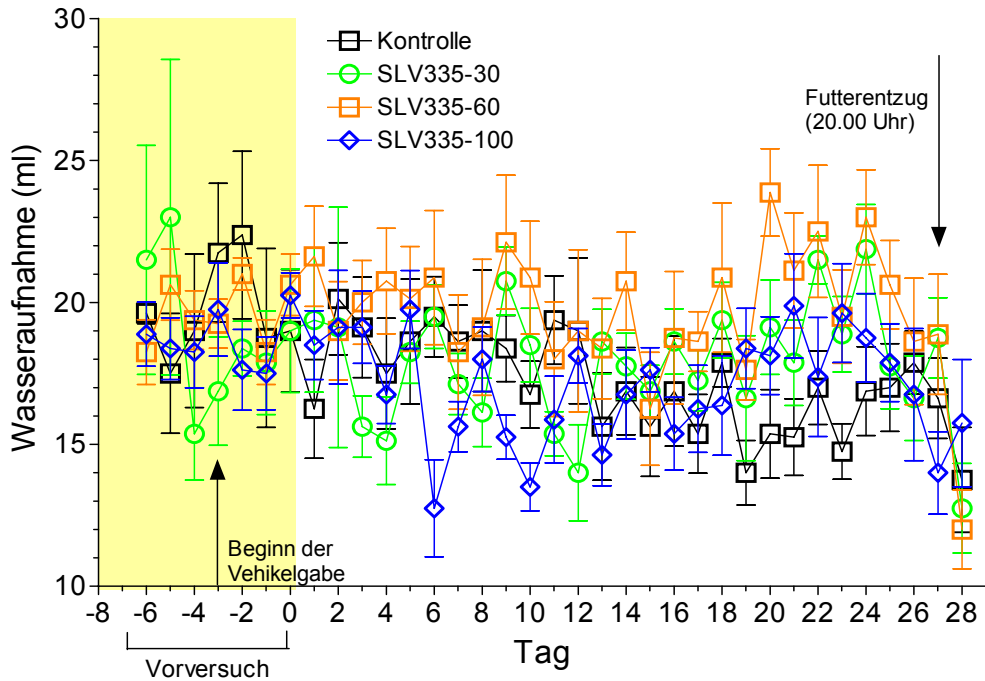


Abbildung 3-44: Wasseraufnahme der Wistarratten in Versuch 2: Behandlung mit SLV335 (N=8; MW±SE).

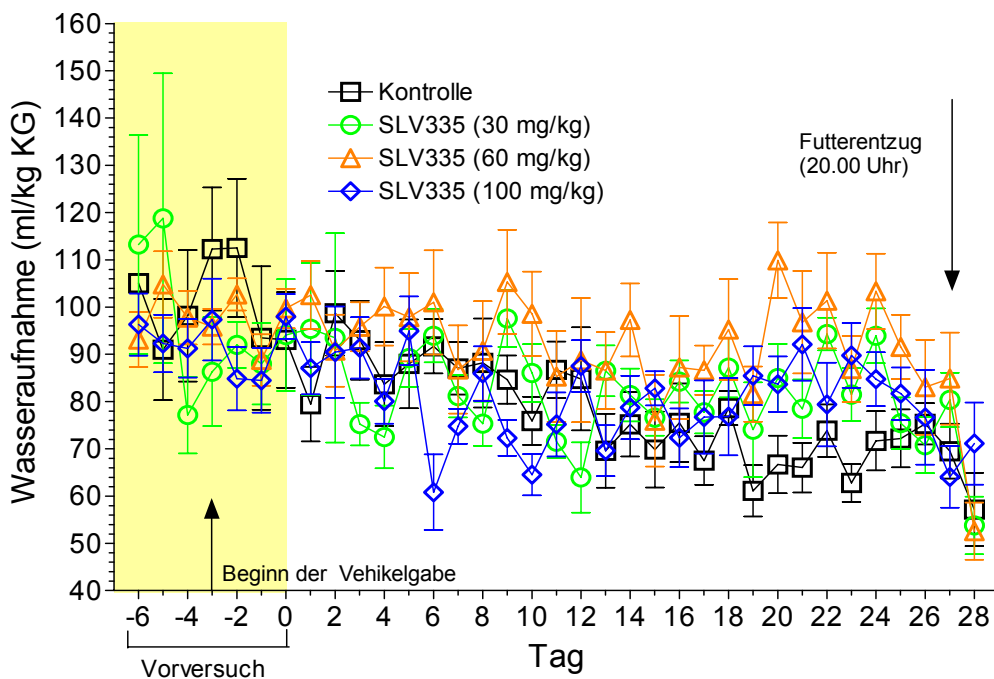


Abbildung 3-45: Wasseraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Versuch 2: Behandlung mit SLV335 (N=8; MW±SE).

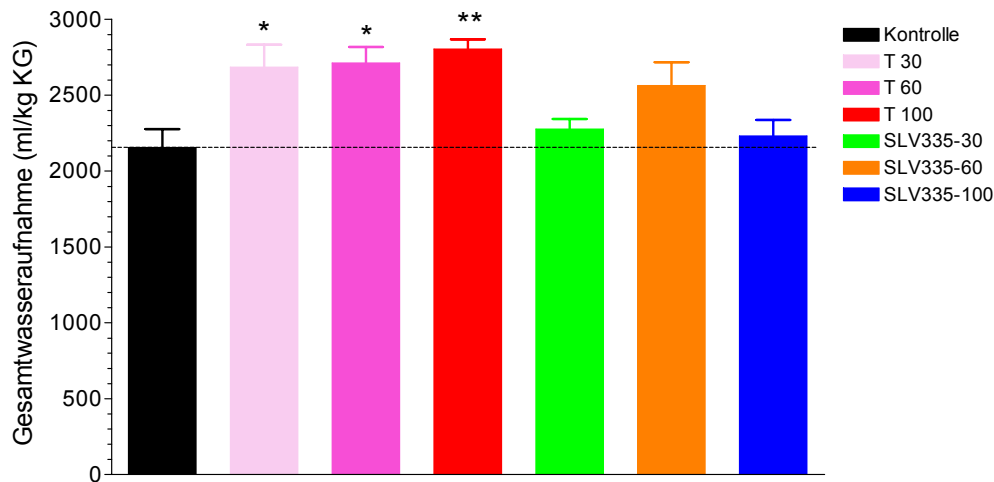


Abbildung 3-46: Gesamt Wasseraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Versuch 2 während des Hauptversuchs bis Tag 28 (N=8; MW±SE).
Signifikant unterschiedlich zu Kontrolle : * p<0,05; ** p<0,01;

3.2.4 Analyse der Blutproben

Die Behandlung hatte zahlreiche Einflüsse auf die Blutwerte. Die Daten sind als Box Plots dargestellt. Die Insulinsensitivität wurde nach QUICKI definiert, einem quantitativen Insulinsensitivitätsberechnungsindex ($QUICKI = 1 / [\log(I_0) + \log(G_0)]$; $I_0/G_0 = \text{Nüchterninsulin/-glucose}$) [164]. Die Unterschiede zwischen den Gruppen zeigen zum Teil deutliche Tendenzen, erreichen aber keine statistische Signifikanz.

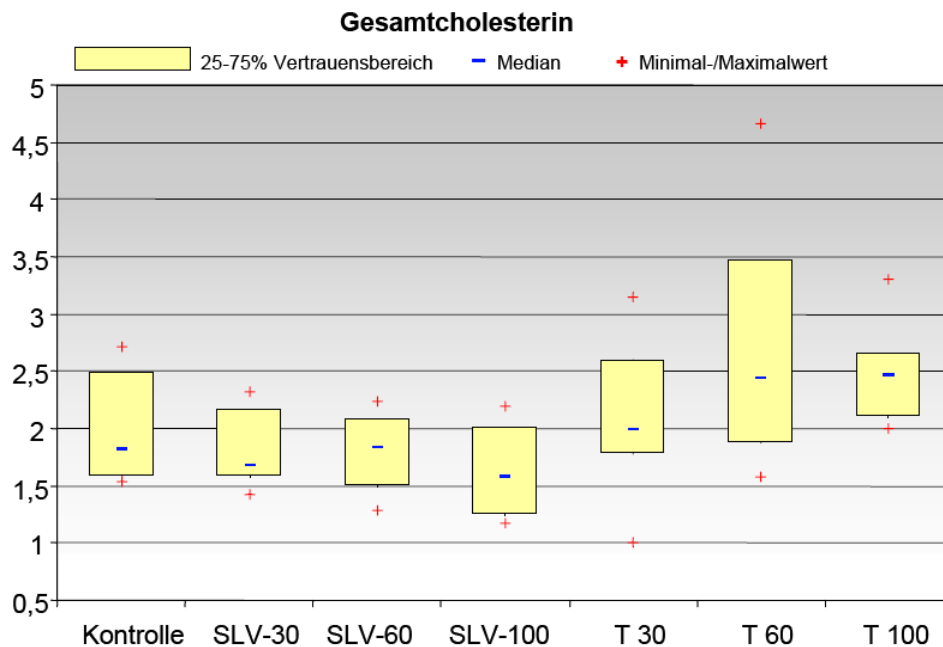


Abbildung 3-47: Gesamtcholesteringehalt der Blutproben in mmol/l.

MW±SD (N=8): Kontrolle: 1,99±0,47; SLV335-30: 1,80±0,34; SLV335-60: 1,77±0,33; SLV335-100: 1,62±0,38; T 30: 2,08±0,65; T 60: 2,68±1,04; T 100: 2,46±0,42.

3.2.4.1 Gesamtcholesterin

SLV335 senkte die Gesamtcholesterinspiegel im Plasma, und Topiramate erhöhte diese im Vergleich zur Kontrolle.

3.2.4.2 LDL

Keine der SLV335-Gruppen zeigte einen Effekt auf die LDL-Werte, wohingegen Topiramate diese im Vergleich zur Kontrolle erhöhte ohne eine Dosisabhängigkeit erkennen zu lassen (T 30 und T 100: +33%, T 60: +19%).

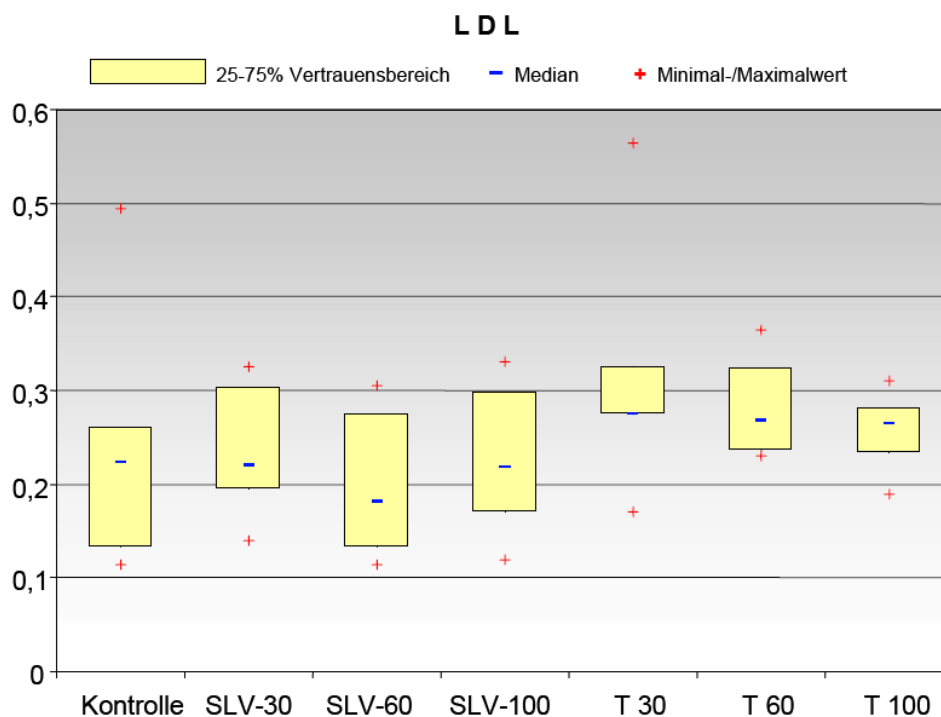


Abbildung 3-48: LDL-Gehalt der Blutproben in mmol/l

MW±SD (N=8): Kontrolle: 0,23±0,12; SLV335-30: 0,23±0,07; SLV335-60: 0,20±0,07; SLV335-100: 0,23±0,07; T 30: 0,31±0,11; T 60: 0,28±0,05; T 100: 0,26±0,04.

3.2.4.3 HDL

Die HDL-Werte wurden unterschiedlich beeinflusst: eine leichte dosisabhängige Erhöhung konnte durch Topiramate beobachtet werden (T 100: +17% im Vergleich zur Kontrolle), wohingegen die beiden niedrigeren Dosierungsgruppen von SLV335 keinen Effekt zeigten. Lediglich SLV335-100 zeigte eine Abnahme um 21% im Vergleich zur Kontrolle.

3.2.4.4 Freies Cholesterin

Genau wie bei HDL beschrieben, zeigten die Cholesterinwerte eine leichte Erhöhung unter Topiramatebehandlung und nur sehr geringe Abnahme unter SLV335-Behandlung. In beiden Fällen war keine Dosisabhängigkeit erkennbar.

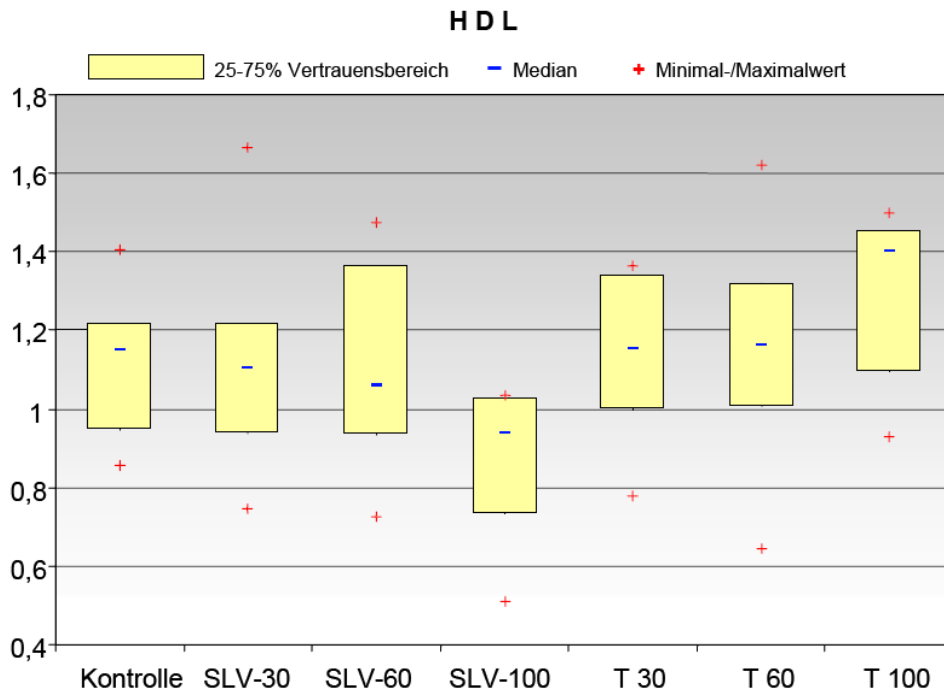


Abbildung 3-49: HDL-Gehalt der Blutproben in mmol/l

MW±SD (N=8): Kontrolle: 1,11±0,18 SLV335-30: 1,12±0,27; SLV335-60: 1,10±0,25;
SLV335-100: 0,88±0,19; T 30: 1,15±0,21; T 60: 1,17±0,29; T 100: 1,30±0,21.

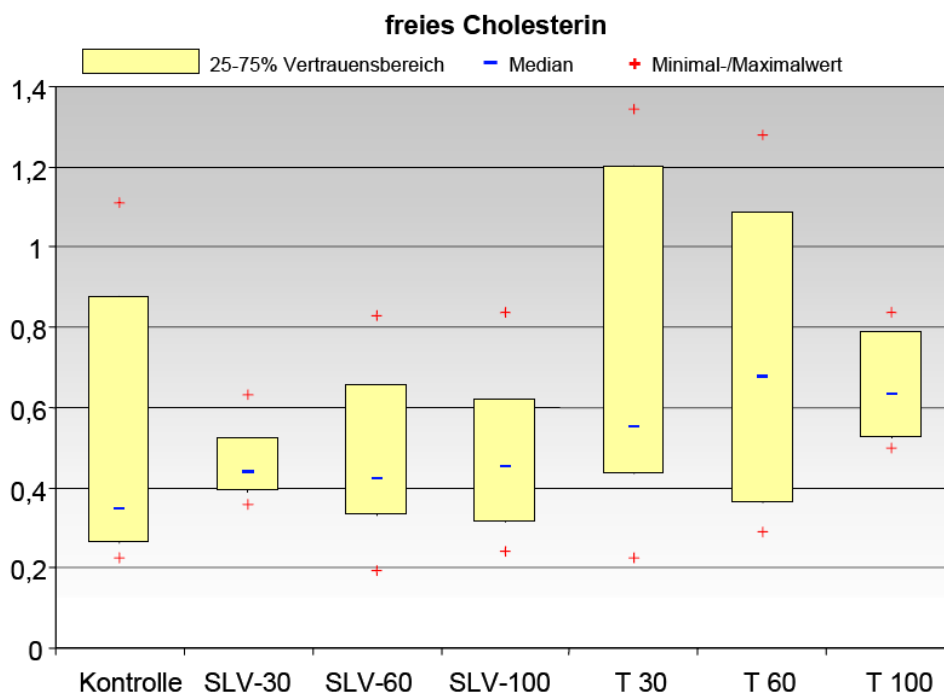


Abbildung 3-50: Gehalt an freiem Cholesterin der Blutproben in mmol/l

MW±SD (N=8): Kontrolle: 0,53±0,35; SLV335-30: 0,46±0,09; SLV335-60: 0,48±0,21;
SLV335-100: 0,48±0,20; T 30: 0,75±0,44; T 60: 0,72±0,37; T 100: 0,65±0,13.

3.2.4.5 Triglyzeride

Außer in der T 60-Gruppe führten alle Behandlungen zu einer Abnahme der Triglyzeridlevel im Vergleich zur Kontrolle (-33% bei T 30, -21% bei T 100, -23% bei SLV335-30, -37% bei SLV335-60 und -47% bei SLV335-100).

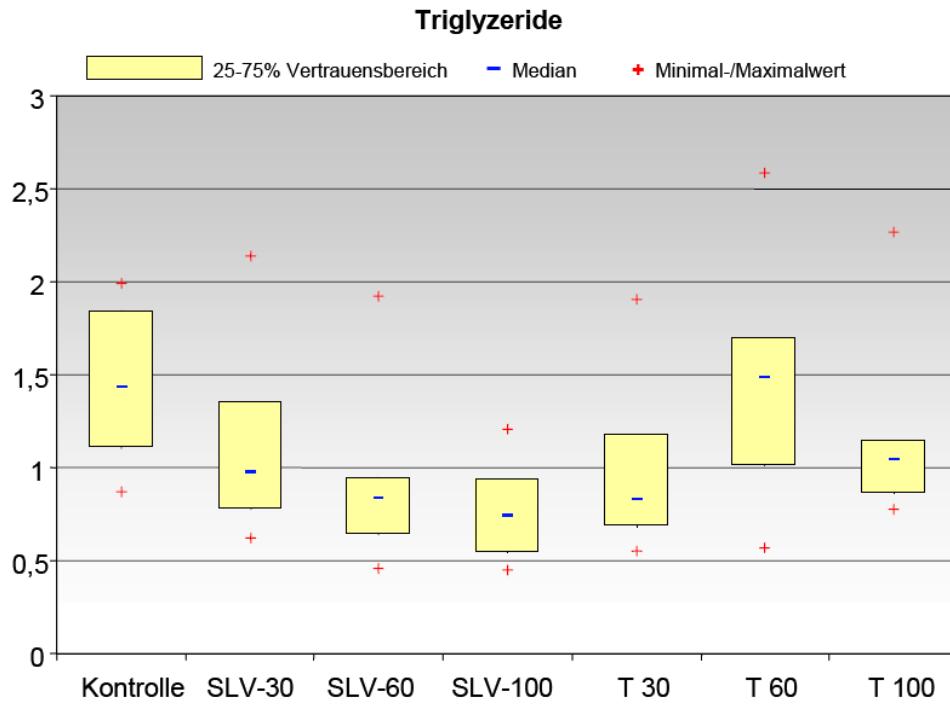


Abbildung 3-51: Triglyzeridgehalt der Blutproben in mmol/l.

MW±SD (N=8): Kontrolle: 1,45±0,39; SLV335-30: 1,11±0,48; SLV335-60: 0,91±0,44;
 SLV335-100: 0,77±0,25; T 30: 0,98±0,44; T 60: 1,45±0,61; T 100: 1,15±0,47.

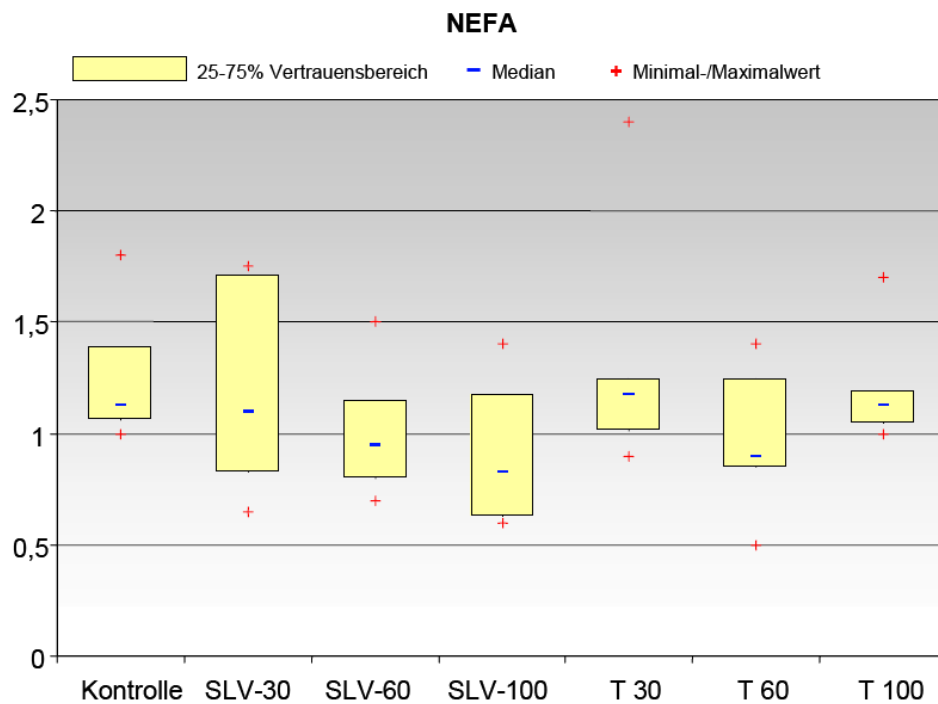


Abbildung 3-52: Gehalt an nicht-veresterten Fettsäuren der Blutproben in mmol/l.

MW±SD (N=8): Kontrolle: 1,23±0,27; SLV335-30: 1,21±0,44; SLV335-60: 0,99±0,26;
 SLV335-100: 0,89±0,30; T 30: 1,28±0,47; T 60: 0,98±0,29; T 100: 1,18±0,22.

3.2.4.6 Nicht-veresterte Fettsäuren

Im Gegensatz zu den Triglyzeridwerten, konnte bei der Topiramatbehandlung lediglich bei der mittleren Dosis eine Abnahme der NEFA-Werte im Plasma gesehen werden (T0: -20,8%).

Die Behandlung mit SLV335 zeigte einen dosisabhängigen Effekt: Noch keine Veränderung bei SLV335-30 und leichte Erniedrigungen bei den höheren Dosierungen (SLV335-60: -20% und SLV335-100: -27%).

3.2.4.7 Insulin

Die Plasmainsulinlevel zeigten große Schwankungen und keinerlei Dosisabhängigkeit bei den beiden Testsubstanzen. Während es in der T 30-Gruppe (+124) und SLV335-60-Gruppe (+70%) zu einer Erhöhung der Insulinwerte im Vergleich zur Kontrolle kam, wurde bei SLV335-30 (-47%), T 60 (-26%) und T 100 (-21%) eine Erniedrigung gesehen.

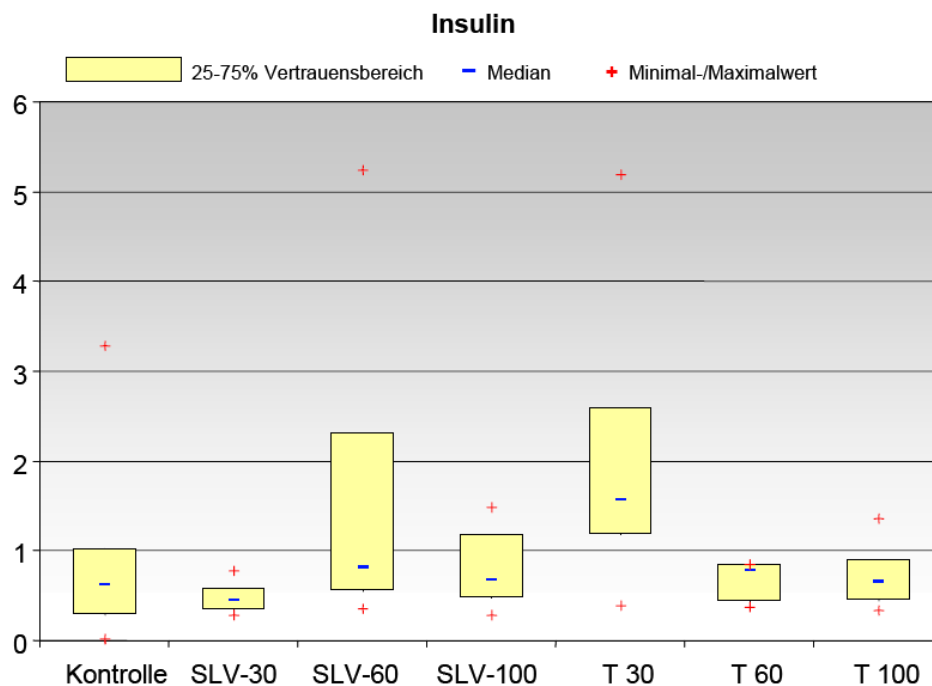


Abbildung 3-53: Insulingehalt der Blutproben in µg/l.

MW±SD (N=8): Kontrolle: 0,90±1,02; SLV335-30: 0,48±0,16; SLV335-60: 1,52±1,67; SLV335-100: 0,81±0,41; T 30: 2,00±1,47; T 60: 0,67±0,21; T 100: 0,71±0,33.

3.2.4.8 Glucose

Die gegensätzlichen Effekte auf die Insulinwerte spiegeln sich nicht in den Glucosewerten wider, die deutlich geringere Schwankungen zeigten und mit Ausnahme der T 100-Gruppe bei allen Behandlungen eine leichte Erhöhung gegenüber der Kontrollgruppe verzeichneten.

3.2.4.9 Insulinsensitivität

Die QUICKI Werte, welche die Nüchternwerte von Insulin und Glucose widerspiegeln, zeigten innerhalb der Kontrollgruppe große Schwankungen. Die stabileren Werte der Topi-

ramat- und SLV335-behandelten Tiere zeigten geringfügige Abnahmen gegenüber den Kontrollwerten, die aber keine statistische Signifikanz erreichten.

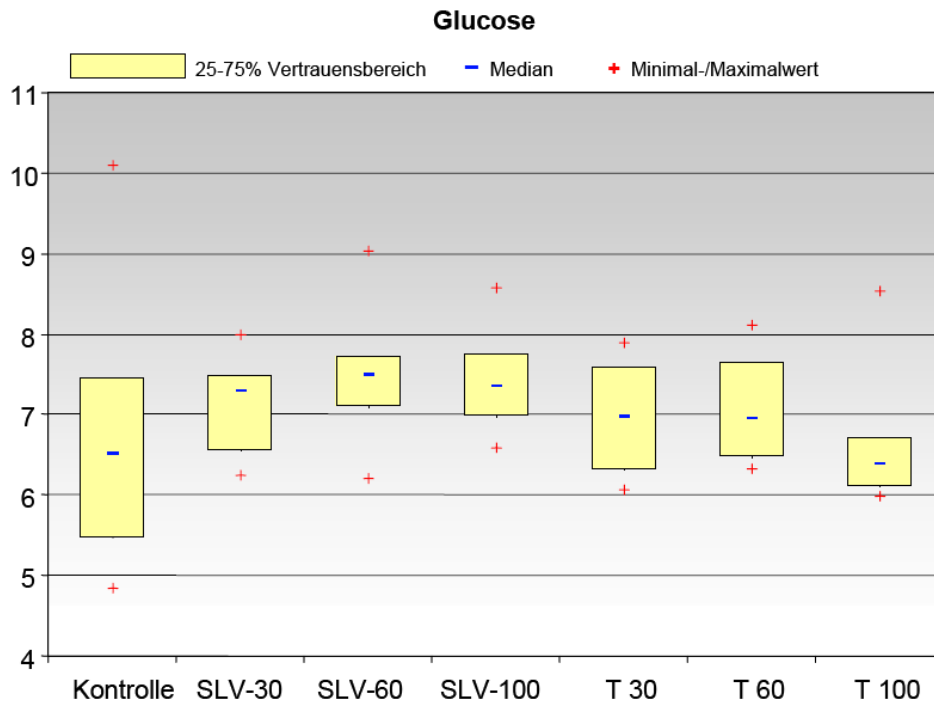


Abbildung 3-54: Glucosegehalt der Blutprobe in µg/l

MW±SD (N=8): Kontrolle: 6,75±1,63; SLV335-30: 7,16±0,59; SLV335-60: 7,49±0,79; SLV335-100: 7,42±0,62; T 30: 6,94±0,67; T 60: 7,06±0,64; T 100: 6,61±0,82.

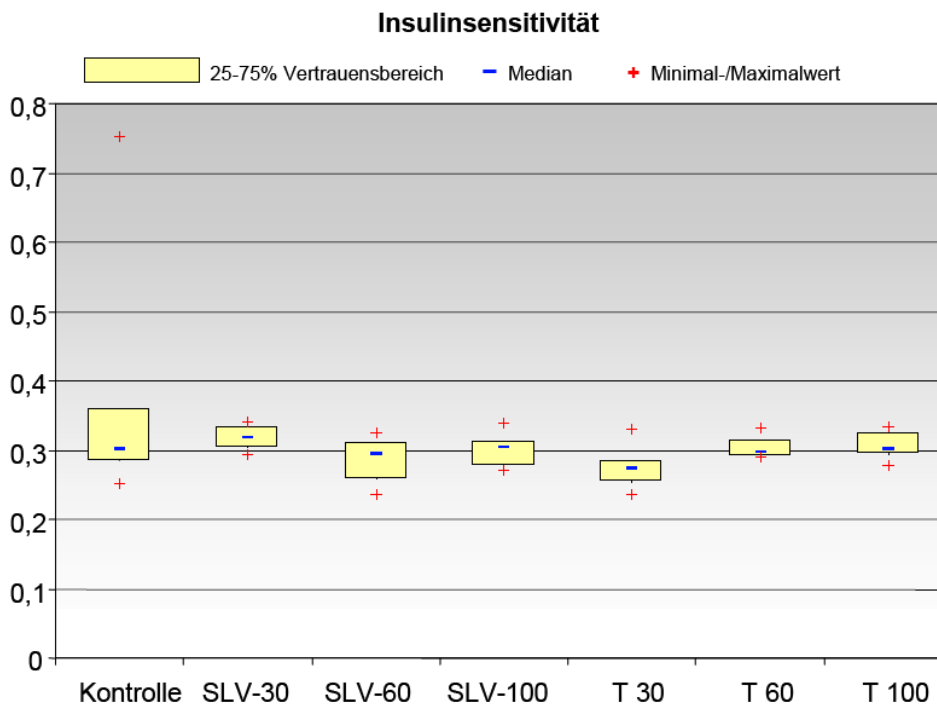


Abbildung 3-55: Insulinsensitivität der Blutproben (QUICKI-Werte)

MW±SD (N=8): Kontrolle: 0,36±0,16; SLV335-30: 0,32±0,02; SLV335-60: 0,29±0,03; SLV335-100: 0,30±0,02; T 30: 0,27±0,03; T 60: 0,30±0,02; T 100: 0,31±0,02.

3.3 Versuch 3: Untersuchung von SLV330 und Rimonabant an Wistar-ratten

Dieser Versuch diente dem Vergleich der Wirkungsstärke eines neuen CB₁-Antagonisten, SLV330, mit Rimonabant (R). Wegen der unsicheren Bioverfügbarkeit von SLV330 wurden beide Substanzen täglich einmal am Morgen intraperitoneal an extrem kalorienreich gefütterte Wistarratten verabreicht.

Die Randomisierung fand am 10. Tag des Vorversuchs statt. Die Zuteilung zu den Behandlungsgruppen erfolgte vor Beginn des Experiments (Tag 0) an Tag -3 für die Kontrollen, an Tag -4 bzw. -5 für SLV330-3 und SLV330-10 sowie an Tag -6 und -7 für R-3 und R-10.

3.3.1 Körpergewicht

Die Abbildungen 3-56 bis 3-59 zeigen die Entwicklung des Körpergewichts der Tiere im Versuch 3. Es sind die absoluten Körpergewichte für den gesamten Versuch (Tag -12 bis Tag 14) und das prozentuale Körpergewicht der Ratten jeweils im Vergleich zu Tag 0 dargestellt. Die gesamte Körpergewichtszunahme im Hauptversuch (Tag 0 bis Tag 14) zeigt Abbildung 3-60.

