

Aus dem Walther-Straub-Institut für Pharmakologie und Toxikologie

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. T. Gudermann

**Etablierung eines Studiendesigns zur Untersuchung des
Einflusses von Topiramate auf das Körpergewicht und den
Insulin- und Fettstoffwechsel in tierexperimentellen
Modellen der humanen Adipositas**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Michaela Veronika Bonfert

aus

München

2010

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. Elmar Richter

**Mitberichterstatter: Prof. Dr. Jochen Seißler
Prof. Dr. Peter Weisweiler
Prof. Dr. Detlef Kunze**

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 22.04.2010

Meinem Vater

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Definition von Übergewicht und Adipositas	1
1.1.1	Body Mass Index (BMI)	1
1.1.2	Taillenumfang und Waist-to-hip-ratio (WHR).....	2
1.2	Epidemiologische Daten zu Übergewicht und Adipositas	3
1.3	Ökonomische Daten zu Übergewicht und Adipositas	5
1.4	Ätiologie von Übergewicht und Adipositas	6
1.4.1	Physiologie - positive Energiebilanz	6
1.4.2	Pathophysiologie - multifaktorielle Genese.....	6
1.5	Folgen von Übergewicht und Adipositas.....	8
1.5.1	Metabolisches Syndrom	8
1.5.2	Kardiovaskuläre Erkrankungen.....	9
1.5.3	Diabetes mellitus Typ II	10
1.5.4	Krebserkrankungen	10
1.5.5	Krankheiten des Bewegungsapparates	10
1.5.6	Psychosoziale Folgen.....	11
1.5.7	Mortalität	11
1.6	Etablierte Therapie bei Übergewicht und Adipositas	12
1.6.1	Therapieindikationen	12
1.6.2	Therapieziele	13
1.6.3	Ernährungstherapie	14
1.6.4	Bewegungstherapie	15
1.6.5	Verhaltenstherapie.....	15
1.6.6	Chirurgische Therapie	15
1.6.7	Pharmakologische Therapie	16
1.7	Neuer medikamentöser Therapieansatz bei Übergewicht und Adipositas: Topiramate (Topamax®).....	18
1.7.1	Chemische Struktur von Topiramate	18
1.7.2	Pharmakodynamik von Topiramate	19
1.7.3	Pharmakokinetik von Topiramate	19
1.7.4	Klinischer Einsatz von Topiramate	20
1.7.5	Nebenwirkungen von Topiramate.....	20
1.7.6	Klinische Daten zum Gewichtsverlust unter Topiramate-Therapie.....	20
1.7.7	Erste Tierexperimentelle Daten zum Gewichtsverlust unter Topiramate- Therapie.....	21
1.8	Ziele dieser Arbeit	22
2	Material und Methodik.....	23
2.1	Rahmenbedingungen.....	23
2.2	Material	23

2.2.1	Versuchstiere und Haltung	23
2.2.2	Chemikalien	25
2.2.3	Materialien / Geräte zur Herstellung der Lösungen / Suspensionen	25
2.2.4	Herstellen der Lösungen / Suspensionen	25
2.2.5	Analytik	29
2.2.6	Auswertung der Daten	30
2.3	Methodik.....	30
2.3.1	Durchführung der Tierversuche	30
2.3.2	Analytik	42
2.3.3	Auswertung der Daten	47
3	Ergebnisse	48
3.1	Tierversuch	48
3.1.1	Vorbemerkungen	48
3.1.2	Körpergewicht.....	48
3.1.3	Futteraufnahme	57
3.1.4	Wasseraufnahme.....	63
3.1.5	Entwicklung der Tiere unter Berücksichtigung der Einteilung der behandel- ten Tiere in Responder und Non-Responder.....	71
3.2	Analytische Ergebnisse.....	74
3.2.1	Vorbemerkungen	74
3.2.2	Organgewichte.....	75
3.2.3	Insulinkonzentrationen im Plasma bei <i>fa/fa</i> Zuckerratten	78
3.2.4	Triglyzeridgehalte des Plasmas und der Organe bei <i>fa/fa</i> Zuckerratten.....	79
3.2.5	Triglyzeridgebundene Radioaktivität bei <i>fa/fa</i> Zuckerratten.....	81
4	Diskussion.....	85
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	85
4.1.1	Optimales Studiendesign.....	85
4.1.2	Beobachtungen bei <i>fa/fa</i> Zuckerratten (V1 und V4)	86
4.1.3	Beobachtungen bei <i>db/db</i> Mäusen	91
4.2	Topiramat.....	93
4.3	Limitationen dieser Arbeit.....	97
4.4	Ausblick - Topiramat als Antiadiposium	98
5	Zusammenfassung.....	99
6	Literaturverzeichnis	101
7	Tabellenanhang	116

Abkürzungsverzeichnis

AHA	American Heart Association
AMPA	Aminohydroxymethylisoxazolpropionsäure
Aqua dest.	Aqua destillata
BIP	Bruttoinlandsprodukt
BMI	Body Mass Index
CA	Carboanhydrase
CB1-Rezeptor	selektiver Cannabinoid Typ I-Rezeptor
CMC	Carboxymethylcellulose
cpm	counts per minute
CYP	Cytochrom P450 System
dpm	disintegrations per minute
ETZ	Ethoxazolamid
GABA	Gammaaminobuttersäure
GPO	Glycerophosphatoxidase
i.p.	intraperitoneal
KG	Körpergewicht
KHK	koronare Herzkrankheit
LPL	Lipoproteinlipase
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MW	Mittelwert
N	Anzahl
n.s.	nicht signifikant
NIH	National Institute of Health
NSB	unspezifische Bindung (non specific binding)
PAP	Peroxidase
PEG	Polyethylenglykol
rpm	Umdrehungen pro Minute (rounds per minute)
S.D.	Standardabweichung (standard deviation)
S.E.	Standardfehler (standard error)
TA	Totalaktivität
TPM	Topiramat
WHO	World Health Organisation
WHR	Waist-to-hip-ratio
V1	Versuch 1
V2	Versuch 2
V2A	Versuchsreihe innerhalb V2, Behandlungsdauer 7 Tage
V3	Versuch 3
V4	Versuch 4
C	Kontrollgruppe
CP	Kontrollpaarfütterungsgruppe
E	Ethoxazolamid-Gruppe
EP	Ethoxazolamid-Paarfütterungsgruppe
T	Topiramat-Gruppe
T7	Topiramat-Gruppe, Behandlungsdauer 7 Tage
TP	Topiramat-Paarfütterungsgruppe

1 Einleitung

Bei der vorliegenden Dissertation handelt es sich um eine tierexperimentelle Arbeit zur Evaluation eines neuen medikamentösen Therapieansatzes zur Behandlung von Übergewicht und Adipositas.

1.1 Definition von Übergewicht und Adipositas

Bei Übergewicht handelt es sich um eine Erhöhung des Körpergewichtes auf Grund einer pathologischen Zunahme des Körperfettgewebes. Ab einem bestimmten Grad spricht man von Adipositas.

1.1.1 Body Mass Index (BMI)

Als etabliertes Standardmaß zur Klassifikation von Unter-, Normal-, Übergewicht und Adipositas bei erwachsenen Personen (Alter ≥ 18 Jahren) gilt der Body Mass Index (BMI) [1]. Der BMI errechnet sich aus dem Quotienten von Gewicht und Körpergröße im Quadrat (kg/m^2). Die WHO definiert Übergewicht als $\text{BMI} \geq 25 \text{ kg}/\text{m}^2$, Adipositas als $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg}/\text{m}^2$ (Tabelle 1-1) [2]. Für die Berechnung des BMI und die Einteilung der Gewichtsklassen spielen Geschlecht und Alter keine Rolle.

Tabelle 1-1: Gewichtsklassifikation bei Erwachsenen nach BMI und assoziiertes Komorbiditätsrisiko (Diabetes mellitus Typ 2, arterieller Hypertonus, koronare Herzerkrankung); modifiziert nach [2].

Klassifikation	BMI (kg/m^2)	Komorbiditätsrisiko
Untergewicht	<18,5	niedrig
Normalgewicht	18,5-24,9	durchschnittlich
Übergewicht	$\geq 25,0$	
• Präadipositas	25,0-29,9	gering erhöht
• Adipositas Grad I	30,0-34,9	erhöht
• Adipositas Grad II	35,0-39,9	hoch
• Adipositas Grad III	$\geq 40,0$	sehr hoch

Bei Kindern und Jugendlichen unterliegt der BMI typischen alters- und geschlechtsspezifischen Veränderungen durch das Wachstum und die Pubertätsentwicklung und den damit verbundenen Änderungen der Körperzusammensetzung. Deshalb wurden für die Bestimmung von Übergewicht und Adipositas im Wachstumsalter populationsspezifische alters-

bezogene BMI-Perzentilen für Jungen und Mädchen im Alter von 2-18 Jahren erarbeitet [3]. Übergewicht wird entsprechend der deutschen Leitlinie als BMI ≥ 90 . Perzentile, Adipositas als BMI ≥ 97 . Perzentile definiert (Abbildung 1-1) [4,5]. Als Grundlage dient der Verlauf des BMI von Kindern, die im Alter von 18 Jahren gerade den Wert für Übergewicht (BMI 25) bzw. Adipositas (BMI 30) erreichen.

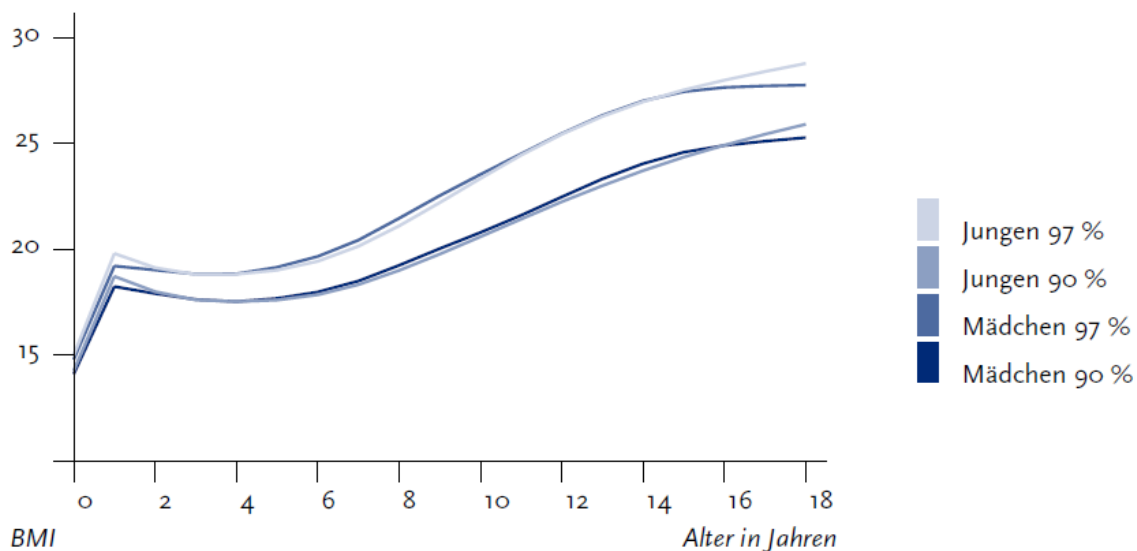


Abbildung 1-1: 90%- und 97%-Perzentile des BMI nach Alter und Geschlecht in Deutschland [6].

Bei Kindern bis 2 Jahren findet zur Beurteilung von Übergewicht die Perzentilenkurve zur Beurteilung des Verhältnisses von Gewicht und Größe Verwendung.

1.1.2 Taillenumfang und Waist-to-hip-ratio (WHR)

Zur Beurteilung eines erhöhten Risikos für Folgeerkrankungen von Übergewicht und Adipositas wird neben dem BMI auch der Taillenumfang herangezogen. Er dient als einfaches Maß zur Beurteilung des viszeralen Fettdepots [7,8]. Ab einem Umfang von ≥ 88 cm bei Frauen und ≥ 102 cm bei Männern besteht eine viszerale Adipositas [2].

Die waist-to-hip-ratio (WHR) ist ein Parameter, der Aufschluss über das Fettverteilungsmuster gibt. Sie wird aus dem Quotienten von Taillen- und Hüftumfang ermittelt. Messpunkt am stehenden Patienten für den Taillenumfang ist der Mittelpunkt zwischen Unterrand des Rippenbogens und Beckenkamm und für den Hüftumfang der Umfang auf Höhe des Trochanter major. Die WHR lässt eine Einteilung in androide (stammbetonte / viszerale) und gynoide (hüftbetonte / omentale) Fettverteilung zu. Eine androide Fettverteilung besteht bei Frauen mit einer WHR $>0,85$, bei Männern mit einer WHR $>1,00$ [1].

Insbesondere dem androiden Fettverteilungsmuster bzw. der viszeralen Adipositas wird ein erhöhtes Risiko für Folgeerkrankungen vor allem im metabolischen und kardiovaskulären Bereich beigemessen (Tabelle 1-2) [9-12].

Tabelle 1-2: Risiko für adipositas-assoziierte Komplikationen entsprechend Taillenumfang und Waist-to-hip-ratio (WHR), modifiziert nach [13].

	Taillenumfang	WHR	Komorbiditätsrisiko
Männer	≥94 cm	>1,00	erhöht
Frauen	≥80 cm	>0,85	
Männer	≥102 cm		stark erhöht
Frauen	≥88 cm		

1.2 Epidemiologische Daten zu Übergewicht und Adipositas

Weltweit stellen Übergewicht und Adipositas ein wachsendes epidemisches Gesundheitsproblem dar. Die Prävalenz nimmt mit einer Verdreifachung in den letzten 20 Jahren rapide zu. Hochrechnungen gehen von 150 Mio. betroffenen Erwachsenen und 15 Mio. betroffenen Kindern im Jahr 2010 aus [14,15].

Im Rahmen der IDEA-Studie (International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity) wurden BMI-Daten von 168 000 Personen in 63 Ländern erhoben. Insgesamt wurden in allen beteiligten Regionen ca. 40% der Männer und 30% der Frauen als übergewichtig (BMI 25-29,9 kg/m²) eingestuft. Die Prävalenz der Adipositas (BMI ≥30 kg/m²) zeigt dagegen regionale Unterschiede. Sie reicht geschlechtsunabhängig von 7% in Asien bis 36% in Kanada und liegt bei Frauen aus dem Mittleren Osten und Afrika mit 38-40% am höchsten (Abbildung 1-2) [16].

Die höchste Prävalenz von Übergewicht und Adipositas zeigt sich nach wie vor in den USA. Hier sind zwei Drittel der Einwohner als übergewichtig (BMI ≥25 kg/m²), ein Drittel als adipös (BMI ≥30 kg/m²) und 4,8% als extrem adipös (BMI ≥35 kg/m²) einzustufen [17,18]. In Europa gelten je nach Region zwischen 25% bis 75% der Erwachsenen als übergewichtig (BMI ≥25 kg/m²), und 5-20% der Männer sowie bis zu 30% der Frauen als adipös (BMI ≥30 kg/m²) [19,20].

In Deutschland gilt lediglich ein Drittel der Männer und etwa die Hälfte der Frauen als normalgewichtig. 50% der Männer und 30% der Frauen werden als übergewichtig (BMI 25–30 kg/m²), 17% der Männer und 20% der Frauen als adipös (BMI ≥30 kg/m²) klassifiziert [21]. Der Anteil Übergewichtiger ist in allen Altersgruppen bei Männern höher als bei Frauen. Adipositas ist bei Frauen und Männern im Alter von 30-60 Jahren gleich häufig, im Alter >60 Jahre sind Frauen häufiger von Adipositas betroffen (Abbildung 1-3) [22].

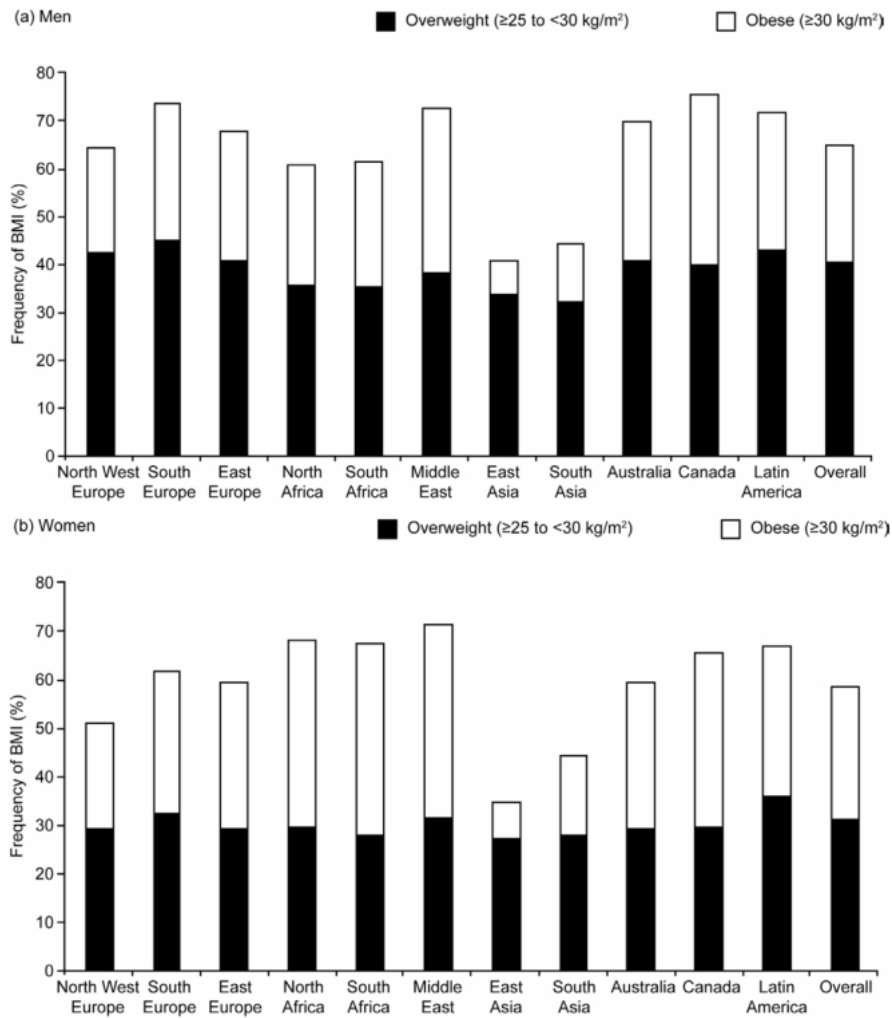


Abbildung 1-2: Weltweite Häufigkeit von Übergewicht (BMI 25-29,9 kg/m²) und Adipositas (BMI ≥30 kg/m²) bei Männern (a) und Frauen (b) [16].

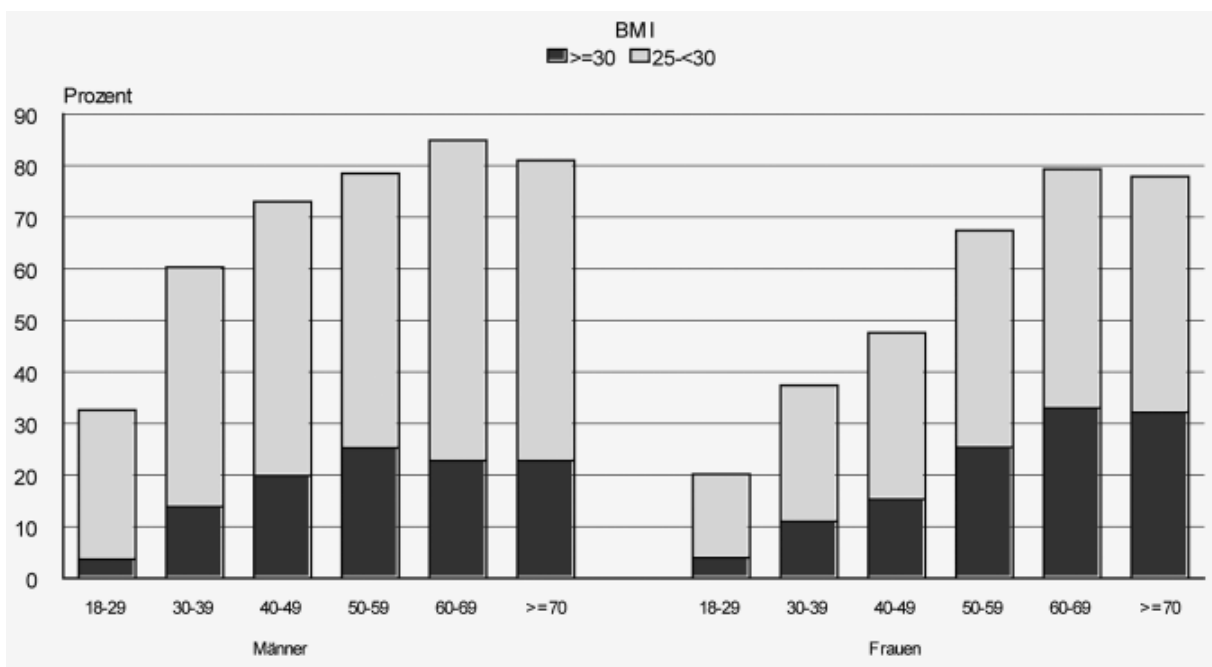


Abbildung 1-3: BMI-Verteilung nach Geschlecht und Alter in Deutschland (in %) [21].

Als alarmierend muss die ausgeprägte Zunahme von Übergewicht und Adipositas bei Kindern und Jugendlichen angesehen werden (Abbildung 1-4). In den USA zählt bereits ein Drittel der Kinder und Jugendlichen entsprechend der US-amerikanischen Definition als übergewichtig (BMI >85. Perzentile) [23,24]. In den Regionen der Europäischen Union werden 10-30% der Kinder im Alter von 7-11 Jahren und 8-25% der Jugendlichen als übergewichtig (BMI >90. Perzentile) eingestuft [20]. In Deutschland stieg die Prävalenz von Übergewicht im Kindesalter um 50% und von Adipositas um 100% in den letzten 10 Jahren. Es gelten aktuell 15% der deutschen Kinder und Jugendlichen (3-17 Jahre) als übergewichtig (BMI >90. Perzentile), 6,3% als adipös (BMI >97. Perzentile) [25].

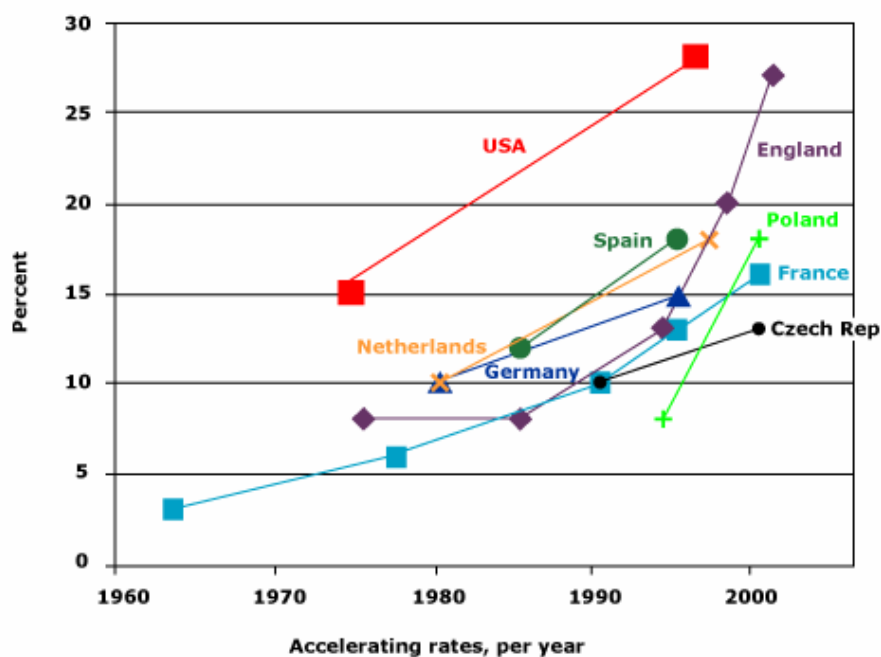


Abbildung 1-4: Anstieg der Prävalenz von Übergewicht im Kindesalter (5-11 Jahre) in Europa und den USA von 1965 bis 2000 [26].

Die Relevanz dieses Zuwachses an übergewichtigen Kindern und Jugendlichen wird deutlich, wenn bekannt ist, dass jeder 3. übergewichtige Amerikaner dies bereits in seiner Kindheit war [5]. In Kindes- und Jugendalter erworbene Adipositas persistiert häufig im Erwachsenenalter [27,28].

1.3 Ökonomische Daten zu Übergewicht und Adipositas

Übergewicht und Adipositas stellen eines der schwerwiegendsten Probleme für die öffentliche Gesundheit im 21. Jahrhundert dar. Sie führen zu einer beträchtlichen Belastung des Gesundheitssystems durch Inanspruchnahme von bis zu 6% der gesamten Gesundheitsausgaben einer Region. In der Europäischen Union sind jährlich 1 Mio. Todesfälle und 12 Mio. krank verbrachte Lebensjahre durch Übergewicht und Adipositas verursacht [29]. Neben den

direkten Kosten für die Behandlung der assoziierten Folgekrankheiten, fallen somit auch indirekte Kosten durch Produktivitätsverluste durch krankheitsbedingte Fehlzeiten und vorzeitigen Tod ins Gewicht. Die immateriellen Kosten durch psychische Probleme und eine geringere Lebensqualität der Betroffenen müssen ebenfalls berücksichtigt werden. In den USA haben adipöse Patienten 36% und übergewichtige Patienten 10% höhere jährliche Gesundheitsausgaben als normalgewichtige Personen [30]. Die jährlich durch Übergewicht und Adipositas verursachten Gesamtkosten betragen in Deutschland 0,2% des Bruttoinlandproduktes (BIP), in USA 1,2% des BIP [31].

1.4 Ätiologie von Übergewicht und Adipositas

1.4.1 Physiologie - positive Energiebilanz

Ursächlich für Übergewicht und Adipositas ist eine persistierende positive Energiebilanz. Die tägliche Kalorienaufnahme liegt dabei über einen längeren Zeitraum über dem Energieverbrauch des Organismus. Die überschüssige Energie wird in Form von Triglyzeriden gespeichert, es kommt zu einer pathologischen Zunahme des Körperfettgewebes. Entsprechend der Set-Point-Hypothese kommt es bei länger anhaltender positiver Energiebilanz zu einer Verschiebung des Set-Points nach oben, ein höheres Gewicht wird als „Normalgewicht“ toleriert [32]. Diese Regulation des Körpergewichtes und des Energieverbrauches unterliegt multiplen physiologischen Steuerungsmechanismen (Grundumsatz, Thermogenese, Fettoxidation, Sättigungsempfinden durch z.B. Leptin oder Neuropeptid Y, Adipozytendifferenzierung).

1.4.2 Pathophysiologie - multifaktorielle Genese

Pathogenetisch handelt es sich bei Übergewicht und Adipositas um multifaktoriell bedingte Erkrankungen. Neben einer genetischen Prädisposition spielen endo- und exogene Faktoren eine Rolle.

Untersuchungen an Kollektiven von Zwillingen und Adoptivkindern bestätigen den Einfluss einer genetischen Komponente für das Auftreten von Übergewicht und Adipositas [33,34]. Nur in wenigen Fällen ist jedoch von einer monogenen Ursache auszugehen. So wird das Symptom Adipositas in Zusammenhang mit seltenen genetischen Syndromen, wie z.B. dem Prader-Willi-, dem Bardet-Biedl- und dem Ulrich-Turner-Syndrom, beobachtet. Bei Mitgliedern zweier konsanguiner Familien konnte als Ursache der Adipositas ein kongenitaler Leptinmangel durch eine Mutation im *ob*-Gen nachgewiesen werden [35]. In den meisten Fällen muss aber ein polygenes Vererbungsmuster angenommen werden. Die entsprechenden Kandidatengene betreffen die Regulation des Gewichts und des Energieverbrauchs [36-39].

Als endogene Faktoren, die Übergewicht und Adipositas bedingen können, sind z.B. endokrine Erkrankungen wie Hypothyreose und Hyperkortisolismus, Hypothalamus- und Hypophysentumoren und Krankheiten aus dem psychosomatischen bzw. psychiatrischen Formenkreis wie Essstörungen und Depression zu nennen. Daneben spielen möglicherweise erworbene Infektionen mit Adenoviren eine Rolle [40-42].

Den größten Einfluss auf das Entstehen von Übergewicht und Adipositas haben exogene Faktoren. Insbesondere Lebensgewohnheiten, die zu einer Steigerung der Energieaufnahme und zu einem Sinken des Energieverbrauchs führen, stehen hier im Vordergrund. Eine große Rolle spielen ungesunde und unausgewogene Ernährung und Bewegungsmangel sowie Fernsehen [43-47]. Diese Punkte stehen häufig in direktem Zusammenhang mit dem soziokulturellen Hintergrund. Gegenüber Populationen mit höherem Bildungsniveau zeigt sich in den unteren sozialen, bildungsfernen Schichten eine höhere Prävalenz von Übergewicht und Adipositas (Abbildung 1-5 und 1-6) [18,21].

Als weitere exogene Faktoren, die in Zusammenhang mit Übergewicht und Adipositas stehen, ist die Einnahme von Medikamenten wie z.B. Glukokortikoide, Neuroleptika, trizyklische Antidepressiva und einige Antiepileptika zu nennen [48,49].

Eine exogene übermäßige Stressbelastung [50] und Schlafmangel sind ebenfalls mit Übergewicht assoziiert [51].

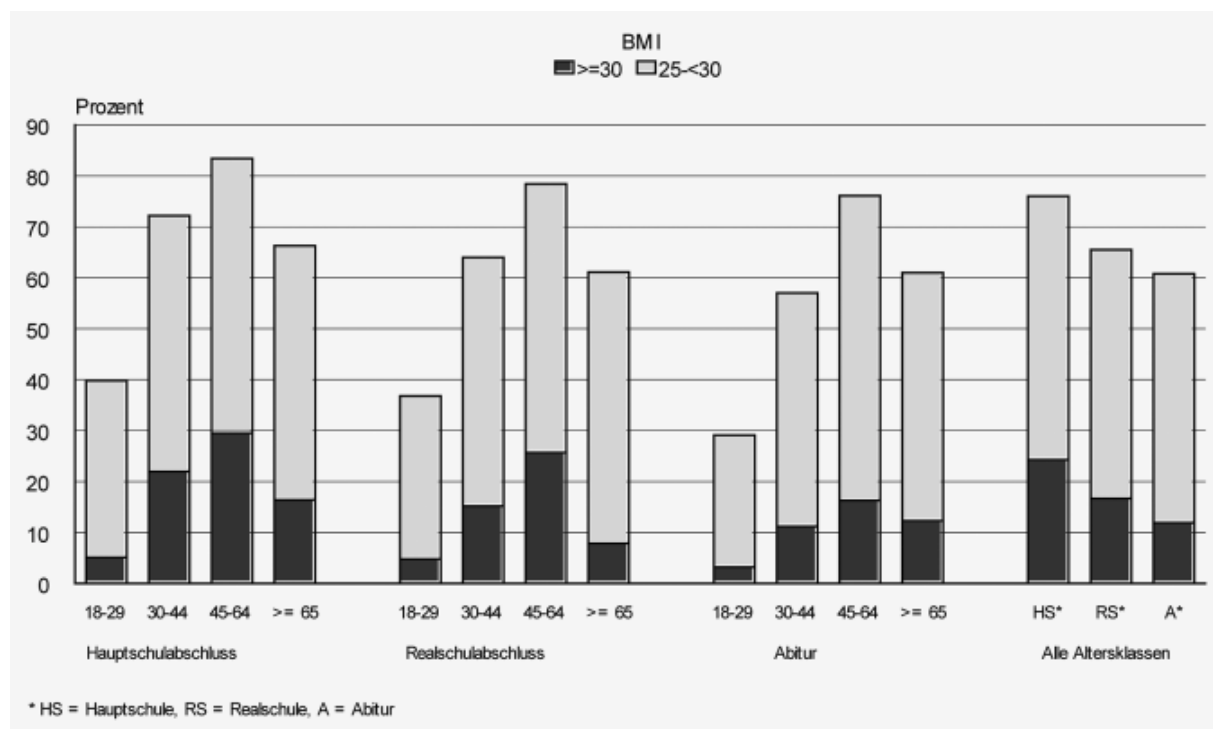


Abbildung 1-5: BMI-Verteilung nach Alter und Schulabschluss (in %) bei Männern in Deutschland [21].

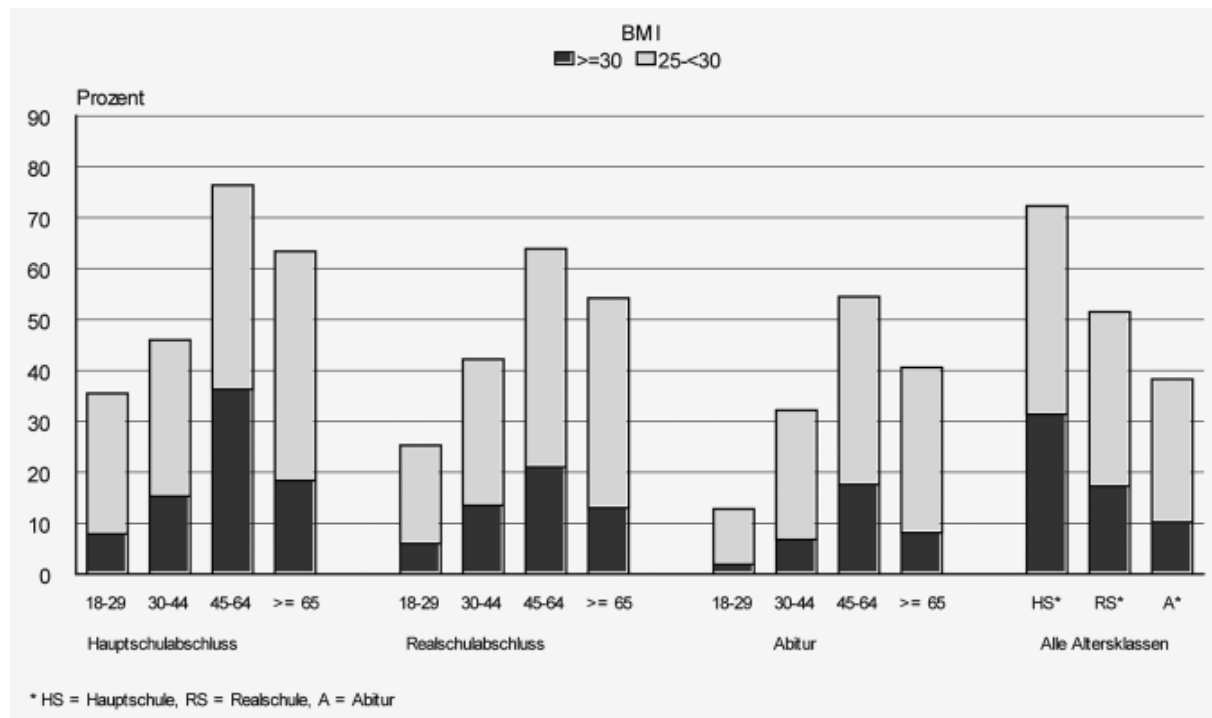


Abbildung 1-6: BMI-Verteilung nach Alter und Schulabschluss (in %) bei Frauen in Deutschland [21].

In punkto Übergewicht und Adipositas bei Kindern und Jugendlichen spielt neben den genannten genetischen Faktoren die familiärer Komponente durch Weitergabe von (schlechten) Gewohnheiten eine bedeutende Rolle [52]. Kinder von übergewichtigen Eltern haben ein doppelt so hohes Risiko selbst übergewichtig zu werden als Kinder von normalgewichtigen Eltern [53]. Entsprechend einiger Studien hat Stillen einen protektiven Effekt, der proportional zur Stilldauer ist [54-57]. Mütterliches Rauchen und eine diabetische Stoffwechsellage während der Schwangerschaft stellen Risikofaktoren für Übergewicht und Adipositas der Kinder dar [58-60].

1.5 Folgen von Übergewicht und Adipositas

Übergewicht und Adipositas sind mit einer Vielzahl chronischer Krankheiten assoziiert. Neben weniger schwerwiegenden Erkrankungen wie z.B. gastroösophagealem Reflux, Hyperurikämie und Gicht, Cholelithiasis sowie dem obstruktiven Schlafapnoesyndrom, stellen das metabolische Syndrom, kardiovaskuläre Erkrankungen, Diabetes mellitus Typ 2 und Krebserkrankungen die wesentlichen Hauptkomplikationen dar. Daneben stehen Erkrankungen des Bewegungsapparates und psychosoziale Probleme im Vordergrund.

1.5.1 Metabolisches Syndrom

Das metabolische Syndrom stellt eine Konstellation aus Übergewicht / Adipositas, arterieller Hypertonie, gestörter Glukosetoleranz / Diabetes mellitus Typ 2 und Fettstoffwechselstörung

dar, die mit einem deutlich erhöhten kardiovaskulären Risiko einhergeht [61,62]. Entsprechend der American Heart Association (AHA) wird ein metabolisches Syndrom diagnostiziert, wenn 3 der 5 folgenden Kriterien zutreffen [63]:

- erhöhter Taillenumfang: Männer ≥ 102 cm, Frauen ≥ 88 cm
- erhöhte nüchtern Triglyzeride: ≥ 150 mg/dl bzw. medikamentöse Behandlung einer Hypertriglyzeridämie
- niedriges nüchtern HDL-Cholesterin: Männer < 40 mg/dl, Frauen < 50 mg/dl bzw. medikamentöse Behandlung einer Hypo-HDL-Cholesterinämie
- arterieller Hypertonus: ≥ 130 mm Hg Systole oder ≥ 85 mm Hg Diastole bzw. medikamentöse Behandlung eines arteriellen Hypertonus
- erhöhte Nüchternblutglukose: ≥ 100 mg/dl bzw. medikamentöse Behandlung einer erhöhten Nüchternblutglukose

Berichte aus dem Jahr 2007 zeigen in den USA eine Prävalenz des metabolischen Syndroms bei Erwachsenen von 35%, in Deutschland von 18,7% [64,65]. Die Prävalenz steigt proportional zum Gewicht. Dies gilt auch für Kinder und Jugendliche [66,67]. Nach Anpassung der Kriterien auf das Kindes- und Jugendalter kann 4% der US-amerikanischen Jugendlichen und ca. 30% der übergewichtigen US-amerikanischen Jugendlichen die Diagnose metabolisches Syndrom zugeordnet werden. Verwendet wurde folgende modifizierte Klassifikation; ein metabolisches Syndrom liegt vor, wenn 3 oder mehr Kriterien zutreffen [68]:

- Taillenumfang: ≥ 90 . Perzentile
- erhöhte nüchtern Triglyzeride: ≥ 110 mg/dl
- niedriges nüchtern HDL-Cholesterin: ≤ 40 mg/dl
- arterieller Hypertonus: Systole oder Diastole > 90 . Perzentile entsprechend Geschlecht und Alter
- erhöhte Nüchternblutglukose: ≥ 110 mg/dl

In Europa trifft die Diagnose bereits auf über eine Million adipöse Kinder zu [69].

1.5.2 Kardiovaskuläre Erkrankungen

Übergewicht stellt neben Nikotinabusus, Fettstoffwechselstörungen und Diabetes mellitus Typ 2 den kardiovaskulären Hauptrisikofaktor dar. So korreliert der BMI direkt proportional mit der Hypertonieprävalenz [70,71]. Arterielle Hypertonie wiederum ist ein Risikofaktor für koronare Herzerkrankung (KHK) und Arteriosklerose. Die Prävalenz der KHK steigt proportional zum BMI. Ein Anstieg des Körpergewichts um 10% erhöht das KHK-Risiko um 20% [72]. Bei Frauen ist bei einem BMI zwischen 25 und 28,9 kg/m² das relative Risiko für

KHK zweimal, bei einem BMI ≥ 29 kg/m² dreimal höher als bei einem BMI < 21 kg/m² [73]. Bei Männern ist ab einem BMI $\geq 27,6$ kg/m² das relative Risiko für KHK verdoppelt gegenüber einem BMI $< 22,8$ kg/m² [74]. Herzinsuffizienz ist eine weitere häufige Komplikation bei adipösen Patienten. Das Risiko einer Herzinsuffizienz steigt bei Männern um 5% und bei Frauen um 7% pro Zunahme des BMI um 1 kg/m² [75]. Übergewicht prädestiniert daneben für Herzrhythmusstörungen [76,77]. Das Apoplex-Risiko ist bei Frauen mit einem BMI > 27 kg/m² um 75% und bei einem BMI > 32 kg/m² um 137% größer als bei einem BMI < 21 kg/m² [78]. Bei Männern mit einem BMI ≥ 30 kg/m² ist das Schlaganfallrisiko gegenüber Männern mit einem BMI < 23 kg/m² verdoppelt [79].

1.5.3 Diabetes mellitus Typ II

90% der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 sind zum Zeitpunkt der Erstmanifestation als übergewichtig einzustufen [80]. Das Risiko einen Diabetes mellitus Typ 2 zu entwickeln steigt mit zunehmendem Ausmaß und Dauer der Übergewichtigkeit [81,82]. Wie aus der Nurses Health Study hervorgeht, steigt bei Frauen das Erkrankungsrisiko bereits signifikant bei einem BMI zwischen 23 und 24,9 kg/m², eine Adipositas Grad II ist mit einem 30-fach erhöhten Risiko assoziiert [83,84]. Die Health Professionals Study zeigte bei Männern ein 40-fach erhöhtes Risiko bei Vorliegen einer Adipositas Grad III im Vergleich zu Normalgewicht [85,86].

1.5.4 Krebserkrankungen

Einige Malignome treten gehäuft in Zusammenhang mit Übergewicht und Adipositas auf. Es wird vermutet, dass sowohl das Übergewicht selbst als auch die assoziierten negativen Ernährungs- und Lebensgewohnheiten die Kanzerogenese beeinflussen [87]. Eine Metaanalyse zeigte bei einem Anstieg des BMI um 5 kg/m² einen relevanten Anstieg der Prävalenz von Ösophagus- und Nierenzellkarzinomen bei beiden Geschlechtern, von Schilddrüsen- und Kolonkarzinomen bei Männern und von Endometrium- und Gallenblasenkarzinomen bei Frauen [88]. Daneben treten bei Frauen gehäuft weitere gynäkologische Tumoren (Zervix-, Ovarial- und Mamma-Karzinom) und bei Männern Magen- und Prostatakarzinome sowie bei beiden Geschlechtern Leber- und Pankreaskarzinome sowie Non-Hodgkin-Lymphome auf. Übergewichtassoziierte Krebserkrankungen verursachen in den USA 14% der Todesfälle bei Männern und 20% der Todesfälle bei Frauen [89].

1.5.5 Krankheiten des Bewegungsapparates

Übergewicht und Adipositas gehen mit einer erhöhten mechanischen Belastung des Bewegungsapparates einher. Zusammen mit einer vermehrten Ausschüttung von Hormonen, Zytokinen und Wachstumsfaktoren aus dem Fettgewebe führt diese langfristig zu

pathologischen Veränderungen der Gelenke vor allem der Wirbelsäule und der unteren Extremität. Folgen sind Schmerzen und körperliche Behinderung [90,91].

1.5.6 Psychosoziale Folgen

Übergewicht führt häufig zur Stigmatisierung der betroffenen Person. Eine US-amerikanische prospektive Studie zeigte, dass Übergewichtige häufiger eine schlechtere Schulbildung und ein geringeres Einkommen als Normalgewichtige vorweisen können. Dies betrifft vor allem übergewichtige Frauen. Übergewichtige Frauen und Männer sind seltener verheiratet als normalgewichtige Personen. Der Einfluss von Übergewicht auf diese Parameter ist höher als der Einfluss anderer chronischer Erkrankungen (z.B. Asthma bronchiale, Epilepsie, Sehbehinderung) [92].

Die Zusammenhänge zwischen Depression und Übergewicht sind komplex. Multiple Studien zeigen, dass Depressionen bei Übergewichtigen häufiger als bei Normalgewichtigen beobachtet werden [93-95]. Das gleiche gilt für Angststörungen [96].

1.5.7 Mortalität

Übergewicht senkt die Lebenserwartung signifikant [97,98]. Bei jungen Menschen <55 Jahre steigt das Sterblichkeitsrisiko direkt proportional zum BMI, bei Menschen >55 Jahre schwächt sich das Mortalitätsrisiko mit zunehmendem Alter ab [99]. Diese Ergebnisse stützt die Düsseldorfer Obesity Mortality Studie (DOMS), die auch zeigt, dass bei jungen Männern der Mortalitätsindex (Verhältnis der Mortalität Übergewichtiger zur allgemeinen Mortalität) in Abhängigkeit vom BMI stärker ansteigt als bei Frauen (Abbildung 1-7) [100]. Entsprechend einer kanadischen Studie steigt das Mortalitätsrisiko bei Übergewicht um 16%, bei Adipositas Grad I um 25% und bei Adipositas Grad II um fast 300% [101]. Die häufigsten Todesursachen sind kardiovaskuläre und maligne Erkrankungen [102].

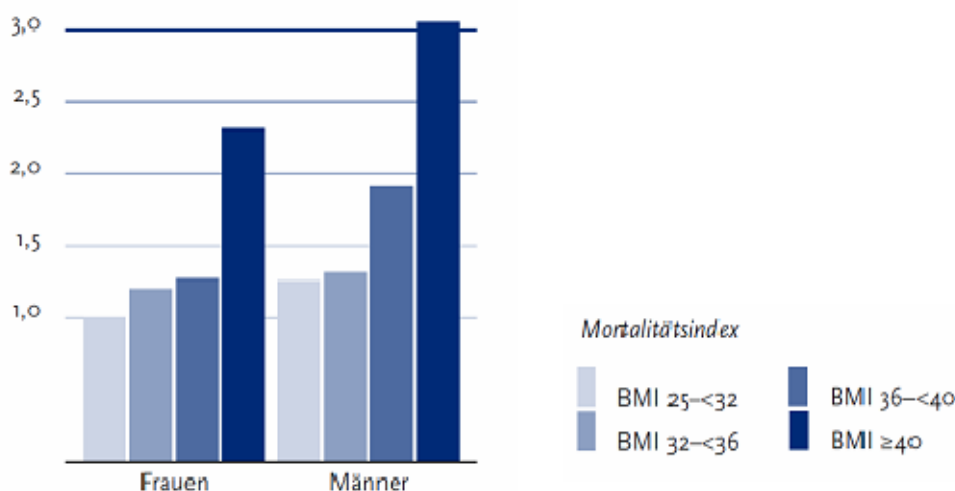


Abbildung 1-7: Standardisierter Mortalitätsindex bei Männern und Frauen in Abhängigkeit vom BMI in Deutschland [100].

1.6 Etablierte Therapie bei Übergewicht und Adipositas

Übergewicht und Adipositas stellen ein vermeidbares Morbiditäts- und Mortalitäts-Risiko dar, weshalb präventiven Maßnahmen die wichtigste Rolle zukommt. Im Sinne von „Public Health“ laufen bereits nationale und internationale Projekte mit der Strategie „Beeinflussung des Bewegungs- und Ernährungsverhaltens zur Prävention von Übergewicht und Adipositas“ [2,103-106]. Bei bereits bestehendem Übergewicht oder Adipositas ist das Therapieziel ein langfristiger Gewichtsverlust, der neben der Reduktion des Morbiditäts- und Mortalitätsrisikos mit einer Steigerung der Lebensqualität betroffener Individuen einhergeht. Jedes Therapie-regime sollte die drei Säulen Ernährungs-, Bewegungs- und Verhaltenstherapie im Sinne einer „lifestyle therapy“ umfassen. Daneben kommen in Einzelfällen chirurgische und pharmakologische Therapieansätze in Betracht.

1.6.1 Therapieindikationen

Entsprechend der Leitlinie der Deutschen Adipositas-Gesellschaft sollte bei folgenden Patienten eine Therapie eingeleitet werden [13]:

- BMI ≥ 30 kg/m²
- BMI 25-29,9 kg/m² und gleichzeitiges Vorliegen
 - einer / mehrerer übergewichtsassoziierter Erkrankungen (z.B. arterieller Hypertonus, Diabetes mellitus Typ 2)
 - viszeraler Adipositas (Taillenumfang ≥ 88 cm bei Frauen und ≥ 102 cm bei Männern)
 - einer / mehrerer Erkrankungen, die durch Übergewicht verstärkt werden
 - eines hohen psychischen Leidendrucks

Bei übergewichtigen Patienten ohne viszerale Adipositas und ohne psychische oder somatische Beschwerden ist eine Therapie entsprechend dieser Leitlinie nicht indiziert. Einer weiteren Gewichtszunahme sollte aber durch Aufklärung über Risiken und diätätische, bewegungs- und verhaltenstherapeutische Maßnahmen vorgebeugt werden.

Das US-amerikanische National Institute of Health (NIH) empfiehlt bei adipösen Patienten sowie bei übergewichtigen Patienten und Patienten mit viszeraler Adipositas bei Vorliegen von zwei und mehr Risikofaktoren eine Therapie (Abbildung 1-8). Als Risikofaktoren gelten: KHK, Arteriosklerose, Diabetes mellitus Typ 2, arterieller Hypertonus, Nikotinabusus, Fettstoffwechselstörung, gestörte Glukosetoleranz, positive Familienanamnese für frühe KHK und erhöhtes Alter (≥ 45 Jahre bei Männern und ≥ 55 Jahre bei Frauen) sowie Schlafapnoe-syndrom und andere übergewichtsassozierte Erkrankungen [107].

Die Auswahl des adäquaten Therapieregimes beruht auf dem Ausmaß des Übergewichts und dem Vorliegen von o.g. Risikofaktoren.

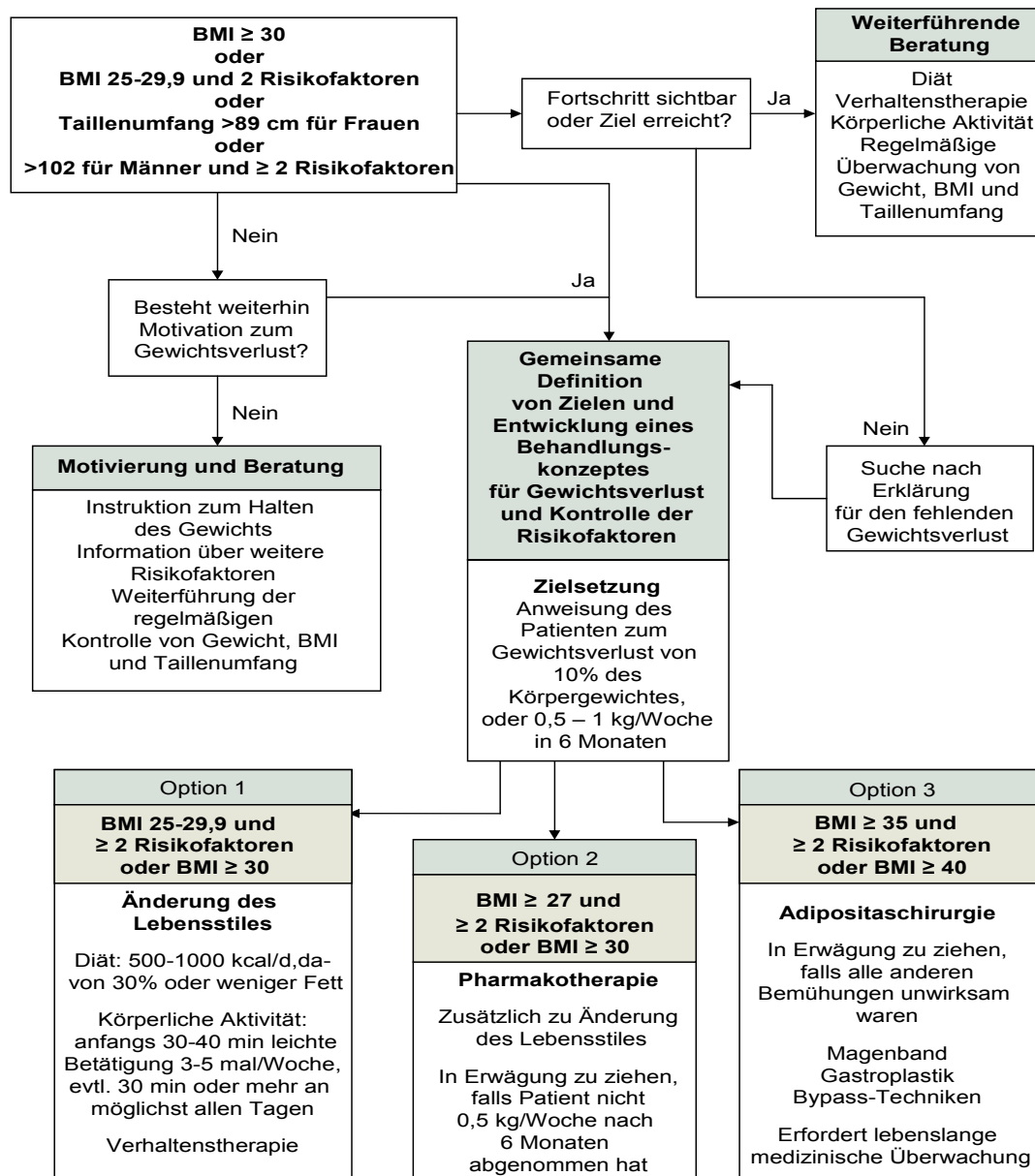


Abbildung 1-8: Algorithmus zur Therapie der Adipositas, modifiziert nach [108].

1.6.2 Therapieziele

Voraussetzung für eine erfolgreiche Therapie von Übergewicht und Adipositas ist die individuelle Betrachtung der Situation des einzelnen Patienten. Nur ein maßgeschneidertes Regime kann zum erwünschten Therapieziel führen. Unerlässlich ist die Festlegung eines realistischen Therapieziels in Einvernehmen mit dem Patienten. Therapieziele können z.B. sein:

- Langfristige Senkung des Körpergewichts
- Reduktion übergewichtsassoziierter Risikofaktoren und Erkrankungen
- Reduktion von Arbeitsunfähigkeit

- Steigerung des Gesundheitsbewusstseins
- Stärkung der Selbstmanagementfähigkeit und Stressverarbeitung
- Steigerung der Lebensqualität

Entsprechend der Leitlinie des NIH sollte zunächst ein Gewichtsverlust von 10% innerhalb von 6 Monaten angestrebt werden [107]. Als erfolgreiche Gewichtsreduktion gilt ein anschließendes Halten des erreichten Gewichtes mit einer Zunahme <3 kg in den folgenden 2 Jahren bzw. Halten eines $\geq 5\%$ -igen Gewichtsverlustes oder einer BMI-Reduktion ≥ 1 kg/m² von über ≥ 1 Jahr [109]. Rationale für diese Empfehlung ist die signifikante Minimierung übergewichtsassoziierter Risikofaktoren und Erkrankungen sowie des Mortalitätsrisikos und die signifikante Steigerung der Lebensqualität bereits bei moderatem Gewichtsverlust in diesem Rahmen [110-114].

1.6.3 Ernährungstherapie

Ziel der Ernährungstherapie ist das Erreichen einer negativen Energiebilanz durch eine Reduktion der täglichen Kalorienzufuhr. Das NIH empfiehlt eine Reduktion der täglichen Kalorienaufnahme um ca. 500 kcal bei Übergewicht und Adipositas Grad I und eine Reduktion um 500-1000 kcal bei Adipositas \geq Grad II [107]. Folgende Konzepte sind etabliert:

Fettreduzierte Mischkost

Entsprechend Ausgangsgewicht und täglichem vorangehendem Fettverzehr kann bereits durch eine Reduktion der täglichen Fettaufnahme bei unbegrenztem Verzehr von Kohlenhydraten eine Gewichtsabnahme erreicht werden [115]. Diese Ernährung eignet sich nach erfolgreicher Gewichtsreduktion zum Halten des erreichten Gewichtsniveaus [116].

Kalorienreduzierte Mischkost

Entsprechend Alter und Ausgangsgewicht des Patienten wird eine maximale tägliche Kalorienmenge festgesetzt (1000-2000 kcal/d). Neben der Restriktion der Fettaufnahme, wird auch der Verzehr von Kohlenhydraten und Proteinen eingeschränkt. Diese Ernährung gilt als Standardtherapie der Adipositas [117], ihre Effektivität wurde in zahlreichen prospektiven Studien dargelegt [118].

Niedrigstkalorien Ernährung

Die tägliche Energiezufuhr von <800 kcal wird meist über Einnahme einer Formuladiät sichergestellt (z.B. Shakes, Riegel). Diese Ernährung zeigt keinen Vorteil gegenüber einer kalorienreduzierten Mischkost hinsichtlich der langfristigen Gewichtsentwicklung [119-121].

Fett- und mäßig kalorienreduzierte Mischkost können über einen beliebig langen Zeitraum durchgeführt werden. Drastisch kalorienreduzierte Ernährungsregime sollten wegen der

beschränkten Nährstoffversorgung auf 4 bis max. 12 Wochen begrenzt werden und nur unter strikter ärztlicher Kontrolle erfolgen [107].

Zusätzlich zur Reduktionsdiät erfolgt eine Ernährungsschulung, die auf ungesunde Ernährungsgewohnheiten hinweist und Grundlagen einer ausgewogenen Ernährung vermittelt. Nur durch eine langfristige Änderung der Ernährungsgewohnheiten im Sinne einer vollwertigen Ernährung kann im Anschluss an eine Reduktionsdiät das erreichte Zielgewicht gehalten werden.

1.6.4 Bewegungstherapie

Ziel der Bewegungstherapie ist das Erreichen einer negativen Energiebilanz über eine Steigerung des Energieverbrauchs. Dies führt zur Gewichtsabnahme und trägt zur Gewichtserhaltung bei [122-124]. Im Vordergrund steht eine Steigerung der Alltagsaktivität wie z.B. Treppensteigen statt Liftfahren, Fahrrad- statt Autofahren [125]. Daneben sollte ein Trainingsprogramm erstellt werden, das mind. 3-mal wöchentlich sportliche Aktivität für 30-60 min, optimaler Weise tägliche sportliche Aktivität von mind. 30 min vorsieht und im Verlauf langsam gesteigert wird. Besonders geeignet sind gelenkschonende Sportarten, bei denen große Muskelgruppen zum Einsatz kommen, wie Schwimmen oder Radfahren [126]. Körperliche Aktivität steigert das körperliche Wohlbefinden, das Selbstbewusstsein und senkt die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität sowie die Inzidenz von Fettstoffwechselstörungen und gestörter Glucosetoleranz [127-130].

1.6.5 Verhaltenstherapie

Ziel der Verhaltenstherapie ist die Unterstützung und Motivation des Patienten bei der Einhaltung des Ernährungs- und Bewegungsregimes. Daneben beinhaltet sie z.B. Bewusstmachen und Kontrolle des Essverhaltens, Verhaltenstraining in bestimmten Situationen wie Restaurantbesuch oder Lebensmitteleinkauf und Analyse sozialer Probleme. Hier kommen insbesondere die Techniken der Verhaltensmodifikation zum Einsatz [131,132].

1.6.6 Chirurgische Therapie

Chirurgische Eingriffe stellen eine Therapieoption bei Adipositas Grad III oder Adipositas Grad II mit erheblichem Gesundheitsrisiko (≥ 2 Risikofaktoren) dar (Abbildung 1-8) [107]. Die Indikation zur Operation sollte erst nach erwiesenermaßen erfolgloser konservativer Therapie und bei eindeutig positiver Nutzen-Risiko-Abwägung gestellt werden [133]. Es wird zwischen restriktiven und malabsorptiven chirurgischen Maßnahmen unterschieden. Bei restriktiven Eingriffen erfolgt eine Reduktion der aufgenommenen Nahrungsmenge durch Verkleinerung des Magens durch Anbringen eines sog. Magenbandes, einer vertikalen Gastroplastik oder eines Magen-Bypasses. Malabsorptive Maßnahmen führen zu einer

verminderten Verwertung der Nahrung durch Umgehung des Jejunums. Zu diesen Verfahren zählen der jejunoileale Bypass, die biliopankreatische Deviation und der duodenale Switch. Eine Vielzahl klinischer Prüfungen belegt die Effektivität der Adipositaschirurgie bezüglich Gewichtsreduktion, signifikanter Linderung übergewichtsassoziierter Erkrankungen und Senkung der adipositasassozierten Mortalität [134-137].

1.6.7 Pharmakologische Therapie

Da die konservativen Maßnahmen oft keinen langfristigen Erfolg in der Therapie von Übergewicht und Adipositas zeigen [138], gewinnt die pharmakologische Therapie zunehmend an Bedeutung. Im Vordergrund steht hierbei neben dem eigentlichen Gewichtsverlust die unterstützende Wirkung beim Erhalt des reduzierten Gewichts. Bei Patienten mit Übergewicht mit erheblichem Gesundheitsrisiko ($\text{BMI} \geq 27 \text{ kg/m}^2$ und ≥ 2 Risikofaktoren) oder Adipositas ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) besteht bei unzureichender Wirkung der alleinigen „lifestyle therapy“ die Indikation zur adjuvanten Pharmakotherapie (Abbildung 1-8) [133,139]. Es werden prinzipiell zwei Gruppen von Antiadiposita unterschieden: Appetithemmer und Lipasehemmer. Dazu kommen neuere Therapeutika, die an spezifischen Rezeptoren ansetzen oder den Fett- und Energiestoffwechsel auf molekularer Ebene beeinflussen. In Deutschland sind zum aktuellen Zeitpunkt drei Substanzen zur medikamentösen Behandlung der Adipositas zugelassen [13].

Sibutramin (Reductil®)

Ursprünglich als Antidepressivum entwickelt, ist Sibutramin ein selektiver Wiederaufnahmehemmer von Serotonin und Noradrenalin. Vermittelt über den Anstieg der Neurotransmitter im synaptischen Spalt kommt es durch eine verstärkte Erregung von Adrenozeptoren zu einer Minderung des Appetits. Daneben bewirkt die Stimulation der Thermogenese über β -Adrenozeptoren eine Steigerung des Energieumsatzes. In mehreren prospektiven, kontrollierten klinischen Prüfungen führte Sibutramin bei adipösen Patienten zu einer signifikanten Gewichtsreduktion gegenüber Placebo und zeigte Überlegenheit gegenüber Placebo hinsichtlich Erhalt des erreichten Gewichtsniveaus über 12 bis 24 Monate [140-143]. In Metaanalysen wurde ermittelt, dass Patienten unter Behandlung mit Sibutramin innerhalb von drei Monaten 2,8 kg und innerhalb eines Jahres im Durchschnitt 4,5 kg mehr Gewicht verloren als Placebo-behandelte Patienten [144,145]. Bei übergewichtigen Patienten mit Diabetes mellitus Typ II und Fettstoffwechselstörungen wurden neben der Gewichtsreduktion positive metabolische Effekte unter Therapie mit Sibutramin beobachtet [146-148]. Wichtigste Nebenwirkungen sind arterielle Hypertonie und Tachykardie [149,150], daneben werden vor allem Schwindel, Schlafstörungen und Obstipation berichtet [108,151].

Orlistat (Xenical®)

Orlistat ist ein synthetisches Derivat des von Bakterien produzierten Tetrahydrolipstatins. Es bindet kovalent an die aktiven Serinstrukturen von gastrischen und pankreatischen Lipasen

und hemmt dadurch partiell die Hydrolyse von Nahrungstriglyzeriden und somit die Resorption von freien Fettsäuren, Mono- und Diglyzeriden [152]. Bei Anwendung von Orlistat in der empfohlenen Dosierung von 3x120 mg per die werden ca. 30% der aufgenommenen Nahrungsfette unverdaut ausgeschieden [153]. In mehreren prospektiven, kontrollierten klinischen Prüfungen zeigte Orlistat Überlegenheit gegenüber Placebo sowohl hinsichtlich des Gesamtgewichtsverlustes als auch des Langzeiterfolges der Gewichtsreduktion [154-156]. Die mittlere zusätzliche Gewichtsabnahme gegenüber Placebo beträgt nach einem Jahr 2,9 kg [145,157]. Eine Verbesserung von diabetischer Stoffwechsellage und Fettstoffwechselstörungen wurde unter Orlistattherapie berichtet [158-161]. Neben meist milden gastrointestinalen Nebenwirkungen ist eine Minderversorgung mit fettlöslichen Vitaminen zu vermeiden [143].

Rimonabant (Acomplia®)

Seit Herbst 2006 ist der selektive Cannabinoid Typ I (CB1) Rezeptorantagonist Rimonabant (5-(4-Chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methyl-N-(piperidin-1-yl)-1H-pyrazol-3-Carboxamid) zur medikamentösen Therapie von Übergewicht und Adipositas in Deutschland zugelassen [162]. Durch Blockade des CB1-Rezeptors in Nucleus accumbens und Hypothalamus wirkt Rimonabant der appetitsteigernden Wirkung endogener Cannabinoide entgegen. Daneben bewirkt die CB1-Rezeptor-Hemmung eine Aktivierung der Thermogenese, im Gastrointestinaltrakt ein Sättigungsgefühl, im Fettgewebe eine Stimulation von Adiponectin und eine verminderte Lipogenese sowie im Muskel eine erhöhte Glukoseaufnahme [163]. Rimonabant zeigte in groß angelegten randomisierten kontrollierten klinischen Prüfungen Überlegenheit gegenüber Placebo hinsichtlich der Gewichtsreduktion innerhalb eines Jahres (zusätzliche Gewichtsabnahme von ca. 5 kg) und des anschließenden Anhaltens des Gewichtsverlustes [164,165]. Daneben wirkt sich eine Therapie mit Rimonabant günstig auf den Glucose- und Lipidstoffwechsel aus [166-168]. Als signifikante Nebenwirkung werden neben gastrointestinalen Reaktionen psychiatrische Symptome beobachtet (Ängstlichkeit, depressive Verstimmung, Suizidalität), so dass der Einsatz von Rimonabant bei Patienten mit psychiatrischen Erkrankungen kontraindiziert ist [169].

