

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

---

**DIE ROLLE VON ALTER UND GESCHLECHT BEI CAFETERIA DIÄT – INDUZIERTEN EFFEKTEN  
AUF KÖRPERMASSE, KÖRPERFETT UND VERHALTEN VON SPRAGUE-DAWLEY RATTEN**

**DISSERTATION**

zur Erlangung des akademischen Grades  
eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

Vorgelegt dem Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie der Freien Universität Berlin

VON

**WIEBKE WARNEKE**

Berlin, Dezember 2010

Erster Gutachter:

**Prof. Monika Schäfer-Korting**  
Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie  
Institut für Pharmazie  
Freie Universität Berlin

Zweiter Gutachter:

**Prof. Heidrun Fink**  
Fachbereich Veterinärmedizin  
Institut für Pharmakologie und Toxikologie  
Freie Universität Berlin

Wissenschaftliche Betreuung:

**Prof. Jörg-Peter Voigt**  
School of Veterinary Medicine and Science  
University of Nottingham

Tag der Disputation: 18.03.2011

**MEINER FAMILIE**

**Arbeit, die fertig ist, lacht!**

(Japanisches Sprichwort)

### **Selbständigkeitserklärung**

Hiermit versichere ich, dass ich die Untersuchungen, auf denen die vorliegende Dissertation beruht, eigenständig und ohne unzulässige Hilfe Dritter durchgeführt und ausgewertet habe. Das Manuskript wurde von mir selbständig verfasst. Es wurden keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel und Quellen verwendet. Die aus fremden Quellen wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen sind als solche kenntlich gemacht.

Berlin, den

Wiebke Warneke

**Inhaltsverzeichnis**

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>vii</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Medizinische Bedeutung der Adipositas</b>	<b>1</b>
1.1.1 Konsequenzen von Adipositas	4
<b>1.2 Kontrolle der Nahrungsaufnahme und Verhalten</b>	<b>7</b>
<b>1.3 Zusammensetzung der Nahrung und Verhalten</b>	<b>15</b>
<b>1.4 Einfluss von Geschlecht und Alter</b>	<b>23</b>
<b>1.5 Aufgabenstellung und Zielsetzung</b>	<b>24</b>
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>28</b>
<b>2.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen</b>	<b>28</b>
<b>2.2 Futter und Fütterungsregime</b>	<b>28</b>
<b>2.3 Untersuchungen zur Nahrungs- und Wasseraufnahme</b>	<b>29</b>
<b>2.4 Metabolische Untersuchungen</b>	<b>30</b>
2.4.1 Körpermasse und energetische Effizienz der Nahrung	30
2.4.2 Oraler Glukose Toleranz-Test	31
2.4.3 Fettgewebe und Adipositas-Index	31
2.4.4 Blutfette	31
<i>Gewinnung des Plasmas</i>	31
<i>Analysen des Cholesterol-, Triglycerid- und freie Fettsäuregehalts</i>	32
<i>Cholesterol</i>	32
<i>Triglyceride / Glycerol</i>	33
<i>Freie Fettsäuren</i>	35

<b>2.5 Verhaltensuntersuchungen</b>	<b>36</b>
2.5.1 Aktivitätsmessungen	37
2.5.2 Elevated Plus Maze-Test	37
2.5.3 Open Field-Test	38
2.5.4 Habituation im Open Field-Test	39
2.5.5 Novel Object Discrimination-Test	40
2.5.6 Behavioural Satiety Sequence	41
<b>2.6 Versuchsplan</b>	<b>42</b>
<b>2.7 Statistische Auswertungen</b>	<b>44</b>
<b>3 Ergebnisse</b>	<b>45</b>
<b>3.1 Untersuchungen zur Nahrungs- und Wasseraufnahme</b>	<b>45</b>
<b>3.2 Metabolische Untersuchungen</b>	<b>51</b>
3.2.1 Körpermasse	51
3.2.2 Energetische Effizienz der Nahrung	54
3.2.3 Oraler Glukose Toleranz-Test	55
3.2.4 Fettgewebe und Adipositas-Index	56
3.2.5 Blutfette	61
<b>3.3 Verhaltensuntersuchungen</b>	<b>64</b>
3.3.1 Aktivitätsmessungen	64
3.3.2 Elevated Plus Maze-Test	68
3.3.3 Open Field-Test	72
3.3.4 Habituation im Open Field-Test	76
3.3.5 Novel Object Discrimination-Test	79
3.3.6 Behavioural Satiety Sequence	84

<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>89</b>
	<b>4.1 Einfluss der CD auf die Nahrungs- und Wasseraufnahme</b>	<b>90</b>
	<b>4.2 Einfluss der CD auf den Metabolismus</b>	<b>91</b>
	4.2.1 Körpermasse und Fettgewebe	91
	4.2.2 Oraler Glukose Toleranz-Test und Blutfette	94
	4.2.3 Diskussion der Ergebnisse der metabolischen Untersuchungen	96
	<b>4.3 Einfluss der CD auf das Verhalten</b>	<b>98</b>
	4.3.1 Lokomotorische Aktivität	98
	4.3.2 Angst- und Explorationsverhalten	99
	4.3.3 Lernen und Gedächtnis	102
	4.3.4 Nahrungsaufnahme und Sättigung	106
	4.3.5 Diskussion der Ergebnisse der Verhaltensuntersuchungen	109
	<b>4.4 Diskussion der Geschlechterdifferenzen</b>	<b>110</b>
	<b>4.5 Diskussion der Altersdifferenzen</b>	<b>112</b>
	<b>4.6 Schlussbetrachtung</b>	<b>114</b>
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>117</b>
<b>6</b>	<b>Summary</b>	<b>119</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>121</b>
<b>8</b>	<b>Vorveröffentlichungen</b>	<b>137</b>
<b>9</b>	<b>Danksagung</b>	<b>138</b>

**Abkürzungsverzeichnis**

4-AAP	4-Aminoantipyrin
5-HT	5-Hydroxytryptamin (Serotonin)
AC	Commissura anterior
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung
ADP	Adenosin-5'-diphosphat
AGRP	Agouti-related Protein
AM 251	Cannabinoid (CB)1 Rezeptor Antagonist
AMP	Adenosinmonophosphat
ARC	Nucleus arcuatus
AS	Aminosäure
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BLK	Blindwert
BMI	Body Mass Index (Körpermasseindex)
BSS	Behavioural Satiety Sequence
CARDIA	Coronary Artery Risk Development in Young Adults
CART	Cocaine- and Amphetamine-regulated Transcript
CCK	Cholecystokinin
CD	Cafeteria-Diät
CHE	Hydrolyse
CHO	Oxidation
cm	Zentimeter
CoA	Coenzym A
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
DAP	Dihydroxyacetonphosphat
DHA	Docosahexaensäure
DIFE	Deutsches Institut für Ernährungsforschung
DIT	Diätinduzierter Thermogenese
dl	Deziliter
DMH	Nucleus dorsomedialis
EPA	Eicosapentaensäure
EPM	Elevated Plus Maze

---

ESPA	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -(3-sulfopropyl) <i>m</i> -anisidin
F344	Fischer344 Ratte
FS	Fettsäure
G-1-P	Glycerol-1-phosphat
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
GK	Glycerolkinase
GLUT2	Glucosetransporter Typ 2
GPO	Glycerol-Phosphat-Oxidase
h	Stunde
H <sub>2</sub> O	Wasser / Aquadest
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HDL	High Density Lipoprotein
i.c.v.	Intracerebroventricular
i. Tr.	in Trockenmasse
kg	Kilogramm
KiGGS	Studie des Robert Koch-Institutes zur Gesundheit von Kindern
kJ	Kilojoule
l	Liter
LAC	$\alpha$ -Lactalbumin
LH	Lateraler Hypothalamus
m	Meter
MCH	Melanin-concentrating Hormone
MEHA	3-Methyl- <i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -( $\beta$ -Hydroxyethyl)-Anilin
mg	Milligramm
min	Minute
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule (Torr)
mmol	Milimol
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
NAc	Nucleus accumbens
NEFA	unveresterte Fettsäuren
nm	Nanometer
NOD	Novel Object Discrimination
NPY	Neuropeptid Y
O <sub>2</sub>	Sauerstoff

OC	Chiasma opticum
OF	Open Field
oGTT	Oraler Glukose Toleranz-Test
pH	Pondus Hydrogenii
pn	Postnatal
POD	Peroxidase
PPi	Phosphorsäure
PVN	Nucleus paraventricularis
RGT	Enzymreagenz
s	Sekunde
SCN	Nucleus suprachiasmaticus
SD	Sprague-Dawley Ratte
SGLT1	Natrium/Glucose-Cotransporter 1
SH	Spontan hypertensive Ratte
STD	Standard
TG	Triglyceride
THV	Taille-Hüft-Verhältnis
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
VMH	Nucleus ventromedialis
VTA	Ventrales tegmentales Areal
WHO	World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation)
WKY	Wistar–Kyoto Ratte
ZNS	zentrales Nervensystem
$\alpha$ -MSH	$\alpha$ -Melanozyten-stimulierendes Hormon
$\omega$ -3-FS	Omega-3-Fettsäuren
°C	Grad Celsius
$\mu$ g	Mikrogramm
$\mu$ l	Mikroliter

## **1 Einleitung**

Es gibt immer mehr Hinweise darauf, dass kognitive Funktionen und emotionales Verhalten unter dem Einfluss der aufgenommenen Nahrung stehen. Diese tierexperimentelle Studie dient der systematischen Untersuchung des Einflusses einer hochkalorischen Cafeteria-Diät (CD) auf das Verhalten und metabolische Parameter bei Sprague-Dawley (SD) Ratten. Eine Besonderheit dieser Arbeit liegt in dem Einschluss gezielter Untersuchungen der Faktoren Alter und Geschlecht.

### **1.1 Medizinische Bedeutung der Adipositas**

Für die evolutionäre Entwicklung von Mensch und Tier waren der fortwährende Kampf um Nahrung und die Befähigung zur Speicherung von Energie im Fettgewebe unerlässliche Voraussetzungen. Heutzutage hat diese Fähigkeit in den Industrieländern durch das regelmäßige Nahrungsangebot an essentieller Bedeutsamkeit verloren. Obwohl das Angebot gesunder Nahrungsmittel in den Industrienationen mehr als ausreichend ist und die Bevölkerungen über die Grundregeln der gesunden Ernährung aufgeklärt sind, nehmen ernährungsbedingte Krankheiten wie Adipositas und deren Folgeerkrankungen stetig zu.

Adipositas ist definiert als eine über das Maß hinausgehende Zunahme des Körperfettes. Eine Berechnungsgrundlage für Gewichtsklassifikationen von Übergewichtigen ist der Körpermasseindex (Body Mass Index, BMI). Der BMI ist der Quotient aus Gewicht und Körpergröße zum Quadrat ( $\text{kg/m}^2$ ). Übergewicht ist definiert als ein  $\text{BMI} \geq 25$ , während Patienten mit einem  $\text{BMI} \geq 30$  als adipös eingestuft werden. Ein weiteres Maß ist das Taille-Hüft-Verhältnis (THV), das als Quotient von Taillen- und Hüftumfang angegeben wird. Dieses Verhältnis liefert genauere Informationen über das Fettverteilungsmuster und soll bei Männern kleiner als 0,9, bei Frauen kleiner als 0,8 sein (Tab. 1.1).

Kategorie	BMI	THV	Risiko für Begleiterkrankungen des Übergewichts
Untergewicht	< 18,5	< 0,8 (♂) < 0,7 (♀)	Niedrig
Normalgewicht	18,5 – 24,9	≤ 0,9 (♂) ≤ 0,8 (♀)	Durchschnittlich
Übergewicht	≥ 25,0	0,91 – 0,99 (♂) 0,81 – 0,84 (♀)	Gering erhöht Erhöht Hoch Sehr hoch
Präadipositas	25 – 29,9		
Adipositas Grad I	30 – 34,9	> 1,0 (♂)	
Adipositas Grad II	35 – 39,9	> 0,85 (♀)	
Adipositas Grad III	≥ 40		

Tab. 1.1: Gewichtsklassifikationen bei Erwachsenen anhand des BMI und THV (nach DGSP, 2007).

Die Prävalenz der Adipositas nimmt in Deutschland seit geraumer Zeit beständig zu (Mensink *et al.*, 2005; Tab. 1.2). Gegenwärtig sind über die Hälfte der Männer ab einem Alter von 18 Jahren übergewichtig und circa 17 % adipös. Bei den erwachsenen Frauen ist über ein Drittel übergewichtig und etwa 20 % sind adipös. Die Verbreitung der Adipositas nach Alter und Geschlecht kann der Tab. 1.3 entnommen werden. Allerdings beschränkt sich das Problem der Übergewichtigkeit bei Weitem nicht nur auf die erwachsene Population. Die bundesweite Kinder- und Jugendgesundheitsstudie „KiGGS“ des Robert Koch-Instituts offenbarte anhand von Untersuchungen an 8656 Mädchen und 8985 Jungen aus insgesamt 167 deutschen Städten und Gemeinden, dass 15 % der Kinder im Alter zwischen 3 und 17 Jahren übergewichtig sind. Weitere 6 % leiden an Adipositas. Auch im restlichen Europa und den USA ist die zunehmende Adipositas im Kindes- und Jugendalter alarmierend (Harlan, 1993; Bonat *et al.*, 2002; Kolotkin *et al.*, 2006; Meszaros *et al.*, 2008; Sweeting *et al.*, 2008; Gomez-Martinez *et al.*, 2009; Mavrakanas *et al.*, 2009).

Beobachtungszeitpunkt		1984 bis 86	1987/88	1990 bis 92	1998	2003	Differenz 1984 bis 2003
♂	BMI 25 bis < 30	50,1	50,1	49,3	49,8	52,9	+2,8
	BMI ≥ 30	16,2	15,0	18,0	21,5	22,5	+6,3
♀	BMI 25 bis < 30	32,0	32,1	32,1	31,5	35,6	+3,6
	BMI ≥ 30	16,2	17,5	21,2	22,4	23,3	+7,1

Tab. 1.2: Deutschlandweite Verbreitung von Übergewicht und Adipositas im Zeitraum 1984 bis 2003 [%] (Bundesweite Gesundheitssurveys des RKI und Bertelsmann Gesundheitsmonitor, 2003).

Altersgruppen	♂		♀	
	Übergewicht	Adipositas	Übergewicht	Adipositas
18 bis 29	28,9	3,7	16,2	4,0
30 bis 39	46,4	13,9	26,4	11,0
40 bis 49	53,1	19,9	32,3	15,3
50 bis 59	53,2	25,3	42,0	25,4
60 bis 69	62,1	22,8	46,3	33,0
ab 70	58,2	22,8	45,7	32,2

Tab. 1.3: Verbreitung von Übergewicht und Adipositas nach Alter und Geschlecht [%] (Mensink *et al.*, 2005).

Grundsätzlich wird bei der Entstehung einer Adipositas dem Körper mehr Energie zugeführt als er verbraucht. Trotz dieser simpel erscheinenden Grundregel sind die an der Energiezufuhr durch Nahrung und an der Energiedissipation über den Stoffwechsel angreifenden komplizierten Regelvorgänge nur teilweise aufgeklärt. Der die Adipositas charakterisierende Aufbau enormer Fettdepots und das daraus hervorgehende Übergewicht sind das Resultat von Störungen komplexer Regulationsmechanismen, bei denen sowohl zentralnervöse als auch periphere Prozesse eine Rolle spielen. Die durch Adipositas hervorgerufenen Störungen der Energiehomöostase können durch verschiedene Ursachen entstehen:

- Familiäre Disposition, genetische Ursachen,
- Fehlernährung (energiedichte Lebensmittel),
- Bewegungsmangel (sitzende Tätigkeit, passive Freizeitgestaltung),
- Stress (Belohnungessen, Stressessen),
- Essverhalten / Essstörungen (Frust- und Langweileessen, Esssucht, Bulimie),
- Endokrine Erkrankungen (Hypothyreose),
- Medikamente (Antidepressiva, Neuroleptika, Antidiabetika),
- Weitere Ursachen (Immobilisierung)

Weitere soziokulturelle Faktoren wie Warenüberangebot, Werbung, attraktive Präsentation und Färbung sowie ansprechender Geruch und Geschmack der Lebensmittel durch Farbstoffe und Geschmacksverstärker, geringe Kosten und falsche Erziehung tragen zum vermehrten Konsum hochkalorischer Lebensmittel und somit zu dem rasanten Anstieg einer adipösen Bevölkerung bei (Berthoud, 2007).

Mit gehäuftem Auftreten von Adipositas und deren Komorbiditäten sind weltweit Kostenanstiege in den Gesundheitssystemen zu erwarten (WHO, 2000). Aufgrund dessen wurde speziell in den letzten Jahren die Dringlichkeit erkannt, präventiv gegen Adipositas und assoziierte Störungen vorzugehen. Große Bedeutung kommt hierbei der Erforschung von Entstehungsmechanismen der Adipositas zu, die in Interaktionen von genetischen und Umweltfaktoren zu suchen sind (Perussé *et al.*, 1998; Branson *et al.*, 2003). Die genetische Ursachenforschung bei der Entstehung extremer Adipositas hat in den letzten Jahrzehnten erhebliche Fortschritte gemacht (Chagnon *et al.*, 2000; Rankinen *et al.*, 2006). Aktuell wurden 14 bekannte Genregionen für Fettleibigkeit bestätigt und weitere 18 neu identifiziert (Speliotes *et al.*, 2010). Da sich der Genpool der Bevölkerung in den vergangenen ein bis zwei Jahrzehnten jedoch nicht signifikant geändert haben kann, kommt dem Faktor Umwelt in Interaktion mit dem genetischen Hintergrund eine gesteigerte Bedeutung zu.

### 1.1.1 Konsequenzen von Adipositas

Zu den Komorbiditäten und Komplikationen von Übergewicht und Adipositas gehören metabolische und kardiovaskuläre Erkrankungen wie Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels (Insulinresistenz, gestörte Glukosetoleranz, Diabetes mellitus Typ 2), Dyslipoproteinämie (niedriges HDL-Cholesterin, Hypertriglyceridämie), kardiovaskuläre Störungen (koronare Herzkrankheit, Schlaganfall, Herzinsuffizienz), degenerative Erkrankungen des Bewegungsapparates (Coxarthrose, Gonarthrose, Wirbelsäulensyndrome) sowie psychische Beschwerden (depressive Episoden, Selbstwertminderung, soziale Isolation). Darüber hinaus gilt Adipositas als der stärkste Promotor des Metabolischen Syndroms. Die Diagnose dieses Syndroms wird nach einer Empfehlung der International Diabetes Foundation anhand der Kriterien erhöhter Taillenumfang (bei Männern  $\geq 94$  cm, bei Frauen  $\geq 80$  cm), erhöhte Triglyzeride ( $> 150$  mg/dl), niedriges HDL-Cholesterin (bei Männern  $< 40$  mg/dl, bei Frauen  $< 50$  mg/dl), Bluthochdruck (ab  $> 130$  mmHg systolisch und  $> 85$  mmHg diastolisch) und erhöhte Nüchternblutglukose (ab  $> 100$  mg/dl) gestellt. Wenn starkes Übergewicht und drei dieser fünf Kriterien zusammenkommen, liegt ein Metabolisches Syndrom vor. Patienten mit solchem Krankheitsbild haben ein dreifach erhöhtes Risiko, kardiovaskuläre Komplikationen zu erleiden (Lakka *et al.*, 2002; Sattar *et al.*, 2003) und besitzen eine weit höhere Prädisposition für Komorbiditäten wie Diabetes mellitus Typ 2, Nierenversagen und die Entstehung gewisser Karzinome (van Dijk & Buwalda, 2008).

Gegenwärtige Erkenntnisse zeigen, dass Adipositas darüber hinaus auch weiter reichende Konsequenzen haben kann. So ähnelt adipositasassoziiertes Essverhalten nicht nur in der Erscheinung, sondern auch auf neurobiologischer Ebene süchtigem Verhalten (Lowe & Butryn, 2007). Suchterkrankungen und Adipositas weisen verwandte Krankheitsmuster auf, bei denen die Betroffenen ihr Verhalten trotz des Bewusstseins um negative Gesundheitsstörungen ausführen (Davis & Carter, 2009). Ein chronischer Kreislauf von Episoden exzessiven Konsums mit einhergehendem Kontrollverlust, gefolgt von Phasen weitgehender Enthaltensamkeit, die wiederum in Konsumverhalten resultieren, ist charakteristisch (Kiefer & Grosshans, 2009). Der Entstehung freudvollen Empfindens bei der Nahrungsaufnahme liegt die aktivitätssteigernde Wirkung auf das mesolimbische Dopaminsystem zu Grunde. Man spricht von der mesolimbischen dopaminergen Belohnungsbahn, die sowohl durch Nahrungsaufnahme als auch durch Drogenkonsum angeregt wird. Viele suchterzeugende Stoffe wie Morphin, Alkohol, Nikotin und Kokain steigern die Freisetzung von Dopamin in den limbischen Innervationsgebieten (Volkow & Wise, 2005). Hinsichtlich der Nahrungsaufnahme scheint vor allem der Zuckergehalt einen starken Einfluss auf die Entstehung unkontrollierten Konsums zu haben (Avena *et al.*, 2008; Avena *et al.*, 2009). Das Ausmaß des Belohnungseffekts von Nahrung ist jedoch im Gegensatz zu dem von Rauschgiften abhängig vom Hungerzustand. Während der Drogenkonsum meist nur durch physische, psychische oder soziale Konsequenzen gezügelt wird, tritt bei der Nahrungszufuhr das Sättigungsgefühl als begrenzender Faktor auf (Kiefer & Grosshans, 2009).

Anhand bildgebender Verfahren konnte festgestellt werden, dass Patienten mit Abhängigkeitserkrankungen eine reduzierte Dopamin-D<sub>2</sub>-Rezeptordichte in der Region des Nucleus accumbens (NAc) aufweisen (Volkow *et al.*, 2001; Heinz *et al.*, 2004). Auch adipöse Patienten zeigen eine geringere Dichte dieses Rezeptors (Wang *et al.*, 2001). Zudem liefern funktionell magnetresonanztomographische Untersuchungen Anhaltspunkte dafür, dass auch die dynamischen Aktivierungsmuster im mesolimbischen System nach Darbietung nahrungsmittelassoziierter Reize entsprechend denen von Suchtmittelreizen sind (Small *et al.*, 2001; Heinz *et al.*, 2004).