Während des zwölf-tägigen Vorversuchs nahmen alle Ratten kontinuierlich an Gewicht zu. Die Vehikelgabe beeinflusste die Wachstumsrate der Tiere nicht.

Die Kontrolltiere zeigten von Tag 0 bis Tag 14 eine regelmäßige Gewichtszunahme (+20% Körpergewichtszuwachs entsprechend 58,1±4,1 g; Abbildung 3-61). Die SLV330-Behandlung führte nur in der höheren Dosierung am ersten Behandlungstag zu einem akuten Gewichtsverlust (-4,5%). Die Ratten dieser Gruppe erholten sich innerhalb von zwei Tagen und nahmen anschließend bis zum Ende der Studie kontinuierlich an Gewicht zu (+6% / 19,4±4,4 g, 30% im Vergleich zur Kontrolle, p<0,001; Abbildungen 3-56 und 3-57). Die niedrigere Dosis von SLV330 führte lediglich zu einem Innehalten des Körpergewichtszuwachses in den ersten zwei Tagen des Hauptversuchs, woraufhin die Tiere letztendlich unter stetiger Zunahme an Tag 14 ihr höchstes Gewicht erreichten (+15% / 43,1±3,7 g, 75% im Vergleich zur Kontrolle, p<0,001; Abbildung 3-60). Die Wachstumsrate der SLV330 behandelten Tiere blieb stets unterhalb derer der Kontrollgruppe.

Die Behandlung mit Rimonabant führte in beiden Dosierungen zu einem Körpergewichtsverlust, der am ersten Behandlungstag in der höheren Dosierung stärker war (< 1% bei R-3 und 1,4% bei R-10) und am zweiten Tag noch ausgeprägter wurde (-4,3% im Vergleich zu Tag 0), als sich die R-3 Ratten schon wieder erholt hatten. Danach nahmen beide Gruppen kontinuierlich an Gewicht zu und erreichten ihr Maximum an Tag 14 (R-3: +13% / 39,4±4 g,

63% im Vergleich zur Kontrolle, $p < 0,001$; R-10: +8% / $24,4 \pm 3,3$ g Gesamtzunahme, 40% im Vergleich zur Kontrolle, $p < 0,001$, Abbildungen 3-58 und 3-59). Auch die Wachstumsrate der Rimonabant behandelten Tiere blieb stets unterhalb derer der Kontrollgruppe.

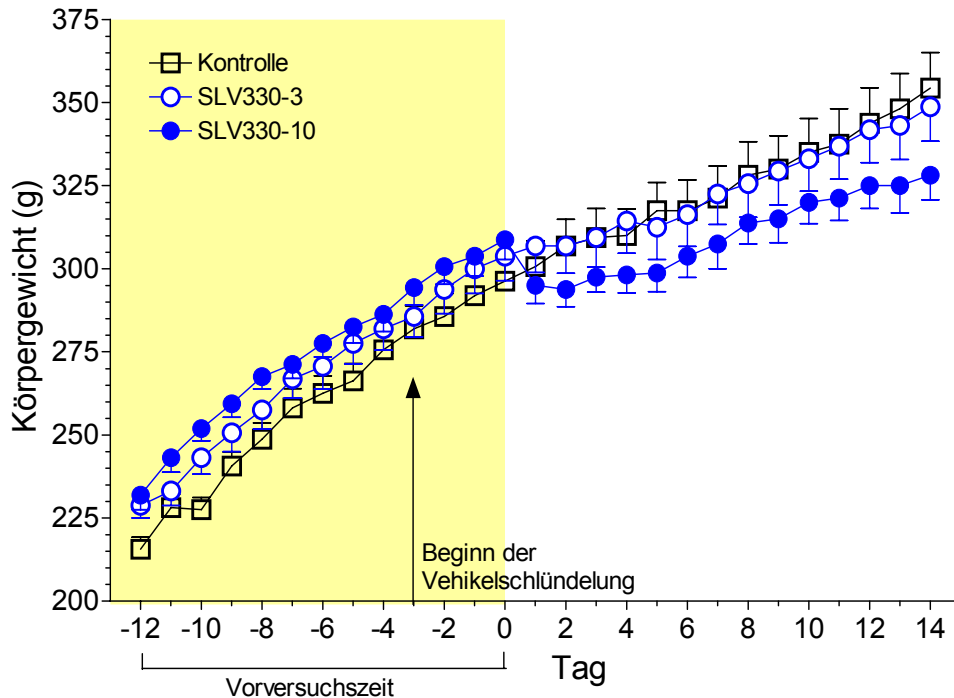


Abbildung 3-56: Körpergewichte der Wistarratten in Versuch 3: Behandlung mit SLV335 (N=8; MW \pm SE).

Von Tag 0 an wurden die Tiere täglich morgens einmal i.p. gespritzt: die Kontrollgruppe erhielt Vehikellösung (1%ige CMC-Lösung), die SLV330-Gruppen 3 oder 10 mg/kg KG SLV330. Die Tiere erhielten Futter und Wasser *ad libitum*

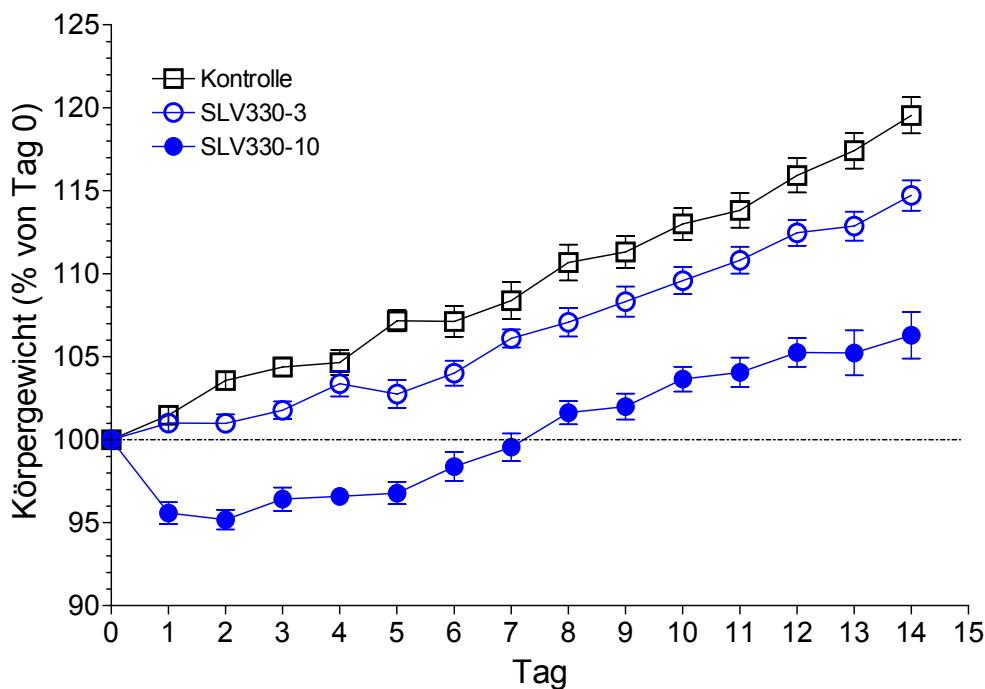


Abbildung 3-57: Prozentuale Veränderung der Körpergewichte im Vergleich zu Tag 0 der Wistarratten in Versuch 3: Behandlung mit SLV335 (N=8; MW \pm SE).

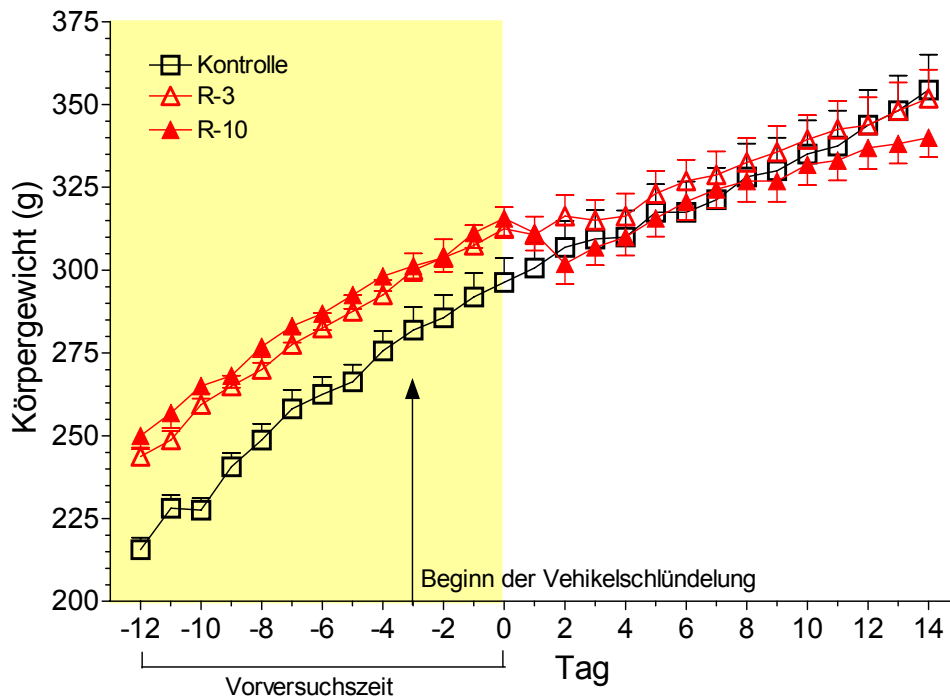


Abbildung 3-58: Körpergewichte der Wistarratten in Versuch 3: Behandlung mit Rimonabant (N=8; MW±SE).

R3 bzw. R10: 3 bzw. 10 mg/kg KG Rimonabant.

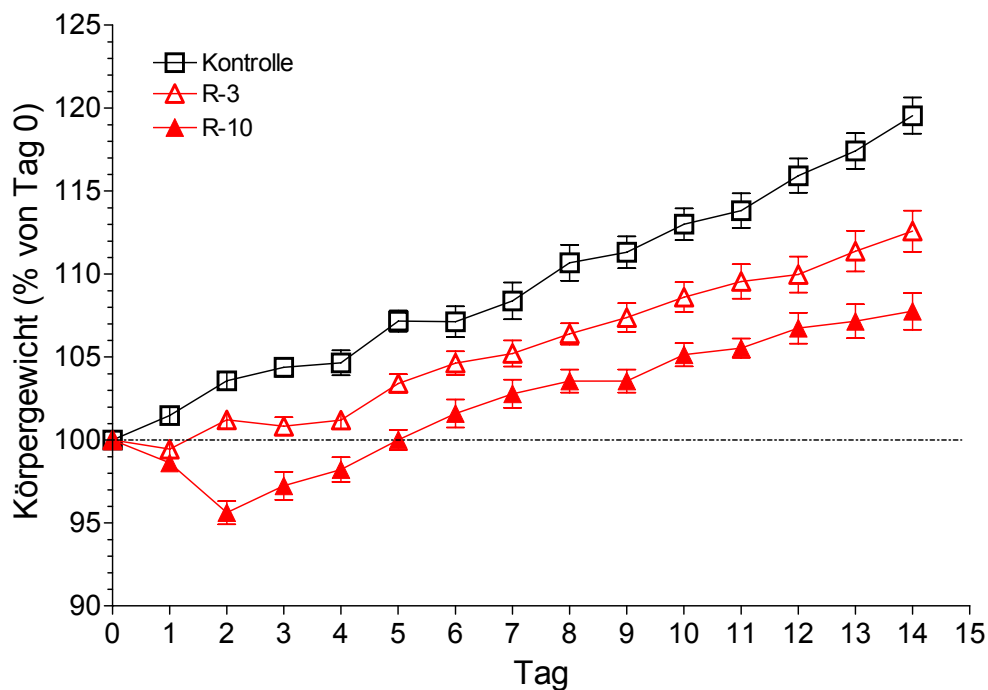


Abbildung 3-59: Prozentuale Veränderung der Körpergewichte im Vergleich zu Tag 0 der Wistarratten in Versuch 3: Behandlung mit Rimonabant (N=8; MW±SE).

Abbildung 3-60 stellt die statistische Auswertung des Gesamtwachses der Gruppen an Tag 14 dar: ausgenommen der SLV330-3 Tiere zeigten alle Gruppen signifikante Unterschiede zur Kontrolle (R-3: $p < 0,05$, SLV330-10 und R-10: $p < 0,001$). Auch der Unterschied zwischen SLV330-10 und SLV330-3 erreichte statistische Signifikanz ($p < 0,001$).

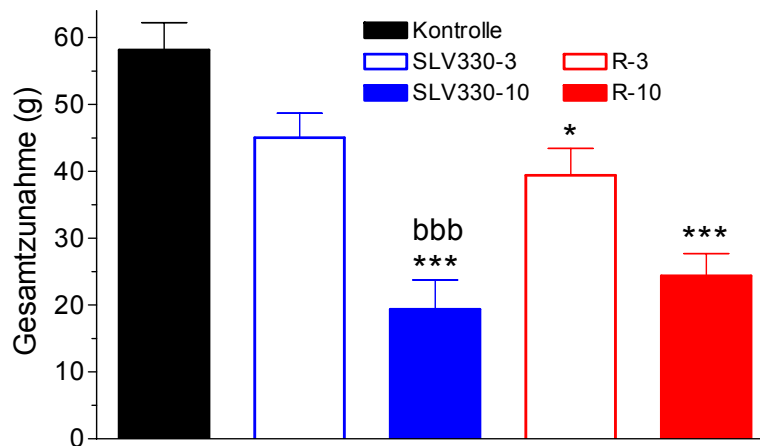


Abbildung 3-60: Gesamte Körpergewichtszunahme der Wistarratten während des zweiwöchigen Hauptversuchs in Versuch 3 (N=8; MW±SE).

Signifikant verschieden zu Kontrolle: * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$; zu SLV330-3: bbb $p < 0.001$.

3.3.2 Futteraufnahme

Der Einfluss von SLV330 und Rimonabant auf den Futterverzehr der Ratten ist in den Abbildungen 3-61 bis 3-64 jeweils als absolute Werte in g und im Verhältnis zur Körpergewichtsentwicklung dargestellt (g/kg KG). Die Abbildung 3-65 zeigt die statistische Auswertung der gesamten relativen Futteraufnahme von Tag 0 bis 14. Um einen besseren Überblick über die behandlungsbezogenen Effekte auf die Futteraufnahme zu gewährleisten, wurde in der Abbildung 3-66 eine wöchentliche Darstellung gewählt (1. Vorversuchswoche: Tage -12 bis -7; 2. Vorversuchswoche: Tage -6 bis 0; 1. Woche: Tage 1 bis 8; 2. Woche: Tage 9 bis 15).

Die Futteraufnahme wurde täglich um 9.00 Uhr bestimmt. Sie war während des Vorversuchs in allen Gruppen ähnlich und schwankte um ± 3 g. Dabei wurden die Tiere durch die Vehikelgabe nicht beeinflusst. Die wöchentliche Futteraufnahme zeigte ähnliche Strukturen für alle Gruppen mit Ausnahme der 1. Vorversuchswoche in der die beiden später mit Rimonabant behandelten Gruppen signifikant weniger fraßen als die Kontrollen ($p < 0,01$; Abbildung 3-65).

An Tag 0 war die Futteraufnahme in allen Gruppen vergleichbar. In der Kontrollgruppe zeigten sich im Hauptversuch keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zum Vorversuch. Sowohl die SLV330- als auch die Rimonabantbehandlung führte am ersten Tag zu einem akuten, dosisabhängigen Einbruch der Futteraufnahme (Abbildungen 3-61 und 3-63). Der Effekt von Rimonabant war dabei stärker als der von SLV330. Bereits am zweiten Tag nahm der Futterverzehr wieder zu außer bei der Gruppe R-10, welche einen noch tieferen Einbruch an Tag 2 verzeichnete bevor auch sie wieder aufholte. Die wöchentliche Darstellung (Abbildung 3-66) der Futteraufnahme zeigt diesen behandlungsbezogenen Effekt nur in der

ersten Woche. In der darauf folgenden Woche kompensierten alle Gruppen ihren Appetitverlust wieder vollständig. Ein statistischer Unterschied zeigte sich nur in der 1. Woche für folgende Gruppen: SLV330-10 vs. Kontrolle ($p < 0,001$), SLV330-10 vs. SLV330-3 ($p < 0,01$), R-10 vs. Kontrolle ($p < 0,001$), R-3 vs. Kontrolle ($p < 0,01$) und R-10 vs. R-3 ($p < 0,001$).

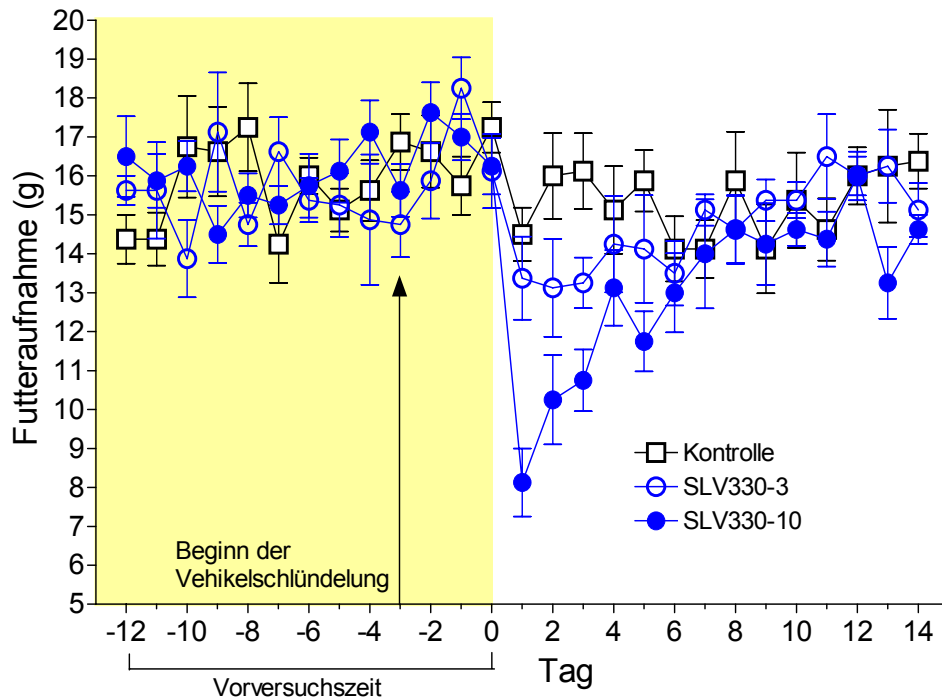


Abbildung 3-61: Futteraufnahme der Wistarratten in Versuch 3: Behandlung mit SLV335 (N=8; MW \pm SE).

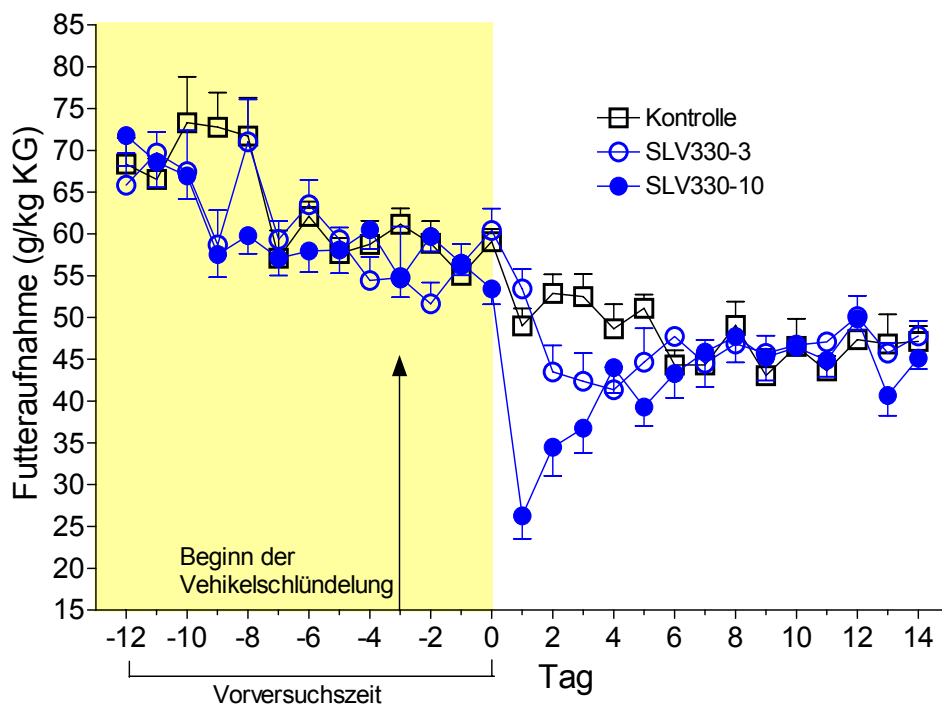


Abbildung 3-62: Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Versuch 3: Behandlung mit SLV335 (N=8; MW \pm SE).

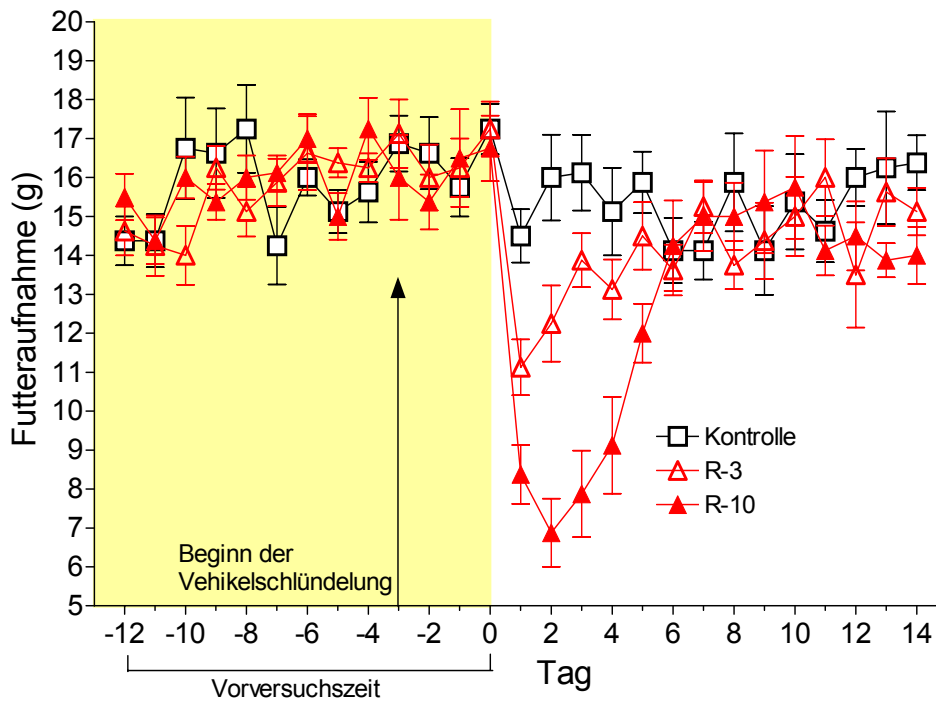


Abbildung 3-63: Futteraufnahme der Wistarratten in Versuch 3: Behandlung mit Rimonabant (N=8; MW±SE).

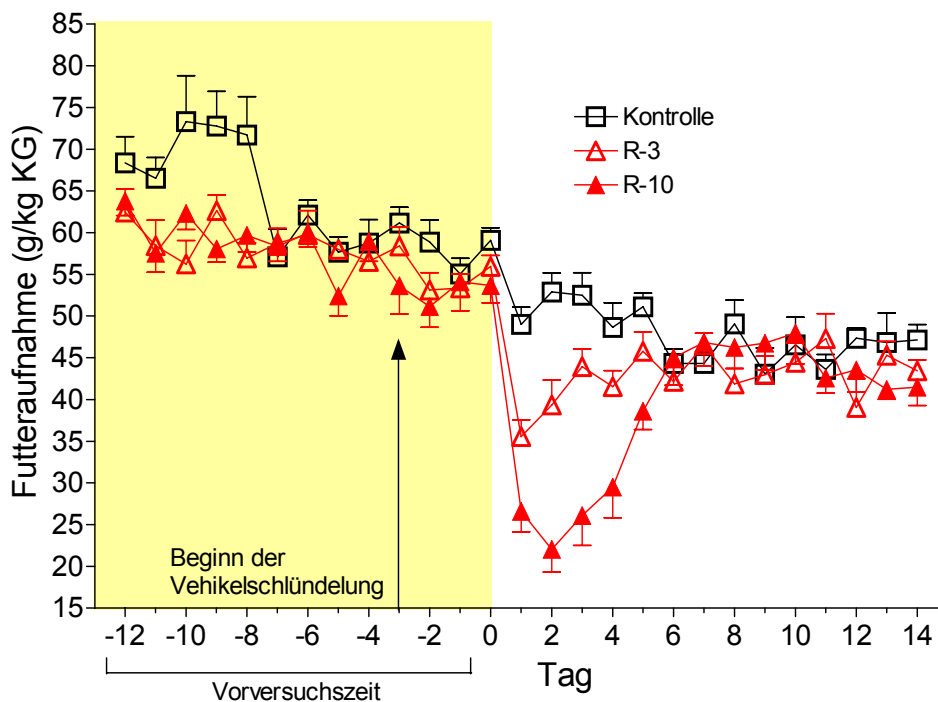


Abbildung 3-64: Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Versuch 3: Behandlung mit Rimonabant (N=8; MW±SE).

Die kumulative relative Futteraufnahme war in allen Gruppen geringer als jene der Kontrolle und zeigte außerdem eine Dosisabhängigkeit in den Topiramat- und SLV335 Gruppen. An Tag 14 konnten statistische Unterschiede zur Kontrolle für SLV330-10, R-3 (jeweils $p < 0,01$)

und R-10 ($p < 0,001$) verzeichnet werden, und außerdem zwischen SLV330-3 vs SLV330-10 und R-3 vs R-10 (jeweils $p < 0,05$; Abbildung 3-70).

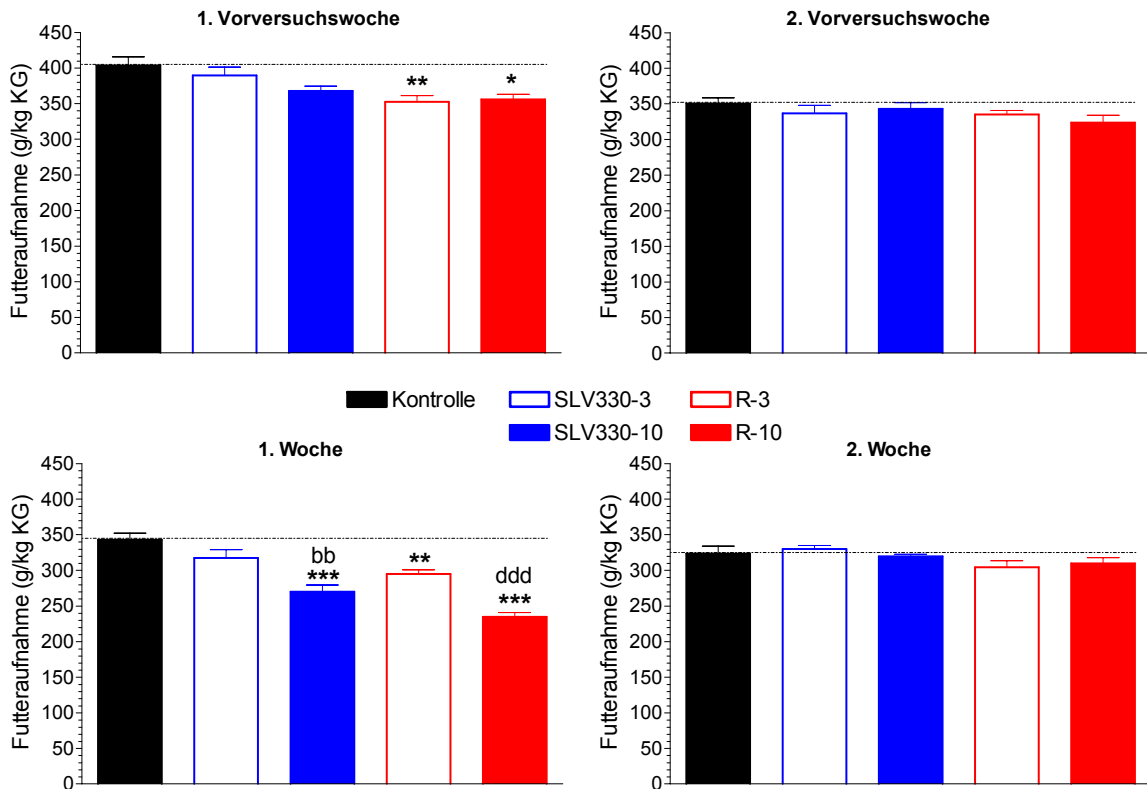


Abbildung 3-65: Wöchentliche Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistar-ratten in Versuch 3 während des zweiwöchigen Vor- und des zweiwöchigen Hauptversuchs (N=8; MW±SE).

Signifikant verschieden zu Kontrolle: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; zu SLV330-3: ^{bb} ($p < 0,01$); zu R-3: ^{ddd} ($p < 0,001$);

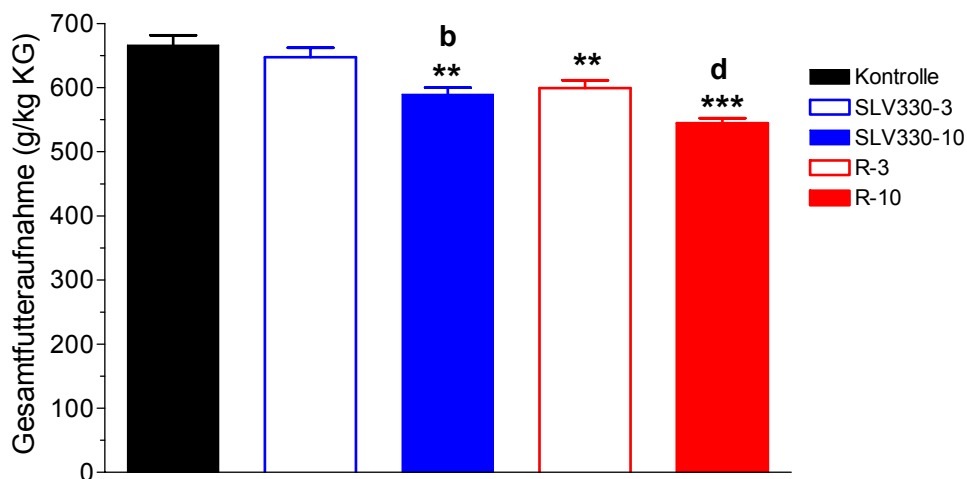


Abbildung 3-66: Gesamtfutteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistar-ratten in Versuch 3 während des zweiwöchigen Hauptversuchs an Tag 14 (N=8; MW±SE).

Signifikant verschieden zu Kontrolle: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; zu SLV330-3: ^b ($p < 0,05$); zu R-3: ^d ($p < 0,05$);

3.3.3 Wasseraufnahme

Die Wasseraufnahme in Versuch 3 wird in den Abbildungen 3-67 bis 3-70 als absolute Werte in ml und im Verhältnis zur Körpergewichtsentwicklung dargestellt (ml/kg KG). Die Abbildung 3-71 zeigt die statistische Auswertung der gesamten Wasseraufnahme relativ zum Körpergewicht im Hauptversuch.

Die Wasseraufnahme wurde täglich um 9.00 Uhr morgens bestimmt. Sie zeigte während des ganzen Versuchs große Schwankungen. Während der ersten Woche des Hauptversuches tranken die Tiere weniger als während der Vorversuchszeit und dies war bei den beiden höheren Dosen von SLV330 und Rimonabant deutlicher ausgeprägt. Anschließend erholten sich alle Gruppen während der zweiten Behandlungswoche und erhöhten die Wasseraufnahme bis zum Ende, ohne jedoch aber die gleichen Werte wie an Tag 0 zu erreichen.

Die Gesamtwasseraufnahme (Abbildung 3-71) im Hauptversuch zeigt ähnliche Strukturen wie der Futterverzehr (Abbildung 3-66) mit Ausnahme der niedrigen Dosis von SLV330, bei der die Wasseraufnahme im Vergleich zur Kontrolle leicht erhöht war, im Gegensatz zur Futteraufnahme, welche sich leicht erniedrigt zeigte. Dies erreichte jedoch keine statistische Signifikanz zur Kontrolle. Lediglich die hohe Rimonabantdosis reduzierte die Gesamtwasseraufnahme signifikant gegenüber der Kontrolle ($p < 0,05$).

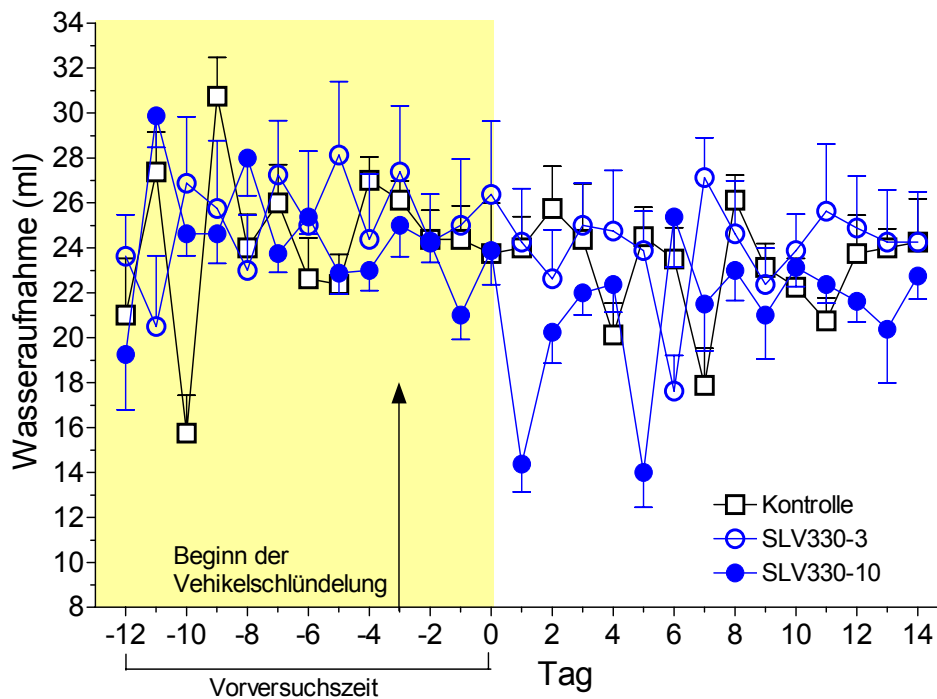


Abbildung 3-67: Wasseraufnahme der Wistarratten in Versuch 3: Behandlung mit SLV335 (N=8; MW±SE).