Bevor mit einer medikamentösen Therapie begonnen wird, sind generell folgende Punkte zu beachten:

- Ein Antiadipositem wird zunächst für vier Wochen verabreicht. Gelingt in dieser Zeit eine Gewichtsabnahme von ≥ 2 kg, sollte die Therapie fortgesetzt werden [13]. Bei einem geringeren Effekt ist von Therapieresistenz auszugehen und die Medikation zu beenden [107].
- Da es bei Therapierespondern nach dem Absetzen häufig zur erneuten Gewichtszunahme kommt, scheint eine Langzeit-Therapie sinnvoll [154,170,171]. Hierfür ist eine sorg-

fältige Nutzen-Risiko-Abwägung erforderlich. Für alle drei zugelassenen Substanzen fehlen bislang Langzeitstudien >4 Jahre.

- Auch unter fortgesetzter medikamentöser Therapie wird nach ca. 1 Jahr eine erneute Gewichtszunahme beobachtet. Diese ist aber geringer ausgeprägt als unter Placebo [141,154].
- Eine medikamentöse Therapie ist nur in Kombination mit der „lifestyle therapy“ wirksam, um langfristig das erreichte Gewichtsniveau zu halten [172].

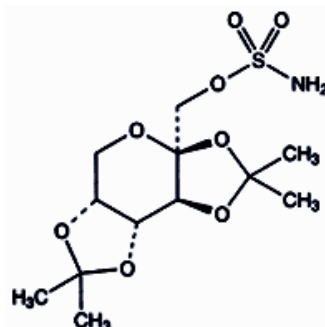
1.7 Neuer medikamentöser Therapieansatz bei Übergewicht und Adipositas: Topiramate (Topamax[®])

Die pharmakologische Therapie von Übergewicht und Adipositas ist ein wachsender Forschungszweig. Neben weiteren klinischen Prüfungen und Analyse der laborchemischen Auswirkungen der etablierten Therapien steht die Entwicklung neuer Antiadiposita im Vordergrund. Anreiz hierfür stellt die zunehmende Nachfrage nach dieser Art von Medikamenten dar. Bereits in den Jahren 1996-1998 gaben 2,5% der US-amerikanischen Erwachsenen an, Antiadiposita einzunehmen. Dafür wurden im Jahr 1999 finanzielle Aufwendungen in Höhe von \$321 Millionen getätigt [108]. Im Rahmen dieses Forschungsschwerpunktes bietet das Medikament Topiramate, das in Deutschland als Antiepileptikum (Topamax[®]) und Migräneprophylaktikum (Topamax[®] Migräne) zugelassen ist, interessante Perspektiven [173,174]. Im Gegensatz zu den meisten anderen Antiepileptika wurde in der klinischen Anwendung wiederholt ein Gewichtsverlust als Nebeneffekt dokumentiert (siehe 1.7.6).

1.7.1 Chemische Struktur von Topiramate

Topiramate ist ein sulfamatsubstituiertes Derivat der D-Fruktose (2,3:4,5-Di-O-isopropylidene-β-D-Fructopyranosesulfamat; Abbildung 1-9), das ursprünglich als orales Antidiabetikum entwickelt wurde. Als Strukturanalogon zu Fructose-1,6-diphosphat wurde eine Hemmung der Gluconeogenese über Inhibition der Fructose-1,6-diphosphatase angestrebt. In tierexperimentellen Studien zeigte Topiramate eine hohe antikonvulsive Wirksamkeit, so dass die pharmakologische Weiterentwicklung zu einem Antiepileptikum folgte [175]. Die pharmakologische Wirksamkeit von Topiramate wird dem Sulfamatanteil zugeschrieben.

Abbildung 1-9: Strukturformel von Topiramate.



1.7.2 Pharmakodynamik von Topiramate

Die folgenden Effekte von Topiramate im zentralen Nervensystem wurden bislang beschrieben:

- Zustandsabhängige Blockade von spannungsabhängigen Natriumkanälen [176-180]
- Blockade von N-, L- und zum Teil T-Typ Calciumkanälen [181]
- Potenzierung der GABA-Wirkung an GABA_A-Rezeptoren [182]
- Antagonisierung von Glutamat am Kainat- und AMPA-Rezeptor [183-185]
- Modulation der Leitfähigkeit von Kalium-Kanälen [186,187]
- Modulation der präsynaptischen Neurotransmitterfreisetzung [188]
- Steigerung der intrazellulären GABA-Konzentration in GABA-ergen Neuronen [189]

Neben diesen Mechanismen, die hauptsächlich für die antikonvulsive Wirksamkeit von Topiramate verantwortlich gemacht werden, stellt Topiramate einen – im Vergleich zu Acetazolamid und Ethoxycarbazon - schwachen Inhibitor der Carboanhydraseisomere II, IV und weniger V dar [190-192]. Welche Rolle die Hemmung der Carboanhydrase für die antikonvulsive Wirksamkeit spielt, ist bis heute Gegenstand der wissenschaftlichen Diskussion. Es wird angenommen, dass es zu einer Hemmung der pathologischen neuronalen Aktivität und / oder zu einer Verhinderung von deren Ausbreitung kommt [193]. Die molekularen Mechanismen sind bislang nicht geklärt. Zusätzlich zur Carboanhydrase-Hemmung ist eine inhibierende Wirkung auf einige Aquaporin-Subtypen dokumentiert [194].

1.7.3 Pharmakokinetik von Topiramate

Nach oraler Aufnahme erfolgt eine rasche Resorption. Die relative Bioverfügbarkeit beträgt unabhängig von einer gleichzeitigen Nahrungsaufnahme $\geq 80\%$. Es liegt eine lineare Dosis-Plasmaspiegel-Beziehung vor. Die maximale Plasmakonzentration wird nach zwei Stunden erreicht. Die Plasmaproteinbindung ist mit 10-20% nicht signifikant. Bei Monotherapie erfolgt die Ausscheidung des unveränderten Medikamentes zu 80% renal. Lediglich ein Anteil von 15% wird über das hepatische Cytochrom P450 System (CYP) zu sechs pharmakologisch inaktiven Metaboliten verstoffwechselt. Die Topiramate-Metaboliten werden ebenfalls renal ausgeschieden. Im Rahmen einer Polytherapie kann der hepatisch metabolisierte Anteil durch Enzyminduktion der anderen Medikamente steigen. Topiramate selbst ist kein relevanter Induktor oder Inhibitor der hepatischen CYP-Enzyme. Die Plasmahalbwertszeit beträgt 24 Stunden. Ein steady state wird beim Nierengesunden nach 96 Stunden erreicht. Die therapeutische Breite ist hoch [175,195].

1.7.4 Klinischer Einsatz von Topiramate

In der Epilepsitherapie wird Topiramate zu den sog. neuen Antikonvulsiva gezählt. Es gilt im Erwachsenen- und Kindesalter (ab 2 Jahre) als potentes Monotherapeutikum bei allen Formen von (neu diagnostizierter) Epilepsie und als wirksames Kombinationstherapeutikum bei (therapierefraktären) generalisierten tonisch-klonischen Anfällen, fokalen Anfällen mit und ohne Generalisierung und in der Behandlung des Lennox-Gastaut-Syndroms [196-199]. Die empfohlenen Tagesdosen liegen bei Erwachsenen zwischen 100-500 mg und bei Kindern zwischen 3-30 mg/kg. Zusätzlich ist Topiramate eine etablierte Alternative in der Migräneprophylaxe, die empfohlene Tagesdosis beträgt 50-100 mg [200-202]. Daneben findet Topiramate innerhalb von klinischen Studien Verwendung in der Behandlung bipolarer Störungen [203], der posttraumatischen Belastungsstörung [204], der Borderline-Persönlichkeitsstörung [205,206] und Essstörungen wie der Binge-Eating-Disorder oder der Bulimia nervosa [207,208]. Zusätzlich wird Topiramate im Rahmen von klinischen Prüfungen zur Behandlung von Suchterkrankungen, wie Alkohol- und Kokainabhängigkeit sowie Nikotinabusus, eingesetzt [209-211]. Außerdem ist der Einsatz bei neuropathischen Schmerzen [212-215], essentiellen Tremor [216], der amyotrophen Lateralsklerose [217], Spannungskopfschmerzen [218] und der dermatologischen Behandlung von Narben [219] dokumentiert.

1.7.5 Nebenwirkungen von Topiramate

Insgesamt gilt Topiramate als gut verträgliches Antiepileptikum [196,198,220]. Am häufigsten werden vorübergehende zentralnervöse Symptome (z.B. Schwindel, Ataxie, Tremor) zu Therapiebeginn und bei Dosissteigerung beobachtet [221]. Daneben werden gastrointestinale Symptome wie z.B. Übelkeit, abdominale Schmerzen, Obstipation beschrieben. Psychiatrische Symptome wie z.B. Nervosität, Depression, Agitation sind seltene aber relevante Nebenwirkungen. Außerdem werden in Einzelfällen Parästhesien, metabolische Azidose, Nephrolithiasis, Oligohydrosis und Glaukom beschrieben. Das Ausmaß einer Beeinträchtigung kognitiver Fähigkeiten unter Therapie mit Topiramate ist bislang Gegenstand wissenschaftlicher Diskussion [175].

1.7.6 Klinische Daten zum Gewichtsverlust unter Topiramate-Therapie

In zahlreichen Fallberichten, retrospektiven und prospektiven offenen, unkontrollierten Studien zum Einsatz von Topiramate in der Epilepsitherapie und Migräneprophylaxe wurde bei einer signifikanten Patientenzahl ein relevanter Gewichtsverlust als Nebenwirkung der Medikation beobachtet. Tabelle 1-3 stellt die doppelblinden, placebo-kontrollierten, prospektiven klinischen Prüfungen dar, in denen der dosisunabhängige gewichtsreduzierende Effekt reliabel und valide dokumentiert wurde [222-233].

1.7.7 Erste Tierexperimentelle Daten zum Gewichtsverlust unter Topiramat-Therapie

Der in klinischen Studien beobachtete gewichtsreduzierende Effekt von Topiramat konnte in tierexperimentellen Untersuchungen bestätigt werden. In einer Langzeitbeobachtung über 2 Jahre wurde eine dosisabhängige (20, 45 und 120 mg/kg per die) Verlangsamung des Wachstums bei männlichen bzw. eine kontinuierliche Körpergewichtsabnahme bei weiblichen Wistar-Ratten dokumentiert [175]. In vier weiteren Studien an verschiedenen Rattenstämmen und in einer Studie an Mäusen wurde unter ein- bis dreimonatiger Behandlung mit Topiramat-Tagesdosen von 10-60 mg/kg ein Gewichtsverlust durch Reduktion der Fett- und z.T. auch der Proteinmasse nachgewiesen. Als Ursache für den geringen Energiezuwachs in Form von Fettgewebe wurde ein verminderter energetischer Wirkungsgrad (geringere Energiespeicherung bei gleicher oder höherer Energieaufnahme) als bei unbehandelten Tieren aufgezeigt [234-238].

Tabelle 1-3: Doppelblinde, Placebo-kontrollierte, prospektive klinische Prüfungen, in denen als eine Nebenwirkung von Topiramat Gewichtsverlust dokumentiert wurde [222-233].

Indikation	Autor	Jahr	Therapie	Patienten
Generalisierte Epilepsie	Biton	1999	Mono	Erwachsene
Lennox-Gastaut-Syndrom	Sachdeo	1999	Mono	Kinder, Jugendliche
Fokale Epilepsie	Eltermann	1999	Add-On	Kinder, Jugendliche
Therapieresistente Epilepsie	Ben Menachem	1996	Add-On	Erwachsene
Therapieresistente Epilepsie	Faught	1996	Add-On	Erwachsene
Therapieresistente Epilepsie	Privitera	1996	Add-On	Erwachsene
Therapieresistente Epilepsie	Sharief	1996	Add-On	Erwachsene
Therapieresistente Epilepsie	Tassinari	1996	Add-On	Erwachsene
Therapieresistente Epilepsie	Yen	2000	Add-On	Erwachsene
Migräneprophylaxe	Silberstein	2006		Erwachsene
Migräneprophylaxe	Storey	2001		Erwachsene
Migräneprophylaxe	Lakshmi	2007		Kinder

1.8 Ziele dieser Arbeit

Unter Therapie mit dem Antikonvulsivum Topiramate wurde in einer Vielzahl von klinischen Studien bei den behandelten Patienten ein relevanter Gewichtsverlust beobachtet [222-233]. In ersten tierexperimentellen Untersuchungen an Nagern konnten dieser Befund verifiziert und Daten zur Auswirkung von Topiramate auf die Körperzusammensetzung gewonnen werden [175,234-238]. Der biochemische und pharmakologische Mechanismus, über den Topiramate das Energiegleichgewicht beeinflusst, ist bis dato nicht erklärt. Im Mittelpunkt der Forschung steht hier insbesondere die Wirkung auf die Carboanhydrase-Subtypen II, IV und V [190-192]. Gewichts- und Appetitverlust werden als Nebenwirkungen unter Behandlung mit Carboanhydrasehemmern beschrieben [239]. Hier ist zum einen eine diuretische Wirkung, die über den Verlust an Körperwasser als Erklärung für die Gewichtsreduktion dienen könnte, zu diskutieren. Zum anderen belegen diverse Studienergebnisse, dass die Carboanhydrase eine wichtige Rolle in der *de novo* Lipogenese spielt [240]. Über den Einfluss von Topiramate auf – im Rahmen von Übergewicht - stoffwechselrelevante Blutwerte bei Nagern liegen daneben bislang nur wenige Daten vor. Die bisherigen Ergebnisse zeigen einen positiven Effekt auf den Insulin- und Lipidstoffwechsel [234,236,237]. Um detaillierte aufschlussreiche Erkenntnisse über den gewichtsreduzierenden Wirkmechanismus und das metabolische Profil von Topiramate zu erlangen, ist es notwendig weitere tierexperimentelle Studien durchzuführen. Die Entwicklung eines validierten, standardisierten tierexperimentellen Studiendesigns zur Untersuchung des Einflusses von Topiramate auf die Entwicklung von Körpergewicht, Futter- und Wasseraufnahme sowie auf den Insulin- und Lipidstoffwechsel ist Gegenstand dieser Dissertation. Im Rahmen der Etablierung des Studiendesigns wurde in insgesamt 4 Versuchsreihen die Auswirkung von Topiramate auf männliche homozygote *fa/fa* Zuckerratten und *db/db* Mäuse, zwei in der Adipositasforschung etablierte Tiermodelle, unter kohlenhydratreicher Ernährung untersucht. Im Anschluss an ausgewählte Versuchsreihen erfolgten laborchemische Analysen, um Topiramate-induzierte Veränderungen des Insulin- und Lipidstoffwechsels zu erfassen. Als Vergleichssubstanz wurde in 2 Versuchsreihen der potente Carboanhydraseinhibitor (Subtypen I, II, III, V, VII) Ethoxzolamid, ein unsubstituiertes heterozyklisches Sulfonamid, mitgeführt [241].

Anhand des im Rahmen dieser Arbeit etablierten Studienmodells sollten in der Folge weitere Untersuchungen durchgeführt werden, mit dem langfristigen Ziel ein neues Antiadiposikum auf der Grundlage von Topiramate zu entwickeln.

2 Material und Methodik

2.1 Rahmenbedingungen

Insgesamt umfasst diese Arbeit 4 Versuchsreihen (im Folgenden mit V1, V2, V3 und V4 abgekürzt), die im Zeitraum August 2001 bis Juli 2002 durchgeführt wurden (Beginn: V1 August 2001, V2 Februar 2002, V3 April 2002, V4 Juli 2002). Die laborchemischen Analysen zu den 4 Versuchsreihen wurden im Januar 2003 abgeschlossen.

Durchführungsort des experimentellen Teils, der Analytik und der Statistik war das Walther Straub-Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Ludwigs-Maximilians-Universität München. Die Finanzierung erfolgte durch die Firma Solvay Pharmaceuticals, Hannover. Die Versuche waren der Regierung Oberbayern gemäß Tierschutzgesetz TierSchG § 8 angezeigt.

2.2 Material

Die folgenden Materialien wurden im Rahmen dieser Arbeit, nach Arbeitsschritten gegliedert, verwendet.

2.2.1 Versuchstiere und Haltung

Tiere

Spezies:	Rattus norvegicus
Stamm :	<i>fa/fa</i> Zuckerraten HsdOla: ZUCKER-Lepr ^{fa}
Geschlecht:	männlich
Alter bei Lieferung:	11 Wochen
Gewicht bei Lieferung:	385 - 550 g
Lieferant:	HARLAN-WINKELMANN, Borchten

Spezies:	Mus musculus
Stamm:	<i>db/db</i> Mäuse BKS.Cg- + Lepr ^{db} / + Lepr ^{db} /OlaHsd
Geschlecht:	männlich
Alter bei Lieferung:	9 Wochen
Gewicht bei Lieferung:	36 – 52 g
Lieferant:	HARLAN-WINKELMANN, Borchten

Tierhaltung

Polykarbonatkäfige (B/T/H 207/265/140 mm), Gitterdeckel aus Edelstahl mit Futterraufe, Tränkeflaschen aus Polycarbonat mit Tränkenippeln aus Edelstahl (200 bzw. 400 ml Fassungsvermögen; Ehret GmbH, Emmendingen).

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

Tierfutter

Pelletiertes Experimentalfutter, kohlenhydratreich, ssniff EF 1/12 (ssniff, Spezialdiäten GmbH, Soest): Energiegehalt 13 kJ/g; Maisstärke (40%), Saccharose (15%), Glucose (15%), Casein (19,5%), Sojaöl (2%), Cellulose (1,5%), Mineralien (6%) und Vitamine (1%).

Tägliches Wiegen

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

Waage für Mäuse: Soehnle digital, 0,1-200g, 0,1 g Skala (Leifheit AG, Nassau)

Waage für Futter und Wasser: Mettler P1210, 0,1-200 g, 0,1 g Skala (Mettler-Toledo GmbH, Giessen)

Tägliche Medikamenten- / Vehikelapplikation

Knopfkanülen aus Edelstahl, Volumen 0,07 ml (Hauptner, Solingen)

Einmalspritzen aus Polypropylen, Volumen 1 ml (Braun, Melsungen)

Magnetrührer, beheizbar, IKA Combimag RCT (IKA-Werke GmbH & Co KG, Staufen)

Blutentnahme aus der Schwanzspitze

Reaktionsgefäße mit Deckel aus Polypropylen, 1,5 ml, heparinisiert (Sarstedt AG & Co, Nümbrecht)

Chirurgische Schere

Polypropylen-Schüssel mit warmem Leitungswasser

Applikation des radioaktiven Cocktails / Heparins vor der Tötung

Einmal-Injektions-Kanülen, Sterican Größe 18 (Braun, Melsungen)

Einmalspritzen aus Polypropylen, Volumen 1 ml (Braun, Melsungen)

Tötung der Tiere am Versuchsende

Abdeckpapier und Papiertücher

Alufolie

Becherglas, 500 ml, gefüllt mit NaCl 0,9 %

Clinipetten 100 µl (Clinicon International GmbH, Mannheim)

Combitips 0,5 ml (Eppendorf AG, Hamburg)

Flüssig-Stickstoff (LINDE, München)

Freeze clamp - Stickstoffzange

Gefrierbeutel

Guillotine

Mikrozentrifuge IEC Centra-M (International Equipment Company, Needham Heights, USA)

Polypropylenschale mit kaltem Wasser und Eiswürfeln

Präparierbesteck

Präparierschalen

Reaktionsgefäße mit Deckel aus Polypropylen, 1,5 ml, heparinisiert (Sarstedt AG & Co, Nümbrecht)

Stoppuhr

Styroporbox

Trichter, heparinisiert

Waage, Mettler P1210, 0,1-200 g, 0,1 g Skala (Mettler-Toledo GmbH, Giessen)

Präzisionswaage, Mettler P440, 0,001-440 g, 1 mg Skala (Mettler-Toledo GmbH, Giessen)

Aufbewahrung der Proben

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

Tiefkühltruhe, -75°C (GFK, Labor Schubert, Schwandorf)

2.2.2 Chemikalien

Topiramate (TPM), 2,3:4,5-Di-O-isopropyliden-β-D-fructopyranose Sulfamat, isoliert von Solvay aus Topamax® (B10706768, S20264311)

Ethoxzolamid (ETZ), 6-Ethoxybenzothiazol-2-sulfonsäureamid (Sigma, Taufkirchen)

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

Carboxymethylcellulose (CMC), pulverisiert (Sigma, Taufkirchen)

Polyethylenglykol (PEG) 2%, Lutrol E 400 (BASF, Ludwigshafen)

Glucose pro analysis (Merck, Darmstadt)

Tritiumwasser ³H₂O (NEN-Perkin Elmer, Boston, USA) (1 mCi/ml)

U-¹⁴C-Glucose (NEN-Perkin Elmer, Boston, USA) (0,1 mCi/ml; 1:9 in Ethanol)

Lithium-Heparin (Ratiopharm, Ulm)

NaCl 0,9% (Braun, Melsungen)

2.2.3 Materialien / Geräte zur Herstellung der Lösungen / Suspensionen

Erlenmeyerkolben mit eingeschliffenem Glasstopfen, 50 ml, 500 ml (Brand GmbH, Wertheim)

Magnetrührer, beheizbar, IKA Combimag RCT (IKA-Werke GmbH & Co KG, Staufen)

Pipetten, Eppendorf Reference, kontinuierliche Volumenwahl 100–1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)

Pipettenspitzen 1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)

Präzisionswaage, Mettler P440, 0,001-440 g, 1 mg Skala (Mettler-Toledo GmbH, Giessen)

2.2.4 Herstellen der Lösungen / Suspensionen

Die Schlündellösungen wurden jeweils für 7 Tage angesetzt. Das für eine Woche benötigte Volumen wurde überschlagsmäßig berechnet. Als Grundlage für diese Kalkulation galt ein Höchstgewicht der Ratten von 600 g und der Mäuse von 60 g. Diese großzügige Berechnung gewährte einen gewissen Spielraum, dennoch wurden jeweils einige Milliliter mehr

angesetzt, um eine sichere Reserve für evt. Applikationsfehler und den Verbleib im Totraum der Schlündelkanülen (Volumen 0,07 ml) zu gewährleisten. Die Lösungen wurden im Kühlschrank bei 5 °C aufbewahrt. Vor dem Schlündeln wurden sie auf beheizbaren Magnetrührern auf Körpertemperatur (ca. 37 °C) angewärmt. Die Lösungen wurden anschließend mit 1 ml Spritzen appliziert auf welche die Knopfkanülen zur Schlündelung der Tiere aufgesetzt wurden.

Placebolösung

Als Placebo für die Kontroll- und Paarfütterungstiere diente

- für die Gruppen C, CP, TP eine 1%ige Carboxymethylcellulose-Lösung (CMC)
- für die Gruppe EP (V3 und V4) eine 2% PEG-CMC-Lösung

Für die 1%ige Carboxymethylcellulose-Lösung (CMC) wurde je nach gewünschtem Volumen eine bestimmte Menge CMC in einem entsprechenden Volumen destilliertem Wasser gelöst. Dies geschah unter 24 Stunden Rühren auf einem Magnetrührer.

Zur Herstellung der 2% Polyethylenglykol (PEG) enthaltenden Placebolösung wurde einem bestimmten Volumen der 1%igen CMC-Lösung das entsprechende Volumen flüssiges PEG zugesetzt.

Tabelle 2-1: Ansatz der Placebolösungen.

Anforderung	V1	V2	V3	V4
Anzahl-Tiere	24	30	20	24
Applikationsvolumen	1 ml/kg KG	10 ml/kg KG	10 ml/kg KG	1 ml/kg KG
Volumen für 1 Woche	210 ml	260 ml	180 ml	210 ml
Menge CMC	2,1 g	2,6 g	1,8 g	2,1 g
Volumen PEG	—	—	3,6 ml	4,2 ml
Volumen CMC gesamt	210 ml	260 ml	180 ml	210 ml

Die zur Vorschlündelung (V3 und V4) verwendeten Lösungen wurden nach dem gleichen Schema angesetzt. Die Tiere der Gruppen C, T und TP erhielten 1% CMC-Lösung, die Tiere der Gruppen E und EP 2% PEG-CMC-Lösung während dieser Zeit.

TPM-Lösung

Die Tiere der TPM-Gruppen erhielten in jedem Versuch täglich eine Dosis von 100 mg/kg KG in 2 Einzeldosen. Es wurden jeweils zwei verschieden konzentrierte TPM-Lösungen benötigt:

Für die **Ratten-Versuche (V1 und V4)** enthielten

- die Morgenlösung 33,3 mg TPM/ml Lösung (=98 mmol/l)

- die Abendlösung 66,6 mg TPM/ml Lösung (=196 mmol/l)

Für die **Mäuse-Versuche (V2 und V3)** enthielten

- die Morgenlösung 3,33 mg TPM/ml Lösung (=9,8 mmol/l)
- die Abendlösung 6,66 mg TPM/ml Lösung (=19,6 mmol/l)

Als Grundlage für diese Lösungen diente die Placebolösung. Pulverisiertes TPM wurde in der 1%igen CMC Lösung gelöst. Dazu wurde einem entsprechendem Volumen CMC eine entsprechende Menge TPM zugegeben. Dieses wurde durch Rühren auf einem beheizbaren Magnetrührer (40 °C) über 24 Stunden in Lösung gebracht.

Tabelle 2-2: Ansatz der TPM-Lösungen.

Anforderung	Ratten (V1 und V4)		Mäuse (V2 und V3)	
Anzahl Tiere	8		10	
Dosis (morgens/abends)	33,3 mg/ml	66,6 mg/ml	3,33 mg/ml	6,66 mg/ml
Applikationsvolumen	1 ml/kg KG		10 ml/kg KG	
Volumen für 1 Woche	40 ml		40 ml	
Menge Topiramat	1,332 g	2,664 g	133,2 mg	266,4 mg
Volumen CMC	40 ml		40 ml	

Die TPM-Lösung für die acht Mäuse in Versuch 2A wurde auf die gleiche Weise wie in Versuch 2 und 3 angesetzt.

ETZ-Lösung

Die Tiere der ETZ-Gruppen erhielten in V3 und V4 täglich eine Dosis von 75,9 mg/kg KG in 2 Einzeldosen. Es wurden jeweils zwei verschieden konzentrierte ETZ-Lösungen benötigt:

Für die **Ratten (V4)** enthielten

- die Morgenlösung 25,3 mg ETZ/ml Lösung (=98 mmol/l)
- die Abendlösung 50,6 mg ETZ/ml Lösung (=196 mmol/l)

Für die **Mäuse (V3)** enthielten

- die Morgenlösung 2,53 mg ETZ/ml Lösung (=9,8 mmol/l)
- die Abendlösung 5,06 mg ETZ/ml Lösung (=19,6 mmol/l)

Für diese Lösungen wurde kristallines ETZ in der 1%igen CMC Lösung gelöst, unter Zugabe von PEG als Lösungsvermittler. Dies geschah schrittweise. Zuerst wurde ETZ durch Zugabe von PEG angelöst; dies wurde durch vortexen und einige Minuten Rühren auf einem beheizbaren Magnetrührer (40 °C) erreicht. Dann wurden 5 ml 1%ige CMC-Lösung zugegeben und

diese Suspension für 2 Stunden bei 40 °C gerührt. Dieser Schritt wurde noch einmal mit 5 ml CMC wiederholt, bevor das verbleibende Volumen CMC zugegeben und für weitere 20 Stunden bei 40 °C gerührt wurde.

Tabelle 2-3: Ansatz der ETZ-Lösungen.

Anforderung	Ratten (V4)		Mäuse (V3)	
Anzahl Tiere	8		10	
Dosis (morgens/abends)	25,3 mg/ml	50,6 mg/ml	2,53 mg/ml	5,06 mg/ml
Applikationsvolumen	1 ml/kg KG		10 ml/kg KG	
Volumen für 1 Woche	40 ml		40 ml	
Menge ETZ	1,012 g	2,024 g	101,2 mg	202,4 mg
Volumen PEG	0,8 ml		0,8 ml	
Volumen CMC	39,2 ml		39,2 ml	

Radioaktive Injektionslösung

In den Versuchen 1 und 2 wurde den Tieren eine Stunde vor der Tötung radioaktiv markiertes Wasser und radioaktiv markierte Glucose verabreicht, um Aufschluss über den Lipidstoffwechsel der Tiere zu erlangen [242-244]. In V4 wurde den Tieren lediglich radioaktiv markierte Glucose verabreicht. In V1 und V2 wurden die beiden verwendeten radioaktiven Substanzen $^3\text{H}_2\text{O}$ (1 mCi/ml) und $\text{U-}^{14}\text{C}$ -Glucose (0,1 mCi/ml; 1:9 in Ethanol) zusammen als ein Cocktail injiziert. Das für alle Tiere benötigte Gesamtinjektionsvolumen errechnete sich aus dem geschätzten Gewicht der Tiere am Applikationstag zuzüglich einer Reserve für eventuell fehlerhafte Applikation und den Verbleib von Lösung im Totraum der Spritzenkanülen. Nach Berechnung des für die radioaktive Zieldosis benötigten Volumens $^3\text{H}_2\text{O}$ und $\text{U-}^{14}\text{C}$ -Glucose wurde dem benötigten Restvolumen entsprechend eine nicht radioaktive Glucoselösung angesetzt. Dazu wurde dem benötigten Volumen destillierten Wassers Glucose unter ständigem Rühren auf einem Magnetrührer zugesetzt. Die gesamte Glucosemenge war so berechnet, dass jedes Tier 800 mg/kg KG erhielt. Dieser Glucose-Load dient zur Stimulierung der Lipogenese [245]. Dieser Glucoselösung wurde zuerst das jeweilige Volumen Tritiumwasser und dann das jeweilige Volumen der $\text{U-}^{14}\text{C}$ -Glucose-Ethanol-Lösung zugegeben. Vor der Applikation wurden den radioaktiven Cocktails jeweils vier 5 μl Proben entnommen und diese nach Zusatz von Szintillationscocktail im Szintillationszähler auf ihren Radioaktivitätsgehalt vermessen. Auf Grundlage der erhaltenen Mittelwerte konnte die jedem Tier tatsächlich verabreichte Radioaktivität errechnet werden.

Tabelle 2-4: Angestrebte und tatsächliche radioaktive Dosis.

Anforderung	V1	V2	V4
Anzahl Tiere	32	48	40
Applikationsvolumen	1,8 ml/Tier	10 ml/kg KG	3 ml/kg KG
Angestrebte Dosierung ³ H	100 µCi/Tier	1000 µCi/kg KG	—
Angestrebte Dosierung ¹⁴ C	10 µCi/Tier	300 µCi/kg KG	100 µCi/kg KG
Tatsächliche Dosierung ³ H	91,03 µCi/Tier	1260 µCi/kg KG	—
Tatsächliche Dosierung ¹⁴ C	12,3 µCi/Tier	280 µCi/kg KG	107 µCi/kg KG

2.2.5 Analytik

Insulinkonzentration

Reaktionskit Rat Insulin Radioimmunoassay Kit (RI-13K, Linco Research Inc., USA)

Eppendorf Reference Pipetten, kontinuierliche Volumenwahl 10–100 µl, 100–1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)

Kim Wipes Lite Präzisionstücher (Kimberly-Clark, Koblenz)

Mikrozentrifuge IEC Centra-M (International Equipment Company, Needham Heights, USA)

Pipettenspitzen 200 µl, 1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)

Reaktionsgefäße mit Deckel aus Polypropylen, 1,5 ml (Sarstedt, Nümbrecht)

Vortex Rüttler (Heidolph, Kehlheim)

γ-Counter, Cobra TM II (Packard, Dreieich)

Triglyzeridkonzentration

Triglyceride GPO-PAP, MPR 2 2016648 (Roche Diagnostics GmbH)

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

Eppendorf Reference Pipetten, kontinuierliche Volumenwahl 10–100 µl, 100–1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)

Ethylacetat p. A. (Merck, Darmstadt)

Maxi Vials, 24 ml (Packard, Dreieich)

Pipettenspitzen 200 und 1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)

Präzisionswaage, Mettler P440, 0,001-440 g, 1 mg Skala (Mettler-Toledo GmbH, Giessen)

Reaktionsgefäße mit Deckel aus Polypropylen, 1,5 ml (Sarstedt, Nümbrecht)

Spektralphotometer, UV-265 FW (Shimadzu, Düsseldorf)

Thermomixer comfort (Eppendorf, Hamburg)

Ultraturrax (Jahnke und Kunkel, Staufen)

UV-Kunststoffküvetten, 1,5 – 3 ml (Brand GmbH, Wertheim / Main)

Vacuum Concentrator BA-VC 300H (Bachhofer, Reutlingen)

Vortex Rüttler (Heidolph, Kehlheim)

Zentrifuge Sorvall RS5C (Sorvall Du Pont de Nemours, Bad Homburg)

Zentrifugenröhrchen, 50 ml, Polypropylen mit konischem Boden und Schraubverschluss (bis 5000 rpm; Sarstedt, Nümbrecht)

Radioaktivitätsbestimmung

Brutschrank (Heraeus Christ, Hanau)

Ethylacetat p. A. (Merck, Darmstadt)

Tetraammoniumhydroxid 20%ig in Wasser (Merck, Darmstadt)

Wasserstoffperoxid, 33%ig (Merck, Darmstadt)

Maxi Vials, 24 ml (Packard, Dreieich)

Pipetten, Eppendorf Reference, kontinuierliche Volumenwahl 2-20 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)

Pipettenspitzen 20 µl, 200 µl, 1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)

Präzisionswaage, Mettler P440, 0,001-440 g, 1 mg Skala (Mettler-Toledo GmbH, Giessen)

Vollpipetten aus Glas, 10 ml, 20 ml (Brand GmbH, Wertheim / Main)

Szintillationscocktail Ultima gold XR (Packard, Dreieich)

Liquid Scintillation Analyzer, Tri Carb 2500 TR (Packard, Dreieich)

2.2.6 Auswertung der Daten

Microsoft Excel 2000 (Microsoft, Seattle, USA)

WinSTAT for Excel (Greulich Software, Staufen)

GraphPad Prism V.3.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, USA)

2.3 Methodik

2.3.1 Durchführung der Tierversuche

2.3.1.1 Tiere:

Insgesamt wurden vier Versuche (V1-V4) durchgeführt. Es fanden entweder 12 Wochen alte männliche homozygote *fa/fa* Zuckerratten (V1 und V4) oder 10 Wochen alte männliche homozygote *db/db* Mäuse (V2 und V3) Verwendung. Im Rahmen von V2 wurde noch ein siebentägiger Orientierungsversuch durchgeführt, der, wenn einzeln aufgeführt, mit V2A bezeichnet wird. Die Tabelle 2-5 gibt eine Auflistung der wesentlichen Behandlungs- und Messparameter in den einzelnen Versuchen, die Abbildungen 2-1 bis 2-5 verdeutlichen den zeitlichen Ablauf der einzelnen Versuche.

2.3.1.2 Haltung und Ernährung der Tiere

Der Raum, in dem die Tiere gehalten wurden, war an eine automatische Klimaanlage angeschlossen, welche einen zehnfachen Raumluf austausch pro Stunde gewährleistete. Die Lufttemperatur lag bei 25 °C, die relative Luftfeuchtigkeit bei 50%. Mittels automatischer Zeitschaltuhr wurde ein 12 Stunden Tag-Nacht-Rhythmus simuliert (Licht von 6 Uhr bis 18 Uhr). Während des Versuches wurden die Tiere einzeln in Polykarbonatkäfigen gehalten. Die Käfige wurden mit Weichholzgranulat eingestreut, welches zweimal wöchentlich gewechselt wurde. Die Käfige wurden auf vier untereinander angebrachten, über die ganze Länge des Raumes reichenden, Sideboards aufgestellt. In V1 und V2 wurden auf einem Board jeweils die Tiere einer der vier Gruppen platziert. Dadurch standen die Tiere der einzelnen Gruppen zwar auf die Länge des Raumes verteilt, aber alle Tiere einer Gruppe standen auf gleicher Höhe. Im Gegensatz dazu wurden die Tiere in V3 und V4 nicht gruppenweise längs auf den Recks verteilt, sondern nach einem bestimmten Schema positioniert. Dieses Schema stellte sicher, dass die Tiere aller Gruppen gleichmäßig im Raum verteilt waren, und somit im Mittel für die verschiedenen Gesamtgruppen gleiche Licht- und Luftzugsbedingungen galten. Ein möglicher Einfluss dieser beiden Parameter auf die Ergebnisse wurde dadurch minimiert. Das Futter wurde den Ratten in die Raufe des Käfigdeckels gelegt, den Mäusen wurde es dagegen direkt in den Käfig gegeben, da sich während der Vorbehandlung in V2 gezeigt hatte, dass die Mäuse auf Grund ihrer Konstitution nicht in der Lage waren aus der Käfigdeckelraufe zu fressen. Der tägliche Futtermenge wurde durch Einwaage der vorgelegten Futtermenge und Rückwaage der nach 24 Stunden verbliebenen Futtermenge bestimmt. Weiterhin verlangte das Studiendesign eine so genannte Paarfütterung. Dies bedeutet, dass vor Versuchsbeginn Paare gebildet wurden. Während ein Tier ad libitum gefüttert wurde, erhielt das Partnertier am jeweils darauf folgenden Tag nur diejenige Futtermenge, die der ad libitum gefütterte Partner am Tag zuvor gefressen hatte. Die Trinkwasserversorgung (Leitungswasser) erfolgte ad libitum über Tränkeflaschen mit aufgesetzten Tränkenippeln, welche täglich gereinigt, gefüllt und gewogen wurden. Durch Rückwaage der Tränkeflaschen nach 24 Stunden wurde die tägliche Wasseraufnahme bestimmt.

2.3.1.3 Adaptionphase

Nach der Anlieferung wurde der Allgemeinzustand der Tiere adspektorisch geprüft, bevor sie zur Gewöhnung an die neue Umgebung in zufällig gebildeten Gruppen à 5-6 Tieren zusammen in Polykarbonatkäfigen für Ratten eingestallt wurden. Die ad libitum Versorgung der Tiere mit Futter und Trinkwasser während dieser Zeit wurde durch tägliche Kontrolle sichergestellt.

2.3.1.4 Vorbehandlung

Nach einer Adaptionszeit von 7 Tagen (V1-V4) bzw. 35 Tagen (V2A) wurden die gemeinsam gehaltenen Tiere voneinander getrennt und in die Einzelkäfige gesetzt. Es folgte eine sieben Tage (V1, V2, V2A und V4) bzw. vierzehn Tage (V3) dauernde Vorversuchszeit zur Gewöhnung der Tiere an die Einzelhaltung (Stabilisierung des täglichen Körpergewichtszuwachses, der Futter- und Wasseraufnahme).

Dokumentation des Körpergewichts, des Futter- und des Wasserverbrauchs

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

Gruppeneinteilung, Randomisierung und Beginn der Paarfütterung

In V1 und V2 erfolgte schon zum Zeitpunkt des Einzelsetzens die Zuteilung der Tiere zu einer der vier Behandlungsgruppen (Kontrolle (C), Paarfütterung zur Kontrolle (CP), TPM (T), Paarfütterung zu TPM (TP); N=8 in V1; N=10 in V2). Die Tiere einer Gruppe wurden jeweils von 1 bis 8 bzw. 10 durchnummeriert. Hierdurch wurden die zueinander gehörigen Paarfütterungspartner festgelegt, jeweils die Tiere mit derselben Nummer bildeten ein Paar (C1/CP1; T1/TP1; usw.). Bei der Gruppeneinteilung wurde zwar darauf geachtet, dass das mittlere Gewicht der vier Gruppen annähernd gleich war, es fand aber keine gezielte Randomisierung in Hinblick auf die Ausgangs-Körpergewichte der einzelnen Tiere bzw. Paare statt. Des Weiteren erhielten die Kontroll- und die TPM behandelten Tiere während dieser Vorbehandlungszeit Futter ad libitum, wohingegen die Tiere der zugehörigen Paarfütterungsgruppen schon paargefüttert wurden. Zu diesem Zweck traten die Paarfütterungsgruppen erst einen Tag nach ihren ad libitum gefütterten Partnertieren in die Vorbehandlung ein.

Im Gegensatz dazu wurden alle Tiere in V3 und V4 die ersten Tage der Vorversuchsphase „anonym“ ad libitum gefüttert und erst einen Tag vor Beginn der Vorschlundelung (s.u.) den einzelnen Behandlungsgruppen zugeteilt (Kontrolle (C), TPM (T), Paarfütterung zu TPM (TP), ETZ (E), in V4 zusätzlich eine Paarfütterung zu ETZ (EP), N=10 in V3; N=8 in V4). Wie in V1 und V2 erfolgte auch hier die Durchnummerierung der Tiere einer Gruppe und somit die Festlegung der Paare. Allerdings erfolgte bei der Aufteilung der Tiere in die Gruppen eine möglichst genaue Abstimmung der Körpergewichte der einzelnen Paare der behandelten und ihrer paargefütterten Gruppen und des mittleren Gruppengewichtes. Die Paarfütterung startete hier erst mit dem Beginn des Hauptversuches (Tag 0), die paargefütterten Tiere wurden einen Tag nach ihren ad libitum gefütterten Partnergruppen in die Vorschlundelung aufgenommen.

Die acht 14 Wochen alten Mäuse in V2A wurden mit T₇ 1 bis 8 durchnummeriert und während der siebentägigen Vorversuchszeit alle ad libitum gefüttert.

Vorschlündelung

Alle Tiere in V3 und V4 wurden vor Beginn des Hauptversuches mit den folgenden Lösungen

- Gruppen C, T, TP: 1% CMC
- Gruppen E, EP: 2% PEG-CMC

für die Dauer von 7 (V3) bzw. 3 Tagen (V4) zwei Mal täglich im Abstand von 8 Stunden mit einer Menge von 10 ml/kg KG (Mäuse) bzw. 1 ml/kg KG (Ratten) vorbehandelt. Diese Placebogabe vor Beginn des eigentlichen Versuches wurde durchgeführt, um die Tiere an den Vorgang des Einführens der Schlundsonde zu gewöhnen. Somit sollte eine negative Auswirkung auf das Körpergewicht und die Futter-/Wasseraufnahme zu Beginn des Hauptversuchs verhindert werden, die einzig durch die ersten Schlündelvorgänge bedingt war.

2.3.1.5 Hauptversuch

An diese Vorversuchszeit schloss sich der 28-tägige (V1, V2 und V4), 14-tägige (V3) bzw. 7-tägige (V2A) 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:

- Die Kontroll- (C) und Paarfütterungsgruppen (CP, TP, EP) erhielten zweimal täglich die Placebolösung (1% CMC für C, CP, TP; 2% PEG-CMC für EP).
- Die mit TPM behandelten Tiere (T, T₇) erhielten täglich morgens 33,3 mg/kg KG und abends 66,6 mg/kg KG TPM.
- Die mit ETZ (E) behandelten Tiere erhielten täglich morgens 25,3 mg/kg KG und abends 50,6 mg/kg KG.
- Die Tiere der Kontroll-, TPM- und ETZ-Gruppe erhielten Futter ad libitum.
- Die Tiere der Paarfütterungsgruppen bekamen die Menge Futter vorgelegt, die ihr jeweiliges Partnertier am Vortag gefressen hatte.
- Alle Tiere erhielten Wasser ad libitum.

Es erfolgte eine Hochdosis-TPM-Therapie (100 mg/kg KG per die), um in Annahme einer linearen Dosis-Wirkungs-Beziehung eine maximale Wirksamkeit zu erreichen [175]. Die im Tiermodell beschriebene antikonvulsive effektive Tagesdosierung liegt zwischen 10 und 60 mg/kg [246]. Die ETZ-Dosierung wurde dementsprechend ebenfalls maximal angesetzt (75,9 mg/kg KG per die). Die Tagesdosen wurden zweizeitig im Abstand von 8 Stunden (ca. 8 Uhr und 16 Uhr) verabreicht. Dabei wurde morgens ein Drittel der Dosis und abends zwei Drittel der Dosis gegeben, um in der nachtaktiven Phase eine hohe Plasmakonzentration und damit einen maximalen pharmakologischen Effekt sicherzustellen [234]. Aus Gründen

der Gleichbehandlung aller Gruppen wurden auch die Kontroll- und Paarfütterungstiere zwei Mal täglich mit Vehikellösung geschlündelt.

Dokumentation des Körpergewichts, des Futter- und der Wasserverbrauchs

Die während der Vorbehandlung begonnene tägliche Dokumentation der Körpergewichte, des Futterverbrauchs und der Trinkwasseraufnahme wurde fortgeführt. In V1 und V2 wurde jedes Tier morgens erst gewogen, anschließend geschlündelt und darauf der jeweilige Futter- und Wasserverbrauch bestimmt. Dadurch lag zwischen der Behandlung des ersten Tieres der ersten Gruppe und der des letzten Tieres der letzten Gruppe ein relativ langer Zeitraum von ca. zwei Stunden. Um die Zeitdifferenz zwischen der Schlündelung des ersten und des letzten Tieres zu reduzieren und möglichst alle Tiere in der gleichen morgendlichen Stoffwechsellage zu behandeln, wurden in V3 und V4 morgens zuerst alle Tiere entsprechend ihrem Gewicht vom Vortag mit den jeweiligen Lösungen geschlündelt. Erst danach fand das Wiegen der Tiere, des Futters und des Wassers statt. Um einen eventuellen weiteren Einfluss des genauen Schlündelzeitpunkts innerhalb dieses kurzen Zeitfensters zu verringern wurde zusätzlich im Rotationsverfahren jeden Tag mit einer anderen Gruppe begonnen und die jeweilige Erste am nächsten Tag als Letzte behandelt. Abends galt das am Vormittag nach dem Schlündeln bestimmte Tagesgewicht als Grundlage zur Bestimmung des Schlündelvolumens.

Blutentnahme

In V1 und V2 erfolgte in der dritten Woche des Hauptversuches eine Blutentnahme aus der Schwanzspitze der Tiere:

- V1: C/CP Tag 22, T/TP Tag 21
- V2: C/T Tag 21; CP/TP Tag 20
- V2A: T₇ Tag 6

Zur Vasodilatation wurde der Schwanz einige Minuten in warmen Wasser massiert, bevor die Schwanzspitze gekappt wurde. Das Vollblut (ca. 1 ml bei Ratten, ca. 500 µl bei Mäusen) wurde in heparinisierten Probenröhrchen aufgefangen, um die Blutgerinnung zu verhindern. Anschließend wurden die Vollblutproben zentrifugiert (12 min, 4000 rpm), um das Plasma von der Zellfraktion zu separieren. Das Plasma wurde in Probenröhrchen überführt, dabei wurde die für die Insulinbestimmung benötigte Menge Plasma in separate Probenröhrchen pipettiert, und bis zur weiteren Aufarbeitung bei -20 °C aufbewahrt. In V3 und V4 wurde auf die Blutentnahme während des Hauptversuches verzichtet, da sich in V1 und V2 durch die Blutentnahme eine erhebliche Beeinträchtigung des Allgemeinzustands der Tiere gezeigt hatte.

2.3.1.6 Versuchsende

Nüchternsetzen

In V1 und V2 hatten die Tiere an Tag 28 morgens noch uneingeschränkten Zugang zu dem Futter (die Paarfütterungen im Rahmen der vorgegebenen Mengen) bis eine Stunde vor der Tötung. Dagegen waren die Tiere in V3 und V4 zum Tötungszeitpunkt nüchtern. Zu diesem Zweck wurde ihnen in der vorangehenden Nacht das Futter acht Stunden vor der geplanten Tötungszeit entzogen. Wasser wurde in allen vier Versuchen bis zur Tötung ad libitum bereitgestellt.

Behandlung der Tiere vor der Tötung und Applikation des radioaktiven Cocktails

Am Morgen von Versuchstag 14 (V3) bzw. 28 (V1, V2 und V4) wurden die Tiere folgendermaßen behandelt:

- Die Kontroll- und Paarfütterungsgruppen erhielten die letzte Dosis der Placebolösung.
- Die TPM- und ETZ-Tiere erhielten die letzte Morgendosis TPM bzw. ETZ (33,3 mg/kg KG bzw. 25,3 mg/kg KG).

Eine Stunde später wurde den Tieren in V1 und V2 der jeweilige Cocktail aus radioaktivem Tritiumwasser ($^3\text{H}_2\text{O}$) und ^{14}C -U-Glucose intraperitoneal verabreicht. In V4 erhielten die Tiere lediglich ^{14}C -U-Glucose. In V1 wurde allen Tieren das gleiche Volumen der radioaktiven Lösung unabhängig vom Körpergewicht gespritzt, in V2 und V4 erfolgte die Injektion dagegen nach einem gewichtsadaptierten Schema:

- V1: 50,6 $\mu\text{Ci } ^3\text{H/ml}$, 6,8 $\mu\text{Ci } ^{14}\text{C/ml}$, 444 mg Glucose/ml; 1,8 ml/Tier
- V2: 126 $\mu\text{Ci } ^3\text{H/ml}$, 28 $\mu\text{Ci/ml } ^{14}\text{C}$; 80 mg Glucose/ml; 10 ml/kg KG
- V3: auf Radioaktivität wurde verzichtet
- V4: 35,6 $\mu\text{Ci } ^{14}\text{C/ml}$, 267 mg Glucose/ml; 3 ml/kg KG

Die Mäuse in V3 erhielten 300 μl Heparinlösung (1:10 verdünnt mit steriler physiologischer Kochsalzlösung) intraperitoneal eine Stunde vor der Tötung. Die Ratten in V4 erhielten anschließend an die Injektion der radioaktiven Lösung 500 μl der Heparinlösung intraperitoneal, um das spätere Entbluten zu erleichtern.

Tötung der Tiere und Entbluten

Nach einer weiteren Stunde wurden die Tiere durch Dekapitation getötet. Das Blut wurde mit Hilfe von heparinisierten Plastiktrichtern in Heparinröhrchen aufgefangen, um die Blutgerinnung zu verhindern. Die mit Blut gefüllten Probenröhrchen wurden bis zur weiteren Aufarbeitung ca. 2 Stunden in Eiswasser aufbewahrt, um den Ablauf von Stoffwechselforgänge ex vivo zu minimieren.

Entnahme der Organe und „freeze clamping“

Anschließend wurden die Tiere von zwei Personen seziert. Bei den Ratten wurde noch während des Entblutens das Gehirn durch Eröffnen der Schädeldecke entlang der Suturen freigelegt und herauspräpariert, bei den Mäusen wurde auf die Entnahme des Gehirns verzichtet. Für diesen Präparator wurden dann die Hinterläufe auf Hüfthöhe vom Rumpf abgetrennt, um die Präparation von Muskelgewebe des *Musculus gastrocnemius* zu ermöglichen. Der zweite Präparator eröffnete den Bauchraum durch eine mediale Laparotomie, um die Leber so schnell wie möglich zu entnehmen. Es folgte die Entnahme von Milz und Nieren, deren Feuchtgewichte ebenso wie jenes der Leber mit der Analysenwaage bestimmt wurde. In V4 wurden auch Magen und oberes Jejunum entnommen und für die weitere Präparation (Längsöffnung und Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung) an den ersten Präparator weitergegeben. Hierauf wurden Anteile des retroperitonealen Fettgewebes gewonnen und als letztes die Brusthöhle durch eine mediale Thorakotomie eröffnet, um die Lunge zu entnehmen. Die Organe wurden nach der Entnahme sofort schockgefrostet, um ein Weiterlaufen von Stoffwechselfvorgängen *ex vivo* zu verhindern. Dies geschah durch das so genannte „freeze clamping“. Dabei werden die Organe unter Zuhilfenahme einer Stahlzange, die in flüssigem Stickstoff auf -190 °C gekühlt wird, innerhalb weniger Sekunden komplett durchgefroren. Hierfür standen zwei weitere Personen zur Verfügung, die neben der Bedienung der Gefrierzange auch die gefrorenen Gewebe in Alufolie einpackten und durch Anheften beschrifteter Kartonstreifen kennzeichneten. Bis zur Unterbringung in einer Tiefkühltruhe (-75 °C) wurden die verpackten Gewebe in Styroporbehältern mit flüssigem Stickstoff gelagert. Insgesamt dauerte der gesamte Sektions-Vorgang pro Tier 2-4 min, die Zeit zwischen Dekapitation und freeze clamping der einzelnen Organe und die Gesamtdauer pro Tier wurde dokumentiert. Auffälligkeiten einzelner Organe wurden schriftlich festgehalten. In V3 wurden je Gruppe (C, T und TP) nur 5 Tiere seziert, die anderen 5 wurden lediglich entblutet und für eine spätere Gesamtkörperfettbestimmung komplett eingefroren. Alle Tiere der Gruppe E wurden komplett eingefroren.

Aufbewahrung des Plasmas und der Organe

Die zu einem Tier gehörigen in Alufolie eingepackten Organe wurden zusammen in einem Gefrierbeutel gesammelt. So wurden die Organe bis zum Zeitpunkt der weiteren Aufarbeitung bei -75 °C aufbewahrt. Die Kadaver der lediglich entbluteten Tiere aus V3 wurden langsam durchgefroren (zweiwöchige Lagerung bei -20 °C) und anschließend bei -75 °C bis zur weiteren Aufarbeitung gelagert. Die für die Dauer der Sektion in Eiswasser aufbewahrten Vollblutproben wurden im Anschluss zentrifugiert (12 min, 4000 rpm) und das gewonnene Plasma portionsweise (je nach benötigter Menge für die Insulin-, Radioaktivitäts- und Triglyzeridbestimmung) in separate Probenröhrchen pipettiert und in diesen bis zur weiteren Aufarbeitung bei -20 °C gelagert.

Tabelle 2-5: Übersicht über den zeitlichen Verlauf und die wesentlichen Behandlungsparameter der einzelnen Versuche (PF Paarfütterung; HV Hauptversuch; TZ Todeszeitpunkt).

Versuch	V1	V2	V2A	V3	V4
Tiere	Zucker-Ratten	db/db Mäuse	db/db Mäuse	db/db Mäuse	Zucker-Ratten
Anzahl	32	40	8	40	40
Alter zu Beginn der Vorbehandlung	12 Wochen	10 Wochen	14 Wochen	10 Wochen	12 Wochen
Dauer der Vorbehandlung	7 Tage	7 Tage	7 Tage	14 Tage	7 Tage
Vorschlüdelung	—	—	—	7 Tage	3 Tage
Therapiedauer	28 Tage	28 Tage	7 Tage	14 Tage	28 Tage
Gruppeneinteilung erfolgte vor Beginn	der Vorbehandlung	der Vorbehandlung	—	der Vorschlüdelung	der Vorschlüdelung
Tiere pro Gruppe	8	10	8	10	8
Gruppen	C: Kontrolle CP: PF zu C T: TPM TP: PF zu T	C: Kontrolle CP: PF zu C T: TPM TP: PF zu T	T: TPM für 7 Tage	C: Kontrolle T: TPM TP: PF zu T E: ETZ	C: Kontrolle T: TPM TP: PF zu T E: ETZ EP: PF zu E
Dosierung TPM / ETZ	TPM (100 mg/kg KG)	TPM (100 mg/kg KG)	TPM (100 mg/kg KG)	TPM (100 mg/kg KG) ETZ (75,9 mg/kg KG)	TPM (100 mg/kg KG) ETZ (75,9 mg/kg KG)
Schlüdelvolumen	1 ml/kg KG	10 ml/kg KG	10 ml/kg KG	10 ml/kg KG	1 ml/kg KG
Blutentnahme während des HV	+	+	+	—	—
8 h nüchtern zu TZ	—	—	—	+	+
Radioaktiver Cocktail	1,8 ml / 91 μCi ^3H / 12,3 μCi U- ^{14}C -Glucose / 444 mg Glucose	10 ml / 1260 μCi ^3H / 280 μCi U- ^{14}C -Glucose / 800 mg Glucose	10 ml / 1260 μCi ^3H / 280 μCi U- ^{14}C -Glucose / 800 mg Glucose	— — —	3 ml / 108 μCi U- ^{14}C - Glucose / 800 mg/kg Glucose
Heparin i. p. vor TZ	—	—	—	300 μl	500 μl
Entnommene Organe	Fett, Gehirn, Leber, Lunge, Muskel, Niere	Fett, Leber, Lunge, Muskel, Niere,	Fett, Leber, Lunge, Muskel, Niere	5 C-, T-, TP-Tiere: Fett, Leber, Lunge, Muskel, Niere 5 C-, T-, TP + alle E-Tiere komplett eingefroren	Fett, Gehirn, Jejunum, Leber, Lunge, Magen, Muskel, Niere

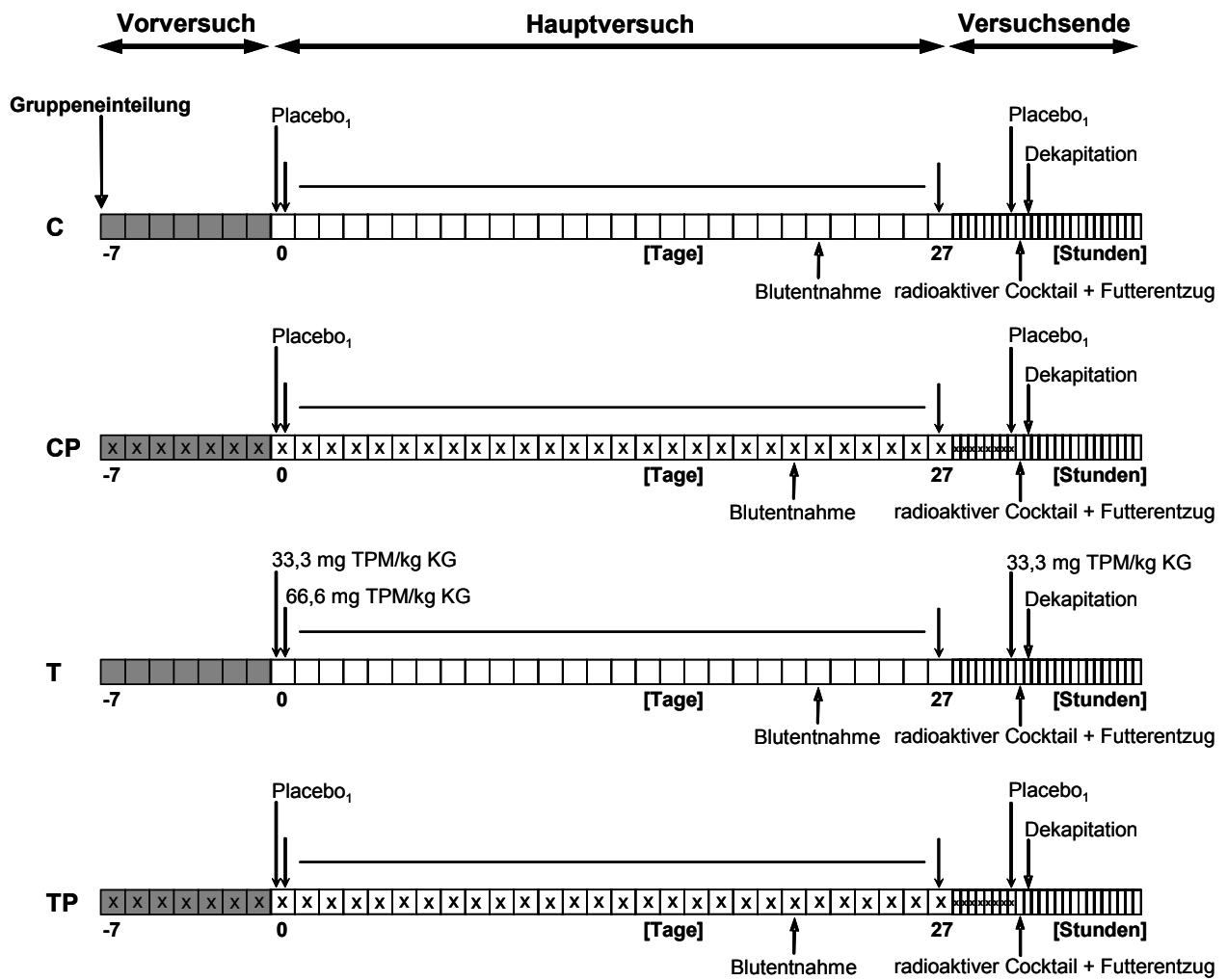


Abbildung 2-1: Übersicht über den zeitlichen Verlauf und die wesentlichen Behandlungsparameter in V1 mit *fa/fa* Zuckerratten. Placebo₁ (1% CMC) und TPM (in 1% CMC) wurde per Schlundsonde (1 ml/kg KG) verabreicht. Der radioaktive Cocktail (91,03 µCi ³H + 12,3 µCi ¹⁴C-Glucose + 440 mg Glucose) wurde in 1,8 ml gelöst i.p. verabreicht; x = Paarfütterung.

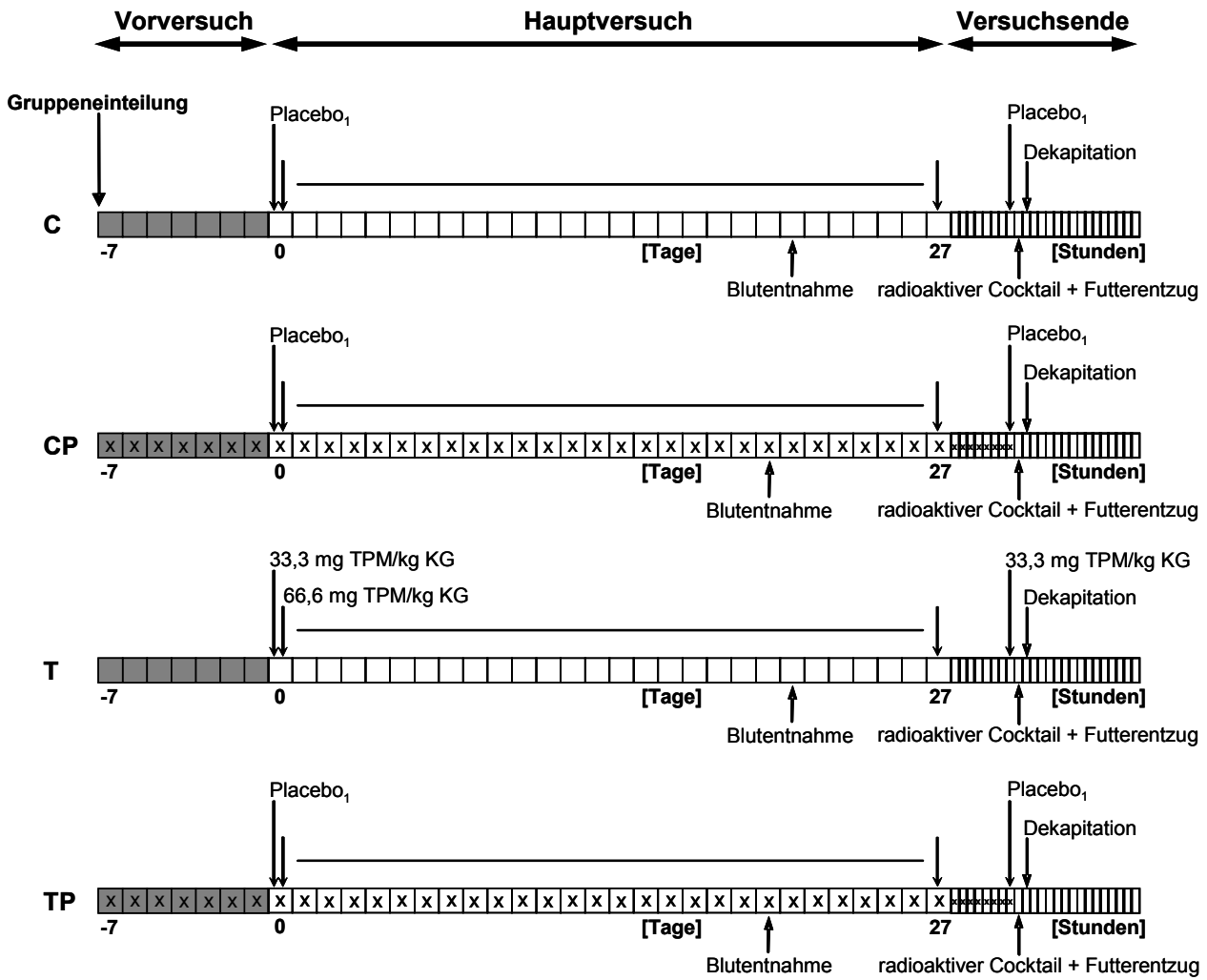


Abbildung 2-2: Übersicht über den zeitlichen Verlauf und die wesentlichen Behandlungsparameter in V2 mit *db/db* Mäusen. Placebo₁ (1% CMC) und TPM (in 1% CMC) wurde per Schlundsonde (10 ml/kg KG) verabreicht. Der radioaktive Cocktail (1260 µCi ³H + 280 µCi ¹⁴C-Glucose + 800 mg Glucose/kg KG) wurde in 10 ml/kg KG gelöst i.p. gespritzt; x = Paarfütterung.