Durch appetitregulierende Peptide wie Leptin, Ghrelin und Orexin werden die energiehomöostaseregulierenden, hypothalamischen Systeme mit der dopaminergen, mesolimbischen Regulation des hedonischen Empfindens verknüpft (Lutter & Nestler, 2009). Über Rezeptoren am ventralen tegmental Areal (VTA) des Mittelhirns modulieren diese Hormone die Aktivität dopaminergener Neurone, die in den NAc und den präfrontalen Cortex projizieren (Abb. 1.1). In tierexperimentellen Untersuchungen führte die intrakraniale

Infusion des Sättigungshormons Leptin zu einer Reduktion des extrazellulären Dopamins im NAc um circa 35 % (Krugel *et al.*, 2003).

Neben der gegenseitigen Beeinflussung von homöostatischem und motivationalem System lösen auch umweltbedingte Reize wie der Geruch oder Anblick von Mahlzeiten das Verlangen nach Nahrungsaufnahme aus (Pelchat, 2009). Auch stressbeladene Situationen können zu unkontrollierten Essattacken führen, da durch die Nahrungsaufnahme die Ausschüttung endogener Opiode stimuliert wird. Opiode spielen eine schützende Rolle bei der Schmerzunterdrückung im Rahmen von Stressreaktionen und haben über Inhibition GABAerger Interneurone im VTA indirekten Einfluss auf die Dopaminausschüttung (Adam & Epel, 2007; Lutter & Nestler, 2009). Nach der Nahrungsaufnahme erhöht ein gesteigerter Blutglukosespiegel die Dopaminausschüttung im NAc, sorgt für das Entstehen von Befriedigung und führt zur Reduktion des Appetits.

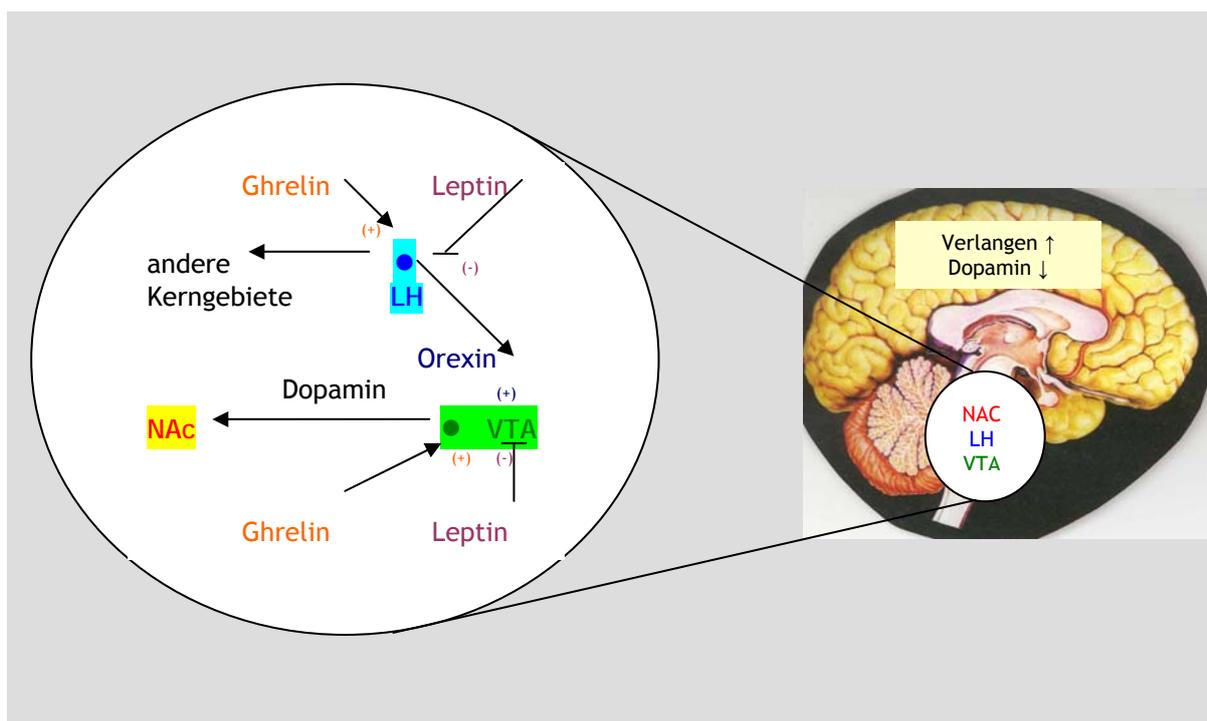


Abb. 1.1: Appetitregulierende Peptide Leptin, Ghrelin und Orexin verknüpfen energiehomöostaseregulierende Systeme (lateraler Hypothalamus, LH) mit dem dopaminergen mesolimbischen System, dessen dopaminerge Neurone vom ventralen tegmentalen Areal (VTA) zum Nucleus accumbens (NAc) projizieren. Aktuelle Befunde weisen darauf hin, dass eine Hemmung der dopaminergen Aktivität (hohes Leptin, niedriges Ghrelin und Orexin) mit einer Zunahme von Suchtdruck für Suchtstoffe einhergeht (nach Kiefer & Grosshans, 2009).

Die Regulation des Appetits kann neben dem Einfluss des energiehomöostatischen Systems auch durch psychosoziale, körperliche, alters- und krankheitsbedingte Faktoren gesteuert werden (Strube, 2006). Während die in Populationen mittleren Alters gehäuft auftretende Adipositas negative Effekte auf Funktionen des Gehirns nach sich ziehen kann (Kivipelto *et al.*, 2005; Whitmer *et al.*, 2005; Whitmer *et al.*, 2008; Craft, 2009), stellt bei Senioren die Mangel- und Unterernährung ein bedeutendes Problem dar und kann Demenzerkrankungen begünstigen. Verschiedene Humanstudien verdeutlichen die Schwierigkeit, die Faktoren Adipositas und Alter mit der Entwicklung von neurodegenerativen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer in Zusammenhang zu bringen und unterstreichen die Bedeutung der Lebensphase, in welcher Adipositas auftritt (Stevens, 2000). Eine positive Korrelation zwischen Taillenumfang und BMI mit dem Risiko der späteren Entwicklung von Morbus Alzheimer konnte bei Patienten mittleren Alters belegt werden, wohingegen dieser Nachweis bei älteren Patienten nicht erbracht werden konnte (Fitzpatrick *et al.*, 2009). Bei Patienten ab 76 Jahren stellten ein höherer BMI und die Bildung von moderatem Übergewicht sogar einen Schutz gegen die Entstehung von Morbus Alzheimer dar (Luchsinger *et al.*, 2007).

## **1.2 Kontrolle der Nahrungsaufnahme und Verhalten**

Die Kontrolle der Nahrungsaufnahme beschäftigt die Menschheit seit geraumer Zeit. So wurden in der Historie diverse Theorien über die Entstehung des Hungergefühls aufgestellt. Diese reichten von der Erregung spezifischer Hungernerven im Magen bis hin zu einem Hungerzentrum im Gehirn, das auf einen Hungerstatus im Blut anspricht. Die erste periphere Hungertheorie, die durch empirische Daten untermauert wurde, war die „Magenkontraktionstheorie“ von Cannon und Washburn (1912). Sie war über viele Jahre die dominierende Theorie zur Erklärung des Hungers.

Zahlreiche Forschungsarbeiten offenbaren, dass die Kontrolle der Nahrungsaufnahme einen höchst komplexen Vorgang darstellt, der diverse Regulationsmechanismen des Körpers einbezieht und ein exakt aufeinander abgestimmtes Zusammenwirken verschiedener Hormone und Neurotransmitter verlangt. Obgleich der Wissensstand in diesem Bereich stetig zunimmt, sind die interagierenden Mechanismen, die der Kontrolle der Nahrungsaufnahme zugrunde liegen, nicht vollends aufgeklärt. Eine langfristige Regulation der Energiehomöostase setzt voraus, dass vom Körper Informationen über den Energiezustand zum zentralen Nervensystem (ZNS) gesandt werden. Periphere Signale über den aktuellen Ernährungszustand erreichen über die Blutzirkulation und die Blut-Hirn-Schranke (BHS) das Gehirn,

welches über Mechanismen zur Integration und Verarbeitung dieser Informationen verfügt. Hierzu zählen alle Informationen, die dauerhaft für die Erzeugung eines Gleichgewichts zwischen Energieaufnahme und Energiedissipation erforderlich sind.

Endokrine Zellen des gastrointestinalen Systems produzieren Peptidhormone wie Cholecystokinin (CCK) und Ghrelin, die direkt über die Reizung von Nervenfasern des Vagus oder indirekt über die Blutbahn auf den Hypothalamus einwirken (Bray, 2000; Havel, 2001; Berthoud, 2008a). Gibbs *et al.* (1973) belegten als erste die sättigende Wirkung von CCK, indem sie zeigten, dass eine intraperitoneale Verabreichung zu einer Reduktion der Futteraufnahme bei Ratten führt. Weiterführende Untersuchungen bestätigten den sättigenden Effekt des CCK (McLaughlin *et al.*, 1985; Silver & Morley, 1991; Degen *et al.*, 2001), wengleich verschiedene Faktoren dieses Signal beeinflussen können. So scheint der sättigende Effekt vom Alter und den Fütterungsbedingungen abzuhängen (Voigt *et al.*, 1996; Voits *et al.*, 1996; Fink *et al.*, 1998) und ist bei adipösen Zucker-Ratten vermindert (McLaughlin & Baile, 1980; Niederau *et al.*, 1997).

Ghrelin wird über das gastrointestinale System vor allem von Funduszellen im Magen freigesetzt (Kojima *et al.*, 1999). Aufgrund seiner lipophilen Eigenschaften kann zirkulierendes Ghrelin die BHS überwinden, bindet an Rezeptoren im hypothalamischen Nucleus Arcuatus und bewirkt die Ausschüttung von Nahrungsaufnahme stimulierenden Neuropeptiden. Cummings *et al.* (2001) entdeckten, dass kurz vor jeder Mahlzeit der Plasmaspiegel von Ghrelin beim Menschen ansteigt. Während der Nahrungsaufnahme nimmt die Ghrelinbildung ab, wohingegen die Aktivität anorexigener Signale gesteigert wird.

Neben der Kurzzeitregulation der Nahrungsaufnahme spielen CCK und Ghrelin eine bedeutende Rolle bei der Modulation hippocampaler Funktionen. Sie beeinflussen Lern- und Gedächtnisleistungen (Moran & Gao, 2006) sowie angstassoziiertes Verhalten (Rex *et al.*, 1994; Carlini *et al.*, 2002). Beispielsweise werden Gedächtnisleistungen durch die Applikation von Ghrelin in verschiedene Gehirnregionen (Hippocampus, Amygdala, dorsaler Raphe-Kern) verbessert. In Abwesenheit dieses Peptids zeigen Ghrelin-Knockout-Mäuse ein Defizit im räumlichen Gedächtnis, welches nach Verabreichung von Ghrelin rückgängig gemacht werden kann (Zheng & Berthoud, 2007). Angstassoziiertes Verhalten im Elevated Plus Maze (EPM)-Test wird durch die Gabe von Ghrelin erhöht (Carlini *et al.*, 2004).

Das Sättigungssignal Leptin wirkt durch die Hemmung anabolischer Neuropeptide (Agouti-related Protein, AGRP; Neuropeptid Y, NPY) beziehungsweise Stimulation des katabolischen Effektorsystems ( $\alpha$ -Melanozyten-stimulierendem Hormon,  $\alpha$ -MSH; Cocaine- and Amphetamine-regulated Transcript, CART) anorexigen (Elmquist *et al.*, 1999; Morton & Schwartz, 2001). Ein sinkender Leptinspiegel führt zu einer reduzierten Ausschüttung von  $\alpha$ -MSH und CART, während die NPY- und AGRP-Synthese im gleichen hypothalamischen Kerngebiet zunimmt. Die Freisetzung von Nahrungsaufnahme stimulierendem Melanin-concentrating Hormone (MCH) und Orexin A wird von AGRP, NPY,  $\alpha$ -MSH und CART über Projektionen in den lateralen Hypothalamus (LH) reguliert (Sahu *et al.*, 1998; Elias *et al.*, 1999). Der anorexigene Effekt des Leptins scheint jedoch nicht rein quantitativer Natur zu sein, sondern auch die Nahrungswahl zu beeinflussen. Interessanterweise führte eine chronische Leptininfusion bei frei wählenden Ratten vornehmlich zu einer Reduktion der Proteinzufuhr, während die Präferenz für fetthaltige Nahrung verstärkt wurde (Wetzler *et al.*, 2004). Gebildet wird Leptin hauptsächlich im weißen Fettgewebe, aber auch braunes Fettgewebe trägt zur Leptinproduktion bei (Klingenspor *et al.*, 1996). Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Plasmaleptinspiegel und der Körperfettmasse (Frederich *et al.*, 1995; Considine & Caro, 1997; Eiden *et al.*, 2001) sowie der Größe und metabolischen Aktivität der Adipozyten konnte nachgewiesen werden (Houseknecht *et al.*, 1998; Sato *et al.*, 2008). Belegt ist die Signalfunktion des Leptins bei der Kontrolle der Nahrungsaufnahme durch genetische Adipositasmodelle wie die *ob/ob*-Maus, die aufgrund einer Mutation am leptin codierenden Gen nicht befähigt ist, dieses Hormon zu produzieren (Zhang *et al.*, 1994; Beck, 2000). Zahlreiche Studien offenbaren, dass die Verabreichung von rekombinantem Leptin bei diesen Mäusen eine drastische Gewichtsreduktion auslöst, die überwiegend infolge verringerter Nahrungsaufnahme, aber auch aufgrund der Normalisierung des Energiestoffwechsels sowie der lokomotorischen Aktivität stattfindet (Halaas *et al.*, 1995; Campfield *et al.*, 1995; Pelleymounter *et al.*, 1995). Die *fa/fa*-Zuckerratte und die *db/db*-Maus weisen ähnlich übergewichtige Phänotypen auf, wobei hier ein Funktionsverlust der Leptinrezeptoren verantwortlich für die Entstehung von Adipositas und diverser Komorbiditäten ist (Sierra-Honigmann *et al.*, 1998; Elmquist *et al.*, 1999; Casper *et al.*, 2008).

Im Hippocampus erhöht Leptin die Dichte von Synapsen und ist an der neuronalen Entwicklung beteiligt (Harvey, 2007). Adipöse Nagetiere mit einer gestörten Leptin-Signalübertragung (*db/db*-Maus, *ob/ob*-Maus, *fa/fa*-Zuckerratte) zeigen ein schlechteres Erinnerungsvermögen und ein vermindertes räumliches Gedächtnis (Li *et al.*, 2002; Harvey, 2007). Direkte Leptinapplikationen in den Hippocampus führen zur Verbesserung dieser

Lern- und Gedächtnisdefizite (Harvey, 2007) und optimieren Lerneffekte im Foot Shock-Test (Farr *et al.*, 2006). Auch depressives und angstassoziiertes Verhalten ist mit dem Vorkommen von Leptin verknüpft. So zeigen *ob/ob*-Mäuse höhere Level angstassoziierten Verhaltens in der Light/Dark-Box (Finger *et al.*, 2010). Bei der Behandlung depressiver Patienten korreliert die Milderung der Symptome mit einem Anstieg des Leptinplasmaspiegels (Esel *et al.*, 2005; Stoving *et al.*, 2009).

Insulin, das von den  $\beta$ -Zellen des Pankreas freigesetzt wird, zählt ebenfalls zu den Signalmolekülen für die langfristige Regulation der Nahrungsaufnahme. Hierbei muss jedoch zwischen basalem Insulinspiegel und dem Anstieg des Insulins in der postprandialen Phase unterschieden werden. Letzterer löst die Steigerung der hypothalamischen Insulinkonzentration aus, wodurch ein Effekt auf das Nahrungsaufnahmeverhalten ausgeübt wird. Im Tierversuch verminderte die Gabe von Insulin in insulinrezeptorreiche Regionen des ZNS die Futteraufnahme und führte infolge dessen zur Reduktion der Körpermasse (Foster *et al.*, 1991; Park *et al.*, 2009).

Insulin spielt darüber hinaus eine wichtige Rolle bei der Regulation der Neuroplastizität und der Funktion des Gedächtnisses (de la Monte, 2009). Störungen in der Insulin-Signalübertragung führen zu Beeinträchtigungen kognitiver Fähigkeiten (McNay, 2007; Naderali *et al.*, 2009), wohingegen eine zentrale Verabreichung Gedächtnisleistungen im Tiermodell optimiert (Park *et al.*, 2000). Für die Funktion des räumlichen Gedächtnisses scheint vor allem die intrahippocampale Verfügbarkeit von Insulin ausschlaggebend zu sein, da Insulinapplikationen in andere Strukturen des limbischen Systems wie die Amygdala Gedächtnisleistungen, Aktivität und angstassoziiertes Verhalten nicht beeinflussen (McNay, 2007).

Serotonin (5-HT), ein Neurotransmitter mit sättigender Wirkung, beeinflusst einen umfassenden Bereich physiologischer Systeme wie kardiovaskuläre Regulation, Respiration, circadiane Rhythmik, Sensomotorik, Schmerzempfindlichkeit und Thermoregulation sowie eine Vielzahl von Verhaltensweisen – eingeschlossen Aggression, Sexualverhalten, Lernen und Nahrungsaufnahme (Wurtman *et al.*, 1980). Durch die pharmakologische Regulierung der 5-HT-Funktion können diverse affektive und psychische Störungen wie Depression, Angststörungen, Schizophrenie und Anorexia Nervosa medikamentös behandelt werden (Lucki, 1998). Die sättigende Wirkung von 5-HT wird vornehmlich der Auslösung zentralnervöser Mechanismen zugesprochen. Jedoch bewirkt auch eine periphere

Verabreichung von 5-HT, das die BHS nicht überwinden kann, eine verminderte Nahrungsaufnahme (Simansky *et al.*, 1992). Eine Aktivierung von 5-HT-Rezeptoren führt zu einer selektiven Reduktion der Aufnahme von Kohlenhydraten (Leibowitz, 1993). Die Rezeptoren 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2C</sub> und 5-HT<sub>3</sub> scheinen unterschiedliche Gesichtspunkte der Sättigung zu beeinflussen. Hierzu zählen die Dauer zwischen zwei Mahlzeiten (5-HT<sub>2A</sub>) oder die Menge der aufgenommenen Nahrung (5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>). Dem 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor kommt eine Sonderstellung zu, da selektive 5-HT<sub>1A</sub>-Agonisten durch die Inhibition der zentralen serotonergen Aktivität zu einer erhöhten Futtermittelaufnahme bei Ratten führen können (Dourish *et al.*, 1985; Bendotti & Samanin, 1986; Voigt *et al.*, 2002).

Die Regulation der Nahrungsaufnahme und der Energiehomöostase involviert eine Vielzahl von Gehirnregionen (Levin & Routh, 1996). Neben mehreren hypothalamischen Kerngebieten zählen hierzu kortikale Strukturen, Bereiche des Hirnstammes und das limbische System, hier speziell die Amygdala (Berthoud, 2002). Die Funktion einzelner integrierter hypothalamischer Kerngebiete konnte anhand chemischer und elektrischer Lädierungen genauer beschrieben werden (Übersicht: Bernardis & Bellinger, 1996). Elektrische Lädierung des Nucleus arcuatus (ARC), des Nucleus paraventricularis (PVN) oder des Nucleus ventromedialis des Hypothalamus resultiert in Hyperphagie und Adipositas (Scallet & Olney, 1986; Tokunaga *et al.*, 1986), wohingegen eine Beschädigung des Nucleus dorsomedialis im Tierversuch einen hypophagischen Phänotyp hervorruft (Bellinger & Bernardis, 2002). Nach der Identifizierung dieser Kerngebiete gelang es, die Vorkommen vieler verschiedener Neuropeptide, die regulatorisch auf die Futtermittelaufnahme und den Energieverbrauch einwirken, aufzudecken. Eine schematische Darstellung der in den Prozess der Energiehomöostase eingebundenen hypothalamischen Kerngebiete ist in Abb. 1.2 gezeigt.

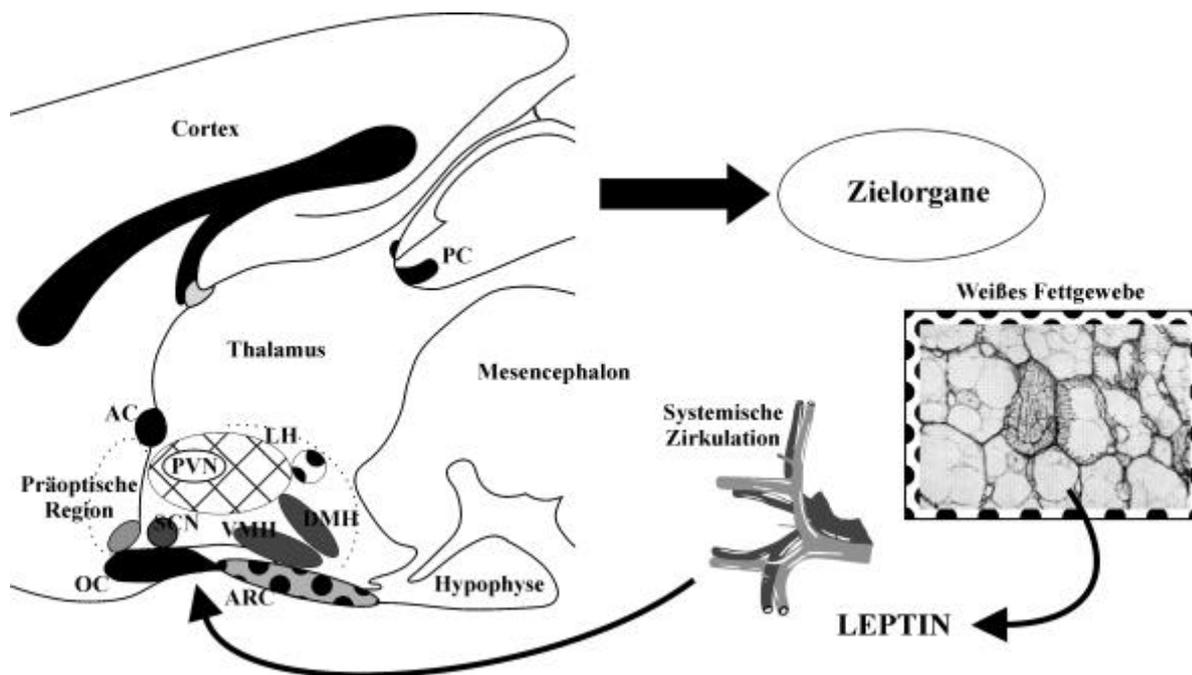


Abb. 1.2: Schematische Darstellung hypothalamischer Kerngebiete, die in die Regulation der Energiehomöostase involviert sind. Dunkelgrau: Kerngebiete, welche die Energiebilanz regulierende efferente Signale generieren. Hellgrau: Hypothalamische Strukturen, die eine durchlässige BHS besitzen. Schraffiert: Hypothalamische Kerngebiete, an denen für die Regulierung der Energiebilanz wichtige Neuropeptide angreifen. Gepunktet: Zentrale und periphere Produktionsorte energieregulatorischer Signale. ARC: Nucleus arcuatus, OC: Chiasma opticum, VMH: Nucleus ventromedialis, DMH: Nucleus dorsomedialis, SCN: Nucleus supra-chiasmaticus, PVN: Nucleus paraventricularis, LH: lateraler Hypothalamus, AC: Commissura anterior (nach Kalra *et al.*, 1999).