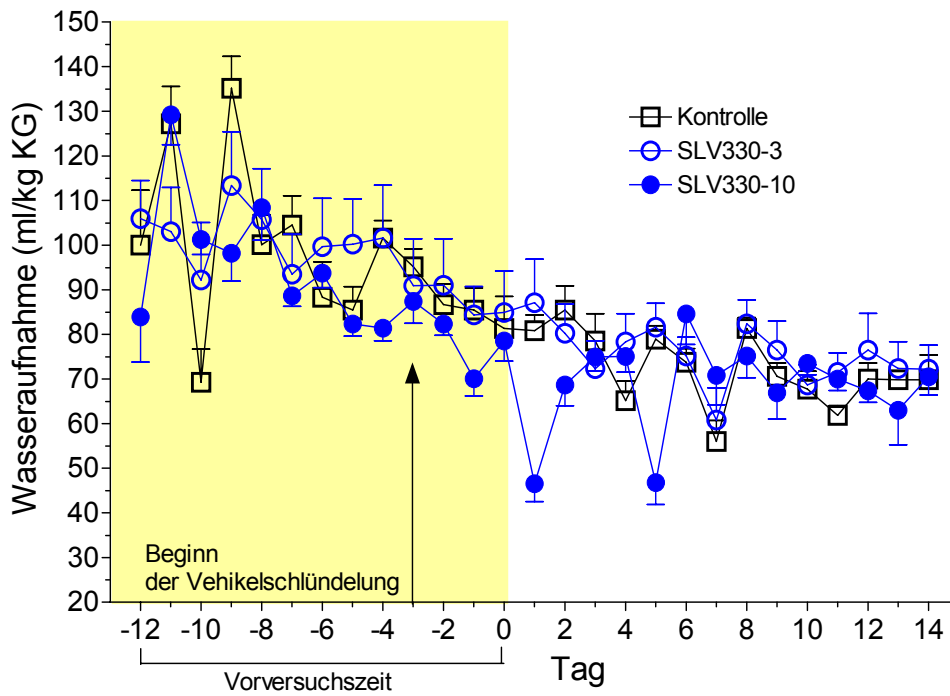


Abbildung 3-68: Wasseraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Versuch 3: Behandlung mit SLV335 (N=8; MW±SE).

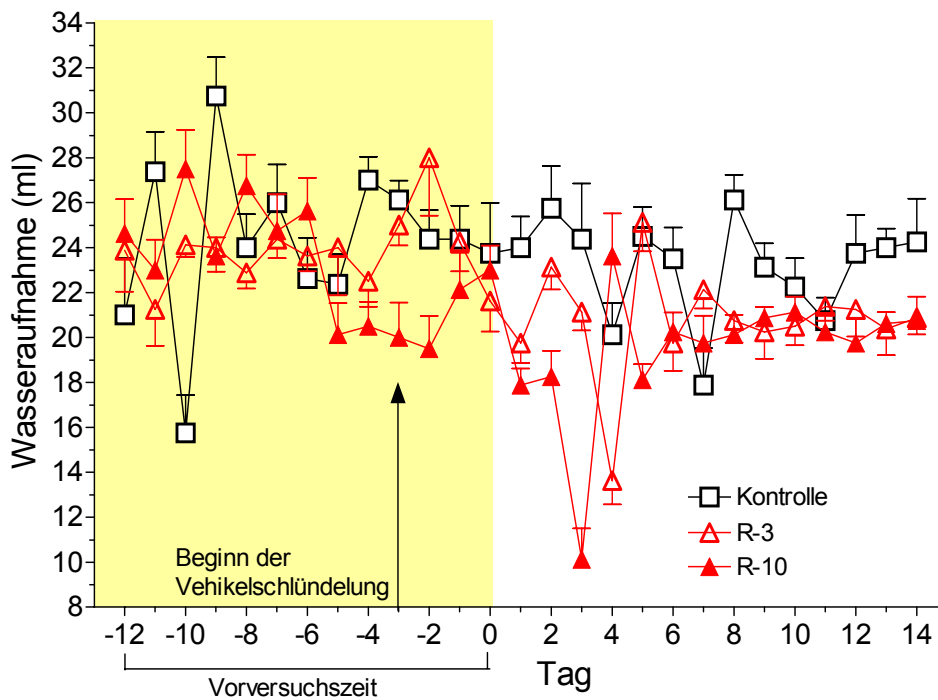


Abbildung 3-69: Wasseraufnahme der Wistarratten in Versuch 3: Behandlung mit Rimonabant (N=8; MW±SE).

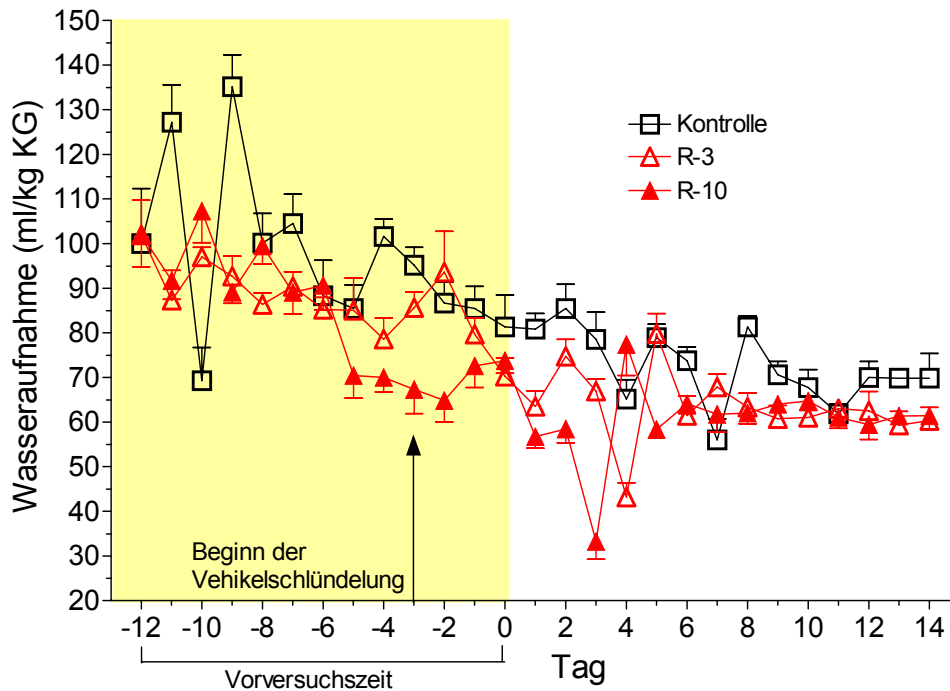


Abbildung 3-70: Wasseraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Versuch 3: Behandlung mit Rimonabant (N=8; MW±SE).

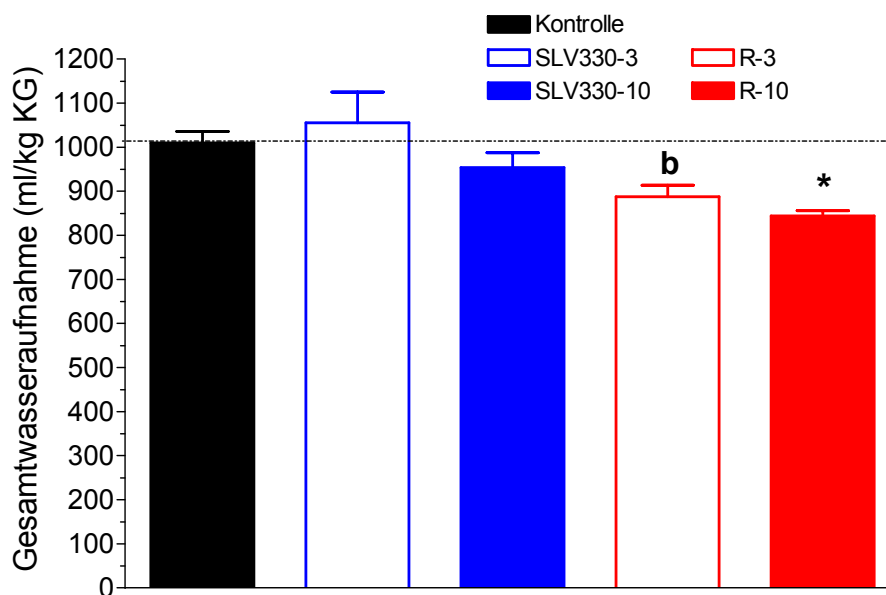


Abbildung 3-71: Gesamtwasseraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Versuch 3 während des zweiwöchigen Hauptversuchs (Tag 14) (N=8; MW±SE).

Signifikant verschieden zu Kontrolle * $p < 0,05$; zu SLV330-3: ^b ($p < 0,05$)

3.3.4 Analyse der Blutproben

Die Behandlung hatte zahlreiche Einflüsse auf die Blutwerte. Die Daten sind als Box Plots dargestellt. Die Insulinsensitivität wurde nach QUICKI definiert, einem quantitativen Insulinsensitivitätsberechnungsindex ($\text{QUICKI} = 1 / [\log(I_0) + \log(G_0)]$; $I_0/G_0 = \text{Nüchterninsulin/-glucose}$) [164]. In Tabelle 3-4 ist die statistische Auswertung zusammengefasst.

3.3.4.1 Gesamtcholesterin

Die Cholesterinwerte im Serum zeigten große Schwankungen, vor allem in der Kontrollgruppe. Die Rimonabantbehandlung zeigte keine Dosisabhängigkeit. Die niedrigere Dosierung von SLV330 zeigte keinerlei Effekt, jedoch konnte in der SLV330-10 Gruppe eine leichte Tendenz zu erniedrigten Cholesterinkonzentrationen beobachtet werden (signifikant verschieden zu R-10 eine Stunde vor der letzten i.p. Behandlung). Nach der i.p. Behandlung sanken die Cholesterinspiegel in der SLV330-3 Gruppe ab, und blieben in den beiden Rimonabantgruppen, sowie in der SLV330-10 Gruppe auf einem leicht geringeren Level im Vergleich zur Kontrolle. Die Werte der letzten beiden Blutabnahmen (+5 und +8) zeigten keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen.

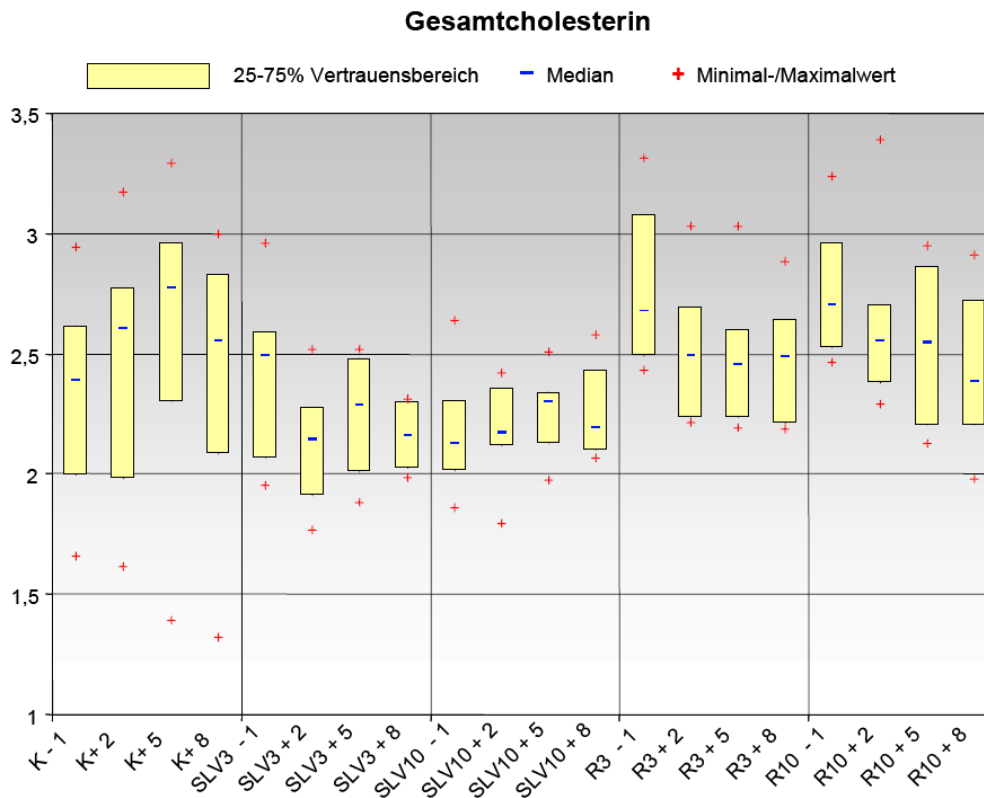


Abbildung 3-72: Gesamtcholesteringehalt der Blutproben in Versuch 3 in mmol/l.

3.3.4.2 LDL

SLV330-3 zeigte keinerlei Effekt auf die LDL-Werte im Vergleich zur Kontrolle. In den SLV330-10 Ratten waren die LDL-Spiegel anfangs höher als in der Kontrollgruppe, sanken nach der i.p. Behandlung unter die Kontrollwerte ab, jedoch ohne statistische Signifikanz zu zeigen. Beide Dosierungen der Rimonabantgruppen zeigten eine statistisch signifikante Absenkung der LDL-Konzentrationen in der Blutabnahme zwei Stunden nach der i.p.

Behandlung und blieben in der R-3 Gruppe auf einem niedrigen Level, welches in der hohen Dosierung jedoch nicht gehalten werden konnte.

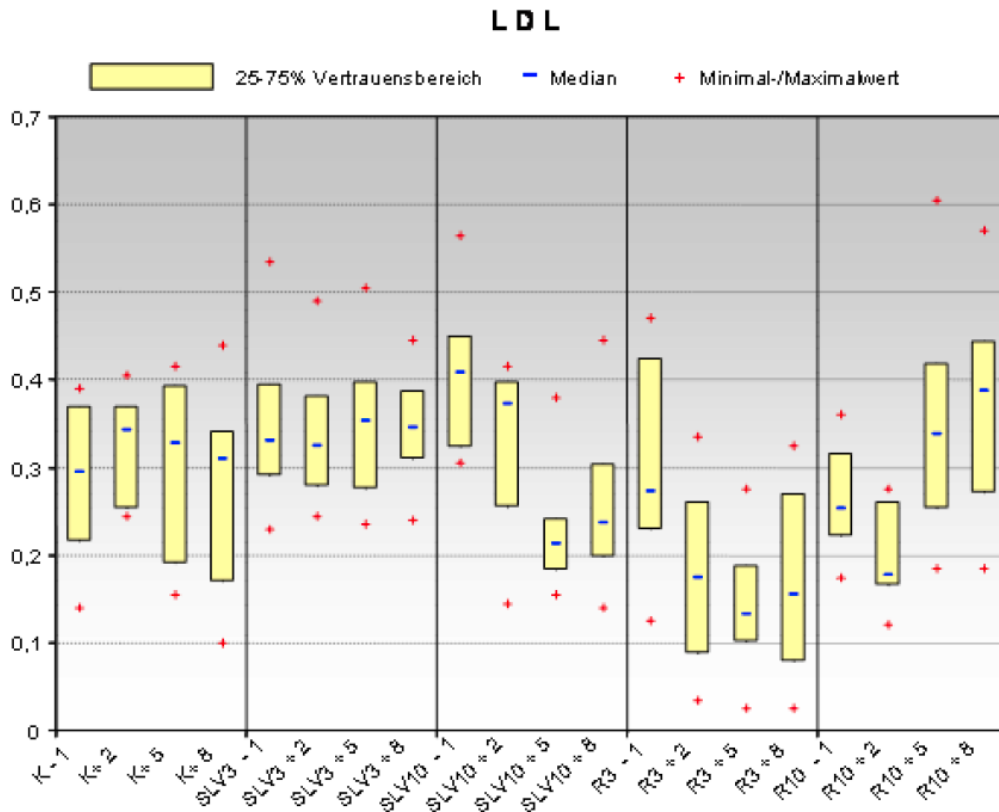


Abbildung 3-73: LDL-Gehalt der Blutproben in Versuch 3 in mmol/l.

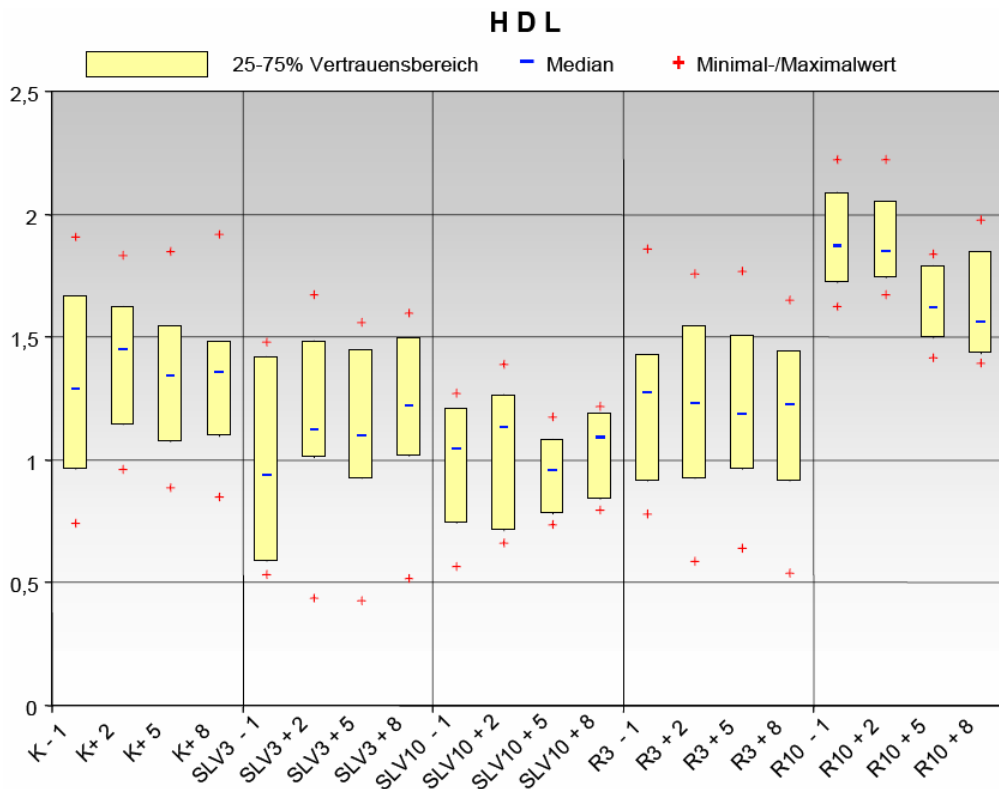


Abbildung 3-74: HDL-Gehalt der Blutproben in Versuch 3 in mmol/l.

3.3.4.3 HDL

Die HDL-Werte wurden unterschiedlich durch die verschiedenen Behandlungen beeinflusst. SLV330 bewirkte eine leichte nicht signifikante dosisabhängige Erniedrigung, während die Rimonabantbehandlung in der niedrigeren Dosierung keinen Effekt zeigte, dafür aber in der R-10 Gruppe zu signifikanten Erhöhungen im Vergleich zur Kontrolle, R-3 und SLV330-10 Gruppe führte.

3.3.4.4 Freies Cholesterin

Das freie Cholesterin wurde durch beide Behandlungen leicht erniedrigt. Diese Effekte waren nicht dosisabhängig und nur in der ersten Blutabnahme, die noch vor der letzten i.p. Behandlung stattfand (-1), statistisch verschieden zu Kontrolle.

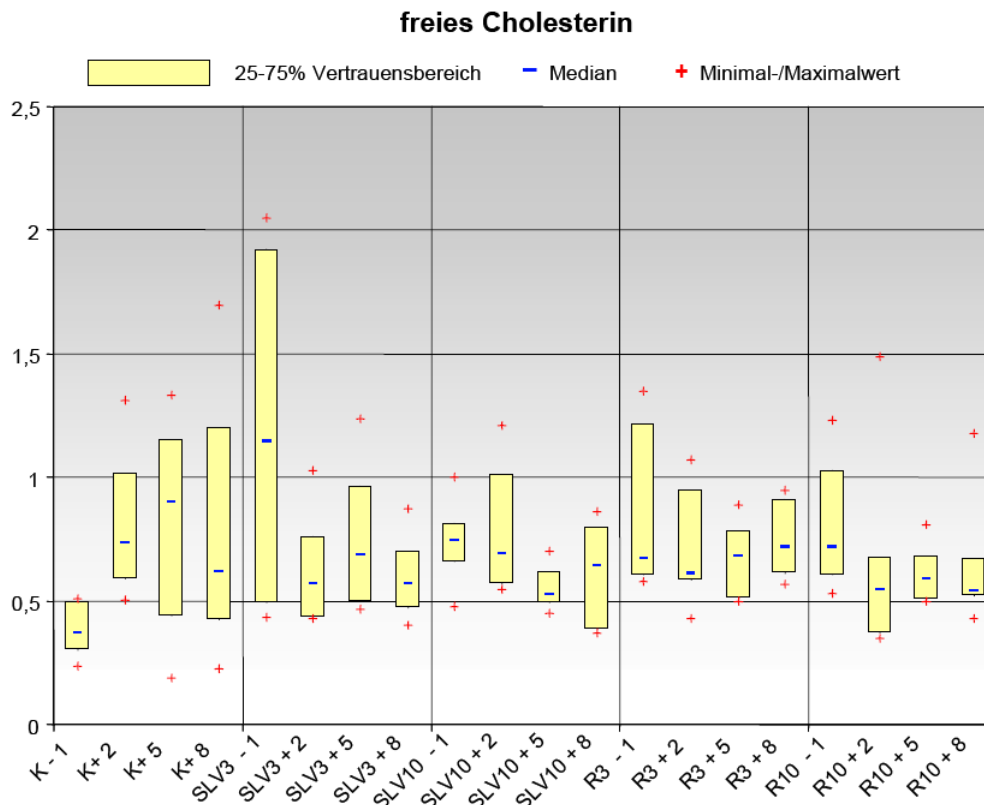


Abbildung 3-75: Gehalt an freiem Cholesterin der Blutproben in Versuch 3 in mmol/l.

3.3.4.5 Triglyzeride

Rimonabant senkte die Triglyzeridwerte mehr oder weniger stark im Vergleich zur Kontrolle. Der Effekt war dosisabhängig und die Werte in der R-10 Gruppe signifikant unterschiedlich zur Kontrolle für die Blutabnahmen +2, +5, +8 (Tabelle 3-4). Bei der niedrigen SLV330-Dosis waren die Triglyzeride bei der ersten Blutabnahme (-1) erhöht. Die leichten Absenkungen nach der letzten SLV330-Behandlung waren nicht dosisabhängig und nicht signifikant.

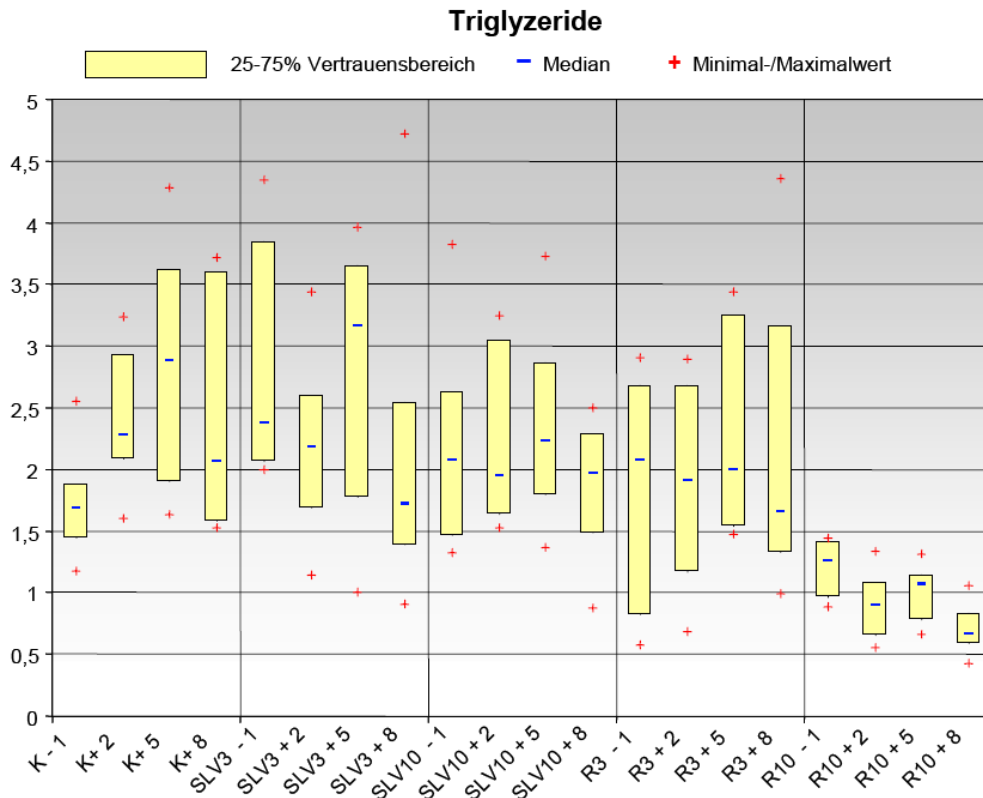


Abbildung 3-76: Triglyzeridgehalt der Blutproben in Versuch 3 in mmol/l.

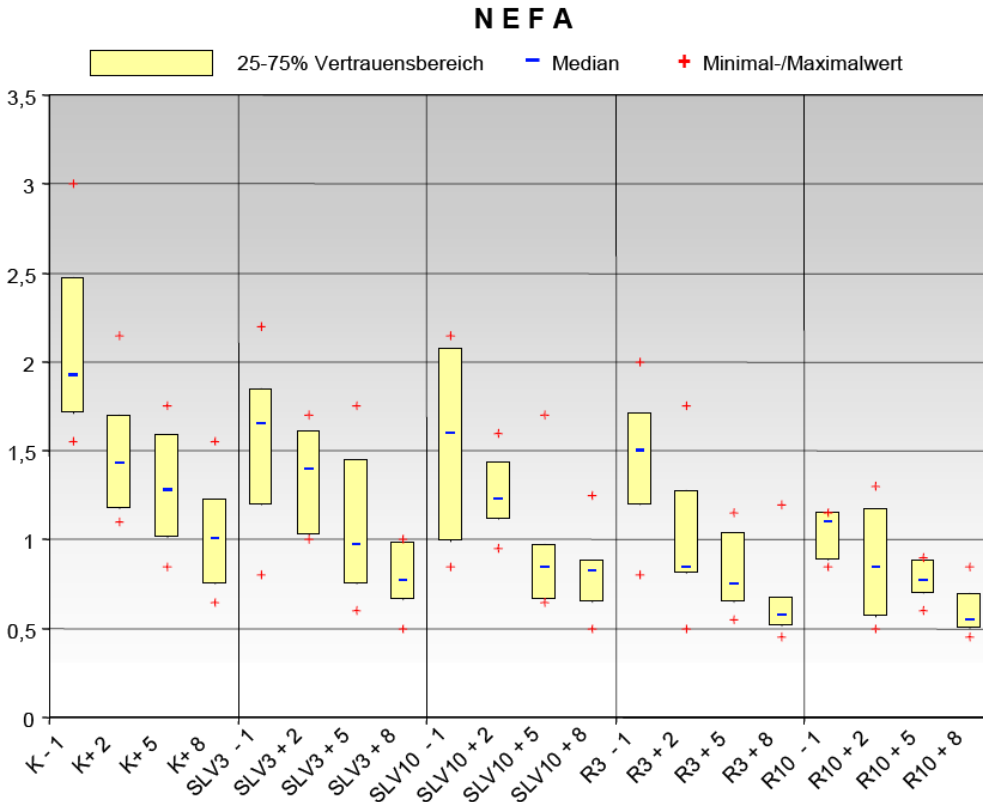


Abbildung 3-77: Gehalt an nicht-veresterten Fettsäuren der Blutproben in Versuch 3 in mmol/l.

3.3.4.6 Nicht-veresterte Fettsäuren

Die Behandlungen senkten die NEFA-Werte in allen Gruppen im Vergleich zur Kontrolle über den gegebenen Zeitraum, jedoch ohne eine deutliche Dosisabhängigkeit zu zeigen. Diese Erniedrigung war am stärksten in der Gruppe R-10 ausgeprägt.

3.3.4.7 Insulin

Die Insulinwerte im Serum zeigten große Schwankungen mit einer Tendenz zur Erhöhung über die Zeit hinweg, jedoch ohne statistische Signifikanz zur Kontrolle zu entwickeln. Während SLV330 keine dosisabhängigen Unterschiede zeigte, wurden die Insulinspiegel durch R-10 im Vergleich zu R-3 gesenkt (signifikant 2 und 5 Stunden nach der i.p. Behandlung).

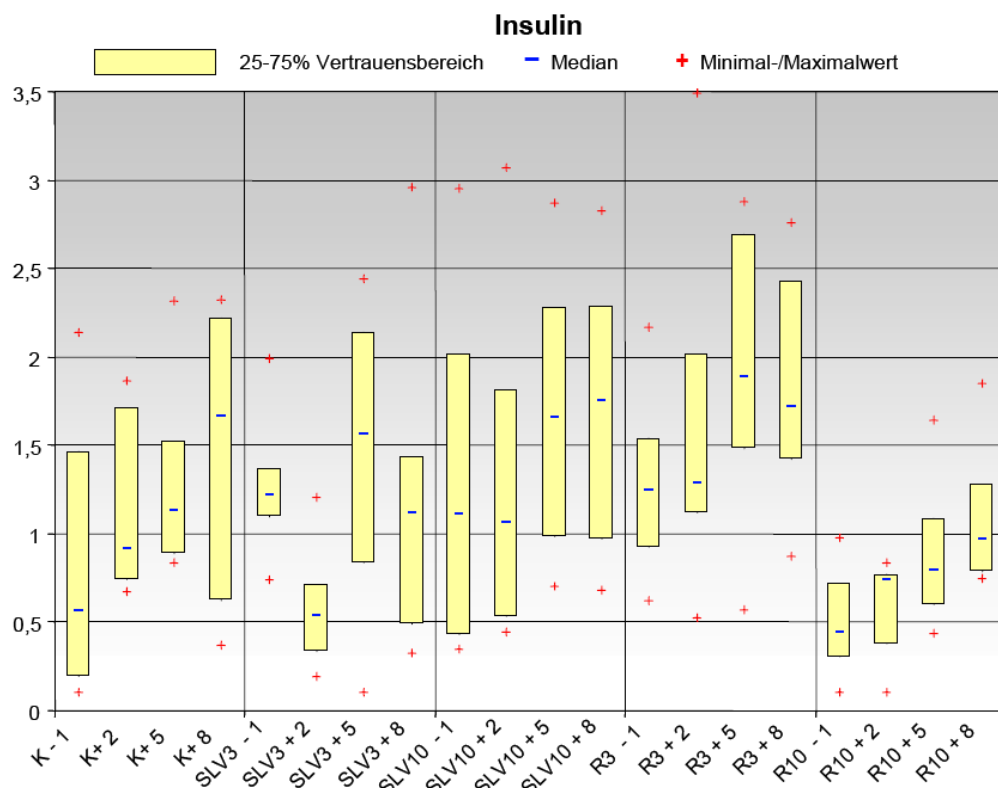


Abbildung 3-78: Insulingehalt der Blutproben in Versuch 3 in µg/l.

3.3.4.8 Glucose

Die Effekte auf die Insulinwerte im Serum spiegeln sich in den Glucosewerten wider, welche die gleichen Tendenzen mit jedoch deutlich geringeren Schwankungen zeigten.

3.3.4.9 Insulinsensitivität

Die aus den Nüchterinsulin- und -glucosewerten abgeleiteten QUICKI Werte nahmen bei allen Tieren über die Zeit hinweg ab. Nur die hohe Rimonabantdosis verbesserte die Insulinsensitivität im Vergleich zur Kontrolle, wenn auch nicht statistisch signifikant.