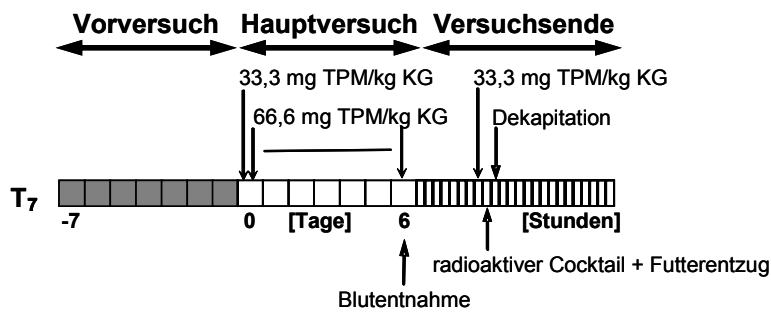


Abbildung 2-3: Übersicht über den zeitlichen Verlauf und die wesentlichen Behandlungsparameter in V2A mit *db/db* Mäusen; Dosierungen siehe Abbildung 2-2.

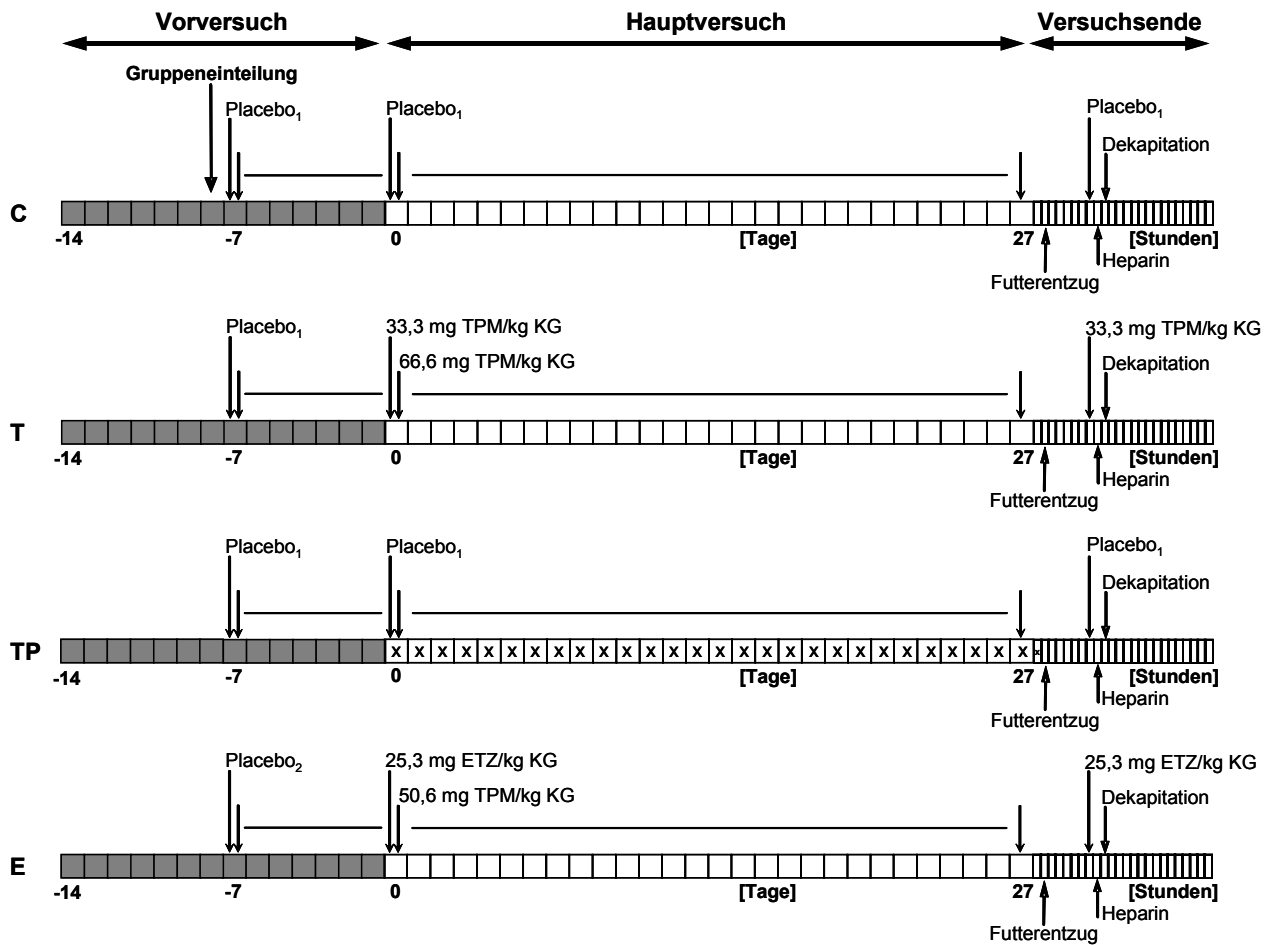


Abbildung 2-4: Übersicht über den zeitlichen Verlauf und die wesentlichen Behandlungsparameter in V3 mit *db/db* Mäusen. Placebo₁ (1% CMC), Placebo₂ (2% PEG), TPM (in 1% CMC) und ETZ (in 2% PEG) wurde per Schlundsonde (10 ml/kg KG) verabreicht; Heparin (1:10) wurde in einer Dosis von 300 µl/Tier i.p. gespritzt; x = Paarfütterung.

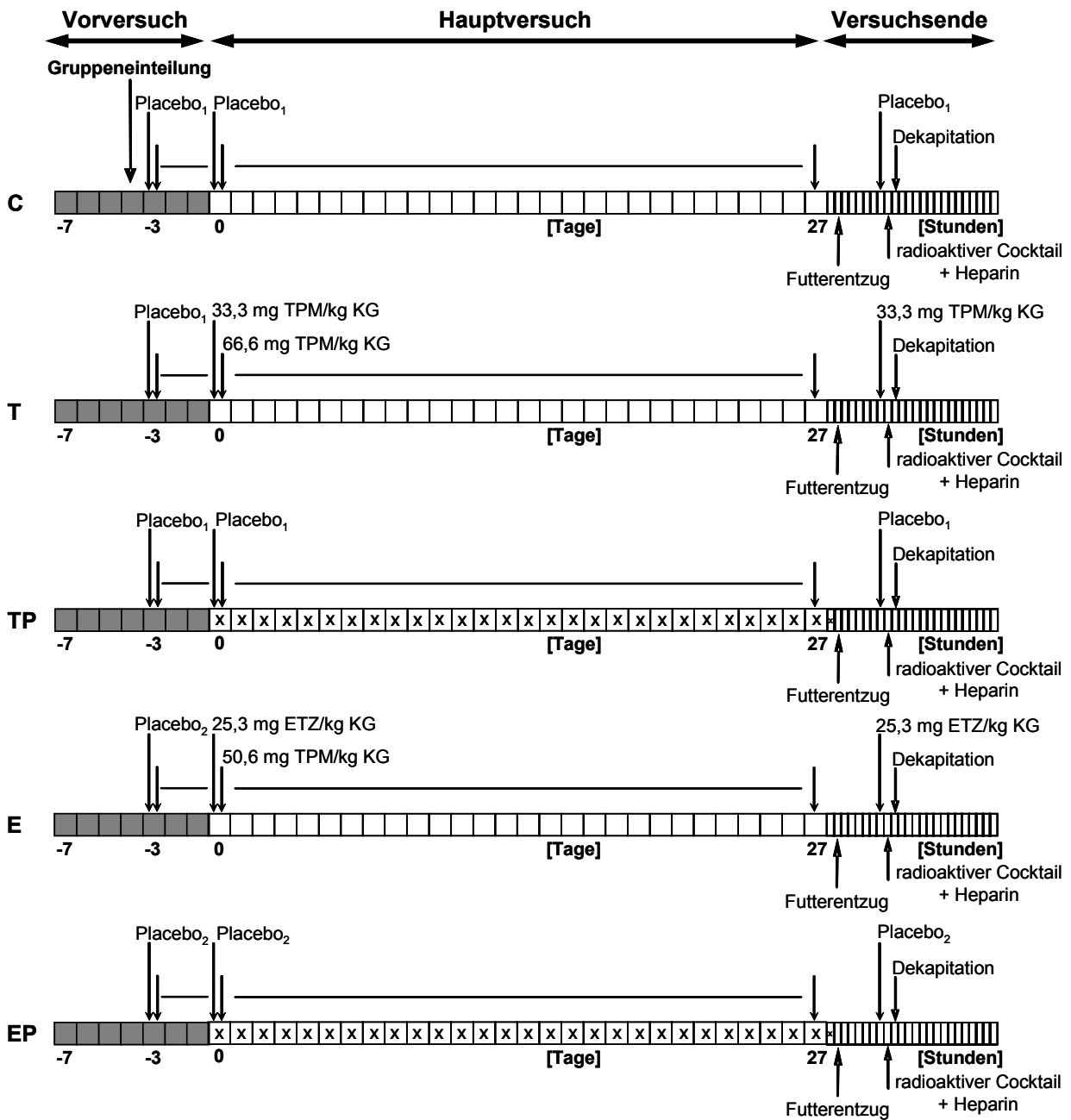


Abbildung 2-5: Übersicht über den zeitlichen Verlauf und die wesentlichen Behandlungsparameter in V4 mit *fa/fa* Zuckerratten. Placebo₁ (1% CMC), Placebo₂ (2% PEG), TPM (in 1% CMC) und ETZ (in 2% PEG) wurde per Schlundsonde (1 ml/kg KG) verabreicht. Der radioaktive Cocktail (108 µCi ¹⁴C-Glucose + 800 mg Glucose/kg KG) wurde in 3 ml/kg KG gelöst i.p. gespritzt. Heparin (1:10) wurde in einer Dosis von 500 µl/Tier i.p. gespritzt; x = Paarfütterung.

2.3.2 Analytik

Die bei -20 °C getrennt aufbewahrten vorportionierten Plasmaproben wurden für die Insulin-, Radioaktivitäts- und Triglyzeridbestimmung im Kühlschrank bei +4 °C über 24 h aufgetaut. Von den sofort nach der Entnahme in flüssigem Stickstoff schockgefrorenen und daraufhin bei -75 °C aufbewahrten Geweben wurden für die einzelnen Bestimmungen Aliquote abgenommen. Dabei wurde möglichst schnell vorgegangen, um ein Antauen des Gesamtgewebes zu verhindern. Die entnommenen Gewebeproben wurden mit einer Analysenwaage in Maxi Vials eingewogen und die Gewichte notiert. In V2 und V3 wurden die gesamten Plasma- und Organproben sowie die komplett eingefrorenen Kadaver aus V3 dem kollaborierenden Labor von Prof. Lynch in den USA für weiterführende Analysen zur Verfügung gestellt.

2.3.2.1 Insulinkonzentration

Zur Bestimmung der Plasmainsulinspiegel wurde ein Radioimmunoassay der Firma Linco verwendet.

Prinzip

Ein Radioimmunoassay basiert auf einer Konkurrenzreaktion zwischen radioaktiv markiertem und unmarkiertem Antigen um eine begrenzte Anzahl von Antigen-Bindungsstellen eines spezifischen Antikörpers. Zunächst werden den Proben, deren Gehalt an unmarkiertem Antigen erfasst werden soll, bestimmte Mengen des radioaktiv markierten Antigens (Tracer) und des spezifisch gegen dieses Antigen gerichteten Antikörpers zugegeben. Das markierte und das unmarkierte Antigen bilden mit dem Antiserum Antigen-Antikörper-Komplexe. Diese Komplexbildung verhält sich entsprechend dem Massenwirkungsgesetz und strebt ein Gleichgewicht an. Im zweiten Schritt werden freies und gebundenes Antigen durch Ausfällung mittels eines gegen den Fc-Teil des ersten Antikörpers gerichteten Antikörpers und anschließender Zentrifugation des Präzipitats getrennt. Nach dem Entfernen des Überstandes wird die Aktivität des Sediments in einem Radioaktivitätszähler bestimmt.

Durchführung

Es wurden Doppelbestimmungen durchgeführt. Die Plasmaproben wurden verdünnt eingesetzt (1:50), da zum einen hohe Insulinkonzentrationen zu erwarten waren und zum anderen nicht immer die vorgeschriebenen 100 µl Plasma zur Verfügung standen. Die Verdünnung erfolgte anteilig mit der Pufferlösung des Kits. Um die hohe Verdünnung zu erreichen wurden die Plasmaproben mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 vorverdünnt. Für die Insulinbestimmung wurden dann je 100 µl der Standards, Kontrollen und verdünnten Plasmaproben in die Probenröhrchen pipettiert. In zwei zusätzliche Röhrchen wurden je 100 µl der Pufferlösung (B_0 , „0“-Konzentration des unmarkierten Antigens) gegeben, sowie in

zwei weitere Röhrchen je 200 µl der Pufferlösung (NSB, unspezifische Bindung). Zu allen Standards, Plasmaproben, Kontrollen, B₀, NSB und zwei weiteren Röhrchen (TA, Totalaktivität) wurden je 100 µl ¹²⁵I-Insulin (Tracer) pipettiert. Anschließend wurde in alle Probenröhrchen, außer in die für TA und NSB, 100 µl Antiserum (Ratten-Insulin-Antikörper) gegeben. Die Probenröhrchen wurden verschlossen, die Ansätze gut gemischt und über 24 h bei 4 °C inkubiert. Anschließend erfolgte die Trennung von freiem und gebundenem ¹²⁵I-Insulin durch Zugabe von 1 ml des zweiten Antikörpers (Anti-IgG) in alle Probenröhrchen, außer in die beiden der TA. Nach guter Vermischung und 20 minütiger Inkubation bei 4 °C wurden die Probenröhrchen zentrifugiert (4000 rpm, 12 Minuten) und der Überstand aus allen Probenröhrchen, außer aus denen der TA, dekantiert. Der an den Rändern der Probenröhrchen verbleibende Flüssigkeitsfilm wurde sorgfältig mittels Kim-Wipes entfernt. Der Radioaktivitätsgehalt der in den Probenröhrchen verbliebenen Präzipitate wurde im ¹²⁵I-Kanal des Gamma-Counters in cpm (counts per minute) bestimmt.

Berechnung der Insulinkonzentration (nmol/l Plasma)

Von allen Standards, Kontrollen und Plasmaproben wurden jeweils die Mittelwerte des doppelbestimmten Radioaktivitätsgehalts berechnet und von diesen der Mittelwert der unspezifischen Bindung (NSB) abgezogen. Die unspezifische Bindung stellt die in Abwesenheit vom Antikörper unspezifisch an die Probenröhrchen gebundene Radioaktivität dar und gilt deshalb als Leerwert. Anschließend wurde aus den so korrigierten Mittelwerten für jeden Standard, für jede Kontrolle und für jede Plasmaprobe die prozentuale Bindung des radioaktiv markierten Insulins im Präzipitat bezogen auf den Nullstandard (B₀) berechnet. Da der Nullstandard ausschließlich radioaktiv markiertes Antigen enthält, kann hier von einer vollständigen Bindung (100 %-Wert) des markierten Insulins an die Ratten-Insulin-Antikörper ausgegangen werden.

$$\text{Bindungsrate [\%]} = \frac{B \text{ (gebundene RA des Standards, der Kontrolle, der Probe)}}{B_0 \text{ (in Abwesenheit von unmarkiertem Antigen gebundene RA)}} * 100$$

RA = Radioaktivität

Die so errechneten relativen Bindungsraten der Standards wurden semilogarithmisch gegen ihre entsprechenden Konzentrationen aufgetragen. Nach Multiplikation der von der Abszisse dieser Standardkurve abgelesenen Insulinwerte mit dem jeweiligen Verdünnungsfaktor resultierte die Insulinkonzentration der Plasmaproben (ng/ml). Die Angabe der Insulinkonzentration erfolgte nach Multiplikation mit dem Faktor 0,15 in nmol/l Plasma.

2.3.2.2 Triglyzeridextraktion

Um den Triglyzeridgehalt des Plasmas und der Gewebe bestimmen zu können, mussten die Triglyzeride zunächst extrahiert werden. Dies geschah mit einer modifizierten Extraktionsmethode nach Kates [247] und Saggerson et al. [248].

Prinzip

Zunächst werden die Gewebeproben mit einem Ultraturrax unter Zugabe von Aqua dest. homogenisiert (3 min, 20500 Umdrehungen/min), um das Gewebe zu zerstören und die enthaltenen Triglyzeride freizusetzen. Anschließend werden die Triglyzeride mittels Ethylacetat aus dem Homogenat gelöst. Dazu wird dem Homogenat ein bestimmtes Volumen Ethylacetat zugegeben, kräftig geschüttelt und anschließend auf einem Vortexrüttler 15 min durchmischt. Durch Zentrifugation (12 min, 4000 rpm) wird sodann die triglyzeridhaltige Ethylacetatphase von dem wässrigen Homogenat getrennt und das überstehende Ethylacetat quantitativ in Maxi Vials überführt, deren Leergewicht zuvor bestimmt wurde. Insgesamt werden drei Ethylacetatwaschgänge durchgeführt und anschließend das Volumen der gewonnenen Ethylacetatphase über Rückwiegen der Maxi Vials und Division der gewogenen Ethylacetatmasse durch die spezifische Dichte des Ethylacetats ($0,898 \text{ g/cm}^3$) bestimmt.

Eingesetzte Menge

Die Tabelle beinhaltet die in V1 und V4 eingesetzten Mengen des Plasmas und der Gewebe. In V4 wurde auf die Triglyzeridbestimmung im Muskel verzichtet, um das gesamte Muskelgewebe dem kooperierenden Labor von Prof. Lynch in den USA für weiterführende Analysen zur Verfügung zu stellen.

Tabelle 2-6: Zur Extraktion der Triglyzeride eingesetzte Probenmengen.

Versuch	V1	V4
Plasma	500 μl	500 μl
Leber	2 g	500 mg
Fett	100 mg	100 mg
Muskel	1 g	—

Aufarbeitung des Plasmas und der Gewebe

Plasma

Die Plasmaproben konnten ohne Homogenisierung extrahiert werden. Im ersten Waschgang wurden 5 ml Ethylacetat zugegeben, der zweite und dritte Waschgang erfolgten jeweils mit 3 ml Ethylacetat.

Gewebeproben

Die Gewebeproben wurden mit 1,5 ml (Leber, Fett) bzw. 2 ml (Muskel) Aqua tridest homogenisiert. Im Anschluss daran erfolgten der erste Waschgang mit 5 ml Ethylacetat, der zweite mit 3 ml Ethylacetat und der dritte mit 4 ml Ethylacetat.

2.3.2.3 Triglyzeridkonzentration

Die Triglyzeridbestimmung wurde mittels eines Tests der Firma Roche durchgeführt.

Prinzip

Hierbei erfolgt die enzymatische Hydrolyse der Triglyzeride mittels der Lipase unter Bildung von Glycerin und freien Fettsäuren. Das so freigesetzte Glycerin wird unter Einwirkung der Glycerokinase phosphoryliert und anschließend durch die Glycerophosphat-Oxidase oxidiert. Das dabei entstehende H_2O_2 wird in einer durch die Peroxidase katalysierten Farbreaktion photometrisch nachgewiesen.

Aufarbeitung der Proben

In allen Versuchen wurden Tripelbestimmungen durchgeführt. Zunächst wurden je 500 μ l der Plasmaextrakte und 10 μ l der Gewebeextrakte in Probenröhrchen überführt. Die Plasmaextrakte wurden in einer Vakuumzentrifuge zur Trockne gebracht, das Ethylacetat der Gewebeextrakte evaporierte innerhalb 1 h bei Raumtemperatur. Zu Beginn der eigentlichen Triglyzeridbestimmung wurden 10 μ l der Kalibrationslösung und zweimal 10 μ l einer Serumprobe mit bekanntem Triglyzeridgehalt als Kontrolle in vier zusätzliche Probenröhrchen pipettiert. Anschließend wurde 1 ml des enzymhaltigen Reagenzes in alle Probenröhrchen gegeben, ein weiteres Probenröhrchen enthielt ausschließlich Reaktionslösung (Leerwert). Die Probenröhrchen wurden sofort verschlossen und die Ansätze für 5 min in einem Thermoerschüttler bei 37 °C inkubiert. Darauf wurden die Ansätze in Kunststoffküvetten überführt. Nach Bestimmung der Standardextinktion des Kalibrators wurden innerhalb von weiteren 20 min bei 550 nm die Extinktion der Proben- und Kontrolllösungen in einem Spektralphotometer gegen den Leerwert gemessen.

Berechnung der Triglyzeridkonzentration (μ g/mg Feuchtgewicht)

Aus den Tripelbestimmungen wurde jeweils der Mittelwert der Extinktionen bestimmt. Diese Extinktionsmittelwerte wurden durch die zu Beginn gemessene Standardextinktion des Kalibrators dividiert und anschließend mit dem angegebenen Sollwert des Kalibrators multipliziert, um die Konzentration der Triglyzeride in mg/dl Ethylacetatextrakt zu erhalten.

$$\text{Triglyzeridkonzentration [mg / dl]} = \text{Sollwert}_{\text{Kalibrator}} * \frac{\text{Extinktion}_{\text{Probe}}}{\text{Extinktion}_{\text{Kalibrator}}}$$

Daraufhin wurde die in der gesamten Ethylacetatphase enthaltene Triglyzeridmasse berechnet, indem die Triglyzeridkonzentration mit dem Volumen der bei der Extraktion insgesamt gewonnenen Ethylacetatphase multipliziert wurde.

$$\text{Triglyzeridmasse [mg]} = \text{Triglyzeridkonzentration [mg/ml]} * \frac{\text{Ethylacetatmasse}_{\text{gesamt}} [\text{g}]}{0,898 \text{ g/cm}^3}$$

Da zur Plasmatriglyzeridbestimmung 500 µl der Ethylacetatphase anstatt 10 µl eingesetzt worden waren, musste hier noch eine zusätzliche Division der Triglyzeridkonzentration durch 50 erfolgen. Letztlich wurde diese Triglyzeridmasse durch das Feuchtgewicht der zur Extraktion eingesetzten Gewebeprobe dividiert, um die Triglyzeridkonzentration in µg/mg Feuchtgewicht zu erhalten.

2.3.2.4 Bestimmung des Radioaktivitätsgehalt im Triglyzeridanteil

Prinzip

Die Proben, deren Radioaktivitätsgehalt bestimmt werden soll, werden mit der entsprechenden Menge einer Szintillationslösung versetzt und im Radioaktivitätszähler gemessen. Im Szintillationscocktail wird die radioaktive Strahlung in Lichtblitze umgewandelt, welche durch einen Photomultiplier verstärkt in einem Detektor gemessen und statistisch gemittelt als counts per minute (cpm) angegeben werden. Durch Abzug des Untergrundrauschens (natürliche Radioaktivität) und Korrektur des Quenches werden die in der Probe tatsächlich stattfindenden Zerfälle pro Minute, disintegrations per minute (dpm), ermittelt. Der Quench ergibt sich aus der unterschiedlichen Trübung der Probelösungen. Sein Ausmaß wird durch externe Standardisierung ermittelt, d.h. nach jeder Messung wird die Durchlässigkeit der Probe für eine externe Strahlenquelle bestimmt. Bei Messung von Proben mit bekannter Radioaktivitätsmenge mit jeweils der gleichen Menge Cocktail und zunehmenden Anteilen Methoxyethylamin wird die Zählrohrbeute des externen Standards bestimmt und eine Quenchkurve aufgestellt. Diese wird abgespeichert und zur Korrektur des Radioaktivitätsgehaltes in den Proben herangezogen.

Vermessung der Proben

Auf das nach Entnahme der 30 µl für die Triglyzeridbestimmung verbleibende Ethylacetatvolumen wurden 10 ml Szintillationscocktail Ultima Gold XR gegeben, durch kräftiges Schütteln für eine gute Vermischung gesorgt und im Szintillationszähler der Radioaktivitätsgehalt der Ethylacetatphase 3-9 min lang gemessen.

Berechnung der triglyzeridgebundenen Radioaktivität (dpm/mg Triglyzeride)

Zunächst wurde basierend auf der Triglyzeridmasse in der gesamten Ethylacetatphase die Triglyzeridmasse des eingesetzten Ethylacetatvolumens berechnet. Die Anzahl der gemess-

senen dpm (disintegrations per minute) wurde dann durch die Triglyzeridmasse dividiert, um den Radioaktivitätsgehalt in dpm/mg Triglyzeride zu erhalten.

2.3.3 Auswertung der Daten

Alle in den Tierversuchen gewonnenen Daten über die Körpergewichtszunahme, den Futter- und Wasserverbrauch, sowie die Organgewichte wurden in Datenblätter des Tabellenkalkulationsprogramms Microsoft Excel 2000 eingetragen. Anhand dieser Basisdaten wurden zusätzliche Berechnungen (Prozentwerte, Kumulativwerte, relative Futteraufnahme) durchgeführt und die Mittelwerte, die Standardabweichungen (standard deviation = S.D.) und die Standardabweichungen vom Mittelwert (standard error = S.E.) berechnet. Die gleichen statistischen Parameter wurden auch für die Daten aus den Insulin-, Triglyzerid- und Radioaktivitätsbestimmungen in Microsoft Excel ermittelt.

Der statistische Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen erfolgte mit dem Programm WinSTAT für Excel. Zunächst wurden die Ergebnisse innerhalb der Gruppen mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung geprüft. Nachdem in der Mehrzahl der Fälle keine Normalverteilung vorlag, also der t -Test nach Student nicht erlaubt war, erfolgte der statistische Vergleich auf signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen mit dem U-Test nach Mann-Whitney. Die Tests wurden auf einem Signifikanzniveau von 5% Irrtumswahrscheinlichkeit durchgeführt. Für die Signifikanzangaben im Text gilt:

nicht signifikant	$p > 0,05$ (n.s.)
signifikant	$p < 0,05$
hochsignifikant	$p < 0,01$

Alle Eichkurven und Abbildungen wurden mit dem Programm GraphPad Prism V. 3.0 erstellt. Soweit nicht anders angegeben, werden die Ergebnisse als arithmetischer Mittelwert (MW) mit der Standardabweichung vom Mittelwert (S.E.) dargestellt.

3 Ergebnisse

3.1 Tierversuch

3.1.1 Vorbemerkungen

In den Versuchsreihen V1, V3 und V4 starben einzelne Tiere während der laufenden Studie. Es handelt sich in V1 um jeweils ein Tier aus der Kontroll- und der Topiramat-Gruppe. In V3 um vier Tiere der ETZ-Gruppe und in V4 um ein Tier der Topiramat-Gruppe. Bei allen verstorbenen Tieren bestand prae mortem eine makroskopische Hämaturie, so dass von einem Nierenversagen als Todesursache auszugehen ist. Die jeweils paargefütterten Partnertiere wurden am selben Studientag aus der Versuchsreihe genommen. Bei allen hier dargestellten Ergebnissen wurden die Daten der verstorbenen Tiere nicht berücksichtigt.

3.1.2 Körpergewicht

3.1.2.1 Versuche mit *fa/fa* Zuckerratten (V1 und V4)

In den beiden Versuchen V1 und V4 ergab sich für das Körpergewicht der *fa/fa* Zuckerratten der in Abbildung 3-1 dargestellte Verlauf. Abbildung 3-2 zeigt den innerhalb des vierwöchigen Hauptversuches erzielten Gesamtzuwachs der einzelnen Gruppen in V1 und V4. In den Tabellen 3-1 (V1) und 3-2 (V4) sind die mittleren Körpergewichte der einzelnen Gruppen an ausgewählten Tagen der Versuche zusammengefasst, eine detaillierte Darstellung aller Einzelwerte findet sich im Anhang in den Tabellen A1 und A2.

In **V1** kam es im **Vorversuch** an den ersten Tagen der Einzelhaltung zu einer leichten Gewichtsabnahme in der Kontroll- (-0,2%), der Kontroll-Paarfütterungs- (-1,6%) und der TPM-Gruppe (-0,6%). Es folgte in allen Gruppen eine kontinuierliche Gewichtszunahme bis zum Beginn des Hauptversuchs, die durchschnittlich bei den Kontrolltieren 5,5 g/d, den Kontrollpaarfütterungstieren 4,5 g/d, den TPM-Tieren 6 g/d und den TPM-Paarfütterungstieren 5 g/d betrug. Im **Vorversuch** konnten insgesamt folgende Zuwächse verzeichnet werden:

- 5,8% in der Kontrollgruppe (Zunahme von 484±10 g auf 512±9 g)
- 2,9% in der Kontroll-Paarfütterungsgruppe (Zunahme von 487±10 g auf 501±11 g)
- 5,4% in der TPM-Gruppe (Zunahme von 499±10 g auf 526±12 g)
- 6,4% in der TPM-Paarfütterungsgruppe (Zunahme von 486±13 g auf 517±9 g)

Während des **Hauptversuchs** steigerten die **Kontrolltiere** ihr Gewicht weiterhin kontinuierlich bis zum Versuchsende um insgesamt 45±8 g von 512±9 g auf 557±13 g (+8,8%), wenn auch langsamer als während der Vorversuchszeit (durchschnittlich 1,8 g/d).

Die **TPM-Tiere** zeigten 24 Stunden nach der ersten TPM-Gabe einen akuten Körpergewichtseinbruch um durchschnittlich 18 g von 526±12 g auf 508±11 g (-3,4%). Dieser Ein-

bruch war gefolgt von einer an Tag 2 einsetzenden, stetigen Körpergewichtszunahme um durchschnittlich 1,7 g/d. Nach Erreichen des Ausgangsgewichts an Tag 10 setzte sich die Gewichtszunahme langsamer fort (durchschnittlich 0,8 g/d), erfuhr aber an den letzten 4 Versuchstagen nochmals einen ausgeprägten Anstieg um durchschnittlich 3 g/d. Gegenüber Tag 0 resultierte somit eine Gesamtzunahme um +3,8% von 526 ± 12 g auf 546 ± 14 g. Insgesamt gewannen die TPM-Tiere 21 ± 7 g Gewicht und damit signifikant weniger als die Kontrollgruppe (-55,6%; $p < 0,05$).

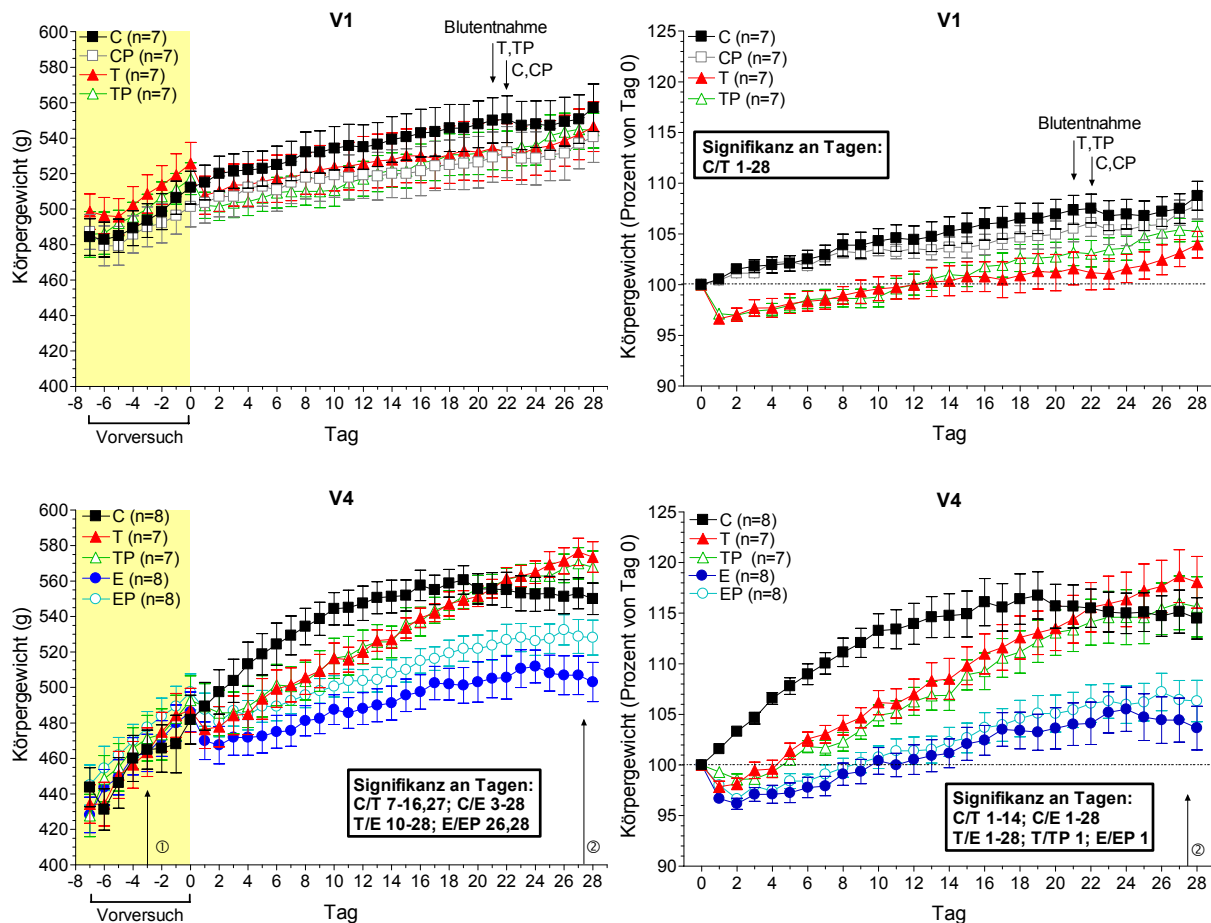


Abbildung 3-1: Körpergewichte der Zuckerratten im Verlauf von V1 und V4; MW±SE.

Die Ratten erhielten von Tag 0 an täglich entweder Placebo (C, CP, TP, EP), 100 mg/kg KG TPM (T) oder 75,9 mg/kg KG ETZ (E). In V4 erhielten die Tiere aller Gruppen vor Beginn des Hauptversuchs über 3 Tage Placebo ①. Während des Hauptversuchs wurden die Tiere ad libitum (C, T, E) oder paargefüttert (CP, TP, EP). Im Vorversuch in V1 wurden die Tiere der Paarfütterungsgruppen (CP, TP) schon paargefüttert. In V4 erhielten alle Tiere während des Vorversuchs Futter ad libitum, am Versuchsende wurde den Ratten 8 h vor der Tötung das Futter entzogen ②.

Die **TPM-Paarfütterungstiere** verloren an Tag 1 durchschnittlich 15 g Gewicht von 517 ± 9 g auf 502 ± 7 g, gefolgt von einer weiteren Abnahme auf 501 ± 8 g an Tag 2, so dass - vergleichbar zur TPM-Gruppe - eine Reduktion um durchschnittlich 16 g (-3,1%) resultierte. An Tag 3 setzte eine kontinuierliche Gewichtszunahme um durchschnittlich 1,6 g/d ein mit Wiedererreichen des Ausgangsgewichts an Tag 12. Anschließend folgte eine stärkere Gewichtszunahme

me um durchschnittlich 2 g/d, bis am Versuchsende eine Gesamtzunahme um 27 ± 5 g von 517 ± 9 g auf 544 ± 10 g (+5,2%) zu verzeichnen war. Dies entsprach einem um ein Drittel höheren Zugewinn als bei den TPM-Tieren (+35%; n.s.).

Die **Kontrollpaarfütterungstiere** verzeichneten bis Tag 8 einen den Kontrolltieren vergleichbaren täglichen Zuwachs von durchschnittlich 2 g/d. Im Weiteren zeigten sie eine langsamere Zunahme von durchschnittlich 1,1 g/d, so dass am Versuchsende eine im Vergleich zu den Kontrollen um 5 g geringere Gesamtzunahme (n.s.) um 39 ± 7 g von 501 ± 11 g auf 541 ± 14 g (+8,0%) erreicht wurde.

Die Blutentnahme während des Hauptversuchs zog in allen Gruppen einen leichten Gewichtsverlust nach sich (-0,6% C, -0,7% CP, -0,4% T, -0,1% TP). In der Kontroll- und ihrer Paarfütterungsgruppe folgte hierauf eine dreitägige Stagnation des Körpergewichtes.

In **V4** zeigten die designierten TPM- und ETZ-Tiere, sowie ihre Partnergruppen während des **Vorversuchs** eine stete Körpergewichtszunahme von durchschnittlich 8,8 g/d bei den TPM-, 7,8 g/d bei den ETZ-, 8 g/d bei den TPM-Paarfütterungs- und 7,5 g/d bei den ETZ-Paarfütterungstieren, unbeeinträchtigt von der an Tag -3 begonnenen Vehikelschlündelung. Die Kontrollen reagierten auf die Einzelhaltung initial mit einem leichten Gewichtsverlust (-2,8%) und auf die Placeboschlündelung mit einer zweitägigen Gewichtsstagnation, zeigten aber an den anderen Tagen eine Zunahme von durchschnittlich 10 g/d. Insgesamt konnten bis zum Beginn des Hauptversuchs folgende Zuwächse dokumentiert werden:

- 8,6% in der Kontrollgruppe (Zunahme von 444 ± 11 g auf 482 ± 14 g)
- 12,2% in der TPM-Gruppe (Zunahme von 434 ± 11 g auf 487 ± 12 g)
- 15,2% in der TPM-Paarfütterungsgruppe (Zunahme von 428 ± 12 g auf 493 ± 14 g)
- 13,6% in der ETZ-Gruppe (Zunahme von 428 ± 10 g auf 486 ± 11 g)
- 11,9% in der ETZ-Paarfütterungsgruppe (Zunahme von 445 ± 11 g auf 498 ± 10 g)

In den ersten 2 Wochen des **Hauptversuchs** stieg das Gewicht der **Kontrolltiere** kontinuierlich um durchschnittlich 5,5 g/d, um dann in einem Plateau zu münden. Insgesamt zeigte sich eine Zunahme um $71 \pm 8,4$ g von $482 \pm 13,8$ g auf $553 \pm 8,7$ g (+14,7%).

Die **TPM-Tiere** zeigten nach Beginn der Behandlung einen akuten Körpergewichtsverlust an Tag 1 um durchschnittlich 11 g von 487 ± 12 g auf 476 ± 11 g (-2,3%). Hierauf folgte beginnend an Tag 2 eine Gewichtszunahme, die an Tag 3 zum Wiedererreichen des Ausgangsgewichtes führte. Diese tägliche Gewichtszunahme von durchschnittlich 3,8 g/d setzte sich stetig bis zum Versuchsende fort. Im Gegensatz zur Kontrollgruppe wurde kein Plateau erreicht. Dies führte zu einer Gesamtzunahme um 89 ± 11 g von 487 ± 12 g auf 576 ± 8 g (+18,3%) und somit zu einer um ein Viertel höheren Gewichtszunahme als in der Kontrollgruppe (+25,4%; n.s.).

Die **TPM-Paarfütterungstiere** zeigten einen mit durchschnittlich 4 g an Tag 1 und weiteren 3 g an Tag 2 geringeren Gewichtsverlust als die TPM-Tiere (n.s.) von 493 ± 14 g auf 486 ± 13 g (-1,4%). Ab Tag 4 zeigten sich kontinuierliche Gewichtszunahmen von durchschnittlich 4 g/d, bis sich gegen Versuchende ein Plateau andeutete. Es resultierte eine Gesamtzunahme um 15,6% von 493 ± 14 g auf 570 ± 9 g. Der Gesamtzuwachs von 75 ± 13 g war 14 g niedriger als in der TPM-Gruppe (-13,5%; n.s.).

Unter der **ETZ-Behandlung** kam es an Tag 1 zu einem durchschnittlichen Gewichtsverlust um 16 g von 486 ± 11 g auf 470 ± 11 g (-3,2%), gefolgt von einem Verlust an Tag 2 um weitere 2 g auf 468 ± 11 g (-3,9% gegenüber Tag 0). Der akute Gewichtsverlust war somit um 7 g höher als in der TPM-Gruppe ($p < 0,05$). Ab Tag 3 folgte eine stetige Körpergewichtszunahme von durchschnittlich 2,3 g/d mit Erreichen des Ausgangsgewichts an Tag 10. An Tag 17 war bei 503 ± 9 g ein Niveau erreicht, um welches das Gewicht der ETZ-Tiere bis zum Versuchsende schwankte. Insgesamt zeigte sich eine Zunahme um 4,3% von 486 ± 11 g auf 507 ± 11 g. Mit 21 ± 10 g entsprach der Gesamtzuwachs ca. einem Drittel der Zunahme der Kontrolltiere (-70,4%; $p < 0,01$) und ca. einem Viertel der Zunahme der TPM-Tiere (-76,4%; $p < 0,01$).

Bei den Tieren der **ETZ-Paarfütterungsgruppe** kam es innerhalb der ersten beiden Hauptversuchstagen - wie bei den ETZ-Tieren - zu einem akuten Gewichtsverlust um durchschnittlich 17 g von 498 ± 10 g auf 481 ± 9 g (-3,5%). Es folgte bis zur letzten Versuchswoche ein konstanterer täglicher Gewichtszuwachs als in der ETZ-Gruppe von durchschnittlich 2,3 g/d. Somit resultierte bei einer Gesamtzunahme um 6,2% von 498 ± 10 g auf 529 ± 10 g am Ende eine um 10 g höhere Gesamtzunahme als bei den ETZ-Tieren (31 ± 10 g; +47,6%; n.s.).

Nach Futterentzug 8 Stunden vor der dem geplanten Tötungszeitpunkt zeigte sich in allen Gruppen eine leichte Gewichtsabnahme bis zum Morgen des Tag 28, weshalb die Daten des Tag 27 in V4 als Endgewichte zur Kalkulation verwendet wurden.

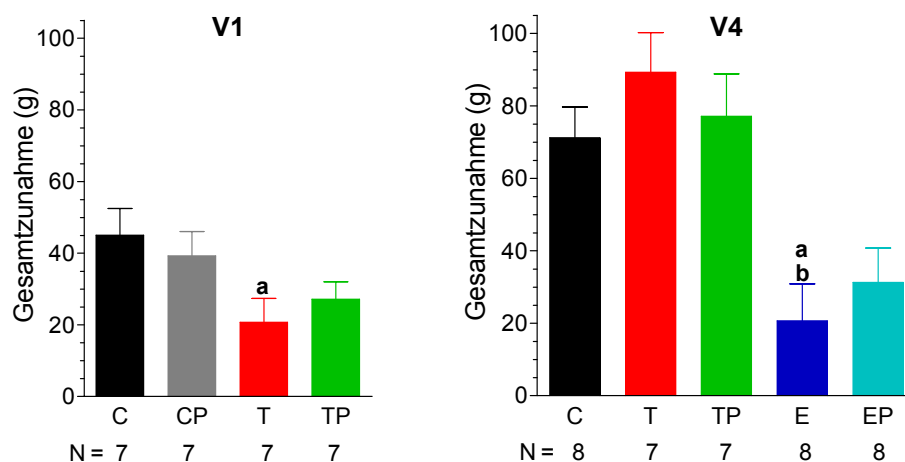


Abbildung 3-2: Körpergewichte der *fa/fa* Zuckerratten in V1 und V4 während des vierwöchigen Hauptversuchs; MW±SE.

a, b: signifikant verschieden von C (a) und T (b).

Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-1.

Tabelle 3-1: Körpergewichte (g) der Tiere in V1 an ausgesuchten Versuchstagen; MW±SE (Min–Max), N=7.

Gruppe	Tag -7	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 7	Tag 28
C	484±10,3 (460–525)	512±9,2 (480–545)	515±9,8 (480–545)	520±9,8 (480–550)	527± 11,1 (485–560)	557±13,4 (515–590)
CP	487±9,8 (460–525)	501±11,4 (470–545)	504±11,4 (470–545)	507±11,5 (475–550)	515±11,8 (480–555)	541±14,3 (485–590)
T	499±10,0 (480–550)	526±11,9 (495–580)	508±10,7 (475–560)	510±11,3 (470–565)	518±13,0 (480–585)	546±14,0 (490–605)
TP	486±12,9 (425–520)	517±9,0 (490–545)	502±7,4 (475–525)	501±7,8 (470–525)	510±8,6 (475–540)	544±9,8 (500–580)

Tabelle 3-2: Körpergewichte (g) der Tiere in V4 an ausgesuchten Versuchstagen; MW±SE (Min–Max), N=8 (C,E,EP) bzw. N=7 (T,TP); a,b: signifikant verschieden von C (a) und T (b).

Gruppe	Tag -7	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 7	Tag 27
C	444±11,0 (410–500)	482±13,8 (425–540)	489±13,4 (435–550)	498±12,6 (450–555)	529±11,0 (485–585)	553±8,7 (515–600)
T	434±10,8 (400–485)	487±12,4 (450–540)	476±10,8 (445–525)	478±11,3 (445–530)	501±9,6 ^a (475–545)	576 ±7,7 ^a (550–605)
TP	428±12,0 (385–470)	493±13,7 (445–545)	489±12,9 (450–535)	486±12,8 (450–530)	501±10,8 (460–535)	570±8,9 (535–605)
E	428±10,0 (390–470)	486±11,3 (435–525)	470±10,6 (430–510)	468±10,6 (430–510)	476±8,8 ^a (445–505)	507±10,9 ^{a,b} (460–555)
EP	445±11,3 (400–495)	498±10,1 (465–540)	488±9,4 (460–530)	481±8,5 (455–515)	493±7,3 (470–525)	529±9,6 (495–575)

3.1.2.2 Versuche mit *db/db* Mäusen (V2 und V3)

Neben den Versuchen mit Zuckerratten wurden zwei Versuche mit *db/db* Mäusen durchgeführt. Die Entwicklung des Körpergewichts in diesen Versuchen V2 und V3 spiegelt Abbildung 3-3 wider. Der Abbildung 3-4 ist die kumulative Gewichtsänderung bis zum Versuchsende der einzelnen Gruppen in V2 und V3 zu entnehmen. Die Tabellen 3-3 (V2) und 3-4 (V3) geben einen Überblick über die mittleren Körpergewichte der einzelnen Gruppen an ausgewählten Versuchstagen, einen detaillierten Überblick über die Körpergewichtsdaten bieten Tabellen A3 und A4 im Anhang.

In **V2** verloren die Tiere aller Gruppen im Laufe des **Vorversuchs** wegen suboptimaler Futterzufuhr an Gewicht. Sobald die Futterzufuhr optimiert war, zeigten alle Tiere eine Stabilisierung des Körpergewichts (T/TP Tag -1; C/CP Tag 0). Insgesamt waren bis zum Beginn des Hauptversuchs folgende Körpergewichtsverluste zu verzeichnen:

- -6,9% in der Kontrollgruppe (Abnahme von 44,8±0,7 g auf 41,7±0,6 g)
- -10% in der Kontroll-Paarfütterungsgruppe (Abnahme von 43,9±0,8 g auf 39,5±0,8 g)
- -5,5% in der TPM-Gruppe (Abnahme von 45,1±0,7 g auf 42,6±0,6 g)
- -6,7% in der TPM-Paarfütterungsgruppe (Abnahme von 44,5±0,8 g auf 41,5±0,7 g)

Die **Kontrolltiere** zeigten im **Hauptversuch** zunächst eine kontinuierliche Gewichtszunahme von durchschnittlich 0,2 g/d, die an Tag 11 bei $44,0 \pm 0,8$ g in ein Plateau mündete (+5,5% gegenüber Tag 0). Ab Tag 22, nach der Blutentnahme und des Wechsels der Käfigpositionen, verloren die Kontrolltiere kontinuierlich Gewicht (durchschnittlich 0,3 g/d), so dass am Versuchsende mit $42,1 \pm 1,1$ g fast das Ausgangsgewicht (Tag 0 $41,7 \pm 0,6$ g) erreicht war (+1%).

Die **Kontrollpaarfütterungstiere** zeigten bis Tag 20 einen den Kontrolltieren vergleichbaren Verlauf des Körpergewichtes mit einer durchschnittlichen Zunahme von 0,2 g/d bis Tag 11 und Erreichen eines Plateaus bei $41,5 \pm 0,8$ g (+5% gegenüber $39,5 \pm 0,8$ g an Tag 0). Im Gegensatz zu den Kontrolltieren konnten sie ihr Gewicht in der letzten Versuchswoche relativ konstant halten, so dass insgesamt eine höhere Gesamtzunahme um $1,8 \pm 0,8$ g von $39,5 \pm 0,8$ g auf $41,3 \pm 1,0$ g (+4,6%, n.s.) resultierte.

In der **TPM-Gruppe** zeigte sich 48 Stunden nach Beginn der Behandlung eine leichte Reduktion des Körpergewichtes um durchschnittlich 0,3 g von $42,6 \pm 0,6$ g auf $42,3 \pm 0,7$ g (-0,7%). Von Tag 3 bis Tag 9 folgte eine kontinuierliche Gewichtszunahme (durchschnittlich 0,2 g/d) bis auf $43,8 \pm 0,6$ g (+2,8% gegenüber Tag 0). Im Anschluss kam es ab Tag 11 zu einem stetigen Gewichtsverlust um durchschnittlich 0,1 g/d mit Erreichen des Ausgangsgewichtes an Tag 20. Nach der Blutentnahme folgte sich eine weitere Abnahme an den Tagen 22 bis 24 um durchschnittlich 0,5 g/d. Nach kurzer Stabilisierung kam es am letzten Tag nochmals zu einer ausgeprägten Gewichtsabnahme um durchschnittlich 0,5 g auf zuletzt $40,3 \pm 0,8$ g (-5,4% gegenüber $42,6 \pm 0,6$ g an Tag 0). Insgesamt zeigte sich in der TPM-Gruppe somit ein gegenüber der Kontrollgruppe signifikanter Gewichtsverlust von $2,4 \pm 0,6$ g ($p < 0,05$).

Die **TPM-Paarfütterungstiere** zeigten an Tag 2 eine Gewichtsreduktion um durchschnittlich 0,3 g von $41,5 \pm 0,7$ g auf $41,2 \pm 0,7$ g (-0,7%) entsprechend den TPM-behandelten Tieren. Im Folgenden schwankte das Gewicht um den Ausgangswert. An Tag 20 zeigte sich unvermittelt eine ausgeprägte Gewichtsabnahme um durchschnittlich 1,3 g assoziiert mit einer geringeren Wasseraufnahme (siehe 3.1.4.2). Danach stabilisierte sich das Körpergewicht auf diesem Niveau, so dass am Versuchsende eine Gesamtabnahme um $2,0 \pm 0,7$ g von $41,5 \pm 0,7$ g auf $39,5 \pm 0,9$ g (-4,8%) resultierte. Dies entspricht dem Gesamtverlust der TPM-Gruppe. Die Blutentnahme an Tag 20 und das Umstellen der Käfige an Tag 21 zeigten keine negativen Auswirkungen auf das Körpergewicht an den Folgetagen.

In **V3** wurden die Mäuse bereits 14 Tage vor Beginn des Hauptversuchs kontrolliert. In der ersten Woche des **Vorversuchs** kam es durch Umstellung auf Einzelhaltung zu einer Abnahme des Körpergewichtes in allen Gruppen (C -1,6%; T -0,5%; TP -0,5%; E -0,4%). Nach Stabilisierung kam es mit Beginn der Vehikelschlüdelung in der zweiten Vorversuchswoche an Tag -7 in allen Gruppen zu einem stetigen Gewichtsverlust, so dass an Tag 0 folgende Abnahmen verzeichnet wurden:

- -6,0% in der Kontrollgruppe (Abnahme von 45,0±0,7 g auf 42,3±0,7 g)
- -5,1% in der TPM-Gruppe (Abnahme von 44,7±1,1 g auf 42,4±1,0 g)
- -5,0% in der TPM-Paarfütterungsgruppe (Abnahme von 44,1±0,8 g auf 41,9±0,8 g)
- -5,3% in der ETZ-Gruppe (Abnahme von 45,2±0,9 g auf 42,8±1,0 g)

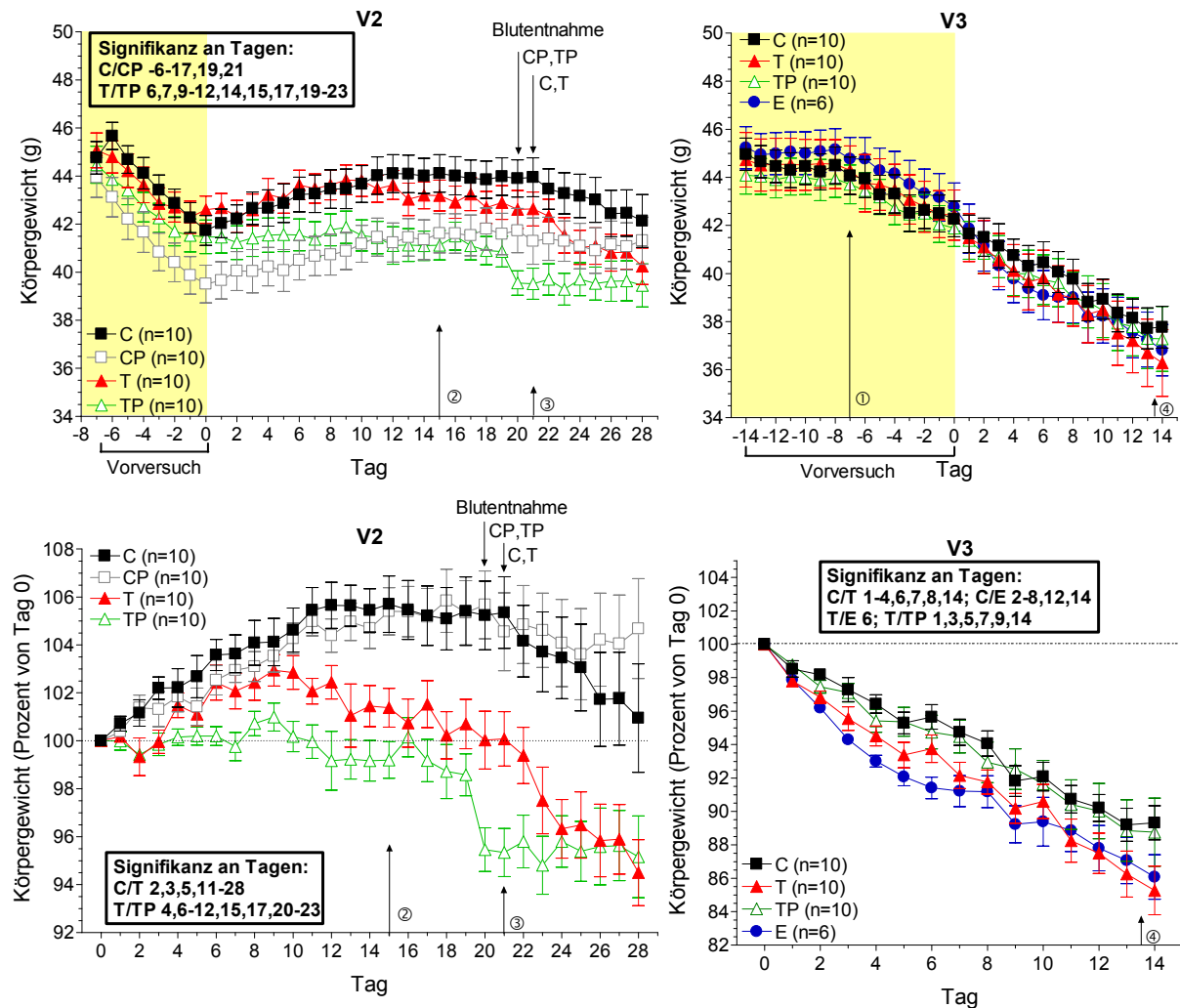


Abbildung 3-3: Körpergewichte der *db/db* Mäuse im Verlauf von V2 und V3; MW±SE.

Die Mäuse erhielten von Tag 0 an täglich entweder Placebo (C,CP,TP), 100 mg/kg KG TPM (T) oder 75,9 mg/kg KG ETZ (E). In V2 begann die Paarfütterung (CP,TP) bereits im Vorversuch. In V3 erhielten alle Tiere ab dem 7. Tag vor Beginn des Hauptversuchs Placebo ①. Während des Hauptversuchs wurden die Tiere *ad libitum* (C,T,E) oder paarfüttert (CP,TP). In V2 wurde am 15. Tag eine neue Futtercharge gegeben ② und an Tag 21 die Käfigpositionen von Gruppe C und TP getauscht ③. In V3 wurde den Mäusen 8 h vor der Tötung das Futter entzogen ④.

Während des **Hauptversuchs** setzte sich dieser Gewichtsverlust in allen Gruppen kontinuierlich bis zum Versuchsende fort. Wegen des Futterentzugs 8 Stunden vor dem geplanten Tötungszeitpunkt wurden die Endgewichte an Tag 13 zur Kalkulation verwendet. Die **Kontrolltiere** verloren durchschnittlich 0,3 g/d von 42,3±0,7 g auf 37,7±0,9 g (4,6±0,4 g; -10,9%). In der **TPM-Gruppe** kam es bei einem durchschnittlichen täglichen Verlust von 0,4 g/d zu einem Gesamtverlust von 5,7±0,5 g (von 42,4±1,0 g auf 36,7±1,4 g, entsprechend -13,4%). Dies entspricht einem um 24% höheren Gesamtverlust als in der Kontrollgruppe

($p < 0,05$). Bei den **TPM-Paarfütterungstieren** ergab sich wie in der Kontrollgruppe ein Gesamtverlust um insgesamt $4,6 \pm 0,7$ g von $41,9 \pm 0,8$ g auf $37,3 \pm 1,2$ g (-10,9%, durchschnittlich $0,3$ g/d). Wegen der höheren Streuung wurde keine Signifikanz gegenüber den TPM-Tieren erreicht. Die **ETZ-Tiere** zeigten einen durchschnittlichen Gewichtsverlust von $0,4$ g/d, der zu einem Gesamtverlust um 12,8% von $42,8 \pm 1,0$ g auf $37,3 \pm 1,1$ g ($5,5 \pm 0,6$ g) führte, vergleichbar dem Verlust in der TPM-Gruppe. Gegenüber der Kontrollgruppe wurde hier keine Signifikanz erreicht.

Im Rahmen des V2 wurde ein Orientierungsversuch V2A durchgeführt, in dem 8 Mäuse im Alter von 15 Wochen sieben Tage lang mit TPM behandelt wurden. Der Verlauf der Körpergewichte im Vergleich zu den Kontroll- und TPM-Tieren (zu Beginn des Versuchs 10 Wochen alt) während der Vorversuchszeit und der ersten Behandlungswoche in V2 und die kumulative Gewichtsänderung dieser Gruppen ist in Abbildung 3-5 dargestellt. Die mittleren Körpergewichte an den entscheidenden Versuchstagen sind in Tabelle 3-3 aufgeführt.

Tabelle 3-3: Mittleres Körpergewicht (g) der Tiere in V2 und V2A an ausgesuchten Versuchstagen; MW \pm SE (Min–Max), N=10 (C, CP, T, TP) bzw. N=7 (T₇); a,b: signifikant verschieden von C (a) und T (b).

Gruppe	Tag -7	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 7	Tag 28
C	$44,8 \pm 0,7$ (39,5–47,2)	$41,7 \pm 0,6$ (37,6–44,7)	$42 \pm 0,6$ (38,2–44,6)	$42,2 \pm 0,6$ (38,7–44,6)	$43,3 \pm 0,8$ (38,2–46,3)	$42,1 \pm 1,1$ (37,2–47,7)
CP	$43,9 \pm 0,8$ (39,5–46,3)	$39,5 \pm 0,8^a$ (34,9–43,8)	$39,7 \pm 0,8^a$ (35,2–44,3)	$40,1 \pm 0,8^a$ (35,5–44,7)	$40,7 \pm 0,8^a$ (35,7–44,8)	$41,3 \pm 1,0$ (36,4–45,5)
T	$45,1 \pm 0,7$ (41,7–49,1)	$42,6 \pm 0,6$ (39,8–45,1)	$42,7 \pm 0,6$ (39,8–45,3)	$42,3 \pm 0,7$ (39,5–44,9)	$43,5 \pm 0,6$ (41,6–46,3)	$40,3 \pm 0,8$ (37,2–45,4)
TP	$44,5 \pm 0,8$ (39,6–47,2)	$41,5 \pm 0,7$ (37,6–44)	$41,5 \pm 0,7$ (37,5–43,8)	$41,2 \pm 0,7$ (37,1–43,7)	$41,4 \pm 0,7^b$ (37,2–43,8)	$39,5 \pm 0,9$ (34,6–42,7)
T ₇	$47,7 \pm 0,7^{a,b}$ (44,1–49,9)	$48,1 \pm 0,7^{a,b}$ (44,9–50,7)	$47,9 \pm 0,7^{a,b}$ (44,7–50,7)	$46,8 \pm 0,7^{a,b}$ (44,3–50,2)	$45,3 \pm 0,7^{a,b}$ (43,6–49,1)	–

Tabelle 3-4: Mittleres Körpergewicht (g) der Tiere in V3 an ausgesuchten Versuchstagen; MW \pm SE (Min–Max), N=10 (C,T,TP) bzw. N=6 (E).

Gruppe	Tag -14	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 7	Tag 13
C	$45,0 \pm 0,7$ (40,9–47,3)	$42,3 \pm 0,7$ (37,9–45,8)	$41,7 \pm 0,8$ (37,4–45,2)	$41,5 \pm 0,8$ (36,9–45)	$40,1 \pm 0,9$ (35,5–44,5)	$37,7 \pm 0,9$ (34,2–41,3)
T	$44,7 \pm 1,1$ (37,7–51,1)	$42,4 \pm 1,0$ (37,6–49,3)	$41,5 \pm 1,0$ (36,8–47,8)	$41,1 \pm 1,1$ (36,4–48,3)	$39,1 \pm 1,2$ (34,4–46,5)	$36,7 \pm 1,4$ (29,8–44,6)
TP	$44,1 \pm 0,8$ (40,7–48,7)	$41,9 \pm 0,8$ (36,5–44,8)	$41,4 \pm 0,8$ (35,5–44,3)	$40,8 \pm 0,8$ (34,6–44,2)	$39,6 \pm 1,0$ (31,7–42,8)	$37,3 \pm 1,2$ (27,7–41,4)
E	$45,2 \pm 0,9$ (42–48)	$42,8 \pm 1,0$ (38,3–45,6)	$41,9 \pm 1,0$ (37,2–44,5)	$41,2 \pm 1,1$ (36,4–44)	$39 \pm 1,1$ (34,5–41,4)	$37,3 \pm 1,1$ (32,7–40,2)

Die Mäuse des **V2A** waren zu Beginn des **Vorversuchs** 4 Wochen älter als die Mäuse des V2. Sie waren deutlich schwerer und hatten vor Beginn des Versuchs ein Wachstumsplateau erreicht. Die älteren Tiere hielten aufgrund der optimierten Fütterung während des Vorversuchs ihr Gewicht konstant bis Tag 0 ($48,1 \pm 0,7$ g). Wie bei den jüngeren Tieren führte die

TPM-Behandlung im **Hauptversuch** auch bei den **älteren Tieren** an Tag 2 zu einem Gewichtsverlust, der mit durchschnittlich 1,3 g von $48,1 \pm 0,7$ g auf $46,8 \pm 0,7$ g (-2,7%) stärker ausgeprägt war als bei den jüngeren Tieren (-0,7%; $p < 0,01$). Während die jungen Tiere an den nächsten fünf Tagen wieder Gewicht zunahmten, setzte sich bei den älteren Tiere der Gewichtsverlust zunächst mit durchschnittlich 0,2 g/d und nach der Blutentnahme an den Tagen 6 und 7 ausgeprägter mit durchschnittlich 0,5 g/d fort. Der Gewichtsverlust innerhalb einer Woche betrug im Mittel 2,8 g von $48,1 \pm 0,7$ g auf $45,3 \pm 0,7$ g (-5,8%). Dies ergab einen signifikanten Unterschied ($p < 0,01$) zu den Kontrollratten ($1,5 \pm 0,33$ g) und den jüngeren TPM-Tieren ($0,9 \pm 0,31$ g) die im gleichen Zeitraum einen Zuwachs verzeichneten.

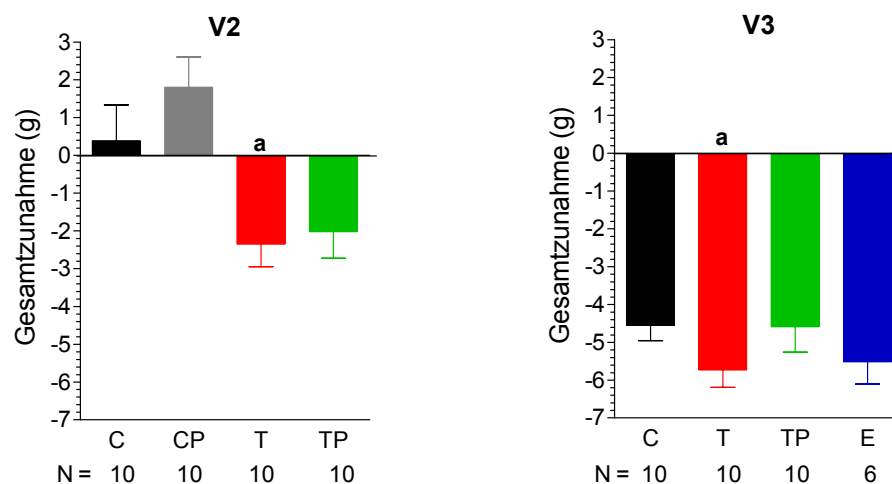


Abbildung 3-4: Körpergewichte der *db/db* Mäuse in V2 und V3 während des vier- (V2) bzw. zweiwöchigen (V3) Hauptversuchs; MW±SE.

a: signifikant verschieden von C.

Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-3

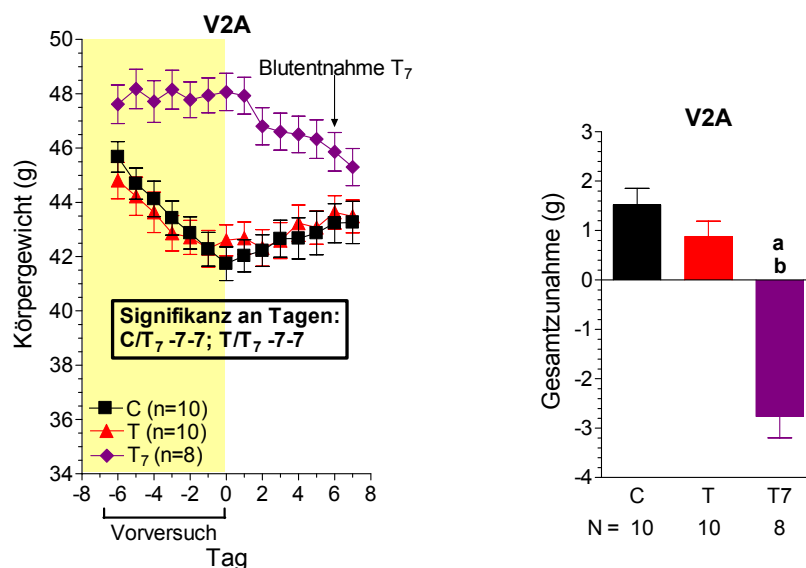


Abbildung 3-5: Körpergewichte der *db/db* Mäuse im Verlauf von V2A in Vergleich mit den Kontroll- und TPM-Tieren in V2; MW±SE.

Die Mäuse erhielten von Tag 0 an täglich entweder Vehikel (C) oder 100 mg/kg KG TPM (T, T₇) und wurden während des Hauptversuchs ad libitum gefüttert.

a, b: signifikant verschieden von C (a) und T (b).

3.1.3 Futteraufnahme

3.1.3.1 Versuche mit *fa/fa* Zuckerratten (V1 und V4)

In den Versuchen V1 und V4 mit *fa/fa* Zuckerratten veränderte sich die Futteraufnahme im Verlauf des Versuches wie in Abbildung 3-6 dargestellt. Abbildung 3-7 zeigt die absolute Gesamtfutteraufnahme der einzelnen Gruppen des V1 und V4 am Versuchsende. Die Tabellen 3-5 (V1) und 3-6 (V4) zeigen eine Zusammenfassung der mittleren relativen Futteraufnahme der einzelnen Gruppen an relevanten Tagen und im Mittel des Vor- und Hauptversuchs. Eine detaillierte Darstellungen der absoluten Futteraufnahme während der gesamten Versuchszeit geben die Tabellen A5 und A6 im Anhang.

Während des **Vorversuchs** pendelte sich die Futteraufnahme der designierten Kontroll- und TPM-Tiere in **V1** bis zum Beginn des Hauptversuchs auf einem vergleichbaren Level ein (Tag 0: C $62 \pm 2,4$ g/kg; T $61 \pm 1,8$ g/kg).

Während des **Hauptversuchs** verringerte sich die Futteraufnahme in der **Kontrollgruppe** zu Beginn über 3 Tage schrittweise von $62 \pm 2,4$ g/kg auf $53 \pm 8,3$ g/kg (-14,5%) und pendelte sich anschließend mit durchschnittlich 47 g/kg auf einem im Vergleich zum Vorversuch erniedrigten Level ein. Im Mittel resultierte während des Hauptversuchs ($48 \pm 1,0$ g/kg) im Vergleich zum Vorversuch ($65 \pm 1,1$ g/kg) eine um 26,1% geringere Futteraufnahme. Der Gesamtfutterverzehr während des Hauptversuchs betrug in der Kontrollgruppe $723 \pm 32,5$ g.

In der **TPM-Gruppe** kam es am ersten Behandlungstag zu einem ausgeprägten Einbruch der Futteraufnahme von $61 \pm 1,8$ g/kg auf $25 \pm 3,6$ g/kg (-59%). Es folgte ein langsamer Anstieg über 3 Tage, bevor sich die Futteraufnahme auf einem im Vergleich zum Vorversuch um ein Drittel niedrigeren Niveau stabilisierte (Mittel VV $61 \pm 1,5$ g/kg; Mittel HV $41 \pm 0,8$ g/kg; -32,8%). Der Gesamtfutterverzehr während des Hauptversuchs betrug in der TPM-Gruppe $605 \pm 21,8$ g (16,3% weniger als in der Kontrollgruppe, $p < 0,01$).

Am Tag nach der Blutentnahme kam es in beiden ad libitum gefütterten Gruppen zu einer Reduktion der Futteraufnahme (-22,8 % C, -9,6 % T).

Während die **Kontrollpaarfütterungstiere** wie schon während des Vorversuchs auch während des gesamten Hauptversuchs nicht die komplette vorgelegte Menge Futter aufnahmen (Gesamtaufnahme $645 \pm 16,6$ g), verzehrten die **TPM-Paarfütterungstiere** während des Hauptversuchs an jedem Tag die vorgelegte Menge Futter komplett

Während des **Vorversuchs** in **V4** reduzierte die Placeboschlündelung (ab Tag -3) initial in allen Gruppen die Futteraufnahme (C -12,3%; T -4,5%; TP -1,6%; E -3%; EP -3,3%). Zum Ende des Vorversuchs pendelte sich die Futteraufnahme der Kontroll-, TPM- und ETZ-Gruppe auf einem vergleichbaren Level ein (Tag 0: C $61 \pm 2,0$ g/kg; T $64 \pm 2,8$ g/kg; E $63 \pm 1,8$ g/kg).

Auf Grund des Futterentzugs 8 Stunden vor der der Tötung der Ratten wurden zur Kalkulation der Futteraufnahme am Ende von **V4** die Daten des Tag 27 verwendet.

Zu Beginn des **Hauptversuches** schwankte die Futteraufnahme der **Kontrolltiere** um den Ausgangswert (durchschnittlich 61 g/kg), bevor eine, bis zum Versuchsende anhaltende, Reduktion der täglichen Futteraufnahme einsetzte. Im Vergleich zu Tag 0 (61±2,0 g) lag die Futteraufnahme an Tag 27 mit 40±1,3 g/kg um ein Drittel niedriger (-34,4%). Der Gesamtfutterverzehr während des Hauptversuchs betrug in der Kontrollgruppe 702±10,7 g.

Bei den **TPM-Tieren** zeigte sich nach Beginn der Behandlung an Tag 1 eine akute Verminderung der Futteraufnahme um 26% von 64±2,8 g/kg auf 47±2,9 g/kg und um weitere 4,2% an Tag 2 auf 45±2,4 g/kg. Um dieses gegenüber der Vorversuchszeit erniedrigte Niveau schwankte die Futteraufnahme im Weiteren während des gesamten Hauptversuchs (Mittel VV 65±1,5 g/kg; Mittel HV 47±0,6 g/kg). Nur an einzelnen Tagen lag die Futteraufnahme deutlich darüber (Tag 5, 10, 14 und 22). Der Gesamtfutterverzehr resultierte in der TPM-Gruppe in 667±21,7 g und war somit niedriger als in der Kontrollgruppe (-5,0%; n.s.).

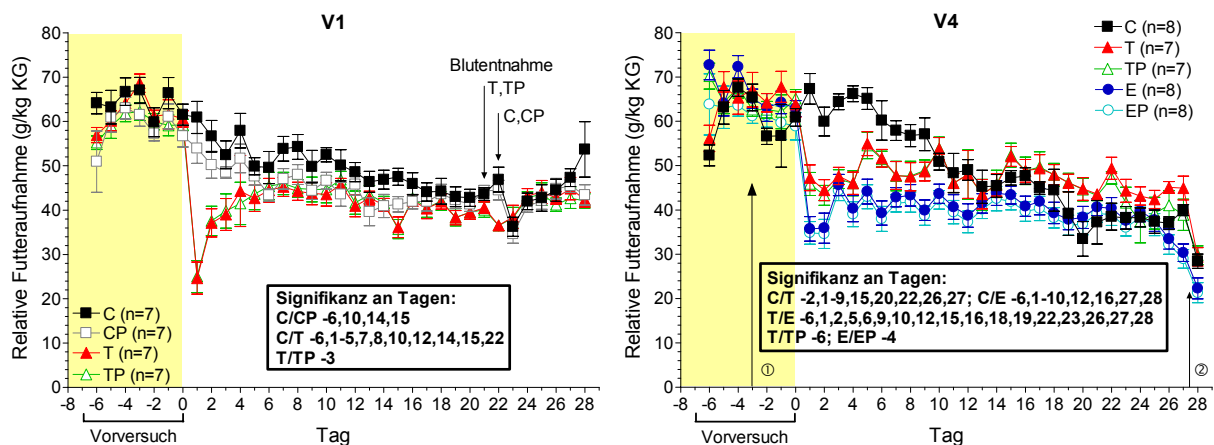


Abbildung 3-6: Relative Futteraufnahme der *fa/fa* Zuckerratten in V1 und V4; MW±SE.
 Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-1

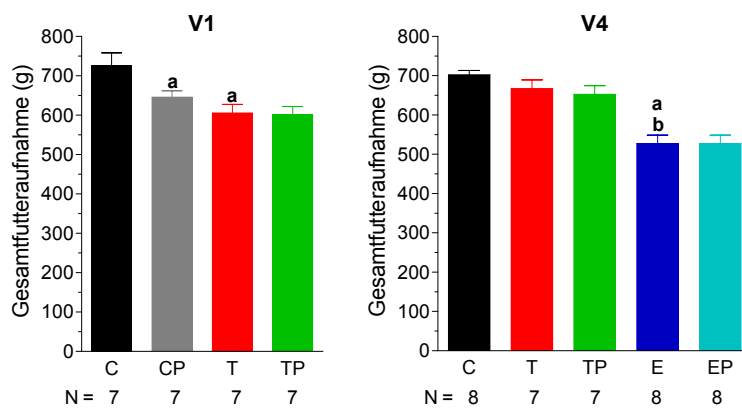


Abbildung 3-7: Gesamtfutteraufnahme der *fa/fa* Zuckerratten in V1 und V4 während des vierwöchigen Hauptversuchs; MW±SE.
 a,b: signifikant verschieden von C (a) und T (b).
 Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-1.

In der **ETZ-Gruppe** kam es nach Beginn der Behandlung an Tag 1 zu einer akuten Reduktion der Futteraufnahme um 43,2% von $63 \pm 1,8$ g/kg auf $36 \pm 2,8$ g/kg, die deutlich stärker ausgeprägt war als unter TPM-Behandlung ($p < 0,01$). Nach Stabilisierung an Tag 2 folgte ein Anstieg der Futteraufnahme an Tag 3 auf $46 \pm 2,4$ g/kg, bevor sich die Futteraufnahme auf diesem im Vergleich zur Vorversuchszeit (VVZ-Mittel: $66 \pm 1,6$ g/kg) um 36,3% niedrigeren Level einpendelte. Gegen Versuchsende zeigte sich eine weitere Reduktion der täglichen Futteraufnahme, so dass die ETZ-Tiere gegenüber Tag 0 ($63 \pm 1,8$ g/kg) an Tag 27 ($30 \pm 2,0$ g/kg) nur noch die Hälfte an Futter zu sich nahmen. Der Gesamtfutterverzehr während des Hauptversuchs betrug in der ETZ-Gruppe $527 \pm 21,7$ g und lag damit signifikant unter der Aufnahme der Kontrollen (-25%, $p < 0,01$) und TPM Tiere (-21%, $p < 0,01$).

Die **TPM-Paarfütterungstiere** nahmen von Tag 1 bis Tag 22 hindurch die vorgelegte Futtermenge komplett auf. Auf Grund einer verminderten Futteraufnahme zweier Tiere (TP1 und TP7) in der letzten Woche resultierte eine geringere Gesamtaufnahme ($653 \pm 21,9$ g).

Die **ETZ-Paarfütterungstiere** nahmen von Tag 1 an den ganzen Hauptversuch hindurch die gesamte vorgelegte Menge Futter auf.

Tabelle 3-5: Relative Futteraufnahme (g/kg KG) der Tiere in V1 an ausgesuchten Versuchstagen und im Mittel des Vor- (VV) und Hauptversuchs (HV). MW \pm SE (Min–Max), N=7; a,b: signifikant verschieden von C (a) und T (b).

Gruppe	VV-Mittel	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 7	Tag 28	HV-Mittel
C	$65 \pm 1,1$ (43–80)	$62 \pm 2,4$ (55–71)	$61 \pm 3,6$ (49–67)	$57 \pm 3,5$ (46–67)	$54 \pm 2,8$ (47–67)	$54 \pm 6,2$ (35–85)	$48 \pm 1,0$ (31–85)
CP	$59 \pm 1,6$ (11–77)	$57 \pm 2,5$ (49–69)	$54 \pm 3,4$ (42–67)	$50 \pm 3,0$ (42–67)	$47 \pm 2,3$ (38–56)	$43 \pm 2,3$ (35–50)	$44 \pm 0,8$ (25–67)
T	$61 \pm 1,5$ (50–78)	$61 \pm 1,8$ (55–67)	$25 \pm 3,6^a$ (12–36)	$37 \pm 3,2^a$ (25–49)	$45 \pm 2,2^a$ (36–51)	$43 \pm 1,7$ (37–49)	$41 \pm 0,8^a$ (12–90)
TP	$60 \pm 0,9$ (45–70)	$59 \pm 1,3$ (56–64)	$25 \pm 3,6$ (12–36)	$38 \pm 3,3$ (25–48)	$46 \pm 2,5$ (35–53)	$42 \pm 1,6$ (32–48)	$41 \pm 0,8$ (12–64)

Tabelle 3-6: Relative Futteraufnahme (g/kg KG) der Tiere in V4 an ausgesuchten Versuchstagen und im Mittel des Vor- (VV) und Hauptversuchs (HV). MW \pm SE (Min–Max), N=8 (C,E,EP) bzw. N=7 (T,TP); a,b,c: signifikant verschieden von C (a), T (b), E (c).

Gruppe	VV-Mittel	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 7	Tag 27	HV-Mittel
C	$60 \pm 2,1$ (10–80)	$61 \pm 2,0$ (50–69)	$67 \pm 3,4$ (54–85)	$60 \pm 3,3$ (42–71)	$58 \pm 2,2$ (50–68)	$40 \pm 1,3$ (35–45)	$49 \pm 2,0$ (4–85)
T	$65 \pm 1,5^a$ (48–68)	$64 \pm 2,8$ (52–72)	$47 \pm 2,9^a$ (38–59)	$45 \pm 2,4^a$ (35–54)	$48 \pm 3,1^a$ (36–60)	$45 \pm 2,7^a$ (36–56)	$47 \pm 0,6$ (18–64)
TP	$65 \pm 1,1$ (47–83)	$65 \pm 2,0$ (55–70)	$46 \pm 2,6$ (38–54)	$43 \pm 2,2$ (35–53)	$48 \pm 3,3$ (37–61)	$39 \pm 3,5$ (25–50)	$46 \pm 0,8$ (10–65)
E	$66 \pm 1,6^a$ (54–86)	$63 \pm 1,8$ (55–73)	$36 \pm 2,8^{a,b}$ (26–47)	$36 \pm 3,4^{a,b}$ (24–52)	$43 \pm 2,2^a$ (31–53)	$30 \pm 2,0^{a,b}$ (22–39)	$40 \pm 0,7^{a,b}$ (11–56)
EP	$62 \pm 0,7^c$ (19–85)	$59 \pm 3,1$ (41–67)	$35 \pm 2,5$ (26–46)	$35 \pm 3,3$ (23–51)	$42 \pm 2,0$ (31–51)	$29 \pm 2,1$ (20–39)	$39 \pm 0,7$ (20–54)

3.1.3.2 Versuche mit *db/db* Mäusen (V2 und V3)

In den Versuchen V2 und V3 zeigte sich bei den *db/db* Mäusen bezüglich der Futtermittelaufnahme der in Abbildung 3-8 dargestellte Verlauf. In den Tabellen 3-7 (V2) und 3-8 (V3) ist die mittlere relative Futtermittelaufnahme der einzelnen Gruppen an den entscheidenden Versuchstagen zusammengefasst, sowie das Mittel des Vor- und Hauptversuchs. Abbildung 3-9 zeigt die absolute Gesamtfuttermittelaufnahme am Ende des vier- bzw. zweiwöchigen Hauptversuchs der einzelnen Gruppen in V2 und V3. Eine detaillierte Auflistung der Einzelwerte findet sich im Anhang in den Tabellen A7 und A8.

Während des **Vorversuchs** war in **V2** die Futtermittelaufnahme auf Grund der suboptimalen Futterdarbietung des Futtermittels in der Deckelraufe gering (siehe 2.3.1.2). Nach Optimierung der Futtermittelzufuhr (C Tag 0, T Tag -1) stieg der Futtermittelverbrauch steil an. An Tag 0 nahmen die TPM-Tiere $130 \pm 5,8$ g/kg, an Tag 1 die Kontrolltiere $74 \pm 5,4$ g/kg zu sich.

An Tag 2 des **Hauptversuchs** stieg in der **Kontrollgruppe** der Futtermittelverzehr weiter an auf $132 \pm 7,8$ g/kg und schwankte in den folgenden 13 Tagen um durchschnittlich 115 g/kg. In der 2. Hälfte des Versuchszeitraumes - nach Einführen einer neuen Futtercharge - lag die durchschnittliche Futtermittelaufnahme mit 150 g/kg höher und erfuhr gegen Ende eine weitere Steigerung auf zuletzt $182 \pm 10,7$ g/kg an Tag 28. Der Gesamtfuttermittelverzehr während des Hauptversuchs betrug in der Kontrollgruppe $160 \pm 4,2$ g.

Bei den **TPM-Tieren** reduzierte sich zu Beginn der Behandlung an Tag 1 die Futtermittelaufnahme um 3,1% von $130 \pm 5,8$ auf $126 \pm 8,8$ g/kg und an Tag 2 um weitere 12,7% auf $110 \pm 10,6$ g/kg beobachtet. An Tag 3 folgte ein Anstieg auf das Ausgangsniveau, um welches der Futtermittelverzehr für 10 Tage schwankte (durchschnittlich 125 g/kg). Nach Wechsel des Futtermittels war in der 3. und 4. Woche des Hauptversuchs eine höhere durchschnittliche Futtermittelaufnahme von 170 g/kg zu verzeichnen. Bedingt durch den eingeschränkten Futtermittelverzehr eines Tieres (T3) am Versuchsende an den Tagen 27 (63 g/kg) und 28 (0 g/kg) reduzierte sich die Futtermittelaufnahme. Insgesamt nahmen die TPM-Tiere während des Hauptversuchs $174 \pm 4,6$ g Futter auf und fraßen damit signifikant mehr als die Kontrollen ($+8,8\%$; $p < 0,05$).

Am Tag nach der Blutentnahme kam es in beiden voll gefütterten Gruppen zu einem Einbruch der Futtermittelaufnahme (C $-7,0\%$; T $-6,8\%$).

Die **Kontrollpaarfütterungstiere** nahmen an keinem Tag des Vor- und Hauptversuchs die komplette vorgelegte Futtermittelmenge auf (Gesamtmenge $141 \pm 3,6$ g). Auch die **TPM-Paarfütterungstiere** nahmen nur an den Tagen -1, 20 und 26 die komplette vorgelegte Futtermittelmenge auf (Gesamtmenge $160 \pm 4,1$ g).

In **V3** zeigten die Mäuse aller Gruppen während des **Vorversuchs** nach Beginn der Placebo-schlündelung an Tag -3 einen Einbruch der Futtermittelaufnahme (C $-8,2\%$; T $-12,4\%$; TP $-22,9\%$;

E -3,3%) mit anschließendem Anstieg über das Ausgangslevel von Tag -7 hinaus (Tag 0: C 187±9,5 g/kg; T 178±11,2 g/kg; E 171±9,8 g/kg).

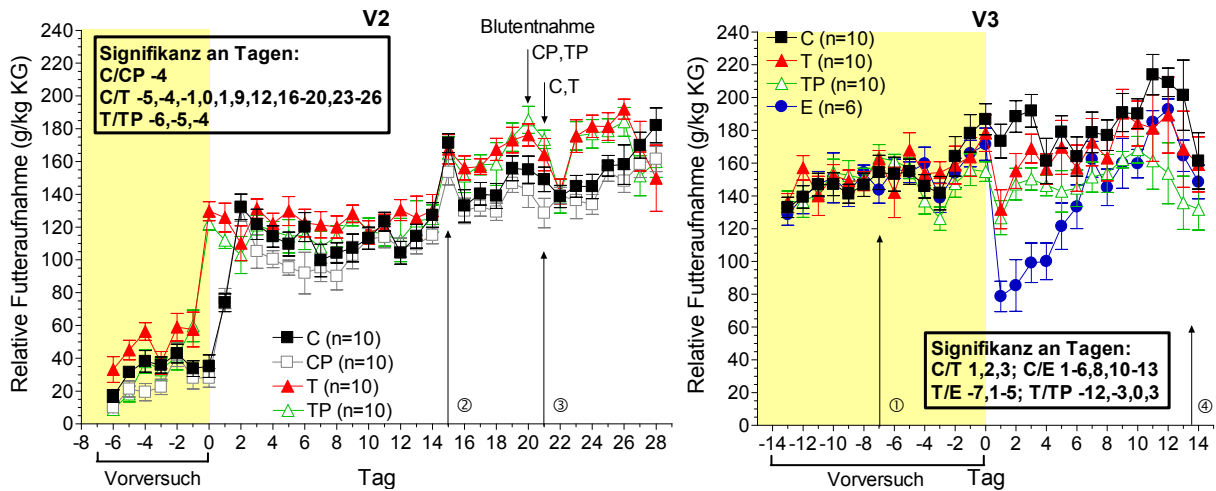


Abbildung 3-8: Relative Futtermittelaufnahme der *db/db* Mäuse in V2 und V3; MW±SE.
Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-3.

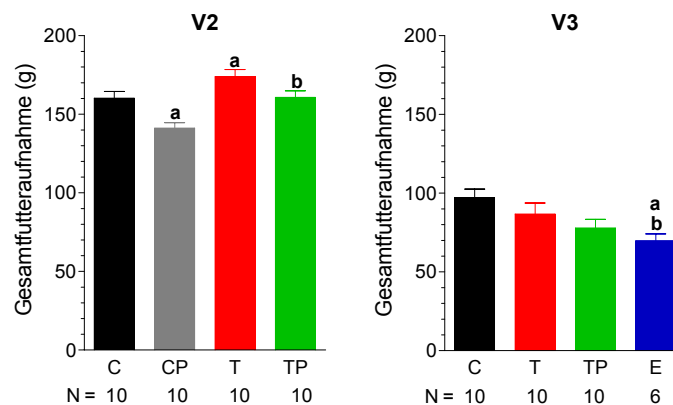


Abbildung 3-9: Gesamtfuttermittelaufnahme der *db/db* Mäuse in V2 und V3 während des vier- (V2) bzw. zweiwöchigen (V3) Hauptversuchs; MW±SE.
a, b: signifikant verschieden von C (a) und T (b).
Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-3.

An den ersten 10 Tagen des **Hauptversuchs** schwankte die Futtermittelaufnahme der **Kontrolltiere** um den Ausgangswert (durchschnittlich 180 g/kg), bevor es an Tag 11 zu einem Anstieg der Futtermittelaufnahme auf durchschnittlich 195 g/kg kam. Der Gesamtfuttermittelverzehr betrug in der Kontrollgruppe 97±5,4 g.

Die **TPM-Tiere** zeigten 24 Stunden nach Behandlungsbeginn einen akuten Einbruch der Futtermittelaufnahme um durchschnittlich 46 g/kg von 178±11,2 g/kg auf 132±11,9 g/kg (-26,1%). An den 2 folgenden Tagen stieg die Futtermittelaufnahme wieder an und pendelte im Weiteren um den Ausgangswert (durchschnittlich 175 g/kg). Der Gesamtfuttermittelverzehr der TPM-Tiere lag mit 87±7,1 g knapp 10% unter dem Verzehr der Kontrolltiere (-10,3%; n.s.).

In der **ETZ-Gruppe** war am Tag nach Beginn der Behandlung eine akute Reduktion des Futtermittels um durchschnittlich 92 g/kg von $171 \pm 9,8$ g/kg auf $79 \pm 9,3$ g/kg (-53,8%) zu beobachten. Dieser Einbruch war doppelt so hoch wie in der TPM-Gruppe ($p < 0,01$). Anschließend steigerten die ETZ-Tiere ihre Futteraufnahme täglich bis an Tag 7 das Ausgangsniveau erreicht war ($163 \pm 11,0$ g/kg). Im Weiteren schwankte die tägliche Futteraufnahme um diesen Level (durchschnittlich 168 g/kg). Insgesamt nahmen die ETZ-Tiere mit $70 \pm 4,2$ g während des Hauptversuchs fast ein Drittel weniger als die Kontrolltiere (-27,8%; $p < 0,01$) und ein Fünftel weniger als die TPM-Tiere (-19,5%; $p < 0,05$) auf.

Die **TPM-Paarfütterungstiere** nahmen an keinem Tag des Hauptversuchs die komplette vorgelegte Futtermenge auf (Gesamtmenge $78 \pm 5,4$ g).

Tabelle 3-7: Relative Futteraufnahme (g/kg KG) der Tiere in V2 und V2A an ausgesuchten Versuchstagen und im Mittel des Vor- (VV) und Hauptversuchs (HV). MW \pm SE (Min–Max), N=10 (C, CP, T, TP) bzw. N=7 (T₇); a: signifikant verschieden von C.

Gruppe	VV-Mittel	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 7	Tag 28	HV-Mittel
C	34 \pm 3,1 (1–80)	35 \pm 21,8 (5–64)	74 \pm 5,4 (57–117)	132 \pm 7,8 (93–168)	100 \pm 9,9 (48–143)	182 \pm 10,7 (141–254)	132 \pm 4,8 (42–254)
CP	25 \pm 3,7 ^a (0–68)	28 \pm 5,7 (0–65)	76 \pm 6,1 (17–125)	132 \pm 8,4 (99–180)	95 \pm 8,4 (50–133)	162 \pm 7,6 (123–205)	123 \pm 4,4 ^a (0–205)
T	60 \pm 12,3 ^a (2–157)	130 \pm 5,8 ^a (102–157)	126 \pm 8,8 ^a (93–190)	110 \pm 10,6 (22–148)	121 \pm 8,0 (83–156)	150 \pm 20,2 (0–208)	146 \pm 4,7 ^a (0–222)
TP	46 \pm 14,2 ^b (0–143)	122 \pm 4,1 (106–143)	112 \pm 5,1 (88–132)	103 \pm 11,3 (22–131)	108 \pm 9,8 (74–171)	160 \pm 9,7 (98–203)	141 \pm 15,3 (22–239)
T ₇	143 \pm 4,3 ^{a,b} (85–208)	153 \pm 7,5 ^{a,b} (126–193)	114 \pm 14,4 ^a (27–164)	108 \pm 8,5 ^a (72–146)	115 \pm 9,2 (88–147)	—	129 \pm 6,1 (27–195)

Tabelle 3-8: Relative Futteraufnahme (g/kg KG) der Tiere in V3 an ausgesuchten Versuchstagen und im Mittel des Vor- (VV) und Hauptversuchs (HV). MW \pm SE (Min–Max), N=10 (C, T, TP) bzw. N=6 (E); a,b: signifikant verschieden von C (a) und T (b).

Gruppe	VV-Mittel	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 7	Tag 13	HV-Mittel
C	152 \pm 4,0 (90–247)	187 \pm 9,5 (149–239)	173 \pm 10,3 (94–212)	188 \pm 9,7 (143–255)	179 \pm 12,4 (100–230)	202 \pm 21,4 (87–347)	186 \pm 4,4 (64–347)
T	155 \pm 3,1 (41–246)	178 \pm 11,2 (120–246)	132 \pm 11,9 ^a (49–169)	155 \pm 10,6 ^a (105–203)	173 \pm 14,4 (73–233)	169 \pm 23,3 (1–237)	168 \pm 4,5 (1–262)
TP	148 \pm 2,9 (73–219)	155 \pm 6,0 ^b (121–185)	127 \pm 10,4 (51–165)	147 \pm 9,6 (109–188)	152 \pm 9,2 (82–190)	136 \pm 16,3 (1–181)	150 \pm 3,1 (1–223)
E	151 \pm 3,1 (84–199)	171 \pm 9,8 (145–199)	79 \pm 9,3 ^{a,b} (36–101)	85 \pm 15,8 ^{a,b} (31–134)	163 \pm 11,0 (128–199)	164 \pm 9,6 ^a (124–189)	138 \pm 10,5 ^{a,b} (31–217)

In der Abbildung 3-10 ist die relative Futteraufnahme der TPM-Tiere des Orientierungsversuchs V2A abgebildet. Zum Vergleich ist die relative Futteraufnahme der Kontroll- und TPM-Tiere im Vorversuch und der ersten Behandlungswoche aufgetragen.

Bis zum Beginn von **V2A** war den 15 Wochen alten Mäusen eine optimale Nahrungszufuhr sichergestellt. An Tag 0 nahmen die **älteren Mäuse** $153 \pm 7,5$ g/kg Futter auf. Im **Hauptversuch** kam es nach Beginn der TPM-Behandlung an Tag 1 zu einem akuten Einbruch der Futteraufnahme um 25,5% auf $114 \pm 14,4$ g/kg und um weitere 5,3% auf $108 \pm 8,5$ g/kg an Tag 2. Dieser akute Einbruch um insgesamt durchschnittlich 45 g/kg war mehr als doppelt so hoch wie in der Gruppe der jüngeren TPM-Tiere (20 g/kg; $p < 0,01$). An Tag 3 stieg der Futterverzehr wieder auf das Ausgangsniveau an (durchschnittlich 142 g/kg). Am Tag nach der Blutentnahme kam es zu einem Einbruch der Futteraufnahme um 20,1% im Vergleich zum Vortag. Insgesamt zeigten die älteren Tiere eine signifikant höheren Gesamtfutterverzehr von $42 \pm 1,3$ g als die jüngeren Kontroll- ($33 \pm 1,3$ g; +27,3%; $p < 0,01$) und TPM-Tiere ($37 \pm 1,5$ g; +13,5%; $p < 0,05$) in der ersten Versuchswoche (Abbildung 3-10).

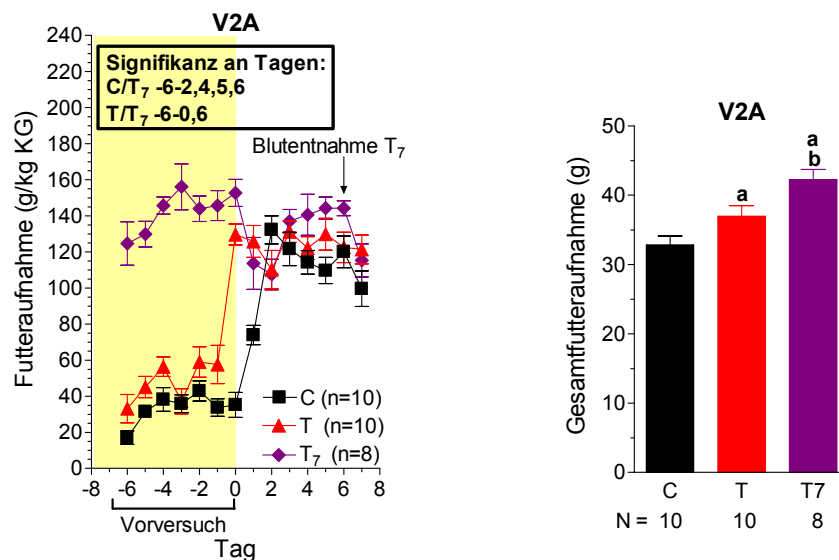


Abbildung 3-10: Futteraufnahme der db/db Mäuse in V2A in Vergleich mit den Kontroll- und TPM-Tiere in V2; MW \pm SE.

Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-5.

3.1.4 Wasseraufnahme

3.1.4.1 Versuche mit *fa/fa* Zuckerratten (V1 und V4)

Die Wasseraufnahme der *fa/fa* Zuckerratten in den Versuchen V1 und V4 veränderte sich wie in Abbildung 3-11 gezeigt. In Abbildung 3-12 ist die absolute Gesamtwasseraufnahme am Versuchsende der einzelnen Gruppen in V1 und V4 dargestellt. Die Werte der mittleren relativen Wasseraufnahme der einzelnen Gruppen an den entscheidenden Versuchstagen und im Mittel des Vor- und Hauptversuchs sind in den Tabellen 3-9 (V1) und 3-10 (V4) aufgezeigt. Details zur absoluten Wasseraufnahme finden sich im Anhang in den Tabellen A9 und A10.

In **V1** schwankte die Wasseraufnahme aller Gruppen während des **Vorversuchs**, zum **Hauptversuch** hin glichen sich die Trinkmengen der Kontroll- (Tag 0 $60 \pm 5,2$ ml/kg) und TPM-Gruppe (Tag 0 $57 \pm 3,4$ ml/kg) an.

An den ersten beiden Tagen des **Hauptversuchs** kam es in der **Kontrollgruppe** zu einer Steigerung der Wasseraufnahme von $60 \pm 5,2$ ml/kg auf $71 \pm 7,3$ ml/kg (+18%). Um dieses Niveau schwankte die Trinkmenge bis Tag 13 (durchschnittlich 73 ml/kg). Danach ging die Wasseraufnahme bis zum Versuchsende auf das Ausgangsniveau (Tag 28 $60 \pm 7,5$ ml/kg) zurück. Im Mittel zeigte sich kein Unterschied zwischen dem Vor- ($65 \pm 1,2$ ml/kg) und Hauptversuch ($68 \pm 1,1$ ml/kg). Die Gesamtwasseraufnahme der Kontrolltiere betrug 1012 ± 123 ml.

Bei den **TPM-Tieren** reduzierte die Behandlung die Wasseraufnahme am ersten Tag um durchschnittlich 10 ml/kg von $57 \pm 3,4$ ml/kg auf $47 \pm 5,0$ ml/kg (-17%). Diesem initialen Rückgang folgte ein Anstieg auf $92 \pm 4,7$ ml/kg (61,4% über dem Ausgangsniveau). An den weiteren Tagen ging die Wasseraufnahme auf ein gegenüber dem Vorversuch ($59 \pm 2,0$ ml/kg) immer noch erhöhtes Niveau zurück (+23,7%; durchschnittlich 73 ml/kg), um das sie bis zum Versuchsende schwankte. Mit 1063 ± 44 ml zeigt sich eine höhere Gesamtwasseraufnahme als bei den Kontrolltieren (+5%; n.s.).

In der **TPM-Paarfütterungsgruppe** war an Tag 1 eine akute Reduktion der Wasseraufnahme um durchschnittlich 9 ml/kg von $48 \pm 8,6$ ml/kg auf $39 \pm 2,5$ ml/kg (-18,8%) zu beobachten, vergleichbar zur Reduktion der Wasseraufnahme in der TPM-Gruppe. Es folgte ein Anstieg der Wasseraufnahme auf ein Level knapp unterhalb des Ausgangsniveaus (durchschnittlich 43 ml/kg), um das sie bis zum Versuchsende schwankte. Im Vergleich zu den behandelten Tieren nahmen sie mit insgesamt 621 ± 38 ml signifikant weniger Wasser auf (-41,6%; $p < 0,01$).

Die Wasseraufnahme der **Kontrollpaarfütterungstiere** pendelte mit 55 ml/kg den ganzen Hauptversuch hindurch um das Ausgangsniveau (Tag 0: $56 \pm 5,1$ ml/kg). Die paargefütterten Ratten tranken während des Hauptversuchs insgesamt ein Fünftel weniger als die Kontrollen (775 ± 117 ml; -23,4%; n.s.).

Am Tag nach der Blutentnahme kam es in beiden Paarfütterungsgruppen zu einer Verminderung der Wasseraufnahme (CP -10,2%; TP -23,3%; n.s.), in beiden voll gefütterten Gruppen zeigte sich keine negative Auswirkung.

In **V4** war die Wasseraufnahme während des **Vorversuchs** in allen fünf Gruppen sehr in- konstant, ein Einfluss der Placebo-Schlündelung war daher nicht sicher auszumachen. Zu Beginn des Hauptversuchs betrug die Trinkmengen der Kontrolltiere $52 \pm 9,2$ ml/kg, der TPM-Tiere $40 \pm 6,1$ ml/kg und der ETZ-Tiere $41 \pm 3,9$ ml/kg.

Auf Grund des Futterentzugs 8 Stunden vor der Tötung der Ratten wurde für die Kalkulation der Wasseraufnahme am Ende von V4 die Daten des Tag 27 verwendet.

Während des **Hauptversuchs** schwankte die Wasseraufnahme der **Kontrolltiere** drei Wochen lang um das Niveau des Vorversuchs (durchschnittlich 45 ml/kg). In der letzten Woche kam es zu einem Anstieg der Trinkmenge auf durchschnittlich 65 ml/kg. Die Gesamtwasseraufnahme der Kontrollgruppe im Hauptversuch betrug 769 ± 54 ml.

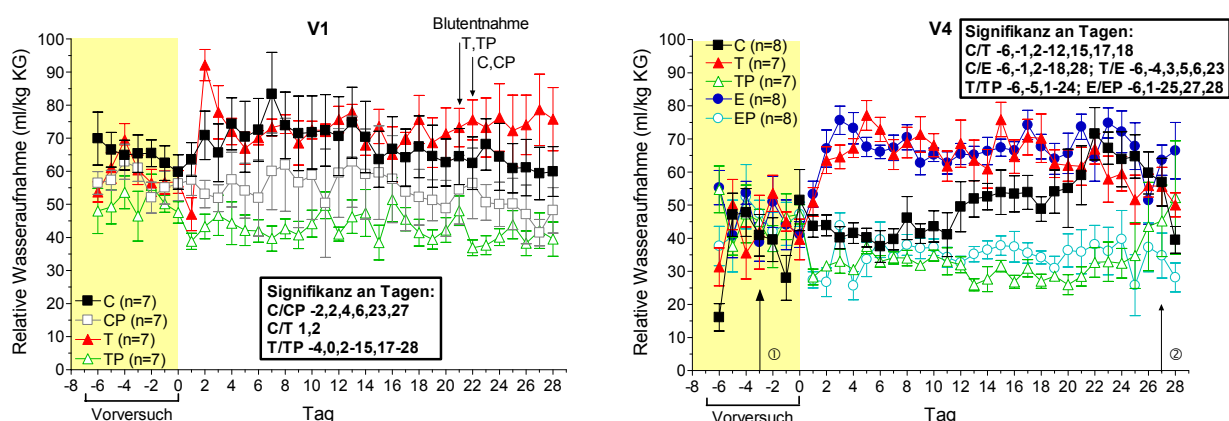


Abbildung 3-11: Relative Wasseraufnahme der Zuckerratten in V1 und V4; MW±SE.
Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-1.

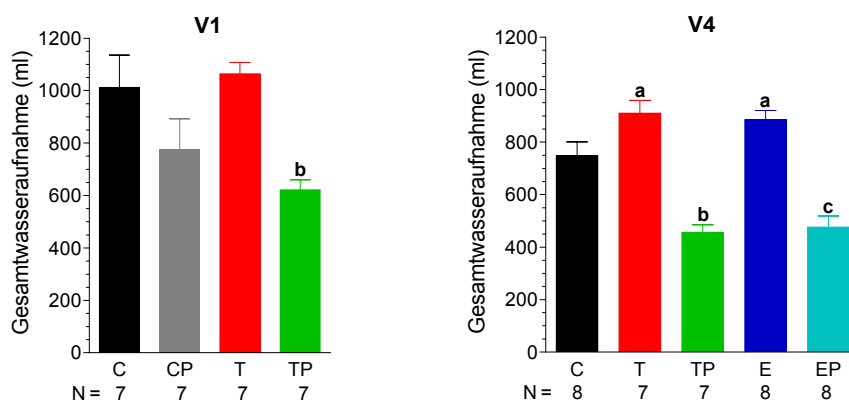


Abbildung 3-12: Gesamtwasseraufnahme der fa/fa Zuckerratten in V1 und V4 während des vierwöchigen Hauptversuchs; MW±SE.

a,b,c: signifikant verschieden von C (a), T (b), E (c).

Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-1

Die **TPM-Behandlung** steigerte an Tag 1 die Trinkmenge um durchschnittlich 11 ml/kg von $40 \pm 6,1$ ml/kg auf $51 \pm 4,4$ ml/kg, an Tag 2 um weitere 13 ml/kg auf $64 \pm 4,0$ ml/kg und bis Tag 5 um weitere 13 ml/kg auf $77 \pm 4,5$ ml/kg (Steigerung um 92,5% gegenüber Tag 0). In den folgenden 2 Wochen pendelte die Wasseraufnahme der TPM-Tiere im Mittel um 67 ml/kg. In der letzten Woche sank die tägliche Wasseraufnahme auf durchschnittlich 55 ml/d, blieb aber weiterhin gegenüber dem Ausgangsniveau erhöht (Tag 27 $56 \pm 5,8$ ml; Tag 0 $40 \pm 6,1$ ml; +40%). Die Gesamttrinkmenge während des Hauptversuchs lag in der TPM-Gruppe bei 939 ± 51 ml und somit ein Fünftel höher als bei den Kontrollen (+22%; $p < 0,05$).

Tabelle 3-9: Relative Wasseraufnahme (ml/kg KG) der Tiere in V1 an ausgesuchten Versuchstagen und im Mittel des Vor- (VV) und Hauptversuchs (HV); MW±SE (Min–Max), N=7; a,b: signifikant verschieden von C (a) und T (b).

Gruppe	VV-Mittel	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 7	Tag 28	HV-Mittel
C	65±1,2 (38–112)	60±5,2 (38–81)	64±5,1 (45–80)	71±7,3 (52–106)	83±12,6 (50–129)	60±7,5 (41–85)	68±1,1 (34–129)
CP	57±1,4 (43–91)	56±5,1 (47–85)	57±4,7 (42–81)	53±4,1 ^a (44–77)	50±11,6 (45–129)	48±6,8 (35–88)	54±1,0 ^a (0–145)
T	59±2,0 (41–87)	57±3,4 (43–68)	47±5,0 ^a (34–68)	92±4,7 ^a (80–113)	73±2,6 (64–85)	76±9,5 (61–132)	73±1,3 (34–142)
TP	50±1,3 ^b (4–79)	48±8,6 ^b (41–64)	39±2,5 (29–48)	43±3,8 ^b (35–65)	40±3,8 ^b (28–59)	40±5,2 ^b (25–66)	43±0,7 ^b (23–86)

Tabelle 3-10: Relative Wasseraufnahme (ml/kg KG) der Tiere in V4 an ausgesuchten Versuchstagen und im Mittel des Vor- (VV) und Hauptversuchs (HV). MW±SE (Min–Max), N=8 (C,E,EP) bzw. N=7 (T,TP); a,b,c: signifikant verschieden von C (a), T (b), E (c).

Gruppe	VV-Mittel	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 7	Tag 27	HV-Mittel
C	39±4,8 (0–106)	52±9,2 (30–106)	44±3,3 (28–55)	44±3,2 (33–56)	40±3,2 (23–52)	57±7,2 (28–82)	51±1,8 (5–119)
T	43±3,0 (2–91)	40±6,1 (4–55)	51±4,4 (30–64)	64±4,0 ^a (51–83)	65±4,5 ^a (51–83)	56±5,8 (40–78)	65±1,3 ^a (23–110)
TP	45±2,3 (5–93)	47±2,9 (35–59)	28±2,4 ^b (19–38)	32±1,4 ^b (25–37)	34±1,9 ^b (29–44)	45±10,8 (25–107)	32±0,9 ^b (7–146)
E	46±2,6 ^a (0–94)	41±3,9 (18–53)	53±3,9 (39–69)	67±5,6 ^a (55–105)	67±3,9 ^a (51–88)	64±4,6 (40–86)	67±1,1 ^a (26–105)
EP	45±1,9 (2–101)	47±3,7 (33–70)	27±2,4 ^c (17–41)	27±4,3 ^c (2–45)	34±2,1 ^c (25–43)	35±6,8 ^c (15–74)	35±0,8 ^c (2–98)

Auch in der **ETZ-Gruppe** kam es nach Beginn der Behandlung innerhalb der ersten 3 Tage zu einer Steigerung der Wasseraufnahme um durchschnittlich 35 ml/kg von 41±3,9 ml/kg auf 76±4,3 ml/kg (+85,4%). Während des gesamten Hauptversuchs hielt sich die Trinkmenge mit durchschnittlich 67 ml/kg auf einem gegenüber Tag 0 um 63% höheren Niveau, abgesehen von einer eintägigen Reduktion der Trinkmenge auf durchschnittlich 51 ml/kg an Tag 26. Die Gesamtwasseraufnahme betrug ähnlich wie in der TPM-Gruppe 918±38 ml, etwa um ein Fünftel mehr als bei den Kontrollen (+19,4%; p<0,05).

Die **TPM-Paarfütterungstiere** zeigten an Tag 1 eine Reduktion der Wasseraufnahme um durchschnittlich 19 ml/kg von 47±2,9 ml/kg auf 28±2,4 ml/kg (-40%). Im Anschluss blieb die Wasseraufnahme mit durchschnittlich 31 ml/kg um 34% niedriger als an Tag 0. Die Steigerung der Wasseraufnahme an den letzten 3 Tagen des Hauptversuchs resultierte aus einer vermehrten Wasseraufnahme eines einzelnen Tieres (TP7; durchschnittlich 120 ml/kg). Insgesamt nahmen die TPM-Paarfütterungstiere während des Hauptversuchs mit 486±37 ml nur halb soviel Wasser zu sich wie die TPM-Tiere (-48,2%; p<0,01).

In der **ETZ-Paarfütterungsgruppe** kam es initial ebenfalls zu einer Verminderung der Wasseraufnahme um durchschnittlich 20 ml/kg von $47\pm 3,7$ ml/kg auf $27\pm 2,4$ ml/kg (-42,5%). Im Weiteren war die Trinkmenge (durchschnittlich 35 ml/kg) bis zum Versuchsende gegenüber der Vorversuchszeit um 25% reduziert. Die Gesamtwasseraufnahme betrug in der ETZ-Paarfütterungsgruppe mit 491 ± 45 ml nur die Hälfte der Wasseraufnahme der ETZ-Tiere (-46,5%; $p = 0,01$).

3.1.4.2 Versuche mit *db/db* Mäusen

In den Versuchen **V2** und **V3** mit *db/db* Mäusen verhielt sich die Wasseraufnahme wie in Abbildung 3-13 dargestellt. Die absolute Gesamtwasseraufnahme am Versuchsende der einzelnen Gruppen in V2 und V3 ist in Abbildung 3-14 aufgezeigt. Die Mittelwerte der relativen Wasseraufnahme an entscheidenden Versuchstagen und im Mittel des Vor- und Hauptversuchs sind in den Tabellen 3-11 (V2) und 3-12 (V3) zusammengefasst. Die Einzeldaten der absoluten Wasseraufnahme über die gesamte Versuchsdauer sind in den Tabellen A11 und A12 im Anhang zu entnehmen.

In **V2** sank die Wasseraufnahme aller Gruppen am ersten Tag des **Vorversuchs**, hielt sich dann aber bis zur Optimierung der Fütterung stabil. Mit der Optimierung der Fütterung (C Tag 0, T Tag -1) vervierfachte sich die Wasseraufnahme der Kontrollen innerhalb von zwei Tagen (Tag 2: $401\pm 35,3$ ml/kg), die Trinkmenge der TPM-Tiere verdoppelte sich innerhalb eines Tages (Tag 0: $482\pm 37,3$ ml/kg).

In den ersten zwei Wochen des **Hauptversuchs** lag die Wasseraufnahme der **Kontrolltiere** auf dem Ausgangsniveau von Tag 2 bei durchschnittlich 350 ml/kg. In der zweiten Hälfte des Versuchszeitraums – nach Einführen einer neuen Futtercharge – stieg die Trinkmenge kontinuierlich an, bis die Tiere an Tag 28 mit $774\pm 72,4$ ml/kg durchschnittlich 373 ml/kg mehr tranken als an Tag 2 ($401\pm 35,3$ ml). Die Gesamtwasseraufnahme während des vierwöchigen Hauptversuchs lag bei 556 ± 45 ml.

In der **TPM-Gruppe** hielt sich die Wasseraufnahme in den ersten beiden Hauptversuchswochen konstant auf dem Ausgangsniveau (durchschnittlich 500 ml/kg). Ab Tag 15 – nach Einführen einer neuen Futtercharge – kam es auch in dieser Gruppe zu einer Steigerung der Trinkmenge auf max. 904 ± 57 ml/kg an Tag 26 (+87,6% gegenüber Tag 0). Während des gesamten Hauptversuchs lag die Wasseraufnahme der TPM-Tiere über der Trinkmenge der Kontrollen. Insgesamt tranken die TPM-Tiere während des Hauptversuchs mit 748 ± 43 ml ein Drittel mehr als die Kontrolltiere (+34,5%; $p < 0,01$).

Am Tag nach der Blutentnahme kam es in beiden ad libitum gefütterten Gruppen zu einem Einbruch der Wasseraufnahme (C -12,7%; T -18,2%).

Die Wasseraufnahme der **Kontrollpaarfütterungstiere** zeigte den gleichen Verlauf wie in der Kontrollgruppe, lag aber mit einer Gesamtmenge von 474 ± 47 ml 15% unter der Aufnahme der Kontroll-Gruppe (n.s.).

Die **TPM-Paarfütterungstiere** tranken während des Hauptversuchs initial täglich durchschnittlich 450 ml/kg und nach Einführung der neuen Futtercharge 740 ml/kg, die Wasserzufuhr war somit vergleichbar zur TPM-Gruppe. Die Gesamtaufnahme über den Zeitraum von vier Wochen war mit 650 ± 44 ml allerdings geringer als in der TPM-Gruppe (n.s.), da alle TPM-Paarfütterungstiere an Tag 20 eine minimale Wasseraufnahme zeigten (70 ml/kg).

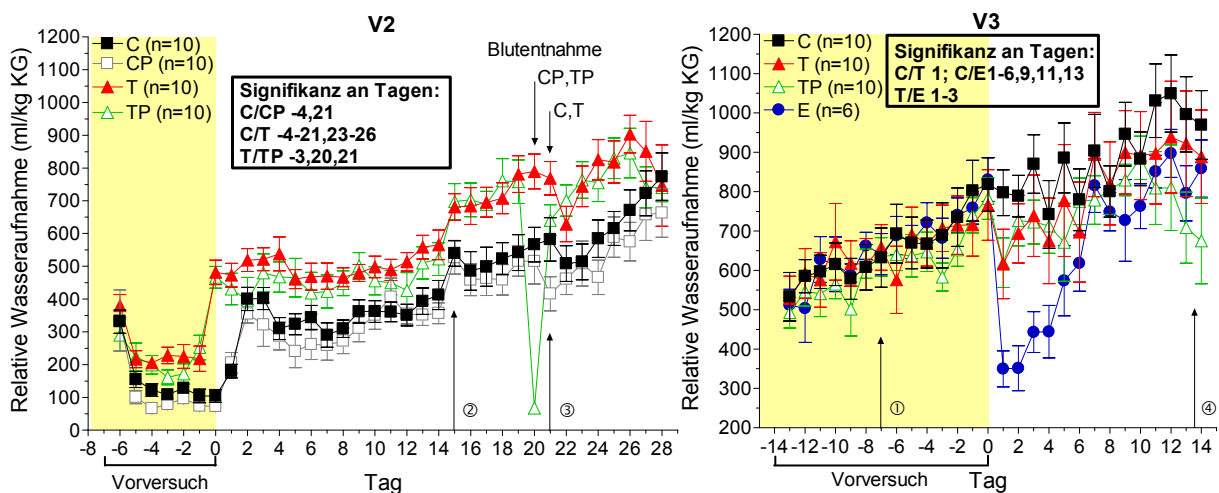


Abbildung 3-13: Relative Wasseraufnahme der db/db Mäuse in V2 und V3; MW±SE.
 Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-3.

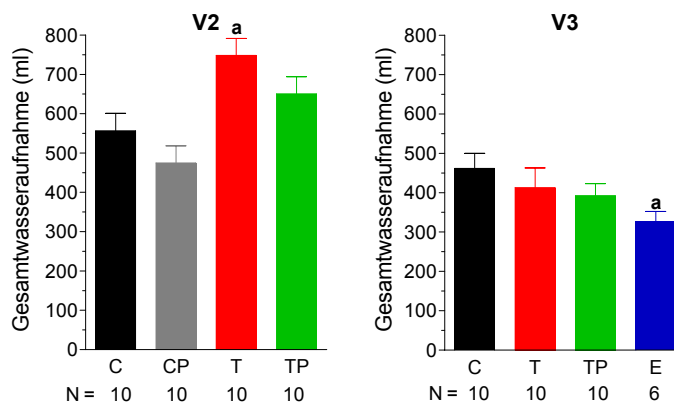


Abbildung 3-14: Gesamtwasseraufnahme der db/db Mäuse in V2 und V3 während des vier- (V2) bzw. zweiwöchigen (V3) Hauptversuchs; MW±SE.
 a, b: signifikant verschieden von C (a) und T (b).
 Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-3.

In **V3** steigerte sich die Wasseraufnahme aller Gruppen während des vierzehntägigen **Vorversuchs** kontinuierlich bis zu $819 \pm 68,2$ ml/kg in der Kontroll-, $766 \pm 89,5$ ml/kg in der TPM- und $830 \pm 55,3$ ml/kg in der ETZ-Gruppe an Tag 0.

In der **Kontrollgruppe** hielt sich die Wasseraufnahme während des **Hauptversuchs** mit großer Streuung bis Tag 10 auf diesem Niveau (durchschnittlich 825 ml/kg), bevor es in den

letzten Versuchstagen bis Tag 12 zu einer Steigerung der Wasseraufnahme auf maximal 1049 ± 98 ml/kg (+28% gegenüber Tag 0) kam. Insgesamt betrug die Wasseraufnahme während des Hauptversuchs $498 \pm 42,0$ ml.

Die **TPM-Behandlung** reduzierte am ersten Tag die Wasseraufnahme um durchschnittlich 150 ml/kg von 766 ± 90 ml/kg auf 616 ± 88 ml/kg (-19,6%). Anschließend kehrte die Trinkmenge auf das Ausgangsniveau zurück (739 ± 104 ml/kg an Tag 3) und pendelte um dieses, bevor es in der letzten Woche zu einer Steigerung auf zuletzt 922 ± 134 ml/kg an Tag 13 kam (+20% gegenüber Tag 0). Die Gesamtwasseraufnahme während des Hauptversuchs lag bei 445 ± 54 ml und damit 53 ml niedriger als in der Kontrollgruppe (n.s.).

In der **ETZ-Gruppe** war die Wasseraufnahme an Tag 1 von $830 \pm 55,3$ ml/kg auf $350 \pm 45,6$ ml/kg (-57,8%) vermindert. Diese Reduktion von durchschnittlich 480 ml/kg war um 43,2% höher als in der TPM-Gruppe ($p < 0,01$). Anschließend nahm die tägliche Trinkmenge langsam zu, erreichte an Tag 7 das Ausgangsniveau ($815 \pm 68,2$ ml/kg), um das es bis zum Versuchsende (max. $897 \pm 60,8$ ml/kg an Tag 12) schwankte. Die Gesamtwasseraufnahme während der zwei Wochen belief sich auf $358 \pm 27,4$ ml und lag damit zwei Drittel niedriger als in der Kontroll- (-65,9%; $p < 0,05$) und ein Fünftel niedriger als in der TPM-Gruppe (-19,6%; n.s.).

Bei den **TPM-Paarfütterungstieren** zeigte sich an Tag 1 eine um 20,9% verminderte Wasseraufnahme von $783 \pm 52,8$ ml/kg auf $619 \pm 63,2$ ml/kg. Mit einer durchschnittlichen Minderung um 164 ml (-20,9%) war sie vergleichbar zur Reduktion in der TPM-Gruppe. Im Weiteren war ein zur TPM-Gruppe vergleichbarer Verlauf zu beobachten. Mit durchschnittlich 760 ml lag die Wasseraufnahme aber etwas niedriger, so dass die Tiere eine gegenüber der TPM-Gruppe geringere Gesamtaufnahme von $417 \pm 34,0$ ml erzielten (-6,3%; n.s.).

Abbildung 3-15 zeigt den Verlauf der relativen Wasseraufnahme in dem Orientierungsversuch **V2A** im Vergleich zur Wasseraufnahme der Kontroll- und TPM-Tiere im Vorversuch und der ersten Behandlungswoche in V2. Die Mittelwerte der relativen Wasseraufnahme an wichtigen Versuchstagen sind in Tabelle 3-11 aufgeführt, die Details zur absoluten Wasseraufnahme sind der Tabelle A11 im Anhang zu entnehmen. Die innerhalb der sieben Tage erreichte Gesamtwasseraufnahme ist in Abbildung 3-15 dargestellt.

Während **Vorversuchs** stieg die Wasseraufnahme der **14 Wochen alten Mäuse** bis auf $563 \pm 49,2$ ml/kg an Tag 0 kontinuierlich an. Zu Beginn des **Hauptversuchs** reduzierte sich die Wasseraufnahme an Tag 1 um durchschnittlich 176 ml/kg von 563 ± 49 ml/kg auf 387 ± 52 ml/kg (-31,3%). Danach steigerte sich die Trinkmenge auf insgesamt 642 ± 61 ml/kg an Tag 6 (+14% gegenüber Tag 0). Die Blutentnahme an Tag 6 führte zu einem Einbruch der Wasseraufnahme um 19,9%. Insgesamt zeigten die älteren TPM-Tiere in den 7 Tagen mit 177 ± 17 ml eine um 86% höhere Wasseraufnahme als die jüngeren Kontrolltiere ($95 \pm 7,6$ ml;

p<0,01); gegenüber den jüngeren TPM-Tieren zeigte sich eine Erhöhung um ein Fünftel (148±10,3 ml; +19,6%; n.s.).

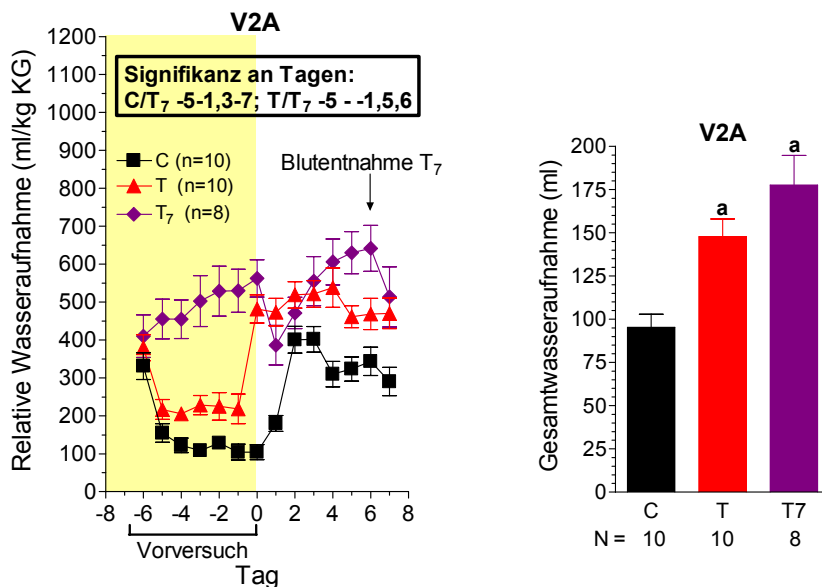


Abbildung 3-15: Wasseraufnahme der db/db Mäuse in V2A verglichen mit den Kontroll- und TPM-Tiere in V2; MW±SE.

a signifikant verschieden von C.

Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-5.

Tabelle 3-11: Relative Wasseraufnahme (ml/kg KG) der Tiere in V2 und V2A an ausgesuchten Versuchstagen und im Mittel des Vor- (VV) und Hauptversuchs (HV); MW±SE (Min–Max), N=10 (C, CP, T, TP) bzw. N=7 (T₇); a,b: signifikant verschieden von C (a) und T (b).

Gruppe	VV-Mittel	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 7	Tag 28	HV-Mittel
C	151±30,9 (33–508)	104±19,3 (33–224)	180±20,9 (99–327)	401±35,3 (189–592)	290±37,3 (115–463)	774±72,4 (273–1031)	461±26,6 (99–1031)
CP	118±36,5 (25–1081)	73±6,9 (41–108)	205±31,7 (82–451)	355±28,9 (208–446)	259±45,6 (79–471)	663±74,5 (315–1021)	418±24,4 (16–1021)
T	279±40,7 ^a (60–603)	482±37,3 ^a (295–603)	473±36,4 ^a (292–632)	519±34,8 ^a (362–693)	470±40,3 ^a (277–680)	747±123,9 (29–1213)	630±27,0 ^a (29–1223)
TP	252±39,6 (13–584)	467±33,0 (282–584)	431±47,9 (212–700)	396±67,0 (58–694)	423±50,8 (190–730)	740±43,1 (591–1055)	575±34,0 (34–1257)
T ₇	492±20,3 ^{a,b} (208–815)	563±49,2 ^a (362–737)	387±52,1 ^a (248–654)	471±41,6 (304–618)	514±79,2 ^a (127–820)	—	544±35,2 (127–855)

Tabelle 3-12: Relative Wasseraufnahme (ml/kg KG) der Tiere in V3 an ausgesuchten Versuchstagen und im Mittel des Vor- (VV) und Hauptversuchs (HV). MW±SE (Min–Max), N=10 (C, T, TP) bzw. N=6 (E); a,b: signifikant verschieden von C (a) und T (b).

Gruppe	VV-Mittel	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 7	Tag 13	HV-Mittel
C	659±22,4 (204–1182)	819±68,2 (414–1084)	797±58,1 (403–1090)	789±52,8 (432–1030)	904±93,0 (216–1153)	996±95,5 (341–1434)	883±27,8 (206–1434)
T	650±18,0 (86–1345)	766±89,5 (401–1251)	616±88,3 ^a (158–1128)	694±75,2 (301–1100)	895±106,9 (203–1384)	922±134,3 (32–1434)	805±30,6 (16–1576)
TP	613±22,1 (39–1035)	783±52,8 (494–1035)	619±63,2 (340–1011)	726±64,3 (481–1071)	779±61,7 (526–1138)	709±90,5 (57–1012)	758±20,1 (57–1294)
E	660±24,1 (189–1074)	830±55,3 (715–1074)	350±45,6 ^{a,b} (241–523)	351±57,2 ^{a,b} (181–564)	815±68,2 (518–1014)	796±70,1 ^a (452–907)	644±53,7 ^a (176–1064)

3.1.5 Entwicklung der Tiere unter Berücksichtigung der Einteilung der behandelten Tiere in Responder und Non-Responder

3.1.5.1 Körpergewicht

Abbildung 3-16 zeigt die am Ende jedes Versuches erreichte Gesamtzunahme der einzelnen TPM- und ETZ-Tiere und ihrer jeweiligen paargefütterten Partner. Zeigte ein behandeltes Tier eine geringere Gesamtzunahme bzw. einen höheren Gesamtverlust als das Partnertier, wurde es als Responder-Tier klassifiziert. Den Tabellen A1-A4 im Anhang können die detaillierten Körpergewichtsdaten entnommen werden.

In **V1** konnten 5 der 7 mit TPM behandelten Tiere als Responder identifiziert werden:

- T1 gewann ein Drittel weniger Gewicht als TP1 (20 g vs. 30 g)
- T3 gewann 28,6% weniger Gewicht als TP3 (25 g vs. 35 g)
- T4 gewann kein Gewicht (± 0 g), TP4 dagegen 20 g
- T5 gewann ein Fünftel weniger Gewicht als TP5 (40 g vs. 50 g)
- T6 verlor 5 g, TP6 gewann dagegen 10 g Gewicht

In **V4** verhielten sich alle mit TPM behandelten Tiere wie Non-Responder, die geringere Gesamtzunahme von T3 gegenüber TP3 beruhte auf einer Gewichtsabnahme nur am vorletzten Tag, bedingt durch eine verminderte Futter- und Wasseraufnahme. Von den 8 mit ETZ behandelten Tieren konnten 5 als Responder klassifiziert werden:

- E2 gewann 2/3 weniger Gewicht als EP2 (15 g vs. 45 g)
- E3 verlor 10 g, EP3 gewann dagegen 15 g Gewicht
- E5 gewann 26,7% weniger Gewicht als EP5 (55 g vs. 75 g)
- E6 gewann 60% weniger Gewicht als EP6 (20 g vs. 50 g)
- E7 verlor 15 g Gewicht, EP7 gewann dagegen 10 g Gewicht

In **V2** wurden 2 der 10 mit TPM behandelten Tiere als Responder identifiziert.

- T1 verlor 5,3 g, TP1 gewann dagegen 2,2 g Gewicht
- T6 verlor mehr als das Doppelte an Gewicht wie TP6 (-2,4 g vs. -1,1 g)

In **V3** konnten 6 der 10 mit TPM behandelten Tiere als Responder klassifiziert werden.