Für die orexigenen und anorexigenen Neurotransmitter NPY, AGRP, Galanin, MCH, Orexin A,  $\alpha$ -MSH und CART konnten ebenfalls Beeinflussungen verschiedener Verhaltensweisen nachgewiesen werden. Physiologische Veränderungen bei Adipositas, Schlaf, Lern- und Gedächtnisleistungen, Depression und Angst konnten mit dem Vorhandensein dieser Neuropeptide in Zusammenhang gebracht werden (Sajdyk *et al.*, 2004). Allgemein wirken anorexigene Peptide anxiogen, wohingegen orexigene Peptide anxiolytische Effekte auslösen (mit Ausnahme von Orexin A) (Stanek, 2006). Beispielsweise wirkt eine intracerebroventriculäre (i.c.v.) Injektion des anorexigenen  $\alpha$ -MSH angststeigernd im EPM-Test (Cragolini *et al.*, 2006). Kask und Kollegen (2000) beschrieben anxiogene Verhaltensantworten bei Nagetieren in Folge von i.c.v.-Injektionen des CART. Diese angstausslösenden Effekte wurden tierexperimentell im EPM-Test (Asakawa *et al.*, 2001) sowie Social Interaction-Test (Chaki *et al.*, 2003) belegt. Beim Menschen konnte eine Mutation des CART-Gens mit einer frühzeitig einsetzenden, schwerwiegenden Adipositas assoziiert werden (Challis *et al.*, 2000; Yamada *et al.*, 2002; Dominguez *et al.*, 2004; Yanik *et al.*, 2006). Die Aktivität der CART-Neurone hemmt über die Verbindungen zum LH offensichtlich MCH- und Orexin-Neurone, wodurch die Nahrungsaufnahme unterdrückt wird. Betroffene, die eine Mutation des CART-Gens aufweisen, zeigen ein verstärktes

Angstverhalten im Vergleich mit adipösen Patienten, die diese Genmutation nicht besitzen (Miraglia del Giudice *et al.*, 2006).

NPY, das derzeit als der potenteste Appetitstimulator gilt (Mathew *et al.*, 2008), wirkt antidepressiv (Heilig, 2004) und anxiolytisch (Kask *et al.*, 2002; Harro, 2006). Angstlösende Effekte von NPY wurden im Tiermodell unter anderem im EPM-Test (Pellow *et al.*, 1985), Social Interaction Test (File, 1980) sowie der Light/Dark-Box (Pich *et al.*, 1993) nachgewiesen. Auch beim Menschen sind niedrige NPY-Konzentrationen mit Angststörungen (Holmes *et al.*, 2003) und darüber hinaus mit dem Entstehen der Alkoholkrankheit (Ciccocioppo *et al.*, 2009) assoziiert. NPY und Galanin dämpfen die Schmerzempfindlichkeit (Hökfelt *et al.*, 1999). Fernerhin moduliert Galanin neben dem Nahrungsaufnahmeverhalten und der gastrointestinalen Motilität emotionales und angstassoziiertes Verhalten sowie Lern- und Gedächtnisleistungen (Barrera *et al.*, 2005). Galanin wird eine Schlüsselrolle bei der Fettpräferenz zuerkannt (Meister, 2007).

Orexin A und MCH werden von zwei Neuronenpopulationen des LH freigesetzt. Die zentrale Verabreichung dieser Neuropeptide stimuliert im Rattenversuch die Futteraufnahme (Qu *et al.*, 1996; Dube *et al.*, 1999). Anhand von subkutanen Injektionen, die bei Ratten zu einem Anstieg der Insulin- und Glukosekonzentration im Blut führen, konnten Interaktionen zwischen Orexin A und Glukose beziehungsweise Insulin festgestellt werden. Orexin A beeinflusst darüber hinaus die Vigilanz von Individuen (Mathew *et al.*, 2008). Im Tiermodell induziert Orexin A angstassoziiertes Verhalten bei der Untersuchung von Nagetieren im EPM-Test und in der Light/Dark-Box (Suzuki *et al.*, 2005). Im Gegensatz hierzu hat eine i.c.v.-Gabe von MCH anxiolytische Effekte im EPM-Test (Monzon & De Barioglio, 1999; Pissios *et al.*, 2006). Des Weiteren wirkt sich MCH positiv auf das Lernen und die Gedächtnisbildung aus (Varas *et al.*, 2002b; Adamantidis & de Lecea, 2009). Intrahippocampale Infusion führt zu einer verbesserten Leistung bei Ratten im Inhibitory Avoidance-Test (Monzon *et al.*, 1999; Varas *et al.*, 2002a).

Die vielen Signale, die in die komplexe Regulierung der Nahrungsaufnahme eingebunden sind, haben dem Anschein nach mannigfache Einflüsse auf kognitive Leistungen. Interessanterweise zeigen sich in Gehirnen adipöser Tiere Veränderungen in der Konzentration und Aktivität der oben beschriebenen Neurotransmitter und Hormone. Bei der *falfa*-Zuckerratte wird durch eine defekte Leptinsignalübertragung das anabole NPY-System hochreguliert, was zu einer erhöhten Konzentration von NPY im ARC und PVN führt (Beck *et al.*, 1990). NPY-codierende mRNA im ARC (Sanacora *et al.*, 1990) und Galanin-

codierende mRNA im PVN sind weiterhin überexprimiert (Mercer *et al.*, 1996b). Ersteres gilt ebenso für die *ob/ob*-Maus (Wilding *et al.*, 1993), bei der darüber hinaus eine Überexpression von orexigenem MCH im Hypothalamus festgestellt werden konnte (Qu *et al.*, 1996; Huang *et al.*, 1999). Bei Ratten mit diätinduzierter Adipositas ist im Gegensatz hierzu anorexigenes, anxiogenes CART im Hypothalamus angereichert (Miesel *et al.*, 2010), wohingegen die Konzentration von orexigenem, anxiolytischem NPY herabgesetzt ist (Widdowson *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2007). Dieser Konzentrationsabfall von NPY stellt bei diätinduzierter Adipositas eine physiologische Antwort auf erhöhte Leptinwerte dar, was den aufgezeigten Unterschied zu Adipositasmodellen mit gestörten Leptinfunktionen (*db/db*-Maus, *ob/ob*-Maus, *fa/fa*-Zuckerratte) erklärt und die Bedeutung der unterschiedlichen Adipositasmodelle hervorhebt.

Sowohl in tierexperimentellen als auch in klinischen Studien konnte ein starker Zusammenhang zwischen Adipositas und kognitiven Funktionsstörungen nachgewiesen werden. Verschiedene Humanstudien lassen darauf schließen, dass sich kognitive Leistungen mit zunehmender Körpermasse verschlechtern (Elias *et al.*, 2003; LaFortuna *et al.*, 2006). Obschon die exakten Mechanismen von Adipositas assoziierten kognitiven Dysfunktionen noch nicht vollständig aufgeklärt sind, erscheint es wahrscheinlich, dass aufgrund eines beeinträchtigten Insulinmetabolismus, eines gestörten Glukosetransports und einer verminderten vaskulären Funktion im Gehirn negative Folgen für die Kognition entstehen (Naderali *et al.*, 2009).

### 1.3 Zusammensetzung der Nahrung und Verhalten

Die Aufnahme der Nahrung erfolgt durch motiviertes Verhalten und wird über innere Signale (Hormone, Transmitter) und äußere Reize (Geruch, Geschmack) gesteuert. Das ZNS und periphere Signale interagieren mit umweltbedingten, afferenten Einflüssen, deren Auswirkungen teilweise vom Erlernten eines Individuums abhängen können (Stubbs, 1999). Soziale Faktoren wie Konkurrenz, Stress oder Angst beeinflussen überdies das Nahrungsaufnahmeverhalten. So zeigen viele tierexperimentelle Studien, dass Stress zu einer verminderten Aufnahme des Futters und einer Abnahme der Körpermasse führt (Bielajew *et al.*, 2002; Diane *et al.*, 2008; O'Brien *et al.*, 2010). Umgekehrt kann jedoch durch die belohnende Wirkung energiereicher Lebensmittel die Nahrungszufuhr in Stresssituationen erhöht werden (Levine & Morley, 1981; Levine & Morley, 1982; Morley *et al.*, 1982; Dallman *et al.*, 2003; Dallman *et al.*, 2005; Adam & Epel, 2007). Beim Menschen variieren auch aufgrund kultureller Unterschiede die Handlungsweisen bei der Nahrungsaufnahme.

Die postnatale Versorgung sowie Lern- und Gedächtnisleistungen spielen ebenfalls eine große Rolle und sind unter anderem bei der Nahrungswahl beziehungsweise –ablehnung bedeutend. So demonstrierten Teegarden *et al.* (2009), dass Mäuse, die in der dritten postnatalen Lebenswoche kurzzeitig eine fettreiche Diät verabreicht bekamen, im adulten Stadium eine starke Präferenz für fetthaltige Nahrung aufwiesen und dass diese temporäre fetthaltige Ernährung bereits ausreichte, um die langfristige Codierung zentraler Mechanismen des Belohnungssystems zu modifizieren.

Nicht nur Gedächtnisleistungen können Einfluss auf das Nahrungsaufnahmeverhalten haben, auch umgekehrt kann die Art und Weise der Ernährung durch Veränderungen der neuronalen Aktivität im Gehirn das Verhalten beeinflussen. Grundlage für die Beeinflussung des Verhaltens durch die aufgenommene Nahrung sind Modifikationen der Menge an zugeführten Mikro- und Makronährstoffen, die an zahlreichen neurochemischen Reaktionen beteiligt sind. Hierdurch kommt es zu Veränderungen bei der Synthese und Ausschüttung spezifischer Neurotransmitter und Hormone. Da unterschiedliche Verhaltensweisen mit bestimmten Neurotransmittersystemen assoziiert sind, besteht somit ein physiologischer Mechanismus, durch welchen das Verhalten eines Organismus direkt beeinflusst werden kann (Lieberman *et al.*, 1982). Eine Übersicht über den Einfluss verschiedener Diätzusammensetzungen auf das Angst- und Lernverhalten von Ratten ist in Tab. 1.4 dargestellt.

Nährstoffversorgung	Literatur	Stamm / Geschlecht	Alter / Gewicht	Angst	Lernen und Gedächtnis	
<u>Proteinarm</u>	Almeida <i>et al.</i> , 1996a	SD, ♀	Pränatal	↓	-	
	Francolin-Silva <i>et al.</i> , 2006	Wistar, ♂	Juvenil (pn 0 – 21)	↓	-	
	Lukoyanov & Andrade, 2000	Wistar, ♂	Adult	-	↓	
	(Cholin) Stevens <i>et al.</i> , 2008	SD, ♀ / ♂	Pränatal	-	↓	
<u>Proteinreich</u>	Onaivi <i>et al.</i> , 1992	SD, ♂	Pubertär - Adult	↓	-	
	Prasad & Prasad, 1996	SD, ♂	250 – 300g	≠	-	
	(Tryptophan) Orosco <i>et al.</i> , 2004	Wistar, ♂	200 – 250g	↓	-	
	(Cholin) Meck & Williams, 1997	SD, ♂	Pränatal	-	↑	
	(Cholin) Mellott <i>et al.</i> , 2004	SD, ♀ / ♂	Pränatal	-	↑	
<u>Lipidarm</u>	Bourre <i>et al.</i> , 1989	Wistar, ♂	Pränatal	-	↓	
	(ω-3-FS)	Moriguchi <i>et al.</i> , 2000	Long-Evans, ♂	Prä- / postnatal	-	↓
		Greiner <i>et al.</i> , 2001	Long-Evans, ♂	Prä- / postnatal	-	↓
		Takeuchi <i>et al.</i> , 2003	Wistar, ♂	Prä- / postnatal	↑	-
		Belzung <i>et al.</i> , 1998	Wistar, ♂	Prä- / postnatal	≠	-
<u>Lipidreich</u>	Prasad & Prasad, 1996	SD, ♂	250 – 300g	↓	-	
	Buchenauer <i>et al.</i> , 2009	F344, ♂	Adult	↑	-	
	McNeilly <i>et al.</i> , 2010	Wistar, ♂	150 – 175g	-	↓	
	(ω-3-FS) de Wilde <i>et al.</i> , 2003	WKY, ♂	Pubertär - Adult	-	↑	
	(ω-3-FS) (ω-6-FS)	Lim & Suzuki, 2001	Long-Evans, ♂	Juvenil (ab pn 2)	- -	↑ ↓
<u>Kohlenhydratreich</u>	Souza <i>et al.</i> , 2007	Wistar, ♂	210 – 220g	↑	≠	
	Jurdak & Kanarek, 2009	Long-Evans, ♂	200 – 225g	-	↓	

Tab. 1.4: Literaturübersicht über den Einfluss verschiedener Diättypen auf das Angst- und Lernverhalten von Ratten (F344 = Fischer344 Ratte; WKY = Wistar-Kyoto Ratte). Angegeben sind Geschlecht und Stamm der Versuchstiere sowie das Gewicht bzw. Alter während der Fütterungszeit (pn = postnatal). ↑ = Steigerung des Verhaltens, ↓ = Reduktion des Verhaltens, ≠ = kein Effekt auf das Verhalten, - = Verhalten im Rahmen der angegebenen Studie nicht untersucht.

Besonders während der fetalen und neonatalen Entwicklung ist die optimale Versorgung mit Mikro- und Makronährstoffen wichtig für das neuronale Zellwachstum und die Synapsenbildung. Während dieser Zeit durchlaufen Regionen wie der Hippocampus, der visuelle und auditive Cortex und das Striatum eine rapide Entwicklung. Die adäquate Versorgung mit ungesättigten Fettsäuren (FS) und Eisen ist hierbei notwendig für eine korrekte Myelination, die ausreichende Zufuhr von Proteinen und Zink wichtig für die hippocampale Entwicklung (Georgieff, 2007). Gajre und Kollegen (2008) zeigten in ihrer Studie an Schulkindern, dass jene, die regelmäßig Frühstück zu sich nahmen, bessere Gedächtnisleistungen und längere Aufmerksamkeitsphasen offenbarten als solche, die ohne zu frühstücken die Schule besuchten. Neben Lern- und Gedächtnisleistungen können weitere Verhaltensweisen durch Variationen aufgenommener Mikro- und Makronährstoffe beeinflusst werden. So führt eine Drosselung der Kalorienzufuhr bei adulten Ratten zu herabgesetztem Angstverhalten im Open Field (OF)-Test (Levay *et al.*, 2007), während eine chronische Futterdeprivation bei juvenilen Ratten eine abgesenkte 5-HT-Synthese, einen Corticosteronanstieg im Plasma und eine Steigerung von depression- und angstassoziiertem Verhalten zur Folge hat (Jahng *et al.*, 2007). Auch die Ernährung des Muttertiers während Gestation und Laktation hat bereits Einfluss auf die Physiologie und das Verhalten der Nachkommen (Orozco-Solis *et al.*, 2010). Eine hochkalorische maternale Ernährung steigert das Verlangen nach energiedichter Nahrung, erhöht die Neigung zur Entwicklung von Adipositas und beeinträchtigt die Entwicklung der Skelettmuskeln des Nachwuchses (Armitage *et al.*, 2005; Bayol *et al.*, 2005; Bayol *et al.*, 2007). Aktuell finden sich Hinweise dafür, dass auch das Essverhalten des Vatertiers eine Wirkung auf die Gesundheit der Nachkommen haben kann. Männliche Ratten, die sich zu fettreich ernähren, zeugen mit erhöhter Wahrscheinlichkeit diabeteskranken Nachwuchs. Ng und Kollegen (2010) vermuten, dass durch die fettreiche Ernährung das Erbgut im Sperma der Männchen beeinflusst wird.

Der Protein- und Aminosäuregehalt der Nahrung spielt eine wichtige Rolle bei der Entstehung des Sättigungsgefühls. Diätische Untersuchungen lassen vermuten, dass Proteine einen stärker sättigenden Effekt ausüben als Kohlenhydrate, welche wiederum sättigender als Fette zu sein scheinen. Diese Hierarchie konnte sowohl in tierexperimentellen als auch Humanstudien nachgewiesen werden (Stubbs, 1999). Proteininduzierte Sättigung wird durch eine vermehrte Ausschüttung von Sättigungssignalen erreicht, wobei hier verschiedenartige Proteine unterschiedliche Einflüsse auf orexigene und anorexigene Neurotransmitter besitzen (Veldhorst *et al.*, 2008). Essentiell ist der Proteingehalt der Nahrung darüber hinaus für die

Neurotransmittersynthese sowie die Entwicklung und Funktion von Nervenzellen im Gehirn (de Wilde *et al.*, 2003; Bosch *et al.*, 2007). Proteinmangelernährung aber auch –überernährung induziert morphologische, neurophysiologische und funktionale Veränderungen im ZNS. Es konnte nachgewiesen werden, dass eine früh beginnende Proteinmangelernährung zu strukturellen (Steiger *et al.*, 2003; Lister *et al.*, 2005) und neurochemischen (Del Angel-Meza *et al.*, 2002; Mokler *et al.*, 2003) Veränderungen im Hippocampus führt. Chronisch pränatale Proteinmangelernährung resultiert in Anxiolyse (Almeida *et al.*, 1996a & c) und Änderungen im Sozialverhalten (Almeida *et al.*, 1996b). Die akute, postnatale Gabe einer proteinarmen Diät (6 %) hatte ein reduziertes Angstverhalten von Ratten im EPM-Test zur Folge. Umso länger die Mangelernährung anhielt, umso geringer wurde die Angstreaktion der fehlernährten Tiere (Francolin-Silva *et al.*, 2006). Bei adulten Ratten hingegen verstärkte die akute Gabe eines Futters mit geringem Proteingehalt (4 %) depressives Verhalten im Porsolt-Schwimmtest (Lieberman *et al.*, 2005). Chronische Verabreichung einer proteinarmen Nahrung (8 %) über acht Monate resultierte bei adulten Tieren in verschlechterten Lern- und Gedächtnisleistungen sowie in einem Verlust hippocampaler Neuronen (Lukoyanov & Andrade, 2000). Interessanterweise entwickelten Ratten, die über 20 Wochen eine proteinreiche Diät (50 %) verabreicht bekamen, ebenfalls ein reduziertes Angstverhalten im EPM-Test sowie Hyperalgesie und Hyperaktivität (Onaivi *et al.*, 1992). Darüber hinaus konnte eine Zunahme der Dendritendichte im Cortex und Striatum nachgewiesen werden (Brock & Prasad, 1992). Um die Rolle des diätischen Proteins besser zu verstehen, sind präzisere Beurteilungen unterschiedlicher Proteine (Casein, Albumin, Globulin) beziehungsweise Aminosäuren (Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan, Histidin) auf das Verhalten notwendig.

Die Verfügbarkeit von Proteinen ist ein wichtiger Faktor bei der Regulierung zentraler Neurotransmission, kognitiver Leistungsfähigkeit und des Gemütszustandes. Kurzzeitige Änderungen in der Verfügbarkeit bestimmter Aminosäuren (AS) können in verändertem Verhalten resultieren. Beispielsweise vermag beim Menschen bereits eine einzige Mahlzeit, der es an der AS Tryptophan fehlt, leichte depressionsähnliche Gefühlsschwankungen auszulösen (Young *et al.*, 1985). Konzentrationen von Ausgangssubstanzen wie Tyrosin, Cholin und Tryptophan bestimmen, in welchem Maße Neurotransmitter wie Dopamin, Acetylcholin oder Serotonin im Gehirn gebildet werden und wirken können (Wurtman, 2008). Bei Tryptophan handelt es sich um eine essentielle AS, die mit der Nahrung aufgenommen werden muss und deren Verabreichung zu einer erhöhten 5-HT Konzentration im Gehirn führt

(Fernstrom & Wurtman, 1971). Hierüber beeinflusst das Vorhandensein von Tryptophan das Auftreten angstassoziierten sowie aggressiven Verhaltens gegenüber anderen und sich selbst. Die Gabe einer mit  $\alpha$ -Lactalbumin (LAC) angereicherten Diät führt zu einer erhöhten 5-HT-Synthese im Rattenhirn und hat ein herabgesetztes Angstverhalten der Tiere zur Folge. Im Vergleich mit anderen Proteinen wie Casein besitzt LAC einen hohen Tryptophananteil (Orosco *et al.*, 2004). Weitere beeinflusste physiologische Systeme sind das Schlafverhalten und die Schmerzempfindung. Im Tierversuch führte die Gabe einer tryptophanarmen Diät zu einer erhöhten Reaktion auf schmerzauslösende Reize (Messing & Lytle, 1977). Bei Patienten mit chronischen Schmerzzuständen konnte ein lindernder Effekt von Tryptophan beobachtet werden. Darüber hinaus verursacht die Verabreichung von Tryptophan Schläfrigkeit und beschleunigt den Beginn des Einschlafens (Greenwood *et al.*, 1975).