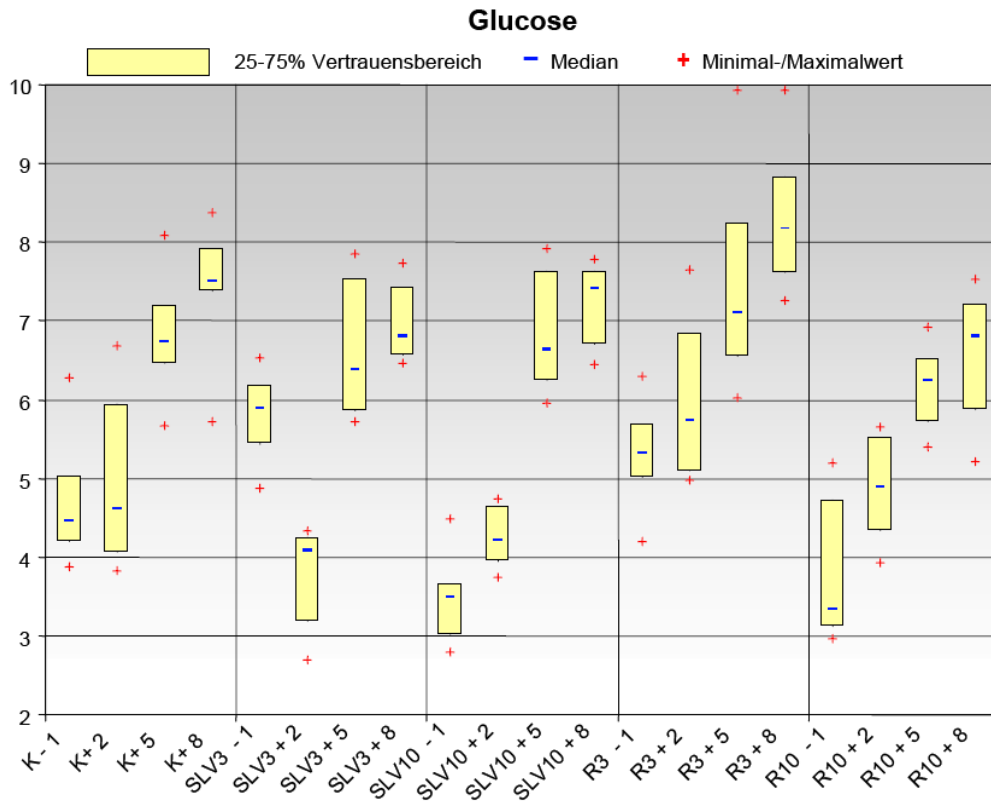


Abbildung 3-79: Glucosegehalt der Blutproben in Versuch 3 in µg/l.

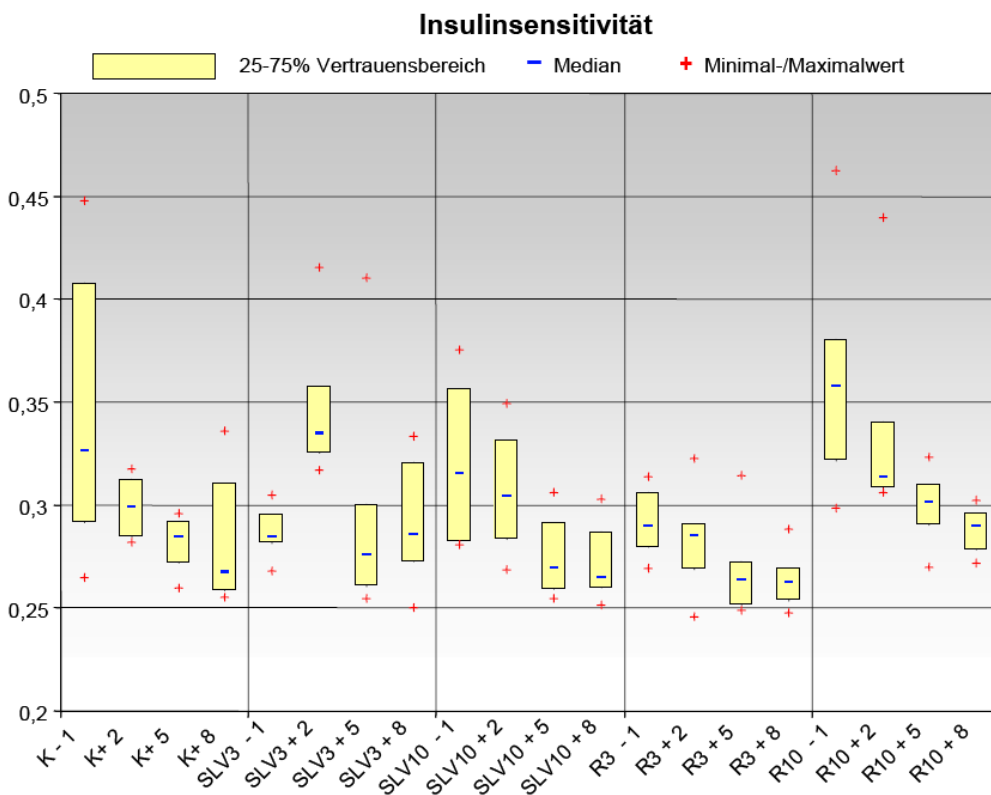


Abbildung 3-80: Insulinsensitivität der Blutproben in Versuch 3 (QUICKI-Werte).

Tabelle 3-4: Statistische Auswertung der Blutwerte von Versuch 3

Die folgende Tabelle beschreibt die statistische Auswertung der Blutwerte mit ANOVA, und der Bonferroni Korrektur der p-Werte jeweils eine Stunde bevor (-1), zwei (+2), fünf (+5) oder acht (+8) Stunden nach der letzten morgendlichen i.p. Behandlung. Die erste und zweite Blutabnahme (-1 und +2) sind rot, und die Dritte und Vierte (+5 und +8) schwarz markiert

Gesamtcholesterin in Versuch 3:

Gruppe	Kontrolle		SLV330-3		SLV330-10		R-3		R-10	
			+5	+8	+5	+8	+5	+8	+5	+8
Kontrolle			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SLV330-3	n.s.	n.s.			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--	--
SLV330-10	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			--	--	n.s.	n.s.
R-3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--	--			n.s.	n.s.
R-10	n.s.	n.s.	--	--	0,01	n.s.	n.s.	n.s.		
	-1	+2	-1	+2	-1	+2	-1	+2		

LDL in Versuch 3:

Gruppe	Kontrolle		SLV330-3		SLV330-10		R-3		R-10	
			+5	+8	+5	+8	+5	+8	+5	+8
Kontrolle			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,05	n.s.	n.s.	n.s.
SLV330-3	n.s.	n.s.			n.s.	n.s.	0,001	0,01	--	--
SLV330-10	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			--	--	n.s.	n.s.
R-3	n.s.	0,01	n.s.	0,01	--	--			0,001	0,01
R-10	n.s.	0,05	--	--	0,05	0,05	n.s.	n.s.		
	-1	+2	-1	+2	-1	+2	-1	+2		

HDL in Versuch 3:

Gruppe	Kontrolle		SLV330-3		SLV330-10		R-3		R-10	
			+5	+8	+5	+8	+5	+8	+5	+8
Kontrolle			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SLV330-3	n.s.	n.s.			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--	--
SLV330-10	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			--	--	0,001	0,01
R-3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--	--			n.s.	0,05
R-10	0,01	0,05	--	--	0,001	0,001	0,01	0,01		
	-1	+2	-1	+2	-1	+2	-1	+2		

Tabelle 3-4, Fortsetzung

Triglyzeride in Versuch 3:

Gruppe	Kontrolle		SLV330-3		SLV330-10		R-3		R-10	
			+5	+8	+5	+8	+5	+8	+5	+8
Kontrolle			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,001	0,01
SLV330-3	0,01	n.s.			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--	--
SLV330-10	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			--	--	0,05	n.s.
R-3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--	--			0,05	0,05
R-10	n.s.	0,001	--	--	n.s.	0,01	n.s.	0,05		
	-1	+2	-1	+2	-1	+2	-1	+2		

Freies Cholesterin in Versuch 3:

Gruppe	Kontrolle		SLV330-3		SLV330-10		R-3		R-10	
			+5	+8	+5	+8	+5	+8	+5	+8
Kontrolle			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SLV330-3	0,001	n.s.			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--	--
SLV330-10	0,05	n.s.	0,05	n.s.			--	--	n.s.	n.s.
R-3	0,05	n.s.	0,05	n.s.	--	--			n.s.	n.s.
R-10	0,05	n.s.	--	--	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
	-1	+2	-1	+2	-1	+2	-1	+2		

Nicht-veresterte Fettsäuren in Versuch 3:

Gruppe	Kontrolle		SLV330-3		SLV330-10		R-3		R-10	
			+5	+8	+5	+8	+5	+8	+5	+8
Kontrolle			n.s.	0,05	n.s.	n.s.	0,05	0,05	0,05	0,01
SLV330-3	n.s.	n.s.			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--	--
SLV330-10	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			--	--	n.s.	n.s.
R-3	n.s.	0,05	n.s.	n.s.	--	--			n.s.	n.s.
R-10	0,001	0,01	--	--	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
	-1	+2	-1	+2	-1	+2	-1	+2		

Tabelle 3-4, Fortsetzung

Insulin in Versuch 3:

Gruppe	Kontrolle		SLV330-3		SLV330-10		R-3		R-10	
			+5	+8	+5	+8	+5	+8	+5	+8
Kontrolle			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SLV330-3	n.s.	n.s.			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--	--
SLV330-10	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			--	--	n.s.	n.s.
R-3	n.s.	n.s.	n.s.	0,05	--	--			0,05	n.s.
R-10	n.s.	n.s.	--	--	n.s.	n.s.	n.s.	0,05		
	-1	+2	-1	+2	-1	+2	-1	+2		

Glucose in Versuch 3:

Gruppe	Kontrolle		SLV330-3		SLV330-10		R-3		R-10	
			+5	+8	+5	+8	+5	+8	+5	+8
Kontrolle			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SLV330-3	0,05	n.s.			n.s.	n.s.	n.s.	0,01	--	--
SLV330-10	0,01	n.s.	0,001	n.s.			--	--	n.s.	n.s.
R-3	n.s.	n.s.	n.s.	0,001	--	--			0,05	0,001
R-10	n.s.	n.s.	--	--	n.s.	n.s.	0,001	n.s.		
	-1	+2	-1	+2	-1	+2	-1	+2		

Insulinsensitivität in Versuch 3:

Gruppe	Kontrolle		SLV330-3		SLV330-10		R-3		R-10	
			+5	+8	+5	+8	+5	+8	+5	+8
Kontrolle			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SLV330-3	n.s.	0,05			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--	--
SLV330-10	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			--	--	n.s.	n.s.
R-3	n.s.	n.s.	n.s.	0,01	--	--			n.s.	n.s.
R-10	n.s.	n.s.	--	--	n.s.	n.s.	0,05	n.s.		
	-1	+2	-1	+2	-1	+2	-1	+2		

3.4 Versuch 4: Untersuchung von Topiramamat an Zuckerratten

Im Vergleich zu früheren Untersuchungen mit Topiramamat an Zuckerratten wurde in diesem Versuch anstelle des kohlehydratreichen Futters eine so genannte Western Diät mit hohem Fettanteil verwendet.

Die Randomisierung fand am 5. Tag des Vorversuchs statt. Die Zuteilung zu einer der drei Behandlungsgruppen erfolgte somit an Tag -3 für Kontrolle und T 30, und an Tag -4 für T 100 vor Beginn des Experiments (Tag 0).

Ein Tier aus der Kontrollgruppe war deutlich schlanker im Vergleich zu den anderen sieben Kontrollratten und wurde somit am Ende des Experiments aus allen graphischen Darstellungen und statistischen Analysen ausgeschlossen.

3.4.1 Körpergewicht

Die Entwicklung des Körpergewichts der Tiere in Versuch 4 ist den in Abbildungen 3-81 und 3-82 als absolute Körpergewichte für den gesamten Versuchszeitraum (Tag -7 bis Tag 28) und als das prozentuale Körpergewicht der Ratten jeweils im Vergleich zu Tag 0 dargestellt. In Abbildung 3-83 wird die gesamte Körpergewichtszunahme während des Hauptversuchs bis zum letzten Fütterungstag (Tag 27) gezeigt.

Während des siebentägigen Vorversuchs nahmen alle Ratten kontinuierlich an Gewicht zu. Die Vehikelgabe beeinflusste das Wachstum der Tiere nicht. Auch im Hauptversuch zeigten die Kontrolltiere einen gleichmäßigen Gewichtszuwachs (+68% entsprechend 225,7±10 g bis Tag 27; Abbildungen 3-81 und 3-82). Die Ratten der T 30-Gruppe nahm ebenfalls regelmäßig über die Studie hinweg zu, blieben aber leicht hinter den Kontrollen zurück (+61% / 195,6±8 g, 90% im Vergleich zu Kontrolle). Nur bei der hohen Dosis (T 100-Gruppe) konnte der typische akute Körpergewichtsverlust bei Topiramamatgabe am ersten Behandlungstag beobachtet werden (-2%), von welchem sich die Tiere jedoch gleich am nächsten Tag erholten. Anschließend nahmen sie kontinuierlich an Gewicht zu, jedoch deutlich unter der Wachstumsrate der Kontrolltiere, bis sie an Tag 27 ihr höchstes Körpergewicht erreichten (+43% / 144,4±6 g, 68% im Vergleich zu Kontrolle an Tag 27, $p < 0.001$). Der 12-stündige Futterentzug in der Nacht vom 27. auf den 28. Versuchstag führte nur bei der hohen Topiramamatdosis zu dem erwarteten Körpergewichtsverlust.

Abbildung 3-83 zeigt die Gesamtzunahme der Körpergewichte bis Tag 27, die durch Topiramamat dosisabhängig signifikant herabgesetzt wurde.

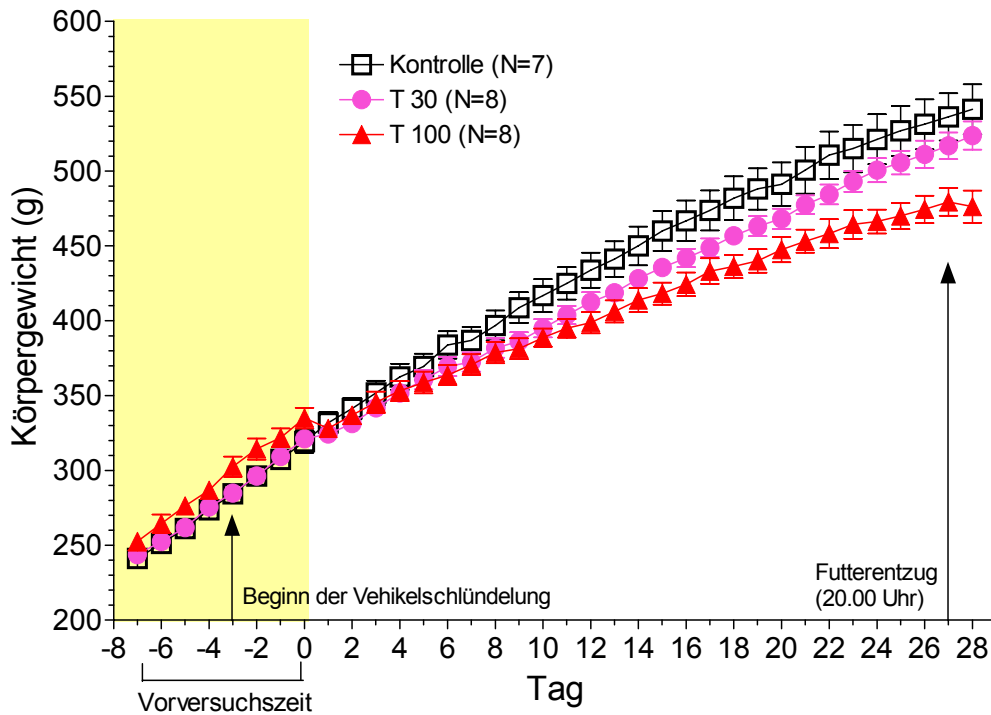


Abbildung 3-81: Absolutes Körpergewicht der Zuckerratten in Versuch 4 (MW±SE).

Von Tag 0 an wurden die Ratten täglich zweimal geschlüdelnt: die Kontrollgruppe erhielt die Vehikellösung (2%ige PEG-CMC-Lösung), die Topiramatgruppen T 30 bzw. T 100 morgens 10 bzw. 33,3 mg/kg KG und abends 20 bzw. 66,6 mg/kg KG Topiramat. Die Tiere erhielten Futter und Wasser *ad libitum*.

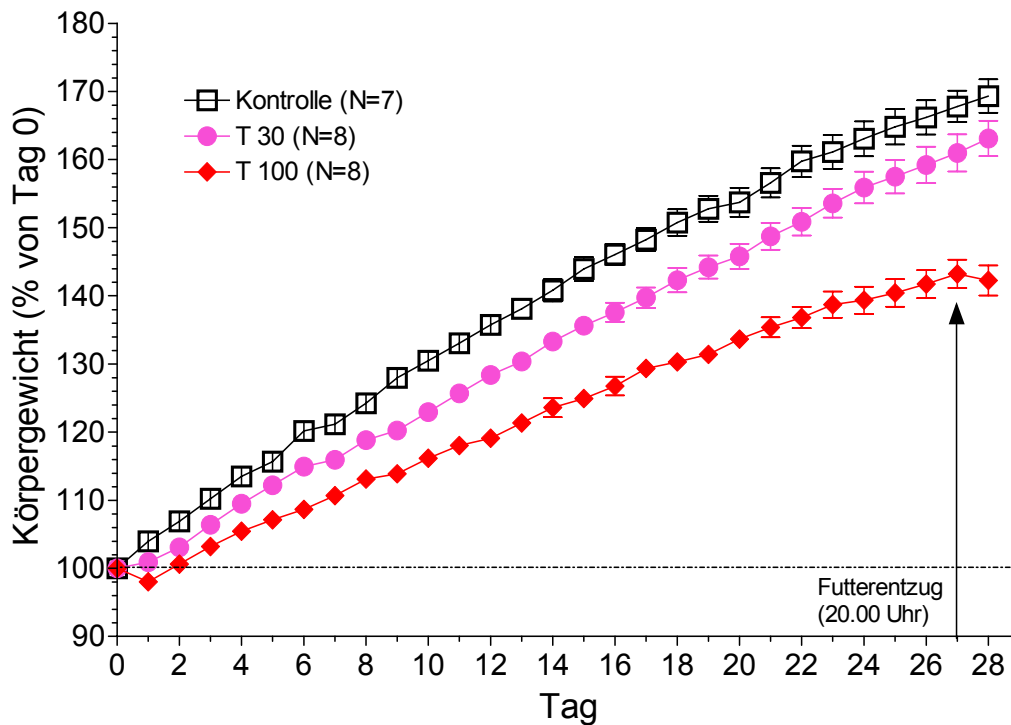


Abbildung 3-82: Prozentuale Veränderung der Körpergewichte der Zuckerratten im Vergleich zu Tag 0 in Versuch 4 (MW±SE).

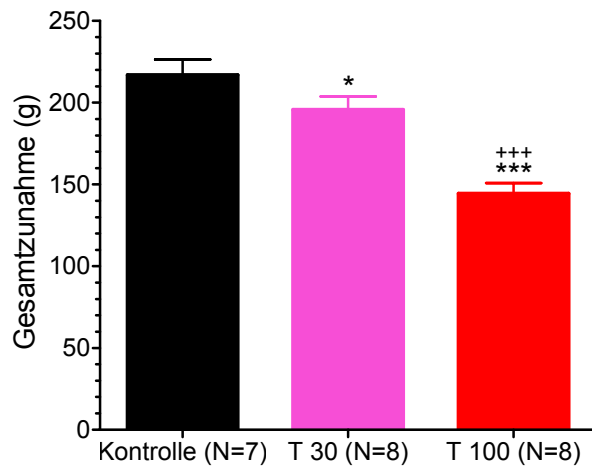


Abbildung 3-83: Gesamte Körpergewichtszunahme der Zuckerratten in Versuch 4 während des vierwöchigen Hauptversuchs bis Tag 27 (MW±SE).

Signifikant verschieden zur Kontrolle: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; zu T 30: +++ $p < 0,001$.

3.4.2 Futteraufnahme

Der Einfluss von Topiramaten auf die Futteraufnahme wird in den Abbildungen 3-84 und 3-85 als absolute Werte in Gramm und im Verhältnis zur Körpergewichtsentwicklung dargestellt (g/kg KG). Abbildung 3-86 zeigt die statistische Auswertung der gesamten Futteraufnahme bis Tag 27. Um einen besseren Überblick über die behandlungsbezogenen Effekte auf die Futteraufnahme zu gewährleisten, sind diese in den Abbildungen 3-87 und 3-88 pro Woche dargestellt (Vorversuch: Tage -6 bis -1; 1. Woche: Tage 0 bis 6; 2. Woche: Tage 7 bis 13; 3. Woche: Tage 14 bis 20, 4. Woche: Tage 21 bis 27).

Die Futteraufnahme wurde täglich um 9.00 Uhr bestimmt. Während des Vorversuchs war sie großen Schwankungen unterlegen. Die zwei Topiramatengruppen nahmen im Vorversuch ein wenig mehr Futter auf im Vergleich zur Kontrolle. Diese Unterschiede waren jedoch nicht statistisch signifikant.

Während des Hauptversuchs blieb die Futteraufnahme unregelmäßig wie im Vorversuch. Die Kontrollgruppe steigerte die Futteraufnahme bis zum Ende der 2. Woche. Anschließend zeigten sie durchweg höhere Werte als die Topiramatengruppen, außer in der 4. Woche, in der die T 30 Tiere die höchste Futteraufnahme verzeichneten. Die Topiramatenbehandlung führte zu einem akuten dosisabhängigen Einbruch der Futteraufnahme in den ersten zwei Tagen. Auch wenn die Tiere anschließend wieder aufholten, blieb doch besonders in der T 100 Gruppe die Futteraufnahme während der restlichen Zeit der Studie geringer als am Anfang. Im Gegensatz dazu steigerten die T 30 Ratten nach dem anfänglichen Einbruch ihre Futteraufnahme wieder und fraßen in den letzten zwei Wochen sogar mehr, als in der ersten Hälfte der Studie (Abbildung 3-87). Im Verhältnis zur Körpergewichtsentwicklung zeigt die Topiramatenbehandlung etwas weniger deutliche Effekte auf die Futteraufnahme (Abbildungen 3-85 und 3-88). Am Ende des Hauptversuchs hatten die Topiramaten-behandelten Ratten dosisabhängig weniger

gefressen als die Kontrollratten, die Unterschiede waren aber nur bei der hohen Dosis gegenüber der Kontrolle wie auch der niedrigen Dosis signifikant ($p < 0,001$; Abbildung 3-86).

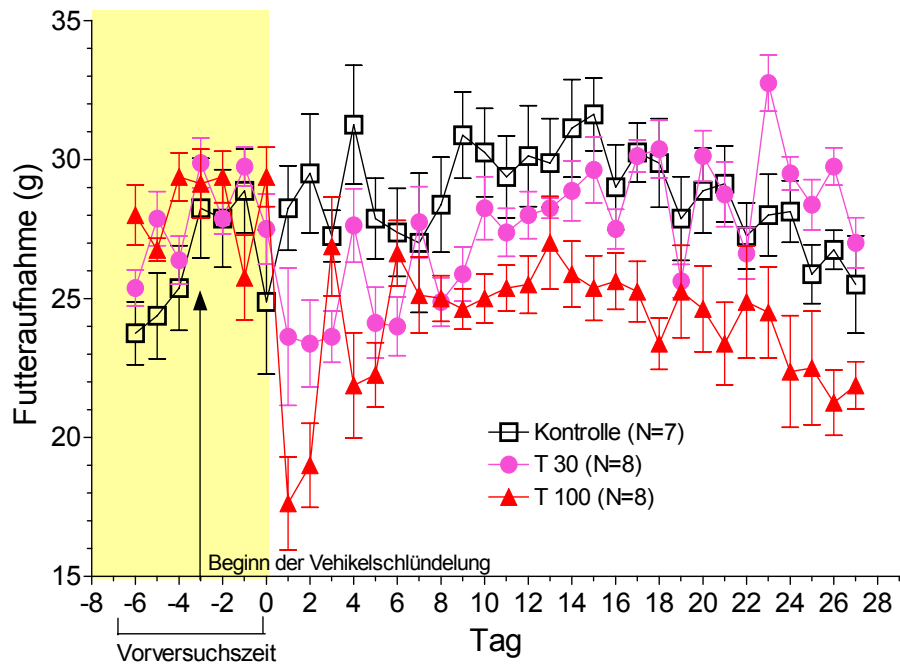


Abbildung 3-84: Futteraufnahme der Zuckerratten in Versuch 4 (MW±SE).

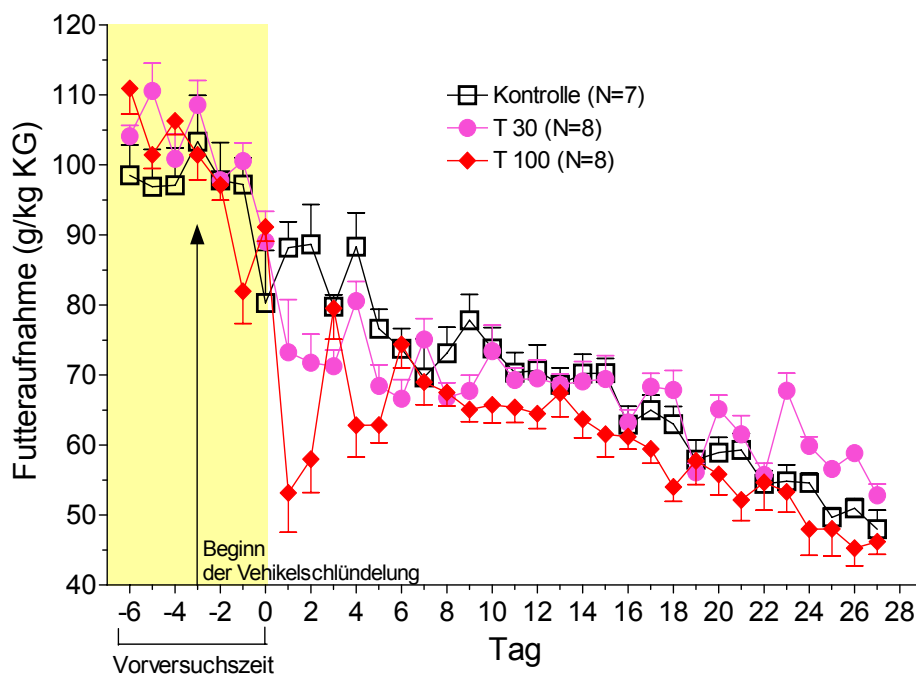


Abbildung 3-85: Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Zuckerratten in Versuch 4 (MW±SE).

Pro Woche betrachtet zeigte sich während des Vorversuchs eine ähnliche Futteraufnahme in allen Gruppen (Abbildung 3-87). Im Hauptversuch konnte in der hoch dosierten Gruppe

während der ganzen Studie ein signifikanter Unterschied zur Kontrolle ($p < 0,001$) und außerdem zur niedrig dosierten Gruppe in der 2., 3. und 4. Woche beobachtet werden (Abbildung 3-87). Die Unterschiede zwischen T 30 und Kontrolle erreichten nur in den ersten 2 Wochen Signifikanz.

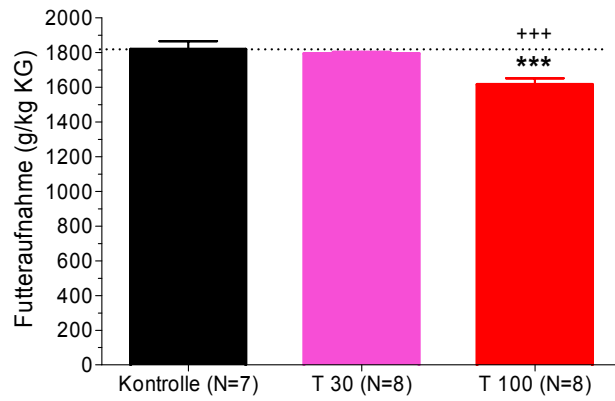


Abbildung 3-86: Gesamtfutteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Zuckerratten in Versuch 4 während des Hauptversuchs bis Tag 27 (MW±SE).

Signifikant verschieden zur Kontrolle
 *** $p < 0,001$; zu T 30: +++ $p < 0,001$.

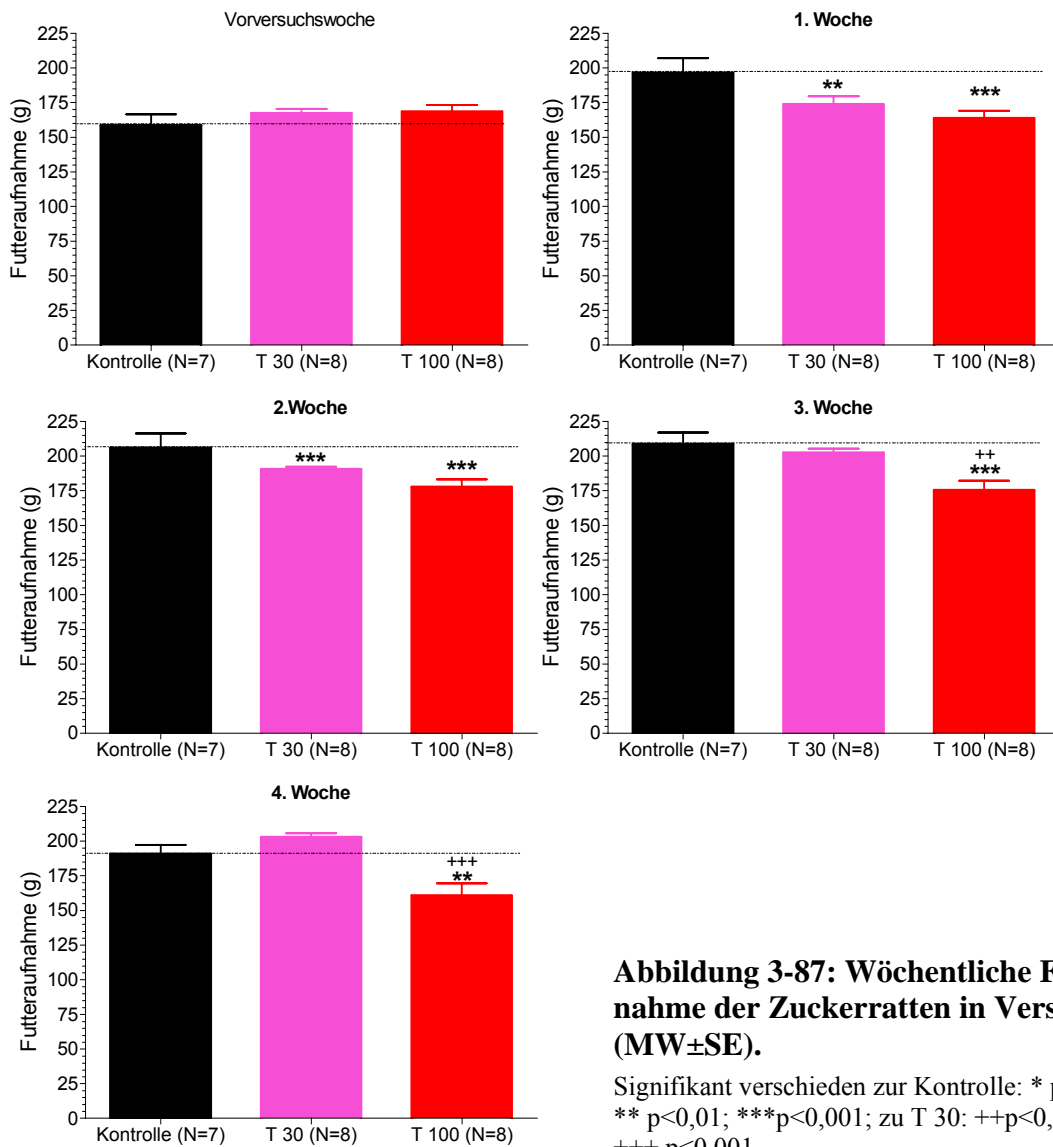


Abbildung 3-87: Wöchentliche Futteraufnahme der Zuckerratten in Versuch 4 (MW±SE).

Signifikant verschieden zur Kontrolle: * $p < 0,05$;
 ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; zu T 30: ++ $p < 0,01$;
 +++ $p < 0,001$.

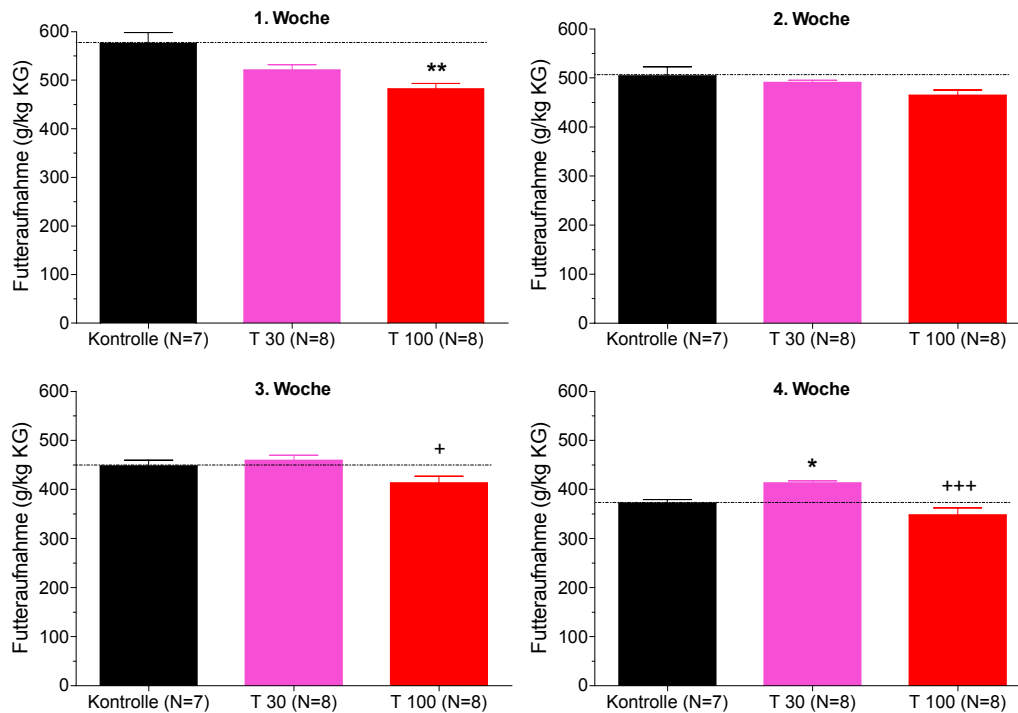


Abbildung 3-88: Wöchentliche Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht der Zuckerratten in Versuch 4 während des vierwöchigen Hauptversuchs (MW±SE).