- T2 verlor 41,4% mehr Gewicht als TP2 (-8,2 g vs. -5,8 g)
- T3 verlor mehr als das Doppelte an Gewicht wie TP3 (-5,8 g vs. -2,6 g)
- T4 verlor mehr als das Dreifache an Gewicht wie TP4 (-6,7 g vs. -1,9 g)
- T6 verlor 38,3% mehr Gewicht als TP6 (-6,5 g vs. -4,7 g)
- T7 verlor mehr als das 2,5 fache an Gewicht wie TP7 (-6,7 g vs. -2,6 g)
- T10 verlor 80,6% mehr Gewicht als TP10 (-5,6 g vs. -3,1 g)

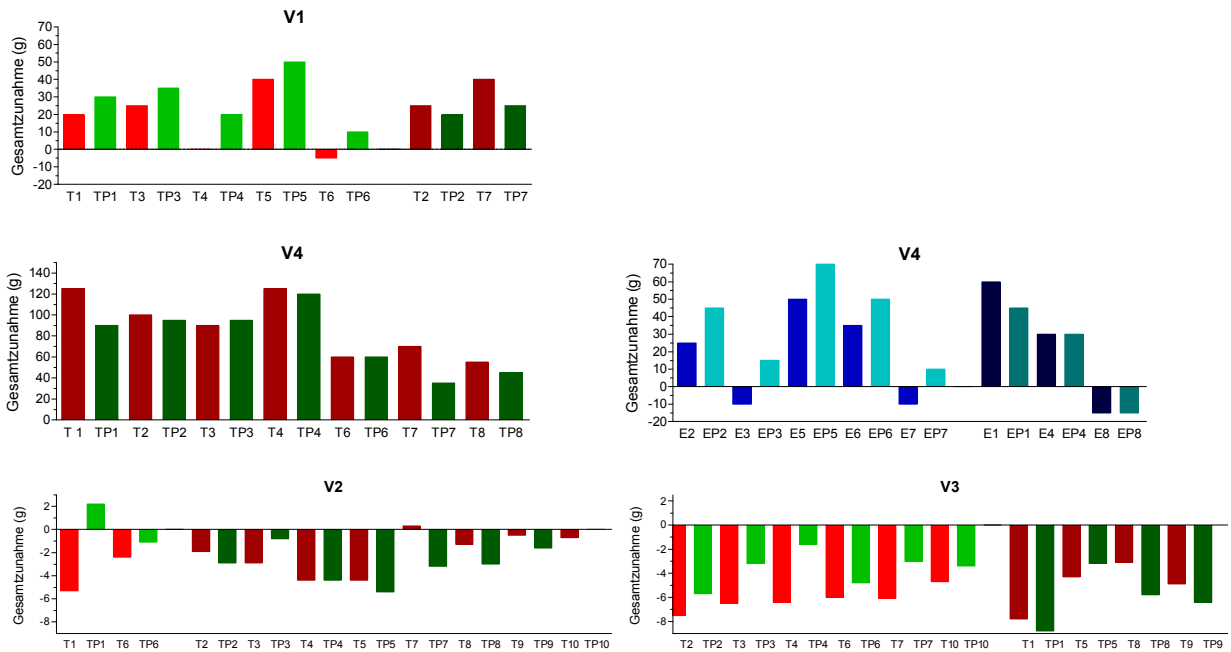


Abbildung 3-16: Entwicklung des Körpergewichts der einzelnen TPM- bzw. ETZ- und Paarfütterungstiere während des vier- (V1, V4, V2) bzw. zweiwöchigen (V3) Hauptversuchs. Farblich hell Responder-, farblich dunkel Non-Responder-Paare.

Versuchsbedingungen siehe Legenden zu den Abbildungen 3-1 (V1,V4) und 3-3 (V2,V3).

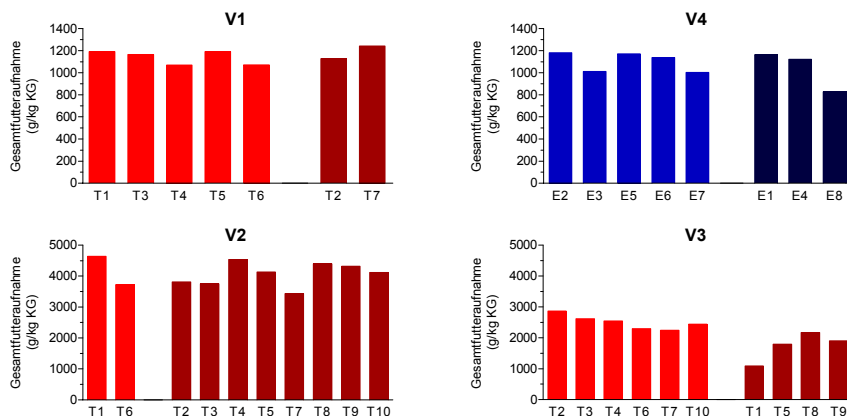


Abbildung 3-17: Relative Gesamtfuttermittelaufnahme der einzelnen TPM- bzw. ETZ-Tiere während des vier- (V1, V4, V2) bzw. zweiwöchigen (V3) Hauptversuchs. Farblich hell Responder, farblich dunkel Non-Responder.

Versuchsbedingungen siehe Legenden zu den Abbildungen 3-1 (V1,V4) und 3-3 (V2,V3).

3.1.5.2 Futtermittelaufnahme

Aus Abbildung 3-17 geht die relative Gesamtfuttermittelaufnahme der einzelnen Responder und Non-Responder in V1 bis V4 hervor. Die detaillierten Daten der basierenden absoluten Futtermittelaufnahme können den Tabellen A5-A8 im Anhang entnommen werden.

In **V1** mit TPM-behandelten Ratten zeigte sich bei einer Futtermittelaufnahme der Respondertiere von 1137 ± 28 g/kg kein Unterschied gegenüber den Non-Respondern, die 1129 g/kg (T2) und

1242 g/kg (T7) aufnahmen. Auch bei den ETZ-behandelten Ratten in **V4** war mit einer durchschnittlichen Futtermittelaufnahme von 1100 ± 39 g/kg bei den Respondern kein Unterschied zu den Non-Respondern (1038 ± 106 g/kg) zu beobachten.

Die Futtermittelaufnahme der beiden Responder bei den TPM-behandelten Mäusen in **V2** betrug 4640 g/kg (T1) und 3721 g/kg (T6) und entsprach damit der jeweils maximalen und minimalen Aufnahme in der Gruppe der Non-Responder (4062 ± 131 g/kg). In **V3** war bei den älteren Mäusen dagegen die Futtermittelaufnahme bei den Respondern (2504 ± 93 g/kg) um 44% höher als bei den Non-Respondern (1739 ± 323 g/kg; $p < 0,01$).

Setzt man die kumulative Futtermittelaufnahme ins Verhältnis zur Körpergewichtsveränderung gegenüber Tag 0 ("relatives Körpergewicht") und trägt diese über die Versuchsdauer auf, dann erhält man ein Maß für die Verwertung des Futters i.S. von Gewinn an Körpermasse. Ein Vergleich mit dieser Fragestellung ist nur zwischen Tieren, deren kumulative Futtermittelaufnahme übereinstimmt, sinnvoll. In **V2** und **V3** ist diese Prämisse für die TPM- und ihre paargefütterten Partner nicht erfüllt (Abbildung 3-9), in **V1** und **V4** ist sie gegeben (Abbildung 3-7). Das Ergebnis der o.g. Berechnung für die Responder und Non-Responder in **V1** und **V4** zeigt Abbildung 3-18. In beiden Versuchsreihen zeichnet sich den Responder-Gruppen eine schlechtere Futterverwertung i.S. von weniger Zugewinn an Körpermasse bei gleicher Futtermittelaufnahme ab. Dies kann für die Non-Respondertiere nicht bestätigt werden.

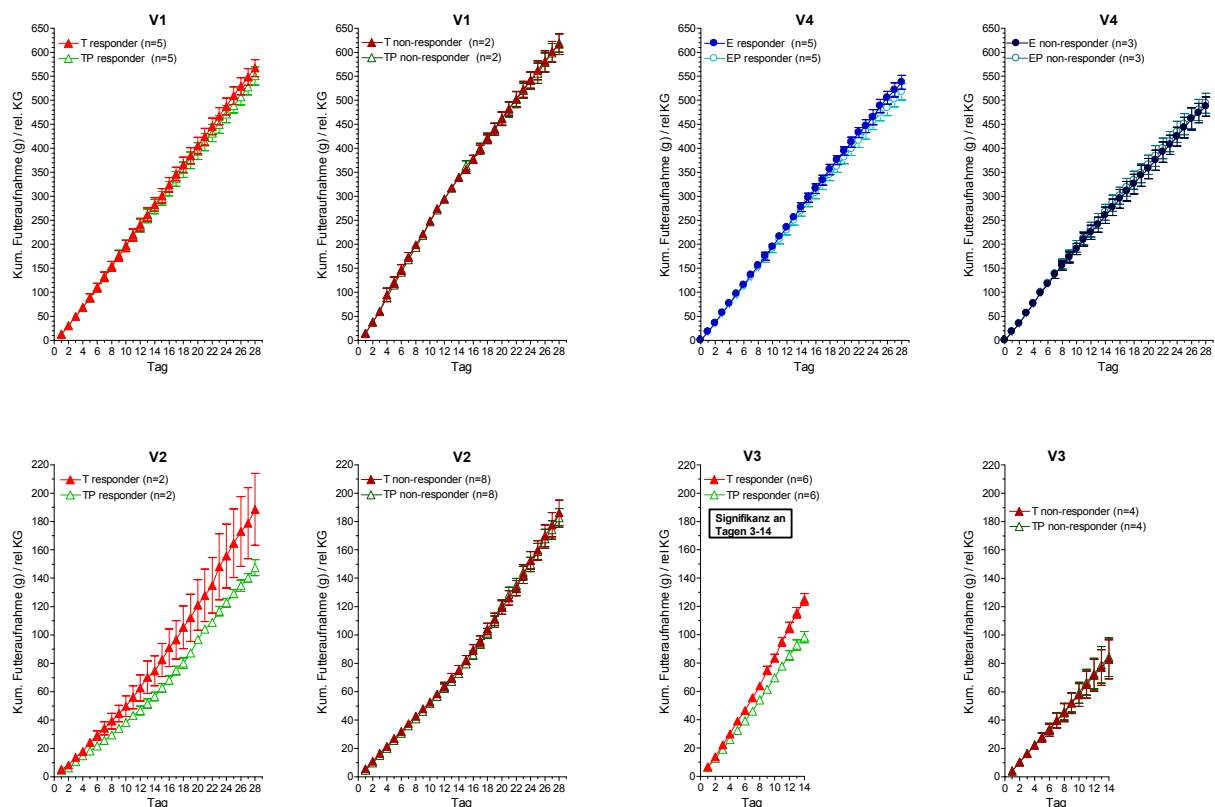


Abbildung 3-18: Futterverwertung der Responder- und Nonresponder-Partner in V1, V4, V2 und V3.
 Versuchsbedingungen siehe Legende zu den Abbildungen 3-1 (V1, V4) und 3-3 (V2, V3).

3.1.5.3 Wasseraufnahme

Abbildung 3-19 stellt die relative Gesamtwasseraufnahme der einzelnen Responder und Non-Responder in V1 bis V4 dar. Die zugrunde liegenden Daten der absoluten Wasseraufnahme sind den Tabellen A9-A12 im Anhang zu entnehmen.

Bei den Ratten In **V1** und **V4** bestanden kein Unterschied zwischen der durchschnittlichen Wasseraufnahme der Responder und Non-Responder. In den TPM-behandelten Ratten von **V1** betrug sie in den Respondern (2072 ± 134 ml/kg), in den beiden Nonrespondern (T2 und T7: 1647 und 1912 ml/kg) und in den ETZ-behandelten Ratten von **V4** 1843 ± 73 und 1734 ± 103 ml/kg bei Respondern und Non-Respondern.

Wie bei der Futterraufnahme entsprach auch die Wasseraufnahme der beiden Responder bei den TPM-behandelten Mäusen in **V2** mit 23667 ml/kg (T1) und 14464 ml/kg (T6) dem jeweiligen Maximum und Minimum der Non-Responder (17294 ± 1089 ml/kg). In **V3** war die Wasseraufnahme der Responder mit 12999 ± 1109 ml/kg jedoch doppelt so hoch wie bei den Non-Respondern (6657 ± 1420 ml/kg; $p < 0,01$).

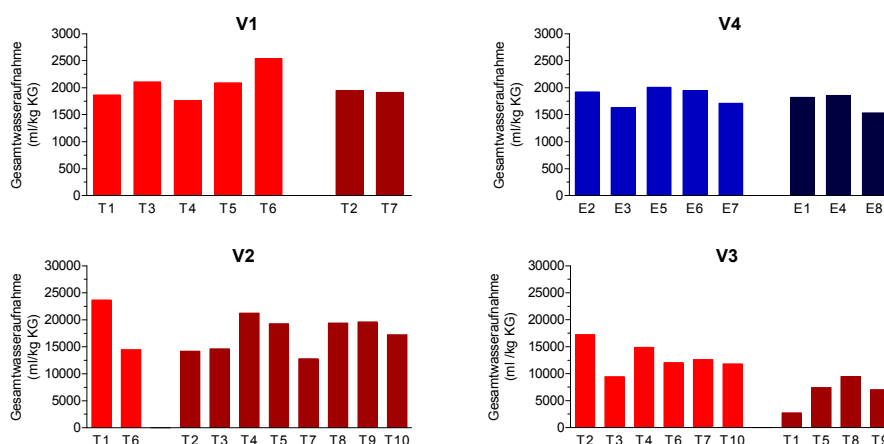


Abbildung 3-19: Relative Gesamtwasseraufnahme der einzelnen TPM- bzw. ETZ-Tiere während des vier- (V1, V4, V2) bzw. zweiwöchigen (V3) Hauptversuchs. Farblich hell Responder, farblich dunkel Non-Responder.

Versuchsbedingungen siehe Legenden zu den Abbildungen 3-1 (V1, V4) und 3-3 (V2, V3).

3.2 Analytische Ergebnisse

3.2.1 Vorbemerkungen

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der laborchemischen Plasma- und Gewebesanalysen beschrieben, die im Walter-Straub-Institut durchgeführt wurden. Weiterführende Untersuchungen zur Zusammensetzung der Tierkadaver und zum Glucose- und Lipidstoffwechsel, die im kollaborierenden Labor von Prof. Lynch in USA durchgeführt wurden, sind nicht Gegenstand dieser Dissertation. In V2 und V3 wurden die gesamten Plasma- sowie Organproben und die komplett eingefrorenen Kadaver aus V3 diesem Labor zur Verfügung

gestellt. Um Wiederholungen zu vermeiden wird in diesem Abschnitt nicht auf die Versuchsabläufe (Dauer des Versuchs, Ablauf der letzten 24 Stunden, Konzentration und Applikationsvolumen des radioaktiven Cocktails, Entnahme der Organe) im Einzelnen eingegangen. Die entscheidenden Details finden sich jeweils in den Legenden zu den Abbildungen und in den Versuchsbeschreibungen im Methodenteil. Des Weiteren werden in den Texten nur die signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen genannt, die entweder beide vollgefüttert oder aber zueinander paargefüttert wurden. Auf die Darstellung signifikanter Unterschiede zwischen den Paarfütterungsgruppen untereinander oder der Kontroll-, TPM- und ETZ-Gruppe zu einer „fremden“ Paarfütterungsgruppe wurde auch in den Abbildungen aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet. Daneben wird am Ende eines jeden Absatzes darauf hingewiesen ob, und wenn ja welche Veränderungen sich bei erneuter statistischer Auswertung unter dem Aspekt der Responder-Non-Responder Klassifikation der TPM- und ETZ-Tiere zeigten. Hierzu wurde bei den zusätzlichen Berechnungen jeweils auf die Werte der entsprechenden Non-Responder TPM-Tiere (T2, T7) in V1 und V3 (T1, T5, T8, T9) bzw. die Non-Responder ETZ-Tiere (E1, E4, E8) und der jeweiligen paargefütterten Partnertiere verzichtet. In V2 wurde bei den zusätzlichen Kalkulationen auf die beiden Responder TPM-Tiere (T1, T6) und ihre Partner verzichtet.

3.2.2 Organgewichte

3.2.2.1 Makroskopische Organveränderungen

Bei der Entnahme der Organe zeigte sich in den *fa/fa* Zuckerratten-Versuchen (V1, V4) bei allen Tieren makroskopisch eine Fettleber, unabhängig von der Art der Behandlung. Daneben wurden bei einigen Tieren aller Gruppen renale Veränderungen beobachtet. Zu nennen sind hier oberflächliche Gefäßinjektion oder Blässe und Unregelmäßigkeiten der Oberfläche. Die Nieren der TPM- und ETZ-behandelten Tiere imponierten zudem zum Großteil prall elastisch vergrößert. Weiterhin hatten die Tiere der ETZ-Gruppe nach subjektiver Aussage des Präparators weniger weißes Fettgewebe als die Tiere der anderen Gruppen in V4. Bei den *db/db* Mäusen (V2, V3) zeigten sich keine relevanten gruppenspezifischen makroskopischen Veränderungen der Organe. Auffallend war aber eine subjektiv beobachtete Hypertrophie des *M. gastrocnemius* nach der vierwöchigen TPM-Behandlung in V2. Alle TPM- und ETZ-behandelten Ratten und Mäuse zeigten im Gegensatz zu den Tieren der anderen Gruppen eine makroskopisch erkennbare Hypertriglyzeridämie.

3.2.2.2 Versuche mit *fa/fa* Zuckerratten

In Abbildung 3-20 ist der prozentuale Anteil am Körpergewicht der Organe der *fa/fa* Zuckerratten des V1 und V4 dargestellt. Die absoluten Feuchtgewichte sind den Tabellen A13 und A14 im Anhang zu entnehmen. In beiden Versuchen waren die Lebern der TPM-behandelten Tiere signifikant kleiner als die Lebern der Kontrolltiere ($p < 0,05$ in V1; $p < 0,01$ in

V4). Auch die ETZ-therapierten Tiere in V4 hatten signifikant kleinere Lebern als die Kontrollen ($p < 0,01$). Im Vergleich zu den Lebern ihrer paargefütterten Partnertiere zeigte sich in beiden Versuchen eine Verkleinerung der Lebern der TPM-Tiere, die in V4 stärker ausgeprägt war. Dagegen waren die Lebern der ETZ-behandelten Tiere signifikant größer als die Lebern ihrer Partner ($p < 0,05$). Die Lebern der Kontrollpaarfütterungstiere in V1 waren kleiner als die Lebern der Kontrolltiere.

Die Nieren der TPM-Tiere waren im Vergleich zu den Nieren der Kontrollen in V1 minimal vergrößert, in V4 zeigte sich diesbezüglich kein Unterschied. Jedoch waren hier die Nieren der ETZ-behandelten Tiere im Vergleich zu den Kontrollen ($p < 0,05$) und den Tieren der TPM-Gruppe ($p < 0,05$) signifikant vergrößert. Zudem waren die Nieren der TPM-behandelten Tiere in beiden Versuchen signifikant größer als die Nieren ihrer paargefütterten Partner ($p < 0,01$ V1; $p < 0,05$ V4), sowie auch die ETZ-Tiere signifikant größere Nieren als ihre Partner aufwiesen ($p < 0,01$). Zwischen den Nieren der Kontrollen und ihrer Paarfüterungspartner in V1 bestand kein Größenunterschied.

Die Berechnung unter Verzicht auf die Werte der Non-Responder TPM-Paare ergab in V1 keine Veränderungen hinsichtlich der Signifikanzen, jedoch wurde der Größenunterschied zwischen den TPM-Tieren und ihren Partnern bei der Leber ausgeprägter. In V4 kam es hinsichtlich der Leber ohne die Non-Responder bei den ETZ-Paaren zu einem Verlust der Signifikanz. Ansonsten kam es in V4 zu keiner weiteren Veränderung.

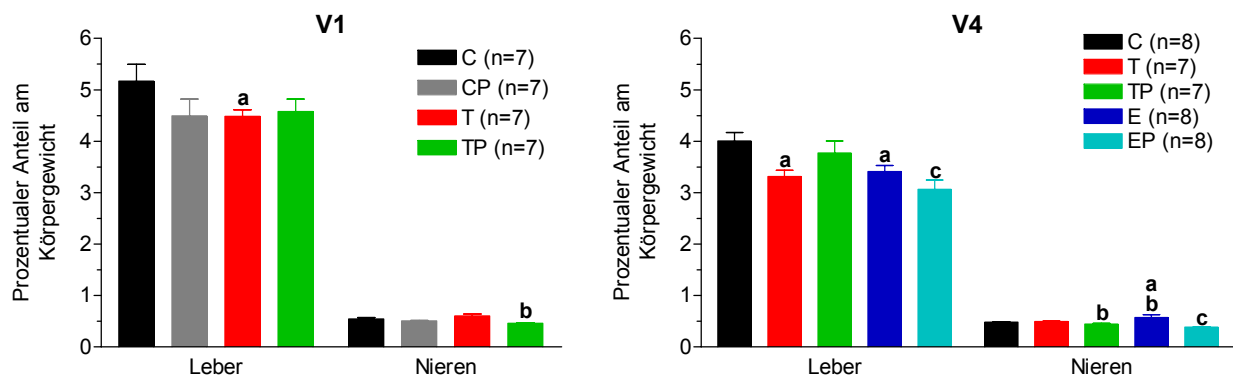


Abbildung 3-20: Prozentualer Anteil der Organe am Körpergewicht der *fa/fa* Zucker- ratten in V1 und V4; MW±SE.

Die Ratten erhielten vier Wochen lang täglich entweder Vehikel (C,CP,TP, EP), 100 mg/kg KG TPM (T) oder 75,9 mg/kg KG ETZ (E) und wurden ad libitum (C,T,E) oder paargefüttert (CP,TP,EP). Die Tiere wurden am Versuchsende 1 Stunde nach Injektion des glukosehaltigen radioaktiven Cocktails (mit ca. 800 mg Glucose/kg KG) guillotiniert und entblutet. Vor der Injektion des Cocktails war in V4 eine 8-stündige Nüchternphase eingehalten, die Tiere in V1 bis zur Tötung ad libitum gefüttert worden. Die Organe wurden innerhalb von 2 bis 4 min nach Tötung entnommen, gewogen und in flüssigem Stickstoff schockgefrostet. Die prozentuale Berechnung erfolgte in Bezug auf das Körpergewicht am Tag der Tötung.

a,b,c: signifikant verschieden von C (a), T (b), E (c).

3.2.2.3 Versuche mit *db/db* Mäusen

Die Abbildung 3-21 zeigt den prozentualen Anteil am Körpergewicht der Organe der *db/db* Mäuse des V2 und V3. Die absoluten Feuchtgewichte sind den Tabellen A15 und A16 im Anhang zu entnehmen. In V3 wurden aus der Kontroll-, TPM- und TPM-Paarfütterungsgruppe nur jeweils fünf Tiere zur Sektion ausgewählt. Da hierbei nicht auf die Zusammengehörigkeit der Tiere zu einem Paarfütterungspaar geachtet worden war, konnte kein direkter Vergleich der Leber- und Nierengrößen zwischen den Tieren der TPM- und der Paarfütterungsgruppe angestellt werden. Die anderen Tiere dieser Gruppen, sowie die Mäuse der ETZ-Gruppe wurden lediglich entblutet und anschließend für spätere Analysen der Kadaverzusammensetzung komplett eingefroren.

In beiden Versuchen bestand kein signifikanter Größenunterschied zwischen den Lebern der Kontroll- und TPM-Tiere, während die Lebern der Paarfütterungstiere gegenüber den Lebern der Kontroll- bzw. TPM-Tiere in V2 signifikant verkleinert ($p < 0,05$) waren.

Die Nieren der TPM-behandelten Tiere waren im Vergleich zu den Nieren der Kontrollen in V2 signifikant ($p < 0,05$) und in V3 nicht signifikant vergrößert. Im Vergleich zu den Nieren ihrer Paarfütterungstiere ließ sich in V2 nur eine leichte Vergrößerung feststellen. Die zur Kontrolle paargefütterten Tiere in V1 hatten im Vergleich zu ihren Partnern leicht verkleinerte Nieren.

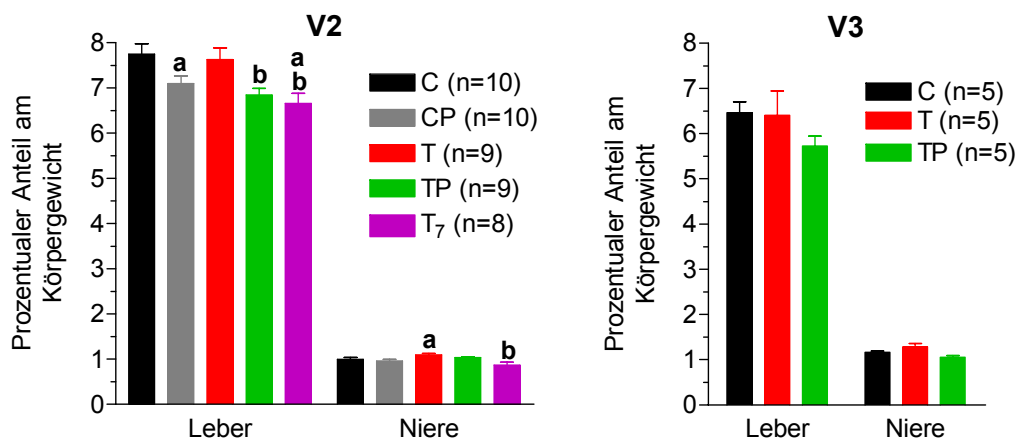


Abbildung 3-21: Prozentualer Anteil der Organe am Körpergewicht der *db/db* Mäuse in V2 und V3; MW±SE.

Die Mäuse erhielten vier (V2, außer T₇ = 7 Tage) bzw. zwei (V3) Wochen lang täglich entweder Vehikel (C, CP, TP) oder 100 mg/kg KG TPM (T, T₇) und wurden ad libitum (C, T, T₇) oder paargefüttert (CP, TP). Nach Guillotiniierung wurden die Organe innerhalb von 2 bis 4 min entnommen, gewogen und in flüssigem Stickstoff schockgefrostet. In V3 wurden nur fünf Tiere je Gruppe seziiert, den sechs Tieren der ETZ-Gruppe wurden keine Organe entnommen. Die prozentuale Berechnung erfolgte in Bezug auf das Körpergewicht am Tag der Tötung.
a, b: signifikant verschieden von C (a), T (b).

In V2 konnten keine signifikanten Veränderungen durch die erneuten Berechnungen unter Verzicht auf die beiden Responder TPM-Paare erzielt werden. Gleiches gilt für die zusätzlichen Kalkulationen in V3, bei denen auf die Werte der Non-Responder TPM-Tiere verzich-

tet wurde. Hier kam es lediglich zu einem leichten Anstieg des prozentualen Leberanteils am Körpergewicht der TPM-Tiere.

3.2.3 Insulinkonzentrationen im Plasma bei *fa/fa* Zuckerratten

Die Insulinkonzentration im Plasma der Zuckerratten in V1 und V4 sind in der Abbildung 3-22 dargestellt. Da sich in V1 kein relevanter Unterschied zwischen den Ergebnissen der Insulinanalysen nach 3 und 4 Versuchswochen zeigte, sind zur besseren Vergleichbarkeit zwischen den beiden Versuchsreihen nur die Ergebnisse der post mortem Analysen abgebildet.

Die TPM-Behandlung verursachte keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den Kontrolltieren und den TPM-Paarfütterungspartnern, aber es zeigte sich in beiden Versuchen die Tendenz zum Absinken des Insulinspiegels nach vierwöchiger TPM-Therapie. Die ETZ-Behandlung führte indes zu einer signifikanten Verminderung des Insulinspiegels nach vier Wochen gegenüber den Kontrollen ($p < 0,05$), im Vergleich zu den ETZ-Paarfütterungstieren blieb der Insulinspiegel aber leicht erhöht. Des Weiteren zeigten die Tiere der Kontrollpaarfütterungsgruppe in V1 leicht geringere Insulinwerte als ihre Partner.

Da in V1 in der Gruppe der TPM-Tiere die beiden Non-Responder Tiere die höchsten Insulinspiegel aufwiesen, wurde durch eine zusätzliche Berechnung unter Verzicht auf diese beiden Werte und die Werte der beiden Partnertiere das Signifikanzniveau sowohl im Vergleich zu den Kontroll- ($p < 0,05$), als auch zu den TPM-Paarfütterungstieren ($p < 0,05$) erreicht. In V4 ergaben sich durch eine zusätzliche Berechnung unter Ausschluss der Non-Responder ETZ-Paare keine Veränderungen. Die Einzelwerte, die durch Mittlung der Ergebnisse der Doppelmessungen errechnet wurden, sind den Tabellen A17 und A18 im Anhang zu entnehmen.

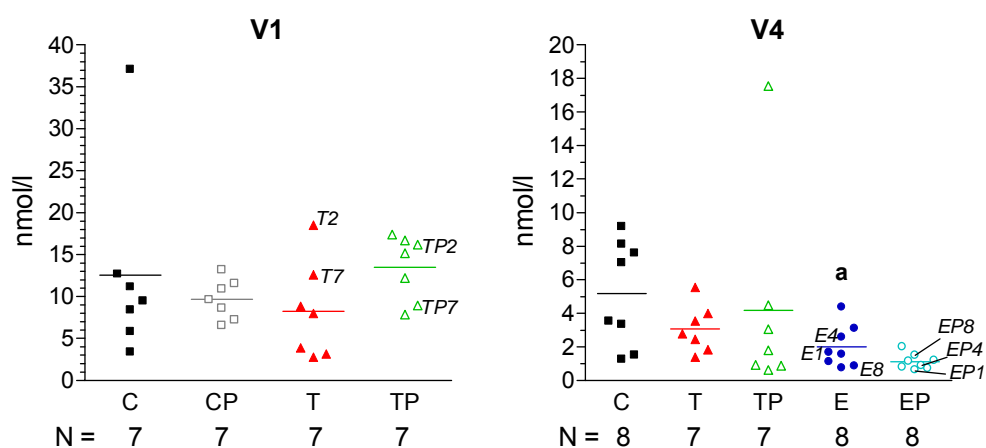


Abbildung 3-22: Insulinkonzentration im Plasma der Tiere in V1 und V4 mit Kennzeichnung der Non-Responder-Paare; die Linien geben die MW an.

a: signifikant verschieden von C.

Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-20.

3.2.4 Triglyzeridgehalte des Plasmas und der Organe bei *fa/fa* Zuckerratten

In V1 wurde der Triglyzeridgehalt des Plasmas, der Leber, des weißen Fettgewebes und des Muskels ermittelt. In V4 wurde auf die Triglyzeridbestimmung im Muskel verzichtet, um das gesamte Muskelgewebe dem kooperierenden Labor von Prof. Lynch in USA für weiterführende Analysen zur Verfügung zu stellen. Die aus den Ergebnissen der Tripelbestimmungen gemittelten Einzelwerte sind in der Abbildung 3-23 dargestellt und finden sich in den Tabellen A19 und A20 im Anhang.

3.2.4.1 Plasma

In beiden Versuchen führte die TPM-Behandlung zu einer signifikanten Erhöhung der Triglyzeridspiegel, sowohl im Vergleich zu den Kontrolltieren ($p < 0,05$ V1; $p < 0,01$ V4), als auch zu den TPM-Paarfütterungstieren ($p < 0,01$ V1; $p < 0,05$ V4). In V4 verursachte ETZ ebenfalls einen Anstieg der Triglyzeride im Plasma gegenüber den Kontroll- ($p < 0,01$) und den ETZ-Paarfütterungstieren ($p < 0,01$). Dieser Anstieg war ca. viermal stärker ausgeprägt als nach der TPM-Behandlung ($p < 0,05$). Weiterhin hatten die Tiere der Kontrollpaarfütterungs-Gruppe in V1 signifikant geringere Triglyzeridkonzentrationen als ihre Partnertiere ($p < 0,05$).

Die Berechnungen unter Verzicht auf die jeweiligen Non-Responder TPM- in V1 bzw. ETZ-Tiere in V4 ergaben hinsichtlich der Signifikanzen keine Veränderungen. In V1 kam es zu einer Verstärkung des Anstiegs der Triglyzeride im Plasma der TPM-Tiere, da die beiden Non-Responder die niedrigsten Triglyzeridkonzentrationen in der TPM-Gruppe aufwiesen.

3.2.4.2 Leber

Im Vergleich zu den Kontrollen erhöhten sich die Lebertriglyzeride unter TPM-Therapie leicht. Während sich in V1 kein Unterschied zu den TPM-Paarfütterungstieren zeigte, kam es in V4 auch gegenüber diesen zu einem nicht signifikanten Anstieg des Triglyzeridgehalts. Dagegen führte die ETZ-Behandlung in V4 zu einem signifikanten Absinken der Lebertriglyzeride gegenüber den Kontroll- ($p < 0,01$) sowie den ETZ-Paarfütterungstieren ($p < 0,05$). Der Triglyzeridgehalt in der Leber der ETZ-Tiere war auch signifikant niedriger als bei den TPM-behandelten Tieren ($p < 0,01$). Kein Unterschied bestand zwischen dem Triglyzeridgehalt der Kontroll- und ihren Paarfütterungstieren in V1.

Berechnungen unter Ausschluss der Non-Responder führten in V1 zu einer Verstärkung des Unterschieds zwischen den Kontroll- und TPM-Tieren (n.s.). In V4 kam es dagegen zu einem Verlust der Signifikanz zwischen den ETZ-Tieren und ihren paargefütterten Partnern.

3.2.4.3 Fett

Während es in V1 zu einer signifikanten Reduktion der Triglyzeridkonzentration unter TPM-Behandlung kam ($p < 0,05$), zeigte sich in V4 eine signifikante Zunahme des Triglyzerid-

gehalts ($p < 0,01$). Im Vergleich zu den TPM-Paarfütterungstieren waren die Fett-Triglyzeride in V1 signifikant ($p < 0,01$) und in V4 nicht signifikant erhöht. In V4 verursachte ETZ ebenfalls eine signifikante Erhöhung der Triglyzeride im Fettgewebe sowohl gegenüber den Kontrollen ($p < 0,01$) als auch den ETZ-Paarfütterungstieren ($p < 0,05$). Dieser Anstieg war allerdings geringer ausgeprägt als nach der TPM-Therapie. Des Weiteren wiesen die Kontrollpaarfütterungstiere in V1 einen signifikant geringeren Triglyzeridgehalt auf als ihre Partner ($p < 0,01$). Die zusätzliche Berechnung unter dem Aspekt der Klassifikation einiger TPM- bzw. ETZ-Paare als Non-Responder ging ohne Änderung der Ergebnisse einher.

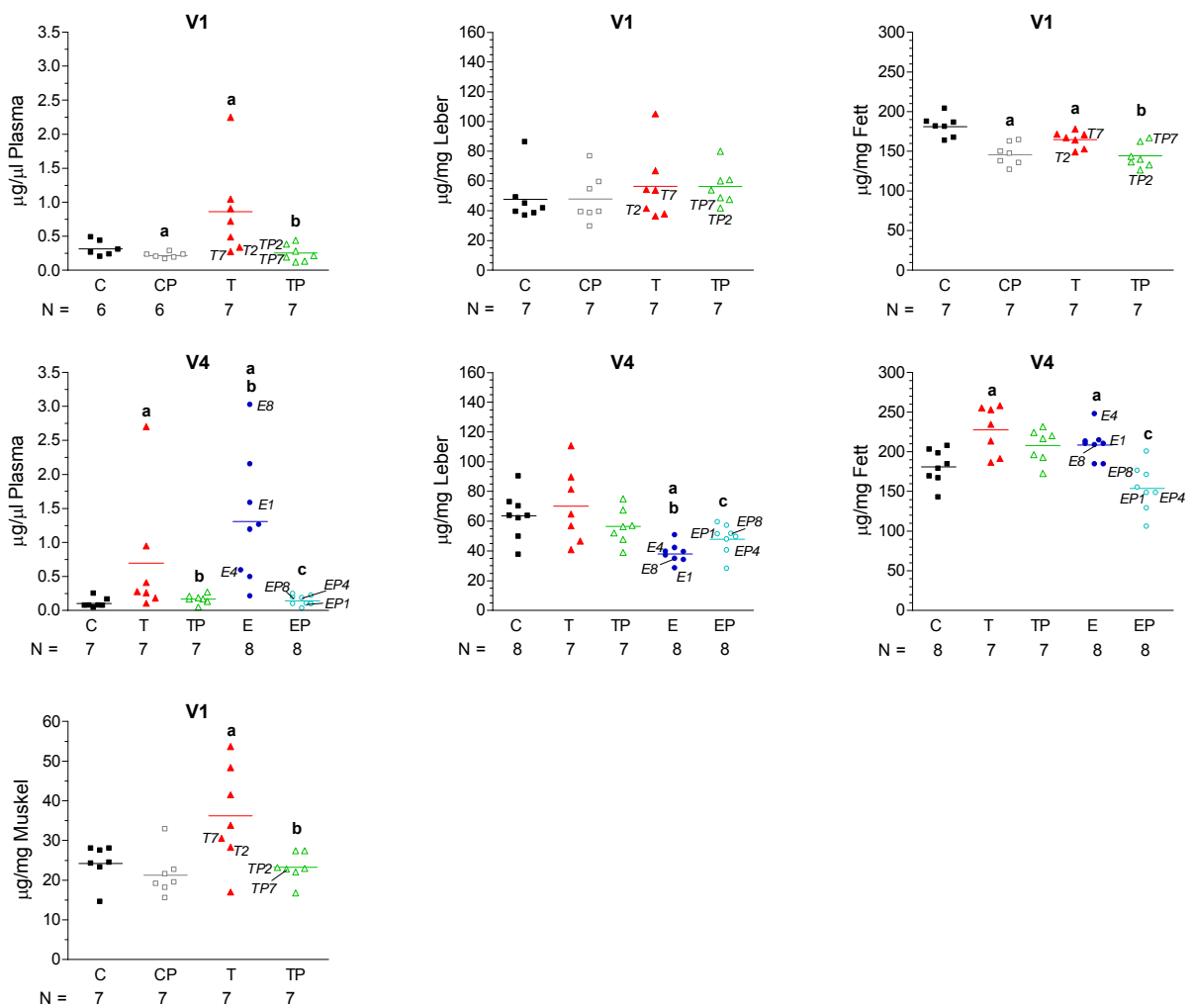


Abbildung 3-23: Triglyzeridgehalt in Plasma, Leber, weißem Fettgewebe und Muskel der Tiere in V1 und V4 mit Kennzeichnung der Non-Responder-Paare; die Linien geben die MW an.

a, b, c: signifikant verschieden von C (a), T (b), E (c)

Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-20.

3.2.4.4 Muskel

Die TPM-Therapie führte zu einem signifikanten Anstieg der Triglyzeride im Vergleich zu den Kontrollen ($p < 0,01$). Des Weiteren war der Triglyzeridgehalt unter TPM signifikant höher als bei den paargefütterten Partnertieren ($p < 0,01$). In Muskelgewebe der Kontrollpaarfütterungstiere fanden sich weniger Triglyzeride als bei den Kontrollen. Zusätzliche Berechnungen unter Verzicht auf die Non-Responder erbrachten keine Veränderung der Ergebnisse.

3.2.5 Triglyzeridgebundene Radioaktivität bei Zuckerratten

Die im Triglyzeridanteil enthaltene Radioaktivität wurde mittels Einzelmessungen bestimmt. Es galten die gleichen Bedingungen wie unter 3.2.4. Die Ergebnisse sind den Abbildungen 3-24 und 3-25 zu entnehmen. Die Einzeldaten finden sich in den Tabellen A21-A23 im Anhang.

3.2.5.1 ^3H -Gehalt im Triglyzeridanteil des Plasmas

Die TPM-Therapie führte zu einer signifikanten Reduktion des triglyzeridgebundenen ^3H sowohl gegenüber den Kontrollen ($p < 0,05$) als auch gegenüber den TPM-Paarfütterungstieren ($p < 0,01$). Daneben fand sich im Plasma der Kontrollpaarfütterungstiere signifikant mehr triglyzeridgebundenen ^3H als bei ihren Partnern ($p < 0,05$). Die zusätzliche Kalkulation unter Verzicht auf die Non-Responder, die die höchsten ^3H -Werte zeigten, wurde die Reduktion des ^3H -Gehalts im Triglyzeridanteil des Plasmas der TPM-Tiere deutlich intensiviert.

3.2.5.2 ^3H -Gehalt im Triglyzeridanteil der Leber

Zwischen dem triglyzeridgebundenen ^3H in der Leber der Kontroll- und TPM-Tiere manifestierte sich kein Unterschied. Im Vergleich zu den TPM-Paarfütterungstieren zeigte sich eine tendenzielle Verminderung des ^3H -Gehalts. Daneben wiesen die Kontrollpaarfütterungstiere in V1 einen signifikant höheren ($p < 0,05$) ^3H -Gehalt als ihre Partner auf. Nach erneuter Berechnung ohne Berücksichtigung der Non-Responder TPM-Paare kam es in V1 zu keiner Veränderung der Ergebnisse.

3.2.5.3 ^3H -Gehalt im Triglyzeridanteil des weißen Fettgewebes

Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen beobachtet werden. Die TPM-Therapie führte lediglich zu einem geringen Anstieg des triglyzeridgebundenen ^3H gegenüber den Kontrollen, sowie gegenüber den TPM-Paarfütterungstieren. Des Weiteren lag der ^3H -Gehalt im Triglyzeridanteil des Fettgewebes der Kontrollpaarfütterungstiere in V1 höher als bei ihren Partnern. Nach erneuter Berechnung unter Verzicht auf die Non-Responder in V1 erreichte der Unterschied zwischen den TPM- und ihren Partnertieren Signifikanz ($p < 0,05$).

3.2.5.4 ^3H -Gehalt im Triglyzeridanteil des Muskels

TPM bewirkte eine signifikante Reduktion des ^3H -Gehalts im Triglyzeridanteil gegenüber den Kontrollen ($p < 0,05$). Auch gegenüber den TPM-Paarfütterungstieren zeigte sich eine signifikante Verminderung ($p < 0,05$). Darüber hinaus wiesen die Kontrollpaarfütterungstiere im Muskel einen signifikant höheren ^3H -Gehalt im Triglyzeridanteil auf als die Kontrolltiere ($p < 0,05$). Die zusätzlichen Kalkulationen ohne die Werte der Non-Responder TPM-Paare führten zum Verlust der Signifikanz zwischen den TPM-Tieren und ihren Partnern.

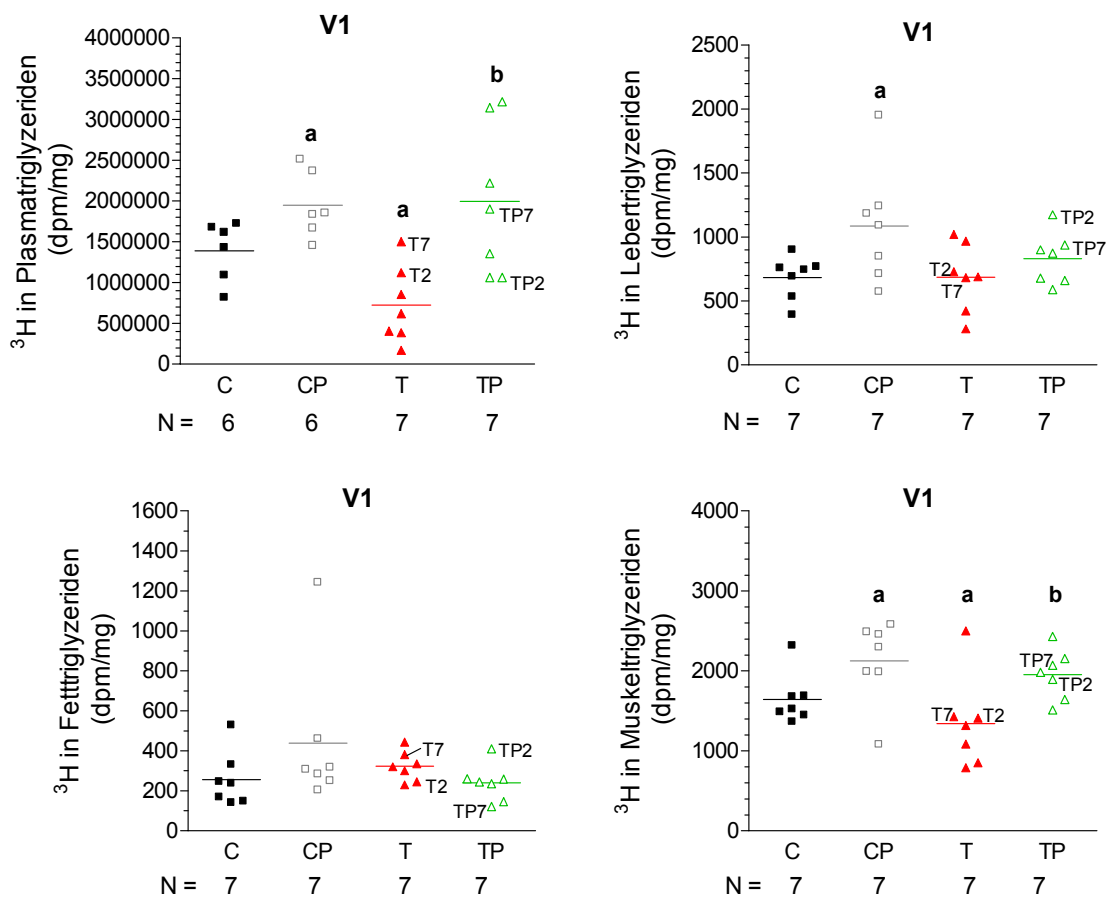


Abbildung 3-24: ^3H -Gehalt im Triglyzeridanteil in Plasma, Leber, weißem Fettgewebe und Muskel der Tiere in V1 mit Kennzeichnung der Non-Responder-Paare; die Linien geben die MW an.

a, b: signifikant verschieden von C (a) und T (b).

Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-20.

3.2.5.5 ^{14}C -Gehalt im Triglyzeridanteil des Plasmas

In beiden Versuchen kam es unter TPM zu einer signifikanten Reduktion des triglyzeridgebundenen ^{14}C ($p < 0,05$). Im Vergleich zu den TPM-Paarfütterungstieren war der ^{14}C -Gehalt in V1 signifikant ($p < 0,01$) und in V4 nicht signifikant erniedrigt. In V4 bewirkte ETZ ebenfalls eine signifikante Verminderung des ^{14}C -Gehalts ($p < 0,01$), die signifikant stärker ausgeprägt

war als unter TPM-Therapie ($p < 0,05$). Gegenüber den ETZ-Paarfütterungstieren zeigte sich auch eine Reduktion, die auf Grund der Streuung aber keine Signifikanz erreichte. Ferner wiesen die Kontrollpaarfütterungstiere in V1 signifikant erhöhte ^{14}C -Werte im Triglyzeridanteil auf ($p < 0,05$). Die zusätzliche Berechnung unter Verzicht auf die Non-Responder-Paare in V1 und in V4 ging ohne signifikante Veränderung der Ergebnisse einher.

3.2.5.6 ^{14}C -Gehalt im Triglyzeridanteil der Leber

In V1 bewirkte TPM einen Anstieg des triglyzeridgebundenen ^{14}C gegenüber den Kontrollen und den TPM-Paarfütterungstieren, der für letztere Signifikanz erreichte ($p < 0,05$). Dagegen manifestierte sich in V4 keine Unterschied zwischen den TPM-behandelten und den Kontroll- sowie den TPM-Paarfütterungstieren. Die ETZ-Behandlung führte in V4 zu einem signifikanten Anstieg des ^{14}C -Gehalts im Triglyzeridanteil der Leber gegenüber den Kontrollen ($p < 0,01$), den TPM-behandelten Tieren ($p < 0,01$) sowie den ETZ-Paarfütterungstieren ($p < 0,01$). Ferner zeigte sich in V1 kein Unterschied zwischen den Kontroll- und ihren Partnertieren. Berechnungen unter dem Aspekt der Klassifikation einiger Tierpaare als Non-Responder in V1 und V4 ergaben keine Veränderung der Ergebnisse.

3.2.5.7 ^{14}C -Gehalt im Triglyzeridanteil des weißen Fettgewebes

Während es in V1 zu einem tendenziellen Absinken des triglyzeridgebundenen ^{14}C nach TPM-Therapie nur gegenüber den Kontrollen kam, zeigte sich in V4 ein signifikant verringerter ^{14}C -Gehalt gegenüber den Kontrollen ($p < 0,01$) und den TPM-Paarfütterungstieren ($p < 0,05$). In V4 verursachte auch ETZ eine signifikante Reduktion des ^{14}C -Gehalts gegenüber den Kontroll- ($p < 0,01$) sowie den ETZ-Paarfütterungstieren ($p < 0,01$). Dieser Rückgang war gleich stark ausgeprägt wie unter Topiramate. Weiterhin neigten die Kontrollpaarfütterungstiere in V1 zu leicht erhöhten ^{14}C -Werten im Triglyzeridanteil des Fettgewebes. Berechnungen ohne Berücksichtigung der Non-Responder in V1 und V4 führten nicht zu signifikanten Veränderungen.

3.2.5.8 ^{14}C -Gehalt im Triglyzeridanteil des Muskels

Unter TPM kam es zu einer signifikanten Verminderung des triglyzeridgebundenen ^{14}C gegenüber den Kontrollen ($p < 0,05$). Auch gegenüber den TPM-Paarfütterungstieren bestand eine signifikante Reduktion des ^{14}C -Gehalts ($p < 0,05$). Die Kontrollpaarfütterungstiere zeigten einen signifikant gesteigerten ^{14}C -Gehalt ($p < 0,05$). Kalkulationen unter Verzicht auf die Non-Responder führten zu einem Verlust der Signifikanz zwischen den TPM- und ihren Partnertieren.

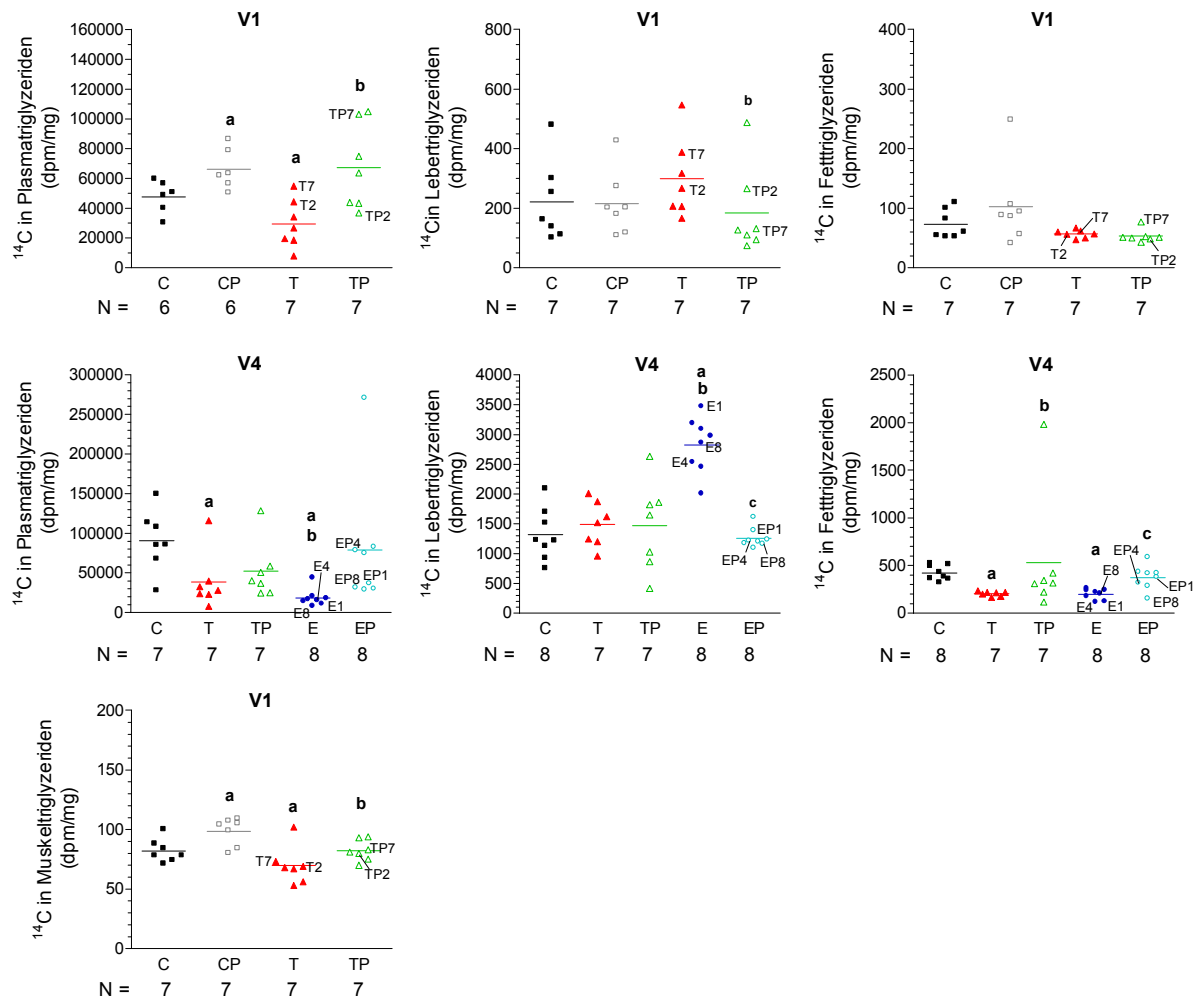


Abbildung 3-25: ¹⁴C-Gehalt im Triglyzeridanteil in Plasma, Leber, weißem Fettgewebe und Muskel der Tiere in V1 und V4 mit Kennzeichnung der Non-Responder-Paare; die Linien geben die MW an.

a,b,c: signifikant verschieden von C (a), T (b), E (c).

Versuchsbedingungen siehe Legende zu Abbildung 3-20.

4 Diskussion

In der vorliegenden Dissertation wurde ein Studiendesign entwickelt, um den Einfluss einer Therapie mit dem Antikonvulsivum Topiramamat auf die Entwicklung von Körpergewicht, Futter- und Wasseraufnahme sowie auf Stoffwechselforgänge der homozygoten *fa/fa* Zuckerratte und der homozygoten *db/db* Maus unter kohlenhydratreicher Ernährung zu untersuchen. Als Vergleichssubstanz diente in 2 von 4 Versuchen der Carboanhydraseinhibitor Ethoxyzolamid.

Es wurden insgesamt 4 aufeinander folgende Versuchsreihen durchgeführt. Entsprechend der Erfahrung aus den vorangehenden Versuchen wurden jeweils Änderungen am Studiendesign vorgenommen, um den Studienablauf zu optimieren und therapieunabhängige Einflüsse auf die Zielparameter zu minimieren.

In allen 4 Versuchen wurde ein Paarfütterungs-Design gewählt, um zwischen einer Gewichtsabnahme als Folge einer alleinigen Reduktion der Futteraufnahme und einer Gewichtsabnahme als Folge von Stoffwechseleränderungen differenzieren zu können.

In allen 4 Versuchen erhielten die Tiere die Prüfsubstanzen in 2 Einzeldosen im Intervall von 8 Stunden (morgens 1/3 der Dosierung, abends 2/3 der Dosierung) per Schlundsonde, um in der nachtaktiven Phase eine hohe Plasmakonzentration und damit einen maximalen pharmakologischen Effekt sicherzustellen. Die Tagesdosis betrug bei Topiramamat 100 mg/kg KG, bei ETZ 75 mg/kg KG. Es wurde eine Hochdosistherapie gewählt, um in Annahme einer linearen Dosis-Wirkungs-Beziehung einen maximalen Effekt zu erzielen. Die Tiere der Kontroll- und der Paarfütterungsgruppen erhielten 2-mal täglich das gleiche Volumen Lösungsmittel als Placebo geschlündelt.

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

4.1.1 Optimales Studiendesign

Die zu Beginn der Versuche 12 Wochen alte *fa/fa* Zuckerratte war gut geeignet für die Versuchsreihen. Die zu Beginn der Versuche 10-14 Wochen alte *db/db* Maus dagegen erwies sich als wenig geeignet für das zu etablierende Versuchsmodell. In beiden Versuchsreihen zeigten die Mäuse einen unbefriedigenden Wachstumsverlauf in den Kontroll- und Paarfütterungsgruppen, so dass Effekte der TPM- und ETZ-Behandlung nur schwer herauszuarbeiten waren. Es ist davon auszugehen, dass die Versuchsanordnung mit zweimal täglichem Handling und Schlündelung für diese Mäuse akut wie chronisch einen zu großen Stressfaktor darstellte. Andere relevante Stressoren waren Blutentnahmen während der Versuchszeit und eventuell von der Raumposition abhängige Faktoren wie Luftzug und Lichtverhältnisse. Trotz dem günstigeren Kostenfaktor bei der Versuchsdurchführung mit Mäusen ist auf Grund der

geschilderten Problematik von deren Verwendung im Rahmen von Studien mit ähnlichem Design abzuraten.

Als optimales Studiendesign stellte sich der Versuchsablauf in V4 dar (Tabelle 2-5 und Abbildung 2-5): Nach einer 7-tägigen Adaption in Kleingruppen werden die Tiere einzeln in Käfige gesetzt. Damit beginnt die 7-tägige Vorversuchszeit, in der alle Tiere bis zum Beginn des Hauptversuches ad libitum gefüttert werden und bereits täglich das Gewicht und der Futter- und Wasserverbrauch aller Tiere dokumentiert werden. Am 4. Tag der Vorversuchszeit erfolgt die Randomisierung der Tiere zu Kontroll-, Behandlungs- und Paarfütterungsgruppen. Hierbei muss auf eine gleichmäßige Gewichtsverteilung in allen Gruppen und auf möglichst identische Ausgangsgewichte der jeweils behandelten und paargefütterten Partnertiere geachtet werden. Die Käfige der randomisierten Tiere werden so im Tierversuchslabor positioniert, dass im Mittel für die verschiedenen Gesamtgruppen gleiche Licht- und Luftzugsbedingungen resultieren. An den letzten 3 Tagen der Vorversuchszeit werden alle Tiere zweimal täglich mit Placebo geschlündelt. An Tag 0 beginnt der Hauptversuch entsprechend dem Behandlungsprotokoll über den festgesetzten Zeitraum. Bei der Applikation der Substanzen ist auf ein möglichst kleines Zeitfenster zur Schlündelung aller Tiere zu achten. Zudem sollte im Rotationsverfahren täglich mit einer anderen Behandlungsgruppe begonnen werden. Sind Blutentnahmen vorgesehen, sollten diese so schonend wie möglich und erst nach Erreichen eines Wachstumsplateaus durchgeführt werden. Ein Wechsel der Futtercharge während des laufenden Versuchs sollte dringend vermieden werden. Ob die Tiere am Versuchsende nüchtern gesetzt werden müssen, ob und welche Substanzen in gewichtsadaptierter Dosierung zu welchem Zeitpunkt vor der Tötung verabreicht werden, hängt von den geplanten weiteren Analysen ab. Sollen Blut- und Gewebesanalysen durchgeführt werden, hat sich das Töten durch Dekapitation mit anschließendem Entbluten und die rasche Entnahme der Organe durch 2 Personen mit Schockgefrieren der Gewebe mit Hilfe der freeze clamp Technik bewährt. Zum leichteren Entbluten kann prae mortem Heparin intraperitoneal verabreicht werden. Die Organe sollten anschließend bei $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$, das Plasma und Serum bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis zur weiteren Verarbeitung aufbewahrt werden.

4.1.2 Beobachtungen bei *fa/fa* Zuckerratten (V1 und V4)

Die *fa/fa* Zuckerratte gilt als etabliertes Tiermodell in der Adipositasforschung. Das Tiermodell spiegelt dem menschlichen metabolischen Syndrom vergleichbare pathophysiologische Veränderungen wider: Insulinresistenz, Hyperinsulinismus, gestörte Glucosetoleranz, Dyslipoproteinämie und Übergewicht. Es handelt sich um Tiere, bei denen durch eine Punktmutation im Leptinrezeptorgen auf Chromosom 5 die Translokation des extrazellulären Leptinrezeptors durch die Zellmembran gestört ist [249-251]. Leptin, ein körpereigenes Hormon, das in Adipozyten und weniger in Dünndarm und Plazenta gebildet wird, reguliert die Homö-

ostase des Fettgewebes. Es wirkt an zentralen hypothalamischen Rezeptoren als Sättigungssignal und steigert über zentrale Sympathikusaktivierung den Energieverbrauch [252-254]. Homozygotie des *fa*-Gendefektes führt zu Leptinresistenz mit kompensatorisch erhöhten Leptin-Serumspiegeln [255]. Bereits in den ersten Lebenswochen beginnt eine anhaltende pathologische Fettakkumulation, die ab der 4. Lebenswoche zu sichtbarer Adipositas im Vergleich zu schlanken Zuckerratten führt. Pathophysiologisch handelt es sich um eine Hyperplasie und Hypertrophie der Zellen des subkutanen weißen Fettgewebes bei massiv gesteigerter Lipogenese. Daneben spielen eine fehlende Hemmung der Lipogenese bei exogener Lipidzufuhr und ein verminderter Energie-Grundumsatz eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Adipositas in diesem Tiermodell. Zudem wird ab der 4. Lebenswoche bzw. nach dem Abstillen eine Hyperphagie beobachtet, die sich weniger durch eine erhöhte Futterfrequenz als durch eine gesteigerte Futtermenge pro Mahlzeit auszeichnet. Zeitgleich stellt sich eine zunehmende Insulinresistenz vor allem der Skelettmuskulatur ein, weshalb zum Aufrechterhalten einer Normoglykämie eine Hyperinsulinämie resultiert. Im Verlauf stellt sich trotz erhöhter Insulinsekretion eine gestörte Glucosetoleranz ein, unter anderem bedingt durch mangelnde Hemmung der endogenen hepatischen Glucosebereitstellung bei exogener Glucosezufuhr. Des Weiteren manifestieren sich eine Hypertriglyzeridämie sowie eine moderate Hypercholesterinämie, die Aktivität der Lipoproteinlipase im Fettgewebe ist signifikant gesteigert. Dies führt außerdem zu einer Steigerung der zirkulierenden freien Fettsäuren. Im Verlauf stellt sich ein *circulus vitiosus* mit gegenseitiger Verstärkung der metabolischen Störungen ein: Hyperinsulinämie erhöht die Aktivität der Lipoproteinlipase im Fettgewebe, Hypertriglyzeridämie und freie Fettsäuren stimulieren die Insulinsekretion, Insulin steigert die Lipogenese im Fettgewebe und wirkt appetitsteigernd [256-264]. Die maximale Ausprägung der gestörten Stoffwechsellage ist bereits im Alter weniger Wochen erreicht. Neben diesen Stoffwechselstörungen werden weitere relevante endokrinologische (Hypercortisolismus, verminderte Glucagonwirkung, Hypothyreoidismus, Infertilität) und immunologische Veränderungen beschrieben [258,265-269]. In Langzeitbeobachtungen an männlichen *fa/fa* Zuckerratten, die eine kohlenhydratreiche Nahrung *ad libitum* erhalten, persistiert die Hyperphagie durchschnittlich bis zum Alter von 48 Wochen und sinkt dann auf ein den schlanken Zuckerratten vergleichbares Niveau, bevor gegen Lebensende eine kontinuierliche Reduktion der Futtermenge eintritt. Bis zur 20. Lebenswoche verläuft die Gewichtskurve fast linear, flacht dann ab und erreicht im Alter von 60 Wochen bei durchschnittlich 780 g ein Wachstumsplateau. Ab der 82. Lebenswoche zeigt sich eine kontinuierliche Gewichtsabnahme, durchschnittlich nach 95 Woche sterben die Tiere [270]. Bei über 90% der Tiere ist eine chronische Niereninsuffizienz auf dem Boden einer progredienten fokal-segmentalen Glomerulosklerose, die bereits im Alter von 9 bis 20 Wochen beginnt, die Todesursache [271]. Außerdem werden bei *fa/fa* Zuckerratten gehäuft Hydronephrose, Nephrolithiasis und renale

Blutungen beobachtet. Darüber hinaus werden auf Grund der gestörten Stoffwechselsituation sehr häufig hepatische Veränderungen im Sinne einer Fettleber und sekundärer Fibrose oder Zirrhose beschrieben [272,273]. Weitere Organveränderungen schließen eine Kardiomyopathie [270] sowie eine veränderte Knochenstruktur [274] und eine Atrophie der Skelettmuskelstruktur [275] ein.

Placebobehandlung

Die ad libitum gefütterten placebobehandelten Zuckerratten zeigten eine plateauförmige Wachstumskurve mit Erreichen des Endgewichts nach 2-3 Wochen (Alter von 15-16 Wochen). Korrelierend zur Verlangsamung der Wachstumsgeschwindigkeit sank die Futteraufnahme kontinuierlich und pendelte sich schließlich auf einem erniedrigtem Niveau ein. Die Wasseraufnahme war im Verlauf konstant bis leicht gesteigert. Dies könnte Ausdruck der zunehmenden Hyperglykämie sein. Die Stagnation des Wachstums in diesem frühen Alter spiegelt die Belastung der Tiere durch die Versuchsbedingungen wider. Das Gewicht von ca. 550 g entspricht dem Gewicht unbehauelter Zuckerratten im Alter von 15-16 Wochen, eine moderate Reduktion der Futtermenge nach initial massiver Hyperphagie wird auch bei unbehauelten Zuckerratten beobachtet [270], ein negativer Effekt des täglichen Schlündelns auf das Freßverhalten ist aber nicht auszuschliessen.

Organe

Bei allen Zuckerratten der Placebogruppen zeigte sich makroskopisch eine Fettleber. Die Nieren einiger Tiere zeigten makroskopisch Zeichen der beginnenden Nephropathie. Die Absolutgewichte beider Organe der ad libitum gefütterten Placebotiere entsprechen im Mittel den Organgewichten bei unbehauelten Zuckerratten im selben Alter [276-278]. Die geringere Lebergröße in den Paarfütterungsgruppen im Vergleich zu den Kontrollgruppen könnte einen Diäteeffekt darstellen.