Die ausreichende Versorgung mit neuroprotektivem Cholin ist für Gedächtnisfunktionen von besonderer Bedeutung, da viele kognitive Prozesse an Acetylcholin als Botenstoff gebunden sind (Zeisel, 2008). Eine altersbedingte Abnahme von Acetylcholin resultiert in herabgesetzten Lernleistungen. Auch während der prä- und perinatalen Entwicklung führt Cholinmangel zu einer Schwächung von Gedächtnisleistungen und Aufmerksamkeit (McCann *et al.*, 2006; Stevens *et al.*, 2008) und hat Abwandlungen der Expression von Wachstumsfaktoren (Napoli *et al.*, 2008) sowie der neuronalen Plastizität (Nag *et al.*, 2008; Wong-Goodrich *et al.*, 2008) zur Folge. Durch Cholinverabreichungen können die Lernleistungen bei Nagetieren hingegen verbessert (Meck & Williams, 1997; Meck & Williams, 1999; Mellott *et al.*, 2004) und die Aufmerksamkeit erhöht werden (Brandner, 2002). Darüber hinaus steigert die Gabe von Cholin die Zellproliferation und reduziert Apoptose (Albright *et al.*, 1999).

Tyrosin hat Einfluss auf die motorische Aktivität und das Niveau der Stresstoleranz eines Individuums. Eine tyrosinreiche Diät vergrößerte bei Ratten die Stressresistenz in Verhaltenstests, bei denen die Tiere starker Kälte (Rauch & Lieberman, 1990) oder elektrischen Stimulationen ausgesetzt wurden (Lehnert *et al.*, 1984). Auch beim Menschen werden förderliche Effekte von Tyrosin in stressbehafteten Situationen angenommen (Young, 1996).

Aufgrund der hohen Energiedichte sowie des Gehalts von fettlöslichen Vitaminen und essentiellen FS ist die Lipidaufnahme mit der Nahrung unentbehrlich. Nach dem Fettgewebe ist das Nervensystem das Organ mit der größten Konzentration von Lipiden. Im Gehirn spielen Lipide eine essentielle strukturelle sowie funktionale Rolle. Beispielsweise wird bei der cerebralen Entwicklung die Formation der Myelinscheide durch diätische Lipide beeinflusst. Eine während der Entwicklung unzureichende Versorgung mit essentiellen FS resultiert in einer Hypomyelination im Rattenhirn, wohingegen eine korrekte Myelinogenese durch eine adäquate Ernährung erreicht werden kann (Salvati *et al.*, 2000). Als Fettsäurekomponente von Phospholipiden ist Docosahexaensäure (DHA) integraler Bestandteil von Nervenzellmembranen. Ihre Biosynthese erfolgt ausgehend von der essentiellen  $\alpha$ -Linolensäure über die für den Stoffwechsel bedeutsame Eicosapentaensäure (EPA).

Depression und bipolare Störungen treten bei Personen mit niedrigen Spiegeln dieser Omega-3-Fettsäuren ( $\omega$ -3-FS) häufiger auf (Ross *et al.*, 2007). EPA scheint hierbei eine bedeutendere Rolle zu spielen als DHA (Richardson, 2008). Auch bei schizophrenen Patienten ist die Konzentration der  $\omega$ -3-FS geringer als bei gesunden Menschen (Peet, 2008). Darüber hinaus konnten bei Patienten mit Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung (ADHS) niedrigere  $\omega$ -3-FS Spiegel nachgewiesen werden (Antalis *et al.*, 2006). Gleichermäßen zeigt die spontan hypertensive (SH) Ratte, ein Tiermodell der ADHS, abgesenkte DHA-Level im Gehirn, erhöhte Aktivität und langsamere Habituation hinsichtlich neuartiger Stimuli (Sagvolden, 2000). Die Supplementation von EPA und DHA kann depressive Symptome und aggressives Verhalten reduzieren (Zanarini & Frankenburg, 2003). Anhand der CARDIA-Studie konnten die förderlichen Effekte von  $\omega$ -3-FS bei der Reduktion feindseeligen Verhaltens junger Erwachsener belegt werden (Iribarren *et al.*, 2004). Höhere Spiegel von EPA und DHA gehen mit einem abgesenkten Risiko für Demenzentwicklung einher, da  $\omega$ -3-FS einem Kognitionsverlust vorbeugend entgegenwirken können (Heude *et al.*, 2003; Freund-Levi *et al.*, 2006; Schaefer *et al.*, 2006).

Auch im Tierversuch führt ein Defizit von  $\omega$ -3-FS zu einer Abnahme kognitiver Leistungsfähigkeit (Bourre *et al.*, 1989) und einem schlechteren Habitationsvermögen (Fedorova & Salem, 2006), wohingegen eine zusätzliche Verabreichung gesteigerte Lernleistungen zur Folge hat (Lim & Suzuki, 2001). Reduzierte Lern- und Gedächtnisleistungen aufgrund eines  $\omega$ -3-FS Mangels konnten im Morris Water Maze-Test (Moriguchi *et al.*, 2000; Lim *et al.*, 2005) und bei olfaktorischen Diskriminierungsaufgaben

(Greiner *et al.*, 2001) beobachtet werden. Hinsichtlich des angstassoziierten Verhaltens im EPM-Test sind die Angaben in der Literatur kontrovers. Bei  $\omega$ -3-FS defizienten Tieren konnten sowohl ein gesteigertes Angstverhalten (Carrie *et al.*, 2000; Takeuchi *et al.*, 2003), ein reduziertes Angstverhalten (Nakashima *et al.*, 1993; Frances *et al.*, 1995) als auch keinerlei Einfluss auf das Angstverhalten beobachtet werden (Belzung *et al.*, 1998). Es scheint jedoch erwiesen, dass ein Mangel an  $\omega$ -3-FS die Tiere weitaus stressanfälliger macht als Kontrolltiere, was die unterschiedlichen Ergebnisse der möglicherweise verschiedenartig durchgeführten EPM-Tests (Lichtstärke, Farbe des EPM) erklären könnte (Fedorova & Salem, 2006). Im Porsolt-Schwimmtest wurden bei  $\omega$ -3-FS fehlernährten Tieren längere Phasen der Reglosigkeit festgestellt (DeMar *et al.*, 2006). Dieses Ergebnis stützend, beobachteten Frances *et al.* (2000) bei  $\omega$ -3-FS defizienten Mäusen eine deutlich geringere Präferenz für eine Zuckerlösung als bei ausgewogen ernährten Tieren, was Anzeichen für Anhedonie und Depression sein können.

Bezüglich der Rolle diätischer Kohlenhydrate auf das Verhalten sind in der Literatur widersprüchliche Angaben zu finden. Als Hauptenergiequelle für neuronale Aktivität reguliert die Glukosekonzentration im Gehirn viele Verhaltensfunktionen und diverse biochemische Prozesse. So wird Glukose für die Synthese des Neurotransmitters Acetylcholin benötigt, der wiederum Lern- und Gedächtnisleistungen beeinflusst (Fibiger, 1991). Da nur kleine Mengen von Glukose gespeichert werden können, ist das Gehirn auf eine kontinuierliche Versorgung mit Glukose über die Blutbahn angewiesen. Glukose überwindet die BHS und agiert im Gehirn durch Veränderungen der Neurotransmittersynthese sowie des neuronalen Metabolismus. Hierüber kann sie altersbedingten Störungen in der Gedächtnisfunktion, im Schlaf-Wach-Rhythmus sowie in der Aktivität entgegenwirken (Korol & Gold, 1998). Tierexperimentelle Untersuchungen zeigen, dass ein gestörter Glukosemetabolismus zu Gedächtnisdefiziten bei Ratten während eines Inhibitory Avoidance-Tests führt (Stone *et al.*, 1990) und auch Humanstudien demonstrieren, dass Störungen im Glukosestoffwechsel kognitive Beeinträchtigungen zur Folge haben können (Meneilly *et al.*, 1993). Eine zusätzliche Versorgung mit Glukose kann hingegen in gesteigerten Gedächtnisleistungen resultieren. Verschiedene Gedächtnisfunktionen wie das Erinnerungsvermögen, Kurz- und Langzeitgedächtnis, das Wiedererkennungsvermögen, die Aufmerksamkeit und das räumliche Gedächtnis können hierbei optimiert werden. In Humanstudien konnten durch die orale Verabreichung einer Glukoselösung im Speziellen das verbale und das Arbeitsgedächtnis verbessert werden, wobei hier die gedächtnissteigernden Effekte aufgabenspezifisch und

altersabhängig zu sein scheinen (Sünram-Lea *et al.*, 2002; Smith & Foster, 2008). Vor allem bei betagten Individuen und Alzheimerpatienten steigert Glukosegabe die kognitive Leistungsfähigkeit, aber auch bei jungen, gesunden Patienten kann eine Verbesserung beobachtet werden (Korol & Gold, 1998).

Diverse Studien offenbaren jedoch auch keinelei Effekt von diätischen Kohlenhydraten auf das Verhalten. So zeigten Prasad und Prasad (1996) in ihrer Studie, dass kurzzeitiger Verzehr eines stark fetthaltigen Futters (90 %) das Angstverhalten im EPM-Test bei Ratten minimierte, wohingegen eine Diät reich an Proteinen (90 %) oder Kohlenhydraten (90 %) keinen Einfluss auf das Verhalten der Tiere zu haben schien. Souza *et al.* (2007) demonstrierten, dass die Gabe einer schmackhaften mit Saccharose angereicherten Diät bei Wistar Ratten zwar zu einem Anstieg des angstassoziierten Verhaltens in der Light/Dark-Box führte, jedoch keinen Effekt auf das Habitationsvermögen im OF-Test hatte. Im Humanversuch konnten Brandt *et al.* (2010) keinen Einfluss einer einmalig verabreichten Glukoselösung (15 g) auf Gedächtnisfunktionen feststellen. Auch in weiteren Studien ist der Nachweis glukosebedingter Verbesserungen kognitiver Funktionen fehlgeschlagen (Azari, 1991; Ford *et al.*, 2002; Brandt *et al.*, 2006). Darüber hinaus ist in Publikationsdaten zu finden, dass Glukoseaufnahme das emotionale Gedächtnis beeinträchtigt (Mohanty & Flint, 2001). Im Tierversuch führte eine durch Saccharose induzierte Fettleibigkeit zu schlechteren Lernleistungen junger Ratten im Novel Object Discrimination-Test (NOD) (Jurdak & Kanarek, 2009). Vier Faktoren, die bei der förderlichen oder nachteiligen Beeinflussung kognitiver Funktionen ausschlaggebend zu sein scheinen, sind der Gesundheitszustand und das Alter der getesteten Individuen, die Dosis in welcher Glukose verabreicht wird, die Dauer der zusätzlichen Verabreichung sowie die Art und Weise der untersuchten kognitiven Aufgabe (Foster *et al.*, 1998; Brandt *et al.*, 2010).

## 1.4 Einfluss von Geschlecht und Alter

Neurotransmittersysteme und Verhalten werden vom Geschlecht und Alter eines Individuums beeinflusst (Da Silva *et al.*, 1996). Es ist bekannt, dass das Verhalten einer weiblichen Ratte abhängig vom Stand des sexuellen Zyklus variieren kann. Bereits in den 70er Jahren wurde der Einfluss geschlechtsspezifischer Hormone auf das Nahrungsaufnahmeverhalten und die Körpermasseentwicklung beleuchtet (Wade, 1972; Bull *et al.*, 1974; Wade & Gray, 1979; Rowland *et al.*, 1980). Anhand der Forschung der letzten Jahrzehnte konnte die Annahme bestätigt werden, dass Sexualhormone darüber hinaus die Fähigkeit besitzen, auf Regionen des Gehirns einzuwirken, die dem Lernen und Gedächtnis dienen. Bei einer Vielzahl von Neurotransmittersystemen, eingeschlossen 5-HT,  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) und Acetylcholin, konnte ein deutlicher Geschlechtsdimorphismus nachgewiesen werden. Verschiedene Verhaltensuntersuchungen belegen den Einfluss von Östrogen und Progesteron auf die Gedächtnisbildung und zeigen, dass hohe Östrogenspiegel sich negativ auf das räumliche Gedächtnis auswirken (Sutcliffe *et al.*, 2007). Diese Untersuchungen unterstützen weitere Studien, bei denen ein klarer Geschlechtsdimorphismus in der Leistung des räumlichen Gedächtnisses sowohl bei Labortieren als auch beim Menschen festgestellt werden konnte (Eals & Silverman, 1997; Duff & Hampson, 2001). Nachlassende Gedächtnisleistungen aufgrund des Alters können zum einen auf die Dezinierung spezifischer struktureller, chemischer oder elektrischer Neuronenkomponenten, zum anderen auf die Abwesenheit neuroendokriner Regulatoren und Signale zurückgeführt werden. Tierexperimentelle Studien belegen, dass die schädlichen Wirkungen einer gestörten Glukosetoleranz auf kognitive Funktionen mit zunehmendem Alter stärker werden (Lampert *et al.*, 2009).

Anhand von Untersuchungen an Ratten unterschiedlichen Geschlechts, Alters und Stammes wiesen Ferguson und Gray (2005) eindeutige Unterschiede im Verhalten der Tiere nach. Während des jung adulten Stadiums konnte ein deutlicher Geschlechterunterschied im EPM beobachtet werden. Weibliche Tiere zeigten mehr Eintritte in die offenen Arme und verbrachten eine deutlich geringere Zeit auf den geschlossenen Armen. Mit zunehmendem Alter erhöhte sich das Angstverhalten der SD Ratten, während die Aktivität abnahm. Spencer und Tilbrook (2009) demonstrierten, dass neonatale Überfütterung, induziert durch eine niedrige Welpenanzahl pro Muttertier, nicht nur in einem Anstieg der Körpermasse resultiert, sondern darüber hinaus das Angstverhalten der adulten Versuchstiere beeinflusst. Hiervon

waren weibliche Ratten in stärkerem Maße berührt als Männchen, was anhand des reduzierten Angstverhaltens der Weibchen im EPM-Test deutlich wurde. Auch postnataler Stress (maternale Deprivation) löste bei weiblichen, jung adulten Tieren ein reduziertes Angstverhalten im EPM-Test aus, während bei männlichen Ratten ein leichter Anstieg in der Angstreaktion beobachtet werden konnte (Renard *et al.*, 2005). Sozialer Stress während der Pubertät (Isolation, wechselnde Käfiggenossen) hatte eine Reduktion des angstassoziierten Verhaltens bei weiblichen Long-Evans Ratten zur Folge, wohingegen das Verhalten pubertärer Männchen nicht beeinflusst wurde. Als adulte Individuen zeigten jedoch alle der in dieser Studie verwendeten Tiere Wochen nach der Stresssituation ein erhöhtes Angstverhalten, was nun unabhängig vom Geschlecht zu sein schien. Unter den Kontrolltieren zeigten die Weibchen eine Abnahme, die Männchen einen Anstieg angstassoziierten Verhaltens mit steigendem Alter (McCormick *et al.*, 2008).

### **1.5 Aufgabenstellung und Zielsetzung**

Die vorliegende Studie dient der systematischen Untersuchung des Einflusses eines mehrwöchigen Angebots einer hochkalorischen CD auf das Verhalten und metabolische Parameter bei SD Ratten. Ziel hierbei ist die Erzeugung einer diätinduzierten Fettleibigkeit und die Untersuchung der Auswirkungen auf verschiedene Aspekte des Verhaltens. Aufgrund der deutlichen Hinweise, dass eine modifizierte Ernährung Konsequenzen für das Verhalten und Befinden von Menschen und Tieren haben kann, werden die Ratten im OF-Test, EPM-Test und NOD-Test beobachtet. Ferner werden Untersuchungen zur Aktivität, zum Habitationsvermögen sowie zur Behavioural Satiety Sequence (BSS) angestellt. Diese Tests decken viele Aspekte des Verhaltens von Ratten ab, eingeschlossen des Nahrungsaufnahmeverhaltens, der Lern- und Gedächtnisleistungen sowie des angstassoziierten Verhaltens und der Exploration. Darüber hinaus werden der Einfluss auf die Körpermasseentwicklung, die Glukoseverwertung, das Fettverteilungsmuster und die Blutfette überprüft. Bezüglich der metabolischen Parameter wird vermutet, dass das Angebot der CD in Hyperphagie resultiert und hierdurch zu einer deutlichen Zunahme der Körpermasse und des Fettgewebes führt. Negative Effekte auf die Glukosetoleranz und die Blutfettwerte werden erwartet. Darüber hinaus wird die Hypothese aufgestellt, das Angebot der CD werde zu einer „ungesünderen“ Zusammensetzung von Makronährstoffen in der aufgenommenen Nahrung führen.

Tierexperimentelle Studien zur Erforschung von Adipositas werden häufig unter Verwendung von Ratten- oder Mausmodellen durchgeführt, bei denen Übergewicht als erbliche Konsequenz auftritt. Genetisch modifizierte Modelle zur Untersuchung von Störungen der Energiehomöostase sind hilfreich, die Rolle einzelner Neurotransmitter und Hormone aufzuklären. Mittlerweile gibt es mehr als 50 verschiedene genetisch manipulierte Nagetiermodelle, die das Krankheitsbild der Adipositas widerspiegeln (Von Diemen *et al.*, 2006). Hierzu gehören unter anderem Zucker-, ZDF- und Koletsky-Ratten sowie *ob/ob*- und *db/db*-Mäuse. Diese Tiermodelle werden aufgrund einer defekten Leptinsignalübertragung adipös (Beck, 2000). Eine weitere Möglichkeit, Adipositasmodelle zu erschaffen, besteht im Setzen definierter zentralnervöser Läsierungen, etwa im ventromedialen Hypothalamus, was zur Hyperphagie bei Labortieren führt (Tschop & Heiman, 2002; Von Diemen *et al.*, 2006). Genetisch modifizierte Tiere oder Tiermodelle mit Hirnläsierungen spiegeln jedoch nicht die Pathophysiologie der Adipositas wider, welche durch energiedichte Nahrungszufuhr verursacht wird, was durch die unterschiedliche Beeinflussung von orexigenen und anorexigenen Neurotransmittern im Hypothalamus verdeutlicht wird. Mögliche Kompensationsmechanismen überernährter Tiere können bei genetisch modifizierten Tiermodellen nicht korrekt untersucht werden (Kretschmer *et al.*, 2005). Darüber hinaus wird Adipositas in der menschlichen Bevölkerung meist durch Überernährung und mangelnde Bewegung hervorgerufen und ist häufig mit affektiven Störungen assoziiert. Dieser Zusammenhang kann im genetischen Tiermodell nicht gleichermaßen adäquat untersucht werden wie im diätinduzierten Tiermodell der Adipositas. Durch die Gabe von speziell gefertigten Futtermitteln, die eine positive Energiebilanz zur Folge haben, kann die diätinduzierte Fettleibigkeit erreicht werden. Das Tiermodell der diätinduzierten Adipositas ist ein wichtiges Hilfsmittel zur Untersuchung dieser Erkrankung, da es der einflussreichen Rolle der Umwelt bei der Entwicklung des Übergewichtes Rechnung trägt und sich stärker an der Entwicklung der menschlichen Adipositas orientiert (Buettner *et al.*, 2007). Auch wenn industriell produzierte, flüssige oder feste Diäten, die reich an Fett oder Kohlenhydraten sind, Übergewicht im Tiermodell entstehen lassen (Archer & Mercer, 2007; Buettner *et al.*, 2007), sind die Ergebnisse, die hierdurch geliefert werden, nicht in dem Maße auf das Humanmodell übertragbar wie solche, die durch die Gabe einer CD bewirkt werden, da hier der Aspekt der Nahrungsauswahl mit einbezogen wird. Darüber hinaus besteht die „westliche“ Ernährungsweise nicht nur aus der vermehrten Aufnahme eines einzelnen Makronährstoffes, sondern aus einer Kombination hohen Fett- und Kohlenhydrategehalts wie es bei der CD der Fall ist (Kretschmer *et al.*, 2005).

Die in dieser Studie verwendete CD besteht aus sieben hochkalorischen, schmackhaften Lebensmitteln (Schokolade, Wurst, Käse, Kuchen, Rosinenbrot, Kekse, Nudeln), welche die Tiere stimulieren, ihre Nahrungs- und Kalorienaufnahme zu erhöhen und somit die überschüssige Energie als Fett zu speichern (Rothwell & Stock, 1988). In Studien, bei denen energiedichte Diäten verabreicht wurden, konnten bereits Anzeichen für Effekte auf das Verhalten der Tiere beobachtet werden. So stellten Jurdak und Kanarek (2009) fest, dass eine verabreichte Zuckerlösung zu einer Reduktion der Gedächtnisleistungen junger Ratten im NOD-Test führte, während eine fettreiche Ernährung ein signifikant gesteigertes Angst- und Aggressionsverhalten zur Folge hatte. In einer weiteren Studie von Buchenauer *et al.* (2009) führte die Gabe einer fettreichen Diät zu einem erhöhten angstassoziierten Verhalten, einem gesteigerten Aggressionsverhalten sowie einem Anstieg des Corticosterons im Blut. McNeilly *et al.* (2010) beobachteten eine Reduktion kognitiver Funktionen nach zwölfwöchiger Verabreichung einer fettreichen Diät. Auch durch die Gabe der in dieser Studie verwendeten zuckerreichen und fetthaltigen CD ist ein Effekt auf das Verhalten zu erwarten. Aufgrund des geringen Anteils ungesättigter FS in der CD kann ein negativer Einfluss auf die Funktion des Gehirns vermutet werden (de Wilde *et al.*, 2003; Bosch *et al.*, 2007; Lavielle *et al.*, 2008). Des Weiteren kann ein durch die CD verursachtes Defizit an Proteinen das Verhalten der Tiere beeinflussen. Lukoyanov und Andrade (2000) konnten zeigen, dass Proteinmangel nachteilige Effekte auf Lern- und Gedächtnisleistungen bei Ratten hat. Aufgrund dieser Hinweise aus der Literatur wird die Hypothese aufgestellt, dass die CD-Tiere im Vergleich mit den Kontrollen schlechtere Lern- und Gedächtnisleistungen aufweisen. Darüber hinaus wird eine reduzierte Aktivität der CD-Tiere, ein beeinflusstes angstassoziiertes Verhalten sowie eine Modifikation in der Sättigungssequenz vermutet.

Da bei *ad libitum*-Fressversuchen berücksichtigt werden sollte, dass Abweichungen bei der Nahrungspräferenz vom Geschlecht der Tiere abhängig sein können, wurde ein Versuchsdesign gewählt, in welches Untersuchungen sowohl weiblicher als auch männlicher Ratten integriert wurden. In einer Studie von Jean *et al.* (2002) offenbarten männliche und weibliche Wistar Ratten geschlechtsspezifische Präferenzen bei der Nahrungswahl. Weibchen zeigten eine früh beginnende, starke Fettpräferenz, die mit zunehmendem Alter anstieg. Der Proteinkonsum war bei beiden Geschlechtern in der 7. Lebenswoche maximal und erreichte dann bei den Männchen einen Plateauwert, während er bei den Weibchen mit zunehmendem Alter wieder abnahm. Während der einzelnen Nahrungsaufnahmepereoden begannen Männchen meist mit der Kohlenhydratzufuhr. Bei den Weibchen war keine klare Präferenz

für einen der Makronährstoffe zu Beginn der Nahrungsaufnahme zu erkennen. Genau wie die Männchen beendeten sie ihre Nahrungsaufnahme vorwiegend mit der Proteinaufnahme.