Signifikant verschieden zu Kontrolle: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; zu T 30: +++ $p < 0,001$.

3.4.3 Wasseraufnahme

Die Wasseraufnahme der Zuckerratten im Versuch 4 wird in den Abbildungen 3-89 und 3-90 gezeigt. Es sind jeweils die absoluten Werte in ml und jene im Verhältnis zur Körpergewichtsentwicklung dargestellt (ml/kg KG). Die Abbildung 3-91 zeigt die statistische Auswertung der gesamten Wasseraufnahme im Hauptversuch relativ zum Körpergewicht.

Die Wasseraufnahme wurde täglich um 9.00 Uhr morgens bestimmt. Sie war während des Vorversuchs sehr großen Schwankungen unterlegen. Von Tag 0 an trank die Kontrollgruppe etwa gleich bleibende Mengen während des ganzen Hauptversuchs, wobei sie Differenzen von ± 5 ml zeigte. Die Topiramatbehandlung steigerte den Wasserverzehr. In der T 30-Gruppe stieg trotz verminderter Futteraufnahme (Abbildung 3-84) die Wasseraufnahme an den beiden ersten Behandlungstagen bereits stark an und blieb auf diesem erhöhten Niveau bis kurz vor Ende des Versuchs. Bei der höheren Topiramatdosis kam es dagegen am ersten in Übereinstimmung mit der verminderten Futteraufnahme zunächst auch zu einer verminderten Wasseraufnahme, die danach aber steil anstieg und vorübergehend das Niveau der T 30-Gruppe erreichte um sich dann allmählich wieder dem Niveau der Kontrollen anzunähern. Die

relative Wasseraufnahme wurde von Topiramamat nicht so deutlich gesteigert wie in Versuch 2 (Abbildungen 3-43 und 3-90), und zeigte auch nicht die Dosisabhängigkeit wie bei der Futteraufnahme (Abbildung 3-84). Die Abbildung 3-91 zeigt den gesamten Wasserverzehr im Hauptversuch, der bei der niedrigen Topiramamatdosis am höchsten war und sich bei beiden Dosierungen signifikant von der Kontrolle unterschied (T 30 $p < 0,001$ und T 100 $p < 0,05$).

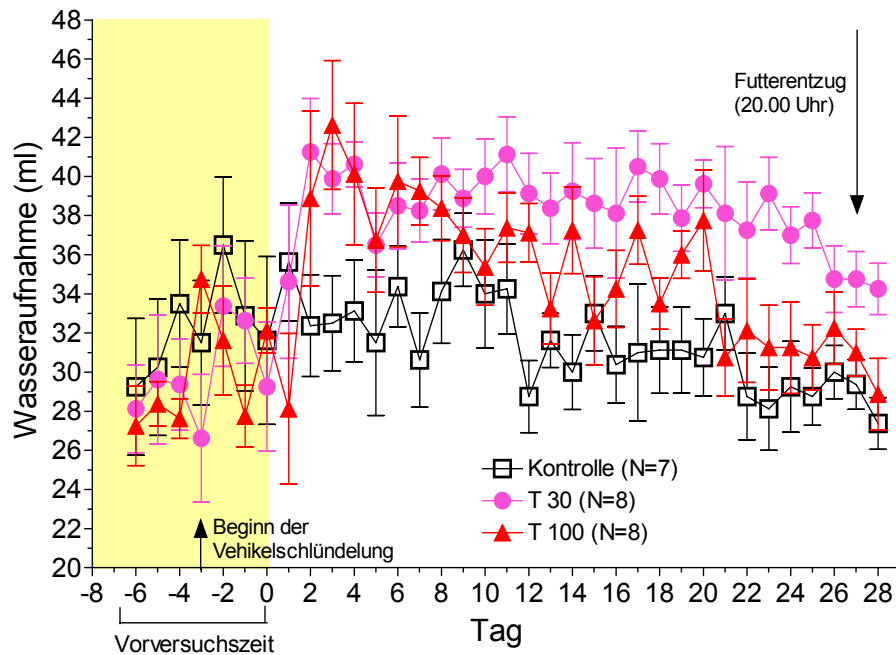


Abbildung 3-89: Wasseraufnahme der Wistarratten in Versuch 4 (MW \pm SE).

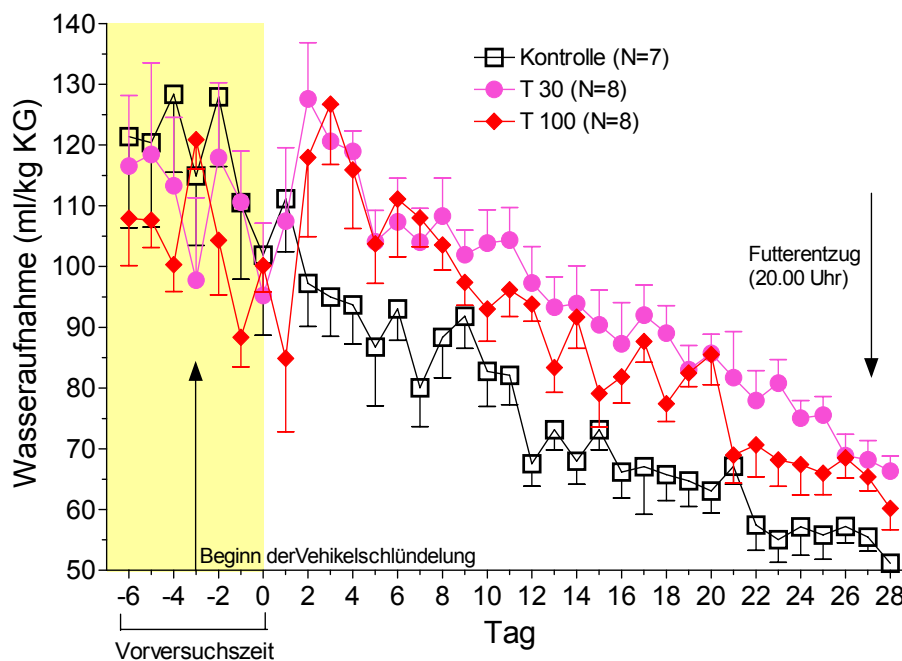


Abbildung 3-90: Wasseraufnahme relativ zum Körpergewicht der Wistarratten in Versuch 4 (MW \pm SE).

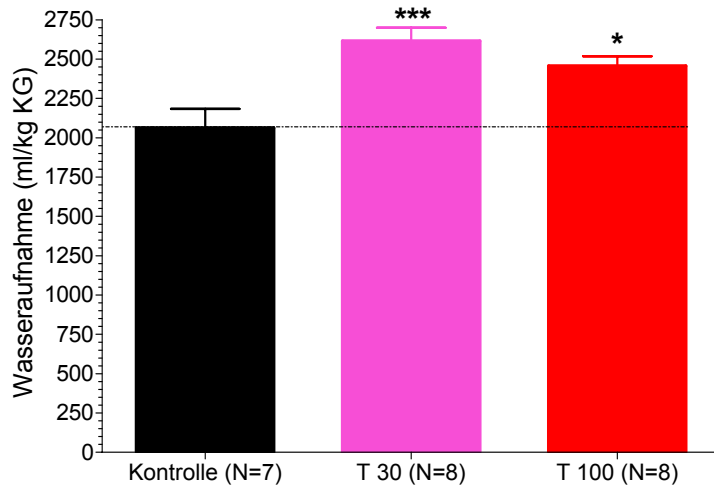


Abbildung 3-29: Gesamtwasseraufnahme relativ zum Körpergewicht der Zuckerratten in Versuch 4 während des Hauptversuchs bis Tag 28 (MW±SE).

Signifikant verschieden zu Kontrolle :
* p<0,05; *** p<0,001.

3.4.4 Analyse der Blutproben

Die Behandlung hatte zahlreiche Einflüsse auf die Blutwerte. Die Daten sind als Box Plot dargestellt. Die Insulinsensitivität wurde nach QUICKI definiert, einem quantitativen Insulinsensitivitätsberechnungsindex ($QUICKI = 1 / [\log(I_0) + \log(G_0)]$; $I_0/G_0 = \text{Nüchterninsulin/-glucose}$) [164]. In Tabelle 3-5 ist die statistische Auswertung zusammengefasst.

3.4.4.1 Gesamtcholesterin

Topiramate hatte keinen Effekt auf die Gesamtcholesterinwerte im Plasma. Die leichten Erhöhungen der Werte im Vergleich zur Kontrolle waren nicht signifikant.

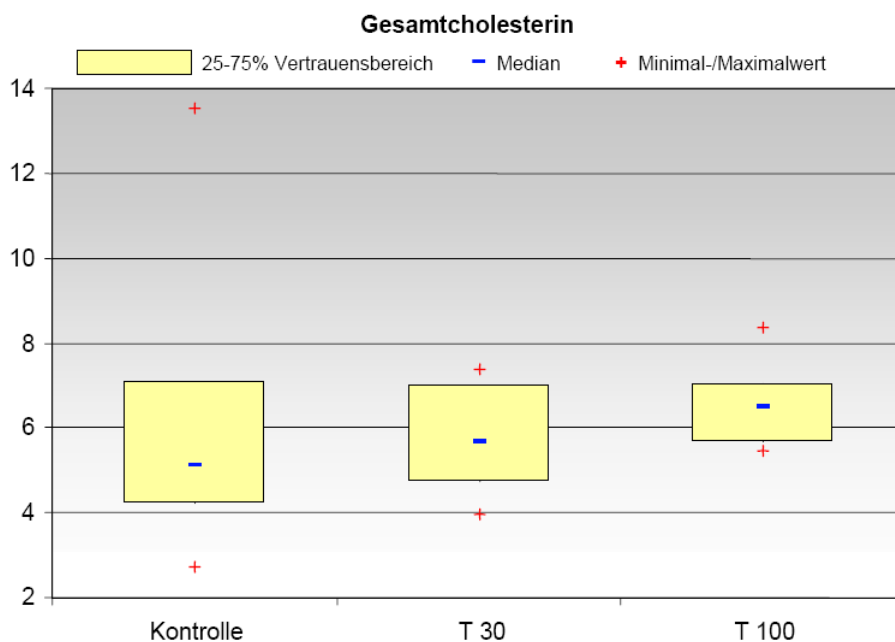


Abbildung 3-92: Gesamtcholesteringehalt der Blutproben in mmol/l.

MW±SD (N): Kontrolle: 6,49±3,31 (7); T 30: 3,31±1,22 (8); T 100: 6,53±0,96 (8).

3.4.4.2 LDL

Topiramate erhöhte nicht signifikant und nicht dosisabhängig die LDL-Werte im Plasma im Vergleich zur Kontrolle (T 30: +53%, T 100: +62%).

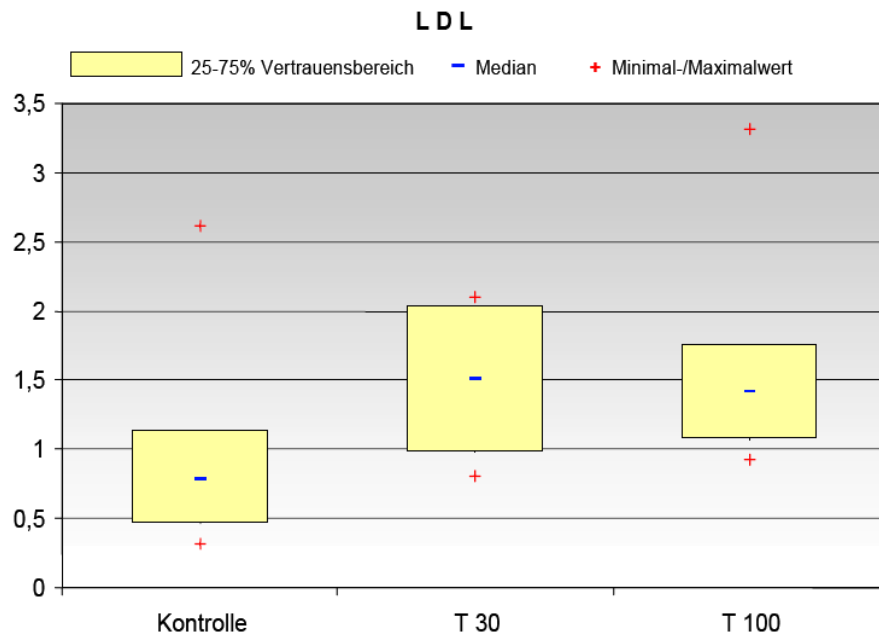


Abbildung 3-93: LDL-Gehalt der Blutproben in mmol/l.

MW±SD (N): Kontrolle: 1,06±0,73 (7); T 30: 1,49±0,52 (8); T 100: 1,58±0,76 (8).

3.4.4.3 HDL

Der HDL-Gehalt im Plasma wurde durch Topiramate deutlich, aber nicht dosisabhängig gesenkt (T 30: -78%, $p < 0,001$; T 100: -73%, $p < 0,01$).

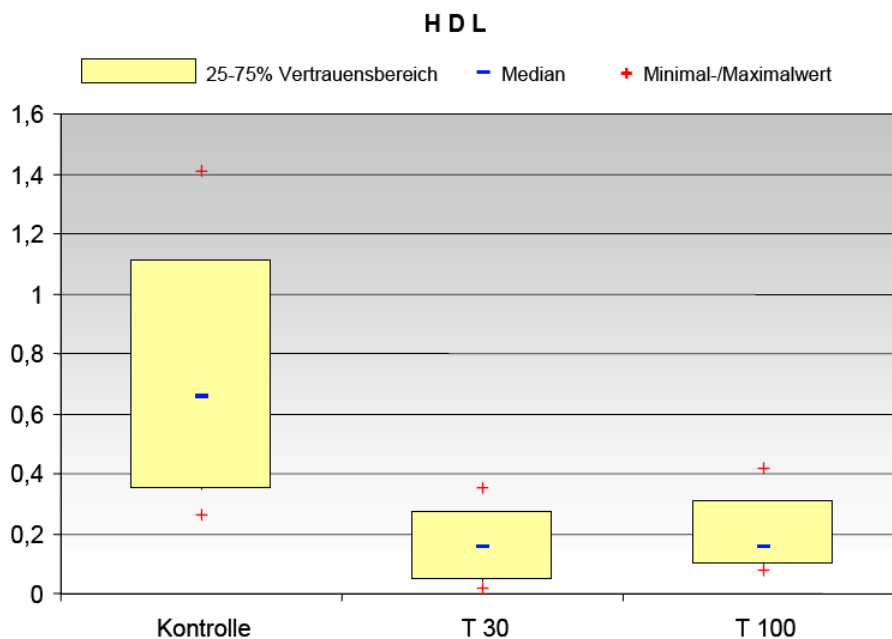


Abbildung 3-94: HDL-Gehalt der Blutproben in mmol/l.

MW±SD (N): Kontrolle: 0,78±0,44 (7); T 30: 0,16±0,14 (8); T 100: 0,20±0,12 (8).

3.4.4.4 Freies Cholesterin

Topiramate erhöhte signifikant im Vergleich zur Kontrolle die Werte an freiem Cholesterin im Plasma (T 30: +290%, $p < 0,01$; T 100: +190%, n.s.). Dieser Effekt war etwas ausgeprägter in der niedrigeren Dosierung (+34% von T 100; n.s.).

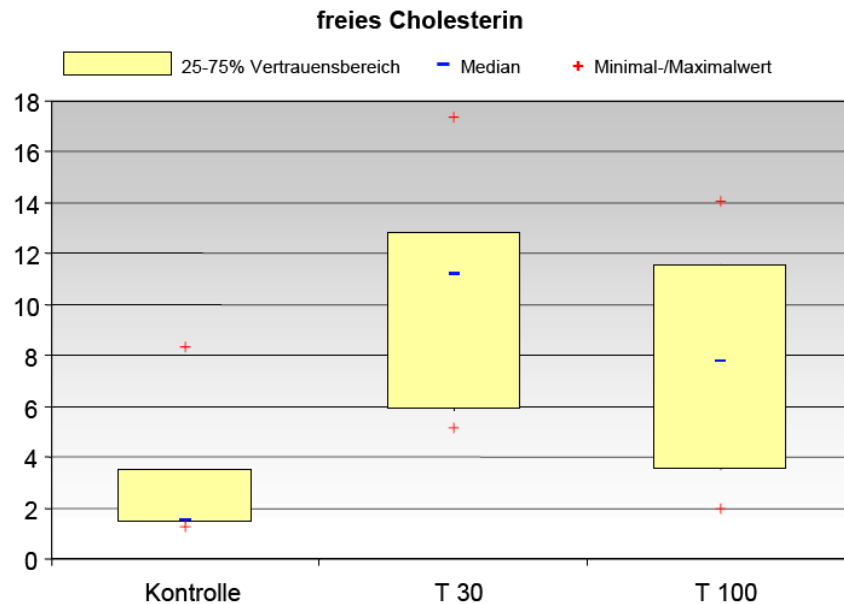


Abbildung 3-95: Gehalt an freiem Cholesterin der Blutproben in mmol/l.

MW±SD (N): Kontrolle: 2,86±2,62 (7); T 30: 10,38±4,22 (8); T 100: 7,73±4,31 (8).

3.4.4.5 Triglyzeride

Die beiden Topiramatedosen steigerten nicht signifikant und nicht dosisabhängig die Triglyzeridwerte im Plasma (T 30: +35%, T 100: +40%).

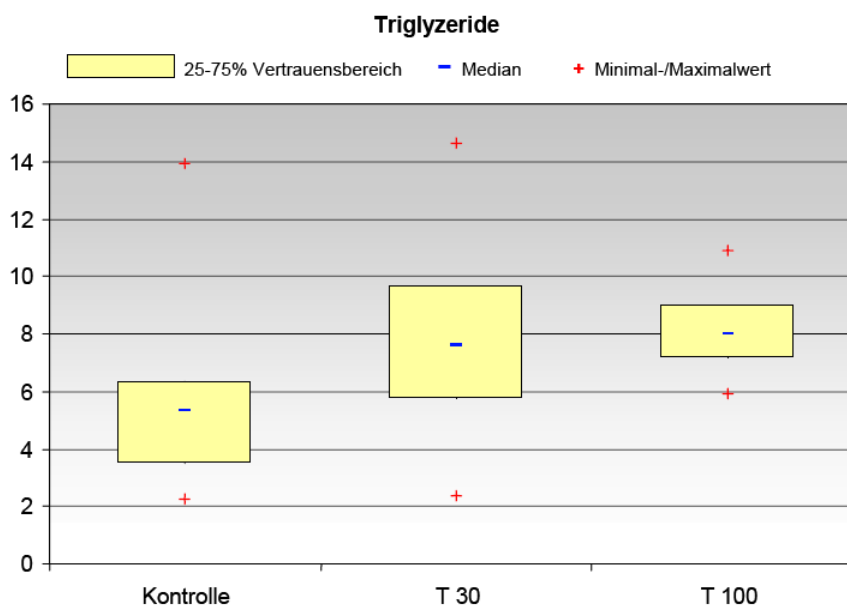


Abbildung 3-96: Triglyzeridgehalt der Blutproben in mmol/l.

MW±SD (N): Kontrolle: 5,78±3,87 (7); T 30: 7,89±3,58 (8); T 100: 8,18±1,48 (8).

3.4.4.6 Nicht-veresterte Fettsäuren

Unabhängig von der Dosis verdoppelte die Topiramatsbehandlung die NEFA-Werte im Plasma: im Vergleich zur Kontrolle (T 30, T100: +127%, $p < 0.01$).

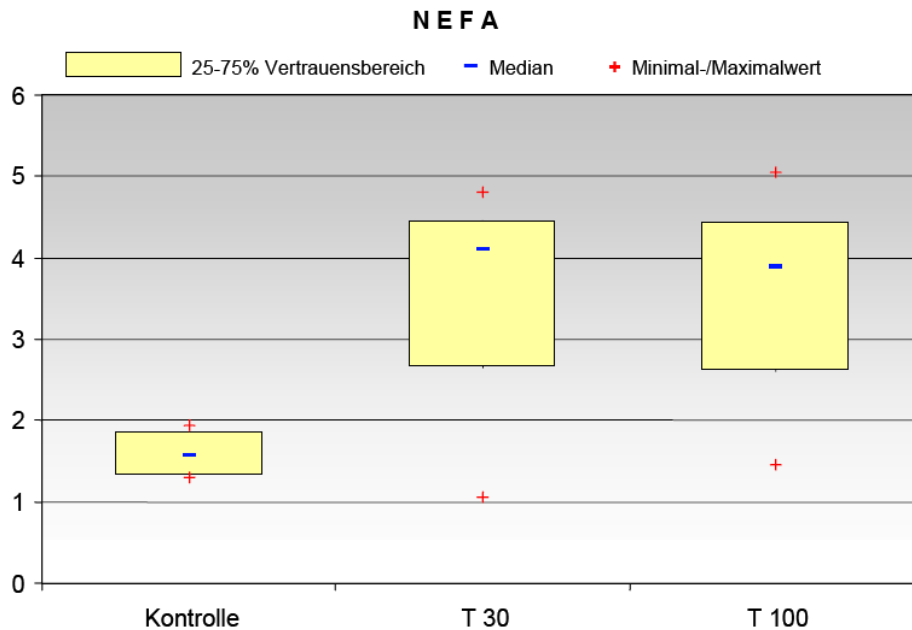


Abbildung 3-97: Gehalt an nicht-veresterten Fettsäuren der Blutproben in mmol/l.

MW±SD (N): Kontrolle: 1,54±0,24 (7); T 30: 3,61±1,29 (8); T 100: 3,61±1,19 (8).

3.4.4.7 Insulin

Die Insulinwerte im Plasma wurden dosisunabhängig von Topiramats leicht gesenkt, jedoch ohne statistische Signifikanz zwischen den Gruppen.

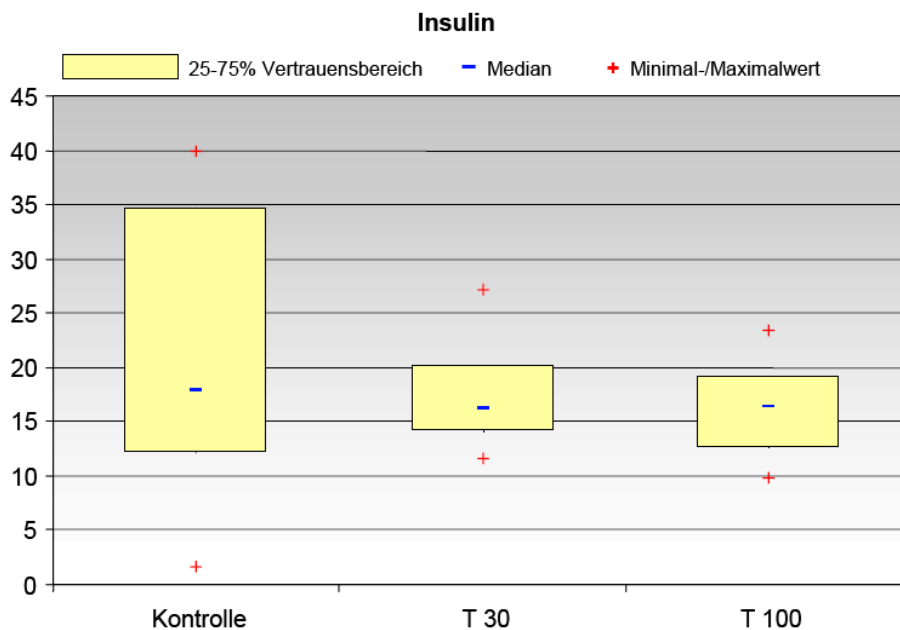


Abbildung 3-98: Insulingehalt der Blutproben in µg/l.

MW±SD (N): Kontrolle: 24,19±11,61 (7); T 30: 17,30±4,91 (8); T 100: 16,31±4,37 (8).

3.4.4.8 Glucose

Die Glucosewerte im Plasma wurden durch Topiramamat nicht beeinflusst.

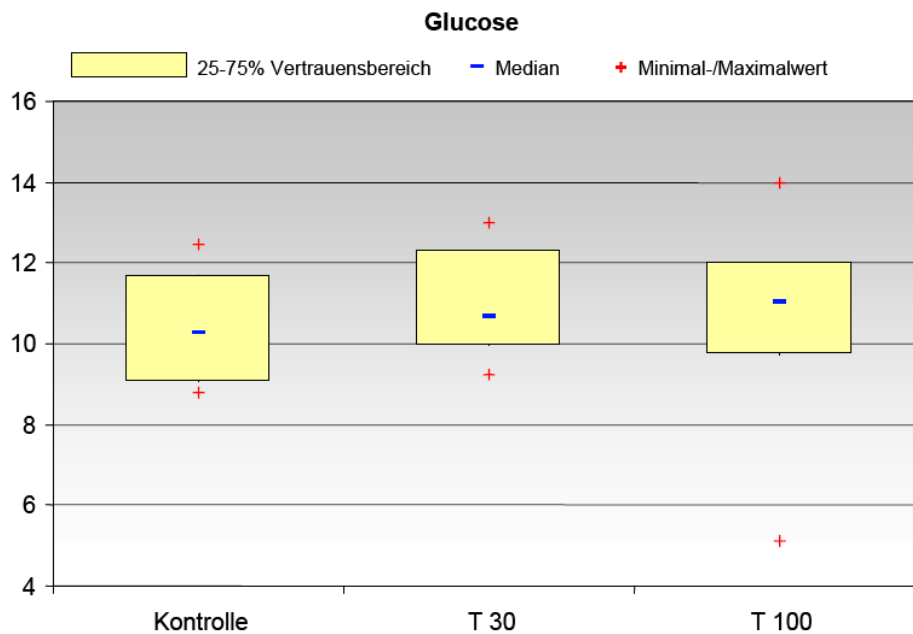


Abbildung 3-99: Glucosegehalt der Blutproben in µg/l.

MW±SD (N): Kontrolle: 10,62±1,32 (7); T 30: 10,97±1,32 (8); T 100: 10,61±2,58 (8).

3.4.4.9 Insulinsensitivität

Auch die QUICKI-Werte wurden durch die Topiramamatbehandlung nicht verändert.

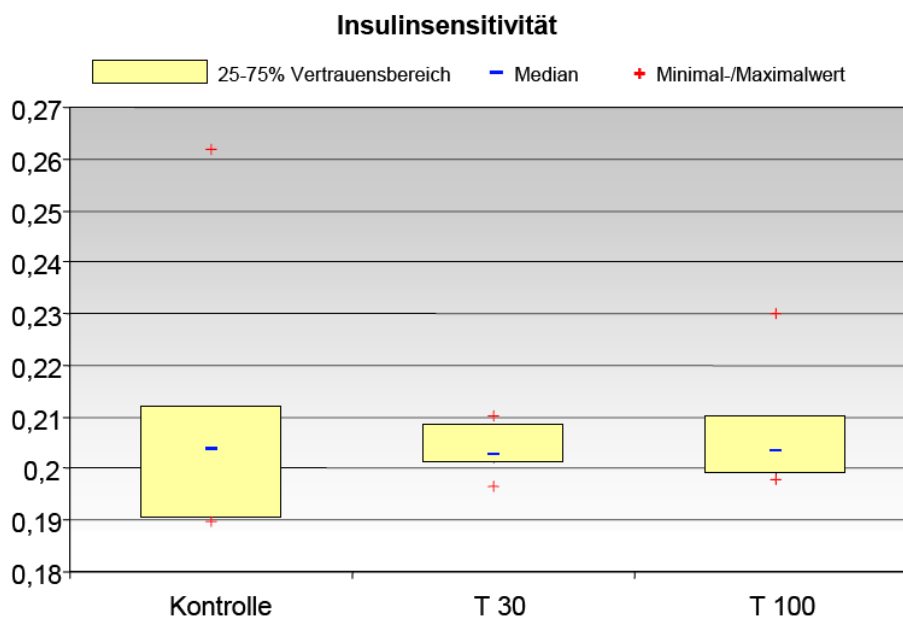


Abbildung 3-100: Insulinsensitivität der Blutproben (QUICKI-Werte).

MW±SD (N): Kontrolle: 0,20±0,01 (7); T 30: 0,20±0,01 (8); T 100: 0,21±0,01 (8).

Tabelle 3-5: Statistische Auswertung der Blutwerte von Versuch 4

Die Auswertung der Blutwerte wurde mit ANOVA und der Bonferroni Korrektur der p-Werte durchgeführt.

	K/T 30	K/T 100	T 30/T 100
Cholesterin	n.s	n.s	n.s
Glucose	n.s	n.s	n.s
HDL	<0,001	<0,01	n.s.
LDL	n.s	n.s.	n.s.
TG	n.s	n.s.	n.s.
freies Cholesterin	<0,01	n.s.	n.s.
NEFA	<0,01	<0,01	n.s.
Insulin	n.s	n.s.	n.s.
Insulinsensitivität	n.s	n.s.	n.s.

n.s. = nicht signifikant

3.4.5 Carcass-Analyse

Die von der Auswertung ausgeschlossene deutlich schlankere Kontrollratte hatte im Vergleich zu den anderen 7 Kontrollratten ($34,4 \pm 0,7\%$ Wasser, $52,6 \pm 1,0\%$ Fett, $10,8 \pm 0,3\%$ Proteine, $1,70 \pm 0,10\%$ Asche) einen nahezu viermal geringeren Fettanteil im Kadaver ($61,4\%$ Wasser, $14,8\%$ Fett, $20,0\%$ Proteine, $3,16\%$ Asche). Der Einfluss von Topiramamat auf Körperfett, -wasser, -proteine und -asche ist in den Tabellen 3-6 und 3-7 und in der Abbildung 3-101 dargestellt.

Entsprechend der zuletzt bestimmten Lebendgewichte an Tag 28 waren auch die Carcassgewichte (Tabelle 3-6A) der Topiramamat-behandelten Ratten signifikant und dosisabhängig um 27,7 bzw. 90,8 g erniedrigt (Tabelle 3-7). Dies geschah in Verbindung mit einer Verminderung des Gesamtkörperfetts um 26,8 bzw. 53,6 g für T 30 und T 100 (Tabellen 3-6 und 3-7), ohne jedoch den prozentualen Fettanteil signifikant zu verändern (Abbildung 3-109).

Die niedrige Topiramamatdosis erzeugte im Vergleich zur Kontrolle eine minimale nicht-signifikante leichte Erhöhung des prozentualen Wasser-, Protein- und Aschegehalts. Die höhere Topiramamatdosis veränderte den prozentualen Wasseranteil nicht, Protein- und Aschegehalte waren minimal erhöht.

Tabelle 3-6: Auswirkungen von Topiramat auf Wasser-, Fett-, Protein- und Aschegehalt der Zuckerrattenkadaver in Versuch 4.**A: Absolute Gewichte (g)**

Gruppe	Wasser (g)		Fett (g)		Proteine (g)		Asche (g)		Carcass-Gewicht (g)		KG an Tag 28 (g)	
	MW	SE	MW	SE	MW	SE	MW	SE	MW	SE	MW	SE
Kontrolle (N=7)	191,2	4,3	292,8	6,1	60,2	1,6	9,42	0,55	556,7	4,1	541,3	16,68
T 30 (N=8)	189,0	4,8	266,0	6,2**	60,0	0,8	9,98	0,50	529,0	8,9**	523,8	1,41
T 100 (N=8)	160,0	4,5***	239,2	2,4***	52,3	0,7***		0,42	465,9	7,6***	476,3	10,76

B: Prozentuale Zusammensetzung der Kadaver

Gruppe	Wasser (%)		Fett (%)		Proteine (%)		Asche (%)		Total (%)
	MW	SE	MW	SE	MW	SE	MW	SE	
Kontrolle (N=7)	34,4	0,7	52,6	1,0	10,8	0,3	1,70	0,10	99,5
T 30 (N=8)	35,7	0,6	50,3	0,8	11,4	0,2	1,89	0,09	99,3
T 100 (N=8)	34,3	0,5	51,3	0,5	11,2	0,1	1,87	0,10	98,7

Dargestellt als Mittelwerte der einzelnen Gruppen (N=7/8, angepasst an das Körpergewicht als Grundlage für die Unterschiede zwischen den Gruppen) und dem Standardfehler (SE). Die statistischen Vergleiche wurden mit ANCOVA (Grundkörpergewicht als Kovariable) dargestellt, gefolgt von einem separaten Williams-Test. Signifikant unterschiedlich zur Kontrolle: * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001; ein Kontrolltier (A2) wurde aus der Analyse ausgeschlossen, da es einen schlanken Phänotyp zeigte.

Tabelle 3-7: Zusammenfassung der Auswirkung von Topiramat auf die Zusammensetzung der Zuckerrattenskadaver in Versuch 4.

A: Unterschiede im mittleren Gewicht der Parameter pro Ratte (g) und die folgende Beteiligung am Gewichtsunterschied (% Total).

Gruppe	Wasser		Fett		Proteine		Asche		Carcass-Gewicht (g)
	(g)	% Total	(g)	% Total	(g)	% Total	(g)	% Total	
Kontrolle (N=7)	0,0		0,0		0,0		0,0		0,0
T 30 (N=8)	-2,2	7,8	-26,8	96,8	-0,2	0,7	0,6	-2,0	-27,7
T 100 (N=8)	-31,1	34,3	-53,6	59,0	-7,9	8,7	-0,7	0,8	-90,8

B: Prozentuale Abnahme der Parameter im Vergleich zur jeweiligen Abnahme im Carcass-Gewicht.