Stoffwechsel

Die Insulinanalysen zeigen in V1 und V4 eine deutliche Hyperinsulinämie unabhängig von vorangehender Nüchternheit, die ausgeprägter ist als in Voruntersuchungen an gleichaltrigen ad libitum kohlenhydratreich gefütterten Zuckerratten [276]. Dies kann durch die eine Stunde vor Tötung erfolgte Glucosebelastung erklärt werden. Entgegen den Erwartungen war bei den Kontrolltieren keine Hypertriglyzeridämie nachweisbar, insbesondere nicht in V4 nach 8-stündiger Nüchternphase. Die Plasma-Triglyzeride waren im Vergleich zu Voruntersuchungen an gleichaltrigen *fa/fa* Zuckerratten bis zu 75% erniedrigt, vergleichbar den Ergebnissen bei schlanken Zuckerratten [278]. Im Fettgewebe lagen die gemessenen Triglyzeridwerte mit durchschnittlich 75% ebenfalls unter den vorberichteten Werten für gleichaltrige *fa/fa* Zuckerratten [279]. Möglicherweise sind diese signifikanten Unterschiede auf unterschiedliche Versuchsbedingungen (Futtersorten, Dauer von Nahrungskarenz, Applikation von Glucose/Insu-

lin vor Analyse) zurückzuführen. In der Leber zeigte sich wie erwartet eine massive Anreicherung von Triglyzeriden, die entsprechend den Ergebnissen von Mathé et al. [278] das von Bach et al. [276] beschriebene Maß um das 2- bis 3-fache überstieg. Der Triglyzeridgehalt im Muskelgewebe war entsprechend den Ergebnissen von Voruntersuchungen dreimal höher als bei schlanken Zuckerratten [279].

Topiramat und ETZ-Therapie

Akute Effekte

Topiramat führte bei den Zuckerratten in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Picard et al. [234] zu einem akuten Gewichtsverlust in Verbindung mit einer reduzierten Futteraufnahme. Unter ETZ konnte der selbe Effekt in stärkerer Ausprägung beobachtet werden. In den entsprechenden Paarfütterungsgruppen zeigte sich mit geringer Verzögerung ein vergleichbarer Gewichtsverlust. Der jeweilige Gewichtsverlust ist somit als Folge eines akuten anorektischen Effektes beider Substanzen einzuordnen. Für Topiramat wurde diese Wirkung auch an anderen Rattenstämmen unter geringerer Dosierung nachgewiesen [235-237]. Die Wasseraufnahme zeigte unter Topiramat in V1 eine signifikante Reduktion und in V4 – entsprechend ETZ – eine akute Steigerung. Die Paarfütterungstiere zeigten jeweils entsprechend der geringeren angebotenen Futtermenge eine signifikant erniedrigte Wasseraufnahme. Die Steigerung der Wasseraufnahme ist somit am ehesten als Gegenregulation zu einer diuretischen Wirkung beider Substanzen einzuordnen. In V1 war die anorektische Wirkung zunächst stärker ausgeprägt als der flüssigkeitsregulierende Kompensationsmechanismus. In der Literatur liegen bislang keine vergleichbaren Daten zur akuten Veränderung der Wasseraufnahme unter Topiramat-Therapie bei Zuckerratten vor.

Chronische Effekte

Unter Topiramat war bei Zuckerratten eine Verlangsamung der Wachstumsgeschwindigkeit zu beobachten, die in V1 in einem geringeren Gesamtwachstum, in V4 aber bei Ausbleiben einer Plateaubildung in ein höheres Gesamtwachstum als in der ad libitum gefütterten Kontrollgruppe mündete. Die Verlangsamung des Wachstums ist ein konstanter Befund, der auch in anderen Studien an adipösen Zuckerratten und anderen Rattenstämmen unter Topiramat-Therapie (bei 10-120 mg/kg KG per die) nachgewiesen wurde [175,234-237]. Im Verlauf des Hauptversuchs stabilisiert sich die Futteraufnahme auf einem zur Kontrollgruppe vergleichbaren Niveau. Wie in den Untersuchungen von Picard et al. [234] resultiert die verringerte Gesamtfutteraufnahme bei adipösen Zuckerratten hauptsächlich aus der initialen akuten Nahrungsverweigerung. Im Verlauf der Versuche verliert sich der anorektische Effekt, dies wurde auch bei anderen Rattenstämmen beobachtet [237]. Daneben war tendenziell eine Steigerung der Wasseraufnahme zu beobachten. Zur Änderung der Wasseraufnahme sind den bisherigen Publikationen keine Daten zu entnehmen. Tierexperimentelle

Untersuchungen an Mäusen bestätigen aber die in unseren Versuchsreihen beobachtete Polydipsie im Sinne einer Kompensation der erhöhten Diurese [238]. Die ETZ-Therapie führte bei einer signifikant stärkeren Reduktion der Futteraufnahme bei vergleichbarer Wasseraufnahme zur einer signifikant geringeren Gesamtzunahme als Topiramate. ETZ besitzt also vermutlich eine stärkere bzw. länger anhaltende anorektische bei gleicher diuretischer Wirksamkeit. Ausserdem resultierte in V1 unter Topiramate und in V4 unter ETZ bei gleicher Futter- und signifikant höherer Wasseraufnahme tendenziell eine geringere Gesamtgewichtszunahme als bei den placebobehandelten Paarfütterungstieren. Bei Einteilung dieser Topiramate- und ETZ-Tiere in Responder und Non-Responder zeichnet sich bei den Responder-Tieren eine schlechtere Futterverwertung im Sinne von weniger Zugewinn an Körpermasse bei gleicher oder höherer Futteraufnahme im Vergleich zu ihren Paarfütterungspartnern ab. Diese Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass die Verringerung der Wachstumsgeschwindigkeit nicht ausschließlich auf die geringere Futteraufnahme zurückzuführen ist, sondern weitere Wirkmechanismen mit Beeinflussung des Energiegleichgewichtes auf metabolischer Ebene zum Tragen kommen. Diese Mechanismen scheinen bei ETZ stärker ausgeprägt zu sein als bei Topiramate.

Organe

Bei den Tieren, die mit Topiramate behandelt wurden, war die Hepatomegalie geringer ausgeprägt als bei den Kontroll- und Paarfütterungstieren. Möglicher Weise handelt es sich hier um einen Hinweis auf einen geringeren Ausbildungsgrad der Fettleber. Während sich gegenüber den Kontrolltieren unter ETZ-Therapie der gleiche Effekt zeigte, wurden bei den ETZ-Paarfütterungstieren geringere Lebergewichte dokumentiert. Wie in der Kontrollgruppe zeigten einige Tiere renale Auffälligkeiten im Sinne der beginnenden Nephropathie. Die Nieren aller behandelten Tiere waren im Vergleich zu den Organen der unbehandelten Tiere vergrößert. Dies ist am ehesten auf die diuretische Wirkung der beiden Substanzen zurückzuführen.

Stoffwechsel

Nach 4-wöchiger Topiramate-Therapie war die Hyperinsulinämie eine Stunde nach Glucosebelastung geringer ausgeprägt als in der Kontroll- und Paarfütterungsgruppe. Diese Ergebnisse deuten die in anderen Studien bereits gezeigte insulinsensibilisierende Wirkung von Topiramate an [234,236,237,280-282]. ETZ zeigte einen stärkeren antidiabetischen Effekt.

Unter Topiramate-Therapie zeigte sich im Gegensatz zur Kontrollgruppe eine signifikante Hypertriglyzeridämie. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den Daten von York et al. [237], der bei Osborne-Mendel-Ratten unter fettreicher Ernährung eine Abnahme der Hypertriglyzeridämie nach Topiramate-Therapie dokumentierte. Die Topiramate-Therapie hatte dagegen keinen Einfluss auf den hepatischen Triglyzeridgehalt, im Unterschied zu den Daten von Richard et al. [236], die bei Wistarratten unter kohlenhydratreicher Ernährung eine

relevante Reduktion der Lebertriglyzeride zeigten. Inwieweit diese widersprüchlichen Ergebnisse Ausdruck der Verwendung unterschiedlicher Rattenstämme, Topiramat-Dosierungen, Therapiedauer, Futtersorten oder Nüchternsetzen vor Tötung sind, wird in weiteren Versuchsreihen zu klären sein. Im Fettgewebe wurden inkonstante Veränderungen des Triglyzeridgehaltes beobachtet. Während sich in V1 eine signifikante Erniedrigung zeigte, wurde in V4 eine signifikante Erhöhung beobachtet. In wie weit diese Befunde mit dem Einhalten einer Nüchternphase zusammenhängen bleibt aktuell ungeklärt.

Der Radioaktivitätsgehalt der Triglyzeridfraktion kann stark vereinfacht als Maß für die *de novo* Lipogeneserate in Fettgewebe und Leber herangezogen werden. Der ^3H -Gehalt spiegelt hierbei die Lipogenese aus den Präkursoren Glucose, Glycerol und Alanin wider, der ^{14}C -Gehalt steht für die Fettsäuresynthese aus ^{14}C -Glucose. Während sich in der Leber keine Änderung der Lipogeneserate zeigte, wurde unter Topiramat-Therapie im Fettgewebe eine (in V4 signifikant) verringerte Lipogeneserate aus Glucose dokumentiert. Die frei zirkulierenden Triglyzeride wiesen unter Topiramat-Therapie einen signifikant verminderten Radioaktivitätsgehalt auf. Im Muskel war ein signifikant erhöhter Triglyzeridgehalt mit geringerem Radioaktivitätsgehalt nachweisbar. In der Literatur liegen bislang weder *in vivo* noch *in vitro* Daten zur Veränderung der Lipogeneserate unter Therapie mit Topiramat vor.

Unter ETZ-Therapie resultierte ebenfalls eine – stärker als unter Topiramat ausgeprägte – Hypertriglyzeridämie bei reduziertem Radioaktivitätsgehalt. Im Fettgewebe wurde eine signifikante Steigerung der Triglyzeride nachgewiesen, bei entsprechend den *in vitro* Daten von Hazen et al. [283] signifikant reduzierter Lipogeneserate im Fettgewebe aus ^{14}C -Glucose. Dieses Ergebniss könnte der subjektiv wahrgenommenen Reduktion des weißen Fettgewebes bei den ETZ-behandelten Tieren entsprechen. Entgegen den Daten von Lynch et al. [240] wurde unter ETZ-Therapie eine Zunahme der Lipogeneserate in Hepatozyten bei insgesamt signifikant reduziertem hepatischem Triglyzeridgehalt beobachtet. Diese Zunahme der Lipogenese könnte zur Steigerung des Lebergewichts gegenüber den Paarfütterungstieren beitragen.

4.1.3 Beobachtungen bei db/db Mäusen

Die homozygote *db/db* Maus gilt entsprechend der *fa/fa* Zuckerratte als etabliertes Tiermodell in der Adipositasforschung. Molekulargenetisch handelt es sich um eine autosomal rezessive Mutation auf Chromosom 4, die durch einen Leptin-Rezeptormangel zu einer Leptinresistenz führt. Analog zur *fa/fa* Zuckerratte entwickeln sich Adipositas (ab dem Alter von 4 Wochen) bei Hyperphagie und metabolischen Veränderungen im Sinne eines metabolischen Syndroms [284], wobei hier die diabetische Stoffwechsellage im Vordergrund steht. Ab dem Alter von 2 Wochen ist eine Hyperinsulinämie nachweisbar, Hyperglykämie wird ab dem Alter von 4 Wochen dokumentiert. Bis zum Alter von 4-5 Monaten zeigt sich in Folge einer

stetig steigenden Futteraufnahme eine kontinuierliche Gewichtszunahme. Parallel dazu steigt die Wasseraufnahme in Folge der zunehmenden Hyperglykämie [285]. Auf Grund einer Degeneration der pankreatischen β -Zellen mit sinkendem Insulinspiegel und Futteraufnahme setzt im Alter von 5-6 Monaten eine stete Gewichtsabnahme ein [286]. Mit zunehmendem Alter entwickeln sich Nephro-, Hepato- und Kardiomyopathie. Die mittlere Lebensdauer beträgt 10 Monate. Als Todesursache werden vor allem Nieren- und Leberversagen genannt [287].

Placebobehandlung

Die placebobehandelten *db/db* Mäuse zeigten in V2 eine stetige Wachstumskurve mit Erreichen eines Plateaus nach 2 Wochen (im Alter von 13 Wochen). Diese frühe Gewichtsstagnation spiegelt die ausgeprägte Belastung der Tiere durch das Versuchsdesign wider. In V3 setzte sich die bereits während des Vorversuchs seit Beginn der Placebo-Schlünderung beobachtete kontinuierliche Gewichtsabnahme unverändert fort. Die Futteraufnahme entsprach in beiden Versuchsreihen unter optimaler Futterzufuhr im Mittel mit ca. 50 g/Woche den Angaben von Sharma et al. [284] (ca. 40g/Woche). Die Wasseraufnahme war mit durchschnittlich 200 ml/Woche gegenüber den Literaturangaben verdoppelt [285].

Topiramat- und ETZ-Therapie

Akute Effekte

Topiramat bewirkte bei *db/db* Mäusen unterschiedlichen Alters einen akuten Gewichtseinbruch bei signifikanter Reduktion der Futteraufnahme und stabiler bis reduzierter Wasseraufnahme – die Ausprägung entsprach den Veränderungen in den Paarfütterungsgruppen. Unter ETZ zeigte sich ein vergleichbarer Gewichtsverlust bei stärkerer Einschränkung der Futter- und Wasseraufnahme.

Chronische Effekte

In V2 wurde unter Topiramat bei signifikant höherer Futter- und Wasseraufnahme als in der Kontrollgruppe bis zum Ende der dritten Behandlungswoche keine Netto-Gewichtszunahme verzeichnet. Bei den 15 Wochen alten Tieren war unter Topiramat eine kontinuierliche Gewichtsabnahme bei vergleichbarer Futter- und signifikant höherer Wasseraufnahme im Haupt- als im Vorversuch zu beobachten. In V3 resultierte unter Topiramat bei vergleichbarer kumulativer Futter- und Trinkmenge ein signifikant höherer Gewichtsverlust als in der Kontroll- und Paarfütterungsgruppe. Die ETZ-Behandlung führte zu einem etwas geringeren Gewichtsverlust als die Topiramat-Therapie, obwohl in der ersten Behandlungswoche die Futter- und Wasseraufnahme deutlich eingeschränkt waren. Bei den Topiramat-behandelten *db/db* Mäusen gelang wie bei den *fa/fa* Zuckerratten eine Einteilung in Responder und Non-Responder-Tiere entsprechend der Futterverwertung, so dass auch hier davon ausgegangen

werden kann, dass metabolische Effekte von Topiramaten bei der Verringerung der Wachstumsgeschwindigkeit bzw. bei dem erhöhten Gewichtsverlust eine Rolle spielen.

Organe

Bei den Tieren aller Gruppen zeigte sich makroskopisch eine Fettleber ohne Größenunterschied zwischen den Kontroll- und Topiramat-Tieren nach 2- bzw. 4-wöchiger Therapie. Bei den Paarfütterungstieren war die Hepatomegalie eventuell auf Grund des Diät-effektes weniger stark ausgebildet. Nach siebentägiger Topiramat-Therapie wurde bei den 16 Wochen alten Tieren eine signifikant weniger ausgeprägte Hepatomegalie beobachtet. Bei den behandelten Tieren bestand eine Nephromegalie, vereinbar mit der diuretischen Wirkung von Topiramaten. Bei den Tieren der ETZ-Gruppe war keine Organentnahme erfolgt.

4.2 Topiramaten

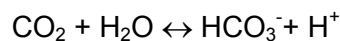
Unter Therapie mit dem Antikonvulsivum Topiramaten wurde in einer Vielzahl von klinischen Prüfungen bei einer signifikanten Patientenzahl als Nebenwirkung ein relevanter Gewichtsverlust im Rahmen von 4% innerhalb von 3 Monaten und 7% innerhalb eines Jahres beobachtet [288]. Inzwischen liegen zudem die Daten von randomisierten, kontrollierten, doppelblinden klinischen Studien vor, die diesen gewichtsreduzierenden Effekt von Topiramaten bestätigen [289-293]. Trotz intensiver Forschung seit Verifizierung des gewichtsreduzierenden Potenzials von Topiramaten ist der zugrunde liegende biochemische und pharmakologische Wirkmechanismus bis dato nicht abschließend geklärt.

Der gewichtsreduzierende Effekt von Topiramaten konnte in tierexperimentellen Modellen unabhängig von der Art der Nahrung (kohlenhydrat- oder fettreich) nachgewiesen werden [175,234,236,237]. Eine schlechtere Futtermittelverwertung als Ursache der mangelnden Gewichtszunahme unter Topiramaten-Therapie konnte durch Fäcesanalysen ausgeschlossen werden [235].

Tierexperimentelle Untersuchungen an Labornagern weisen auf eine Veränderung des Energiehaushaltes als Ursache für die Gewichtsabnahme hin. Bei Picard et al. [234] zeigten schlanke Zuckerratten unter Topiramaten-Therapie bei unveränderter Nahrungsaufnahme eine Gewichtsabnahme auf Grund eines gesteigerten Energieverbrauchs. Der Energieverbrauch adipöser Zuckerratten hielt sich trotz verminderter Futteraufnahme konstant, es erfolgte keine kompensatorische Reduktion des Energieverbrauchs. Allein die auf längere Sicht allenfalls mäßige anorektische Wirkung von Topiramaten erklärt also nicht die Gewichtsabnahme bzw. das verlangsamte Wachstum in unseren Versuchsreihen. Es wird auf Basis der Ergebnisse von Richard et al. [235,236] und York et al. [237] davon ausgegangen, dass einerseits über eine Stimulation der Lipoproteinlipase (LPL) im Skelettmuskel und im plurivakuolären Fettgewebe die Thermogenese und damit über eine Steigerung der β -Oxidation von Fettsäu-

ren der Energieverbrauch erhöht wird [294]. Es besteht außerdem eine positive Korrelation der LPL-Aktivität mit der Effizienz der β -Oxidation im Muskelgewebe [295]. Andererseits ist bei verminderter Masse an weißem Fettgewebe bei den behandelten Tieren in den Studien von Richard et al. [235,236] und York et al. [237] von einer Hemmung der LPL in diesem Gewebe auszugehen. Diese Mechanismen würden der Entwicklung einer Adipositas protektiv entgegenwirken. Um die LPL-Theorie zu untermauern, sind in dieser Richtung noch weitere Untersuchungen erforderlich. Die erhöhte Zirkulation von Triglyzeriden bzw. der erhöhte Triglyzeridgehalt im Muskel unter Topiramat-Therapie in unseren Versuchsreihen könnte eine erhöhte Bereitstellung von Metaboliten zur β -Oxidation in Muskel und braunem Fettgewebe widerspiegeln. Der geringe Radioaktivitätsgehalt der frei zirkulierenden Triglyzeride würde dann für ein Freisetzen von Speichertriglyzeriden aus dem weißen Fettgewebe sprechen, der mit dem Verlust an weißer Fettmasse korrelieren könnte. Um das Ausmaß der Verringerung von Hypertrophie und -plasie des weißen Fettgewebes unter Topiramat-Therapie objektiv zu beurteilen, sollte in weiteren Versuchen die Körperzusammensetzung mit Bestimmung der Fettmasse analysiert werden.

Im Weiteren könnte die beobachtete Gewichtsreduktion durch Topiramat auf der Carboanhydrasehemmung beruhen. Die Carboanhydrase (CA) ist ein ubiquitäres zinkhaltiges Enzym, das die reversible Hydratation von Kohlendioxid katalysiert:



Diese Reaktion dient essentiellen physiologischen Austauschprozessen von Anionen in Niere, Lunge, Magen, Bauchspeicheldrüse und im Ziliarkörper des Auges. Es sind mindestens 16 Subtypen bekannt, deren Hemmung oder Aktivierung Angriffspunkte für medikamentöse Behandlungsmöglichkeiten beim Menschen darstellen. Zur Zeit finden Carboanhydraseinhibitoren Anwendung in der Therapie von Glaukom, Epilepsie und Tumoren [296].

Die Subtypen I, II, III und IV befinden sich im Cytosol, der Subtyp V im Mitochondrium (Tabelle 4-1). Die Subtypen II, III und V werden unter anderem in den Adipozyten exprimiert [283,297-299].

Bereits Bray et al. [300] wiesen der Carboanhydrase eine wichtige Rolle im Stoffwechsel der Adipozyten und in der *de novo* Lipogenese zu. Dies wurde von Lynch et al. [299] durch Einsatz von Carboanhydraseinhibitoren, welche die Lipogenese in Adipozyten und Hepatozyten verminderten, bestätigt. Hebebrand et al. [301] und Innocenti et al. [302] gehen davon aus, dass dieser Mechanismus auf einer Hemmung der CA-II und V beruht. Im Rahmen der Fettsäuresynthese stellt die mitochondriale CA-V in größerem Maße Bikarbonat als Substrat für die Pyruvat-Carboxylase zur Verfügung, die cytosolische CA-II Bikarbonat als Substrat für die Acetyl-CoA-Carboxylase [303]. Eine verringerte Bereitstellung von Bikarbonat durch Hemmung der CA vermindert die Fettsäuresynthese durch geringere Konzentration an

Citrat und weiteren Zwischenprodukten [241,283,302,303] (Abbildung 4-1). Diese Überlegungen legen den Schluss nahe, dass der gewichtsreduzierende Effekt bzw. die Reduktion von weißem Fettgewebe in anderen Versuchsreihen [235-237] auch auf der nachgewiesenen Hemmung der CA-II und V durch Topiramat beruhen könnten [190-192,304]. In unseren Versuchsreihen zeigte sich entsprechend dieser Hypothese eine verminderte Lipogeneserate im weißen Fettgewebe bei allerdings unveränderter Lipogeneserate in der Leber. Auf Grund der komplexen Stoffwechsellage bei adipösen Zuckerratten und den vielfältigen vermuteten metabolischen Wirkmechanismen von Topiramat sollten weitere Studien zum Einfluss auf die *de novo* Lipogenese zunächst *in vitro* und an metabolisch weniger beeinträchtigten Tiermodellen (z.B. Wistarratten) durchgeführt werden. Anschließend sollten Untersuchungen an ausgewachsenen *fa/fa* Zuckerratten folgen, um Interferenzen durch physiologische Veränderungen im Rahmen von Wachstum zu vermeiden bzw. ein steady-state der metabolischen Abläufe zu gewährleisten.

Tabelle 4-1: Überblick über die Carboanhydrase-Isoenzyme und ihre subzelluläre Lokalisation; CA=Carboanhydrase; CARP=Carbonic anhydrase related protein; * Expression unter anderem im Adipozyten

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

Durch negativen Einfluss auf den Geschmackssinn könnte die Hemmung der Carboanhydrase zu einem Appetitverlust führen, der zusätzlich gewichtsreduzierend wirkt [239,305]. Dies könnte die akute anorektische Wirkung am Therapiebeginn erklären.

Die diuretische Wirkung von Topiramat, die sich in unseren Versuchen deutlich zeigte, ist zum Großteil wohl auch auf die Hemmung der Carboanhydrase zurückzuführen [190,306]. Der spezifische Anteil dieses Effektes an der Gewichtsreduktion muss Gegenstand weiterer Untersuchungen inklusive der vergleichenden Bestimmung von Gesamtkörperwasser sein.

ETZ als potenterer CA-Inhibitor besitzt vermutlich einen stärkeren Einfluss auf die Lipogenese in Adipozyten und auf den Geschmackssinn, sowie eine höhere diuretische Wirkung. Dies könnte den im Vergleich zu Topiramat höheren akuten und gesamten Gewichtsverlust in unseren Studien erklären. Die zu den *in vitro* Daten aus der Literatur widersprüchlichen Ergebnisse zur hepatischen *de novo* Lipogeneserate unter ETZ-Therapie müssen Gegenstand weiterer Analysen sein [240]. Auch hier gilt zu berücksichtigen, dass es sich bei der Stoffwechsellage der *fa/fa* Zuckerratte um eine sehr komplexes metabolisches Modell handelt.

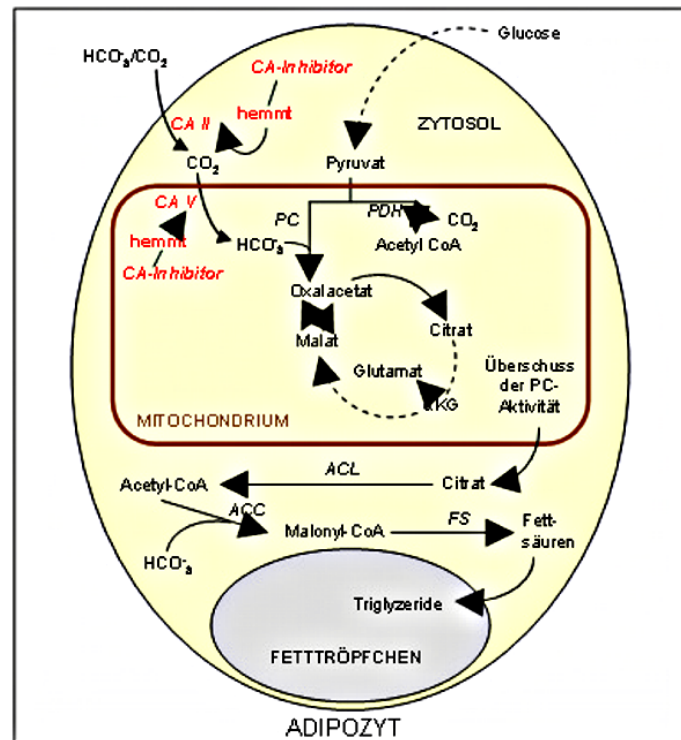


Abbildung 4-1: Mögliche Rolle von Carboanhydrasehemmern in der de novo Lipogenese (modifiziert nach [283]). FS=Fettsäuresynthetase; ACC=Acetyl-CoA-Carboxylase; ACL=ATP Citrat-Lyase, PC=Pyruvat-Carboxylase; PDH=Pyruvat-Dehydrogenase; CA=Carboanhydrase.

Daneben wurde - wie in unseren Versuchsreihen - für Topiramate in tierexperimentellen und klinischen Studien wiederholt eine insulinsensibilisierende Wirkung im Sinne einer verbesserten Glucosetoleranz nachgewiesen [234,236,237,280-282]. Diese antidiabetischen Effekte werden als unabhängig von Gewichtsverlust und Futteraufnahme beschrieben [307,308]. Als möglicher Erklärungsansatz gilt ein anhaltender Effekt von Topiramate auf die Regulation des Adiponectinstoffwechsels. Adiponectin, ein adipozytenspezifisches Serumprotein, zeigt einen insulinsensibilisierenden Effekt in Skelettmuskel, Fett und Leber über eine Stimulation der Aktivierung von transmembranären Glucosetransportern [309,310]. Bei adipösen Patienten mit gestörter Glucosetoleranz sind regelmäßig erniedrigte Adiponectinspiegel nachweisbar [311]. Wilkes et al. [312] und Gustafson et al. [313] wiesen nach, dass Topiramate sowohl die mRNA-Expression des Adiponectin-Rezeptors als auch eine Erhöhung des Adiponectinspiegels im Plasma induziert. Diese Mechanismen wirken bei adipösen Zuckerratten den Auswirkungen der Leptinresistenz entgegen und bewirken eine Verbesserung der Stoffwechsellage [307]. Dieser Wirkmechanismus stellt einen weiteren Schwerpunkt zukünftiger Analysen dar, insbesondere auf Grund des protektiven Charakters in Hinblick auf die Adipositas-assoziierten Risikofaktoren. Lynch et al. [297] konnten z.B. durch Verbesserung der Insulinsensitivität eine Zunahme der Expression und Aktivität der CA-III in Hepato- und Adipozyten bei homozygoten Zuckerratten dokumentieren, wodurch wiederum der Fettstoffwechsel positiv beeinflusst wird. Daneben weisen Untersuchungen von Sener et al. [316] daraufhin, dass durch Inhibition der Carboanhydrase V in pankreatischen β -Zellen die Insulinsekretion *in*

in vitro reduziert werden kann. Dieser Mechanismus könnte auch unter Topiramatherapie eine Rolle spielen und den beobachteten antidiabetischen Effekt von ETZ erklären.

Inwieweit Topiramat zudem auf hypothalamischer Ebene (Neuropeptid Y, Ghrelin) direkt und indirekt Stoffwechselfvorgänge und die Energieregulation beeinflusst, ist bislang nicht ausreichend geklärt [175].

Als weiterer Erklärungsansatz für die gewichtsreduzierende bzw. anorektische Wirkung von Topiramat könnte die Modulation am GABA_A und Glutamat AMPA/Kainat-Rezeptor sowie die Modulation der präsynaptischen Neurotransmitterfreisetzung dienen [175,182-185,188,189,314,315].

Im Gegensatz dazu stehen andere molekulare Wirkungsmechanismen von Topiramat, die zustandsabhängige Blockade spannungsabhängiger Natriumkanäle [176-180], der blockierende Effekt an Calcium-Kanälen vom N-, L- und zum Teil T-Typ [181] und die Modulation der Leitfähigkeit von Kalium-Kanälen [186,187], wahrscheinlich nicht mit den Wirkungen auf Gewicht und Futteraufnahme in Zusammenhang. Diese Effekte werden bislang ausschliesslich mit der antiepileptischen Wirkung von Topiramat assoziiert.

4.3 Limitationen dieser Arbeit

Die Ergebnisse tierexperimenteller Medikamentenstudien sind auf Grund der komplexen Situation eines lebenden Organismus mit seinen verschiedenen Stoffwechselfvorgängen und Mediatoren, welche die Wirkungsweise einer Testsubstanz beeinflussen können, schwer zu interpretieren. In dieser Arbeit kam erschwerend die komplexe altersabhängige metabolische Symptomatik der verwendeten Tierstämme hinzu. Daneben muss ein Einfluss der verwendeten Tiernahrung auf die Versuchsergebnisse diskutiert werden. In unseren Versuchsreihen wurde ein kohlenhydratreiches Futter verwendet, welches gegebenenfalls durch z.B. eine fettreiche Ernährung ausgetauscht werden sollte. Daneben ist eine Beeinträchtigung der Ergebnisse durch die vorgegebenen Haltungs- und Versuchsbedingungen, wie z.B. der Stress durch die unphysiologische Einzelhaltung und das täglich zweimalige Schlündern, sicherlich nicht zu vernachlässigen. Die Ergebnisse dieser Arbeit zur *de novo* Lipogenese mittels Radioaktivitätsbestimmung im Triglyzeridanteil der Gewebe dürfen zunächst nur als Orientierungswerte eingeordnet werden. Es sind systematische Fehler auf Grund der fehlenden Berücksichtigung von Gesamt-Plasmawasseraktivität, Wasseranteil in den Geweben und Anteil von freien Fettsäuren in der Ethylacetatphase möglich. In Folgeuntersuchungen sollten diese Punkte Beachtung finden, um die Ergebnissen mit denen anderer Studiengruppen besser vergleichbar zu machen.

4.4 Ausblick – Topiramat als Antiadiposikum

Auf Grund der stetigen Zunahme der Adipositas in allen Teilen der Welt und den damit verbundenen ökonomischen Konsequenzen, kommt der Entwicklung neuer Antiadiposita eine wachsende Bedeutung zu [15,31]. Für die erfolgreiche Langzeitanwendung und Vermarktung eines neuen Antiadipositums sind mehrere Faktoren relevant. Im Vordergrund stehen hierbei die Wirksamkeit und das Nutzen-Risiko-Kosten-Profil. Für Topiramat spricht die gute Wirksamkeit, dokumentiert durch die in klinischen Studien erreichten Gewichtsverluste innerhalb von 6 Monaten [289-293]. Daneben macht der positive – von der Gewichtsreduktion unabhängige - Einfluss auf Komponenten des metabolischen Syndroms Topiramat als Antiadiposikum attraktiv [234,236,237,280-282,297,307,312,313]. Aufgrund verschiedener Wirkmechanismen auf Stoffwechselebene, die sich z.T. positiv verstärken, ist von einem zusätzlichen protektiven Effekt hinsichtlich adipositas-assoziiierter Erkrankungen auszugehen. Dies könnte zu einer besseren Senkung der adipositas-assoziierten Sterblichkeitsrate als durch andere Antiadiposita führen bzw. eine Kombinationstherapie, z.B. mit Antidiabetika, überflüssig machen. Gegen einen breiten Einsatz von Topiramat als Antiadiposikum zum jetzigen Zeitpunkt sprechen die fehlenden Langzeitbeobachtungen in diesem Einsatzgebiet. Das aus dem Einsatz als Antikonvulsivum bekannte Nebenwirkungsprofil ist tolerierbar [196,198,220], aber insbesondere in Hinblick auf die neurologisch-psychiatrischen Nebenwirkungen ist eine Therapie mit Topiramat nur unter strenger Indikationsstellung akzeptabel [175,221]. Es wäre deshalb erstrebenswert ein Topiramat-Derivat zu entwickeln, das bei maximaler gewichtsreduzierender und metabolischer Potenz keine unerwünschte neurologisch-psychiatrische Wirkung zeigt. Im Rahmen dieser Weiterentwicklung ist der finanzielle Aufwand zu berücksichtigen, da in der individuellen Gesamtabwägung vor klinischem Einsatz eines Antiadipositums immer auch der Kostenfaktor eine große Rolle spielt.

An die vorliegende Arbeit sollten weiterführende tierexperimentelle Studien angeschlossen werden, um genauere Erkenntnisse über das metabolische Wirkungsprofil von Topiramat zu erhalten. Variablen für zukünftige Versuche sollten Tierstamm, Alter der Tiere, Geschlecht der Tiere und Futtersorten sein. Daneben sollten die optimale Dosierung und die Dauer der Anwendung Gegenstand weiterer Studien sein. Zusätzlich zu den bereits in dieser Arbeit durchgeführten laborchemischen Analysen sollten weitere Untersuchungen des Insulin-Glucose- (Insulinsensitivität, HbA_{1c}, Adiponectin), Fett- (LPL, Lipoproteine, Cholesterin, freie Fettsäuren) und Proteinstoffwechsels sowie der neurohumeralen Ebene (Neuropeptid Y, Ghrelin) erfolgen. Außerdem sollten Analysen der Tierkörper mit Bestimmung von Körperwasser, Fett- und Proteingehalt durchgeführt werden. Letztlich sollten Vergleichs- oder Kombinationsstudien mit anderen Antiadiposita folgen.

5 Zusammenfassung

Die weltweite stetige Zunahme von Übergewicht und Adipositas und der damit verbundenen Morbiditäts- und Mortalitätsraten stellt eine der größten Herausforderungen des Gesundheitswesens unserer Zeit dar.

Neben präventiven Ansätzen zur Vermeidung von Übergewicht und Adipositas, steht die Entwicklung effektiver therapeutischer Ansätze im Fokus der Forschungsarbeit. Da konventionelle Therapien (Ernährungs- und Bewegungstherapie) häufig alleine nicht den gewünschten Erfolg erzielen, gewinnt die Pharmakotherapie zunehmend an Bedeutung.

Neben den drei in Deutschland zum aktuellen Zeitpunkt zugelassenen Antiadiposita (Sibutramin, Orlistat, Rimonabant), bietet das Antikonvulsivum und Migräneprophylaktikum Topiramat nach ersten tierexperimentellen und klinischen Studien interessante Perspektiven. Pharmakodynamisch wird hierbei neben einer Beeinflussung der Aktivität der Lipoproteinlipase und des Adiponectinstoffwechsels vor allem von einer Hemmung der *de novo* Lipogenese durch eine Inhibition der Carboanhydrase, insbesondere der Isoformen II und V, ausgegangen.

Es gelang im Rahmen dieser Dissertation ein Studiendesign zu erarbeiten, in dem eine Erhebung von verlässlichen Daten zum Einfluss von Topiramat auf die Zielparameter Körpergewicht sowie Futter- und Wasseraufnahme möglich ist. Daneben wurden analytische Methoden zur Erfassung Topiramat-induzierter metabolischer Veränderungen etabliert.

Es wurden jeweils 2 Versuchsreihen mit *fa/fa* Zuckerratten und *db/db* Mäusen im Paarfütterungsdesign mit kohlenhydratreichem Futter durchgeführt. In allen 4 Versuchen erhielten die Tiere per Schlundsonde Topiramat in einer Tagesdosis von 100 mg/kg KG, verteilt auf zwei Einzeldosen am Morgen (ein Drittel) und am Abend (zwei Drittel). Als Vergleichssubstanz diente in 2 von 4 Versuchen der Carboanhydraseinhibitor Ethoxylamid (75 mg/kg KG täglich), ebenfalls in zwei entsprechenden Einzeldosen. Die Tiere der Kontroll- und der Paarfütterungsgruppen erhielten zweimal täglich Placebo.

In den Studien mit *fa/fa* Zuckerratten zeigte Topiramat einen ausgeprägten akuten anorektischen Effekt, der initial zu einer deutlichen Gewichtsabnahme führte. Im Verlauf zeigt sich ein langsames Wachstum als in den Placebogruppen, obwohl sich der anorektische Effekt verlor. Dies lässt auf Wirkmechanismen schließen, die das Energiegleichgewicht der Tiere auf metabolischer Ebene beeinflussen.

Die *db/db* Maus erwies sich insgesamt als wenig geeignetes Tiermodell für das zu etablierende Studiendesign. Trotz grosser Inkonsistenzen liess sich aber auch hier eine geringere Gesamtzunahme bzw. eine stärkere Gewichtsabnahme unter gleicher oder

höherer Futterzufuhr im Vergleich zu den Placebotieren nachweisen. Im Rahmen der Studien mit *db/db* Mäusen erfolgten keine laborchemischen Analysen.

Erste Hinweise auf eine veränderte Stoffwechsellage bei den *fa/fa* Zuckerratten lieferte der geringere Ausprägungsgrad der Hepatomegalie unter Topiramat-Therapie. Daneben konnte der bereits beschriebene antidiabtsche Effekt von Topiramat beobachtet werden. Der in anderen Studien dokumentierte positive Einfluss von Topiramat auf die Hypertriglyzeridämie im Rahmen des metabolischen Syndroms wurde in unseren Versuchen dagegen nicht gesehen. Wir postulieren hier eine vermehrte Freisetzung von Speichertriglyzeriden aus dem weißen Fettgewebe. Die Triglyzeride dienen als Substrate für die unter Topiramat-Therapie nachweislich durch Stimulation der Lipoproteinlipase gesteigerte β -Oxidation im Muskel und braunem Fettgewebe. Erstmals führten wir daneben Untersuchungen zum Einfluss von Topiramat auf die Lipogeneserate in unterschiedlichen Geweben durch. Hierbei zeigten wir eine Verminderung der Lipogeneserate im weißen Fettgewebe unter Topiramat-Therapie. Dieser Befund lässt der Carboanhydrasehemmung durch Topiramat tatsächlich eine zentrale Bedeutung für die gewichtsreduzierende Wirkungen zukommen und gibt Anlass zur Erforschung weiterer Hemmstoffe, die nach Möglichkeit eine höhere Spezifität für das Fettgewebe aufweisen sollten.

Da unter Ethoxazolamid-Therapie ähnliche Veränderungen, zum Teil in stärkerer Ausprägung, beobachtet wurden, konnte durch Mitführen dieses potenten Carboanhydraseinhibitors bei *fa/fa* Zuckerratten die Schlüsselrolle der Carboanhydraseinhibition im Rahmen des gewichtsreduzierenden Effektes von Topiramat zusätzlich betont werden.

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. Kromeyer-Hauschild K Wabitsch M Geller F, et al. (2001) Perzentile für den Body Mass Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatschr Kinderheilkunde* 149, 807-818.
4. Poskitt E (1995) Defining childhood obesity: the relative body mass index (BMI). *Acta Paediatr* 84, 961-963.
5. Wabitsch M Kunze D (2006) Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Adipositas im Kindes- und Jugendalter. Deutsche Adipositas Gesellschaft; www.a-g-a.de/Leitlinie.pdf.
6. Benecke A Vogel H (2006) Übergewicht und Adipositas. Gesundheitsberichterstattung des Bundes Themenheft 16; www.gbe-bund.de.
7. Lean ME Han TS Morrison CE (1995) Waist circumference as a measure for indicating need for weight management. *BMJ* 311, 158-61.
8. Haslam DW James WP (2005) Obesity. *Lancet* 366, 1197-209.
9. Janssen I Katzmarzyk PT Ross R (2004) Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk. *Am J Clin Nutr* 79, 379-84.
10. Després JP (2001) Health consequences of visceral obesity. *Ann Med* 33, 534-41.
11. Simpson JA MacInnis RJ Peeters A, et al. (2007) A comparison of adiposity measures as predictors of all-cause mortality: the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Obesity* 15, 994-1003.
12. Dalton M Cameron AJ Zimmet PZ, 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.
13. Hauner H Buchholz G Hamann A (2007) Prävention und Therapie der Adipositas. Evidenzbasierte Leitlinie der Deutschen Adipositas Gesellschaft; www.uni-duesseldorf.de/awmf/II/050-001.pdf.
14. Wang Y Lobstein T (2006) Worldwide trends in childhood overweight and obesity. *Int J Pediatr Obes* 1, 11-25.
15. WHO (2005) WHO global comparable estimates. WHO Global Infobase; www.who.int/ncd_surveillance/infobase/web/InfoBaseCommon.
16. Balkau B Deanfield JE Després JP, et al. (2007) International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity (IDEA): a study of waist circumference, cardiovascular disease, and diabetes mellitus in 168,000 primary care patients in 63 countries. *Circulation* 116, 1942-51.
17. Ogden CL Carroll MD Curtin LR, et al. (2006) Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA* 295, 1549-55.
18. Wang Y Beydoun MA (2007) The obesity epidemic in the United States - gender, age, socioeconomic, racial/ethnic, and geographic characteristics: a systematic review and meta-regression analysis. *Epidemiol Rev* 29, 6-28.
19. York DA Rossner S Caterson I, 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.
20. WHO (2005) Adipositas: Eine Herausforderung für die Europäische Region der WHO. Faktenblatt Euro/13/05; www.euro.who.int/document/mediacentre/fs1305g.pdf.
21. Mensink GBM Lampert T Bergmann E (2005) Übergewicht und Adipositas in Deutschland 1984-2003. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 48, 1348.

22. Bergmann KE Mensink GBM (1999) Körpermaße und Übergewicht. Gesundheitswesen 61; Sonderheft 2, S115-120.
23. Ogden CL Carroll MD Flegal KM (2008) High body mass index for age among US children and adolescents, 2003-2006. JAMA 299, 2401-5.
24. Baker S Barlow S Cochran W, et al. (2005) Overweight children and adolescents: a clinical report of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr 40, 533-43.
25. Kurth BM Schaffrath Rosario A (2007) Die Verbreitung von Übergewicht und Adipositas bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland - Ergebnisse des bundesweiten Kinder- und Jugendgesundheits surveys (KiGGS). Ernährung 1, 213 - 219.
26. Lobstein T Rigby N Leach R (2005) EU Platform on Diet, Physical Activity and Health. International Obesity Task Force EU Platform Briefing Paper; www.who.int/dietphysicalactivity/euobesity3.pdf.
27. Parsons TJ Power C Logan S Summerbell CD (1999) Childhood predictors of adult obesity: a systematic review. Int J Obes Relat Metab Disord 23 Suppl 8, S1-107.
28. Guo SS Roche AF Chumlea WC Gardner JD Siervogel RM (1994) The predictive value of childhood body mass index values for overweight at age 35 y. Am J Clin Nutr 59, 810-9.
29. James WPT Jackson-Leach R Mhurchu C, et al. (2004) Overweight and obesity (high body mass index); in: Comparative Quantification of Health Risks. Global and Regional Burden of Disease Attributable to Selected Major Risk Factors, Ezzati M Lopez AD Rodgers A Murray CJL, eds., WHO, Geneva.
30. Thompson D Brown JB Nichols GA Elmer PJ Oster G (2001) Body mass index and future health-care costs: a retrospective cohort study. Obes Res 9, 210-8.
31. Suhrcke M Stuckler D Leeder S, et al. (2005) Economic consequences of chronic diseases and the economic rationale for public and private intervention. Oxford Health Alliance Working Group; www.oxha.org/knowledge/publications/05-meeting_documentation/economics_of_chronic_disease_26oct.pdf.
32. Keesey RE Hirvonen MD (1997) Body weight set-points: determination and adjustment. J Nutr 127, 1875S-1883S.
33. Rankinen T Bouchard C (2006) Genetics of food intake and eating behavior phenotypes in humans. Annu Rev Nutr 26, 413-34.
34. Stunkard AJ Sorensen TI Hanis C, et al. (1986) An adoption study of human obesity. N Engl J Med 314, 193-8.
35. Montague CT Farooqi IS Whitehead JP, et al. (1997) Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. Nature 387, 903-8.
36. Loos RJ Bouchard C (2003) Obesity - is it a genetic disorder? J Intern Med 254, 401-25.
37. Rankinen T Zuberi A Chagnon YC, et al. (2006) The human obesity gene map: the 2005 update. Obesity 14, 529-644.
38. Mutch DM Clement K (2006) Genetics of human obesity. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 20, 647-64.
39. Dina C (2008) New insights into the genetics of body weight. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 11, 378-84.
40. Dhurandhar NV (2004) Contribution of pathogens in human obesity. Drug News Perspect 17, 307-13.
41. So PW Herlihy AH Bell JD (2005) Adiposity induced by adenovirus 5 inoculation. Int J Obes 29, 603-6.
42. Whigham LD Israel BA Atkinson RL (2006) Adipogenic potential of multiple human adenoviruses in vivo and in vitro in animals. Am J Physiol 290, R190-4.

43. Kromhout D Bloemberg B Seidell JC Nissinen A 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.
44. Hu FB Li TY Colditz GA Willett WC Manson JE (2003) Television watching and other sedentary behaviors in relation to risk of obesity and type 2 diabetes mellitus in women. *JAMA* 289, 1785-91.
45. Dunstan DW Salmon J Owen N, et al. (2004) Physical activity and television viewing in relation to risk of undiagnosed abnormal glucose metabolism in adults. *Diabetes Care* 27, 2603-9.
46. Williamson DF Madans J Anda RF, et al. (1993) Recreational physical activity and ten-year weight change in a US national cohort. *Int J Obes Relat Metab Disord* 17, 279-86.
47. Kopelman PG (2000) Obesity as a medical problem. *Nature* 404, 635-43.
48. Fernstrom MH (1995) Drugs that cause weight gain. *Obes Res* 3 Suppl 4, 435S-439S.
49. Leslie WS Hankey CR Lean ME (2007) Weight gain as an adverse effect of some commonly prescribed drugs: a systematic review. *Qjm* 100, 395-404.
50. Torres SJ Nowson CA (2007) Relationship between stress, eating behavior, and obesity. *Nutrition* 23, 887-94.
51. Vorona RD Winn MP Babineau TW, et al. (2005) Overweight and obese patients in a primary care population report less sleep than patients with a normal body mass index. *Arch Intern Med* 165, 25-30.
52. Kleiser C Schaffrath Rosario A Mensink GBM Prinz-Langenohl R Kurth BM (2009) Potential determinants of obesity among children and adolescents in Germany: results from the cross-sectional KiGGS Study. *BMC Public Health* 9, 46.
53. Whitaker RC Wright JA Pepe MS Seidel KD Dietz WH (1997) Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N Engl J Med* 337, 869-73.
54. Hediger ML Overpeck MD Kuczmarski RJ Ruan WJ (2001) Association between infant breastfeeding and overweight in young children. *JAMA* 285, 2453-60.
55. Gillman MW Rifas-Shiman SL Camargo CA, et al. (2001) Risk of overweight among adolescents who were breastfed as infants. *JAMA* 285, 2461-7.
56. von Kries R Koletzko B Sauerwald T, et al. (1999) Breast feeding and obesity: cross sectional study. *BMJ* 319, 147-50.
57. Harder T Bergmann R Kallischnigg G Plagemann A (2005) Duration of breastfeeding and risk of overweight: a meta-analysis. *Am J Epidemiol* 162, 397-403.
58. Power C Jefferis BJ (2002) Fetal environment and subsequent obesity: a study of maternal smoking. *Int J Epidemiol* 31, 413-9.
59. Toschke AM Ehlin AG von Kries R Ekblom A Montgomery SM (2003) Maternal smoking during pregnancy and appetite control in offspring. *J Perinat Med* 31, 251-6.
60. Dabelea D Hanson RL Lindsay RS, et al. (2000) Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships. *Diabetes* 49, 2208-11.
61. Lakka HM Laaksonen DE Lakka TA, et al. (2002) The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 288, 2709-16.
62. Sattar N Gaw A Scherbakova O, et al. (2003) Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation* 108, 414-9.
63. Grundy SM Cleeman JI Daniels SR, et al. (2005) Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 112, 2735-52.
64. Batsis JA Nieto-Martinez RE Lopez-Jimenez F (2007) Metabolic syndrome: from global epidemiology to individualized medicine. *Clin Pharmacol Ther* 82, 509-24.

65. Moebus S Hanisch JU Aidelsburger P, et al. (2007) Impact of 4 different definitions used for the assessment of the prevalence of the Metabolic Syndrome in primary healthcare: The German Metabolic and Cardiovascular Risk Project (GEMCAS). *Cardiovasc Diabetol* 6, 22.
66. Weiss R Dziura J Burgert TS, et al. (2004) Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med* 350, 2362-74.
67. Celik T Iyisoy A Yuksel UC (2008) Pediatric metabolic syndrome: A growing threat. *Int J Cardiol* doi:10.1016/j.ijcard.2008.11.143.
68. Cook S Weitzman M Auinger P Nguyen M Dietz WH (2003) Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Pediatr Adolesc Med* 157, 821-7.
69. Lobstein T Jackson-Leach R (2006) Estimated burden of paediatric obesity and co-morbidities in Europe. Part 2. Numbers of children with indicators of obesity-related disease. *Int J Pediatr Obes* 1, 33-41.
70. Assmann G Schulte H Cullen P (1997) New and classical risk factors - the Munster heart study (PROCAM). *Eur J Med Res* 2, 237-42.
71. Kuczmarski RJ Flegal KM Campbell SM Johnson CL (1994) Increasing prevalence of overweight among US adults. The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1960 to 1991. *JAMA* 272, 205-11.
72. Wilson PW D'Agostino RB Sullivan L Parise H Kannel WB (2002) Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. *Arch Intern Med* 162, 1867-72.
73. Willett WC Manson JE Stampfer MJ, et al. (1995) Weight, weight change, and coronary heart disease in women. Risk within the "normal" weight range. *JAMA* 273, 461-5.
74. Rexrode KM Buring JE Manson JE (2001) Abdominal and total adiposity and risk of coronary heart disease in men. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25, 1047-56.
75. Kenchaiah S Evans JC Levy D, et al. (2002) Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med* 347, 305-13.
76. Wang TJ Parise H Levy D, et al. (2004) Obesity and the risk of new-onset atrial fibrillation. *JAMA* 292, 2471-7.
77. Frost L Hune LJ Vestergaard P (2005) Overweight and obesity as risk factors for atrial fibrillation or flutter: the Danish Diet, Cancer, and Health Study. *Am J Med* 118, 489-95.
78. Rexrode KM Hennekens CH Willett WC, et al. (1997) A prospective study of body mass index, weight change, and risk of stroke in women. *JAMA* 277, 1539-45.
79. Kurth T Gaziano JM Berger K, et al. (2002) Body mass index and the risk of stroke in men. *Arch Intern Med* 162, 2557-62.
80. Anon (2000) Overweight, Obesity, and Health Risk. National Task Force on the prevention and treatment of obesity. *Arch Intern Med* 160, 898-904.
81. Holbrook TL Barrett-Connor E Wingard DL (1989) The association of lifetime weight and weight control patterns with diabetes among men and women in an adult community. *Int J Obes* 13, 723-9.
82. Wannamethee SG Shaper AG (1999) Weight change and duration of overweight and obesity in the incidence of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 22, 1266-72.
83. Colditz GA Willett WC Stampfer MJ, et al. (1990) Weight as a risk factor for clinical diabetes in women. *Am J Epidemiol* 132, 501-13.
84. Carey VJ Walters EE Colditz GA, et al. (1997) Body fat distribution and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. The Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol* 145, 614-9.
85. Chan JM Rimm EB Colditz GA Stampfer MJ Willett WC (1994) Obesity, fat distribution, and weight gain as risk factors for clinical diabetes in men. *Diabetes Care* 17, 961-9.

86. Koh-Banerjee P Wang Y Hu FB, et al. (2004) Changes in body weight and body fat distribution as risk factors for clinical diabetes in US men. *Am J Epidemiol* 159, 1150-9.
87. Renehan AG Roberts DL Dive C (2008) Obesity and cancer: pathophysiological and biological mechanisms. *Arch Physiol Biochem* 114, 71-83.
88. Renehan AG Tyson M Egger M Heller RF Zwahlen M (2008) Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet* 371, 569-78.
89. Calle EE Rodriguez C Walker-Thurmond K Thun MJ (2003) Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 348, 1625-38.
90. Anandacoomarasamy A Fransen M March L (2009) Obesity and the musculoskeletal system. *Curr Opin Rheumatol* 21, 71-7.
91. Hooper MM Stellato TA Hallowell PT Seitz BA Moskowitz RW (2007) Musculoskeletal findings in obese subjects before and after weight loss following bariatric surgery. *Int J Obes* 31, 114-20.
92. Gortmaker SL Must A Perrin JM Sobol AM Dietz WH (1993) Social and economic consequences of overweight in adolescence and young adulthood. *N Engl J Med* 329, 1008-12.
93. Dong C Sanchez LE Price RA (2004) Relationship of obesity to depression: a family-based study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28, 790-5.
94. Herva A Laitinen J Miettunen J, et al. (2006) Obesity and depression: results from the longitudinal Northern Finland 1966 Birth Cohort Study. *Int J Obes* 30, 520-7.
95. Bjerkeset O Romundstad P Evans J Gunnell D (2008) Association of adult body mass index and height with anxiety, depression, and suicide in the general population: the HUNT study. *Am J Epidemiol* 167, 193-202.
96. Zhao G Ford ES Dhingra S, et al. (2009) Depression and anxiety among US adults: associations with body mass index. *Int J Obes* 33, 257-66.
97. Peeters A Barendregt JJ Willekens F, et al. (2003) Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy: a life-table analysis. *Ann Intern Med* 138, 24-32.
98. Adams KF Schatzkin A Harris TB, et al. (2006) Overweight, obesity, and mortality in a large prospective cohort of persons 50 to 71 years old. *N Engl J Med* 355, 763-78.
99. Freedman DM Ron E Ballard-Barbash R Doody MM Linet MS (2006) Body mass index and all-cause mortality in a nationwide US cohort. *Int J Obes* 30, 822-9.
100. Bender R Jockel KH Richter B Spraul M Berger M (2002) Body weight, blood pressure, and mortality in a cohort of obese patients. *Am J Epidemiol* 156, 239-45.
101. Katzmarzyk PT Craig CL Bouchard C (2001) Original article underweight, overweight and obesity: relationships with mortality in the 13-year follow-up of the Canada Fitness Survey. *J Clin Epidemiol* 54, 916-20.
102. Calle EE Thun MJ Petrelli JM Rodriguez C Heath CW (1999) Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 341, 1097-105.
103. Werder O (2007) Battle of the bulge: an analysis of the obesity prevention campaigns in the United States and Germany. *Obes Rev* 8, 451-7.
104. Sharma M (2007) International school-based interventions for preventing obesity in children. *Obes Rev* 8, 155-67.
105. Sharma M (2007) Behavioural interventions for preventing and treating obesity in adults. *Obes Rev* 8, 441-9.
106. Plachta-Danielzik S Pust S Asbeck I, et al. (2007) Four-year follow-up of school-based intervention on overweight children: the KOPS study. *Obesity* 15, 3159-69.
107. NIH (2007) The practical guide. Identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults. NHLBI Obesity Education Initiative; www.nhlbi.nih.gov/guidelines/obesity/prctgd_c.pdf.
108. Yanovski SZ Yanovski JA (2002) Obesity. *N Engl J Med* 346, 591-602.

109. Stern JS Hirsch J Blair SN, et al. (1995) Weighing the options: criteria for evaluating weight-management programs. The Committee to Develop Criteria for Evaluating the Outcomes of Approaches to Prevent and Treat Obesity. *Obes Res* 3, 591-604.
110. Sjöström L (2008) Bariatric surgery and reduction in morbidity and mortality: experiences from the SOS study. *Int J Obes* 32 Suppl 7, S93-7.
111. Poobalan AS Aucott LS Smith WC, et al. (2007) Long-term weight loss effects on all cause mortality in overweight/obese populations. *Obes Rev* 8, 503-13.
112. Williamson DA Rejeski J Lang W, et al. (2009) Impact of a weight management program on health-related quality of life in overweight adults with type 2 diabetes. *Arch Intern Med* 169, 163-71.
113. Williamson DF Pamuk E Thun M, et al. (1995) Prospective study of intentional weight loss and mortality in never-smoking overweight US white women aged 40-64 years. *Am J Epidemiol* 141, 1128-41.
114. Anderson JW Konz EC (2001) Obesity and disease management: effects of weight loss on comorbid conditions. *Obes Res* 9 Suppl 4, 326S-334S.
115. Astrup A Grunwald GK Melanson EL Saris WH Hill JO (2000) The role of low-fat diets in body weight control: a meta-analysis of ad libitum dietary intervention studies. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24, 1545-52.
116. Toubro S Astrup A (1997) Randomised comparison of diets for maintaining obese subjects' weight after major weight loss: ad lib, low fat, high carbohydrate diet v fixed energy intake. *BMJ* 314, 29-34.
117. Anderson JW Konz EC Frederich RC Wood CL (2001) Long-term weight-loss maintenance: a meta-analysis of US studies. *Am J Clin Nutr* 74, 579-84.
118. NIH (1998) Clinical guidelines on the identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults - the evidence report. National Institutes of Health. *Obes Res* 6 Suppl 2, 51S-209S.
119. Wadden TA Foster GD Letizia KA (1994) One-year behavioral treatment of obesity: comparison of moderate and severe caloric restriction and the effects of weight maintenance therapy. *J Consult Clin Psychol* 62, 165-71.
120. Rytting KR Flaten H Rossner S (1997) Long-term effects of a very low calorie diet (Nutrilett) in obesity treatment. A prospective, randomized, comparison between VLCD and a hypocaloric diet+behavior modification and their combination. *Int J Obes Relat Metab Disord* 21, 574-9.
121. Tsai AG Wadden TA (2006) The evolution of very-low-calorie diets: an update and meta-analysis. *Obesity* 14, 1283-93.
122. Jakicic JM Marcus BH Gallagher KI Napolitano M Lang W (2003) Effect of exercise duration and intensity on weight loss in overweight, sedentary women: a randomized trial. *JAMA* 290, 1323-30.
123. Slentz CA Duscha BD Johnson JL, et al. (2004) Effects of the amount of exercise on body weight, body composition, and measures of central obesity: STRRIDE - a randomized controlled study. *Arch Intern Med* 164, 31-9.
124. Donnelly JE Hill JO Jacobsen DJ, et al. (2003) Effects of a 16-month randomized controlled exercise trial on body weight and composition in young, overweight men and women: the Midwest Exercise Trial. *Arch Intern Med* 163, 1343-50.
125. Andersen RE Wadden TA Bartlett SJ, et al. (1999) Effects of lifestyle activity vs structured aerobic exercise in obese women: a randomized trial. *JAMA* 281, 335-40.
126. Grundy SM Blackburn G Higgins M, et al. (1999) Physical activity in the prevention and treatment of obesity and its comorbidities. *Med Sci Sports Exerc* 31, S502-8.
127. Blair SN Kampert JB Kohl HW, et al. (1996) Influences of cardiorespiratory fitness and other precursors on cardiovascular disease and all-cause mortality in men and women. *JAMA* 276, 205-10.

128. Leon AS Connett J Jacobs DR, Jr. Rauramaa R (1987) Leisure-time physical activity levels and risk of coronary heart disease and death. The Multiple Risk Factor Intervention Trial. *JAMA* 258, 2388-95.
129. Wei M Kampert JB Barlow CE, et al. (1999) Relationship between low cardiorespiratory fitness and mortality in normal-weight, overweight and obese men. *JAMA* 282, 1547-53.
130. Wei M Gibbons LW Mitchell TL, et al. (1999) The association between cardiorespiratory fitness and impaired fasting glucose and type 2 diabetes mellitus in men. *Ann Intern Med* 130, 89-96.
131. Jeffery RW Drewnowski A Epstein LH, et al. (2000) Long-term maintenance of weight loss: current status. *Health Psychol* 19, 5-16.
132. Westenhoefer J (2001) The therapeutic challenge: behavioral changes for long-term weight maintenance. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25 Suppl 1, S85-8.
133. Snow V Barry P Fitterman N Qaseem A Weiss K (2005) Pharmacologic and surgical management of obesity in primary care: a clinical practice guideline from the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 142, 525-31.
134. Buchwald H Avidor Y Braunwald E, et al. (2004) Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 292, 1724-37.
135. Maggard MA Shugarman LR Suttorp M, et al. (2005) Meta-analysis: surgical treatment of obesity. *Ann Intern Med* 142, 547-59.
136. Adams TD Gress RE Smith SC, et al. (2007) Long-term mortality after gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 357, 753-61.
137. Sjöström L Lindroos AK Peltonen M, et al. (2004) Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N Engl J Med* 351, 2683-93.
138. Curioni CC Lourenco PM (2005) Long-term weight loss after diet and exercise: a systematic review. *Int J Obes* 29, 1168-74.
139. Anon (1996) Long-term pharmacotherapy in the management of obesity. National Task Force on the prevention and treatment of obesity. *JAMA* 276, 1907-15.
140. Mathus-Vliegen EM (2005) Long-term maintenance of weight loss with sibutramine in a GP setting following a specialist guided very-low-calorie diet: a double-blind, placebo-controlled, parallel group study. *Eur J Clin Nutr* 59 Suppl 1, S31-8; discussion S39.
141. James WP Astrup A Finer N, 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.
142. Sharma B Henderson DC (2008) Sibutramine: current status as an anti-obesity drug and its future perspectives. *Expert Opin Pharmacother* 9, 2161-73.
143. Padwal R Li SK Lau DC (2004) Long-term pharmacotherapy for obesity and overweight. *Cochrane Database Syst Rev*, CD004094.
144. Arterburn DE Crane PK Veenstra DL (2004) The efficacy and safety of sibutramine for weight loss: a systematic review. *Arch Intern Med* 164, 994-1003.
145. Li Z Maglione M Tu W, et al. (2005) Meta-analysis: pharmacologic treatment of obesity. *Ann Intern Med* 142, 532-46.
146. Fujioka K Seaton TB Rowe E, et al. (2000) Weight loss with sibutramine improves glycaemic control and other metabolic parameters in obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab* 2, 175-87.
147. Norris SL Zhang X Avenell A, et al. (2004) Efficacy of pharmacotherapy for weight loss in adults with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *Arch Intern Med* 164, 1395-404.
148. Vettor R Serra R Fabris R Pagano C Federspil G (2005) Effect of sibutramine on weight management and metabolic control in type 2 diabetes: a meta-analysis of clinical studies. *Diabetes Care* 28, 942-9.

149. Kim SH Lee YM Jee SH Nam CM (2003) Effect of sibutramine on weight loss and blood pressure: a meta-analysis of controlled trials. *Obes Res* 11, 1116-23.
150. Sharma AM Caterson ID Coutinho W, et al. (2009) Blood pressure changes associated with sibutramine and weight management - an analysis from the 6-week lead-in period of the sibutramine cardiovascular outcomes trial (SCOUT). *Diabetes Obes Metab* 11, 239-50.
151. Maggioni AP Caterson I Coutinho W, et al. (2008) Tolerability of sibutramine during a 6-week treatment period in high-risk patients with cardiovascular disease and/or diabetes: a preliminary analysis of the Sibutramine Cardiovascular Outcomes (SCOUT) Trial. *J Cardiovasc Pharmacol* 52, 393-402.
152. Hadvary P Sidler W Meister W Vetter W Wolfer H (1991) The lipase inhibitor tetrahydrolipstatin binds covalently to the putative active site serine of pancreatic lipase. *J Biol Chem* 266, 2021-7.
153. Zhi J Melia AT Guerciolini R, 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.
154. Sjöström L Rissanen A Andersen T, et al. (1998) Randomised placebo-controlled trial of orlistat for weight loss and prevention of weight regain in obese patients. European Multicentre Orlistat Study Group. *Lancet* 352, 167-72.
155. Davidson MH Hauptman J DiGirolamo M, 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.
156. Hill JO Hauptman J Anderson JW, et al. (1999) Orlistat, a lipase inhibitor, for weight maintenance after conventional dieting: a 1-y study. *Am J Clin Nutr* 69, 1108-16.
157. Hutton B 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.
158. Kelley DE Bray GA Pi-Sunyer FX, et al. (2002) Clinical efficacy of orlistat therapy in overweight and obese patients with insulin-treated type 2 diabetes: A 1-year randomized controlled trial. *Diabetes Care* 25, 1033-41.
159. Hollander PA Elbein SC Hirsch IB, et al. (1998) Role of orlistat in the treatment of obese patients with type 2 diabetes. A 1-year randomized double-blind study. *Diabetes Care* 21, 1288-94.
160. Reitsma JB Castro Cabezas M de Bruin TW Erkelens DW (1994) Relationship between improved postprandial lipemia and low-density lipoprotein metabolism during treatment with tetrahydrolipstatin, a pancreatic lipase inhibitor. *Metabolism* 43, 293-8.
161. Tonstad S Pometta D Erkelens DW, et al. (1994) The effect of the gastrointestinal lipase inhibitor, orlistat, on serum lipids and lipoproteins in patients with primary hyperlipidaemia. *Eur J Clin Pharmacol* 46, 405-10.
162. Rinaldi-Carmona M Barth F Heaulme M, et al. (1994) SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Lett* 350, 240-4.
163. Pagotto U Pasquali R (2005) Fighting obesity and associated risk factors by antagonising cannabinoid type 1 receptors. *Lancet* 365, 1363-4.
164. Curioni C Andre C (2006) Rimonabant for overweight or obesity. *Cochrane Database Syst Rev*, CD006162.
165. Christensen R Kristensen PK Bartels EM Bliddal H Astrup A (2007) Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 370, 1706-13.
166. Rosenstock J Hollander P Chevalier S Iranmanesh A (2008) SERENADE: the Study Evaluating Rimonabant Efficacy in Drug-naive Diabetic Patients: effects of monotherapy with rimonabant, the first selective CB1 receptor antagonist, on glycemic control, body weight, and lipid profile in drug-naive type 2 diabetes. *Diabetes Care* 31, 2169-76.
167. Després JP Golay A Sjöström L (2005) Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *N Engl J Med* 353, 2121-34.