Auch das Alter eines Individuums hat Einfluss auf die Nahrungswahl und den auf Ingestion reagierenden Metabolismus, weshalb neben dem Faktor Geschlecht auch der Faktor Alter untersucht wurde. Der beunruhigende Anstieg der Fettleibigkeit in der Gruppe Pubertärer und junger Erwachsener sowie die dominierende Prävalenz für Adipositas bei Menschen von mittlerem Alter (50 – 69 Jahre, Tab. 1.3), ließ den Fokus in dieser Studie auf die Untersuchung von jung adulten Tieren (sechs Wochen) und Ratten mittleren Alters (zwölf Monate) fallen.

Aufgrund der durch Präferenzen entstehenden variierenden Menge zugeführter Makronährstoffe, unterschiedlichen hormonellen Bedingungen zwischen den Geschlechtern sowie altersbedingten physiologischen Veränderungen werden Divergenzen bei den Verhaltensantworten in Reaktion auf die CD angenommen. Erwartet werden eine altersbedingte Abnahme im lokomotorischen und explorativen Verhalten sowie nachlassende Lern- und Gedächtnisleistungen. Darüber hinaus wird ein Einfluss des Geschlechtes auf das Angst- und Explorationsverhalten vermutet, da ein niedrigeres Angstverhalten bei weiblichen im Vergleich zu männlichen Ratten bereits nachgewiesen werden konnte (Fernandes *et al.*, 1999).

Nach dem derzeitigen Kenntnisstand ist dies die erste Studie, die Auswirkungen einer CD auf metabolische Parameter und das Verhalten von SD Ratten unter Bezugnahme der Faktoren Alter und Geschlecht anhand eines multifaktoriellen Versuchsmodells beschreibt.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen**

Alle Untersuchungen wurden an SD Ratten aus institutsinterner Zucht (Freie Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, Institut für Pharmakologie und Toxikologie) durchgeführt. Ursprung der Zuchtlinie ist die DIMED Schönwalde GmbH, Deutschland. Die Ratten wurden in Vierergruppen gehalten und waren in Makrolonkäfigen des Typs IV (55 cm x 33 cm x 20 cm) untergebracht, welche mit Holzgranulateinstreu (ssniff® Lignocel 3-4 S, Soest, Deutschland) ausgestattet waren. Allen Versuchstieren standen Wasser sowie pelletiertes Standardfutter (ssniff® R/M-H, Soest, Deutschland) *ad libitum* zur Verfügung. Im Tierstall herrschte ein künstliches Lichtregime, das eine zwölfstündige Lichtphase von 04:00 Uhr bis 16:00 Uhr mit einer durchschnittlichen Lichtintensität von 170 Lux garantierte. Die Raumtemperatur betrug  $22 \pm 2$  °C, die relative Luftfeuchtigkeit  $60 \pm 5$  %. Bei den Versuchstieren handelte es sich um männliche (♂) und weibliche (♀) SD Ratten zweier Altersstufen. Die jungen Ratten wurden im Alter von sechs Wochen in den Versuch genommen und werden in dieser Studie als „jung adult“ bezeichnet. Bei den jung adulten Männchen betrug die durchschnittliche Ausgangsmasse  $180 \pm 7$  g, während diese bei den Weibchen bei  $172 \pm 4$  g lag. Die älteren Tiere waren zwölf Monate alt und werden im weiteren Verlauf der Arbeit „adult“ benannt. Die adulten Männchen wogen durchschnittlich  $567 \pm 10$  g, die adulten Weibchen  $300 \pm 4$  g. Pro Gruppe standen 24 Tiere – 12 Kontrolltiere sowie 12 Versuchstiere – zur Verfügung, was eine absolute Tierzahl von 96 SD Ratten ergibt. Im Laufe der einzelnen Versuchsreihen verstarben je ein jung adultes sowie ein adultes männliches Kontrolltier. Die Versuche wurden geschlechterspezifisch räumlich separiert durchgeführt, um einen Einfluss durch Wahrnehmung des Geruches des jeweils anderen Geschlechtes auszuschließen.

### **2.2 Futter und Fütterungsregime**

Alle Ratten hatten während des neunwöchigen Versuchszeitraumes uneingeschränkten Zugang zu Futter und Wasser. Lediglich vor der Untersuchung zur BSS war eine Futterdeprivation für drei Stunden und vor der Durchführung des oralen Glukose Toleranz-Tests für 16 Stunden notwendig. Die zur Kontrolle dienenden Tiere erhielten ausschließlich pelletiertes Standardfutter und werden im Folgenden „Kontrolltiere“, „Kontrollen“

beziehungsweise „Kontrollgruppen“ genannt. Allen weiteren Ratten wurde zusätzlich eine hochkalorische CD zur Verfügung gestellt. Sie werden im weiteren Text als „CD-Tiere“, „CD-Ratten“ beziehungsweise „CD-Gruppen“ betitelt. Die CD setzte sich aus folgenden Lebensmitteln zusammen:

- Schinkenfleischwurst (Kaufland Fleischwaren GmbH & Co. KG, Heilbronn, Deutschland),
- Rosinenstuten (LIDL Stiftung & Co. KG, Neckarsulm, Deutschland),
- Vollmilch Schokolade (Ludwig Schokolade GmbH & Co. KG, Saarlouis, Deutschland),
- Butter Spritzgebäck (Borggreve KG, Neuenhaus, Deutschland),
- Fusilli (Pasta Zara, Riese Pio X, Italien),
- Gouda 48 % Fett in Trockenmasse (i. Tr.) (Consalac B.V., Huizen, Niederlande),
- Rührkuchen Marmor (Conditess Feine Kuchen GmbH, Haselünne, Deutschland).

Den Tieren wurde täglich eine Auswahl von vier der angegebenen Lebensmittel angeboten, wobei ein Bestandteil täglich variierte, um den Reiz des Neuen aufrecht zu erhalten. Die Futtergabe erfolgte kurz vor Beginn der Dunkelphase.

### **2.3 Untersuchungen zur Nahrungs- und Wasseraufnahme**

Über einen Zeitraum von vier Wochen wurde täglich der Futter- und Wasserverbrauch über 24 Stunden durch Errechnen der Differenz zwischen Ausgangsgewicht und verbleibendem Endgewicht von Futter und Wasser ermittelt. Durch die Ermittlung des Futtermittelsverbrauches in Gramm konnte anhand angegebener Energiewerte die Aufnahme der Kilojoule (kJ) sowohl für das Standardfutter als auch die CD errechnet werden. Das Standardfutter hatte einen Brennwert von 1280 kJ pro 100 g und bestand zu 9 % aus Fetten, zu 58 % aus Kohlenhydraten und zu 33 % aus Proteinen. Bezogen auf alle sieben Lebensmittel bestand die CD durchschnittlich aus  $21 \pm 5$  % Fett,  $37 \pm 10$  % Kohlenhydraten und  $9 \pm 3$  % Proteinen und hatte einen Brennwert von  $1546 \pm 224$  kJ pro 100 g. Die tägliche Energiedichte der vier angebotenen Lebensmittel sowie die Zusammensetzung der Makronährstoffe in der verzehrten CD wurden anhand der auf den Verpackungen vermerkten Nährwertangaben errechnet (Tab. 2.1). Anschließend wurde der wöchentliche kJ-Verbrauch pro Käfig ins Verhältnis mit den Körpermassen der Ratten gesetzt und auf 100 g Körpermasse umgerechnet.

Die graphischen Darstellungen zum Futter- und Wasserverbrauch erfolgten für den täglichen durchschnittlichen Verbrauch pro Käfig, die Illustration der Energie- und Makronährstoffaufnahme für ein jeweils wöchentliches Intervall.

	<b>Kohlenhydrate</b>	<b>Fette</b>	<b>Proteine</b>	<b>Brennwert</b>
Schinkenfleischwurst	1,0 g	23,0 g	12,0 g	1072 kJ
Rosinenstuten	57,0 g	5,0 g	6,0 g	1256 kJ
Alpenvollmilch Schokolade	56,0 g	32,0 g	6,1 g	2240 kJ
Butter Spritzgebäck	62,0 g	31,0 g	4,9 g	2284 kJ
Fusilli (gekocht)	33,0 g	0,4 g	5,0 g	665 kJ
Gouda (48 % Fett i.Tr.)	0,0 g	30,0 g	23,0 g	1527 kJ
Rührkuchen Marmor	48,5 g	23,6 g	5,1 g	1784 kJ

Tab. 2.1: Nährwerte der verwendeten Lebensmittel pro 100 g.

## 2.4 Metabolische Untersuchungen

### 2.4.1 Körpermasse und energetische Effizienz der Nahrung

Während der vierwöchigen Untersuchung zur Nahrungs- und Wasseraufnahme wurden die Ratten mittels einer digitalen Tierwaage (Sartorius isoCal, LC4201–00MS, Sartorius AG, Deutschland) täglich gewogen (Abb. 2.1). Anschließend erfolgte diese Dokumentation im wöchentlichen Abstand. Für die erste und letzte Versuchswoche wurde die durchschnittliche Körpermassezunahme pro Gruppe errechnet, um eine variierende Körpermasseentwicklung im zeitlichen Verlauf der Studie sowie in den verschiedenen Altersgruppen verdeutlichen zu können. Die energetische Effizienz der Nahrung wurde errechnet, indem für jedes wöchentliche Intervall die durchschnittliche tägliche Körpermasseentwicklung einer jeden Ratte durch die durchschnittliche täglich aufgenommene Energie geteilt wurde (Levin *et al.*, 1985; Archer *et al.*, 2004).

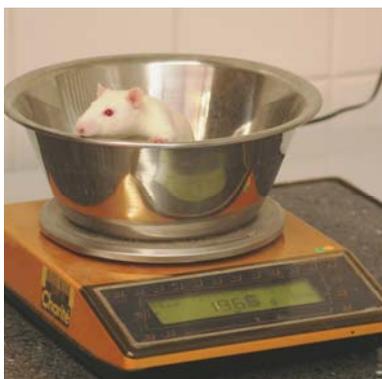


Abb. 2.1: Ermittlung der Körpermasse mittels einer digitalen Tierwaage.

#### 2.4.2 Oraler Glukose Toleranz-Test

Am Ende der neunwöchigen Versuchsreihe wurde bei allen Ratten ein oraler Glukose Toleranz-Test (oGTT) durchgeführt. Hierfür wurden die Tiere über Nacht für 16 Stunden futterdepriviert. Am Folgetag wurde die Nüchternblutglukosekonzentration ermittelt, danach erhielten die Tiere 2 g/kg Körpermasse einer fünfzigprozentigen Glukoselösung per Schlundsonde. Nach 10, 30, 60 und 120 Minuten wurde die Glukosekonzentration im Blut mit Hilfe des Glukometers Ascensia Dex2<sup>®</sup> (Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) ermittelt. Ein für diese Untersuchung benötigter Blutstropfen wurde durch Punktion der Schwanzvene gewonnen.

#### 2.4.3 Fettgewebe und Adipositas-Index

Nach Abschluss aller Versuche wurden die Ratten mit Isofluran (cp-Pharma<sup>®</sup>, Burgdorf, Deutschland) betäubt und anschließend dekaptiert. Die Ventralseiten der Torsi wurden mit Alkohol desinfiziert und durch einen Schnitt in der Peritonealhöhle geöffnet. Es erfolgte die Präparation der univakuolären viszeralen, subkutanen und epidermalen Fettmassen. Anschließend wurde den Tieren das plurivakuoläre, mitochondrienreiche braune Fettgewebe aus dem Nackenbereich entnommen. Die Präparation der Fettmassen erfolgte unter Anleitung einer Mitarbeiterin des deutschen Instituts für Ernährungsforschung (DIFE). Das Fettgewebe wurde gewogen und auf 100g Körpermasse des entsprechenden Tieres umgerechnet. Der Adipositas-Index wurde errechnet, indem das Gesamtgewicht der Fettmasse eines jeden Tieres ins Verhältnis mit der Körpermasse gesetzt wurde:

$$\text{Adipositas-Index [\%]} = (\text{Fettgewebe [g]} / \text{Körpermasse [g]}) \times 100$$

#### 2.4.4 Blutfette

##### Gewinnung des Plasmas

Unmittelbar nach der Dekapitation wurden circa 4 ml Blut eines jeden Tieres aus der Halsschlagader (*Arteria carotis communis*) in einem präparierten Probenröhrchen aufgefangen (KABEVETTE<sup>®</sup>, Kabe Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland) und zum Mischen mit dem Gerinnungshemmer (EDTA Tri-Kaliumsalz) vorsichtig geschwenkt. Durch fünfzehnminütiges Zentrifugieren (Centrifuge 5416, Eppendorf AG,

Hamburg, Deutschland) bei 4000 Umdrehungen pro Minute wurden Serum und Plasma voneinander getrennt. Anschließend wurden 1,5 ml Plasma pro Tier abpipettiert und in Reaktionsgefäßen 3810 der Eppendorf AG (Hamburg, Deutschland) bei -80 °C eingefroren und bis zur weiteren Bearbeitung verwahrt.

#### Analysen des Cholesterol-, Triglycerid- und freie Fettsäuregehalts

Am DIFE in Potsdam erfolgte die Bestimmung von Cholesterol, Triglyceriden sowie freien Fettsäuren im Plasma mittels enzymatischer Farbteste. Nach der Herstellung der Standardreihen wurden 5 µl der jeweiligen Standards (STD), 5 µl H<sub>2</sub>O für die Bestimmung des Blindwertes (BLK) sowie 5 µl der Plasmaproben auf 96-Well-Proben-Platten pipettiert. Jede Plasmaprobe wurde mit einer Dreifachbestimmung analysiert (Abb. 2.3, Abb. 2.5, Abb. 2.7). Mit Hilfe analytischer Kits wurden Plasma, Standardreihe und Blindwert aufbereitet und anschließend die Probenplatte gevortext, zentrifugiert und inkubiert. Im Folgenden wurde die Absorption im Spektralphotometer (Power wave 340, BioTek Instruments GmbH, Bad Friedrichshall, Deutschland) ermittelt. Die jeweiligen Mengen der zugesetzten Reagenzien bei der Aufbereitung des Plasmas sowie die Inkubationszeiten der Gemische variierten je nach zu bestimmendem Parameter.

#### *Cholesterol*

Cholesterol wird nach enzymatischer Hydrolyse (CHE) und Oxidation (CHO) bestimmt. Indikator ist Chinonimin, das aus Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und 4-Aminophenazon unter Anwesenheit von Phenol und Peroxidase (POD) gebildet wird (Abb. 2.2).

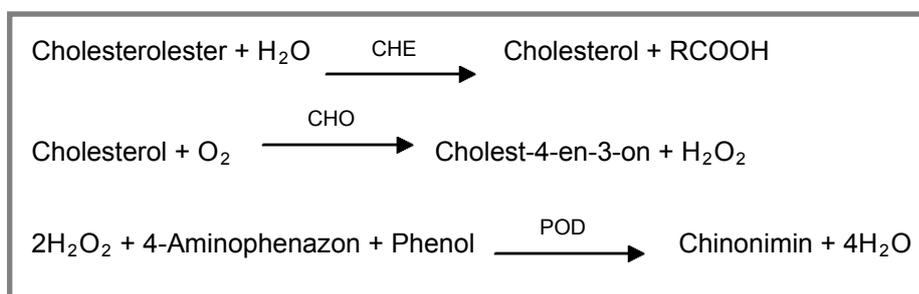


Abb. 2.2: Schematische Darstellung des Testprinzips zur Cholesterolbestimmung im Plasma.

5 µl der Proben, der Standardreihe sowie des Aquadests wurden mit 150 µl raumtemperiertem Enzymreagenz (RGT) gemischt, gevortext und zentrifugiert. Im Anschluss erfolgte eine zehnmünütige Inkubation bei 37°C. Die Messung der Extinktion wurde bei 500 nm durchgeführt.

Wako Free Cholesterol C Kit (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Deutschland):

Cholesterol Standardreihe:

Inhalt	Bestandteile	200 mg/dl oder 5,17 mmol/l
RGT	100 mmol/l Phosphatpuffer (pH 6,5) 0,3 mmol/l 4-Aminophenazon 5 mmol/l Phenol >5 KU/l Peroxidase >150 U/l Cholesterolesterase >100 U/l Cholesteroxidase 0,05 % Natriumazid (Konservierungsmittel)	[mg/dl] 200 → unverdünnt 150 → 30 µl STD + 10 µl H <sub>2</sub> O 100 → 20 µl STD + 20 µl H <sub>2</sub> O 50 → 10 µl STD + 30 µl H <sub>2</sub> O 20 → 20 µl STD + 180 µl H <sub>2</sub> O 10 → 10 µl STD + 190 µl H <sub>2</sub> O

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Probe1	Probe1	Probe1	Probe7	Probe7	Probe7	Probe13	Probe13	Probe13	Probe19	Probe19	Probe19
B	Probe2	Probe2	Probe2	Probe8	Probe8	Probe8	Probe14	Probe14	Probe14	Probe20	Probe20	Probe20
C	Probe3	Probe3	Probe3	Probe9	Probe9	Probe9	Probe15	Probe15	Probe15	Probe21	Probe21	Probe21
D	Probe4	Probe4	Probe4	Probe10	Probe10	Probe10	Probe16	Probe16	Probe16	Probe22	Probe22	Probe22
E	Probe5	Probe5	Probe5	Probe11	Probe11	Probe11	Probe17	Probe17	Probe17	Probe23	Probe23	Probe23
F	Probe6	Probe6	Probe6	Probe12	Probe12	Probe12	Probe18	Probe18	Probe18	Probe24	Probe24	Probe24
G (STD)	10	20	50	100	150	200	BLK					
H (STD)	10	20	50	100	150	200	BLK					

Abb. 2.3: Plattenbefüllung zur Cholesterolbestimmung im Plasma. Proben 1- 12=Kontrolltiere, Proben 13 - 24=CD-Ratten.

### Triglyceride / Glycerol

Triglyceride (TG) werden durch Lipase in freie FS und Glycerol umgewandelt. Glycerol wird anschließend unter Anwesenheit von Adenosin-5'-triphosphat (ATP) mit Hilfe des Katalysators Glycerolkinase (GK) zu Glycerol-1-phosphat (G-1-P) und Adenosin-5'-diphosphat (ADP) phosphoryliert. Durch Glycerol-Phosphat-Oxidase (GPO) wird G-1-P anschließend zu Dihydroxyacetonphosphat (DAP) und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidiert. POD katalysiert die Reaktion von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mit 4-Aminoantipyrin (4-AAP) und *N*-Ethyl-*N*-(3-sulfo-propyl)-*m*-anisidin (ESPA) zu Chinonimin, das ein Absorptionsmaximum bei 540 nm aufweist (Abb. 2.4).

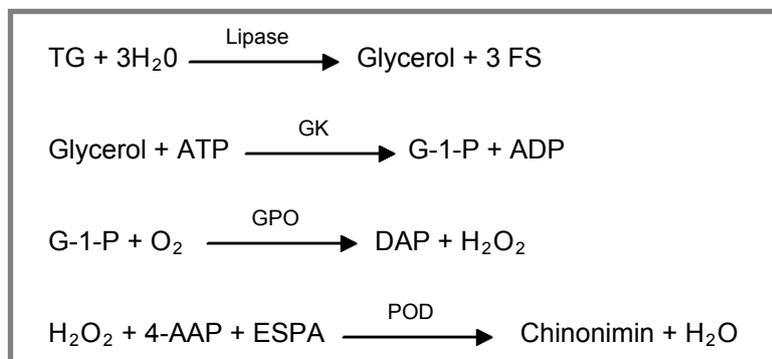


Abb. 2.4: Schematische Darstellung des Testprinzips zur Triglyceridbestimmung im Plasma.

5 µl der Proben, der Standards und des Aquadests wurden mit 100 µl raumtemperiertem Free Glycerol Reagenz gemischt, gevortext und zentrifugiert. Anschließend erfolgte eine Inkubation der Probenplatte für fünf Minuten bei 37 °C. Die Absorption wurde bei 540 nm im Spektralphotometer ermittelt, um die Glycerolkonzentration im Plasma festzustellen. Nachfolgend wurden 25 µl vom Triglycerid Reagenz hinzupipettiert und nach anschließendem Vortexen und Zentrifugieren eine erneute Inkubation von 15 Minuten bei 37 °C vorgenommen. Die Absorption wurde erneut bei 540 nm im Spektralphotometer ermittelt, um die Triglyceridkonzentration im Plasma zu bestimmen.

Free Glycerol Reagenz und Triglycerid Reagenz  
(Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland):

Glycerol Standardreihe:

Inhalt	Bestandteile	2,5 µg/µl
Free Glycerol Reagens	0.75 mM ATP 3.75 mM Magnesiumsalz 0.188 mM 4-Aminoantipyrin 2.11 mM <i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -(3-sulfopropyl)- <i>m</i> -anisidin 1,250 units/L Glycerolkinase 2,500 units/L Glycerol-Phosphat-Oxidase 2,500 units/L Peroxidase Puffer, pH 7.0 ± 0.1 0.05% Natriumazid	[µg/µl] 2,5 → unverdünnt 1,875 → 75 µl STD + 25 µl H <sub>2</sub> O 1,25 → 50 µl STD + 50 µl H <sub>2</sub> O 0,625 → 25 µl STD + 75 µl H <sub>2</sub> O 0,3 → 12 µl STD + 88 µl H <sub>2</sub> O 0,15 → 6 µl STD + 94 µl H <sub>2</sub> O 0,075 → 3 µl STD + 97 µl H <sub>2</sub> O
Triglyceride Reagens	250,000 units/L Lipase 0.05% Natriumazid	Triglyceride Standardreihe: <u>Level 1 (L1): 191mg/dl oder 2,16 mmol/l</u> <u>Level 2 (L2): 95,8 mg/dl oder 1,08 mmol/l</u>  [ng/µl] 1910 → L1 unverdünnt 958 → L2 unverdünnt 96 → L1 1:20 24 → L2 1:40

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Probe1	Probe1	Probe1	Probe7	Probe7	Probe7	Probe13	Probe13	Probe13	Probe19	Probe19	Probe19
B	Probe2	Probe2	Probe2	Probe8	Probe8	Probe8	Probe14	Probe14	Probe14	Probe20	Probe20	Probe20
C	Probe3	Probe3	Probe3	Probe9	Probe9	Probe9	Probe15	Probe15	Probe15	Probe21	Probe21	Probe21
D	Probe4	Probe4	Probe4	Probe10	Probe10	Probe10	Probe16	Probe16	Probe16	Probe22	Probe22	Probe22
E	Probe5	Probe5	Probe5	Probe11	Probe11	Probe11	Probe17	Probe17	Probe17	Probe23	Probe23	Probe23
F	Probe6	Probe6	Probe6	Probe12	Probe12	Probe12	Probe18	Probe18	Probe18	Probe24	Probe24	Probe24
G (STD)	0,075	0,15	0,3	0,625	1,25	1,875	2,5	BLK	24	96	958	1910
H (STD)	0,075	0,15	0,3	0,625	1,25	1,875	2,5	BLK	24	96	958	1910

Abb. 2.5: Plattenbefüllung zur Triglyceridbestimmung im Plasma. Proben 1- 12=Kontrolltiere, Proben 13 - 24=CD-Ratten.