Gruppe	Wasser (%)	Fett (%)	Proteine (%)	Asche (%)	Carcass-Gewicht (%)
Kontrolle (N=7)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T 30 (N=8)	-1,2	-9,2	-0,3	5,9	-5,0
T 100 (N=8)	-16,3	-18,3	-13,1	-7,5	-16,3

Die Ergebnisse von A sind als die absoluten Unterschiede zur Kontrolle in g, und ebenso als zugehörige prozentuale totale Körpergewichtsunterschiede einer jeden Gruppe im Vergleich zur Kontrolle dargestellt. Dieses wurde aus Tabelle 3-6A berechnet. Die Ergebnisse von B zeigen die prozentuale Abnahme eines jeden Parameters und sind zusammen mit der jeweiligen prozentualen Abnahme im Carcass-Gewicht im Vergleich zur Kontrolle dargestellt. Diese Daten wurden aus Tabelle 3-6A berechnet.

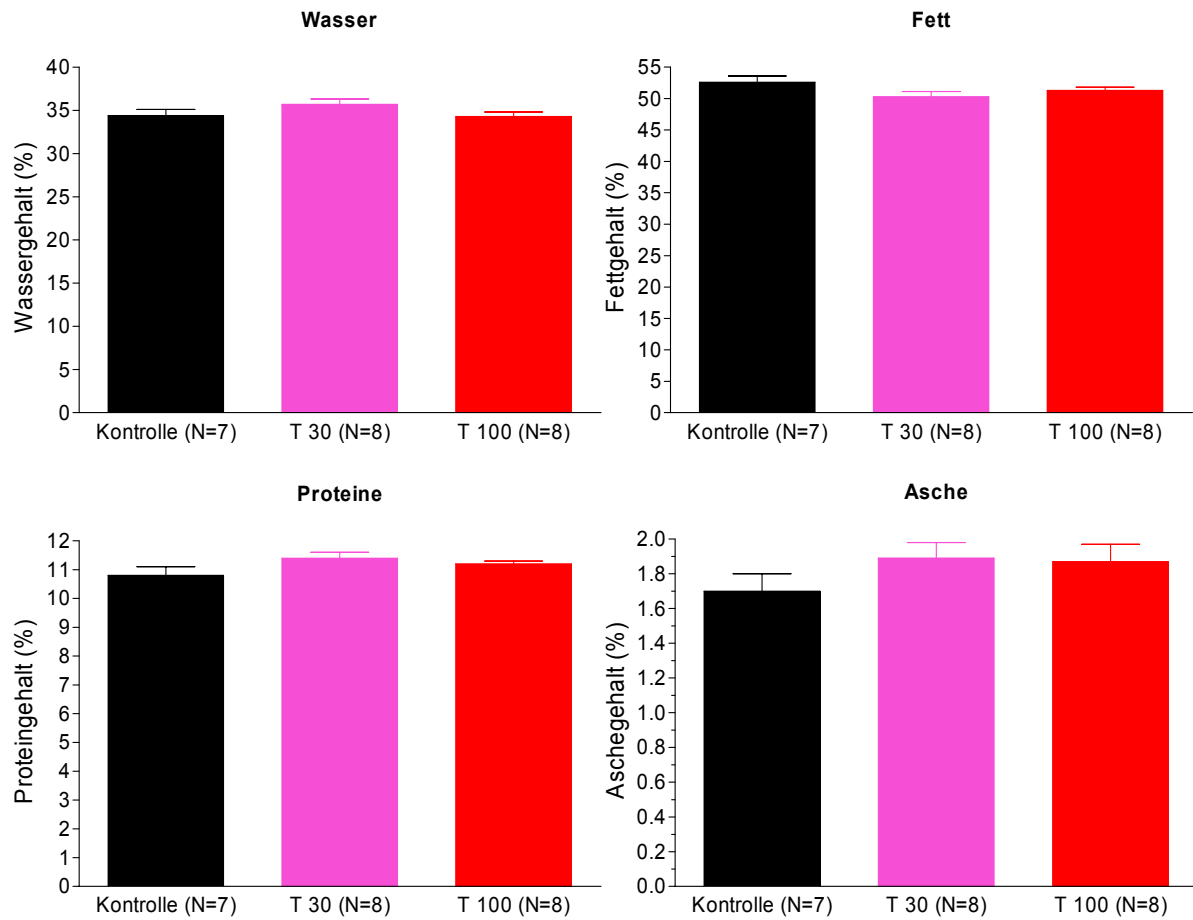


Abbildung 3-101: Effekt von Topiramamat auf die prozentualen Anteile von Wasser, Fett, Protein und Asche in den Kadavern der Zuckerratten von Versuch 4 (MW \pm SE).

4 DISKUSSION

Übergewicht hat in den letzten Jahrzehnten in den Industrieländern epidemischen Charakter erreicht und sich zu einem bedeutenden Gesundheitsproblem entwickelt. Trotz zahlreicher und langjähriger Studien auf diesem Gebiet ist bis heute noch kein sicheres und gleichzeitig wirksames Medikament zur effektiven Behandlung von Übergewicht auf dem Markt. Diese Arbeit beschäftigte sich mit der Entwicklung neuer Arzneimittel zur Behandlung von Adipositas in verschiedenen Fettsuchtmodellen an Ratten.

4.1 Versuch 1: Untersuchung von SLV319 und Orlistat einzeln und in Kombination an Wistarratten

Versuch 1 untersuchte an männlichen Wistarratten eine mögliche Wirkungsverstärkung des selektiven CB₁-Rezeptorantagonisten SLV319 durch Kombination mit Orlistat (Xenical[®]), einem schon im Handel befindlichen Hemmer der gastrointestinalen Lipasen. SLV319 wurde erstmals 2004 von Lange et al. [166] beschrieben und zeigte dort nach oraler Verabreichung eine potente *in vivo* Aktivität mit hoher Spezifität für den CB₁-Rezeptor (bis zu 1000 fach stärker im Vergleich zum CB₂-Rezeptor).

SLV319 wurde per Schlundsonde in zwei Dosierungen, 3 und 10 mg/kg KG, am Morgen verabreicht, Orlistat (50 mg/kg) morgens und abends. Die Fütterung der Ratten wurden auf je 2,5 Stunden nach der Schlündelung von Orlistat begrenzt.

Der Körpergewichtszuwachs war in allen Gruppen im Vergleich zur Kontrolle erniedrigt (Abbildung 3-3). Dabei erwies sich die höhere Dosis von SLV319 sowohl alleine wie auch in Kombination mit Orlistat als weniger wirksam als die niedrigere SLV319-Dosis. Die Kombination der geringeren Dosierung von SLV319 zusammen mit Orlistat führte zum stärksten Gewichtsverlust in allen Gruppen im Vergleich zur Kontrolle. Obwohl der Unterschied zur alleinigen Orlistat-Therapie im Verlauf der gesamten Studie keine Signifikanz zeigte, lässt sich doch eine konstante Tendenz der Wirkungsverstärkung der Kombinationstherapie erkennen und eine positive Interaktion auf die Gewichtsabnahme zwischen dem systemischen Effekt von SLV319 und der peripheren Lipasehemmung durch Orlistat vermuten.

Die paradoxe Wirkung von SLV319 auf das Körpergewicht war nicht auf ein versehentliches Verwechseln der beiden Dosierungen zurückzuführen. Dies konnte durch chemische Analyse der Schlündellösungen ausgeschlossen werden. Allerdings erreichte der Unterschied zwischen den beiden Dosierungen von SLV319 weder alleine noch in Kombination mit Orlistat statistische Signifikanz. Es könnte deshalb in der vorliegenden Studie die Maximalwirkung von

SLV319 auf das Körpergewicht bereits bei einer Dosierung von 3 mg/kg KG erreicht worden sein, die sich durch eine Dosiserhöhung auf 10 mg/kg KG nicht mehr verstärken ließ.

SLV319 hemmte die Futteraufnahme und Orlistat erhöhte sie (Abbildung 3-8). Der überraschend geringere Effekt der höheren SLV319-Dosis auf das Körpergewicht spiegelt sich zum Teil in der Futteraufnahme wider, denn auch der hypophagische Effekt von SLV319 war in der niedrigeren Dosierung von 3 mg/kg KG in der ersten, zweiten und vierten Woche etwas stärker ausgeprägt. Relativ zur Körpergewichtsentwicklung waren jedoch die Auswirkungen von SLV319 auf die Futteraufnahme nur vorübergehender Natur. Generell war der Effekt von SLV319 auf den Futterverzehr schon in der ersten Woche schwächer ausgeprägt als in vorausgehenden Studien der Fa. Solvay (Antel und Gregory, persönliche Mitteilung), möglicherweise erklärbar durch das strenge Fütterungsprotokoll – Beschränkung auf zweimal 2,5 Stunden pro Tag. Trotz des schwindenden Effekts auf die Appetitsuppression führte die SLV319-Behandlung zu einer signifikanten und nachhaltigen Verminderung des Körpergewichts, ein erwünschtes Therapieziel in der Behandlung humaner Adipositas. Im Gegensatz dazu versuchten die mit Orlistat behandelten Tiere die verschlechterte Verdaubarkeit der Nahrung durch erhöhte Futteraufnahme zu kompensieren, ohne die erwünschte Gewichtsabnahme verhindern zu können. Dies kann als Versuch der Tiere erklärt werden, einem Energiedefizit durch die verminderte Lipidresorption aus der fettreichen Diät entgegenzuwirken.

Die Wasseraufnahme veränderte sich parallel zur Futteraufnahme mit Ausnahme der Tiere der höheren Dosierung von SLV319, die trotz eines geringeren Futterverzehrs geringfügig mehr tranken als die Kontrollen. In Relation zum Körpergewicht gesetzt, verminderte SLV319 in der niedrigeren Dosierung die Wasseraufnahme pro kg/KG, und steigerte sie in der höheren Dosierung, auch wenn sich statistisch kein Unterschied ergab (Abbildung 3-17). Gegen einen möglichen diuretischen Effekt der höheren SLV319 spricht aber das Ergebnis der Carcass-Analysen, die bei beiden Dosierungen von SLV319 mit und ohne gleichzeitige Orlistatgabe die gleiche leichte Erhöhung des Wasseranteils der Kadaver ergab (Abbildung 3-28). So ergibt, dass sich das Trinkverhalten nicht nur begleitend zum Fressen ändert, sondern auch von Änderungen im Energieverbrauch abhängt. Die gesteigerte Wasseraufnahme durch Orlistat könnte nicht nur auf die erhöhte Futteraufnahme zurückzuführen sein, sondern auch einen Versuch darstellen, den durch Orlistat induzierten erhöhten fäkalen Wasserverlust zu kompensieren.

In der Carcassanalyse ergaben sich aufgrund der geringeren Kadavergewichte auch bei allen Gruppen erniedrigte Gewichte von Wasser, Fett, Protein und Asche (Tabelle 3-2). Wie beim

Wasseranteil am Gesamtgewicht wurden auch signifikante Erhöhungen der Proteinanteile und in der Tendenz auch der prozentualen Aschegehalte beobachtet (Abbildung 3-28). Im Gegensatz dazu nahm bei allen behandelten Ratten nicht nur das gesamte Fettgewicht signifikant ab, sondern auch der prozentuale Anteil des Fetts am Körpergewicht. Der Fettverlust trug etwa gleich stark zur reduzierten Gewichtszunahme der Ratten bei wie das Körperwasser, obwohl der Fettanteil bei den Kontrollen nur 25% der Körpermasse ausmachte. Die hohe Dosis von SLV319 zeigte auf das Fett die stärksten Wirkung: 51,4% des Gewichtsunterschiedes zur Kontrolle ging hier auf Konto des Fettgewichts und nur 36,9% auf das Wasser. Der primäre Effekt beider Testsubstanzen war demnach ein Fettverlust, der bei SLV319 sogar noch stärker ausgeprägt war als bei Orlistat. Daraus kann geschlossen werden, dass SLV319 direkt den Lipidstoffwechsel beeinflusst. Der Versuch zeigt somit die Überlegenheit von SLV319 gegenüber Orlistat, den gewünschten Fettverlust herbeizuführen. Cota et al. [102] zeigten in einer Studie mit $CB_1^{-/-}$ knockout Mäusen, dass diese im Gegensatz zum $CB_1^{+/+}$ Wildtyp eine signifikante Erniedrigung im Körperfett aufwiesen. Zur Erklärung der Ergebnisse im Zusammenhang mit Rimonabant sind einige Hypothesen veröffentlicht worden, z.B. der Einfluss von CB_1 -Inhibitoren auf die Thermogenese, die LPL-Aktivität, den Leptin- oder Adiponectin-Stoffwechsel (s. Versuch 3) [88,100,103,167].

Orlistat erhöhte die Glucose-Werte im Serum, jedoch ohne statistische Signifikanz zur Kontrolle. Ein Effekt, der sich durch eine hepatische Kompensation der außergewöhnlich langen Nüchternperiode von 17 Stunden erklären lassen könnte. Inzwischen sind zahlreiche klinische Studien an übergewichtigen Patienten mit oder ohne Begleiterkrankungen wie Hypercholesterinämie, Diabetes oder Bluthochdruck veröffentlicht worden, in denen gezeigt wurde, dass Orlistat positiv auf die Blutfettwerte wirkt und die Nüchternglucosewerte verbessert [42,70,71,168-170]. In diesen Studien war der Grad an Adipositas grundsätzlich stark ausgeprägt. So ließe sich die unerwartet niedrige Insulinsensitivität der nur gering übergewichtigen Ratten in unserer Studie erklären.

SLV319 erniedrigte die Insulinwerte ohne die Nüchtern-Glucosewerte signifikant im Serum zu ändern. Somit wurde die Insulinsensitivität verbessert, auch wenn sich dies nur in der höheren Dosierung statistisch signifikant zeigte. Da die Insulinsensitivität negativ mit Adipositas assoziiert ist [171], könnte der Körpergewichtsverlust teilweise zur Verbesserung der Glucosehomöostase beigetragen haben. Die Tatsache, dass die niedrigere SLV319-Dosis zu einem größeren Gewichtsverlust, aber zu einer geringeren Verbesserung der Insulinsensitivität führte als die höhere Dosierung, deutet mit hoher Wahrscheinlichkeit auf einen direkten Einfluss von SLV319 auf Insulin und Insulinsensitivität hin.

In unserem Versuch erniedrigte sowohl SLV319 als auch die Einzeltherapie mit Orlistat signifikant die NEFA-Werte, möglicherweise aufgrund der erhöhten β -Oxidation sein, welche für Nager beschrieben worden ist, die mit einer fettreichen Diät gefüttert wurden [172]. In den mit SLV319 behandelten Gruppen ergab sich außerdem eine Erniedrigung des Gesamtcholesterins und der Triglyzeride, wie auch eine Verbesserung der HDL-Werte. Diese Veränderungen könnten teilweise durch den Gewichtsverlust erklärt werden, lassen aber auch einen direkten Einfluss auf den Fettstoffwechsel vermuten. Sie sind therapeutisch relevant, weil die Hypercholesterinämie einen unabhängigen Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen darstellt. Ähnliche Auswirkungen auf die Blutwerte von Nagern wurden in zahlreichen anderen Studien gezeigt, die mit Rimonabant, einem sich schon im Handel befindlichen CB_1 -Antagonisten, durchgeführt wurden [88,95,101]. Need et al. [173] zeigten in einer Vergleichsstudie, dass SLV319 eine geringere Affinität zu CB_1 -Rezeptoren im Gehirn hat als Rimonabant. Jedoch war die Auswirkung auf die Futteraufnahme äquivalent zu der von Rimonabant und es wird vermutet, dass SLV319 eine stärkere Wirkung auf die peripheren CB_1 -Rezeptoren haben könnte.

Zwei Ergebnisse dieses Versuchs zeigen eindeutig, dass SLV319 nicht nur anorektische Eigenschaften besitzt. Erstens bewirkte SLV319 alleine nur eine relativ schwache, nicht signifikante Erniedrigung des Futtermittelsverzehrs und hatte in Verbindung mit Orlistat überhaupt keinen zusätzlichen Effekt, verminderte aber stark und signifikant im Vergleich zur Kontrolle das Körpergewicht der Tiere. Zweitens bewirkte SLV319 eine Verminderung des Fettanteils und nicht des Proteinanteils der Kadaver, was auf eine eher spezifische Auswirkung auf den Lipidstoffwechsel hindeutet, die nicht durch eine verringerte Futteraufnahme alleine erklärt werden kann. Somit ergeben sich immer mehr Hinweise darauf, dass SLV319 eine wichtige Rolle in der Appetitregulation und im Fettstoffwechsel spielt, und ein gewichtiges Potenzial als neues Therapiekonzept in der Behandlung humaner Adipositas haben könnte.

4.2 Versuch 2: Untersuchung von SLV335 und Topiramaten an Wistar-ratten

Der Tierversuch an weiblichen Wistar-ratten diente zur Demonstration eines möglichen Einflusses von SLV335 auf den Energiehaushalt. SLV335 ist ein neuer Carboanhydrasehemmer und wurde hier im Vergleich zu Topiramaten untersucht. Es kamen drei Dosierungen zum Einsatz, 30, 60 und 100 mg/kg KG, die zu je einem Drittel am Morgen und zu zwei Drittel am Abend geschlündelt wurden.

Die vorliegende Studie zeigt dosisabhängige und anhaltende Wirkungen der Testsubstanzen auf die Körpergewichtszunahme über die gesamte Behandlungszeit. Das Gewicht der Tiere blieb nach der höchsten Topiramatdosierung ($T_{100} > T_{60} = T_{30}$) und den beiden höchsten Dosierungen von SLV335 (100 mg und 60 mg) signifikant hinter dem der Kontrollen zurück. Bei der höchsten Dosis von SLV335 kann die Gewichtszunahme praktisch vollständig zum Erliegen.

Seit der Entdeckung des gewichtsreduzierenden Effekts des Topiramats wird nach dem ursächlichen Mechanismus gesucht. Bereits Picard et al. [135,137] vermuteten in ihren Versuchen an verschiedenen Labornagern zusätzlich zur nur mäßigen Appetitverminderung einen Einfluss auf den Energiehaushalt, da die Tiere zwar immer an den ersten 2 Tagen einen akuten Einbruch im Freßverhalten zeigten, danach jedoch trotz Normalisierung der Futteraufnahme stets im Vergleich zur Kontrolle an Gewicht verloren haben. Dies könnte durch die Eigenschaft von Topiramat bewirkt werden, die Lipoproteinlipase im braunen Fettgewebe und im Skelettmuskel zu stimulieren. Eine Erhöhung der LPL-Aktivität im braunen Fettgewebe von Ratten wurde mit einer Steigerung der Thermogenese in Verbindung gebracht [174], d.h. mit Hilfe der Oxidation von Fettsäuren Wärme zu erzeugen. Außerdem wurde gezeigt, dass die LPL-Aktivität positiv mit der Effizienz der β -Oxidation im Muskelgewebe assoziiert ist [175]. Diese Effekte wären protektiv gegenüber der Entwicklung einer Adipositas und müssen noch ausführlicher im Zusammenhang mit SLV335 untersucht werden.

Die Futteraufnahme war unter Topiramat- und SLV335-Behandlung vermindert, wenn auch weniger ausgeprägt als die Körpergewichtszunahme. Dabei zeigte SLV335 eine stärkere und länger anhaltende Verminderung der Futteraufnahme und des Körpergewichts bei den Wistar-ratten als Topiramat, das bis heute das am stärksten bei Menschen gewichtsreduzierende Arzneimittel auf dem Markt ist [132-134,142]. Die Mechanismen durch die Topiramat eben diesen Effekt bewirken könnte, sollten hier näher untersucht werden. Die Blockade von Natriumkanälen [117-121], die Modulation von Calciumkanälen [122], die Erhöhung der GABA-Aktivität [123], die Antagonisierung von Glutamat [124,125] und die Aktivierung der Kaliumleitfähigkeit [126] scheinen für die antiepileptische Wirkung des Topiramats verantwortlich zu sein, jedoch kaum im Zusammenhang mit Appetit oder Gewichtsverlust zu stehen. Im Gegensatz dazu könnte die Hemmung des Untertyps V der Carboanhydrase für die Gewichtsreduktion relevant sein [127,176]. Verschiedene Studienergebnisse mit CA-Inhibitoren zeigten eine mögliche Rolle der Carboanhydrase im Stoffwechsel der Adipocyten und in der hepatischen *de novo* Lipogenese. Man vermutet eine Bereitstellung von Bicarbonat durch die Carboanhydrase im Adipozyten als Substrat für die Pyruvat-Carboxylase im Rahmen der

Gluconeogenese, welche wiederum überschüssiges Citrat für die Fettsäuresynthese bereitstellen könnte (Abbildung 4-1) [153,156,157]. Tatsächlich führte eine CA-Inhibition durch Sulfonamide zu einer verminderten Lipogenese in kultivierten Adipozyten [127]. Ob der beschriebene Gewichtsverlust durch diesen Mechanismus oder gar auf molekularer Ebene stattfindet, bleibt jedoch vorerst im Unklaren [177].

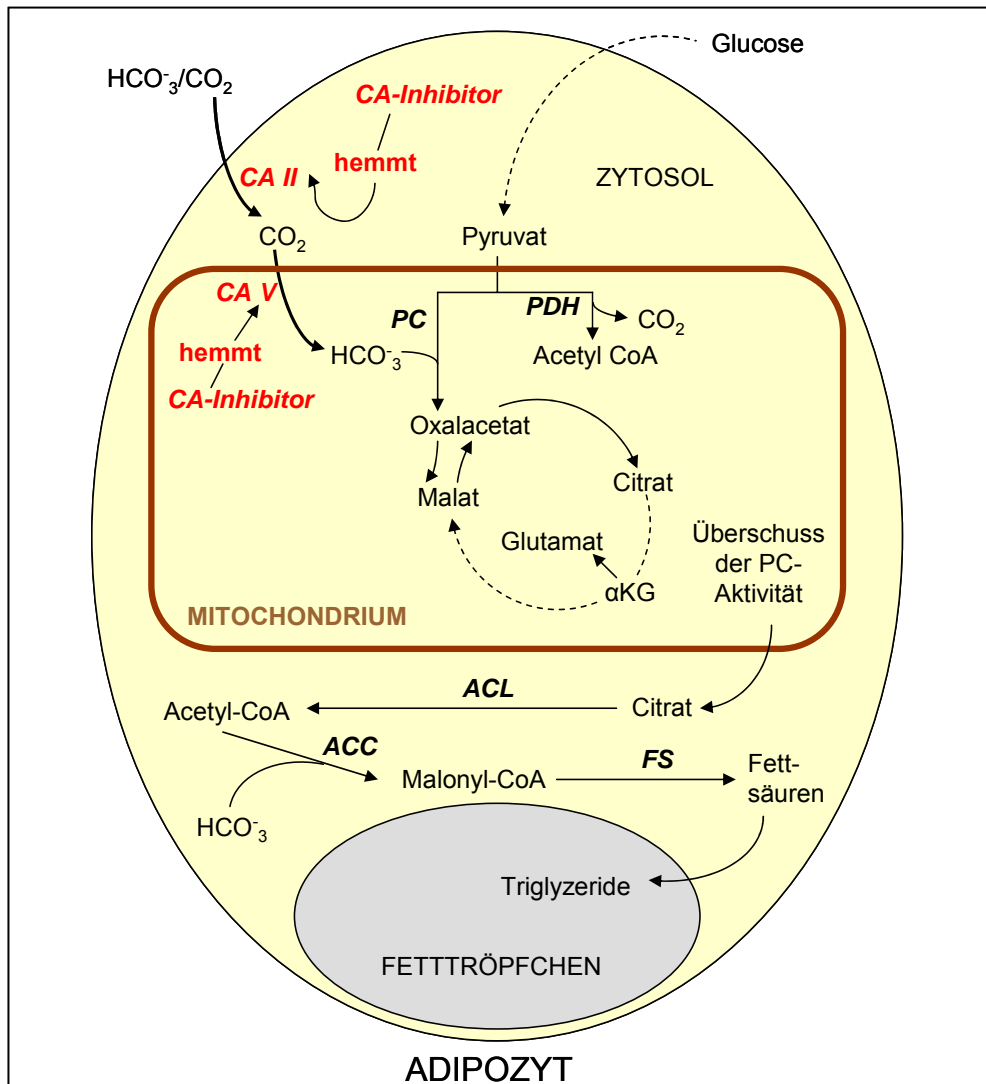


Abbildung 4-1: Mögliche Rolle von Carboanhydrasehemmern in der de novo Lipogenese [153].

FS=Fettsäuresynthetase; ACC=Acetyl-CoA-Carboxylase; ACL=ATP Citrat-Lyase; PC=Pyruvat-Carboxylase; PDH=Pyruvat-Dehydrogenase; CA=Carboanhydrase

Topiramat erhöhte die Wasseraufnahme in allen Gruppen signifikant, aber nicht dosisabhängig. Dies wurde auch in Versuch 4 und in vorherigen Studien in unserer Abteilung beobachtet.¹ Im Gegensatz dazu zeigte SLV335 einen geringer stimulierenden Effekt auf die Was-

¹ Löw, Bonfert und Walker, -Dissertationen in Vorbereitung

seraufnahme bei gleichzeitig geringerem Futterverzehr. Obwohl auch spezifische CA-Hemmer noch eine Restaktivität am proximalen Tubulus der Niere haben können, ist die diuretische Wirkung von Topiramamat und SLV335 vermutlich von untergeordneter Bedeutung. In einem vergleichenden Versuch zeigte Topiramamat nicht die entwässernde Wirkung wie die klassischen Diuretika Furosemid und Hydrochlorothiazid.² Auch in Versuch 4 wurde der prozentuale Anteil des Wassers am Kadavergewicht durch Topiramamat nicht verringert (siehe Kapitel 4.2).

Weder Topiramamat noch SLV335 änderten statistisch signifikant die verschiedenen Blutparameter im Vergleich zur Kontrolle. Dies ließe sich durch die lange Nüchternperiode von 14 Stunden erklären lassen oder durch die Methode der statistischen Auswertung, die Paar-Vergleiche nicht zulässt. Trotzdem waren tendenziell deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen erkennbar. Topiramamat zeigte nur geringe Auswirkungen auf die meisten Parameter, erhöhte aber das freie und das Gesamtcholesterin im Blut. Im Gegensatz dazu beeinflusste SLV335 die Blutwerte wesentlich stärker, erniedrigte die Triglyzeride im Plasma, die NEFA-Werte und das Gesamtcholesterin. Außerdem verminderte es in der höchsten Dosierung das freie Cholesterin und verminderte leicht die Glucose-Werte. Diese Erniedrigungen an freiem und Gesamtcholesterin und an Triglyzeriden im Plasma könnten therapeutische Relevanz haben angesichts der Tatsache, dass die Hypercholesterinämie einen unabhängigen Risikofaktor für kardiovaskuläre Krankheiten darstellt.

SLV335 ist ein Carboanhydrasehemmer mit einem starken und anhaltenden gewichtsreduzierenden Effekt, der das Körpergewicht der Ratten in der vorliegenden Studie stärker beeinflusste als Topiramamat. Somit bestärken diese Ergebnisse die Hypothese, dass die Hemmung spezifischer Carboanhydrasen ein Mechanismus für Gewichtsverlust sein könnte. SLV335 könnte somit ein therapeutisches Potenzial in der Behandlung der Adipositas besitzen.

4.3 Versuch 3: Untersuchung von SLV330 und Rimonabant an Wistar-ratten

Versuch 3 untersuchte an männlichen Wistarratten mit SLV330 die Auswirkungen eines neuen CB₁-Antagonisten im Vergleich zu dem bereits im Handel befindlichen Rimonabant (Acomplia[®]). Die Substanzen wurden in zwei Dosierungen, 3 und 10 mg/kg KG, intraperitoneal verabreicht, um eventuelle Unterschiede in der Bioverfügbarkeit beider Medikamente

² Walker, Dissertation in Vorbereitung

auszuschließen. Am Versuchsende wurden verschiedene Blutparameter einschließlich Glucose und Insulin bis zu 8 Stunden nach der letzten Behandlung bestimmt.

Wie bereits von zahlreichen vorherigen Studien berichtet, erniedrigte Rimonabant auch in unserem Versuch die Futterraufnahme und das Körpergewicht signifikant im Vergleich zur Kontrolle [92-97]. Gleiches zeigte sich für SLV330, welches jedoch nur in der höheren Dosis Signifikanz zur Kontrolle erreichte. Obwohl die Behandlung mit beiden Substanzen im Verlauf des Versuchs zu einer Toleranzentwicklung gegenüber der anfänglichen Hypophagie führte, wirkten die Medikamente dennoch anhaltend negativ auf die Körpergewichtsentwicklung. Die deutlich geringeren Gewichtszunahmen der Tiere können deshalb nur teilweise auf einen Appetitverlust zurückgeführt werden. Die verminderte Futterraufnahme zu Beginn der Behandlung mag zwar einen auslösenden Faktor für den Gewichtsverlust dargestellt haben, ist aber wahrscheinlich nicht der einzige Mechanismus der den gewichtsreduzierenden Effekt der getesteten Medikamente erklärt. Da sich CB₁-Rezeptoren nicht nur im Gehirn, sondern auch in peripheren Geweben befinden, wird dem Endocannabinoidsystem neben dem zentral gesteuerten appetitzügelnden Effekt außerdem auch ein Einfluss auf den Energiehaushalt durch seine peripheren Rezeptoren im Gastrointestinaltrakt [178], Fettgewebe [88,102,167] und in den Muskeln [100] zugeordnet. So konnten Bensaid et al. 2003 zeigen, dass Rimonabant die Expression von Acrp 30 (Adiponectin) mRNA im Fettgewebe von adipösen *fa/fa* Ratten stimuliert [88].

Adiponectin ist ein Peptidhormon welches ausschließlich von Fettzellen freigesetzt wird [179] und zusammen mit Leptin und Insulin das Hungergefühl und die Nahrungsaufnahme reguliert. Niedrige Adiponectin-Spiegel sind mit Insulinresistenz und der Pathogenese eines Diabetes Typ II assoziiert [180,181]. Übergewichtige weisen regelmäßig einen erniedrigten Adiponectin-Spiegel auf, der sich bei Gewichtsreduktion wieder erhöht. Möglicherweise beeinflusst das Adiponectin außerdem direkt die Insulinsensitivität und/oder die Insulinspiegel im Blut [182]. Wahrscheinlich geschieht dies über eine Bindung an die von Yamauchi et al [183] entdeckten Oberflächenrezeptoren für Adiponectin in Leber und Skelettmuskel (AdipoR1 und AdipoR2) mit nachfolgender Steigerung der Fettsäureoxidation durch Aktivierung der AMP-Kinase und des PPAR-alpha (peroxisome proliferator-activated receptor).

Zusätzlich konnte indirekt eine Aktivierung der Thermogenese und somit der Fettsäureoxidation in Lep^{ob}/ Lep^{ob} Mäusen gezeigt werden, die eine signifikante Steigerung von 37% im basalen Sauerstoffverbrauch nach 7-tägiger Behandlung mit Rimonabant aufwiesen [100].

Neue Erkenntnisse zum Zusammenspiel von Leptin und dem Endocannabinoidsystem eröffnen weitere Aspekte in Bezug auf das Verständnis des komplexen Systems des Energiehaushaltes. So wurde zuerst eine leptingesteuerte Downregulation der endogenen Cannabinoide Anandamid und 2-AG im Hypothalamus gezeigt, wodurch einer Hyperphagie entgegengewirkt werden konnte [104]. Anschließend wurde bei $CB_1^{-/-}$ knockout Mäusen durch spontan verminderte Futtermittelaufnahme eine geringere Körpergewichtszunahme und außerdem eine erhöhte Leptinempfindlichkeit gesehen [103].

Leptin (griech.: leptos = dünn) ist ein Proteohormon, welches durch das obese-Gen kodiert wird [184]. Es wird von Adipozyten sezerniert und reguliert die Nahrungsaufnahme durch Freisetzung appetitzügelnder Neuropeptide wie POMC (Proopiomelanocortin) oder CART (cocaine-amphetamine-regulated transcript), und durch Hemmung appetitsteigernder Peptide wie zum Beispiel Neuropeptid Y (Abbildung 4-2).

All diese genannten Mechanismen könnten für die beobachtete Körpergewichtsabnahme und metabolischen Veränderungen bei Nagern und auch beim Menschen verantwortlich sein.

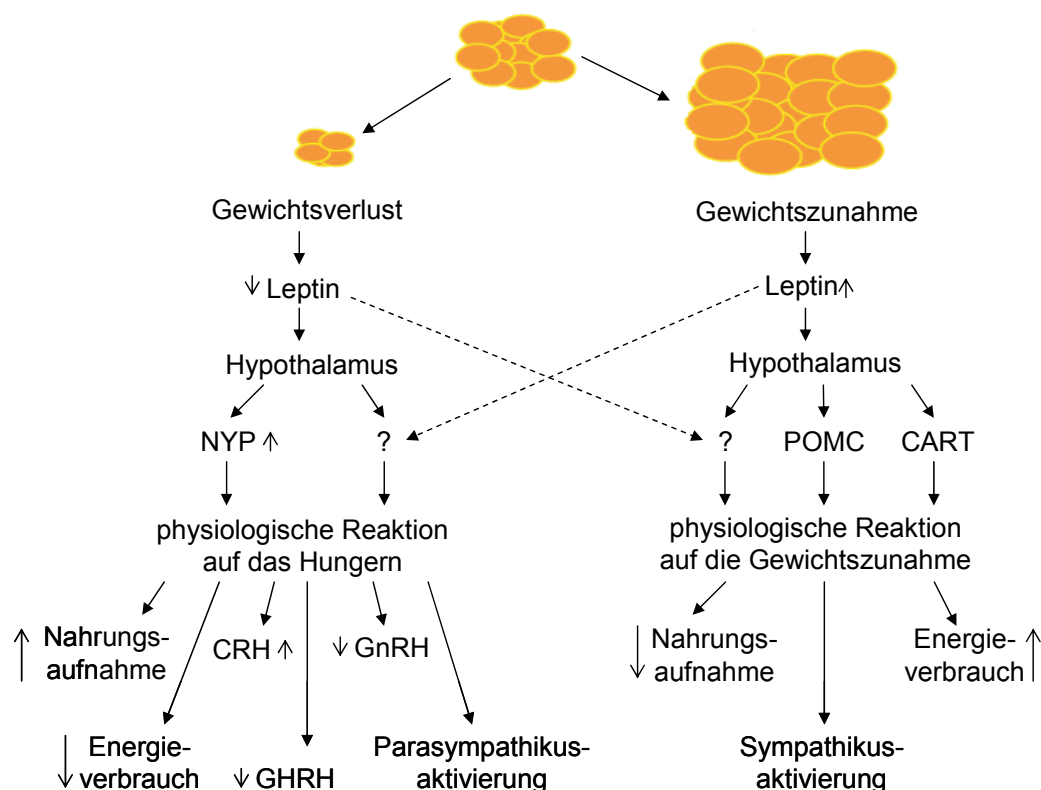


Abbildung 4-2: Physiologischer Regelkreis im Leptinstoffwechsel zur Aufrechterhaltung der Masse der Fettdepots im menschlichen Körper [185].