168. Scheen AJ (2008) CB1 receptor blockade and its impact on cardiometabolic risk factors: overview of the RIO programme with rimonabant. *J Neuroendocrinol* 20 Suppl 1, 139-46.
169. Doggrell SA (2008) Is rimonabant efficacious and safe in the treatment of obesity? *Expert Opin Pharmacother* 9, 2727-31.
170. Bray GA Blackburn GL Ferguson JM, et al. (1999) Sibutramine produces dose-related weight loss. *Obes Res* 7, 189-98.
171. Bray GA Ryan DH (2007) Drug treatment of the overweight patient. *Gastroenterology* 132, 2239-52.
172. Wadden TA Berkowitz RI Womble LG, et al. (2005) Randomized trial of lifestyle modification and pharmacotherapy for obesity. *N Engl J Med* 353, 2111-20.
173. Janssen-Cilag (2008) Fachinformation Topamax® www.janssen-cilag.de
174. Janssen-Cilag (2008) Fachinformation Topamax Migräne® www.janssen-cilag.de
175. Shank RP Maryanoff BE (2008) Molecular pharmacodynamics, clinical therapeutics, and pharmacokinetics of topiramate. *CNS Neurosci Ther* 14, 120-42.
176. Zona C Ciotti MT Avoli M (1997) Topiramate attenuates voltage-gated sodium currents in rat cerebellar granule cells. *Neurosci Lett* 231, 123-6.
177. Wu SP Tsai JJ Gean PW (1998) Frequency-dependent inhibition of neuronal activity by topiramate in rat hippocampal slices. *Br J Pharmacol* 125, 826-32.
178. Taverna S Sancini G Mantegazza M Franceschetti S Avanzini G (1999) Inhibition of transient and persistent Na⁺ current fractions by the new anticonvulsant topiramate. *J Pharmacol Exp Ther* 288, 960-8.
179. DeLorenzo RJ Sombati S Coulter DA (2000) Effects of topiramate on sustained repetitive firing and spontaneous recurrent seizure discharges in cultured hippocampal neurons. *Epilepsia* 41 Suppl 1, S40-4.
180. McLean MJ Bukhari AA Wamil AW (2000) Effects of topiramate on sodium-dependent action-potential firing by mouse spinal cord neurons in cell culture. *Epilepsia* 41 Suppl 1, S21-4.
181. Zhang X Velumian AA Jones OT Carlen PL (2000) Modulation of high-voltage-activated calcium channels in dentate granule cells by topiramate. *Epilepsia* 41 Suppl 1, S52-60.
182. White HS Brown SD Woodhead JH Skeen GA Wolf HH (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.
183. Gibbs JW Sombati S DeLorenzo RJ Coulter DA (2000) Cellular actions of topiramate: blockade of kainate-evoked inward currents in cultured hippocampal neurons. *Epilepsia* 41 Suppl 1, S10-6.
184. Skradski S White HS (2000) Topiramate blocks kainate-evoked cobalt influx into cultured neurons. *Epilepsia* 41 Suppl 1, S45-7.
185. Gryder DS Rogawski MA (2003) Selective antagonism of GluR5 kainate-receptor-mediated synaptic currents by topiramate in rat basolateral amygdala neurons. *J Neurosci* 23, 7069-74.
186. Herrero AI Del Olmo N Gonzalez-Escalada JR Solis JM (2002) Two new actions of topiramate: inhibition of depolarizing GABA(A)-mediated responses and activation of a potassium conductance. *Neuropharmacology* 42, 210-20.
187. Russo E Constanti A (2004) Topiramate hyperpolarizes and modulates the slow poststimulus AHP of rat olfactory cortical neurones in vitro. *Br J Pharmacol* 141, 285-301.
188. Okada M Yoshida S Zhu G Hirose S Kaneko S (2005) Biphasic actions of topiramate on monoamine exocytosis associated with both soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors and Ca²⁺-induced Ca²⁺-releasing systems. *Neuroscience* 134, 233-46.
189. Petroff OA Hyder F Mattson RH Rothman DL (1999) Topiramate increases brain GABA, homocarnosine and pyrrolidinone in patients with epilepsy. *Neurology* 52, 473-8.

190. Dodgson SJ Shank RP Maryanoff BE (2000) Topiramate as an inhibitor of carbonic anhydrase isoenzymes. *Epilepsia* 41 Suppl 1, S35-9.
191. Casini A Antel J Abbate F, 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.
192. Vullo D Franchi M Gallori E, et al. (2004) Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of mitochondrial isozyme V with aromatic and heterocyclic sulfonamides. *J Med Chem* 47, 1272-9.
193. Millichap JG Woodbury DM Goodman LS (1955) Mechanism of the anticonvulsant action of acetazolamide, a carbonic anhydrase inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther* 115, 251-258.
194. Ma L Huang YG Deng YC, et al. (2007) Topiramate reduced sweat secretion and aquaporin-5 expression in sweat glands of mice. *Life Sci* 80, 2461-8.
195. Garnett WR (2000) Clinical pharmacology of topiramate: a review. *Epilepsia* 41 Suppl 1, S61-5.
196. Lyseng-Williamson KA Yang LP (2008) Spotlight on topiramate in epilepsy. *CNS Drugs* 22, 171-4.
197. Ormrod D McClellan K (2001) Topiramate: a review of its use in childhood epilepsy. *Paediatr Drugs* 3, 293-319.
198. Ben-Menachem E Sander JW Stefan H Schwalen S Schauble B (2008) Topiramate monotherapy in the treatment of newly or recently diagnosed epilepsy. *Clin Ther* 30, 1180-95.
199. Jette N Hemming K Hutton JL Marson AG (2008) Topiramate add-on for drug-resistant partial epilepsy. *Cochrane Database Syst Rev*, CD001417.
200. Evers S (2008) Treatment of migraine with prophylactic drugs. *Expert Opin Pharmacother* 9, 2565-73.
201. Silberstein S Diener HC Lipton R, et al. (2008) Epidemiology, risk factors, and treatment of chronic migraine: a focus on topiramate. *Headache* 48, 1087-95.
202. Mulleners WM Chronicle EP (2008) Anticonvulsants in migraine prophylaxis: a Cochrane review. *Cephalalgia* 28, 585-97.
203. Vasudev K Macritchie K Geddes J Watson S Young A (2006) Topiramate for acute affective episodes in bipolar disorder. *Cochrane Database Syst Rev*, CD003384.
204. Berlin HA (2007) Antiepileptic drugs for the treatment of post-traumatic stress disorder. *Curr Psychiatry Rep* 9, 291-300.
205. Loew TH Nickel MK (2008) Topiramate treatment of women with borderline personality disorder, part II: an open 18-month follow-up. *J Clin Psychopharmacol* 28, 355-7.
206. Nickel MK Loew TH (2008) Treatment of aggression with topiramate in male borderline patients, part II: 18-month follow-up. *Eur Psychiatry* 23, 115-7.
207. Arbaizar B Gomez-Acebo I Llorca J (2008) Efficacy of topiramate in bulimia nervosa and binge-eating disorder: a systematic review. *Gen Hosp Psychiatry* 30, 471-5.
208. Reas DL Grilo CM (2008) Review and meta-analysis of pharmacotherapy for binge-eating disorder. *Obesity* 16, 2024-38.
209. Olmsted CL Kockler DR (2008) Topiramate for alcohol dependence. *Ann Pharmacother* 42, 1475-80.
210. Kampman KM Pettinati H Lynch KG, et al. (2004) A pilot trial of topiramate for the treatment of cocaine dependence. *Drug Alcohol Depend* 75, 233-40.
211. Johnson BA Ait-Daoud N Akhtar FZ Javors MA (2005) Use of oral topiramate to promote smoking abstinence among alcohol-dependent smokers: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 165, 1600-5.
212. Fowler JA Shen JY Bettinger TL (2009) Successful use of topiramate in a patient with severe postherpetic neuralgia. *Ann Pharmacother* 43, 139-42.

213. Bendaly EA Jordan CA Staehler SS Rushing DA (2007) Topiramate in the treatment of neuropathic pain in patients with cancer. *Support Cancer Ther* 4, 241-6.
214. Raskin P Donofrio PD Rosenthal NR, et al. (2004) Topiramate vs placebo in painful diabetic neuropathy: analgesic and metabolic effects. *Neurology* 63, 865-73.
215. Zin CS Nissen LM Smith MT O'Callaghan JP Moore BJ (2008) An update on the pharmacological management of post-herpetic neuralgia and painful diabetic neuropathy. *CNS Drugs* 22, 417-42.
216. Connor GS Edwards K Tarsy D (2008) Topiramate in essential tremor: findings from double-blind, placebo-controlled, crossover trials. *Clin Neuropharmacol* 31, 97-103.
217. Cudkowicz ME Shefner JM Schoenfeld DA, et al. (2003) A randomized, placebo-controlled trial of topiramate in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 61, 456-64.
218. Lampl C Marecek S May A Bendtsen L (2006) A prospective, open-label, long-term study of the efficacy and tolerability of topiramate in the prophylaxis of chronic tension-type headache. *Cephalalgia* 26, 1203-8.
219. Bharti R Agarwal L (2005) Topiramate and scars. *Dermatol Online J* 11, 42.
220. Shorvon SD (1996) Safety of topiramate: adverse events and relationships to dosing. *Epilepsia* 37 Suppl 2, S18-S22.
221. Guerrini R Parmeggiani L (2006) Topiramate and its clinical applications in epilepsy. *Expert Opin Pharmacother* 7, 811-23.
222. Biton V Montouris GD Ritter F, et al. (1999) A randomized, placebo-controlled study of topiramate in primary generalized tonic-clonic seizures. Topiramate YTC Study Group. *Neurology* 52, 1330-7.
223. Sachdeo RC Glauser TA Ritter F, et al. (1999) A double-blind, randomized trial of topiramate in Lennox-Gastaut syndrome. Topiramate YL Study Group. *Neurology* 52, 1882-7.
224. Elterman RD Glauser TA Wyllie E, et al. (1999) A double-blind, randomized trial of topiramate as adjunctive therapy for partial-onset seizures in children. Topiramate YP Study Group. *Neurology* 52, 1338-44.
225. Ben-Menachem E Henriksen O Dam M, et al. (1996) Double-blind, placebo-controlled trial of topiramate as add-on therapy in patients with refractory partial seizures. *Epilepsia* 37, 539-43.
226. Faught E Wilder BJ Ramsay RE, et al. (1996) Topiramate placebo-controlled dose-ranging trial in refractory partial epilepsy using 200-, 400-, and 600-mg daily dosages. Topiramate YD Study Group. *Neurology* 46, 1684-90.
227. Privitera M Fincham R Penry J, et al. (1996) Topiramate placebo-controlled dose-ranging trial in refractory partial epilepsy using 600-, 800-, and 1,000-mg daily dosages. Topiramate YE Study Group. *Neurology* 46, 1678-83.
228. Sharief M Viteri C Ben-Menachem E, et al. (1996) Double-blind, placebo-controlled study of topiramate in patients with refractory partial epilepsy. *Epilepsy Res* 25, 217-24.
229. Tassinari CA Michelucci R Chauvel P, et al. (1996) Double-blind, placebo-controlled trial of topiramate (600 mg daily) for the treatment of refractory partial epilepsy. *Epilepsia* 37, 763-8.
230. Yen DJ Yu HY Guo YC, et al. (2000) A double-blind, placebo-controlled study of topiramate in adult patients with refractory partial epilepsy. *Epilepsia* 41, 1162-6.
231. Silberstein SD Hulihan J Karim MR, et al. (2006) Efficacy and tolerability of topiramate 200 mg/d in the prevention of migraine with/without aura in adults: a randomized, placebo-controlled, double-blind, 12-week pilot study. *Clin Ther* 28, 1002-11.
232. Storey JR Calder CS Hart DE Potter DL (2001) Topiramate in migraine prevention: a double-blind, placebo-controlled study. *Headache* 41, 968-75.
233. Lakshmi CV Singhi P Malhi P Ray M (2007) Topiramate in the prophylaxis of pediatric migraine: a double-blind placebo-controlled trial. *J Child Neurol* 22, 829-35.

234. Picard F Deshaies Y Lalonde J Samson P Richard D (2000) Topiramate reduces energy and fat gains in lean (*Fa/?*) and obese (*fa/fa*) Zucker rats. *Obes Res* 8, 656-63.
235. Richard D Ferland J Lalonde J Samson P Deshaies Y (2000) Influence of topiramate in the regulation of energy balance. *Nutrition* 16, 961-6.
236. Richard D Picard F Lemieux C, et al. (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.
237. York DA Singer L Thomas S Bray GA (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.
238. Lalonde J Samson P Poulin S Deshaies Y 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.
239. Reiss WG Oles KS (1996) Acetazolamide in the treatment of seizures. *Ann Pharmacother* 30, 514-9.
240. Lynch CJ Fox H Hazen SA, et al. (1995) Role of hepatic carbonic anhydrase in de novo lipogenesis. *Biochem J* 310 (Pt 1), 197-202.
241. Supuran CT Scozzafava A Casini A (2003) Carbonic anhydrase inhibitors. *Med Res Rev* 23, 146-89.
242. Obeid OA Powell-Tuck J Emery PW (2000) The postprandial rates of glycogen and lipid synthesis of lean and obese female Zucker rats. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24, 508-13.
243. Lopez-Soriano EJ Carbo N Argiles JM (1991) Lipid metabolism in the obese Zucker rat. Disposal of an oral ¹⁴C-triolein load and lipoprotein lipase activity. *Biochem J* 274 (Pt 3), 651-6.
244. Kalderon B Adler JH Levy E Gutman A (1983) Lipogenesis in the sand rat (*Psammomys obesus*). *Am J Physiol* 244, E480-6.
245. Agius L Williamson DH (1980) Lipogenesis in interscapular brown adipose tissue of virgin, pregnant and lactating rats. The effects of intragastric feeding. *Biochem J* 190, 477-80.
246. Shank RP Gardocki JF Vaught JL, et al. (1994) Topiramate: preclinical evaluation of structurally novel anticonvulsant. *Epilepsia* 35, 450-60.
247. Kates M (1986) Techniques of lipidology: isolation, analysis and identification of lipids; in: *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, Burdon RH van Knippenberg PH, eds., Vol. 3, pp. 100-12, Elsevier, Amsterdam.
248. Saggerson ED Greenbaum AL (1970) The regulation of triglyceride synthesis and fatty acid synthesis in rat epididymal adipose tissue. *Biochem J* 119, 193-219.
249. Zucker LM Zucker TF (1961) Fatty, a new mutation in the rat. *J Hered* 52, 276-278.
250. Phillips MS Liu Q Hammond HA, et al. (1996) Leptin receptor missense mutation in the fatty Zucker rat. *Nat Genet* 13, 18-9.
251. Truett GE Jacob HJ Miller J, et al. (1995) Genetic map of rat chromosome 5 including the fatty (*fa*) locus. *Mamm Genome* 6, 25-30.
252. Campfield LA Smith FJ Burn P (1996) The OB protein (leptin) pathway - a link between adipose tissue mass and central neural networks. *Horm Metab Res* 28, 619-32.
253. Chen H Charlat O Tartaglia LA, et al. (1996) Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in *db/db* mice. *Cell* 84, 491-5.
254. Schwartz MW Seeley RJ Campfield LA Burn P Baskin DG (1996) Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J Clin Invest* 98, 1101-6.
255. Maffei M Halaas J Ravussin E, et al. (1995) Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and *ob* RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1, 1155-61.
256. Zucker LM (1965) Hereditary obesity in the rat associated with hyperlipemia. *Ann NY Acad Sci* 131, 447-458.

257. Zucker LM Antoniades HN (1972) Insulin and obesity in the Zucker genetically obese rat "fatty". *Endocrinology* 90, 1320-30.
258. Bray GA (1977) The Zucker-fatty rat: a review. *Fed Proc* 36, 148-53.
259. Schirardin H Bach A Schaeffer A Bauer M Weryha A (1979) Biological parameters of the blood in the genetically obese Zucker rat. *Arch Int Physiol Biochim* 87, 275-89.
260. Clark JB Palmer CJ Shaw WN (1983) The diabetic Zucker fatty rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 173, 68-75.
261. McCaleb ML Sredy J (1992) Metabolic abnormalities of the hyperglycemic obese Zucker rat. *Metabolism* 41, 522-5.
262. Apweiler R Freund P (1993) Development of glucose intolerance in obese (*fa/fa*) Zucker rats. *Horm Metab Res* 25, 521-4.
263. Durham HA Truett GE (2006) Development of insulin resistance and hyperphagia in Zucker fatty rats. *Am J Physiol* 290, R652-8.
264. Topp BG Atkinson LL Finegood DT (2007) Dynamics of insulin sensitivity, β -cell function, and β -cell mass during the development of diabetes in *fa/fa* rats. *Am J Physiol* 293, E1730-5.
265. Dryden S Pickavance L Frankish HM Williams G (1995) Increased neuropeptide Y secretion in the hypothalamic paraventricular nucleus of obese (*fa/fa*) Zucker rats. *Brain Res* 690, 185-8.
266. Livingstone DE Jones GC Smith K, et al. (2000) Understanding the role of glucocorticoids in obesity: tissue-specific alterations of corticosterone metabolism in obese Zucker rats. *Endocrinology* 141, 560-3.
267. Whitaker EM Robinson AC (1989) Circulating reproductive hormones and hypothalamic oestradiol and progesterin receptors in infertile Zucker rats. *J Endocrinol* 120, 331-6.
268. Furnsinn C Nowotny P Brunmair B, et al. (2002) Thiazolidinediones influence plasma steroids of male obese Zucker rats. *Endocrinology* 143, 327.
269. Ruth MR Taylor CG Zahradka P Field CJ (2008) Abnormal immune responses in *fa/fa* Zucker rats and effects of feeding conjugated linoleic acid. *Obesity* 16, 1770-9.
270. Johnson PR Stern JS Horwitz BA Harris RE, Jr. Greene SF (1997) Longevity in obese and lean male and female rats of the Zucker strain: prevention of hyperphagia. *Am J Clin Nutr* 66, 890-903.
271. Kasiske BL Cleary MP O'Donnell MP Keane WF (1985) Effects of genetic obesity on renal structure and function in the Zucker rat. *J Lab Clin Med* 106, 598-604.
272. Wade AJ (1980) Glucose metabolism and recycling of radioactively labelled glucose in the Zucker genetically obese rat (*fa/fa*). *Biochem J* 186, 161-8.
273. Chua SC White DW Wu-Peng XS, et al. (1996) Phenotype of fatty due to Gln269Pro mutation in the leptin receptor (*Lepr*). *Diabetes* 45, 1141-3.
274. Tamasi JA Arey BJ Bertolini DR Feyen JH (2003) Characterization of bone structure in leptin receptor-deficient Zucker (*fa/fa*) rats. *J Bone Miner Res* 18, 1605-11.
275. Frisbee JC (2003) Impaired skeletal muscle perfusion in obese Zucker rats. *Am J Physiol* 285, R1124-34.
276. Bach A Schirardin H Bauer M Schaeffer A Weryha A (1981) Age-related changes in biological parameters in Zucker rats. *Lipids* 16, 841-8.
277. Wade AJ (1979) Reduced liver glycogen depletion in fasted genetically obese (Zucker) rats. *J Physiol* 293, 33P.
278. Mathé D Riottot M Rostaqui N, et al. (1993) Effect of amylo maize starch on plasma lipoproteins of lean and obese Zucker rats. *J Clin Biochem Nutr* 14, 17-24.
279. Kemmer FW Berger M Herberg L, et al. (1979) Glucose metabolism in perfused skeletal muscle. Demonstration of insulin resistance in the obese Zucker rat. *Biochem J* 178, 733-41.

280. de Souza CJ Yu JH Robinson DD Ulrich RG Meglasson MD (1995) Insulin secretory defect in Zucker *fa/fa* rats is improved by ameliorating insulin resistance. *Diabetes* 44, 984-91.
281. Toplak H Hamann A Moore R, 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* 31, 138-46.
282. Rosenstock J Hollander P Gadde KM, et al. (2007) A randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study to assess the efficacy and safety of topiramate controlled release in the treatment of obese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 30, 1480-6.
283. Hazen SA Waheed A Sly WS LaNoue KF Lynch CJ (1996) Differentiation-dependent expression of CA V and the role of carbonic anhydrase isozymes in pyruvate carboxylation in adipocytes. *Faseb J* 10, 481-90.
284. Sharma K McCue P Dunn SR (2003) Diabetic kidney disease in the db/db mouse. *Am J Physiol* 284, F1138-44.
285. Lee SM Bressler R (1981) Prevention of diabetic nephropathy by diet control in the db/db mouse. *Diabetes* 30, 106-11.
286. Hummel KP Coleman DL Lan PW (1971) The influence of genetic background on expression of mutations at the diabetes locus in the mouse. I. C57BL/KsJ and C57BL/6J strains. *Biochem Genet* 7, 1-13.
287. Hummel KP Dickie MM Coleman DL (1966) Diabetes, a new mutation in the mouse. *Science* 153, 1127-1128.
288. Ben-Menachem E Axelsen M Johanson EH Stagge A Smith U (2003) Predictors of weight loss in adults with topiramate-treated epilepsy. *Obes Res* 11, 556-62.
289. Wilding J Van Gaal L Rissanen A Vercruysse F 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.
290. Bray GA Hollander P Klein S, et al. (2003) A 6-month randomized, placebo-controlled, dose-ranging trial of topiramate for weight loss in obesity. *Obes Res* 11, 722-33.
291. Astrup A Caterson I Zelissen P, et al. (2004) Topiramate: long-term maintenance of weight loss induced by a low-calorie diet in obese subjects. *Obes Res* 12, 1658-69.
292. Tonstad S Tykarski A Weissgarten J, et al. (2005) Efficacy and safety of topiramate in the treatment of obese subjects with essential hypertension. *Am J Cardiol* 96, 243-51.
293. Ioannides-Demos LL Proietto J McNeil JJ (2005) Pharmacotherapy for obesity. *Drugs* 65, 1391-418.
294. Carneheim C Nedergaard J 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.
295. Ferraro RT Eckel RH Larson DE, et al. (1993) Relationship between skeletal muscle lipoprotein lipase activity and 24-hour macronutrient oxidation. *J Clin Invest* 92, 441-5.
296. Scozzafava A Mastrolorenzo A Supuran CT (2006) Carbonic anhydrase inhibitors and activators and their use in therapy. *Expert Opin Ther Patents* 16, 1627-1664.
297. Lynch CJ Brennan WA, Jr. Vary TC Carter N Dodgson SJ (1993) Carbonic anhydrase III in obese Zucker rats. *Am J Physiol* 264, E621-30.
298. Spicer SS Ge ZH Tashian RE Hazen-Martin DJ Schulte BA (1990) Comparative distribution of carbonic anhydrase isozymes III and II in rodent tissues. *Am J Anat* 187, 55-64.
299. Lynch CJ Hazen SA Horetsky RL Carter ND Dodgson SJ (1993) Differentiation-dependent expression of carbonic anhydrase II and III in 3T3 adipocytes. *Am J Physiol* 265, C234-43.
300. Bray GA (1972) Lipogenesis in human adipose tissue: some effects of nibbling and gorging. *J Clin Invest* 51, 537-48.

301. Hebebrand J Antel J Preuschoff U, et al. (2002) Method for locating compounds which are suitable for the treatment and/or prophylaxis of obesity. Patent WO/2002/007821.
302. Innocenti A Vullo D Scozzafava A Casey JR Supuran C (2005) Carbonic anhydrase inhibitors. Interaction of isozymes I, II, IV, V and IX with carboxylates. *Bioorg Med Chem Lett* 15, 573-8.
303. Winum JY Scozzafava A Montero JL Supuran CT (2005) Sulfamates and their therapeutic potential. *Med Res Rev* 25, 186-228.
304. Nishimori I Vullo D Innocenti A, et al. (2005) Carbonic anhydrase inhibitors. The mitochondrial isozyme VB as a new target for sulfonamide and sulfamate inhibitors. *J Med Chem* 48, 7860-6.
305. Epstein DL Grant WM (1977) Carbonic anhydrase inhibitor side effects. Serum chemical analysis. *Arch Ophthalmol* 95, 1378-82.
306. White HS (2003) Mechanism of action of newer anticonvulsants. *J Clin Psychiatry* 64 Suppl 8, 5-8.
307. Wilkes JJ Nelson E Osborne M Demarest KT Olefsky JM (2005) Topiramate is an insulin-sensitizing compound in vivo with direct effects on adipocytes in female ZDF rats. *Am J Physiol* 288, E617-24.
308. Liang Y Chen X Osborne M, et al. (2005) Topiramate ameliorates hyperglycaemia and improves glucose-stimulated insulin release in ZDF rats and db/db mice. *Diabetes Obes Metab* 7, 360-9.
309. Berg AH Combs TP Scherer PE (2002) ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 13, 84-9.
310. Ha E Yim SV Jung KH, et al. (2006) Topiramate stimulates glucose transport through AMP-activated protein kinase-mediated pathway in L6 skeletal muscle cells. *Pharmacogenomics J* 6, 327-32.
311. Lafontan M (2005) Fat cells: afferent and efferent messages define new approaches to treat obesity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 45, 119-46.
312. Wilkes JJ Nguyen MT Bandyopadhyay GK Nelson E Olefsky JM (2005) Topiramate treatment causes skeletal muscle insulin sensitization and increased Acrp30 secretion in high-fat-fed male Wistar rats. *Am J Physiol* 289, E1015-22.
313. Gustafson B Jack MM Cushman SW Smith U (2003) Adiponectin gene activation by thiazolidinediones requires PPAR γ 2, but not C/EBP α -evidence for differential regulation of the aP2 and adiponectin genes. *Biochem Biophys Res Commun* 308, 933-9.
314. Ketter TA Post RM Theodore WH (1999) Positive and negative psychiatric effects of antiepileptic drugs in patients with seizure disorders. *Neurology* 53, S53-67.
315. Appolinario JC Bueno JR Coutinho W (2004) Psychotropic drugs in the treatment of obesity: what promise? *CNS Drugs* 18, 629-51.
316. Sener A Jijakli H Zahedi Asl S Courtois P Yates AP Meuris S Best LC Malaisse WJ (2007) Possible role of carbonic anhydrase in rat pancreatic islets: enzymatic, secretory, metabolic, ionic, and electrical aspects. *Am J Physiol* 292, 1624-30.

7 Tabellenanhang

Tabelle A1: Körpergewicht (g) der Zuckerratten in V1.

Tag Tier	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
C1	465	465	465	465	470	470	480	485	485	495	500	500
C2	470	470	470	475	480	485	495	505	505	510	510	505
C3	520	515	515	520	520	530	530	535	540	545	545	550
C5	465	465	470	480	485	490	505	510	520	530	535	540
C6	525	520	520	525	530	535	540	545	545	550	550	550
C7	485	490	495	500	505	510	520	525	530	530	530	530
C8	460	455	460	460	465	470	475	480	480	480	480	480
MW	484	483	485	489	494	499	506	512	515	520	521	522
± SE	10,3	9,8	9,4	9,8	9,5	10,2	9,4	9,2	9,8	9,8	9,7	10,3
CP1	465	460	460	460	460	465	470	470	470	475	475	485
CP2	475	470	470	485	490	490	495	505	510	515	515	525
CP3	515	510	500	510	515	515	515	525	525	530	530	540
CP5	460	450	455	460	460	465	470	475	475	480	480	480
CP6	525	525	530	530	535	540	540	545	545	550	550	550
CP7	500	490	490	495	505	505	515	520	525	525	525	525
CP8	470	450	450	460	465	465	470	470	475	475	475	480
MW	487	479	479	486	490	492	496	501	504	507	507	512
± SE	9,8	11,3	10,9	10,5	11,2	11,1	10,6	11,4	11,4	11,5	11,5	11,3
T1	485	485	485	490	500	505	510	515	500	505	510	515
T2	550	545	545	550	560	565	575	580	560	565	570	570
T3	515	515	515	525	530	535	545	555	530	530	535	535
T4	500	505	500	510	515	520	525	530	505	505	505	500
T5	485	480	485	490	490	500	500	505	495	500	505	505
T6	480	470	475	480	485	485	490	495	475	470	470	470
T7	475	475	465	470	480	485	490	500	490	495	500	500
MW	499	496	496	502	509	514	519	526	508	510	514	514
± SE	10,0	10,2	10,3	10,6	10,8	10,9	11,9	11,9	10,7	11,3	11,8	11,9
TP1	470	475	470	475	485	490	500	505	490	490	490	495
TP2	520	515	505	520	520	525	530	535	515	515	520	520
TP3	515	515	515	520	525	535	540	545	525	525	530	530
TP4	515	515	515	515	525	530	535	545	525	525	525	520
TP5	480	480	485	480	475	490	490	495	490	490	490	490
TP6	475	475	475	475	480	485	485	490	475	470	470	470
TP7	425	430	480	485	490	495	500	505	495	495	500	505
MW	486	486	492	496	500	507	511	517	502	501	504	504
± SE	12,9	11,9	7,2	8,1	8,5	8,2	8,6	9,0	7,4	7,8	8,4	7,9
C4	525	520	520	525	530	535	535	540	545	550	555	555
CP4	520	515	515	515	520	520	520	530	535	535	545	550
T8	430	435	435	445	450	455	460	470	455	455	465	455
TP8	490	470	425	435	435	440	445	450	435	440	445	440

Fortsetzung Tabelle A1: Körpergewicht (g) der Zuckerratten in V1.

Tag	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Tier												
C1	500	500	500	505	505	505	505	505	510	510	505	510
C2	505	510	510	510	510	510	510	510	510	510	510	510
C3	550	555	560	560	560	565	565	565	565	570	570	570
C5	540	545	550	560	565	565	570	570	575	575	580	585
C6	550	555	555	560	565	565	565	565	560	570	570	575
C7	530	525	530	540	530	540	540	540	545	545	550	550
C8	485	485	485	490	490	490	495	490	490	495	500	500
MW	523	525	527	532	532	534	536	535	536	539	541	543
± SE	9,9	10,5	11,1	11,3	11,9	12,2	12,1	12,5	12,4	12,8	13,1	13,4
CP1	485	480	480	480	480	480	475	475	470	475	470	470
CP2	520	515	525	535	535	540	540	550	545	550	550	550
CP3	535	540	545	550	550	550	545	545	545	540	540	540
CP5	485	485	485	485	485	485	490	490	490	490	490	495
CP6	555	555	555	555	560	560	560	560	565	570	570	570
CP7	530	525	530	530	525	530	530	530	525	525	530	535
CP8	480	475	485	490	485	490	485	485	490	490	490	490
MW	513	511	515	518	517	519	518	519	519	520	520	521
± SE	11,2	11,9	11,8	12,1	12,7	12,7	12,8	13,2	13,4	13,5	14,0	13,8
T1	515	510	510	510	510	510	510	510	510	510	510	510
T2	575	585	585	580	590	590	590	600	600	600	600	600
T3	535	540	540	540	545	545	550	550	555	555	560	560
T4	500	500	500	505	505	505	505	510	505	505	510	510
T5	505	505	505	510	515	515	515	520	520	525	525	525
T6	475	475	480	485	475	480	480	470	475	475	475	475
T7	505	505	505	510	515	520	520	520	525	525	530	530
MW	516	517	518	520	522	524	524	526	527	528	530	530
± SE	12,0	13,4	13,0	11,7	13,7	13,3	13,5	15,3	15,2	15,1	15,2	15,2
TP1	495	495	500	495	495	495	500	500	500	500	520	510
TP2	530	540	540	535	540	540	545	545	550	545	535	550
TP3	530	535	535	535	535	535	545	550	550	555	555	560
TP4	515	515	515	515	520	520	520	525	530	530	535	540
TP5	495	500	495	500	500	505	510	515	520	525	520	530
TP6	475	475	475	480	470	470	475	475	475	480	475	480
TP7	505	505	510	510	510	510	510	510	515	520	510	515
MW	506	509	510	510	510	511	515	517	520	522	521	526
± SE	7,6	8,6	8,6	7,7	9,2	9,1	9,4	9,8	10,2	9,7	9,5	10,3
C4	555	555	560	565	565	570	570	575	575	580	585	590
CP4	555	555	560	560	565	565	565	565	570	575	575	575
T8	445	440	430	415	†							
TP8	430	445	435	435	—							

Tabelle A2: Körpergewicht (g) der Zuckerratten in V4.

Tag Tier	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
C1	410	390	385	410	415	420	410	425	435	450	450	460
C2	420	400	415	435	445	420	405	440	450	460	470	480
C3	425	415	430	440	450	450	460	465	475	480	495	500
C4	435	425	445	450	460	460	470	480	485	490	500	515
C5	430	430	445	450	465	470	465	490	495	505	510	515
C6	450	435	445	470	470	470	480	490	495	505	510	515
C7	500	490	510	520	505	525	535	540	550	555	560	570
C8	480	465	495	505	510	510	520	525	530	535	535	550
MW	444	431	446	460	465	466	468	482	489	498	504	513
± SE	11,0	11,6	14,3	13,0	11,0	13,3	16,2	13,8	13,4	12,6	12,2	12,5
T1	400	400	405	425	415	440	455	455	445	445	450	460
T2	420	415	430	440	435	455	460	450	455	455	465	460
T3	425	405	430	435	450	460	460	470	455	455	470	470
T4	420	425	445	430	460	465	470	480	470	475	480	475
T6	430	445	455	460	470	480	485	500	485	485	480	475
T7	460	460	480	485	490	500	530	515	500	500	510	515
T8	485	490	510	520	525	525	530	540	525	530	535	540
MW	434	434	451	456	464	475	484	487	476	478	484	485
± SE	10,8	12,3	13,2	13,2	13,7	11,0	12,4	12,4	10,8	11,3	10,9	11,5
TP1	385	410	420	430	430	425	440	445	450	450	450	450
TP2	395	410	410	440	450	435	460	465	460	450	460	465
TP3	420	430	435	445	445	455	455	470	460	460	460	465
TP4	420	440	450	455	455	465	475	485	485	480	480	485
TP6	455	480	485	485	500	505	510	520	520	515	510	510
TP7	450	480	485	495	505	510	510	520	515	515	510	515
TP8	470	490	500	510	515	520	530	545	535	530	530	535
MW	428	449	455	466	471	474	483	493	489	486	486	489
± SE	12,0	13,0	13,4	11,6	12,9	14,4	12,8	13,7	12,9	12,8	11,7	11,9
E1	390	410	410	420	430	435	440	435	430	430	440	445
E2	410	420	430	435	440	445	450	460	440	440	440	440
E3	410	420	430	445	445	450	465	470	450	440	445	440
E4	415	435	440	450	435	455	465	470	455	455	460	460
E5	420	440	450	465	470	480	495	505	485	485	490	495
E6	450	465	460	475	485	495	500	510	490	485	495	490
E7	460	470	480	490	490	500	505	515	500	495	500	500
E8	470	490	495	510	510	510	520	525	510	510	505	505
MW	428	444	449	461	463	471	480	486	470	468	472	472
± SE	10,0	10,0	9,9	10,5	10,5	10,1	10,2	11,3	10,6	10,6	10,0	10,0
EP1	400	410	420	440	445	455	460	470	460	460	465	465
EP2	445	455	435	460	465	470	445	465	460	455	465	460
EP3	420	405	445	455	460	460	470	480	475	460	470	465
EP4	440	450	460	460	465	455	480	480	470	465	465	465
EP5	425	450	465	470	480	490	495	505	490	495	500	500
EP6	450	465	475	455	475	490	500	505	495	485	490	490
EP7	495	505	490	510	515	525	530	535	530	510	525	515
EP8	485	495	505	510	515	525	535	540	520	515	515	515
MW	445	454	462	470	478	484	489	498	488	481	487	484
± SE	11,3	12,5	10,0	9,2	9,0	10,3	11,3	10,1	9,4	8,5	8,6	8,3
T5	435	430	450	455	465	470	475	485	475	480	475	475
TP5	420	420	440	450	460	460	470	480	485	475	465	470

Fortsetzung Tabelle A2: Körpergewicht der Zuckerratten in V4.

Tag	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Tier												
C1	470	480	485	495	500	510	515	520	520	525	525	535
C2	490	500	505	515	520	530	535	535	540	540	545	550
C3	505	495	510	510	520	525	505	510	520	520	520	530
C4	520	525	525	535	540	540	550	555	555	555	560	560
C5	520	525	535	540	540	545	550	550	555	555	555	560
C6	520	530	535	540	545	550	550	555	560	560	560	560
C7	575	585	585	590	585	595	595	600	600	605	600	610
C8	550	555	555	550	560	560	560	555	555	550	550	555
MW	519	524	529	534	539	544	545	548	551	551	552	558
± SE	11,6	12,0	11,0	10,3	9,3	9,1	9,8	9,7	9,0	9,2	8,7	8,6
T1	470	470	475	480	485	490	495	505	520	525	525	535
T2	470	475	480	485	490	500	500	500	505	510	515	520
T3	475	485	485	490	495	505	505	510	510	515	520	525
T4	480	495	500	505	505	515	520	520	535	535	545	550
T6	490	500	500	500	505	510	510	520	525	520	530	535
T7	520	520	525	530	530	540	535	545	545	540	545	550
T8	550	550	545	550	555	555	545	540	545	545	555	560
MW	494	499	501	506	509	516	516	520	526	527	534	539
± SE	11,5	10,5	9,6	9,7	9,4	8,7	7,0	6,5	6,0	5,0	5,6	5,5
TP1	455	460	460	460	460	465	470	485	485	490	495	505
TP2	470	480	480	485	490	500	500	500	505	505	520	520
TP3	475	475	480	485	495	500	500	510	510	510	520	520
TP4	490	500	500	510	515	525	530	530	540	540	550	555
TP6	520	525	520	515	520	530	530	540	540	540	545	550
TP7	515	530	530	530	535	545	545	555	555	550	560	560
TP8	540	540	535	540	550	550	550	540	545	545	560	550
MW	495	501	501	504	509	516	518	523	526	526	536	537
± SE	11,6	11,7	10,8	10,7	11,4	11,3	10,9	9,5	9,7	8,9	9,3	8,2
E1	445	450	450	460	465	470	465	475	480	475	485	480
E2	445	445	445	450	450	455	455	455	460	460	465	465
E3	445	445	450	455	455	460	460	455	450	455	460	465
E4	465	470	470	475	475	485	475	480	480	480	485	485
E5	495	495	500	505	505	515	515	520	520	525	530	535
E6	475	485	490	495	500	500	500	505	510	515	520	525
E7	500	500	495	500	500	500	505	505	505	505	505	505
E8	510	510	505	510	510	515	510	510	515	515	515	520
MW	473	475	476	481	483	488	486	488	490	491	496	498
± SE	9,4	9,3	8,8	8,5	8,5	8,4	8,6	9,0	9,3	9,6	9,1	9,7
EP1	475	470	480	480	485	490	495	495	495	495	495	500
EP2	470	470	475	480	480	485	490	495	490	490	500	505
EP3	465	465	470	475	475	485	485	480	480	485	485	490
EP4	460	475	475	480	485	485	480	485	485	490	495	500
EP5	505	505	510	515	520	520	520	525	530	540	535	540
EP6	495	490	495	495	500	500	515	510	515	525	525	530
EP7	525	525	525	525	525	525	530	530	530	530	535	540
EP8	520	515	510	515	515	515	515	510	510	510	510	515
MW	489	489	493	496	498	501	504	504	504	508	510	515
± SE	9,0	8,2	7,3	7,0	6,9	6,0	6,5	6,4	7,0	7,5	6,9	6,9
T5	475	475	490	485	485	455	†					
TP5	470	475	470	465	470	470	—					

Tabelle A3: Körpergewicht (g) der db/db Mäuse in V2.

Tag Tier	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
C1	44,7	46,8	45,9	45,1	44,4	43,5	43,3	42,5	42,5	42,0	42,8	41,6
C2	44,3	45,0	44,0	42,9	42,6	41,6	41,1	41,7	41,6	42,0	42,8	42,8
C3	46,4	46,1	45,1	44,4	44,3	43,8	43,1	42,6	43,1	43,2	43,6	44,2
C4	46,4	46,0	44,8	44,4	44,4	43,9	42,9	41,8	42,8	43,7	44,2	44,9
C5	39,5	41,9	40,7	40,4	39,7	39,2	38,5	37,6	38,2	38,7	38,3	38,1
C6	47,2	46,3	45,4	44,8	43,7	43,3	42,7	41,5	42,3	42,6	42,7	42,9
C7	44,1	46,6	45,6	44,7	44,1	43,2	42,9	42,3	42,3	42,7	42,5	43,2
C8	45,9	47,9	47,2	47,3	46,1	45,6	44,7	44,7	44,6	44,6	45,8	45,6
C9	44,4	43,4	42,8	41,3	40,4	40,6	39,5	39,5	39,5	39,4	39,9	39,3
C10	44,7	46,7	45,4	45,9	44,5	44,0	44,0	43,2	43,4	43,3	44,0	44,1
MW	44,8	45,7	44,7	44,1	43,4	42,9	42,3	41,7	42,0	42,2	42,7	42,7
± SE	0,7	0,6	0,6	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,8
CP1	45,5	45,5	44,2	43,3	43,0	42,3	41,5	41,3	41,0	40,7	41,1	40,7
CP2	44,3	44,4	44,0	42,9	42,6	41,9	41,0	41,5	41,3	42,3	42,7	43,1
CP3	46,3	43,7	42,8	41,2	41,2	40,5	40,3	40,0	40,2	40,1	41,9	40,8
CP4	41,4	41,2	40,6	39,6	38,9	38,7	38,0	37,7	37,7	38,0	37,9	38,0
CP5	44,1	43,4	42,3	42,2	41,3	40,7	40,2	39,8	39,6	39,8	39,4	39,5
CP6	42,4	41,0	40,1	40,2	39,4	39,1	39,0	38,4	38,9	39,2	39,3	39,2
CP7	42,3	40,8	40,4	40,3	38,8	38,7	38,3	37,7	38,0	38,3	36,8	38,9
CP8	48,4	47,9	47,5	47,6	45,3	45,3	44,6	43,8	44,3	44,7	44,4	44,4
CP9	39,5	39,2	37,8	37,6	36,7	35,8	35,3	34,9	35,2	35,5	35,2	35,7
CP10	45,2	44,1	42,4	41,8	41,2	41,1	40,5	40,0	40,4	41,9	41,7	42,0
MW	43,9	43,1	42,2	41,7	40,8	40,4	39,9	39,5	39,7	40,1	40,0	40,2
± SE	0,8	0,8	0,9	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,8
T1	45,4	45,1	44,7	43,8	43,0	42,2	41,8	42,7	42,3	39,5	41,1	42,3
T2	45,3	44,3	44,1	43,0	42,2	42,0	41,0	41,5	42,1	41,8	42,0	42,4
T3	46,5	46,0	45,0	45,2	44,3	44,7	44,0	43,6	44,0	44,0	44,1	44,9
T4	42,2	43,9	43,3	42,5	42,0	41,7	41,6	41,6	41,5	41,2	41,2	41,5
T5	49,1	48,1	47,6	46,9	46,0	45,2	44,5	44,8	45,3	44,8	45,5	46,0
T6	44,7	43,9	43,6	43,2	42,7	42,7	42,4	42,6	42,6	42,5	42,5	42,3
T7	46,8	45,9	45,4	45,3	44,1	44,3	44,6	45,1	45,2	44,9	45,2	45,7
T8	46,2	47,1	46,7	46,1	44,8	44,6	44,6	44,0	43,7	44,5	44,4	45,7
T9	41,7	40,8	40,1	39,4	39,3	39,2	38,7	39,8	39,8	39,7	39,6	40,6
T10	42,8	42,9	41,7	40,9	40,2	40,5	39,7	40,3	40,3	40,3	40,3	40,9
MW	45,1	44,8	44,2	43,6	42,9	42,7	42,3	42,6	42,7	42,3	42,6	43,2
± SE	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,6	0,7	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7
TP1	44,2	43,4	42,8	41,6	41,3	40,5	40,4	39,9	41,2	39,9	40,1	40,0
TP2	39,6	41,9	41,3	40,6	39,8	39,8	39,4	39,0	38,9	38,8	39,0	38,9
TP3	44,8	44,0	43,5	42,9	42,8	41,8	42,1	42,2	42,2	42,4	42,7	42,6
TP4	47,2	47,1	45,9	45,3	44,8	44,3	44,3	44,0	43,6	43,7	44,8	44,1
TP5	45,5	41,2	44,1	43,4	43,0	42,2	41,7	41,5	41,5	41,1	41,1	41,5
TP6	46,8	45,8	45,3	44,8	44,1	43,2	43,7	43,8	43,5	43,2	42,9	43,2
TP7	46,3	46,6	45,5	44,8	44,1	43,9	43,8	43,9	43,8	43,5	43,7	43,7
TP8	41,0	40,6	40,1	39,5	39,1	38,3	37,6	37,6	37,5	37,1	36,6	37,2
TP9	44,9	44,8	43,6	43,0	42,7	42,5	42,3	42,5	42,3	42,5	42,4	43,0
TP10	44,4	43,2	42,0	41,2	40,9	40,5	40,0	40,3	40,1	40,1	40,9	41,2
MW	44,5	43,9	43,4	42,7	42,3	41,7	41,5	41,5	41,5	41,2	41,4	41,5
± SE	0,8	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,7
T ₇ 1	49,2	49,1	49,0	48,7	49,3	48,5	48,6	49,5	49,0	47,9	47,8	47,4
T ₇ 2	47,1	47,2	47,6	47,2	47,8	47,5	47,3	47,4	47,6	46,0	45,8	46,3
T ₇ 3	49,6	50,4	50,7	50,7	50,6	50,3	50,2	50,2	49,9	48,5	48,5	48,1
T ₇ 4	48,0	47,2	48,4	47,1	47,9	47,7	48,0	47,9	47,9	46,5	46,4	46,7
T ₇ 5	44,1	44,3	44,4	44,4	44,7	44,9	45,0	44,9	44,7	44,3	44,2	43,9
T ₇ 6	49,9	49,6	50,6	50,6	50,8	50,2	50,5	50,7	50,7	50,2	49,8	49,7
T ₇ 7	47,0	47,1	47,7	46,8	47,0	46,8	46,8	46,8	46,9	45,4	45,0	44,8
T ₇ 8	46,4	46,0	47,0	46,2	47,1	46,3	47,1	47,1	46,7	45,6	45,3	45,1
MW	47,7	47,6	48,2	47,7	48,2	47,8	47,9	48,1	47,9	46,8	46,6	46,5
± SE	0,7	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7

Tabelle A4: Körpergewicht (g) der db/db Mäuse in V3.

Tag	-14	-13	-12	-11	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1
Tier														
C1	40,9	40,5	40,4	39,8	39,5	39,3	39,6	39,0	38,6	38,3	38,1	38,2	37,7	37,5
C2	45,1	44,5	44,7	43,6	44,5	44,3	44,2	43,1	42,9	41,0	42,3	39,5	41,0	41,1
C3	43,3	42,7	42,3	42,2	42,1	41,7	42,0	41,8	42,0	41,6	41,3	41,2	40,8	41,2
C4	43,5	43,5	43,4	43,2	43,8	43,5	43,5	43,3	43,1	42,0	42,2	42,0	41,7	41,5
C5	44,9	44,6	43,8	44,1	44,4	44,0	44,0	43,6	43,8	43,4	43,2	42,5	43,2	42,4
C6	47,1	46,9	46,9	46,6	46,8	46,4	46,5	46,1	45,6	44,8	44,4	43,1	43,0	42,6
C7	43,6	43,8	43,7	43,9	43,7	44,0	44,7	44,4	44,4	44,2	43,9	43,3	43,5	43,5
C8	47,0	46,5	46,1	45,9	46,0	45,8	46,3	46,0	45,5	45,2	44,9	44,5	44,3	43,9
C9	46,9	46,7	46,7	47,1	47,5	46,8	47,3	46,8	46,9	46,0	46,4	45,0	45,3	45,4
C10	47,3	46,8	46,6	46,6	46,3	46,5	46,9	46,6	46,7	46,3	46,4	45,8	45,8	45,9
MW	45,0	44,7	44,5	44,3	44,5	44,2	44,5	44,1	44,0	43,3	43,3	42,5	42,6	42,5
± SE	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
T1	37,7	37,8	37,9	38,2	38,4	38,8	38,8	38,7	36,6	38,0	37,7	37,8	37,5	37,7
T2	46,9	46,1	45,3	44,7	44,8	44,3	43,8	43,0	41,2	41,9	41,9	40,7	40,0	39,7
T3	40,6	40,6	41,0	40,8	41,0	41,4	41,5	41,0	41,0	40,6	40,3	40,1	39,8	40,0
T4	45,3	45,2	44,9	45,2	45,1	45,1	45,0	44,4	44,3	43,3	42,9	42,4	41,6	41,3
T5	44,8	44,3	44,5	44,1	44,1	44,0	43,6	43,8	43,3	43,0	42,4	42,9	42,7	42,6
T6	46,3	45,8	46,2	46,0	45,7	45,9	45,5	45,0	44,6	44,1	44,4	43,6	43,7	42,6
T7	44,4	44,2	44,3	44,1	44,3	44,4	45,0	45,4	44,5	44,4	44,5	44,0	43,7	43,2
T8	44,4	44,3	44,4	44,7	44,3	44,6	44,9	44,5	44,8	45,1	44,9	44,2	44,3	44,0
T9	45,8	46,1	45,9	46,2	46,1	46,2	46,1	46,1	46,2	45,8	45,8	45,5	44,9	44,8
T10	51,1	50,7	51,1	51,4	51,4	51,0	51,3	51,0	51,1	50,8	50,1	49,6	49,6	48,8
MW	44,7	44,5	44,6	44,5	44,5	44,6	44,6	44,3	43,8	43,7	43,5	43,1	42,8	42,5
± SE	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,0	1,0	1,0	1,2	1,1	1,1	1,0	1,1	1,0
TP1	40,8	40,5	40,2	40,1	40,5	39,8	39,8	39,2	39,0	38,3	38,2	37,5	37,2	36,3
TP2	42,5	43,0	42,9	42,7	42,8	43,0	42,9	42,1	41,7	42,0	40,7	40,3	40,6	40,5
TP3	43,6	43,6	43,1	42,8	42,3	43,0	42,6	42,5	42,5	42,0	42,0	41,6	41,0	40,9
TP4	40,7	41,1	40,7	41,3	41,4	39,3	41,2	41,1	41,2	41,6	41,8	41,8	42,3	41,8
TP5	43,6	43,5	43,2	43,7	44,1	44,1	43,5	43,1	43,1	43,2	42,9	42,2	42,3	42,4
TP6	45,5	45,7	45,3	44,9	44,8	44,5	44,3	44,6	44,3	43,6	43,6	43,7	43,5	43,3
TP7	43,8	43,6	44,4	44,3	44,5	45,1	45,0	45,1	44,9	44,4	43,9	43,6	43,8	43,5
TP8	45,4	44,7	45,1	45,7	45,8	46,0	45,8	45,8	45,3	45,2	45,0	44,5	44,8	44,1
TP9	48,7	48,4	48,1	48,0	47,6	47,4	47,5	47,2	46,5	45,8	43,5	44,3	44,4	43,4
TP10	46,3	46,3	46,1	46,8	46,1	46,7	46,8	46,4	46,0	45,7	45,5	45,2	45,2	44,4
MW	44,1	44,0	43,9	44,0	44,0	43,9	43,9	43,7	43,5	43,2	42,7	42,5	42,5	42,1
± SE	0,8	0,7	0,8	0,8	0,7	0,9	0,8	0,8	0,8	0,7	0,7	0,7	0,8	0,8
E1	42,0	41,7	41,9	41,7	41,9	41,9	42,0	41,1	41,1	40,4	40,2	39,4	39,2	38,9
E5	44,5	43,6	43,3	44,3	43,0	43,3	43,3	43,2	43,3	42,7	42,7	42,9	41,9	42,2
E7	44,0	44,2	44,5	44,6	44,8	44,7	44,9	45,2	44,9	44,9	44,8	43,6	43,6	43,3
E8	48,0	47,2	47,6	47,3	47,5	47,2	47,1	46,2	46,1	45,5	45,3	44,8	44,0	43,8
E9	46,4	46,5	46,3	46,4	46,3	46,5	46,5	46,6	46,4	46,0	45,7	45,7	45,3	45,2
E10	46,5	46,5	46,3	46,1	46,5	46,9	47,1	46,3	46,8	46,2	46,2	45,9	46,0	45,6
MW	45,2	45,0	45,0	45,1	45,0	45,1	45,2	44,8	44,8	44,3	44,2	43,7	43,3	43,2
± SE	0,9	0,9	0,9	0,8	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	1,0	1,0
E2	40,2	40,0	40,5	40,7	40,9	41,4	41,2	41,4	41,2	41,3	41,3	40,7	40,5	40,5
E3	45,2	45,1	44,2	45,1	44,1	44,5	44,3	44,2	44,0	42,7	42,5	41,2	42,1	41,1
E4	43,6	43,7	43,3	43,0	41,8	42,0	42,2	42,5	41,7	41,7	41,3	41,3	40,3	41,7
E6	44,4	44,1	43,8	43,6	44,0	43,5	43,7	44,0	43,5	43,5	43,6	42,7	42,3	43,0

Fortsetzung Tabelle A4: Körpergewicht der db/db Mäuse in V3.

Tag	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Tier															
C1	37,9	37,4	36,9	36,3	37,3	35,8	35,8	35,5	35,2	34,7	34,9	34,5	34,3	34,2	33,7
C2	40,4	38,2	38,9	37,0	37,9	37,3	37,3	37,6	37,7	36,1	36,1	35,6	35,6	34,6	35,0
C3	40,8	40,7	40,1	39,9	40,3	39,3	39,7	39,3	38,3	37,6	38,0	36,9	36,5	36,1	36,8
C4	41,2	41,4	40,3	40,1	39,7	39,1	39,4	38,9	39,0	38,1	37,8	37,3	37,2	36,3	36,2
C5	42,7	42,2	42,4	42,5	42,0	42,1	42,7	42,3	42,4	41,8	41,5	41,0	40,5	40,4	40,9
C6	41,8	41,3	41,2	40,7	39,5	38,6	38,6	37,9	37,8	37,1	36,7	36,6	36,7	35,5	35,2
C7	43,3	42,4	42,9	42,8	41,8	41,6	41,7	41,7	41,4	41,3	40,8	40,7	39,9	40,4	39,9
C8	44,0	43,5	43,4	43,2	42,6	41,4	41,7	40,7	40,5	39,5	39,5	39,0	37,8	38,2	38,3
C9	44,8	44,2	44,0	43,6	42,4	43,2	43,2	42,2	41,8	41,0	41,0	40,7	41,1	40,2	40,7
C10	45,8	45,2	45,0	45,4	44,0	44,6	44,4	44,5	43,6	40,9	43,0	41,3	41,8	41,3	41,0
MW	42,3	41,7	41,5	41,2	40,8	40,3	40,5	40,1	39,8	38,8	38,9	38,4	38,1	37,7	37,8
± SE	0,7	0,8	0,8	0,9	0,7	0,9	0,9	0,9	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9
T1	37,6	36,8	36,4	36,5	36,2	35,7	35,4	34,4	34,4	34,1	34,1	32,4	31,1	29,8	28,8
T2	39,5	38,4	37,5	35,5	36,2	35,2	35,3	34,9	34,8	33,4	33,7	32,3	32,2	32,0	31,3
T3	39,6	38,5	38,3	37,7	36,8	36,1	36,4	36,3	36,0	34,6	34,9	34,5	33,5	33,1	33,8
T4	41,3	40,9	40,0	39,4	39,0	38,3	38,0	36,8	37,4	36,7	36,8	34,4	35,7	34,9	34,6
T5	41,9	41,5	40,6	40,8	40,3	39,8	40,6	39,6	39,4	38,9	39,5	38,7	38,0	37,6	37,5
T6	42,8	41,6	40,5	40,5	39,2	38,8	39,4	39,0	38,5	39,1	37,9	37,5	37,3	36,8	36,3
T7	43,6	42,6	42,5	42,0	41,6	41,2	40,7	39,9	39,5	38,7	38,8	38,2	38,1	37,5	36,9
T8	44,1	43,0	43,2	42,6	42,6	42,6	43,3	42,6	42,2	41,4	42,2	41,8	41,2	41,0	40,0
T9	44,6	43,8	43,7	43,5	42,1	41,7	42,3	41,4	41,1	40,5	40,7	40,0	40,4	39,7	39,9
T10	49,3	47,8	48,3	47,1	47,2	47,1	46,7	46,5	46,4	45,7	46,3	45,4	44,6	44,6	43,7
MW	42,4	41,5	41,1	40,6	40,1	39,7	39,8	39,1	39,0	38,3	38,5	37,5	37,2	36,7	36,3
± SE	1,0	1,0	1,1	1,1	1,1	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,3	1,3	1,4	1,4
TP1	36,5	35,5	34,6	34,0	33,2	32,5	31,7	31,7	30,7	30,5	29,6	28,9	28,3	27,7	26,7
TP2	39,8	39,6	38,9	38,9	37,5	37,4	37,3	37,3	36,3	36,4	35,7	35,5	34,6	34,1	34,0
TP3	41,0	40,6	40,5	40,0	39,7	39,8	39,7	39,8	39,2	38,5	38,9	38,3	38,6	37,8	38,4
TP4	41,6	41,2	40,9	41,3	41,0	41,2	40,5	40,5	40,2	40,2	40,0	39,7	39,6	40,0	39,7
TP5	41,9	41,3	40,5	40,8	39,9	39,8	40,0	39,7	39,0	39,3	39,3	39,0	38,8	38,7	37,4
TP6	43,1	42,7	41,9	41,6	40,7	40,9	41,0	40,7	40,4	40,0	39,7	38,8	38,7	38,3	38,4
TP7	43,3	43,1	42,6	42,6	41,9	42,0	42,0	42,2	41,6	41,4	41,1	40,3	40,4	40,3	40,7
TP8	44,0	43,3	42,8	42,4	41,8	41,7	41,8	41,6	40,6	40,4	40,1	39,5	39,5	38,2	38,4
TP9	42,9	42,2	41,5	41,2	40,5	40,8	39,8	39,9	38,7	38,5	38,2	37,4	37,5	36,5	37,4
TP1	44,8	44,3	44,2	44,2	43,8	43,8	43,6	42,8	43,2	43,0	42,0	42,0	41,9	41,4	41,7
MW	41,9	41,4	40,8	40,7	40,0	40,0	39,7	39,6	39,0	38,8	38,5	37,9	37,8	37,3	37,3
± SE	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	1,0	1,0	1,0	1,1	1,1	1,1	1,1	1,2	1,2	1,3
E1	38,3	37,2	36,4	36,1	35,3	35,0	34,7	34,5	34,6	33,8	33,8	33,9	33,3	32,7	32,8
E5	42,4	41,8	41,1	40,1	40,0	39,9	39,6	40,1	40,3	39,7	40,5	40,0	39,7	39,1	38,4
E7	43,1	42,0	41,3	40,3	40,0	39,1	39,1	39,0	38,6	37,9	37,9	37,7	37,7	37,7	37,2
E8	43,0	42,2	41,4	40,1	39,6	39,1	38,3	37,9	38,0	36,8	36,4	36,5	35,8	35,2	34,7
E9	44,3	43,5	42,7	42,0	41,4	41,0	41,1	41,2	40,6	40,1	39,9	39,5	38,9	38,6	37,8
E10	45,5	44,5	44,0	43,4	42,4	42,2	41,8	41,4	41,9	40,7	40,9	40,4	39,9	40,2	40,0
MW	42,8	41,9	41,2	40,3	39,8	39,4	39,1	39,0	39,0	38,2	38,2	38,0	37,6	37,3	36,8
± SE	1,0	1,0	1,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,1	1,1	1,1	1,1	1,0	1,1	1,1	1,1
E2	40,7	39,5	37,7	36,8	35,7	34,2	33,2	33,0	28,7	†					
E3	41,2	39,8	38,9	38,0	37,5	35,3	34,4	33,3	32,1	31,4	†				
E4	39,9	38,9	37,5	35,7	34,2	33,2	32,1	31,2	31,0	†					
E6	42,7	41,8	40,7	39,7	39,0	38,9	39,2	37,1	35,8	†					

Tabelle A5: Futteraufnahme (g) der Zuckerratten in V1.

Tag Tier	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
C1	30	30	28	28	28	32	30	28	32	24	38	24	30	24	26	26
C2	32	32	36	36	30	35	34	34	34	28	34	26	20	34	34	28
C3	38	22	30	30	25	26	30	26	26	24	28	22	26	26	28	22
C5	30	34	37	37	37	39	36	40	34	37	32	30	34	32	34	36
C6	34	34	32	32	30	35	32	30	30	28	30	28	30	32	28	32
C7	30	34	34	34	28	34	30	32	26	26	25	26	22	26	24	22
C8	24	27	29	32	28	30	26	28	22	24	24	26	20	24	26	20
MW	31	30	32	33	29	33	31	31	29	27	30	26	26	28	29	27
± SE	1,6	1,7	1,3	1,2	1,4	1,6	1,2	1,8	1,7	1,8	1,9	1,0	2,1	1,6	1,5	2,2
CP1	5	27	28	24	27	27	23	23	21	22	28	24	20	22	22	24
CP2	28	32	36	34	30	35	34	34	34	28	34	26	20	29	31	28
CP3	27	22	30	30	25	26	30	26	26	24	28	22	26	26	25	22
CP5	27	28	27	26	28	29	27	23	25	23	21	24	22	20	21	19
CP6	34	34	30	31	30	29	27	23	23	25	23	22	26	21	24	26
CP7	30	34	31	32	28	34	30	32	26	26	25	26	22	26	24	22
CP8	24	27	29	32	28	30	26	28	22	24	24	26	20	24	26	20
MW	25	29	30	30	28	30	28	27	25	25	26	24	22	24	25	23
± SE	3,5	1,7	1,1	1,4	0,7	1,3	1,3	1,7	1,6	0,8	1,6	0,7	1,0	1,2	1,2	1,2
T1	28	32	33	38	32	37	34	16	22	25	22	24	21	26	20	24
T2	34	34	38	36	34	39	34	10	22	23	24	30	30	28	24	28
T3	30	32	34	35	34	32	30	12	16	22	20	22	22	24	22	24
T4	26	26	32	35	32	32	34	10	16	16	12	14	16	18	20	22
T5	26	32	28	32	30	26	28	18	20	22	20	20	24	20	26	24
T6	25	28	28	30	26	24	28	6	12	10	16	20	22	22	22	14
T7	30	25	30	35	30	32	32	18	24	22	45	24	26	26	26	24
MW	28	30	32	34	31	32	31	13	19	20	23	22	23	23	23	23
± SE	1,2	1,3	1,4	1,0	1,1	2,0	1,0	1,7	1,6	2,0	4,0	1,9	1,6	1,4	1,0	1,6
TP1	28	29	33	33	32	33	30	16	22	25	22	24	21	26	20	24
TP2	29	23	28	30	29	31	30	10	22	23	24	30	30	28	24	28
TP3	30	32	34	35	34	32	30	12	16	22	20	22	22	24	22	24
TP4	30	30	32	33	32	32	34	10	16	16	12	14	16	18	20	22
TP5	23	29	28	26	28	26	28	18	20	22	20	20	24	20	26	24
TP6	25	27	28	29	25	24	28	6	12	10	16	20	22	22	22	14
TP7	23	30	30	30	30	32	32	18	24	22	32	24	26	26	26	24
MW	27	29	30	31	30	30	30	13	19	20	21	22	23	23	23	23
± SE	1,2	1,1	1,0	1,1	1,1	1,3	0,8	1,7	1,6	2,0	2,4	1,9	1,6	1,4	1,0	1,6
C4	28	30	30	30	28	28	32	30	28	30	30	26	26	32	28	30
CP4	28	30	30	30	28	28	32	30	28	30	30	25	26	28	26	27
T8	26	30	30	30	30	32	31	14	20	20	16	6	22	14	0	†
TP8	17	25	28	25	28	27	25	14	20	20	16	6	22	14	0	—

Tabelle A6: Futteraufnahme (g) der Zuckerratten in V4.