*Freie Fettsäuren*

Unter Mitwirkung von Coenzym A (CoA) und ATP werden unveresterte Fettsäuren (NEFA) in der Probe durch Acyl-CoA Synthetase zu Acyl-CoA, Adenosinmonophosphat (AMP) und Phosphorsäure (PPi) umgesetzt. Acyl-CoA wird anschließend unter Einwirkung von Acyl-CoA Oxidase zu 2,3-trans-Enoyl-CoA und Wasserstoffperoxid umgewandelt. In Anwesenheit von POD wird unter Einwirkung von 3-Methyl-N-Ethyl-N-(β-Hydroxyethyl)-Anilin (MEHA) und 4-AAP durch oxidative Kupplung ein blau-violetter Farbkomplex gebildet (Abb. 2.6). Durch die Messung der Absorption der blau-violetten Farbe kann die NEFA-Konzentration bestimmt werden.

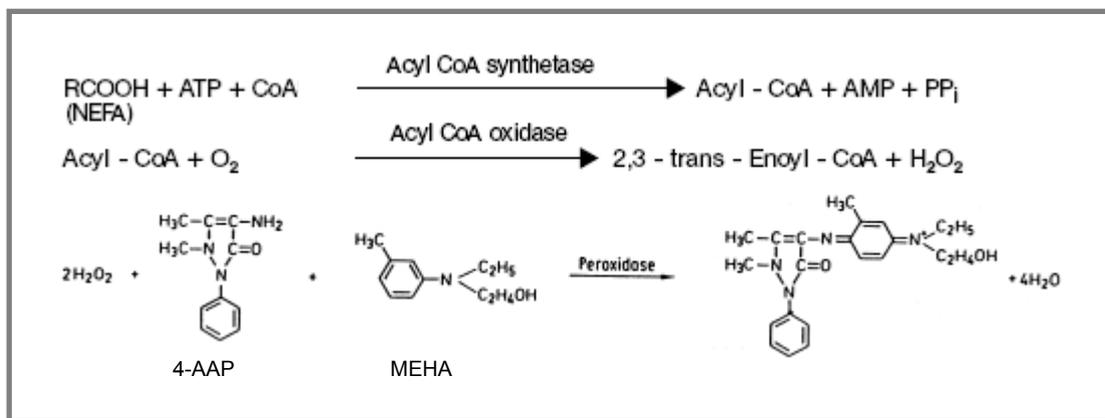


Abb. 2.6: Schematische Darstellung des Testprinzips zur Bestimmung freier Fettsäuren im Plasma.

5 µl der Plasmaproben, der Standards sowie des Aquadests wurden auf die Probenplatte pipettiert, 100 µl Farbreagenz A hinzu gegeben, die Platte anschließend gevortext, zentrifugiert und für fünf Minuten bei 37 °C inkubiert. Die Absorption wurde bei 550 nm im Spektralphotometer ermittelt. Darauf folgend wurden 50 µl Farbreagenz B hinzugefügt und nach erneutem Vortexen und Zentrifugieren eine weitere fünfminütige Inkubation bei 37 °C vorgenommen. Die Messung der Extinktion wurde bei 500 nm wiederholt.

Wako NEFA C Kit (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Deutschland):

NEFA Standardreihe:

<u>Inhalt</u>	<u>Bestandteile</u>	<u>28,2 mg/dl oder 1 mmol/l</u>
Farbreagenz A	0,53 U/ml ACS 0,31 mmol/l CoA 4,3 mmol/l ATP 1,5 mmol/l 4-AAP 2,6 U/ml AOD 0,05% Natriumazid 0,8% Farbreagenz lyophilisiert  50 mmol/l Phosphat-Puffer, pH 7,0	[mmol/l] 1,0 → unverdünnt 0,7 → 70 µl STD + 30 µl H <sub>2</sub> O 0,5 → 50 µl STD + 50 µl H <sub>2</sub> O 0,3 → 30 µl STD + 70 µl H <sub>2</sub> O 0,2 → 20 µl STD + 80 µl H <sub>2</sub> O 0,1 → 10 µl STD + 90 µl H <sub>2</sub> O 0,05 → 5 µl STD + 95 µl H <sub>2</sub> O
Farbreagenz B	12 U/ml AOD 14 U/ml POD 2,4 mmol/l MEHA	

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Probe1	Probe1	Probe1	Probe7	Probe7	Probe7	Probe13	Probe13	Probe13	Probe19	Probe19	Probe19
B	Probe2	Probe2	Probe2	Probe8	Probe8	Probe8	Probe14	Probe14	Probe14	Probe20	Probe20	Probe20
C	Probe3	Probe3	Probe3	Probe9	Probe9	Probe9	Probe15	Probe15	Probe15	Probe21	Probe21	Probe21
D	Probe4	Probe4	Probe4	Probe10	Probe10	Probe10	Probe16	Probe16	Probe16	Probe22	Probe22	Probe22
E	Probe5	Probe5	Probe5	Probe11	Probe11	Probe11	Probe17	Probe17	Probe17	Probe23	Probe23	Probe23
F	Probe6	Probe6	Probe6	Probe12	Probe12	Probe12	Probe18	Probe18	Probe18	Probe24	Probe24	Probe24
G (STD)	0,05	0,1	0,2	0,3	0,5	0,7	1,0	BLK				
H (STD)	0,05	0,1	0,2	0,3	0,5	0,7	1,0	BLK				

Abb. 2.7: Plattenbefüllung zur Bestimmung von freien FS im Plasma. Proben 1- 12=Kontrolltiere, Proben 13 - 24=CD-Ratten.

## 2.5 Verhaltensuntersuchungen

Die Verhaltensuntersuchungen wurden mit Ausnahme der Aktivitätsmessungen im Anschluss an die vierwöchige Phase der täglichen Nahrungs- und Wasseraufnahmekontrolle durchgeführt. Aktivitätsmessungen fanden in der 1. und 4. Versuchswoche statt. In der 5. Versuchswoche wurden die Ratten im EPM, in der 6. Versuchswoche im OF getestet. Anschließend erfolgte die Durchführung des NOD-Tests in der 7. Versuchswoche. Die Untersuchungen zur BSS fanden ausschließlich mit den adulten Ratten statt und erfolgten in der 8. Versuchswoche. Da jedes Tier in mehreren Verhaltensuntersuchungen getestet wurde, lag zwischen den einzelnen Tests jeweils eine Woche Abstand, um Beeinflussungen der Tests untereinander zu vermeiden. Die Datenaufnahme der Aktivitätsmessungen startete zu Beginn der Dunkelphase und erfolgte halbstündlich bis 14:30 Uhr des darauf folgenden Tages. Sämtliche Versuche zum Angst- und Lernverhalten fanden zwischen 9:00 Uhr und 11:00 Uhr statt, die Untersuchungen zur BSS zwischen 15:00 Uhr und 17:00 Uhr. Außer den Aktivitätsmessungen, die im Heimatkäfig stattfanden, wurden die Verhaltensuntersuchungen in schallgedämpften Versuchskammern der Maße 200 cm x 194 cm x 245 cm durchgeführt. Um den Einfluss von Transportstress auf das Verhalten der Ratten auszuschließen, wurden die Tiere mindestens eine Stunde vor Versuchsbeginn in ihren Gruppenkäfigen in einen ruhigen Vorraum der Versuchskammern gebracht. Die Verhaltenstests wurden mit einer in Deckenhöhe angebrachten Kamera (Panasonic, Osaka, Japan), die mit einem außerhalb der Kammer befindlichen Monitor (Panasonic, Osaka, Japan) und einem DVD Rekorder (Philips 3460H, Hamburg, Deutschland) verbunden war, überwacht und aufgezeichnet. Die Datenerfassung erfolgte mit Hilfe der Software VideoMot 2 von TSE-Systems GmbH (Bad Homburg, Deutschland).

Um olfaktorische Signale des vorangegangenen Versuchstieres zu entfernen, wurden nach jedem Versuch Wände und Boden der Apparaturen mit Alkohol (Meliseptol<sup>®</sup> rapid, B. Braun AG, Melsungen, Deutschland) gereinigt.

### 2.5.1 Aktivitätsmessungen

Ein Weg zur Evaluierung lokomotorischen Verhaltens liegt in der Messung der Aktivität im Heimatkäfig. Hierüber können Informationen über das Verhalten von Versuchstieren gewonnen werden, ohne dass diese angsterzeugenden Situationen ausgesetzt werden müssen. Darüber hinaus ist eine langfristige Erhebung von Daten möglich und der Einfluss bestimmter Versuchsbedingungen auf den circadianen Rhythmus feststellbar. Diese Art der Bewegungsmessung kann Unterschiede der lokomotorischen Aktivität im Heimatkäfig zum Explorationsverhalten in angstassoziierten Verhaltensuntersuchungen (EPM, OF) aufzeigen (Galani *et al.*, 2001).

Aktivitätsmessungen fanden in der 1. und 4. Versuchswoche statt. Anhand eines computergestützten Systems (InfraMot-Activity-System, TSE-Systems GmbH, Bad Homburg, Deutschland) wurde die Aktivität der Tiere täglich für die Dauer von 22 Stunden im Heimatkäfig ermittelt. Durch das Erfassen der Körpertemperatur mittels der auf den Käfigdeckeln befindlichen Bewegungsdetektoren wurde das Registrieren der Aktivität zu allen Lichtkonditionen ermöglicht. Die Datenaufnahme startete zu Beginn der Dunkelphase. Neben der Betrachtung der Gesamtaktivität erfolgte die voneinander getrennte Darstellung der Aktivität während der Dunkel- und Lichtphase.

### 2.5.2 Elevated Plus Maze-Test

Der EPM-Test ist ein allgemein anerkanntes Modell zur Untersuchung von unkontingiertem angstassoziierten Verhalten bei Nagetieren, bei dem die neue Umgebung den angstausslösenden Stimulus darstellt. Beim EPM handelt es sich um eine kreuzförmige Konstruktion aus 1,5 cm dickem Kunststoff, die auf einer zentralen Stahlstange 64 cm über dem Boden angebracht ist (Abb. 2.8). Es besteht aus zwei offenen (44 cm x 17 cm) und zwei geschlossenen, mit Seitenwänden versehenen Armen (44 cm x 17 cm x 25 cm), die rechtwinklig zueinander angeordnet sind und in eine zentrale Plattform (17 cm x 17 cm) münden (Rex *et al.*, 2002). Die Lichtstärke bei der Durchführung dieses Testes betrug 150 Lux auf den offenen und 70 Lux innerhalb der geschlossenen Arme. Wichtige Parameter

in diesem Test sind die Eintritte und die verbrachte Zeit auf den jeweiligen Flächen. Hierbei gelten das Meiden der offenen Arme und das überwiegende Bewegen auf den geschlossenen Armen als Anzeichen von Angst (Pellow *et al.*, 1985).

Zu Beginn des fünfminütigen Versuchs wurden die Ratten diagonal ins Zentrum des EPM gesetzt, um eine Vorentscheidung für einen der Arme zu vermeiden. Folgende Verhaltensparameter wurden mit Hilfe des VideoMot 2 Systems erfasst:

- Zurückgelegte Distanz,
- Anzahl der Gesamteintritte,
- Prozentuales Verhältnis der Eintritte in die offenen Arme zu den Gesamteintritten,
- Prozentsatz der verbrachten Zeit in den offenen Armen im Verhältnis zur Gesamtdauer,
- Anzahl der Aufrichtebewegungen (Rearing: Aufrichten des Körpers mit Ablösen beider Vorderpfoten vom Boden),
- Dauer des Putzverhaltens (Grooming).



Abb. 2.8: EPM zur Beurteilung des Angst- und Explorationsverhaltens.

### 2.5.3 Open Field-Test

Der OF-Test gehört zu den am häufigsten verwendeten Methoden der tierexperimentellen Verhaltensforschung und dient der Untersuchung des Angst- und Explorationsverhaltens. Im OF erkunden die Ratten eine ihnen unbekannte quadratische Fläche, welche virtuell in zwei Bereiche – das Mittelfeld und den Randbereich – eingeteilt ist. Die Grundfläche der Konstruktion beträgt 100 cm x 100 cm. Der Randbereich wird von 30 cm hohen hölzernen, weiß gestrichenen Seitenwänden umgeben und reicht von diesen bis zur inneren Zone, die 70 cm x 70 cm misst (Abb. 2.9). Die offene Fläche des OF stellt für die Versuchstiere einen

aversiven Stimulus dar, weshalb sich die Aktivität der Tiere vornehmlich auf den Randbereich beschränkt und häufig Thigmotaxis zu den Seitenwänden besteht (Prut & Belzung, 2003).

Die Durchführung des OF-Tests erfolgte in Anlehnung an die in der Literatur beschriebene Methode (Voigt *et al.*, 2005). Die Lichtstärke im Zentrum des OF betrug 150 Lux. Beim Start des fünfminütigen Versuches wurde das zu untersuchende Tier in eine Ecke der Apparatur gesetzt. Nachstehende Verhaltensparameter wurden mittels des VideoMot 2 Systems erfasst:

- Zurückgelegte Distanz,
- Anzahl der Eintritte in das Mittelfeld,
- Aufenthaltsdauer im Mittelfeld,
- Latenz bis zum ersten Eintreten in das Mittelfeld,
- Anzahl der Aufrichtebewegungen (Rearing),
- Dauer des Putzverhaltens (Grooming).



Abb. 2.9: OF zur Beurteilung des Angst- und Explorationsverhaltens.

#### 2.5.4 Habituation im Open Field-Test

Um mögliche Effekte der CD auf das Habitutionsvermögen der Ratten feststellen zu können, wurde oben beschriebener OF-Test am darauf folgenden Tag nochmals durchgeführt. Die Tiere wurden unter selben Bedingungen getestet, um die Vergleichbarkeit der Daten zu garantieren. Zu den wichtigsten Parametern dieses Tests gehören die zurückgelegte Distanz und die Aufrichtebewegung, da die Abnahme dieser Parameter am zweiten Versuchstag Habituation charakterisiert (Gerhardt *et al.*, 1994; Schildein *et al.*, 2000).

### 2.5.5 Novel Object Discrimination-Test

Der NOD-Test beruht auf der Gegebenheit, dass Nagetiere die Neigung besitzen, ein neuartiges Objekt intensiver zu erforschen als ein bekanntes. Voraussetzung hierfür ist, dass sich die Versuchstiere an den vertrauten Gegenstand erinnern (Bevins & Besheer, 2006). Um sich an die 53 cm x 35 cm x 31 cm große Versuchsbox gewöhnen zu können, wurden die Ratten am Vortag des Versuches ohne Anwesenheit von Objekten für zehn Minuten in selbige gesetzt.

Am Versuchstag wurden den Ratten im fünfminütigen Trainingsdurchlauf zwei gleiche Objekte in der Versuchsarena präsentiert. Fäzes wurden anschließend entfernt und die Versuchsarena mit Desinfektionsmittel gereinigt. Gedächtnisleistungen wurden geprüft, indem den Tieren folgend auf die Trainingsphase im Testdurchlauf ein neuartiges sowie ein aus dem Training vertrautes Objekt präsentiert wurden (Abb. 2.10). Der fünfminütige Testdurchlauf fand eine Stunde nach der Trainingsphase statt. Als Wahrnehmung des neuen und Identifizierung des vertrauten Objektes wurde es angesehen, wenn die Tiere mit dem neuartigen Objekt mehr interagierten als mit dem bekannten. Folglich wurde als wichtigster Verhaltensparameter die Dauer der Objektexploration (sich dem Objekt auf  $\leq 1$ cm nähern, schnüffeln am Objekt, Kontakt mit dem Objekt) ermittelt. Alle in diesem Test verwendeten Objekte waren jeweils 5 cm vom Rand und 5 cm von der Seite entfernt platziert und bestanden aus bunten Kunststoffbausteinen der Firma Mega Bloks Inc. (Montreal, Canada). Diese waren am Boden der Versuchsbox befestigt, so dass sie von den Ratten nicht verschoben werden konnten. Die Lichtstärke bei der Durchführung dieses Versuches betrug 150 Lux.



Abb. 2.10: NOD-Test zur Beurteilung des Lernverhaltens.

In Vorversuchen wurden Spontanpräferenzen für eines der Objekte mit nicht in dieser Studie integrierten SD Ratten ausgeschlossen. Da in Publikationsdaten eine Abhängigkeit der Gedächtnisleistungen vom Zeitintervall zwischen Trainingsphase und Testdurchlauf zu finden ist (King *et al.*, 2004), wurden darüber hinaus verschiedene Intervallzeiten (15 min, 30 min, 60 min) zwischen Trainings- und Testdurchlauf mit unbehandelten adulten männlichen und weiblichen SD Ratten getestet.

#### 2.5.6 Behavioural Satiety Sequence

Eine aufschlussreiche Vorgehensweise zur Evaluierung des Fress- und Sättigungsverhaltens besteht in der Untersuchung der BSS. Die intakte BSS eines gesunden Tieres besteht aus einer strukturierten Abfolge von Verhaltensmustern beginnend mit einer Phase der Nahrungsaufnahme, gefolgt von Explorationsverhalten und Grooming sowie abschließendem Ruhen (Halford *et al.*, 1998). Dieser strukturierte Ablauf in der postprandialen Phase wird durch Nahrungsaufnahme modulierende Substanzen verändert. Während anorexigene Substanzen ein verfrühtes Beginnen der Sättigungssequenz hervorrufen, lösen orexigene Substanzen ein verspätetes Einsetzen der Sequenz aus. Die Verabreichung von Substanzen mit unselektivem Effekt auf das Nahrungsaufnahmeverhalten hat hingegen eine komplette Desorganisation dieses strukturierten Ablaufes von Verhaltensmustern zur Folge (Ishii *et al.*, 2003). Hierdurch können nicht nur selektive orexigene oder anorexigene Medikamente von unselektiv wirkenden Präparaten unterschieden, sondern auch Hinweise auf Gründe für ein verändertes Fressverhalten durch Sättigung, Übelkeit, Ermüdung oder Hyperaktivität gesammelt werden (Halford *et al.*, 1998).

Die Untersuchung dieser Sequenz erfolgte ausschließlich bei den adulten Ratten. Sie fand zu Beginn der Dunkelphase in einer aus undurchsichtigem Kunststoff bestehenden Box (53 cm x 35 cm x 31 cm) statt, deren Boden mit Holzgranulateinstreu bedeckt war. Das für diesen Test benötigte Futter wurde aus 50 g in 50 ml lauwarmem Wasser eingeweichten Standardpellets hergestellt, die für etwa eine Stunde einwässerten und anschließend zu einer breiartigen, homogenen Masse verarbeitet wurden. Am Vortag des Versuchstages wurden die Ratten gemeinsam mit dem Pelletbrei für eine Stunde in die Versuchsbox gesetzt, um sie an diese und das neuartige Futter zu gewöhnen. Am Versuchstag fand eine dreistündige Futterdeprivation vor Testbeginn statt. Anschließend wurde der Futterbrei abgewogen und den Tieren innerhalb der Versuchsarena in einer Petrischale zur Verfügung gestellt. Die in Deckenhöhe angebrachte Kamera zeichnete das Verhalten der Tiere für eine Stunde auf. Die

Lichtstärke bei der Durchführung dieses Versuches betrug 150 Lux. Nachstehende Verhaltensparameter wurden mittels der Software VideoMot 2 Systems erfasst:

- Latenz zur ersten Nahrungsaufnahme,
- Dauer der Nahrungsaufnahme,
- Dauer des Putzverhaltens (Grooming),
- Dauer des Ruhens.

Die Gesamtfutteraufnahme wurde durch Errechnen der Differenz zwischen Ausgangsgewicht und verbleibendem Endgewicht des Pelletbreis ermittelt und auf 100 g Körpermasse umgerechnet. Um mikrostrukturelle Analysen der BSS zu ermöglichen, wurde die einstündige Sequenz in zwölf fünfminütige Zeitabschnitte unterteilt, so dass der Übergangspunkt vom Nahrungsaufnahmeverhalten zum Ruheverhalten deutlich gemacht werden konnte.

## **2.6 Versuchsplan**

Die in dieser Arbeit durchgeführten Tierversuche wurden unter der Tierversuchsnummer Reg G0260/08 des Landesamtes für Gesundheit und Soziales (LAGeSo) Berlin genehmigt. Es wurden vier aufeinander folgende Versuchsreihen durchgeführt, die von Versuchsbeginn an jeweils eine Dauer von neun Wochen in Anspruch nahmen. In jeder Versuchsreihe wurden jeweils eine Kontrollgruppe (N=12) und eine CD-Gruppe (N=12) getestet. Bei den vier Versuchsreihen handelte es sich um sechs Wochen alte Männchen, sechs Wochen alte Weibchen, zwölf Monate alte Männchen und zwölf Monate alte Weibchen. Ab dem 1. Versuchstag erhielten die CD-Tiere zusätzlich zum Standardfutter eine täglich variierende CD, während die Kontrollen ausschließlich mit Standardpellets gefüttert wurden. Während der ersten vier Wochen wurden die Körpermasse sowie die Nahrungs- und Wasseraufnahme täglich dokumentiert und anschließend die Energieaufnahme und Makronährstoffzusammensetzung errechnet. Im weiteren Verlauf des Versuches erfolgte diese Dokumentation in wöchentlichen Abständen. Um akute Effekte der CD zu identifizieren, wurde mit dem InfraMot die lokomotorische Aktivität der Tiere in der 1. Versuchswoche erfasst. Diese Messung fand gleichermaßen in der 4. Versuchswoche statt. Anschließend wurden die Tiere in der 5. Versuchswoche im EPM und in der 6. Versuchswoche im OF getestet. In der 7. Versuchswoche erfolgte der NOD-Test. Allein mit den adulten Ratten fanden in der 8. Versuchswoche die Untersuchungen zur BSS statt. Abschließend wurden die

Glukoseverwertung der Tiere anhand eines oGTT getestet und *post mortem* die viszerale, subkutane, epidermale und braune Fettmasse bestimmt. Die Analyse der Blutfette erfolgte anhand von konservierten Plasmaproben nach Ende aller vier Versuchsreihen am DIFE in Potsdam (Abb. 2.11).