POMC=Proopiomelanocortin; CART=Cocaine-Amphetamine-Regulated Transcript; NYP=Neuropeptid Y; CRH=Corticotropin-Releasing-Hormone; GHRH=Growth-Hormon-Releasing-Hormone; GnRH=Gonadotropin-Releasing-Hormone;

Die Wasseraufnahme war in allen Gruppen verringert, was jedoch weitgehend durch die verminderte Futtermittelaufnahme zu erklären ist. Auch hier konnte eine Toleranzentwicklung während des Versuchs beobachtet werden, wenn auch geringer als bei der Futtermittelaufnahme. Gleiche Ergebnisse zum Trinkverhalten berichtete Vickers et al. [96]. Die Autoren kommen jedoch zu dem Schluss, dass die reduzierte Wasseraufnahme nicht vollkommen auf dem verminderten Futterverzehr beruht, da die mit Rimonabant behandelten Tiere auch im Vergleich zu ihrer paargefütterten Gruppe immer noch weniger tranken.

In unserem Versuch sollten durch mehrere Blutabnahmen über einen Zeitraum von 10 Stunden hinweg tiefere Einblicke in die Veränderungen der Blutwerte durch SLV330 und Rimonabant gewonnen und der Wirkmechanismus der beiden Substanzen verglichen werden.

Sowohl SLV330 als auch Rimonabant erniedrigten die Triglyzeride, NEFA und das freie Cholesterin im Serum, aber nur die hohe Dosis von Rimonabant hatte auch einen positiven Effekt auf das HDL. Über den Zeitraum von 10 Stunden konnte außerdem ein Anstieg der Serumglucose beobachtet werden. Dies könnte durch eine hepatische Kompensation der langen Nüchternperiode erklärt werden, aber auch durch einen eventuellen Einfluss der Blutabnahme als Stressfaktor.

Die Auswirkungen auf die Glucosewerte spiegelten sich auch in den Insulinwerten wider, die durch die medikamentöse Behandlung über den gesamten Zeitraum anstiegen. Letztendlich bewirkten aber nur die SLV330-3 und die R-10 Gruppen einen nicht signifikanten Abfall der Werte im Vergleich zur Kontrolle.

Die Insulinsensitivität wurde durch SLV330 nicht beeinflusst. Nur die hohe Rimonabandtdosis verbesserte die QUICKI-Werte im Vergleich zur Kontrolle, allerdings ohne statistische Signifikanz zu erreichen. Diese Ergebnisse stimmen nur wenig mit vorhergehenden Studien überein, in welchen sowohl bei Nagern, als auch in klinischen Studien über eine Verminderung der Insulinwerte und eine Verbesserung der Insulinsensitivität durch Rimonabant berichtet wurde [88,95,101,109,110]. Poirier et al. [101] zeigte in einem DIO (diet induced obesity)-Modell mit Mäusen eine signifikante Verminderung der Insulin-, Glucose- und LDL-Werte und außerdem der Triglyzeride. Als Erklärung dafür könnte nicht nur der induzierte Gewichtsverlust gelten, da auch die Adiponectin-Spiegel positiv beeinflusst wurden. In einer anderen Studie konnte eine erhöhte Glucoseaufnahme durch Rimonabant im Musculus soleus von adipösen Mäusen gezeigt werden [100]. Beides könnte eine mögliche Ursache für die verbesserte Insulinsensitivität in den vorher genannten Studien sein. Ein anderer Ansatz zum Verständnis des verbesserten Lipidprofils könnte die Entdeckung von Cota et al. [102] sein,

dass Rimonabant in Adipozytenkulturen *in vitro* die Lipoproteinlipase-Aktivität verminderte und somit möglicherweise auch *in vivo* eine Reduzierung der Fettdepots im Körper hervorrufen könnte [102]. Ebenso berichteten Jbilo et al. [167] kürzlich über eine Verringerung an Körperfett bei männlichen C57BL/6J Mäusen durch verstärkte Lipolyse, indem Rimonabant Enzyme der β -Oxidation induzierte.

Ein möglicher Grund für die hohen Glucose- und Insulinwerte in unserer Studie könnte die Stressreaktion auf das viermalige Kappen der Schwanzspitze innerhalb von 10 Stunden sein.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass SLV330 durchaus Potenzial für ein neues Medikament in der Therapie der Adipositas besitzt. Die tatsächlichen Auswirkungen der Substanz auf die Blutfette müssen noch genauer untersucht werden. Intraperitoneal verabreicht zeigt es jedoch für Futter-, Wasseraufnahme und Körpergewichtsentwicklung vergleichbare Ergebnisse zu Rimonabant, welches sich bereits seit September 2006 zur Behandlung von Übergewicht und Fettleibigkeit in Deutschland auf dem Markt befindet.

4.4 Versuch 4: Untersuchung von Topiramamat an Zuckerratten

Der vorliegende Versuch zeigte eine Reduzierung von Körpergewicht und Körperfett durch 30 und 100 mg Topiramamat/kg KG in männlichen Zuckerratten, die eine fett- und zuckerreiche Diät erhielten.

Die Auswirkungen auf den Energiehaushalt zeigten sich über Änderungen in der Futtermittelaufnahme und im Energieverbrauch. Der Körpergewichtsverlust und der Appetit mindernde Effekt waren dosisabhängig und signifikant verschieden im Vergleich zur Kontrolle.

Wie bereits in anderen präklinischen Versuchen an Labornagern gesehen, führte die Topiramamatbehandlung in den ersten 1-2 Tagen zu einem akuten dosisabhängigen Einbruch in der Futtermittelaufnahme [135-139]. Danach glich sich das Fressverhalten wieder dem der Kontrolle an. Dass Topiramamat nicht nur durch eine verminderte Futtermittelaufnahme, sondern auch noch durch andere Mechanismen auf das Körpergewicht wirkt, zeigte sich vor allem im Ergebnis der niedrigeren Dosierung von 30 mg/kg. Obwohl die Tiere in den letzten zwei Versuchswochen sogar mehr fraßen als die Kontrolltiere, verloren sie trotzdem weiterhin an Gewicht. Eine mögliche schlechtere Verwertbarkeit des Futters konnte in vorhergehenden Studien von Richard et al. [138] durch Kotanalysen ausgeschlossen werden. Möglicherweise besitzt Topiramamat die Eigenschaft, die Lipoproteinlipase im braunen Fettgewebe, Skelett- und Herzmuskel zu stimulieren, d.h. eine Steigerung der Thermogenese und der Substratoxidation hervorzurufen [137,138].

Topiramate führte zu einer erhöhten Wasseraufnahme in beiden Gruppen, was auf eine Stimulation des Trinkverhaltens schließen lässt, oder auf einen Versuch der Tiere, den erhöhten Urinverlust aufgrund einer diuretischen Wirkung durch die Carboanhydrasehemmung zu kompensieren [127-129]. Da dieser Effekt in der T 30-Gruppe stärker ausgeprägt war als in der T 100-Gruppe, der Wasseranteil am Kadavergewicht aber nicht reduziert war, ist der Beitrag eines „diuretischen“ Effekts von Topiramate auf den Wasserverzehr mit Fragezeichen zu versehen (siehe Kapitel 2.4).

Die Carcass-Analyse bestätigt den hohen Fettanteil der Zuckerratten der knapp über die Hälfte des Körpergewichts ausmacht (Tabelle 3-6), mehr als dreimal soviel wie bei den Wistar-Ratten in Versuch 1 (Tabelle 3.2). Die niedrige Topiramate-Dosis reduzierte das Endkadavergewicht um 5%, erzeugte aber eine 9%ige Erniedrigung im Gesamtkadaverfett im Vergleich zur Kontrolle. Folglich wurden 97% des beobachteten Gewichtsverlustes durch eine Verminderung an Körperfett ausgelöst, was eine hochspezifische Wirkung auf das Fettgewebe und damit auf den Fettstoffwechsel vermuten lässt (Tabelle 3-7). Dies spiegelt sich auch in den Blutwerten wider, welche erhöhte Werte der unveresterten Fettsäuren und der Triglyzeride in beiden Gruppen zeigten, möglicherweise durch verstärkte Lipolyse. Die hohe Topiramate-Dosis reduzierte den Körpergewichtszuwachs wesentlich stärker, das Gewicht der Kadaver war um 16% leichter als bei den Kontrollen. Im Gegensatz zur niedrigen Dosis verteilte sich diese Verminderung zu etwa gleichen Teilen auf den Fettgehalt (-18%), das Körperwasser (-16%) und den Proteingehalt (-13%). Insgesamt ergab sich eine geringere spezifische Auswirkung auf das Körperfett, da nur ca. 59% des Gewichtsverlustes auf den Fettverlust zurückzuführen waren, 34% auf den Wasserverlust und 8% auf den Proteinverlust. Die verringerte Gewichtszunahme durch die hohe Topiramate-Dosis ging demnach mit einer allgemeinen Verringerung der Körpermasse einher, zusammen mit einem leichten Protein erhaltenden Effekt.

In zwei Studien mit entweder weiblichen Sprague-Dawley-Ratten [137], oder schlanken (*Fa/?*) und übergewichtigen (*fa/fa*) Zuckerratten [135] wurde im Gegensatz dazu ein Proteinverlust festgestellt, der sich jedoch weniger als Verlust, sondern vielmehr als ein geringerer Zuwachs an Proteinmasse darstellte. Ob sich dieser Effekt wie auch in unseren Versuchen nur auf noch wachsende Tiere bezieht, sollte in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

Unsere Ergebnisse stimmen mit Studien an Osborne-Mendel-Ratten überein, die ebenfalls eine fettreiche Diät erhielten [139]. Auch hier wurde bei einer relativ niedrigen Dosierung von

40 mg/kg ein signifikanter Effekt auf das Körperfett festgestellt. Bei Lalonde et al. [136] wurde ein hochsignifikanter Effekt von 60 mg/kg KG Topiramamat auf das Körperfett nicht nur bei übergewichtigen Mäusen (*ob/ob*) mit Leptinmangel, sondern auch bei schlanken C57BL/6J Mäusen festgestellt. Allerdings waren die Auswirkungen in dem übergewichtigen Mausmodell stärker als bei den schlanken Tieren. Bei Mäusen, die zusätzlich mit Leptin infundiert wurden zeigte sich ein additiver Effekt zusammen mit Topiramamat. Das Ergebnis mit Topiramamat alleine bei Leptinmangel zeigt aber, dass der Topiramamateffekt nicht vom Vorhandensein von Leptin abhängt.

Wie auch in einer weiteren Studie in unserer Abteilung gesehen³, scheint die Topiramamatdosierung von 100 mg/kg einen geringeren Effekt auf das Fettgewebe zu haben, als die niedrigeren Dosierungen, und dies läßt auf eine umgekehrte Dosisabhängigkeit des Topiramamats schließen. Möglicherweise könnte auch das männliche Geschlecht der Tiere eine Rolle gespielt haben, da die Auswirkungen von Topiramamat auf den Energiehaushalt in vorausgehenden Studien von Richard et al. [135] an weiblichen Tieren deutlicher hervorgetreten sind. Zwei Jahre später zeigten die gleichen Autoren jedoch in einer Studie an Wistarratten, dass die Auswirkungen von Topiramamat auf den Energiehaushalt nicht von Sexualhormonen beeinflusst werden [138].

In unserer Studie gab es keine eindeutigen Ergebnisse zu Änderungen der Insulinsekretion, der Glucosewerte oder der Insulinsensitivität durch Topiramamat, obwohl in früheren Studien über einen signifikanten Effekt des Topiramamats auf diese Werte berichtet worden war. Allerdings erhielten die Tiere damals wesentlich geringere Dosen zwischen 15 und 60 mg/kg KG [135,138,139]. Vielleicht waren auch die Auswirkungen von Topiramamat auf Körperfett und Futteraufnahme zu gering, als dass sie die Hyperinsulinämie hätten korrigieren können. Liang et al. [140] zeigten einen antihyperglykämischen Effekt von Topiramamat, der sich sogar unabhängig von Änderungen in Körpergewicht und Fressverhalten darstellte. Allerdings wurden in dieser Studie diabetische Zuckerratten (*ZDF Zucker diabetic fatty*) verwendet, welche zusätzlich eine diabetogene Diät erhielten, um eine hyperglykämische Stoffwechsellage zu erzeugen. Wilkes et al. [186] vermuten aufgrund ihrer Experimente mit Zuckerratten, dass Topiramamat zwar spezifisch die Insulinsensitivität in Fettzellen (aber nicht im Skelettmuskel) verbessert, anscheinend aber nur, wenn diese bereits insulinresistent sind. In einer weiteren Studie konnte die Hypothese gefestigt werden, dass dies durch gesteigerte Freisetzung von Adiponectin aus den Fettzellen geschehen könnte [186,187]. Möglicherweise beeinflusst das Adiponectin direkt die Insulinsensitivität und / oder die Insulinspiegel im Blut [182].

³ Löw, Dissertation in Vorbereitung

Letztendlich sind die Mechanismen, über die Topiramate den Gewichtsverlust bewirkt, noch weitgehend unbekannt. Dies hängt mit den zahlreichen unterschiedlichen biochemischen und pharmakologischen Wirkungen des Medikaments zusammen. Angesichts der Tatsache, dass Topiramate stimulierend auf das GABA-System wirkt, könnte man ganz im Gegensatz zu den oben genannten Ergebnissen eine Gewichtszunahme vermuten, vergleichbar mit anderen antiepileptischen Medikamenten, wie Valproat oder Benzodiazepinen, die ebenfalls die Aktivität an den GABA-Rezeptoren erhöhen. Nachdem Topiramate in der klinischen Anwendung aber eindeutig gewichtsreduzierend wirkt, können Effekte an diesen Rezeptoren als verantwortlicher Mechanismus ausgeschlossen werden. Andererseits wurde berichtet, dass Medikamente, die wie auch Topiramate eine negative Modulation am Glutamat-Rezeptor auslösen, zu einem Gewichtsverlust führen [188].

Die geschilderten experimentellen und klinischen Befunde zu Topiramate legen den Schluss nahe, dass möglicherweise keiner der zentralen Mechanismen ursächlich in Frage kommt und stattdessen periphere Wirkungen direkt am Fettgewebe oder im Fettstoffwechsel für die gewichtsreduzierenden Eigenschaften von Topiramate verantwortlich sein könnten.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Übergewicht hat in den letzten Jahrzehnten weltweit epidemischen Charakter erreicht. In Europa sind bereits 43% der erwachsenen Bevölkerung übergewichtig und 17% fettleibig. Die Adipositas ist eine multifaktorielle Erkrankung und führt über ein erhöhtes Risiko für Diabetes, Krebs oder Herz-Kreislaufkrankungen bis hin zu einer deutlichen Herabsetzung der Lebenserwartung. Durch das Versagen konventioneller Therapien wie Diät oder Sport, treten medikamentöse Behandlungsmethoden immer mehr in den Vordergrund. Bisher sind zwei Kategorien etabliert, die Appetitzügler und die Lipasehemmer. Zahlreiche Studien erforschen neuerdings Therapiekonzepte zum Angriff an spezifischen Rezeptoren und Veränderungen des Fett- und Energiestoffwechsels auf molekularer Ebene.

Diese Arbeit beschäftigte sich mit der Entwicklung neuer Arzneimittel zur Behandlung von Adipositas in verschiedenen Fettsuchtmodellen an Ratten. Alle Studien begannen mit Vorversuchszeiten von 1-2 Wochen zur Stabilisierung des täglichen Körpergewichtszuwachses, der Futter- und der Wasseraufnahme. Die Tiere erhielten in allen Versuchen eine zucker- und fettreiche Diät, deren Zusammensetzung sich an Ernährungsgewohnheiten in westlichen Industrieländern orientierte (Western Diet). Wasser wurde *ad libitum* bereitgestellt und die Aufnahme täglich bestimmt. Das gleich galt mit Ausnahme von Versuch 1 auch für das Futter. Am letzten Tag der Experimente erfolgten Blutabnahmen an den zuvor nüchtern gesetzten Ratten. Unmittelbar danach wurden die Tiere in einer CO₂-Kammer getötet, die Kadaver einzeln in Gefrierbeutel verpackt und anschließend zusammen mit den Blutproben bis zur weiteren Aufarbeitung gruppenweise bei -20 °C eingefroren.

5.1 Versuch 1

In Versuch 1 wurde an männlichen Wistarratten eine mögliche Wirkungsverstärkung des selektiven CB₁-Antagonisten SLV319 in Kombination mit dem Lipasehemmer Orlistat (Xenical[®]), auf Körpergewichtsentwicklung, Futter- und Wasseraufnahme, Blutwerte und Zusammensetzung der Tierkörper untersucht.

Die Tiere wurden über einen Zeitraum von 4 Wochen einmal täglich mit Vehikel 1 (CMC) oder SLV319 (3 oder 10 mg/kg KG) geschlündelt, und zweimal täglich mit Vehikel 2 (Labrasol) oder Orlistat 50 mg/kg KG. Jeweils nach Gabe von entweder Labrasol oder Orlistat erhielten die Ratten für genau 2,5 Stunden Futter *ad libitum*.

Das Körpergewicht der Tiere war in allen Gruppen im Vergleich zur Kontrolle vermindert: Bei Einzelbehandlung mit SLV319-3 um 50%, mit SLV319-10 um 42% und mit Orlistat um

52%, bei der Kombination tendenziell aber nicht signifikant stärker durch SLV319-3+Orlistat um 76% und durch SLV319-10+Orlistat um 59%. Die Futteraufnahme in Relation zum Körpergewicht wurde im Vergleich zur Kontrolle durch die niedrige und die hohe SLV319-Dosis um 8 bzw. 10% vermindert und durch Orlistat um 18% erhöht. In der Kombination erhöhte sich Futteraufnahme ebenfalls um 11% bzw. 13%. Zusätzlich erniedrigte sowohl SLV319 als auch Orlistat die Triglyzeride, NEFA-Level, das freie Cholesterin, und hatte einen positiven Effekt auf die HDL-Werte im Serum. SLV319 erniedrigte die Insulinspiegel und verbesserte die Insulinsensitivität. In der Carcass-Analyse konnte in allen Gruppen der Körpergewichtsverlust überproportional auf eine Verminderung an Körperfett zurückgeführt werden.

SLV319 hat somit ein mögliches Potenzial für die Therapie der Fettleibigkeit, die durch Kombination mit Orlistat noch verstärkt werden könnte.

5.2 Versuch 2

Die vorliegende Studie erforscht die Auswirkungen von SLV335, einem neuen Carboanhydrasehemmer, auf Körpergewicht, Futter-, Wasseraufnahme und Blutwerte bei weiblichen Wistarratten im Vergleich zu Topiramate.

Die Tiere wurden über einen Zeitraum von 4 Wochen zweimal täglich mit Vehikel, SLV335 oder Topiramate geschlündelt. Die Tagesdosen von jeweils 30, 60 oder 100 mg/kg KG wurden zu einem Drittel am Morgen und zu zwei Dritteln am Abend verabreicht.

Sowohl SLV335 als auch Topiramate erniedrigten signifikant und dosisabhängig das Körpergewicht der Tiere im Vergleich zur Kontrolle: Bei den drei SLV335-Dosen um 18%, 52% und 85%, bei Topiramate um 38%, 40% und 58%. Auch die Futteraufnahme relativ zum Körpergewicht reduzierte sich, aber nur bei SLV335 um 9%, 15% und 23%, bei allen Topiramate-behandelten Ratten um 11-13%. Topiramate und SLV335 führten unabhängig von der Dosis zu einer Steigerung der Wasseraufnahme, die sich aber nur bei Topiramate signifikant von der Kontrolle unterschied. Weder Topiramate noch SLV335 zeigten signifikante Änderungen der Blutwerte, doch erniedrigten sie leicht die Triglyzeride und NEFA-Werte im Serum.

Der CA-Inhibitor SLV335 hatte einen stark gewichtsreduzierenden Effekt. Somit könnte die Hemmung spezifischer Carboanhydrasen ein Mechanismus für Gewichtsverlust sein, und SLV335 ein therapeutisches Potenzial in der Behandlung der Adipositas besitzen.

5.3 Versuch 3

In diesem Versuch wurden zwei CB₁-Antagonisten, das bereits im Handel befindliche Rimonabant (Acomplia[®]) und die Prüfsubstanz SLV330 in ihren Wirkungen auf Körpergewicht, Futter-, Wasseraufnahme und die Blutwerte bei männlichen Wistarratten verglichen.

Die Tiere wurden einmal täglich 2 Wochen lang entweder mit CMC-PEG-Vehikel oder mit 3 oder 10 mg/kg KG SLV330 bzw. Rimonabant i.p. gespritzt.

Sowohl SLV330 als auch Rimonabant erniedrigten das Körpergewicht der Ratten im Vergleich zu Kontrolle: Bei der niedrigen und hohen Dosis von SLV330 um 25% und 70%, bei Rimonabant um 37 und 60%. Die Futter- und Wasseraufnahme wurde in allen Gruppen ebenfalls dosisabhängig erniedrigt. Beide Substanzen erniedrigten die Triglyzeride, NEFA und freies Cholesterin im Serum. Lediglich die hohe Rimonabantdosis erhöhte das HDL, verbesserte die Insulinsensitivität und erniedrigte die Insulinspiegel im Serum.

Diese Ergebnisse zeigen, dass SLV330 durchaus Potenzial für die Therapie der Adipositas besitzt. Intraperitoneal verabreicht zeigt es vergleichbare Ergebnisse zu Rimonabant.

5.4 Versuch 4

Die dosisabhängige Wirkung von Topiramamat auf Körpergewicht, Futter-, Wasseraufnahme, Blutwerte und Zusammensetzung der Tierkörper wurde an männlichen Zucker-Ratten untersucht, die erstmals mit einer fettreichen „Western Diet“ gefüttert wurden.

Die Tiere wurden zweimal täglich über einen Zeitraum von 4 Wochen entweder mit CMC-PEG-Vehikel oder Topiramamat (30 oder 100 mg/kg KG) geschlündelt.

Das Körpergewicht der Tiere verminderte sich je in der niedrigen und hohen Topiramamatdosis im Vergleich zur Kontrolle um 10% bzw. 32%. Auch die Futteraufnahme wurde dosisabhängig unterdrückt. Die Wasseraufnahme steigerte sich dagegen bei der niedrigeren Dosis stärker als bei der hohen Dosis. Unabhängig von der Dosis erhöhte Topiramamat im Serum die Triglyzeride, NEFA und LDL und wirkte sich negativ auf das HDL aus. Das gesamte und freie Cholesterin erhöhte sich, die Insulinsensitivität wurde nicht verändert. Die geringe Gewichtsreduktion nach der niedrigen Topiramamatdosis konnte fast vollständig auf den Fettverlust zurückgeführt werden, wohingegen die hohe Dosis eine gleichmäßige nicht-spezifische Erniedrigung an Fett, Wasser und etwas weniger an Proteinen bewirkte.

Die gewichtsreduzierenden Eigenschaften von Topiramamat wurden bestätigt. Vor allem die niedrigere Dosierung von 30 mg/kg führt möglicherweise zu metabolischen Veränderungen, welche eine Verminderung des Körperfetts bewirken.

6 LITERATURVERZEICHNIS

1. WHO (1995) Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. *World Health Organ Tech Rep Ser* **854**, 1-452.
2. WHO (2000) Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser* **894**, i-xii, 1-253.
3. Öhrvall, M., Berglund, L. und Vessby, B. (2000) Sagittal abdominal diameter compared with other anthropometric measurements in relation to cardiovascular risk. *Int J Obes Relat Metab Disord* **24**, 497-501.
4. Poulriot, M. C., Després, J. P., Lemieux, S., Moorjani, S., Bouchard, C., Tremblay, A., et al. (1994) Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am J Cardiol* **73**, 460-8.
5. Dalton, M., Cameron, A. J., Zimmet, P. Z., Shaw, J. E., Jolley, D., Dunstan, D. W., et al. (2003) Waist circumference, waist-hip ratio and body mass index and their correlation with cardiovascular disease risk factors in Australian adults. *J Intern Med* **254**, 555-63.
6. Janssen, I., Katzmarzyk, P. T. und Ross, R. (2004) Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk. *Am J Clin Nutr* **79**, 379-84.
7. Ogden, C. L., Carroll, M. D., Curtin, L. R., McDowell, M. A., Tabak, C. J. und Flegal, K. M. (2006) Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *Jama* **295**, 1549-55.
8. York, D. A., Rossner, S., Caterson, I., Chen, C. M., James, W. P., Kumanyika, S., et al. (2004) Prevention Conference VII: Obesity, a worldwide epidemic related to heart disease and stroke: Group I: worldwide demographics of obesity. *Circulation* **110**, e463-70.
9. James, P. T., Leach, R., Kalamara, E. und Shayeghi, M. (2001) The worldwide obesity epidemic. *Obes Res* **9 Suppl 4**, 228S-233S.
10. Strauss, R. S. und Pollack, H. A. (2001) Epidemic increase in childhood overweight, 1986-1998. *Jama* **286**, 2845-8.
11. Lobstein, T. und Frelut, M. L. (2003) Prevalence of overweight among children in Europe. *Obes Rev* **4**, 195-200.
12. Lissau, I. (2004) Overweight and obesity epidemic among children. Answer from European countries. *Int J Obes Relat Metab Disord* **28 Suppl 3**, S10-5.
13. Wabitsch, M. (2004) [Obese children and adolescents in Germany. A call for action]. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* **47**, 251-5.
14. Kromhout, D., Bloemberg, B., Seidell, J. C., Nissinen, A. und Menotti, A. (2001) Physical activity and dietary fiber determine population body fat levels: the Seven Countries Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* **25**, 301-6.
15. Dunstan, D. W., Salmon, J., Owen, N., Armstrong, T., Zimmet, P. Z., Welborn, T. A., et al. (2004) Physical activity and television viewing in relation to risk of undiagnosed abnormal glucose metabolism in adults. *Diabetes Care* **27**, 2603-9.
16. Stunkard, A. J. und Allison, K. C. (2003) Two forms of disordered eating in obesity: binge eating and night eating. *Int J Obes Relat Metab Disord* **27**, 1-12.
17. Rankinen, T. und Bouchard, C. (2006) Genetics of food intake and eating behavior phenotypes in humans. *Annu Rev Nutr* **26**, 413-34.
18. Rankinen, T., Zuberi, A., Chagnon, Y. C., Weisnagel, S. J., Argyropoulos, G., Walts, B., et al. (2006) The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)* **14**, 529-644.

19. Montague, C. T., Farooqi, I. S., Whitehead, J. P., Soos, M. A., Rau, H., Wareham, N. J., et al. (1997) Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* **387**, 903-8.
20. Richter, E. und Scherer, G. (2004) in *Lehrbuch der Toxikologie* (Marquardt, H. und Schäfer, S. G., Eds.), S. 897-918, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart.
21. Jo, Y. H., Talmage, D. A. und Role, L. W. (2002) Nicotinic receptor-mediated effects on appetite and food intake. *J Neurobiol* **53**, 618-32.
22. Caterson, I. D., Hubbard, V., Bray, G. A., Grunstein, R., Hansen, B. C., Hong, Y., et al. (2004) Prevention Conference VII: Obesity, a worldwide epidemic related to heart disease and stroke: Group III: worldwide comorbidities of obesity. *Circulation* **110**, e476-83.
23. Anon (2000) Overweight, Obesity, and Health Risk. National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity. *Arch Intern Med* **160**, 898-904.
24. Katzmarzyk, P. T., Janssen, I. und Ardern, C. I. (2003) Physical inactivity, excess adiposity and premature mortality. *Obes Rev* **4**, 257-90.
25. Hu, F. B., Willett, W. C., Li, T., Stampfer, M. J., Colditz, G. A. und Manson, J. E. (2004) Adiposity as compared with physical activity in predicting mortality among women. *N Engl J Med* **351**, 2694-703.
26. Visscher, T. L., Seidell, J. C., Molarius, A., van der Kuip, D., Hofman, A. und Witteman, J. C. (2001) A comparison of body mass index, waist-hip ratio and waist circumference as predictors of all-cause mortality among the elderly: the Rotterdam study. *Int J Obes Relat Metab Disord* **25**, 1730-5.
27. Freedman, D. M., Ron, E., Ballard-Barbash, R., Doody, M. M. und Linet, M. S. (2006) Body mass index and all-cause mortality in a nationwide US cohort. *Int J Obes (Lond)* **30**, 822-9.
28. Pischon, T., Lahmann, P. H., Boeing, H., Friedenreich, C., Norat, T., Tjønneland, A., et al. (2006) Body size and risk of colon and rectal cancer in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). *J Natl Cancer Inst* **98**, 920-31.
29. Bergström, A., Pisani, P., Tenet, V., Wolk, A. und Adami, H. O. (2001) Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. *Int J Cancer* **91**, 421-30.
30. Huang, Z., Willett, W. C., Colditz, G. A., Hunter, D. J., Manson, J. E., Rosner, B., et al. (1999) Waist circumference, waist:hip ratio, and risk of breast cancer in the Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol* **150**, 1316-24.
31. Chow, W. H., Gridley, G., Fraumeni, J. F., Jr. und Jarvholm, B. (2000) Obesity, hypertension, and the risk of kidney cancer in men. *N Engl J Med* **343**, 1305-11.
32. Calle, E. E., Rodriguez, C., Walker-Thurmond, K. und Thun, M. J. (2003) Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* **348**, 1625-38.
33. Samanic, C., Chow, W. H., Gridley, G., Jarvholm, B. und Fraumeni, J. F., Jr. (2006) Relation of body mass index to cancer risk in 362,552 Swedish men. *Cancer Causes Control* **17**, 901-9.
34. Herva, A., Laitinen, J., Miettunen, J., Veijola, J., Karvonen, J. T., Lakso, K., et al. (2006) Obesity and depression: results from the longitudinal Northern Finland 1966 Birth Cohort Study. *Int J Obes (Lond)* **30**, 520-7.
35. Dong, C., Sanchez, L. E. und Price, R. A. (2004) Relationship of obesity to depression: a family-based study. *Int J Obes Relat Metab Disord* **28**, 790-5.
36. Brown, C. D., Higgins, M., Donato, K. A., Rohde, F. C., Garrison, R., Obarzanek, E., et al. (2000) Body mass index and the prevalence of hypertension and dyslipidemia. *Obes Res* **8**, 605-19.

37. Weiss, R., Dziura, J., Burgert, T. S., Tamborlane, W. V., Taksali, S. E., Yeckel, C. W., et al. (2004) Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med* **350**, 2362-74.
38. Isomaa, B., Almgren, P., Tuomi, T., Forsen, B., Lahti, K., Nissen, M., et al. (2001) Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* **24**, 683-9.
39. Coggon, D., Reading, I., Croft, P., McLaren, M., Barrett, D. und Cooper, C. (2001) Knee osteoarthritis and obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* **25**, 622-7.
40. Janssen, I. und Mark, A. E. (2006) Separate and combined influence of body mass index and waist circumference on arthritis and knee osteoarthritis. *Int J Obes (Lond)* **30**, 1223-8.
41. Sjöström, C. D., Lissner, L., Wedel, H. und Sjöström, L. (1999) Reduction in incidence of diabetes, hypertension and lipid disturbances after intentional weight loss induced by bariatric surgery: the SOS Intervention Study. *Obes Res* **7**, 477-84.
42. Torgerson, J. S., Hauptman, J., Boldrin, M. N. und Sjöström, L. (2004) XENical in the prevention of diabetes in obese subjects (XENDOS) study: a randomized study of orlistat as an adjunct to lifestyle changes for the prevention of type 2 diabetes in obese patients. *Diabetes Care* **27**, 155-61.
43. Jeffreys, M., Lawlor, D. A., Galobardes, B., McCarron, P., Kinra, S., Ebrahim, S., et al. (2006) Lifecourse weight patterns and adult-onset diabetes: the Glasgow Alumni and British Women's Heart and Health studies. *Int J Obes (Lond)* **30**, 507-12.
44. Eckel, R. H. und Krauss, R. M. (1998) American Heart Association call to action: obesity as a major risk factor for coronary heart disease. AHA Nutrition Committee. *Circulation* **97**, 2099-100.
45. Kenchaiah, S., Evans, J. C., Levy, D., Wilson, P. W., Benjamin, E. J., Larson, M. G., et al. (2002) Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med* **347**, 305-13.
46. Huang, Z., Willett, W. C., Manson, J. E., Rosner, B., Stampfer, M. J., Speizer, F. E., et al. (1998) Body weight, weight change, and risk for hypertension in women. *Ann Intern Med* **128**, 81-8.
47. Seyfeli, E., Duru, M., Kuvandik, G., Kaya, H. und Yalcin, F. (2006) Effect of obesity on P-wave dispersion and QT dispersion in women. *Int J Obes (Lond)* **30**, 957-61.
48. Moore, L. L., Vioni, A. J., Qureshi, M. M., Bradlee, M. L., Ellison, R. C. und D'Agostino, R. (2005) Weight loss in overweight adults and the long-term risk of hypertension: the Framingham study. *Arch Intern Med* **165**, 1298-303.
49. Sjöström, C. D., Peltonen, M., Wedel, H. und Sjöström, L. (2000) Differentiated long-term effects of intentional weight loss on diabetes and hypertension. *Hypertension* **36**, 20-5.
50. Gregg, E. W., Gerzoff, R. B., Thompson, T. J. und Williamson, D. F. (2003) Intentional weight loss and death in overweight and obese U.S. adults 35 years of age and older. *Ann Intern Med* **138**, 383-9.
51. Danielzik, S., Czerwinski-Mast, M., Langnase, K., Dilba, B. und Muller, M. J. (2004) Parental overweight, socioeconomic status and high birth weight are the major determinants of overweight and obesity in 5-7 y-old children: baseline data of the Kiel Obesity Prevention Study (KOPS). *Int J Obes Relat Metab Disord* **28**, 1494-502.
52. Danielzik, S., Pust, S., Landsberg, B. und Muller, M. J. (2005) First lessons from the Kiel Obesity Prevention Study (KOPS). *Int J Obes (Lond)* **29 Suppl 2**, S78-83.