Tag Tier	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
C1	20	17	24	27	24	22	26	36	28	28	32	32	32	28	30	34
C2	22	26	33	32	22	4	26	30	32	32	34	36	39	34	32	34
C3	24	31	30	32	26	28	26	36	20	33	30	34	18	30	22	32
C4	26	30	28	28	24	34	29	26	27	34	36	30	30	28	30	30
C5	27	32	31	34	29	30	32	30	32	28	32	36	32	34	32	30
C6	20	24	29	30	24	32	30	32	32	34	34	34	34	30	34	34
C7	24	28	34	26	32	32	32	36	29	37	36	34	34	30	30	22
C8	22	30	32	30	30	32	26	32	34	32	32	30	30	28	30	26
MW	23	27	30	30	26	27	28	32	29	32	33	33	31	30	30	30
± SE	0,9	1,7	1,1	1,0	1,3	3,5	1,0	1,3	1,6	1,1	0,8	0,8	2,1	0,9	1,3	1,5
T1	26	23	32	36	24	38	28	24	24	25	24	28	24	28	24	24
T2	20	31	32	26	29	32	24	18	16	22	22	24	24	22	24	26
T3	22	32	30	30	33	30	32	18	20	21	22	30	24	24	26	26
T4	28	33	22	32	30	32	34	28	22	23	22	28	30	28	30	26
T6	26	29	28	28	30	30	34	26	24	19	16	24	26	20	18	20
T7	22	28	29	33	32	32	30	25	20	25	22	22	24	24	22	22
T8	26	29	32	28	30	30	34	22	22	24	28	30	26	20	22	28
MW	24	29	29	30	30	32	31	23	21	23	22	27^a	25	24	24	25
± SE	1,1	1,2	1,4	1,3	1,1	1,1	1,4	1,5	1,1	0,8	1,3	1,2	0,8	1,3	1,4	1,0
TP1	32	24	29	28	28	20	28	24	24	25	24	28	24	28	24	24
TP2	24	22	32	30	26	34	32	18	16	22	22	24	24	22	24	26
TP3	28	30	29	26	30	30	30	18	20	21	21	30	24	24	26	26
TP4	31	30	30	28	32	28	33	26	22	23	23	28	30	28	30	26
TP6	33	32	30	32	30	30	32	26	24	19	16	24	26	20	18	20
TP7	28	29	34	28	30	28	28	24	20	25	22	22	24	24	22	22
TP8	34	36	30	32	30	36	37	22	22	24	28	30	26	20	22	28
MW	30	29	31	29	29	29	31	23	21	23	22	27	25	24	24	25
± SE	1,3	1,8	0,7	0,9	0,7	1,9	1,2	1,3	1,1	0,8	1,4	1,2	0,8	1,3	1,4	1,0
E1	32	22	32	28	26	32	24	20	20	24	24	24	18	24	24	22
E2	25	28	34	24	26	25	28	12	14	20	18	22	22	20	20	20
E3	30	30	32	32	30	29	30	22	11	18	12	16	14	20	20	18
E4	33	27	28	32	24	28	28	18	15	22	18	24	24	20	22	20
E5	36	34	37	32	38	36	36	18	25	26	24	24	20	22	24	21
E6	32	26	32	32	28	30	32	16	14	20	18	16	16	20	20	20
E7	32	31	32	30	34	28	32	18	21	22	20	20	18	20	18	19
E8	28	29	32	30	28	34	32	14	15	18	18	20	16	16	16	13
MW	31	28	32	30	29	30	30	17	17	21	19	21^a	19	20	21	19
± SE	1,2	1,3	0,9	1,0	1,6	1,3	1,3	1,1	1,6	1,0	1,4	1,2	1,2	0,8	1,0	1,0
EP1	28	32	32	28	30	31	30	20	20	24	24	24	18	24	24	22
EP2	38	22	28	26	22	16	18	12	14	20	18	22	22	20	20	20
EP3	8	34	30	30	28	28	31	22	11	18	12	16	14	20	20	18
EP4	28	32	26	26	26	30	27	18	15	22	18	24	24	20	22	20
EP5	30	24	30	32	32	32	33	18	25	26	24	24	20	22	24	21
EP6	32	29	26	26	32	30	30	16	14	20	18	16	16	20	20	20
EP7	30	24	30	30	34	32	29	18	21	22	20	20	18	20	18	19
EP8	34	30	32	32	30	32	33	14	15	18	18	20	16	16	16	13
MW	29	28	29	29	29	29	29	17	17	21	19	21	19	20	21	19
± SE	3,2	1,6	0,8	0,9	1,4	1,9	1,7	1,1	1,6	1,0	1,4	1,2	1,2	0,8	1,0	1,0
T5	24	30	27	30	29	28	32	18	18	21	20	22	16	12	18	12
TP5	30	30	32	29	28	28	29	18	18	21	20	22	16	12	18	12

Tabelle A7: Futteraufnahme der db/db Mäuse in V2.

Tag	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tier																	
C1	1,0	1,5	1,3	2,9	1,9	2,4	1,1	3,2	4,4	6,1	3,4	5,0	5,1	5,4	5,1	5,8	6,3
C2	0,9	1,5	0,5	1,3	0,8	0,6	2,7	2,4	5,7	5,4	4,5	4,0	7,0	3,3	3,4	1,8	4,3
C3	0,6	1,9	2,0	2,0	2,0	1,4	1,7	5,0	4,0	6,6	4,9	4,9	4,6	5,0	5,0	4,7	4,9
C4	0,6	1,6	2,4	2,6	3,1	1,4	1,1	2,6	5,6	7,2	5,7	5,2	3,8	5,1	4,5	4,4	4,8
C5	0,0	0,9	1,4	1,2	0,6	0,5	0,2	2,4	6,2	4,1	4,4	4,3	5,2	4,2	3,7	5,3	5,1
C6	0,4	1,5	2,1	1,2	1,6	2,0	0,5	3,2	5,6	5,3	5,8	5,6	5,6	6,2	4,0	5,3	5,4
C7	0,8	1,5	1,2	1,2	2,0	2,0	0,9	2,7	4,6	4,9	6,3	5,5	6,9	4,2	4,9	5,1	5,9
C8	0,6	2,4	3,8	1,8	2,9	1,3	2,8	3,6	6,4	3,8	5,4	6,2	5,3	5,7	4,4	5,5	5,4
C9	2,0	1,1	0,4	0,8	1,4	0,8	2,5	2,8	6,7	2,8	3,6	2,4	3,3	2,1	6,0	4,3	3,9
C10	0,7	0,7	2,1	1,0	2,7	2,2	1,5	3,0	6,3	5,5	4,9	3,9	4,6	2,1	4,1	4,3	3,3
MW	0,8	1,4	1,7	1,6	1,9	1,5	1,5	3,1	5,5	5,2	4,9	4,7	5,1	4,3	4,5	4,6	4,9
± SE	0,2	0,1	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3	0,4	0,3	0,3	0,4	0,5	0,2	0,4	0,3
CP1	0,1	0,7	1,3	1,4	1,4	0,5	1,1	3,2	4,4	5,0	3,4	3,8	3,5	4,1	5,0	3,1	6,0
CP2	0,9	1,5	0,5	1,3	1,3	0,6	2,7	2,4	5,4	5,4	4,5	4,0	4,9	3,3	2,6	1,8	4,3
CP3	0,0	1,9	0,0	2,0	2,0	1,4	1,7	5,0	4,0	6,6	4,9	4,9	4,6	5,0	5,0	4,7	4,9
CP4	0,6	1,6	0,2	0,2	2,7	0,2	1,1	2,6	5,4	4,7	4,3	3,9	3,8	5,1	4,1	4,2	4,8
CP5	0,5	0,9	1,4	1,2	0,6	0,5	0,5	2,4	6,2	4,1	4,4	4,3	5,2	4,2	3,7	5,3	5,1
CP6	0,5	1,5	2,1	1,2	1,6	2,0	0,5	3,2	4,0	3,6	3,1	3,2	5,6	3,9	4,0	4,3	4,6
CP7	0,8	0,4	1,2	0,2	2,0	2,0	0,9	2,7	4,6	2,2	3,8	3,7	0,0	3,7	3,1	5,1	5,0
CP8	0,0	0,0	0,2	1,0	3,1	2,1	1,5	3,6	5,5	2,9	3,3	4,3	3,1	5,1	1,6	4,6	4,2
CP9	0,1	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2	6,4	2,8	3,6	2,4	2,7	2,1	3,2	4,1	3,9
CP1	0,7	0,7	0,5	1,0	2,7	2,2	1,5	3,0	6,3	5,0	4,9	3,9	3,7	2,1	4,1	4,3	3,3
MW	0,4	0,9	0,8	1,0	1,7	1,1	1,1	3,0	5,2	4,2	4,0	3,8	3,7	3,9	3,6	4,2	4,6
± SE	0,1	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,4	0,2	0,2	0,5	0,3	0,3	0,3	0,2
T1	0,5	0,9	1,6	0,8	1,1	1,5	6,1	5,7	0,9	6,4	4,2	8,2	6,6	6,1	6,0	6,0	6,6
T2	0,4	2,2	1,7	0,4	1,7	0,3	4,8	4,5	4,9	4,9	4,2	5,7	4,6	4,8	5,7	4,9	4,6
T3	3,1	2,9	2,9	2,4	3,8	3,2	4,5	4,9	4,9	5,9	6,1	4,0	3,7	5,3	4,4	5,4	4,8
T4	0,2	1,7	2,6	3,3	3,2	3,5	5,2	5,7	5,5	6,2	5,0	5,2	5,5	5,7	6,1	6,8	4,0
T5	0,7	2,6	2,8	0,9	1,0	0,1	4,8	8,5	5,4	6,4	6,2	5,6	6,1	5,4	5,8	5,8	5,9
T6	1,1	1,4	3,2	2,4	3,1	3,4	6,2	4,7	4,8	4,4	4,2	4,4	3,4	3,5	4,1	5,5	3,5
T7	1,3	2,6	3,9	1,0	3,5	4,2	5,5	4,2	4,6	5,0	4,6	5,8	4,8	4,1	4,1	4,6	4,6
T8	2,1	2,1	3,0	1,0	1,6	3,1	5,9	6,0	6,5	6,4	6,7	5,8	6,9	6,9	5,4	5,9	5,8
T9	2,4	3,1	1,3	2,2	3,7	3,4	6,1	5,4	4,6	4,8	5,6	5,9	5,6	6,6	6,0	5,0	5,8
T10	3,0	0,7	2,1	1,7	2,4	1,8	5,7	4,1	5,0	5,2	5,3	5,6	5,6	4,5	4,5	5,7	5,6
MW	1,5	2,0	2,5	1,6	2,5	2,5	5,5	5,4	4,7	5,5	5,2	5,6	5,3	5,3	5,2	5,6	5,1
± SE	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	0,2	0,4	0,5	0,2	0,3	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2	0,3
TP1	0,5	0,9	0,2	0,8	0,0	1,5	4,6	5,1	0,9	4,2	4,2	2,3	3,7	3,0	4,6	4,0	4,6
TP2	0,5	2,2	1,7	0,5	1,7	0,5	4,3	4,3	4,9	4,9	4,2	5,7	4,6	4,8	5,7	4,1	4,6
TP3	0,1	0,1	1,5	2,4	1,2	3,2	4,5	4,9	4,4	4,1	4,2	3,0	3,7	3,5	3,9	5,4	4,8
TP4	0,5	1,7	2,6	3,3	3,2	3,5	5,2	5,7	5,5	6,2	5,0	5,2	5,5	5,7	6,1	6,8	4,0
TP5	0,0	0,5	0,9	0,9	1,0	0,5	4,8	5,2	5,4	6,4	6,2	5,6	6,1	5,4	5,8	5,8	5,9
TP6	1,1	0,4	3,2	2,4	1,8	3,4	6,2	4,2	2,5	4,4	4,2	4,4	3,4	3,5	4,1	5,5	3,5
TP7	1,3	0,8	2,7	1,0	3,5	4,2	5,5	4,2	4,6	5,0	4,6	5,8	4,8	4,1	4,1	4,6	4,6
TP8	0,0	0,1	1,6	0,0	0,2	3,1	4,9	5,0	4,8	4,9	5,1	5,8	6,0	6,4	4,4	5,9	5,8
TP9	0,0	0,7	0,2	1,4	2,6	3,4	5,2	3,8	4,6	4,8	5,6	4,4	4,1	4,8	4,0	5,0	5,8
TP1	0,0	0,7	2,1	1,7	2,4	1,8	5,7	4,1	5,0	5,2	5,3	5,4	5,6	3,4	4,5	5,7	5,6
MW	0,4	0,8	1,7	1,4	1,8	2,5	5,1	4,6	4,3	5,0	4,9	4,7	4,7	4,5	4,7	5,3	4,9
± SE	0,1	0,2	0,3	0,3	0,4	0,4	0,2	0,2	0,5	0,2	0,2	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3
T7 1	4,2	4,5	6,2	6,0	6,8	6,3	7,3	6,0	5,8	7,5	5,9	6,6	6,5	4,2			
T7 2	6,2	6,9	7,0	6,4	7,3	9,1	6,9	5,2	7,0	5,8	8,9	8,0	7,2	6,4			
T7 3	6,1	6,6	8,1	9,7	5,4	6,0	7,2	6,6	3,9	6,3	7,7	6,0	7,3	4,9			
T7 4	5,8	5,8	7,0	9,3	7,6	6,7	7,5	6,6	5,2	7,3	7,7	6,3	7,4	4,1			
T7 5	6,2	5,2	6,0	6,0	5,5	6,0	5,7	4,2	5,0	4,6	5,4	5,7	5,5	5,1			
T7 6	4,8	7,1	8,5	6,3	7,5	8,1	6,9	6,2	3,6	7,6	4,8	6,9	6,9	7,2			
T7 7	9,2	7,4	6,6	9,7	7,5	7,5	8,1	7,7	4,8	6,5	5,2	7,5	6,2	6,3			
T7 8	4,9	5,9	6,8	6,1	7,7	6,0	9,1	1,3	5,8	5,9	6,8	6,7	6,5	4,1			
MW	5,9	6,2	7,0	7,5	6,9	7,0	7,3	5,5	5,1	6,4	6,5	6,7	6,7	5,3			
± SE	0,5	0,3	0,3	0,6	0,3	0,4	0,4	0,7	0,4	0,4	0,5	0,3	0,2	0,4			

Tabelle A8: Futteraufnahme (g) der db/db Mäuse in V3.

Tag Tier	-13	-12	-11	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1
C1	4,0	3,6	5,4	4,3	5,1	4,5	4,2	4,9	4,2	4,2	3,6	4,1	5,1
C2	6,4	6,0	6,0	7,5	6,8	6,9	8,9	8,5	8,1	7,0	7,7	7,0	7,8
C3	5,7	6,0	6,2	6,3	6,5	7,0	7,0	7,6	6,0	6,2	7,4	9,6	10,1
C4	6,0	6,3	7,7	7,0	6,3	6,0	6,9	6,2	7,1	6,6	6,5	7,1	7,8
C5	4,7	5,4	5,6	6,1	5,4	5,7	5,8	4,5	5,9	5,3	3,9	4,3	5,8
C6	6,2	6,7	6,0	6,5	6,2	7,0	6,6	7,9	7,7	6,0	5,8	7,9	8,4
C7	7,3	7,4	7,6	7,7	7,9	8,2	8,6	8,3	7,8	8,1	7,8	7,6	9,3
C8	6,8	7,5	6,9	7,1	6,9	7,6	8,9	6,2	6,4	7,3	6,1	7,4	7,8
C9	6,4	7,0	8,3	7,4	5,9	6,0	6,4	8,1	7,0	6,3	6,6	6,8	6,7
C10	6,4	6,5	5,7	5,5	5,8	6,2	5,6	5,6	8,3	6,2	6,2	8,3	7,2
MW	6,0	6,2	6,5	6,5	6,3	6,5	6,9	6,8	6,8	6,3	6,1	7,0	7,6
± SE	0,3	0,4	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	0,5	0,4	0,3	0,5	0,5	0,5
T1	4,5	7,2	3,7	5,7	6,9	5,6	6,2	1,6	6,2	6,1	5,0	3,9	4,7
T2	8,0	7,7	8,0	8,9	7,8	7,8	8,4	9,8	9,9	7,9	6,8	8,4	9,1
T3	5,6	7,5	7,3	6,8	6,9	6,7	7,3	7,2	7,4	6,9	6,4	8,6	7,1
T4	6,0	7,5	6,7	6,1	5,6	6,9	6,8	6,8	7,4	5,7	7,0	7,2	8,3
T5	6,4	6,6	6,3	6,6	6,8	6,4	7,4	4,7	5,2	5,6	5,3	5,3	7,2
T6	7,5	8,1	8,3	7,6	6,9	6,8	7,8	7,4	7,5	7,2	7,6	5,7	4,0
T7	5,9	6,1	6,5	6,5	6,6	6,5	7,3	6,2	7,8	7,7	8,1	8,4	7,6
T8	5,1	5,0	3,9	6,2	5,9	6,3	6,8	7,0	6,2	6,0	8,0	6,3	7,2
T9	5,5	6,5	3,8	6,0	5,5	5,0	6,0	5,9	6,2	5,6	6,4	7,0	7,2
T10	6,3	7,5	8,2	7,3	7,2	8,4	8,4	6,7	9,7	8,3	6,5	7,6	7,5
MW	6,1	7,0	6,3	6,8	6,6	6,6	7,2	6,3	7,3	6,7	6,7	6,8	7,0
± SE	0,3	0,3	0,6	0,3	0,2	0,3	0,3	0,7	0,5	0,3	0,3	0,5	0,5
TP1	5,4	6,1	6,1	6,0	6,5	5,1	6,7	6,0	7,0	5,8	3,6	4,1	5,1
TP2	6,7	6,2	6,4	6,6	6,4	6,7	6,9	7,2	8,1	3,1	5,8	6,8	7,1
TP3	5,9	5,9	5,9	7,3	5,7	5,8	6,6	6,5	6,6	5,5	6,5	5,6	6,8
TP4	6,6	4,7	6,1	6,2	8,8	7,0	7,8	6,2	5,7	5,5	5,3	7,0	4,1
TP5	6,8	5,1	6,8	6,8	6,5	7,1	6,6	7,4	6,8	6,6	3,9	4,3	5,8
TP6	5,7	5,5	5,8	6,2	5,6	6,1	8,3	7,5	6,9	6,1	6,2	7,6	9,2
TP7	6,6	9,1	5,6	9,7	7,9	7,2	9,3	8,4	7,3	5,8	5,8	7,4	7,2
TP8	4,2	4,2	5,9	5,9	7,3	5,7	5,8	6,6	6,5	6,6	6,1	6,9	7,8
TP9	6,0	7,3	7,3	6,6	7,2	8,5	7,7	7,7	7,5	7,7	6,2	7,2	7,2
TP1	6,1	6,1	6,0	6,5	5,1	6,7	6,0	7,0	5,8	6,7	4,5	6,0	6,2
MW	6,0	6,0	6,2	6,8	6,7	6,6	7,2	7,0	6,8	5,9	5,4	6,3	6,6
± SE	0,2	0,4	0,2	0,3	0,4	0,3	0,3	0,2	0,2	0,4	0,3	0,4	0,5
E1	6,5	5,5	6,0	7,4	5,7	7,2	6,3	6,2	6,2	6,4	4,3	6,2	6,4
E5	5,2	4,5	7,2	3,7	5,7	6,9	5,6	6,2	7,0	6,2	6,1	7,9	8,3
E7	4,7	5,8	5,3	6,9	5,6	6,4	6,3	6,3	6,0	5,7	5,3	7,2	7,8
E8	6,3	8,4	8,1	9,1	8,6	7,0	8,5	8,0	8,0	8,0	7,0	7,1	7,0
E9	6,1	7,0	6,8	7,2	6,3	6,8	6,0	7,7	6,6	7,1	7,5	6,5	6,8
E10	6,1	6,5	6,5	6,6	6,5	7,3	6,2	7,8	7,7	9,2	6,8	5,4	6,7
MW	5,8	6,3	6,6	6,8	6,4	6,9	6,5	7,0	6,9	7,1	6,2	6,7	7,2
± SE	0,3	0,6	0,4	0,7	0,5	0,1	0,4	0,4	0,3	0,5	0,5	0,4	0,3
E2	5,0	7,0	6,2	8,0	6,8	6,9	7,8	7,2	6,9	8,4	7,0	5,7	6,5
E3	6,0	7,3	7,3	6,6	7,2	8,5	7,7	7,7	7,5	7,7	7,8	7,3	6,8
E4	5,2	5,8	4,9	5,1	6,8	6,8	6,5	5,9	6,6	7,4	6,8	8,3	8,3
E6	5,3	5,2	5,5	5,7	4,8	5,7	5,9	5,6	5,2	4,8	6,9	5,1	5,9

Fortsetzung Tabelle A8: Futteraufnahme der db/db Mäuse in V3.

Tag Tier	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
C1	5,6	3,6	5,3	3,9	2,3	3,6	3,1	3,6	5,6	3,6	5,6	4,7	5,1	3,0	3,5
C2	9,3	8,6	8,5	7,9	8,1	6,7	8,9	8,6	9,1	7,3	8,5	9,7	8,6	12,4	7,3
C3	9,9	8,2	10,4	8,8	8,4	7,2	7,3	8,3	7,2	8,1	8,6	9,2	8,7	9,8	7,3
C4	7,4	7,3	7,2	7,6	7,0	7,1	6,6	7,8	7,4	7,8	7,4	7,8	7,7	6,5	5,9
C5	6,7	6,8	7,5	8,9	6,8	8,2	7,1	8,2	7,9	7,4	6,5	8,2	7,7	6,9	6,1
C6	7,3	7,0	6,9	7,6	6,2	8,2	6,6	6,0	5,2	7,4	7,4	8,7	8,6	7,1	5,8
C7	8,0	7,3	8,1	8,9	7,2	8,3	6,5	8,1	6,8	9,0	7,2	10,3	8,6	8,6	9,0
C8	9,4	7,8	8,1	8,6	8,1	8,2	6,5	6,0	6,0	7,5	6,5	7,3	8,0	6,7	6,6
C9	7,6	8,7	8,2	8,7	6,5	7,6	6,7	6,7	8,0	7,6	7,3	8,1	8,4	7,8	1,7
C10	8,3	8,4	8,2	9,1	6,0	8,3	6,8	9,4	7,7	10,6	8,7	9,6	8,9	8,0	7,7
MW	7,9	7,4	7,8	8,0	6,7	7,3	6,6	7,3	7,1	7,6	7,4	8,3	8,0	7,7	6,1
± SE	0,4	0,5	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,6	0,3	0,5	0,4	0,8	0,7
T1	6,1	4,9	3,9	4,2	3,8	1,3	2,0	2,6	2,8	3,9	3,1	0,5	0,0	0,0	1,2
T2	9,8	6,6	7,1	7,4	6,9	7,4	7,5	8,2	7,7	8,5	8,4	8,6	8,5	7,6	6,6
T3	8,4	6,6	7,8	7,2	6,6	6,7	7,7	8,0	7,0	9,1	7,5	6,5	7,4	7,7	6,9
T4	8,1	6,4	6,7	8,3	6,9	8,1	6,6	7,4	6,9	7,7	8,1	7,9	8,4	7,7	6,8
T5	5,1	4,4	4,9	5,9	4,7	5,9	5,2	5,6	5,0	5,9	6,6	6,8	6,2	4,8	4,1
T6	6,5	5,3	5,0	6,9	6,0	7,6	6,0	7,8	6,9	8,3	7,4	8,8	8,4	6,5	7,4
T7	8,6	6,4	5,8	6,8	7,2	8,2	6,6	6,7	6,7	7,2	7,0	7,1	7,7	8,0	6,5
T8	7,0	4,8	8,0	6,8	6,8	6,9	7,7	8,2	6,5	7,5	7,6	7,3	7,7	7,1	6,7
T9	7,2	2,2	7,0	7,1	6,1	6,5	6,0	6,6	4,8	5,9	6,2	8,1	6,9	4,2	5,1
T10	8,7	8,3	8,3	9,0	8,6	10,0	7,0	7,7	9,5	10,5	8,6	8,6	10,3	9,5	7,5
MW	7,5	5,6	6,5	7,0	6,4	6,9	6,2	6,9	6,4	7,4	7,0	7,0	7,2	6,3	5,9
± SE	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4	0,7	0,5	0,5	0,6	0,6	0,5	0,8	0,9	0,9	0,6
TP1	6,1	4,9	3,9	4,2	3,8	1,3	2,0	2,6	2,8	3,9	3,1	0,5	0,0	0,0	1,2
TP2	7,5	6,6	7,1	7,2	6,3	7,4	7,1	7,1	7,7	6,5	7,0	7,6	7,9	5,6	6,4
TP3	6,8	5,8	5,9	7,2	5,9	5,6	6,1	5,9	6,7	6,5	6,6	6,5	5,8	5,7	5,9
TP4	6,2	5,7	5,3	5,6	5,8	6,1	5,1	6,0	5,7	6,6	7,5	7,0	5,5	5,8	5,1
TP5	5,1	4,4	4,9	5,9	4,7	5,9	5,2	5,6	5,0	5,9	6,6	6,8	6,2	4,8	4,1
TP6	5,7	5,3	5,0	5,7	6,0	6,5	6,0	7,2	6,9	7,2	7,4	5,7	6,4	6,5	5,3
TP7	6,5	6,4	5,8	5,6	7,2	6,5	6,6	6,7	6,7	6,8	7,0	6,6	6,4	6,4	4,5
TP8	7,0	4,8	8,0	6,8	6,8	6,1	7,7	6,9	6,5	7,0	7,4	7,3	7,6	7,1	6,7
TP9	7,2	2,2	7,0	7,1	6,1	6,5	6,0	6,6	4,8	5,9	6,2	8,1	6,9	4,2	5,1
TP10	6,8	7,1	8,3	6,2	7,4	5,8	6,5	6,2	8,8	7,4	7,2	7,1	7,0	6,7	5,4
MW	6,5^p	5,3	6,1	6,1	6,0	5,8	5,8	6,1	6,2	6,4	6,6	6,3	6,0	5,3	5,0
± SE	0,2	0,4	0,5	0,3	0,3	0,5	0,5	0,4	0,5	0,3	0,4	0,7	0,7	0,6	0,5
E1	7,2	3,9	5,0	4,3	3,1	3,4	5,6	5,4	3,8	5,7	6,3	6,9	7,0	5,8	5,1
E5	8,4	3,7	4,7	5,5	4,2	5,6	6,7	7,5	7,4	6,5	7,0	7,3	8,7	7,5	6,1
E7	6,9	1,6	1,3	3,0	4,2	4,8	4,1	5,9	4,8	5,1	5,0	6,7	7,1	6,4	6,5
E8	8,5	3,7	4,4	4,3	4,8	6,4	5,9	7,6	6,1	7,7	6,3	6,5	6,5	5,4	5,6
E9	6,7	3,9	3,3	4,8	5,5	6,0	5,5	6,3	6,3	7,9	6,3	8,3	7,4	6,9	5,7
E10	6,6	3,3	2,4	2,4	2,3	2,9	3,6	5,4	5,7	4,4	5,6	6,8	7,3	4,9	4,0
MW	7,4	3,3	3,5	4,0	4,0	4,8	5,2	6,3	5,7	6,2	6,1	7,1	7,3	6,2	5,5
± SE	0,4	0,4	0,6	0,5	0,5	0,6	0,5	0,4	0,5	0,6	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4
E2	6,8	0,4	6,0	0,9	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	†					
E3	6,9	1,5	2,6	2,6	1,6	0,6	0,0	0,0	0,0	†					
E4	5,7	1,7	0,6	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	†					
E6	5,5	0,0	0,0	1,7	1,0	3,9	3,8	1,3	0,0	†					

Tabelle A9: Wasseraufnahme (ml) der Zuckerratten in V1.

Tag Tier	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C1	30	34	28	28	32	30	32	34	40	30	38	32	36	40	36	42	34
C2	28	28	28	30	30	30	28	33	36	36	48	50	48	66	60	54	56
C3	24	24	28	24	24	20	20	24	28	22	28	22	26	52	30	26	28
C5	52	42	42	42	38	38	34	41	38	36	38	32	38	32	36	34	34
C6	38	36	34	44	40	42	44	42	58	62	60	66	64	68	56	64	66
C7	38	34	34	30	34	32	28	30	30	28	32	30	28	26	22	22	26
C8	26	26	26	26	28	26	26	24	26	26	28	26	26	24	32	24	24
MW	34	32	31	32	32	31	30	33	37	34	39	37	38	44	39	38	38
± SE	3,7	2,4	2,1	3,0	2,1	2,8	2,8	2,7	4,1	5,0	4,4	5,9	5,3	6,9	5,3	6,1	6,1
CP1	34	32	42	36	36	38	40	38	36	35	50	50	58	62	70	66	66
CP2	28	27	30	32	24	28	28	32	28	28	26	24	16	26	22	22	20
CP3	24	24	30	28	22	22	24	22	24	22	30	24	24	28	26	28	32
CP5	26	28	22	26	25	26	26	28	24	26	26	26	24	22	24	22	22
CP6	28	26	28	26	24	24	26	28	24	24	26	24	22	26	30	26	28
CP7	30	26	28	26	22	24	24	26	26	26	20	22	22	24	24	20	20
CP8	22	28	30	32	24	26	26	26	24	22	24	22	18	24	24	18	22
MW	27	27	30	29	25	27	28	29	27	26	29	27	26	30	31	29	30
± SE	1,5	0,9	2,3	1,5	1,8	2,0	2,1	1,9	1,7	1,7	3,7	3,8	5,4	5,3	6,5	6,3	6,2
T1	24	22	34	24	24	24	22	20	44	36	40	34	34	36	40	34	38
T2	36	34	39	30	31	32	30	24	48	56	46	42	46	46	42	50	48
T3	24	32	34	32	28	34	32	24	60	52	42	42	38	46	38	42	42
T4	24	26	32	32	34	30	32	18	46	20	26	22	32	32	32	28	30
T5	30	40	42	38	36	34	34	32	52	44	38	38	38	36	44	44	38
T6	22	26	22	22	20	20	24	20	38	30	30	26	32	34	34	18	32
T7	28	32	38	34	28	30	32	34	40	42	38	38	34	36	39	36	38
MW	27	30	34	30	29	29	29	25	47	40	37	35	36	38	38	36	38
± SE	1,8	2,3	2,4	2,1	2,1	2,0	1,7	2,3	2,8	4,7	2,6	3,0	1,9	2,1	1,6	4,0	2,3
TP1	24	25	22	26	24	28	22	18	20	22	18	22	20	20	20	22	22
TP2	26	11	40	35	34	30	28	22	23	40	34	34	32	32	30	34	36
TP3	31	28	28	25	28	24	22	18	20	22	19	22	18	18	16	18	18
TP4	26	26	22	24	24	24	22	16	20	16	12	16	20	18	20	20	20
TP5	4	22	20	2	33	20	20	20	17	16	18	14	17	14	22	18	20
TP6	26	26	29	26	24	24	24	22	20	20	20	22	20	18	22	18	22
TP7	26	28	24	24	28	28	32	24	32	28	35	19	22	22	22	16	20
MW	23	24	26	23	28	25	24	20	22	23	22	21	21	20	22	21	23
± SE	3,3	2,3	2,6	3,8	1,6	1,3	1,6	1,1	1,8	3,2	3,3	2,4	1,9	2,2	1,6	2,3	2,3
C4	28	22	24	24	20	22	22	24	28	22	26	24	24	38	26	30	40
CP4	23	28	24	26	24	24	28	26	22	28	22	22	24	22	26	20	26
T8	20	20	22	22	22	24	26	22	32	40	22	20	28	24	6	†	
TP8	26	32	31	28	32	26	26	22	28	24	18	14	26	12	14	—	

Tabelle A10: Wasseraufnahme (ml) der Zuckerratten in V4.

Tag	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tier																	
C1	2	2	28	19	19	0	23	20	24	17	16	22	20	16	18	19	16
C2	2	23	31	29	1	1	43	24	25	25	27	25	26	26	25	29	30
C3	11	25	14	20	14	17	16	13	17	19	15	16	5	18	13	18	19
C4	10	22	8	21	18	16	14	23	19	17	21	16	14	12	17	16	12
C5	16	20	15	21	20	8	29	15	22	18	20	19	19	21	23	22	21
C6	3	21	28	16	22	24	29	25	25	27	26	25	24	24	27	21	26
C7	8	21	21	2	35	22	17	25	18	22	20	21	26	27	26	24	35
C8	5	30	23	19	20	20	16	23	20	14	22	20	22	23	48	28	30
MW	7	21	21	18	19	14	23	21	21	20	21	21	20	21	25	22	24
± SE	1,8	2,9	2,9	2,7	3,3	3,3	3,5	1,6	1,1	1,6	1,5	1,2	2,5	1,8	3,8	1,6	2,8
T1	16	5	28	2	32	24	20	20	31	26	30	33	36	33	29	37	31
T2	10	19	18	3	30	18	2	29	23	33	31	43	41	37	42	41	37
T3	2	30	15	22	25	22	21	14	25	28	28	32	32	27	39	41	40
T4	16	27	1	39	21	23	26	26	39	38	38	43	36	41	38	33	38
T6	23	28	9	23	21	24	21	29	32	25	33	37	37	29	28	40	30
T7	14	19	21	25	22	16	23	30	30	31	29	31	29	32	31	24	35
T8	14	25	19	20	20	22	22	26	32	35	39	42	40	28	34	35	31
MW	14	22	16	19	24	21	19	25	30	31	33	37	36	32	34	36	35
± SE	2,4	3,2	3,3	4,9	1,8	1,2	3,0	2,2	2,0	1,8	1,6	2,0	1,6	1,9	2,0	2,3	1,5
TP1	33	19	21	21	9	25	20	17	15	15	14	19	17	15	14	14	15
TP2	14	13	38	21	4	35	22	14	15	23	14	17	17	16	20	19	19
TP3	16	12	17	22	24	13	27	9	17	10	12	22	13	16	15	15	14
TP4	27	20	18	14	23	18	24	16	15	14	16	15	16	16	19	15	21
TP6	30	20	8	27	22	16	21	15	15	13	14	19	14	15	21	15	19
TP7	25	16	20	16	18	19	18	12	13	18	16	16	20	18	13	17	17
TP8	18	18	26	26	25	26	27	14	18	19	18	20	17	24	17	17	19
MW	23	17	21	21	18	22	23	14	15	16	15	18	16	17	17	16	18
± SE	2,8	1,2	3,5	1,8	3,1	2,8	1,3	1,0	0,6	1,6	0,7	0,9	0,9	1,2	1,2	0,7	0,9
E1	24	0	30	20	20	16	8	22	25	31	36	29	31	30	31	32	34
E2	18	20	18	13	22	20	20	18	27	28	30	29	31	27	32	27	30
E3	30	26	23	21	12	25	19	31	27	33	28	27	32	39	35	33	33
E4	27	13	24	1	41	22	19	21	30	37	42	38	34	30	31	26	31
E5	27	17	26	24	15	25	25	35	51	47	45	38	31	38	46	34	30
E6	12	20	26	20	33	20	23	23	32	42	29	33	28	32	30	36	31
E7	26	27	23	24	27	0	27	32	33	34	35	32	32	33	34	31	33
E8	24	24	22	21	18	38	18	26	28	31	31	29	30	26	29	22	29
MW	24	18	24	18	24	21	20	26	32	35	35	32	31	32	34	30	31
± SE	2,1	3,1	1,2	2,7	3,4	3,8	2,0	2,1	2,9	2,2	2,2	1,5	0,6	1,7	1,9	1,7	0,6
EP1	10	17	27	18	21	21	20	8	15	18	19	19	20	19	22	18	19
EP2	24	1	42	25	27	1	31	19	15	25	13	21	21	20	25	27	24
EP3	2	41	23	21	17	22	23	15	10	17	10	14	16	16	16	17	20
EP4	23	18	20	18	2	30	16	12	12	15	10	1	34	12	16	15	14
EP5	20	21	21	21	20	21	22	12	22	21	19	19	16	17	18	18	19
EP6	22	23	1	33	26	25	25	13	14	21	15	16	15	19	22	20	20
EP7	18	2	36	20	23	26	23	14	1	33	1	26	17	15	13	17	16
EP8	16	20	22	22	25	26	24	16	14	19	12	15	14	16	17	14	16
MW	17	18	24	22	20	22	23	14	13	21	12	16	19	17	19	18	19
± SE	2,7	4,5	4,3	1,7	2,8	3,1	1,5	1,1	2,1	2,0	2,1	2,6	2,3	0,9	1,4	1,4	1,1
T5	15	26	21	22	22	22	23	27	33	35	35	33	31	38	29	18	12
TP5	27	19	17	27	20	19	20	10	15	14	13	14	10	11	13	12	15

Tabelle A11: Wasseraufnahme (ml) der db/db Mäuse in V2.

Tag Tier	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C1	12	7	7	11	9	10	8	14	21	25	13	19	21	20	20	24	25
C2	11	3	2	3	2	2	4	5	13	13	9	9	11	8	8	9	10
C3	12	3	3	3	4	3	3	4	8	11	12	12	13	12	12	11	14
C4	8	5	4	5	7	3	2	5	16	15	11	11	8	8	11	12	14
C5	20	14	5	4	4	3	2	7	23	21	17	16	20	15	13	17	16
C6	11	5	4	3	3	3	1	7	19	17	17	15	16	17	14	18	17
C7	17	7	5	5	6	7	4	8	18	17	20	19	19	18	18	18	17
C8	20	8	11	6	9	8	10	8	15	18	17	19	16	11	12	17	19
C9	18	7	3	2	4	2	5	9	19	15	5	8	9	10	13	17	15
C10	18	9	9	5	7	4	5	8	16	17	12	10	11	5	11	12	10
MW	15	7	6	5	6	5	4	8	17	17	13	14	15	12	13	16	16
± SE	1,4	1,0	0,9	0,8	0,8	0,9	0,9	0,9	1,3	1,3	1,4	1,4	1,5	1,6	1,1	1,4	1,4
CP1	16	4	5	5	6	3	4	11	18	20	14	13	12	13	18	10	24
CP2	21	2	2	2	3	2	4	6	13	15	11	11	10	10	11	6	10
CP3	4	10	1	4	5	4	4	18	18	27	20	20	20	19	20	20	20
CP4	16	9	3	3	7	2	3	8	16	17	16	13	13	15	12	13	14
CP5	14	4	3	4	3	3	3	6	17	17	18	18	20	18	15	24	21
CP6	7	2	3	2	3	3	2	6	8	6	4	4	5	7	9	10	10
CP7	46	3	3	2	2	4	2	6	12	1	8	1	8	9	4	11	14
CP8	1	3	3	7	5	3	2	11	15	4	4	6	6	5	8	12	11
CP9	8	2	3	2	2	2	2	3	8	14	7	3	3	3	6	9	10
CP1	12	3	2	2	4	4	3	7	17	7	13	9	7	5	9	12	9
MW	14	4	3	3	4	3	3	8	14	13	12	10	11	10	11	13	14
± SE	4,0	0,9	0,3	0,6	0,6	0,2	0,3	1,3	1,2	2,6	1,7	2,0	1,8	1,8	1,6	1,7	1,7
T1	20	5	8	8	4	5	24	27	29	28	32	23	28	29	26	26	31
T2	13	13	5	6	5	3	12	16	19	19	16	21	19	18	19	19	18
T3	19	15	13	11	20	13	19	19	21	25	26	14	12	20	20	23	19
T4	21	13	10	14	14	15	24	26	26	23	29	25	23	25	22	24	23
T5	17	8	9	7	5	3	15	23	25	25	25	21	20	25	24	22	25
T6	13	4	9	10	9	11	25	16	18	15	13	16	14	12	16	18	19
T7	8	7	10	7	8	12	16	13	16	18	15	16	15	13	13	15	17
T8	18	12	13	14	10	13	26	25	29	30	31	23	29	24	23	24	25
T9	21	11	9	14	13	14	23	16	17	19	23	22	22	21	22	18	23
T10	19	8	5	7	8	4	19	19	20	19	20	18	20	18	18	21	19
MW	17	10	9	10	10	9	20	20	22	22	23	20	20	20	20	21	22
± SE	1,4	1,2	0,8	1,0	1,6	1,6	1,5	1,6	1,5	1,5	2,2	1,1	1,7	1,7	1,2	1,1	1,4
TP1	10	8	4	3	2	4	18	18	2	11	13	10	10	11	13	13	13
TP2	17	10	10	5	5	3	15	21	22	23	21	26	20	18	23	20	18
TP3	13	6	3	7	3	9	12	10	11	11	11	8	8	8	11	14	13
TP4	18	11	11	15	15	18	24	24	25	27	20	23	23	24	25	26	19
TP5	1	22	11	8	7	7	24	29	29	33	31	27	29	24	23	26	25
TP6	8	6	13	9	10	15	23	15	3	13	17	15	12	14	17	22	15
TP7	22	9	10	6	13	18	23	17	22	22	22	25	20	18	19	22	19
TP8	20	15	13	5	4	13	22	20	22	23	23	26	27	28	22	27	28
TP9	8	4	3	4	5	10	15	9	12	15	16	15	9	15	16	18	19
TP1	11	6	8	8	10	8	17	14	16	19	18	17	14	15	18	21	21
MW	13	10	9	7	7	11	19	18	16	20	19	19	17	17	18	21	19
± SE	2,1	1,7	1,2	1,1	1,4	1,7	1,4	1,9	2,9	2,3	1,8	2,3	2,5	1,9	1,5	1,6	1,6
T ₇ 1	10	11	11	13	14	14	18	14	15	14	18	20	19	6			
T ₇ 2	17	22	20	24	24	31	32	17	28	29	35	39	36	36			
T ₇ 3	25	26	24	28	32	25	30	22	27	32	33	36	38	25			
T ₇ 4	26	27	26	36	35	33	34	26	26	39	40	30	37	24			
T ₇ 5	12	14	14	14	15	16	18	11	15	16	18	19	19	23			
T ₇ 6	16	21	24	20	23	23	25	15	19	21	24	27	25	18			
T ₇ 7	33	33	34	36	38	35	35	31	29	30	30	34	34	35			
T ₇ 8	17	21	23	21	22	25	26	12	21	26	28	29	29	18			
MW	20	22	22	24	25	25	27	19	23	26	28	29	30	23			
± SE	2,7	2,5	2,5	3,2	3,2	2,7	2,3	2,5	2,0	3,0	2,8	2,6	2,7	3,4			

Tabelle A12: Wasseraufnahme (ml) der db/db Mäuse in V3.

Tag Tier	-13	-12	-11	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1
C1	14	27	16	15	17	15	14	20	15	14	13	15	19
C2	40	31	28	38	33	35	46	45	45	37	46	36	43
C3	25	28	30	32	33	34	35	37	30	36	39	45	48
C4	21	21	28	27	23	24	22	26	29	33	30	34	35
C5	9	13	15	15	13	14	13	9	16	16	11	14	19
C6	29	32	31	27	28	30	26	33	36	28	33	39	42
C7	32	32	34	36	35	37	40	39	38	38	40	36	41
C8	27	29	27	30	28	32	35	37	24	32	27	32	36
C9	20	25	31	30	21	21	26	34	29	27	29	28	31
C10	22	23	26	24	24	28	26	27	35	27	32	31	27
MW	24	26	27	27	26	27	28	31	30	29	30	31	34
± SE	2,8	1,8	2,0	2,4	2,3	2,6	3,4	3,3	3,0	2,6	3,5	3,1	3,2
T1	11	12	15	15	20	13	18	15	16	16	17	15	15
T2	44	44	44	48	43	45	42	49	44	40	38	47	47
T3	23	32	32	32	32	33	35	4	36	34	38	38	37
T4	24	29	26	23	23	31	31	29	35	27	35	36	39
T5	23	24	21	24	23	23	22	21	18	23	22	21	25
T6	29	33	33	62	36	31	37	34	32	36	38	33	22
T7	25	28	29	28	31	30	35	29	38	37	37	37	38
T8	17	17	21	22	21	23	25	25	24	24	30	26	26
T9	16	18	8	19	18	15	19	20	22	21	23	24	23
T10	26	28	30	28	27	31	29	31	37	34	30	29	31
MW	24	26	26	30	27	27	29	26	30	29	31	31	30
± SE	2,8	3,0	3,2	4,5	2,6	3,0	2,6	3,8	3,1	2,5	2,5	3,0	3,1
TP1	28	31	33	33	35	30	38	35	40	35	22	25	31
TP2	27	26	26	24	23	27	30	33	26	23	28	31	35
TP3	22	23	7	25	20	21	23	24	24	25	21	23	27
TP4	17	17	22	21	2	23	25	21	19	19	18	19	20
TP5	15	21	22	24	20	24	21	26	26	26	22	22	32
TP6	23	23	22	19	21	25	29	31	29	32	33	33	36
TP7	19	25	22	25	21	28	26	23	24	20	23	30	27
TP8	17	22	26	22	25	24	24	28	27	28	27	30	35
TP9	32	34	37	33	35	42	40	33	38	41	32	39	42
TP1	18	19	19	22	19	27	22	26	22	31	22	25	29
MW	22	24	24	25	22	27	28	28	28	28	25^b	28	31
± SE	1,8	1,7	2,6	1,5	3,0	1,8	2,0	1,5	2,1	2,2	1,6	1,9	1,9
E1	24	23	22	29	23	28	27	28	23	25	25	29	29
E5	24	20	33	20	27	35	28	26	30	29	28	34	37
E7	15	21	19	22	22	25	24	25	26	26	24	31	31
E8	30	40	39	43	33	33	42	42	39	42	39	41	37
E9	22	9	30	29	28	29	26	31	31	32	36	30	34
E10	24	24	28	24	25	29	27	33	32	37	30	28	28
MW	23	23	28	28	26	30	29	31	30	32	30	32	33
± SE	2,0	4,1	2,9	3,4	1,6	1,5	2,6	2,5	2,3	2,7	2,6	2,0	1,6
E2	22	24	22	27	23	25	30	24	28	32	34	27	27
E3	27	33	34	28	33	38	40	41	39	42	26	40	36
E4	28	25	30	27	31	29	33	25	36	36	33	37	34
E6	16	17	18	18	17	23	20	17	20	18	21	21	21

Fortsetzung Tabelle A12: Wasseraufnahme (ml) der db/db Mäuse in V3.

Tag Tier	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
C1	16	15	16	13	7	8	8	8	10	13	14	11	12	12	10
C2	43	44	39	44	42	33	44	43	36	35	33	44	47	51	40
C3	45	36	30	27	23	34	29	43	39	46	44	48	45	34	39
C4	35	36	33	38	36	37	35	45	38	41	37	43	41	35	36
C5	24	27	26	28	24	33	25	31	28	27	28	30	32	32	28
C6	41	37	36	42	37	47	36	37	32	41	38	48	51	46	40
C7	40	36	39	44	40	51	35	47	36	46	35	45	42	49	47
C8	41	38	37	43	40	40	33	32	33	42	40	44	49	38	40
C9	31	34	35	40	30	35	34	34	34	38	33	41	39	37	39
C10	33	34	37	45	26	46	36	49	37	49	42	48	46	47	49
MW	35	34	33	36	31	36	31	37	32	38	34	40	40	38	37
±	2,9	2,5	2,3	3,3	3,4	3,8	3,1	3,8	2,7	3,4	2,7	3,6	3,6	3,6	3,5
T1	20	13	11	17	12	3	5	7	9	9	6	2	2	1	1
T2	50	45	42	46	42	48	48	49	47	48	46	49	51	46	42
T3	43	28	30	3	2	1	1	41	38	36	39	39	39	41	38
T4	39	34	40	45	39	44	41	44	41	45	48	49	48	46	40
T5	17	16	20	25	18	23	27	24	21	25	26	27	22	23	24
T6	30	31	26	33	35	43	33	41	38	42	37	37	42	36	41
T7	41	33	29	36	38	48	35	41	36	46	36	41	42	47	41
T8	20	21	27	30	31	32	28	36	29	31	32	39	34	33	35
T9	25	7	24	27	20	27	24	28	20	25	25	19	24	24	25
T10	39	33	41	44	39	49	37	42	42	44	45	41	48	47	41
MW	32	26	29	31	27	32	28	35	32	35	34	34	35	34	33
±	3,6	3,6	3,1	4,3	4,3	5,7	4,8	3,9	3,8	3,9	4,0	4,6	4,9	4,7	4,1
TP1	38	29	24	26	24	10	15	17	21	28	24	6	3	2	6
TP2	39	40	42	40	36	44	41	42	43	37	44	43	46	33	42
TP3	29	20	20	21	8	3	28	27	33	30	30	34	27	25	28
TP4	21	18	21	22	22	25	23	22	21	26	26	24	21	21	20
TP5	26	21	23	28	24	26	27	27	23	28	30	30	30	21	2
TP6	33	26	27	29	34	36	33	38	40	39	42	30	35	36	31
TP7	37	30	27	23	34	29	33	31	30	28	31	28	28	37	31
TP8	35	25	37	35	37	32	41	34	35	36	42	41	46	40	36
TP9	40	15	39	40	37	38	37	40	32	34	38	46	43	26	30
TP1	30	34	42	30	35	28	33	32	42	37	36	33	34	34	28
MW	33	26	30	29	29	27	31	31	32	32	34	31	31	27	25
±	2,0	2,5	2,8	2,2	3,0	3,9	2,5	2,5	2,6	1,5	2,2	3,5	4,1	3,6	4,0
E1	33	20	21	17	15	15	22	30	26	22	32	30	29	28	32
E5	37	10	15	25	16	27	31	35	36	32	32	34	42	36	33
E7	31	10	8	13	20	23	22	30	24	22	29	34	34	34	38
E8	47	19	19	22	27	34	28	39	33	40	29	34	37	31	31
E9	34	15	14	20	22	28	29	35	30	38	31	35	37	32	35
E10	33	14	11	12	8	10	12	22	25	15	21	27	25	18	21
MW	36	15	14	18	18	23	24	32	29	28	29	32	34	30^a	32
±	2,4	1,7	2,1	2,1	2,7	3,6	2,8	2,5	1,9	4,1	1,7	1,3	2,4	2,6	2,4
E2	33	4	39	44	40	51	35	1	1	†					
E3	36	15	37	43	40	40	33	1	1	0	†				
E4	19	11	5	5	1	1	1	1	1	†					
E6	22	6	4	5	4	9	13	6	1	†					

Tabelle A13: Organgewichte in V1.

Tier	Leber (g)				Nieren (g)			
	C	CP	T	TP	C	CP	T	TP
1	27,67	26,57	23,58	26,40	3,37	2,38	3,25	2,37
2	32,03	23,78	27,65	25,31	2,78	2,71	3,21	2,88
3	28,93	30,89	26,72	23,42	2,76	2,74	3,15	2,57
4	†	—	20,82	22,76	†	—	2,78	2,52
5	28,41	25,20	24,92	31,54	3,14	2,61	3,12	2,67
6	36,93	25,42	21,32	23,44	3,97	2,97	3,71	2,18
7	28,74	22,75	26,87	21,08	2,76	2,98	3,75	2,32
8	19,16	15,41	†	—	2,50	2,73	†	—
MW	28,84	24,29	24,55	24,85	3,04	2,73	3,28	2,50
± SE	2,02	1,78	1,04	1,29	0,19	0,08	0,13	0,09

Tabelle A14: Organgewichte in V4.

Tier	Leber (g)					Nieren (g)				
	C	T	TP	E	EP	C	T	TP	E	EP
1	21,39	18,64	16,99	14,76	14,75	2,66	3,16	2,42	4,39	1,97
2	18,24	21,43	18,64	17,10	21,34	2,30	2,86	2,39	2,44	2,16
3	21,62	16,51	22,34	15,87	12,90	2,65	2,90	2,37	2,51	1,94
4	22,99	19,16	25,93	19,69	16,65	2,49	2,98	2,68	2,80	1,76
5	18,32	†	—	18,50	16,56	2,70	†	—	2,55	2,04
6	23,64	19,81	17,18	15,59	15,93	2,53	2,55	2,28	3,06	2,10
7	24,28	18,35	21,78	17,29	13,93	2,92	2,64	2,68	2,79	2,08
8	25,95	18,94	27,45	18,35	17,06	2,83	2,62	2,82	2,52	2,09
MW	22,05	18,98	21,47	17,14	16,14	2,64	2,82	2,52	2,88	2,02
± SE	0,97	0,56	1,57	0,59	0,90	0,16	0,20	0,19	0,54	0,11

Tabelle A15: Organgewichte in V2.

Tier	Leber (g)				Nieren (g)			
	C	CP	TP	T ₇	C	CP	TP	T ₇
1	2,80	3,05	3,18	2,46	0,46	0,39	0,40	0,36
2	3,39	3,10	2,20	3,36	0,42	0,38	0,38	0,45
3	3,35	2,71	2,85	2,89	0,41	0,41	0,41	0,41
4	3,91	2,41	2,83	3,05	0,43	0,44	0,44	0,43
5	2,99	2,55	2,58	2,83	0,39	0,37	0,40	0,42
6	4,07	3,13	—	3,70	0,46	0,40	—	0,45
7	3,11	2,85	2,77	2,95	0,36	0,41	0,42	0,43
8	3,15	3,42	2,22	2,90	0,42	0,43	0,39	0,21
9	2,60	2,56	2,85		0,39	0,32	0,41	
10	3,30	3,61	2,58		0,46	0,39	0,40	
MW	3,27	2,94	2,67	3,02	0,42	0,40	0,40	0,39
± SE	0,14	0,12	0,10	0,13	0,01	0,01	0,01	0,03

Tabelle A16: Organgewichte in V3.

Leber (g)					Nieren (g)			
Tier	C	T	TP	E	C	T	TP	E
1	—	1,29	—	—	—	0,45	—	—
2	2,53	—	1,93	†	0,44	—	0,41	†
3	—	—	2,09	†	—	—	0,41	
4	2,17	2,52	2,43	†	0,42	0,47	0,40	
5	—	—	2,11	—	—	—	0,36	—
6	—	2,57	—	†	—	0,44	—	
7	2,69	2,20	—	—	0,48	0,44	—	—
8	2,44	—	—	—	0,44	—	—	—
9	2,43	—	—	—	0,43	—	—	—
10	—	3,15	2,74	—	—	0,48	0,41	—
MW	2,45	2,35	2,26		0,44	0,46	0,40	
± SE	0,08	0,31	0,14		0,01	0,01	0,01	

Tabelle A17: Plasmainsulinkonzentration in V1 (MW aus Doppelbestimmungen).

Insulinkonzentration (nmol/l)				
Tier	C	CP	T	TP
1	5,84	8,63	2,75	7,87
2	37,04	7,22	18,51	16,17
3	11,13	11,55	8,83	12,22
4	†	—	3,14	16,69
5	9,46	10,91	7,96	17,39
6	12,67	6,52	3,88	15,15
7	8,40	13,21	12,58	8,93
8	3,38	9,60	†	—
MW ± SE	12,56 ± 4,25	9,66 ± 0,91	8,24 ± 2,18	13,49 ± 1,46

Tabelle A18: Plasmainsulinkonzentration in V4 (MW aus Doppelbestimmungen).

Insulinkonzentration (nmol/l)					
Tier	C	T	TP	E	EP
1	7,58	1,39	1,80	1,68	0,63
2	8,13	3,54	0,62	3,10	1,99
3	9,17	2,79	0,93	1,55	0,71
4	7,00	2,45	3,05	2,57	0,88
5	3,53	†	—	1,11	1,15
6	3,34	5,54	0,88	4,37	0,80
7	1,50	1,83	4,47	0,75	1,19
8	1,25	3,98	17,54	0,85	1,49
MW ± SE	5,19 ± 1,11	3,08 ± 0,53	4,19 ± 2,29	2,00 ± 0,45	1,11 ± 0,16

Tabelle A19: Triglyzeridgehalt der Gewebe in V1.

Plasma ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)					Muskel ($\mu\text{g}/\text{mg}$)			
Tier	C	CP	T	TP	C	CP	T	TP
1	0,48	0,18	0,49	0,44	24,31	22,58	53,67	22,95
2	0,26	0,16	0,34	0,38	27,91	15,45	28,27	23,17
3	0,23	0,23	0,91	0,28	14,46	21,48	17,02	16,78
4	†	—	0,72	0,12	†	—	33,80	27,41
5	0,43	0,23	1,05	0,13	23,17	18,08	41,49	27,43
6	0,20	0,20	2,25	0,20	24,17	19,38	48,37	22,80
7	0,30	0,28	0,27	0,22	27,94	32,78	30,54	22,07
8	—	—	†	—	27,38	19,05	†	—
MW	0,32	0,21	0,86	0,25	24,19	21,26	36,17	23,23
± SE	0,05	0,02	0,26	0,05	1,78	2,11	4,76	1,37
Leber ($\mu\text{g}/\text{mg}$)					Fett ($\mu\text{g}/\text{mg}$)			
Tier	C	CP	T	TP	C	CP	T	TP
1	36,51	59,18	105,05	53,89	180,79	134,73	177,86	143,70
2	85,97	39,25	41,59	41,79	185,84	137,10	149,22	126,56
3	48,85	54,24	66,92	47,61	163,24	126,28	167,08	136,54
4	†	—	54,19	60,13	†	—	171,63	132,83
5	39,07	76,49	36,39	60,80	203,15	149,11	164,08	162,35
6	38,12	38,50	37,90	79,97	166,71	146,81	152,66	139,84
7	41,51	38,90	53,78	48,83	187,07	161,81	170,68	167,04
8	44,76	29,34	†	—	180,87	163,95	†	—
MW	47,83	47,98	56,55	56,15	181,09	145,68	164,74	144,12
± SE	6,55	6,12	9,06	4,74	5,05	5,29	3,93	5,71

Tabelle A20: Triglyzeridgehalt der Gewebe in V4.

Plasma ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)					
Tier	C	T	TP	E	EP
1	0,07	0,18	0,27	1,58	0,18
2	0,07	0,11	0,13	1,18	0,22
3	0,04	0,26	0,17	0,20	0,03
4	0,16	0,95	0,17	0,59	0,09
5	0,07	†	—	2,15	0,09
6	0,07	2,70	0,21	1,26	0,09
7	0,24	0,28	0,19	0,49	0,24
8	—	0,41	0,05	3,02	0,19
MW \pm SE	0,10 \pm 0,03	0,70 \pm 0,35	0,17 \pm 0,03	1,31 \pm 0,33	0,14 \pm 0,03
Leber ($\mu\text{g}/\text{mg}$)					
Tier	C	T	TP	E	EP
1	63,36	64,70	39,03	28,21	51,33
2	90,08	89,77	47,75	36,86	56,79
3	69,79	40,95	56,38	39,16	27,87
4	72,81	81,43	67,44	39,37	40,21
5	37,31	†	—	50,58	47,60
6	49,42	110,76	52,13	41,79	49,20
7	63,37	56,80	57,05	33,86	59,23
8	61,79	46,69	75,05	34,57	51,05
MW \pm SE	63,49 \pm 5,54	70,16 \pm 9,48	56,40 \pm 4,54	38,05 \pm 2,32	47,91 \pm 3,51
Fett ($\mu\text{g}/\text{mg}$)					
Tier	C	T	TP	E	EP
1	197,58	255,23	224,28	209,73	147,82
2	183,79	191,44	192,69	212,38	105,42
3	166,39	213,42	216,51	209,56	199,74
4	207,12	186,69	231,70	247,09	147,92
5	178,44	†	—	183,81	128,68
6	168,56	234,70	172,56	184,18	154,49
7	202,42	258,06	220,14	213,90	170,59
8	142,22	253,04	196,44	208,29	175,91
MW \pm SE	180,82 \pm 7,68	227,51 \pm 11,52	207,76 \pm 7,97	208,62 \pm 6,99	153,82 \pm 10,28

Tabelle A21: ³H-Gehalt im Triglyzeridanteil der Gewebe in V1.

Plasma (µg/µl)					Muskel (µg/mg)			
Tier	C	CP	T	TP	C	CP	T	TP
1	818579	2507248	852581	1063774	1687	2293	788	2153
2	1612606	2367472	1123089	1062809	1485	2580	1427	1895
3	1430184	1668185	404388	1354503	2315	1989	2500	2431
4	†	—	620011	3143641	†	—	1320	1512
5	1087778	1834210	386060	3215873	1677	2455	1086	1645
6	1676023	1851790	170428	2220034	1524	1986	853	1984
7	1724131	1451026	1504279	1901620	1366	1081	1411	2071
8	—	—	†	—	1447	2485	†	—
MW	1391550	1946655	722976	1994608	1643	2124	1341	1956
± SE	148601	166952	177163	345573	120	195	216	117
Leber (µg/mg)					Fett (µg/mg)			
Tier	C	CP	T	TP	C	CP	T	TP
1	901,29	846,91	282,51	874,72	330,11	316,85	230,19	258,66
2	392,71	1183,08	728,88	1173,70	243,65	306,99	243,94	411,12
3	534,15	712,05	423,50	900,15	236,66	460,27	334,52	257,88
4	†	—	688,63	679,40	†	—	319,84	242,85
5	766,43	572,14	966,97	660,23	167,71	1240,79	299,79	233,86
6	742,97	1089,74	1021,08	591,05	138,56	283,32	443,01	145,74
7	690,21	1241,66	683,74	937,98	147,14	249,48	380,91	120,89
8	756,85	1950,02	†	—	528,08	202,67	†	—
MW	683,51	1085,09	685,05	831,03	255,99	437,20	321,74	238,72
± SE	63,51	171,91	100,57	76,42	51,98	137,29	28,15	35,54

Tabelle A22: ¹⁴C-Gehalt im Triglyzeridanteil der Gewebe in V1.

Plasma (µg/µl)					Muskel (µg/mg)			
Tier	C	CP	T	TP	C	CP	T	TP
1	30230	86176	34205	43856	99,74	107,26	55,76	93,43
2	50545	78721	44355	36885	84,20	108,54	68,57	79,54
3	48583	56566	18596	43446	88,03	83,81	102,10	94,05
4	†	—	26821	103082	†	—	67,04	74,75
5	40049	61840	19473	104832	77,66	104,28	68,25	69,75
6	59525	63242	7865	74952	71,10	99,03	53,01	80,99
7	56380	50254	54858	63733	74,33	80,44	72,96	82,70
8	—	—	†	—	78,14	104,59	†	—
MW	47552	66133	29453	67255	81,89	98,28	69,67	82,17
± SE	4426	5570	6134	10695	3,68	4,34	6,06	3,40
Leber (µg/mg)					Fett (µg/mg)			
Tier	C	CP	T	TP	C	CP	T	TP
1	478,54	201,78	166,13	486,89	99,76	93,57	67,17	51,21
2	138,09	425,54	267,37	266,24	54,19	87,60	55,76	77,47
3	111,06	117,18	207,02	126,62	51,58	56,11	49,92	52,27
4	†	—	206,40	73,67	†	—	61,86	51,21
5	300,20	107,57	547,44	109,57	81,60	247,80	47,24	50,48
6	253,35	273,46	316,96	93,72	59,51	105,88	60,43	42,66
7	161,45	200,99	387,55	131,58	51,78	85,80	56,65	47,84
8	101,12	179,97	†	—	110,20	41,23	†	—
MW	220,55	215,21	299,84	184,04	72,66	102,57	57,01	53,31
± SE	51,30	40,96	50,14	55,72	9,28	24,64	2,61	4,21

Tabelle A23: ¹⁴C-Gehalt im Triglyzeridanteil der Gewebe in V4.

Plasma ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)					
Tier	C	T	TP	E	EP
1	84888	32467	40134	10820	36542
2	107751	27954	50606	14146	29699
3	149465	23837	58561	43918	270521
4	67599	7871	37011	17718	78143
5	113286	†	—	15087	74314
6	85177	39888	24711	16674	82556
7	27542	23041	25089	20442	28656
8	—	115857	128707	8120	31136
MW \pm SE	90815 \pm 14509	38702 \pm 13386	52117 \pm 13595	18366 \pm 3898	78946 \pm 28590
Leber ($\mu\text{g}/\text{mg}$)					
Tier	C	T	TP	E	EP
1	1124	1197	1822	3469	1389
2	1514	961	1860	2975	1231
3	752	1620	2633	3088	1610
4	2089	1518	1650	2534	1212
5	1696	†	—	3186	1199
6	1215	1244	416	2452	1094
7	924	1871	1028	2007	1169
8	1225	2009	861	2858	1159
MW \pm SE	1317 \pm 153	1489 \pm 143	1467 \pm 282	2821 \pm 165	1258 \pm 59
Fett ($\mu\text{g}/\text{mg}$)					
Tier	C	T	TP	E	EP
1	321,00	234,05	309,13	120,15	376,63
2	380,65	218,55	1979,67	259,90	584,20
3	495,29	175,94	419,83	220,34	415,69
4	363,67	217,45	315,56	115,00	316,62
5	509,59	†	—	236,95	416,77
6	430,11	200,78	116,47	239,59	432,50
7	359,00	218,17	222,49	176,34	282,88
8	520,92	164,86	343,67	202,62	151,32
MW \pm SE	422,53 \pm 27,44	204,26 \pm 9,54	529,55 \pm 244,40	196,36 \pm 19,36	372,08 \pm 44,79

Danksagung

An dieser Stelle gilt mein ganz besonderer Dank 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, danke ich 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.

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei Frau Margit Jourdan für die gute Zusammenarbeit, die ideen- und tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Studien und die vielen, manchmal nicht rein wissenschaftlichen Gespräche bedanken.

Allen Kollegen und Freunden des Arbeitskreises danke ich für die schöne und interessante gemeinsame Zeit am Institut.

Bei meiner ganzen Familie möchte ich mich für die immer liebevolle und verlässliche Unterstützung meiner persönlichen und beruflichen Entwicklung seit 30 Jahre bedanken.

Mein größter Dank aber gilt meinem Ehemann für seine Zuversicht, seine Geduld und seine bedingungslose Liebe.

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name: Michaela Bonfert
Geburtstag und –ort: 15.03.1979 in München
Familienstand: verheiratet

Schulische Ausbildung

1989-1998 Gymnasium Pullach, München/Pullach
06/1998 Abitur

Universitäre Ausbildung

11/1998– 08/2000 Vorklinik an der LMU München
08/2000 Ärztliche Vorprüfung
08/2001 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03/2004 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
05/2005 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Praktisches Jahr

04/2004-08/2004 Innere Medizin: St. Lukes Hospital, University of Malta, Malta
08/2004-12/2004 Pädiatrie: Kinderklinik und Poliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital, LMU, München
12/2004-04/2005 Chirurgie: Centre Georges-Francois Leclerc, Université de Bourgogne, Dijon, Frankreich

Berufliche Tätigkeit

seit 05/2005 Assistenzärztin an der Kinderklinik und Poliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital der LMU München