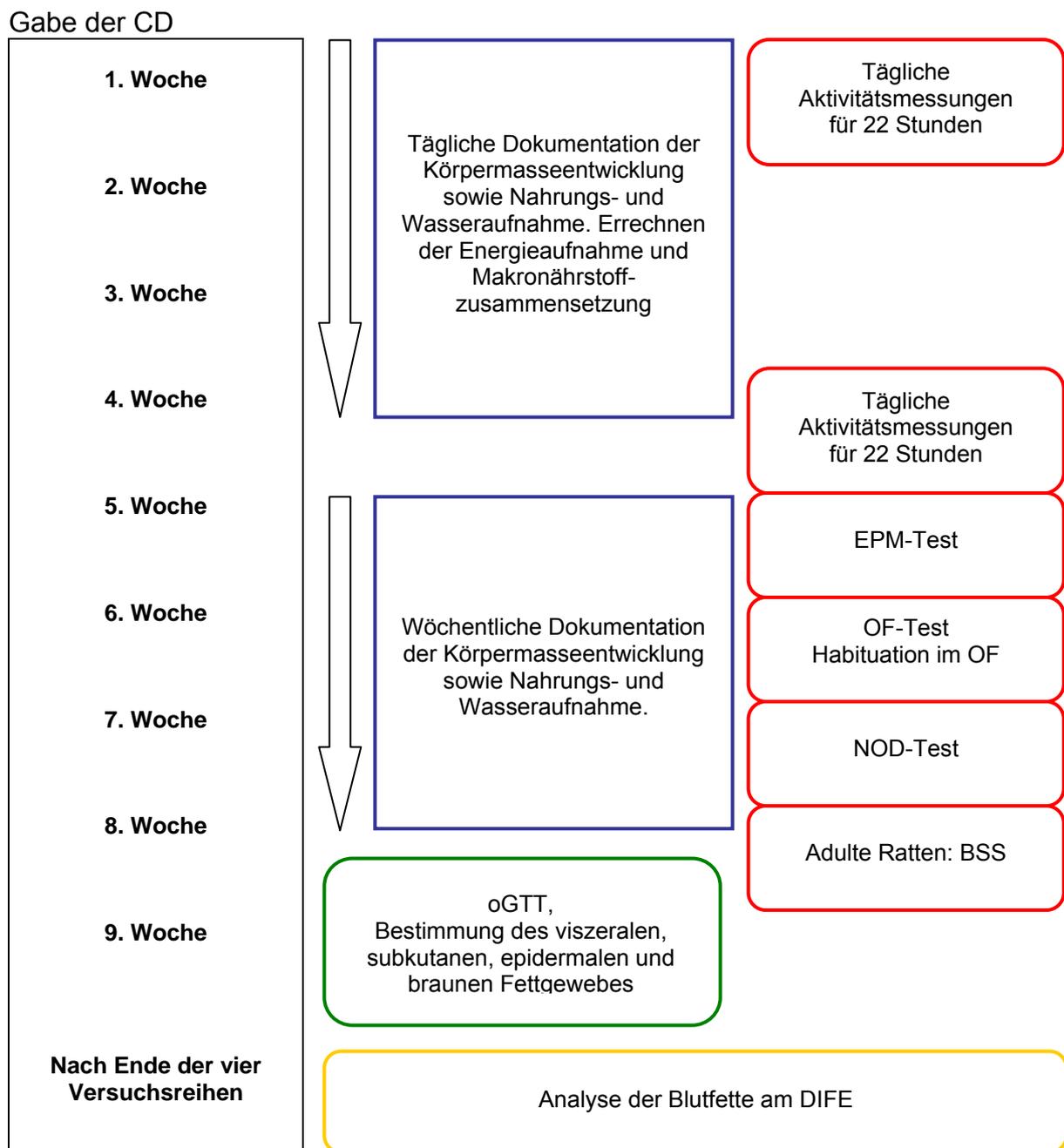


Abb. 2.11: Zeitplan der Versuchsreihen.

## 2.7 Statistische Auswertungen

Die statistische Auswertung und Abbildung der Daten erfolgte mit Hilfe von SigmaStat Version 3.0 (Systat Software, Erkrath, Deutschland) und GraphPad Prism, Version 5.00 (GraphPad Software, San Diego, USA). Es wurden nur die Tiere in die Auswertung der Verhaltensuntersuchungen einbezogen, bei denen eine komplette Dokumentation der fünfminütigen Testphasen möglich war. Daraus erklären sich die unterschiedlichen N-Zahlen der einzelnen Versuchsgruppen. Die Grafiken zeigen jeweils das arithmetische Mittel und den Standardfehler des Mittelwertes (SEM). Die Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha$  wurde in dieser Arbeit als  $\alpha=0,05$  definiert. Bei Unterschreitung von  $\alpha$  wurde die Nullhypothese als widerlegt angenommen und von einer nicht zufallsbedingten Abweichung der Nullhypothese ausgegangen. Ein statistischer Unterschied lag somit vor, wenn die Überschreitungswahrscheinlichkeit  $p < \alpha$  betrug. War  $0,05 \leq p \leq 0,1$ , wurde von einer Tendenz zur Widerlegung der Nullhypothese gesprochen.

Zu mehreren Zeitpunkten gesammelte Daten wurden anhand einer zweifaktoriellen ANOVA (Zeit x Diät) mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test analysiert. Hierzu zählten die Daten des Pellet- und Wasserverbrauchs, der kJ-Aufnahme, der Körpermasseentwicklung, der metabolischen Effizienz, des oGTT, der Aktivität der Tiere sowie die mikrostrukturellen Daten der BSS. Die Daten des 2. Testtages im OF wurden den Daten des 1. Versuchstages gegenübergestellt. Zur gruppenübergreifenden Untersuchung der Blutfette, des Fettgewebes, des Adipositas-Indexes sowie der Verhaltensuntersuchungen wurden die Daten mittels einer dreifaktoriellen ANOVA (Alter x Geschlecht x Diät) gefolgt vom Holm Sidak-Test analysiert. Die Ergebnisse des NOD-Tests wurden nach King *et al.* (2004) anhand des Student's *t*-Tests lokal betrachtet. Dies geschah ebenso mit den Daten der einzelnen Parameter für die Gesamtdauer der BSS.

Waren die Voraussetzungen für eine ANOVA aufgrund fehlender Normalverteilung nicht gegeben, erfolgte eine log<sub>10</sub>-Transformation der Daten.

### **3 Ergebnisse**

Im Folgenden werden die Auswertungen zur Nahrungs- und Wasseraufnahme, zu den physiologischen Untersuchungen sowie die Ergebnisse der Verhaltenstests dargestellt.

#### **3.1 Untersuchungen zur Nahrungs- und Wasseraufnahme**

Die Untersuchungen zur Nahrungs- und Wasseraufnahme ergaben, dass das Angebot der CD eine signifikante Reduktion der aufgenommenen Pellet- und Wassermenge in allen CD-Gruppen zur Folge hatte (Abb. 3.1 – 3.4).

Die prozentuale Zusammensetzung des Standardfutters hinsichtlich der Makronährstoffe lag bei 58 % Kohlenhydraten, 9 % Fett und 33 % Proteinen. Im Vergleich zu den Kontrolltieren zeigten die CD-Ratten eine reduzierte Aufnahme von Proteinen ( $6,4 \pm 0,09$  %), während die Fettzufuhr erhöht war ( $33,5 \pm 0,94$  %). Diese vermehrte Aufnahme von Fett war bei den adulten CD-Tieren stärker ausgeprägt ( $39,0 \pm 0,6$  %) als bei den jung adulten ( $28,1 \pm 0,8$  %). Die aufgenommene Menge an Kohlenhydraten war bei den jung adulten CD-Ratten im Vergleich zu den Kontrolltieren erhöht ( $62,9 \pm 0,7$  %), während sie bei den adulten CD-Tieren vermindert war ( $53,8 \pm 0,6$  %) (Abb. 3.5 – 3.8).

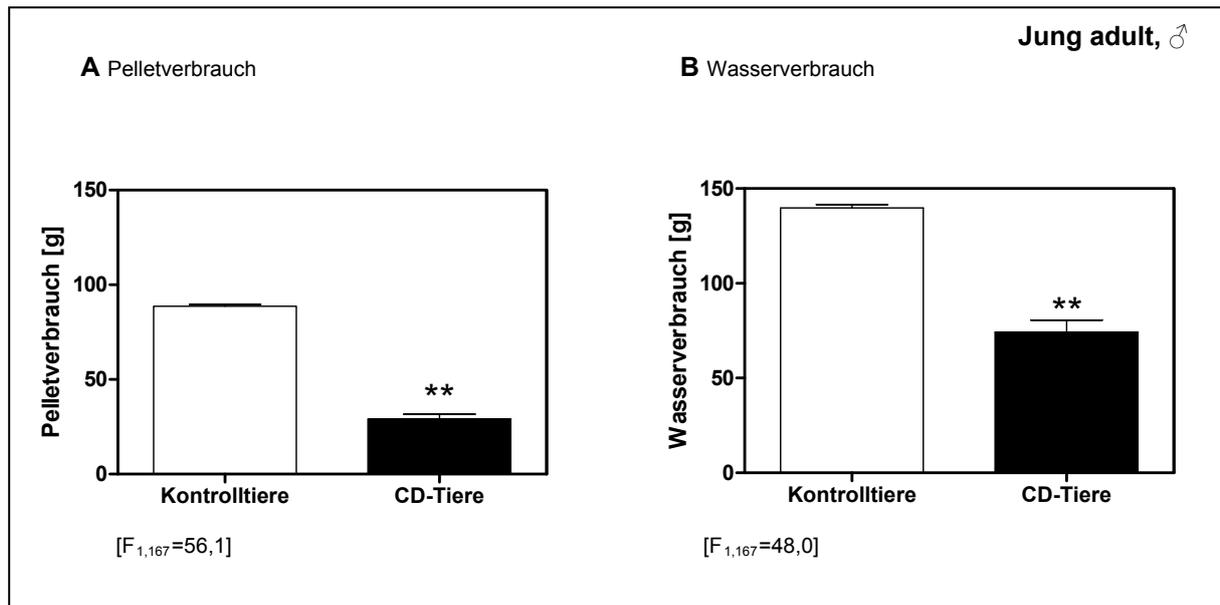
100 g der Standardpellets hatten einen Brennwert von 1280 kJ. Im Durchschnitt wurden von den jung adulten, männlichen Kontrolltieren wöchentlich  $7948 \pm 281$  kJ pro Käfig aufgenommen; von den jung adulten, männlichen CD-Tieren  $10999 \pm 127$  kJ (Abb. 3.5).

Die jung adulten, weiblichen Kontrolltiere nahmen durchschnittlich  $6244 \pm 155$  kJ pro Käfig und Woche auf, während die jung adulten, weiblichen CD-Tiere eine wöchentliche Energieaufnahme von  $7488 \pm 128$  kJ pro Käfig zeigten (Abb. 3.6).

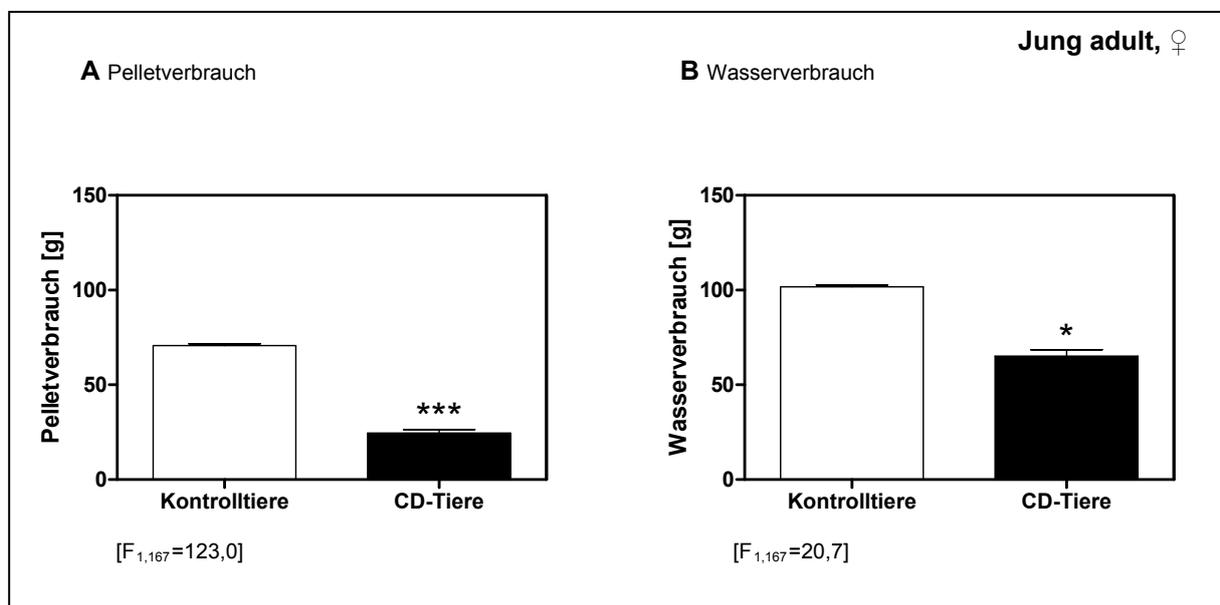
Bei den adulten, männlichen Kontrolltieren wurden wöchentlich  $6999 \pm 141$  kJ pro Käfig aufgenommen. Die wöchentliche Energieaufnahme bei den adulten, männlichen CD-Ratten lag bei  $10692 \pm 265$  kJ pro Käfig (Abb. 3.7).

Die adulten, weiblichen Kontrollen zeigten eine wöchentliche Energieaufnahme von  $4891 \pm 79$  kJ pro Käfig, wohingegen die adulten, weiblichen CD-Tiere wöchentlich  $7669 \pm 291$  kJ pro Käfig aufnahmen (Abb. 3.8).

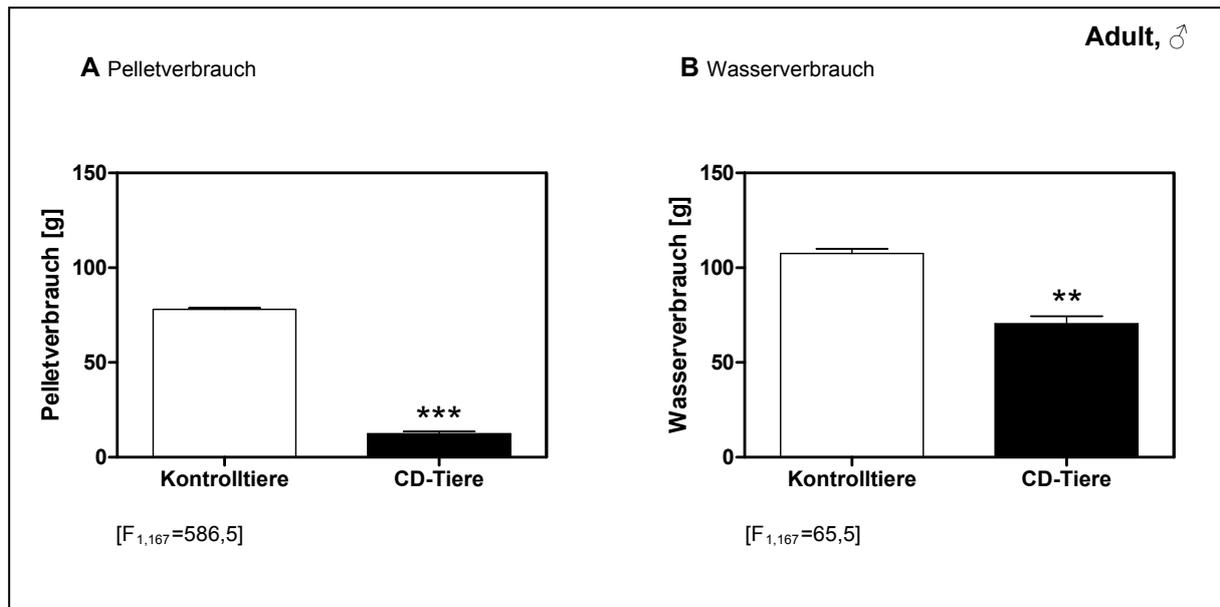
## DURCHSCHNITTLICHER TÄGLICHER PELLET- UND WASSERVERBRAUCH PRO KÄFIG



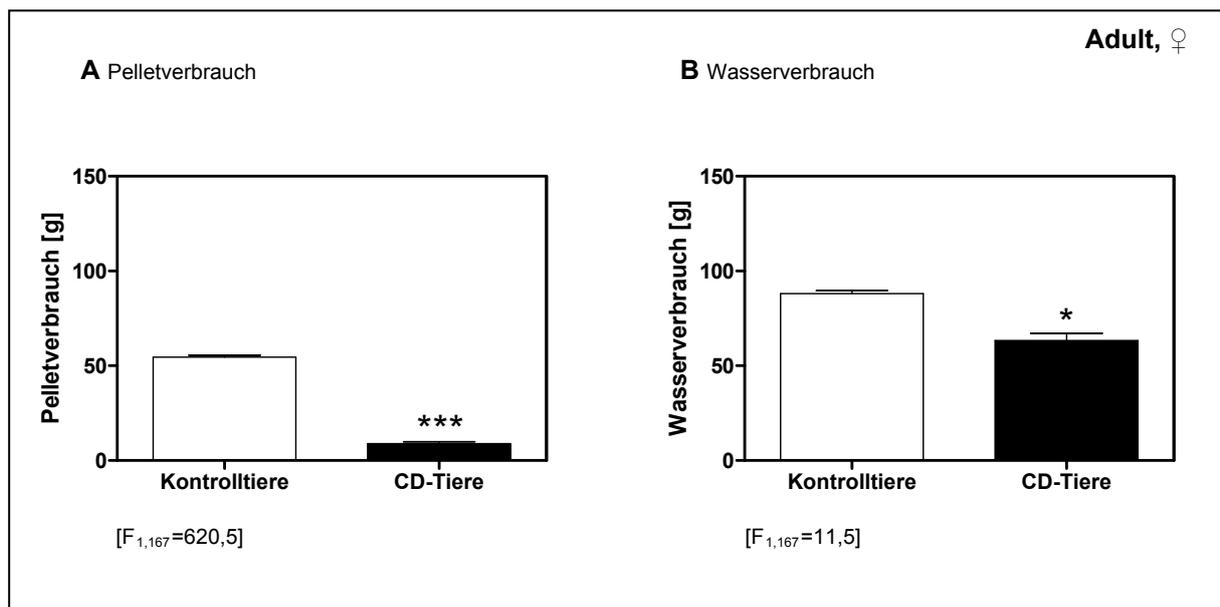
**Abb. 3.1:** Durchschnittlicher **Pellet- und Wasserverbrauch** über 24 h pro Käfig der **jung adulten Männchen** während der ersten vier Versuchswochen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. N=3 Käfige (à 4 Tiere)/Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*\*p<0,01).



**Abb. 3.2:** Durchschnittlicher **Pellet- und Wasserverbrauch** über 24 h pro Käfig der **jung adulten Weibchen** während der ersten vier Versuchswochen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. N=3 Käfige (à 4 Tiere)/Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*p<0,05, \*\*\*p<0,001).

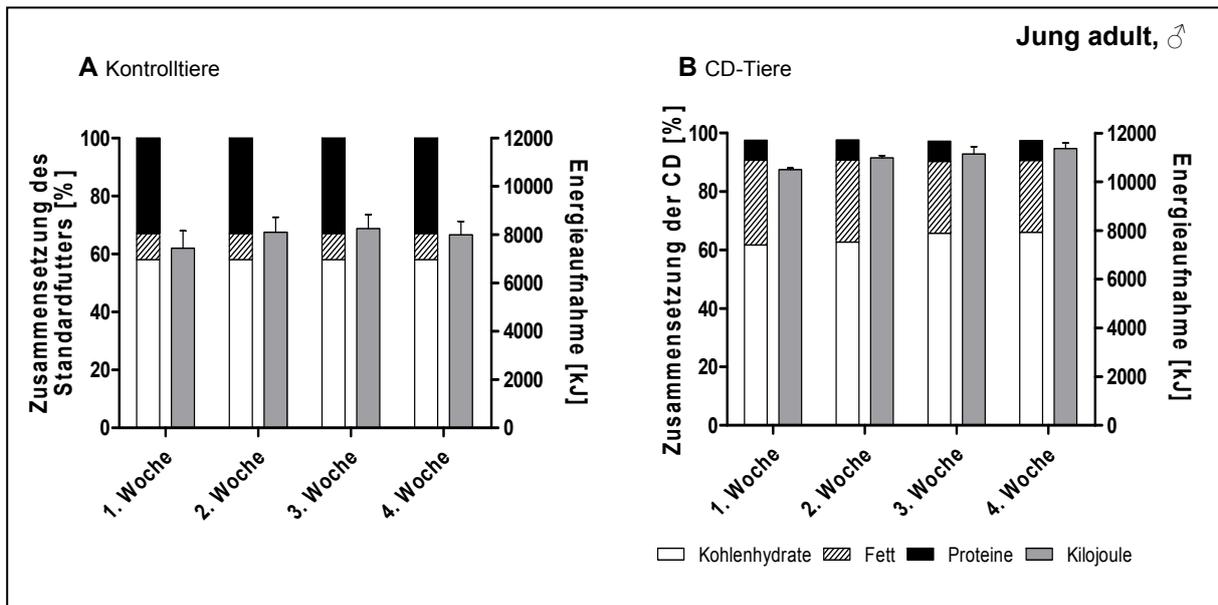


**Abb. 3.3:** Durchschnittlicher **Pellet- und Wasserverbrauch** über 24 h pro Käfig der **adulten Männchen** während der ersten vier Versuchswochen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. N=3 Käfige (à 4 Tiere)/Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001).