53. Müller, M. J., Asbeck, I., Mast, M., Langnase, K. und Grund, A. (2001) Prevention of obesity--more than an intention. Concept and first results of the Kiel Obesity Prevention Study (KOPS). *Int J Obes Relat Metab Disord* **25 Suppl 1**, S66-74.
54. Kumanyika, S., Jeffery, R. W., Morabia, A., Ritenbaugh, C. und Antipatis, V. J. (2002) Obesity prevention: the case for action. *Int J Obes Relat Metab Disord* **26**, 425-36.
55. Curioni, C. C. und Lourenco, P. M. (2005) Long-term weight loss after diet and exercise: a systematic review. *Int J Obes (Lond)* **29**, 1168-74.
56. Solomon, C. G. und Dluhy, R. G. (2004) Bariatric surgery--quick fix or long-term solution? *N Engl J Med* **351**, 2751-3.
57. Sjöström, L., Lindroos, A. K., Peltonen, M., Torgerson, J., Bouchard, C., Carlsson, B., et al. (2004) Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N Engl J Med* **351**, 2683-93.
58. Khan, M. A., Herzog, C. A., St Peter, J. V., Hartley, G. G., Madlon-Kay, R., Dick, C. D., et al. (1998) The prevalence of cardiac valvular insufficiency assessed by transthoracic echocardiography in obese patients treated with appetite-suppressant drugs. *N Engl J Med* **339**, 713-8.
59. Wirth, A. und Krause, J. (2001) Long-term weight loss with sibutramine: a randomized controlled trial. *Jama* **286**, 1331-9.
60. James, W. P., Astrup, A., Finer, N., Hilsted, J., Kopelman, P., Rossner, S., et al. (2000) Effect of sibutramine on weight maintenance after weight loss: a randomised trial. STORM Study Group. Sibutramine Trial of Obesity Reduction and Maintenance. *Lancet* **356**, 2119-25.
61. Smith, I. G. und Goulder, M. A. (2001) Randomized placebo-controlled trial of long-term treatment with sibutramine in mild to moderate obesity. *J Fam Pract* **50**, 505-12.
62. Finer, N. (2002) Pharmacotherapy of obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* **16**, 717-42.
63. Abbott (2004) Fachinformation (Zusammensetzung der Merkmale des Arzneimittels/SPC) Reductil® 10 mg Hartkapseln. <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch?praep>.
64. Hadvary, P., Sidler, W., Meister, W., Vetter, W. und Wolfer, H. (1991) The lipase inhibitor tetrahydrolipstatin binds covalently to the putative active site serine of pancreatic lipase. *J Biol Chem* **266**, 2021-7.
65. Fernandez, E. und Borgstrom, B. (1989) Effects of tetrahydrolipstatin, a lipase inhibitor, on absorption of fat from the intestine of the rat. *Biochim Biophys Acta* **1001**, 249-55.
66. Hauptman, J. B., Jeunet, F. S. und Hartmann, D. (1992) Initial studies in humans with the novel gastrointestinal lipase inhibitor Ro 18-0647 (tetrahydrolipstatin). *Am J Clin Nutr* **55**, 309S-313S.
67. Zhi, J., Melia, A. T., Guerciolini, R., Chung, J., Kinberg, J., Hauptman, J. B., et al. (1994) Retrospective population-based analysis of the dose-response (fecal fat excretion) relationship of orlistat in normal and obese volunteers. *Clin Pharmacol Ther* **56**, 82-5.
68. Guerciolini, R. (1997) Mode of action of orlistat. *Int J Obes Relat Metab Disord* **21 Suppl 3**, S12-23.
69. Yanovski, S. Z. und Yanovski, J. A. (2002) Obesity. *N Engl J Med* **346**, 591-602.
70. Davidson, M. H., Hauptman, J., DiGirolamo, M., Foreyt, J. P., Halsted, C. H., Heber, D., et al. (1999) Weight control and risk factor reduction in obese subjects treated for 2 years with orlistat: a randomized controlled trial. *Jama* **281**, 235-42.
71. Sjöström, L., Rissanen, A., Andersen, T., Boldrin, M., Golay, A., Koppeschaar, H., et al. (2000) [Randomized placebo-controlled trial of orlistat for weight loss and prevention of weight regain in obese patients]. *Ter Arkh* **72**, 50-4.

72. Chanoine, J. P., Hampl, S., Jensen, C., Boldrin, M. und Hauptman, J. (2005) Effect of orlistat on weight and body composition in obese adolescents: a randomized controlled trial. *Jama* **293**, 2873-83.
73. Roche (1998) Zusammensetzung der Merkmale des Arzneimittels Xenical® 120 mg Hartkapseln. <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch?praep>.
74. Mechoulam, R. (1986) in *Cannabis as Therapeutic Agent* (Mechoulam, R., Ed.), pp. 1-19, CRC Press Boca Raton, FL USA.
75. Adams, I. B. und Martin, B. R. (1996) Cannabis: pharmacology and toxicology in animals and humans. *Addiction* **91**, 1585-614.
76. Gaoni, Y. und Mechoulam, R. (1964) Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. *J Am Chem Soc* **86**, 1646-1647.
77. Walsh, D., Nelson, K. A. und Mahmoud, F. A. (2003) Established and potential therapeutic applications of cannabinoids in oncology. *Support Care Cancer* **11**, 137-43.
78. Di Marzo, V., Bifulco, M. und De Petrocellis, L. (2004) The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nat Rev Drug Discov* **3**, 771-84.
79. Devane, W. A., Dysarz, F. A., 3rd, Johnson, M. R., Melvin, L. S. und Howlett, A. C. (1988) Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol* **34**, 605-13.
80. Matsuda, L. A., Lolait, S. J., Brownstein, M. J., Young, A. C. und Bonner, T. I. (1990) Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* **346**, 561-4.
81. Munro, S., Thomas, K. L. und Abu-Shaar, M. (1993) Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* **365**, 61-5.
82. Devane, W. A., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R. G., Stevenson, L. A., Griffin, G., et al. (1992) Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* **258**, 1946-9.
83. Mechoulam, R., Ben-Shabat, S., Hanus, L., Ligumsky, M., Kaminski, N. E., Schatz, A. R., et al. (1995) Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* **50**, 83-90.
84. Sugiura, T., Kondo, S., Sukagawa, A., Nakane, S., Shinoda, A., Itoh, K., et al. (1995) 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun* **215**, 89-97.
85. Galiegue, S., Mary, S., Marchand, J., Dussossoy, D., Carriere, D., Carayon, P., et al. (1995) Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem* **232**, 54-61.
86. Herkenham, M., Lynn, A. B., Little, M. D., Johnson, M. R., Melvin, L. S., de Costa, B. R., et al. (1990) Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* **87**, 1932-6.
87. Pertwee, R. G. (1999) Evidence for the presence of CB1 cannabinoid receptors on peripheral neurones and for the existence of neuronal non-CB1 cannabinoid receptors. *Life Sci* **65**, 597-605.
88. Bensaid, M., Gary-Bobo, M., Esclangon, A., Maffrand, J. P., Le Fur, G., Oury-Donat, F., et al. (2003) The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 increases Acrp30 mRNA expression in adipose tissue of obese fa/fa rats and in cultured adipocyte cells. *Mol Pharmacol* **63**, 908-14.
89. Abel, E. L. (1975) Cannabis: effects on hunger and thirst. *Behav Biol* **15**, 255-81.
90. Williams, C. M., Rogers, P. J. und Kirkham, T. C. (1998) Hyperphagia in pre-fed rats following oral delta9-THC. *Physiol Behav* **65**, 343-6.

91. Kirkham, T. C., Williams, C. M., Fezza, F. und Di Marzo, V. (2002) Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *Br J Pharmacol* **136**, 550-7.
92. Colombo, G., Agabio, R., Diaz, G., Lobina, C., Reali, R. und Gessa, G. L. (1998) Appetite suppression and weight loss after the cannabinoid antagonist SR 141716. *Life Sci* **63**, PL113-7.
93. Kirkham, T. C. und Williams, C. M. (2001) Synergistic effects of opioid and cannabinoid antagonists on food intake. *Psychopharmacology (Berl)* **153**, 267-70.
94. Rowland, N. E., Mukherjee, M. und Robertson, K. (2001) Effects of the cannabinoid receptor antagonist SR 141716, alone and in combination with dexfenfluramine or naloxone, on food intake in rats. *Psychopharmacology (Berl)* **159**, 111-6.
95. Ravinet Trillou, C., Arnone, M., Delgorge, C., Gonalons, N., Keane, P., Maffrand, J. P., et al. (2003) Anti-obesity effect of SR141716, a CB1 receptor antagonist, in diet-induced obese mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **284**, R345-53.
96. Vickers, S. P., Webster, L. J., Wyatt, A., Dourish, C. T. und Kennett, G. A. (2003) Preferential effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist, SR 141716, on food intake and body weight gain of obese (fa/fa) compared to lean Zucker rats. *Psychopharmacology (Berl)* **167**, 103-11.
97. Hildebrandt, A. L., Kelly-Sullivan, D. M. und Black, S. C. (2003) Antiobesity effects of chronic cannabinoid CB1 receptor antagonist treatment in diet-induced obese mice. *Eur J Pharmacol* **462**, 125-32.
98. Simiand, J., Keane, M., Keane, P. E. und Soubrie, P. (1998) SR 141716, a CB1 cannabinoid receptor antagonist, selectively reduces sweet food intake in marmoset. *Behav Pharmacol* **9**, 179-81.
99. Arnone, M., Maruani, J., Chaperon, F., Thiebot, M. H., Poncelet, M., Soubrie, P., et al. (1997) Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR 141716, an antagonist of central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology (Berl)* **132**, 104-6.
100. Liu, Y. L., Connoley, I. P., Wilson, C. A. und Stock, M. J. (2005) Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 on oxygen consumption and soleus muscle glucose uptake in Lep(ob)/Lep(ob) mice. *Int J Obes (Lond)* **29**, 183-7.
101. Poirier, B., Bidouard, J. P., Cadrouvele, C., Marniquet, X., Staels, B., O'Connor, S. E., et al. (2005) The anti-obesity effect of rimonabant is associated with an improved serum lipid profile. *Diabetes Obes Metab* **7**, 65-72.
102. Cota, D., Marsicano, G., Tschop, M., Grubler, Y., Flachskamm, C., Schubert, M., et al. (2003) The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J Clin Invest* **112**, 423-31.
103. Ravinet Trillou, C., Delgorge, C., Menet, C., Arnone, M. und Soubrie, P. (2004) CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. *Int J Obes Relat Metab Disord* **28**, 640-8.
104. Di Marzo, V., Goparaju, S. K., Wang, L., Liu, J., Batkai, S., Jarai, Z., et al. (2001) Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature* **410**, 822-5.
105. Pagotto, U. und Pasquali, R. (2005) Fighting obesity and associated risk factors by antagonising cannabinoid type 1 receptors. *Lancet* **365**, 1363-4.
106. Rinaldi-Carmona, M., Barth, F., Heaulme, M., Shire, D., Calandra, B., Congy, C., et al. (1994) SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Lett* **350**, 240-4.

107. sanofi-aventis (2006) Fachinformation (Zusammensetzung der Merkmale des Arzneimittels) Acomplia® 20 mg Filmtabletten. <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch?praep>.
108. Pi-Sunyer, F. X., Aronne, L. J., Heshmati, H. M., Devin, J. und Rosenstock, J. (2006) Effect of rimonabant, a cannabinoid-1 receptor blocker, on weight and cardiometabolic risk factors in overweight or obese patients: RIO-North America: a randomized controlled trial. *Jama* **295**, 761-75.
109. Després, J. P., Golay, A. und Sjöström, L. (2005) Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *N Engl J Med* **353**, 2121-34.
110. Van Gaal, L. F., Rissanen, A. M., Scheen, A. J., Ziegler, O. und Rossner, S. (2005) Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet* **365**, 1389-97.
111. Scheen, A. J., Van Gaal, L. G., Després, J. P., Pi-Sunyer, X., Golay, A. und Hanotin, C. (2006) [Rimonabant improves cardiometabolic risk profile in obese or overweight subjects: overview of RIO studies]. *Rev Med Suisse* **2**, 1916-23.
112. <http://www.clinicaltrials.gov>.
113. Von Seggern, R. L., Mannix, L. K. und Adelman, J. U. (2002) Efficacy of topiramate in migraine prophylaxis: a retrospective chart analysis. *Headache* **42**, 804-9.
114. Brandes, J. L., Saper, J. R., Diamond, M., Couch, J. R., Lewis, D. W., Schmitt, J., et al. (2004) Topiramate for migraine prevention: a randomized controlled trial. *Jama* **291**, 965-73.
115. Janssen-Cilag (1998) Zusammensetzung der Merkmale des Arzneimittels Topamax® Filmtabletten/Kapseln. <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch?praep>.
116. Janssen-Cilag (2005) Zusammensetzung der Merkmale des Arzneimittels Topamax® Migräne. <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch?praep>.
117. Zona, C., Ciotti, M. T. und Avoli, M. (1997) Topiramate attenuates voltage-gated sodium currents in rat cerebellar granule cells. *Neurosci Lett* **231**, 123-6.
118. Wu, S. P., Tsai, J. J. und Gean, P. W. (1998) Frequency-dependent inhibition of neuronal activity by topiramate in rat hippocampal slices. *Br J Pharmacol* **125**, 826-32.
119. Taverna, S., Sancini, G., Mantegazza, M., Franceschetti, S. und Avanzini, G. (1999) Inhibition of transient and persistent Na⁺ current fractions by the new anticonvulsant topiramate. *J Pharmacol Exp Ther* **288**, 960-8.
120. DeLorenzo, R. J., Sombati, S. und Coulter, D. A. (2000) Effects of topiramate on sustained repetitive firing and spontaneous recurrent seizure discharges in cultured hippocampal neurons. *Epilepsia* **41 Suppl 1**, S40-4.
121. McLean, M. J., Bukhari, A. A. und Wamil, A. W. (2000) Effects of topiramate on sodium-dependent action-potential firing by mouse spinal cord neurons in cell culture. *Epilepsia* **41 Suppl 1**, S21-4.
122. Zhang, X., Velumian, A. A., Jones, O. T. und Carlen, P. L. (2000) Modulation of high-voltage-activated calcium channels in dentate granule cells by topiramate. *Epilepsia* **41 Suppl 1**, S52-60.
123. White, H. S., Brown, S. D., Woodhead, J. H., Skeen, G. A. und Wolf, H. H. (1997) Topiramate enhances GABA-mediated chloride flux and GABA-evoked chloride currents in murine brain neurons and increases seizure threshold. *Epilepsy Res* **28**, 167-79.
124. Gibbs III, J. W., Sombati, S., DeLorenzo, R. J. und Coulter, D. A. (2000) Cellular actions of topiramate: blockade of kainate-evoked inward currents in cultured hippocampal neurons. *Epilepsia* **41 Suppl 1**, S10-6.

125. Skradski, S. und White, H. S. (2000) Topiramate blocks kainate-evoked cobalt influx into cultured neurons. *Epilepsia* **41 Suppl 1**, S45-7.
126. Herrero, A. I., Del Olmo, N., Gonzalez-Escalada, J. R. und Solis, J. M. (2002) Two new actions of topiramate: inhibition of depolarizing GABA(A)-mediated responses and activation of a potassium conductance. *Neuropharmacology* **42**, 210-20.
127. Vullo, D., Franchi, M., Gallori, E., Antel, J., Scozzafava, A. und Supuran, C. T. (2004) Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of mitochondrial isozyme V with aromatic and heterocyclic sulfonamides. *J Med Chem* **47**, 1272-9.
128. Dodgson, S. J., Shank, R. P. und Maryanoff, B. E. (2000) Topiramate as an inhibitor of carbonic anhydrase isoenzymes. *Epilepsia* **41 Suppl 1**, S35-9.
129. Casini, A., Antel, J., Abbate, F., Scozzafava, A., David, S., Waldeck, H., et al. (2003) Carbonic anhydrase inhibitors: SAR and X-ray crystallographic study for the interaction of sugar sulfamates/sulfamides with isozymes I, II and IV. *Bioorg Med Chem Lett* **13**, 841-5.
130. Brown, R. O., Orr, C. D., Hanna, D. L., Williams, J. E. und Dickerson, R. N. (2002) Topiramate and weight loss in patients with neurodevelopmental disabilities. *Pharmacotherapy* **22**, 831-5.
131. Roy Chengappa, K. N., Levine, J., Rathore, D., Parepally, H. und Atzert, R. (2001) Long-term effects of topiramate on bipolar mood instability, weight change and glycemic control: a case-series. *Eur Psychiatry* **16**, 186-90.
132. Bray, G. A., Hollander, P., Klein, S., Kushner, R., Levy, B., Fitchet, M., et al. (2003) A 6-month randomized, placebo-controlled, dose-ranging trial of topiramate for weight loss in obesity. *Obes Res* **11**, 722-33.
133. Wilding, J., Van Gaal, L., Rissanen, A., Vercruysse, F. und Fitchet, M. (2004) A randomized double-blind placebo-controlled study of the long-term efficacy and safety of topiramate in the treatment of obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord* **28**, 1399-410.
134. Astrup, A., Caterson, I., Zelissen, P., Guy-Grand, B., Carruba, M., Levy, B., et al. (2004) Topiramate: long-term maintenance of weight loss induced by a low-calorie diet in obese subjects. *Obes Res* **12**, 1658-69.
135. Picard, F., Deshaies, Y., Lalonde, J., Samson, P. und Richard, D. (2000) Topiramate reduces energy and fat gains in lean (Fa/?) and obese (fa/fa) Zucker rats. *Obes Res* **8**, 656-63.
136. Lalonde, J., Samson, P., Poulin, S., Deshaies, Y. und Richard, D. (2004) Additive effects of leptin and topiramate in reducing fat deposition in lean and obese ob/ob mice. *Physiol Behav* **80**, 415-20.
137. Richard, D., Ferland, J., Lalonde, J., Samson, P. und Deshaies, Y. (2000) Influence of topiramate in the regulation of energy balance. *Nutrition* **16**, 961-6.
138. Richard, D., Picard, F., Lemieux, C., Lalonde, J., Samson, P. und Deshaies, Y. (2002) The effects of topiramate and sex hormones on energy balance of male and female rats. *Int J Obes Relat Metab Disord* **26**, 344-53.
139. York, D. A., Singer, L., Thomas, S. und Bray, G. A. (2000) Effect of topiramate on body weight and body composition of Osborne-mendel rats fed a high-fat diet: alterations in hormones, neuropeptide, and uncoupling-protein mRNAs. *Nutrition* **16**, 967-75.
140. Liang, Y., Chen, X., Osborne, M., Decarlo, S. O., Jetton, T. L. und Demarest, K. (2005) Topiramate ameliorates hyperglycaemia and improves glucose-stimulated insulin release in ZDF rats and db/db mice. *Diabetes Obes Metab* **7**, 360-9.

141. Tonstad, S., Tykarski, A., Weissgarten, J., Ivleva, A., Levy, B., Kumar, A., et al. (2005) Efficacy and safety of topiramate in the treatment of obese subjects with essential hypertension. *Am J Cardiol* **96**, 243-51.
142. Toplak, H., Hamann, A., Moore, R., Masson, E., Gorska, M., Vercruysse, F., et al. (2006) Efficacy and safety of topiramate in combination with metformin in the treatment of obese subjects with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Int J Obes (Lond)*.
143. Ondo, W. G., Jankovic, J., Connor, G. S., Pahwa, R., Elble, R., Stacy, M. A., et al. (2006) Topiramate in essential tremor: a double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology* **66**, 672-7.
144. Kotwal, R., Guerdjikova, A., McElroy, S. L. und Keck, P. E., Jr. (2006) Lithium augmentation of topiramate for bipolar disorder with comorbid binge eating disorder and obesity. *Hum Psychopharmacol* **21**, 425-31.
145. Teter, C. J., Early, J. J. und Gibbs, C. M. (2000) Treatment of affective disorder and obesity with topiramate. *Ann Pharmacother* **34**, 1262-5.
146. Johnson, B. A. (2004) Topiramate-induced neuromodulation of cortico-mesolimbic dopamine function: a new vista for the treatment of comorbid alcohol and nicotine dependence? *Addict Behav* **29**, 1465-79.
147. Johnson, B. A., Ait-Daoud, N., Akhtar, F. Z. und Javors, M. A. (2005) Use of oral topiramate to promote smoking abstinence among alcohol-dependent smokers: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* **165**, 1600-5.
148. Johnson, B. A., Ait-Daoud, N., Bowden, C. L., DiClemente, C. C., Roache, J. D., Lawson, K., et al. (2003) Oral topiramate for treatment of alcohol dependence: a randomised controlled trial. *Lancet* **361**, 1677-85.
149. Appolinario, J. C., Fontenelle, L. F., Papelbaum, M., Bueno, J. R. und Coutinho, W. (2002) Topiramate use in obese patients with binge eating disorder: an open study. *Can J Psychiatry* **47**, 271-3.
150. McElroy, S. L., Arnold, L. M., Shapira, N. A., Keck, P. E., Jr., Rosenthal, N. R., Karim, M. R., et al. (2003) Topiramate in the treatment of binge eating disorder associated with obesity: a randomized, placebo-controlled trial. *Am J Psychiatry* **160**, 255-61.
151. Scozzafava, A., Mastrolorenzo, A. und Supuran, T. C. (2006) Carbonic anhydrase inhibitors and activators and their use in therapy. *Expert Opin. Ther. Patents* **16**, 1627-64.
152. Lynch, C. J., Brennan, W. A., Jr., Vary, T. C., Carter, N. und Dodgson, S. J. (1993) Carbonic anhydrase III in obese Zucker rats. *Am J Physiol* **264**, E621-30.
153. Hazen, S. A., Waheed, A., Sly, W. S., LaNoue, K. F. und Lynch, C. J. (1996) Differentiation-dependent expression of CA V and the role of carbonic anhydrase isozymes in pyruvate carboxylation in adipocytes. *Faseb J* **10**, 481-90.
154. Spicer, S. S., Ge, Z. H., Tashian, R. E., Hazen-Martin, D. J. und Schulte, B. A. (1990) Comparative distribution of carbonic anhydrase isozymes III and II in rodent tissues. *Am J Anat* **187**, 55-64.
155. Lynch, C. J., Hazen, S. A., Horetsky, R. L., Carter, N. D. und Dodgson, S. J. (1993) Differentiation-dependent expression of carbonic anhydrase II and III in 3T3 adipocytes. *Am J Physiol* **265**, C234-43.
156. Lynch, C. J., Fox, H., Hazen, S. A., Stanley, B. A., Dodgson, S. und Lanoue, K. F. (1995) Role of hepatic carbonic anhydrase in de novo lipogenesis. *Biochem J* **310** (Pt 1), 197-202.

157. Innocenti, A., Vullo, D., Scozzafava, A., Casey, J. R. und Supuran, C. (2005) Carbonic anhydrase inhibitors. Interaction of isozymes I, II, IV, V, and IX with carboxylates. *Bioorg Med Chem Lett* **15**, 573-8.
158. Epstein, D. L. und Grant, W. M. (1977) Carbonic anhydrase inhibitor side effects. Serum chemical analysis. *Arch Ophthalmol* **95**, 1378-82.
159. Reiss, W. G. und Oles, K. S. (1996) Acetazolamide in the treatment of seizures. *Ann Pharmacother* **30**, 514-9.
160. http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/obesity/prctgd_c.pdf.
161. Hutton, B. und Fergusson, D. (2004) Changes in body weight and serum lipid profile in obese patients treated with orlistat in addition to a hypocaloric diet: a systematic review of randomized clinical trials. *Am J Clin Nutr* **80**, 1461-8.
162. Wadden, T. A., Berkowitz, R. I., Womble, L. G., Sarwer, D. B., Phelan, S., Cato, R. K., et al. (2005) Randomized trial of lifestyle modification and pharmacotherapy for obesity. *N Engl J Med* **353**, 2111-20.
163. Sjöström, C. D., Peltonen, M., Wedel, H. und Sjöström, L. (2000) Differentiated long-term effects of intentional weight loss on diabetes and hypertension. *Hypertension* **36**, 20-5.
164. Katz, A., Nambi, S. S., Mather, K., Baron, A. D., Follmann, D. A., Sullivan, G., et al. (2000) Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* **85**, 2402-10.
165. Channon, E. J. und McEntegart, D. J. (2001) Confidence intervals and p-values for Williams' and other step-down multiple comparison tests against control. *J Biopharm Stat* **11**, 45-63.
166. Lange, J. H., Coolen, H. K., van Stuivenberg, H. H., Dijksman, J. A., Herremans, A. H., Ronken, E., et al. (2004) Synthesis, biological properties, and molecular modeling investigations of novel 3,4-diarylpyrazolines as potent and selective CB(1) cannabinoid receptor antagonists. *J Med Chem* **47**, 627-43.
167. Jbilo, O., Ravinet-Trillou, C., Arnone, M., Buisson, I., Bribes, E., Peleraux, A., et al. (2005) The CB1 receptor antagonist rimonabant reverses the diet-induced obesity phenotype through the regulation of lipolysis and energy balance. *Faseb J* **19**, 1567-9.
168. Miles, J. M., Leiter, L., Hollander, P., Wadden, T., Anderson, J. W., Doyle, M., et al. (2002) Effect of orlistat in overweight and obese patients with type 2 diabetes treated with metformin. *Diabetes Care* **25**, 1123-8.
169. Hsieh, C. J., Wang, P. W., Liu, R. T., Tung, S. C., Chien, W. Y., Chen, J. F., et al. (2005) Orlistat for obesity: benefits beyond weight loss. *Diabetes Res Clin Pract* **67**, 78-83.
170. Rosenfalck, A. M., Hendel, H., Rasmussen, M. H., Almdal, T., Anderson, T., Hilsted, J., et al. (2002) Minor long-term changes in weight have beneficial effects on insulin sensitivity and beta-cell function in obese subjects. *Diabetes Obes Metab* **4**, 19-28.
171. Lafontan, M. (2005) Fat cells: afferent and efferent messages define new approaches to treat obesity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **45**, 119-46.
172. Triscari, J., Nauss-Karol, C., Levin, B. E. und Sullivan, A. C. (1985) Changes in lipid metabolism in diet-induced obesity. *Metabolism* **34**, 580-7.
173. Need, A. B., Davis, R. J., Alexander-Chacko, J. T., Eastwood, B., Chernet, E., Phebus, L. A., et al. (2006) The relationship of in vivo central CB1 receptor occupancy to changes in cortical monoamine release and feeding elicited by CB1 receptor antagonists in rats. *Psychopharmacology (Berl)* **184**, 26-35.

174. Carneheim, C., Nedergaard, J. und Cannon, B. (1988) Cold-induced beta-adrenergic recruitment of lipoprotein lipase in brown fat is due to increased transcription. *Am J Physiol* **254**, E155-61.
175. Ferraro, R. T., Eckel, R. H., Larson, D. E., Fontvieille, A. M., Rising, R., Jensen, D. R., et al. (1993) Relationship between skeletal muscle lipoprotein lipase activity and 24-hour macronutrient oxidation. *J Clin Invest* **92**, 441-5.
176. Nishimori, I., Vullo, D., Innocenti, A., Scozzafava, A., Mastrolorenzo, A. und Supuran, C. T. (2005) Carbonic anhydrase inhibitors. The mitochondrial isozyme VB as a new target for sulfonamide and sulfamate inhibitors. *J Med Chem* **48**, 7860-6.
177. Takahata, T., Kumano, T., Ookawa, K., Hayakari, M., Kakizaki, I. und Tsuchida, S. (2004) Inhibition of 3T3-L1 adipocyte differentiation by 6-ethoxyzolamide: repressed peroxisome proliferator-activated receptor gamma mRNA and enhanced CCAAT/enhancer binding protein beta mRNA levels. *Biochem Pharmacol* **67**, 1667-75.
178. Gomez, R., Navarro, M., Ferrer, B., Trigo, J. M., Bilbao, A., Del Arco, I., et al. (2002) A peripheral mechanism for CB1 cannabinoid receptor-dependent modulation of feeding. *J Neurosci* **22**, 9612-7.
179. Scherer, P. E., Williams, S., Fogliano, M., Baldini, G. und Lodish, H. F. (1995) A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* **270**, 26746-9.
180. Hotta, K., Funahashi, T., Bodkin, N. L., Ortmeier, H. K., Arita, Y., Hansen, B. C., et al. (2001) Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes* **50**, 1126-33.
181. Statnick, M. A., Beavers, L. S., Conner, L. J., Corominola, H., Johnson, D., Hammond, C. D., et al. (2000) Decreased expression of apM1 in omental and subcutaneous adipose tissue of humans with type 2 diabetes. *Int J Exp Diabetes Res* **1**, 81-8.
182. Weyer, C., Funahashi, T., Tanaka, S., Hotta, K., Matsuzawa, Y., Pratley, R. E., et al. (2001) Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* **86**, 1930-5.
183. Yamauchi, T., Kamon, J., Ito, Y., Tsuchida, A., Yokomizo, T., Kita, S., et al. (2003) Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* **423**, 762-9.
184. Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L. und Friedman, J. M. (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* **372**, 425-32.
185. Friedman, J. M. und Halaas, J. L. (1998) Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* **395**, 763-70.
186. Wilkes, J. J., Nelson, E., Osborne, M., Demarest, K. T. und Olefsky, J. M. (2005) Topiramate is an insulin-sensitizing compound in vivo with direct effects on adipocytes in female ZDF rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **288**, E617-24.
187. Wilkes, J. J., Nguyen, M. T., Bandyopadhyay, G. K., Nelson, E. und Olefsky, J. M. (2005) Topiramate treatment causes skeletal muscle insulin sensitization and increased Acrp30 secretion in high-fat-fed male Wistar rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **289**, E1015-22.
188. Ketter, T. A., Post, R. M. und Theodore, W. H. (1999) Positive and negative psychiatric effects of antiepileptic drugs in patients with seizure disorders. *Neurology* **53**, S53-67.

DANKSAGUNG

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Elmar Richter für die Überlassung des Themas, das mir entgegengebrachte Vertrauen und die jederzeit vorhandene Unterstützung und Hilfsbereitschaft bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Dem kommissarischen Vorstand des Institutes, Herrn Professor Dr. Peter Eyer, gilt mein Dank für die Überlassung des Arbeitsplatzes.

Herrn Dr. Peter-Colin Gregory und Herrn Dr. Jochen Antel von der Firma Solvay Pharmaceuticals GmbH danke ich für die finanzielle Unterstützung und die wertvollen Diskussionsbeiträge.

Herzlicher Dank gilt all den Kollegen im Arbeitskreis, die mit ihrer Freundlichkeit und Hilfsbereitschaft stets für ein angenehmes Arbeitsklima sorgten.

Bei Frau Margit Jourdan und Herrn Werner Arndt möchte ich mich für die guten Tipps im Laboralltag und die vielen, manchmal nicht rein wissenschaftlichen Gespräche bedanken.

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Der größte Dank gilt meinen Eltern, die diese Arbeit erst ermöglicht haben.

LEBENS LAUF

Name Hagn
Vorname Magdalena
Geboren am 17.05.1979 in Ingolstadt

Schule:

09/85 – 07/89 Grundschule Auf der Schanz, Ingolstadt
09/89 – 06/98 Christoph-Scheiner-Gymnasium, Ingolstadt
Juni 1998 Abschluss: Abitur

Studium:

11/98 – 03/00 Tiermedizin, Universität München (LMU)
04/00 – 10/06 Humanmedizin, Universität München (LMU)
09/02 – 09/03 Auslandsstudium an der Medizinischen Fakultät der
Universität „La Sapienza“ von Rom / Italien
08/2005 – 07/2006 Praktisches Jahr:
08/05 – 11/05 Innere Medizin: Ospedale Civico Lugano / Schweiz
12/05 – 03/06 Chirurgie: Hospital de Clínicas Montevideo / Uruguay
04/06 – 07/06 Urologie: Hôpital Cochin Paris / Frankreich
Oktober 2006 Abschluss: Staatsexamen, Universität München (LMU)

Promotion:

seit 11/03 Anfertigung einer tierexperimentellen Doktorarbeit im
Arbeitskreis Prof. Dr. E. Richter am Walther-Straub-
Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Ludwig-
Maximilians-Universität München

Berufliche Tätigkeit:

seit 12/06 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Walther-Straub-
Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Ludwig-
Maximilians-Universität München