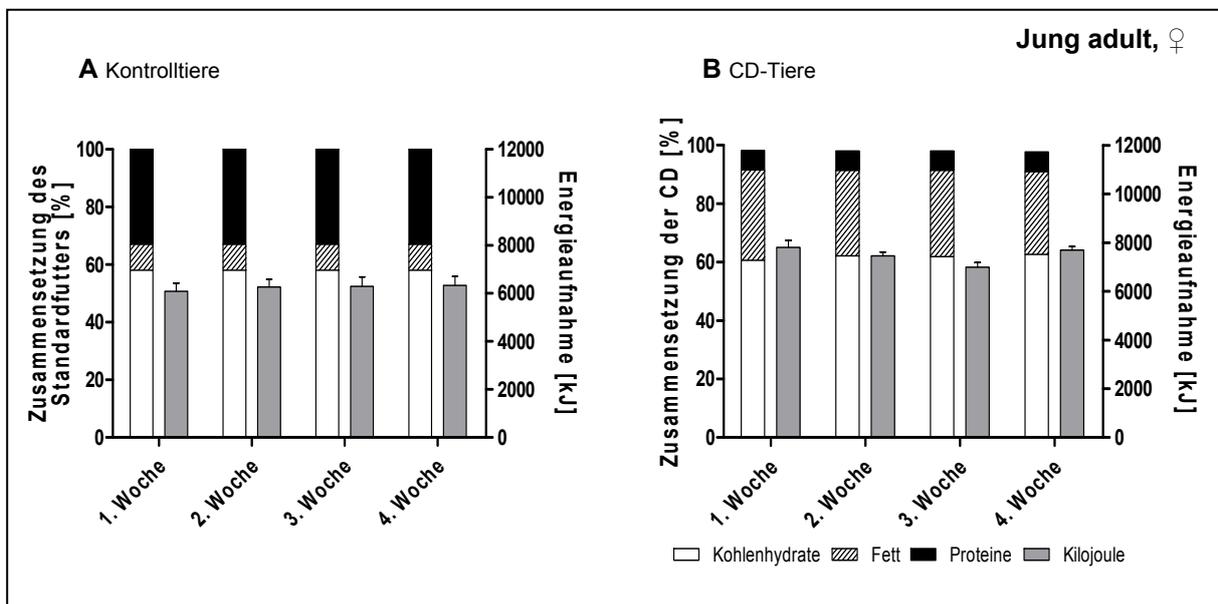


**Abb. 3.4:** Durchschnittlicher **Pellet- und Wasserverbrauch** über 24 h pro Käfig der **adulten Weibchen** während der ersten vier Versuchswochen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. N=3 Käfige (à 4 Tiere)/Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*p<0,05, \*\*\*p<0,001).

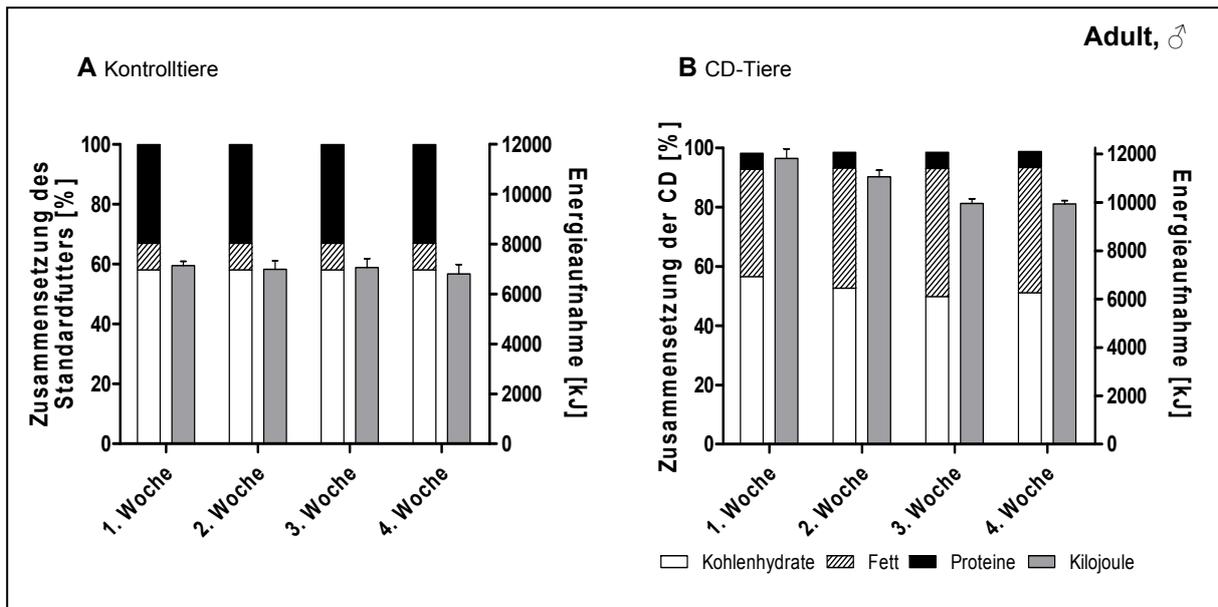
PROZENTUALE ZUSAMMENSETZUNG DES FUTTERS HINSICHTLICH DER MAKRONÄHRSTOFFE UND DURCHSCHNITTLICHE WÖCHENTLICHE KALORIENZUFUHR PRO KÄFIG



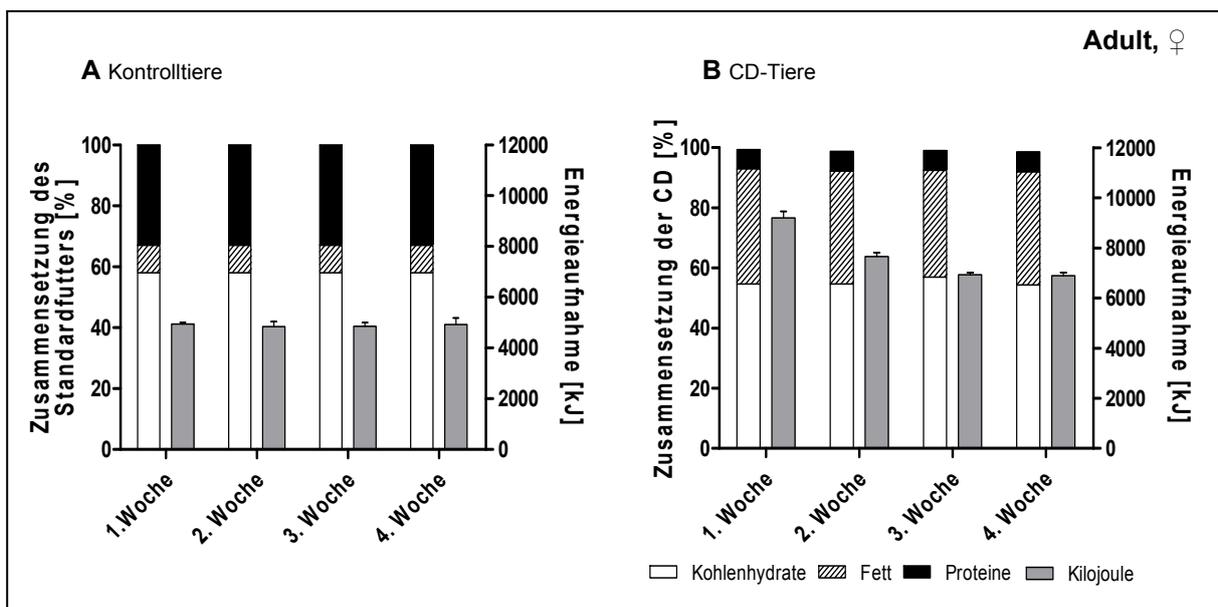
**Abb. 3.5:** Prozentuale Zusammensetzung des Futters hinsichtlich der **Makronährstoffe** (A=Standardfutter, B=CD) sowie durchschnittliche wöchentliche **Kalorienzufuhr** pro Käfig (A=Jung adulte, männliche Kontrolltiere, B=Jung adulte, männliche CD-Tiere). N=3 Käfige (à 4 Tiere)/Gruppe.



**Abb. 3.6:** Prozentuale Zusammensetzung des Futters hinsichtlich der **Makronährstoffe** (A=Standardfutter, B=CD) sowie durchschnittliche wöchentliche **Kalorienzufuhr** pro Käfig (A=Jung adulte, weibliche Kontrolltiere, B=Jung adulte, weibliche CD-Tiere). N=3 Käfige (à 4 Tiere)/Gruppe.

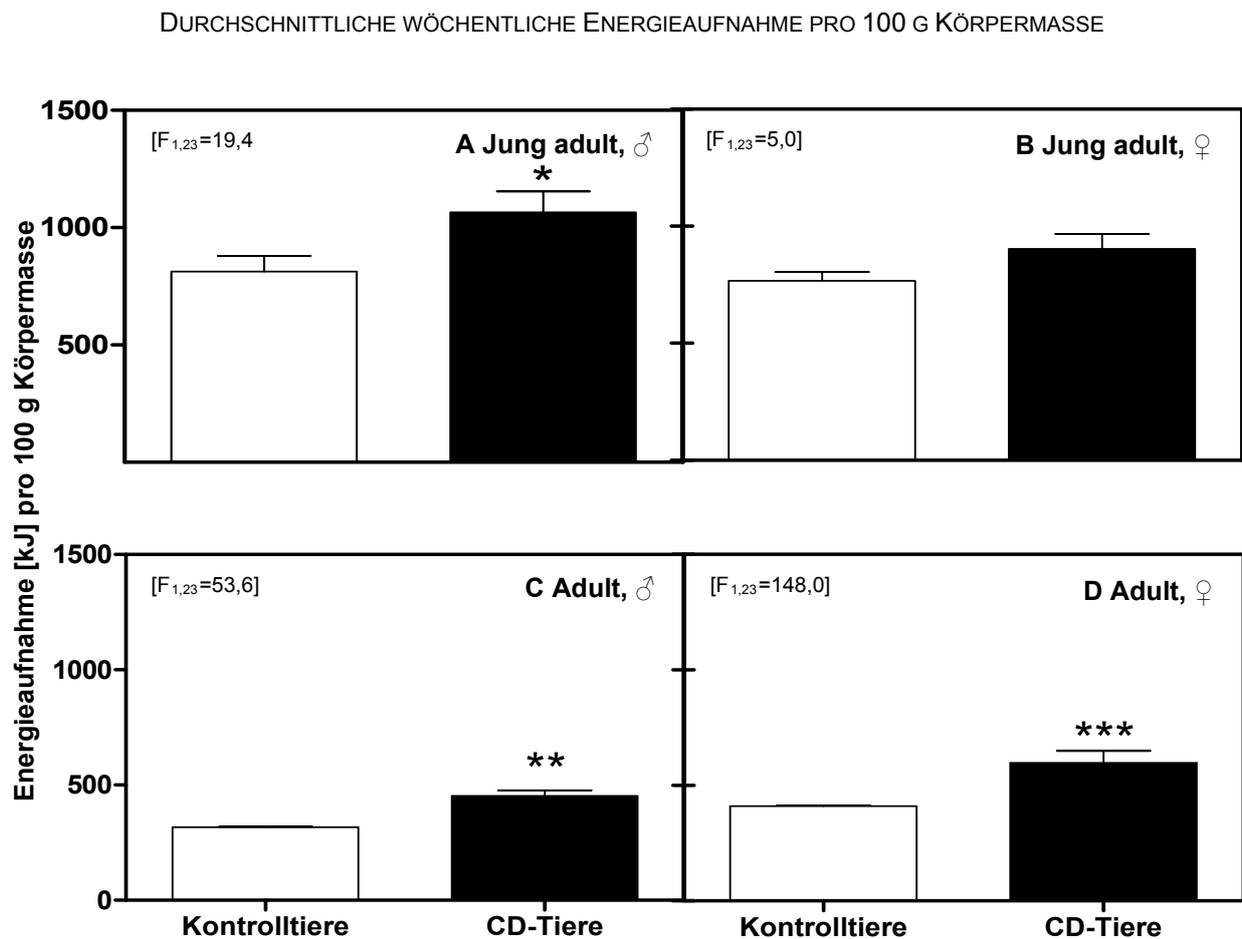


**Abb. 3.7:** Prozentuale Zusammensetzung des Futters hinsichtlich der **Makronährstoffe** (A=Standardfutter, B=CD) sowie durchschnittliche wöchentliche **Kalorienzufuhr** pro Käfig (A=Adulte, männliche Kontrolltiere, B=Adulte, männliche CD-Tiere). N=3 Käfige (à 4 Tiere)/Gruppe.



**Abb. 3.8:** Prozentuale Zusammensetzung des Futters hinsichtlich der **Makronährstoffe** (A=Standardfutter, B=CD) sowie durchschnittliche wöchentliche **Kalorienzufuhr** pro Käfig (A=Adulte, weibliche Kontrolltiere, B=Adulte, weibliche CD-Tiere). N=3 Käfige (à 4 Tiere)/Gruppe.

Nachfolgend ist die wöchentliche Energiezufuhr pro Käfig auf 100 g Körpermasse der Tiere umgerechnet dargestellt, um einen gruppenübergreifenden Vergleich der Daten zu ermöglichen. Das Angebot der CD hatte bei allen Tieren, außer den jung adulten Weibchen, eine signifikant vermehrte Energieaufnahme zur Folge (Abb. 3.9).

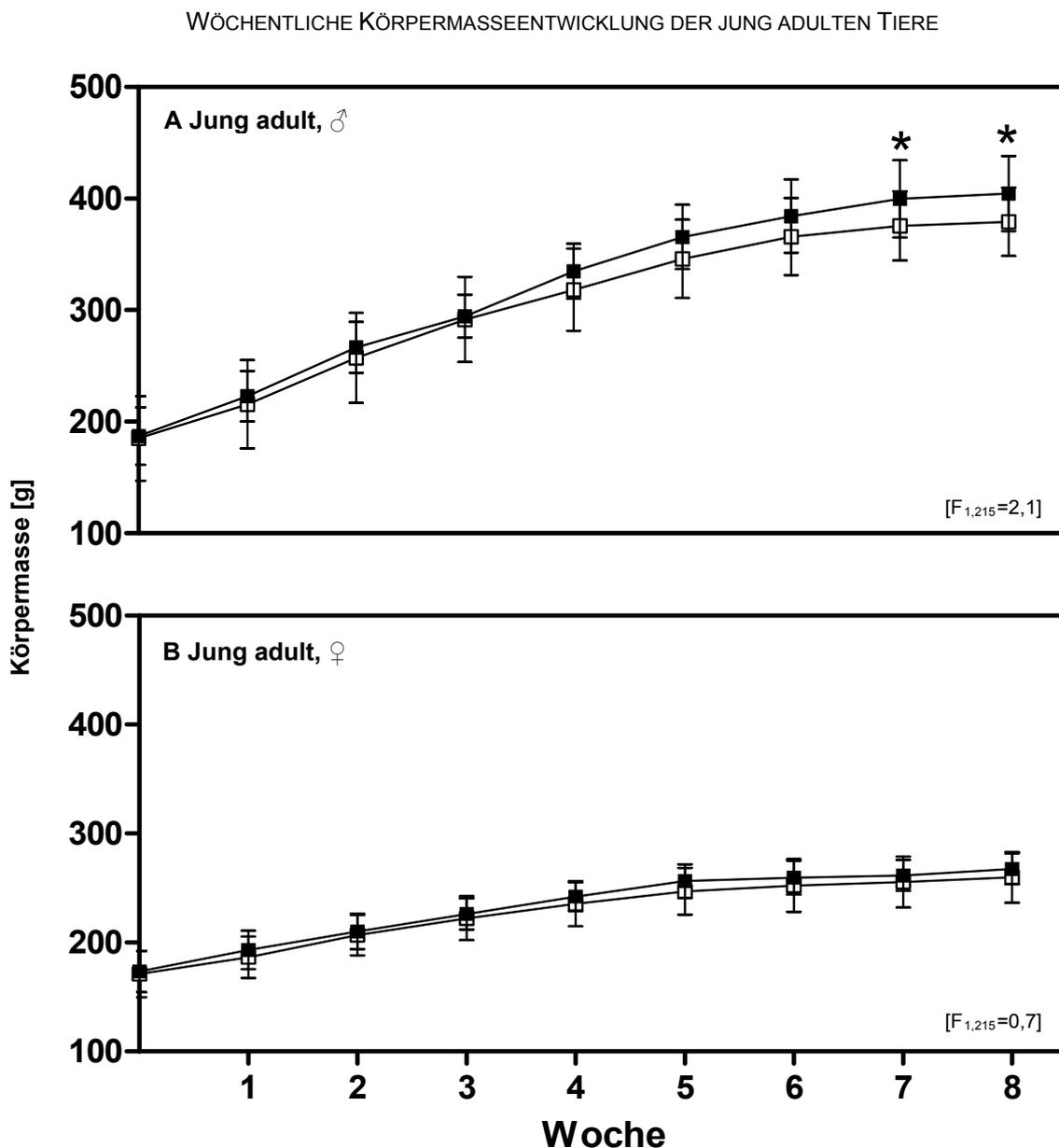


**Abb. 3.9: Durchschnittliche wöchentliche Energieaufnahme [kJ] pro 100 g Körpermasse.** A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. N=12 Kontrolltiere/Gruppe + 12 CD-Tiere/Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ).

## 3.2 Metabolische Untersuchungen

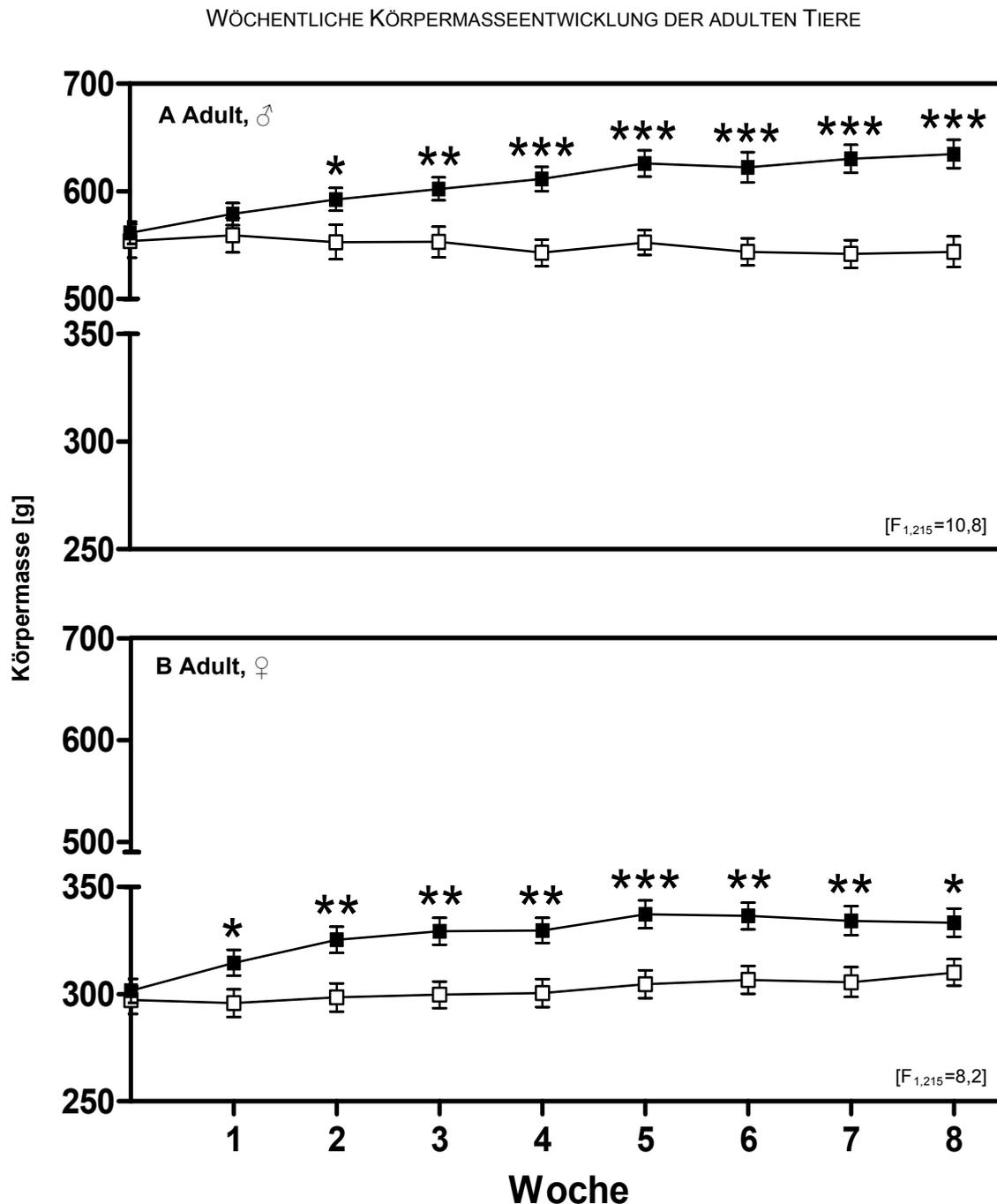
### 3.2.1 Körpermasse

Bei den jung adulten, männlichen Ratten resultierte die Gabe der CD in einer signifikant vermehrten Körpermasse in der 7. und 8. Versuchswoche (Abb. 3.10A). Diese deutliche Körpermassenzunahme blieb bei den jung adulten, weiblichen CD-Tieren aus (Abb. 3.10B). Die jung adulten, männlichen Ratten waren am Ende der Studie schwerer als die weiblichen.



**Abb. 3.10:** Wöchentliche Körpermasseentwicklung über acht Wochen der jung adulten Tiere. A=Männchen, B=Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Jung adulte Männchen Tag 1 – 30: N=12/Gruppe, Tag 31 – 56: Kontrollen N=11, CD-Ratten N=12. Jung adulte Weibchen N=12/Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*p<0,05).

Bei den adulten männlichen und weiblichen CD-Tieren war ein deutlicher Anstieg der Körpermasse im Vergleich zu den Kontrolltieren zu beobachten. Dieser wurde bei den adulten Weibchen bereits ab der 1. Versuchswoche, bei den adulten Männchen ab der 2. Versuchswoche statistisch signifikant (Abb. 3.11A & B).



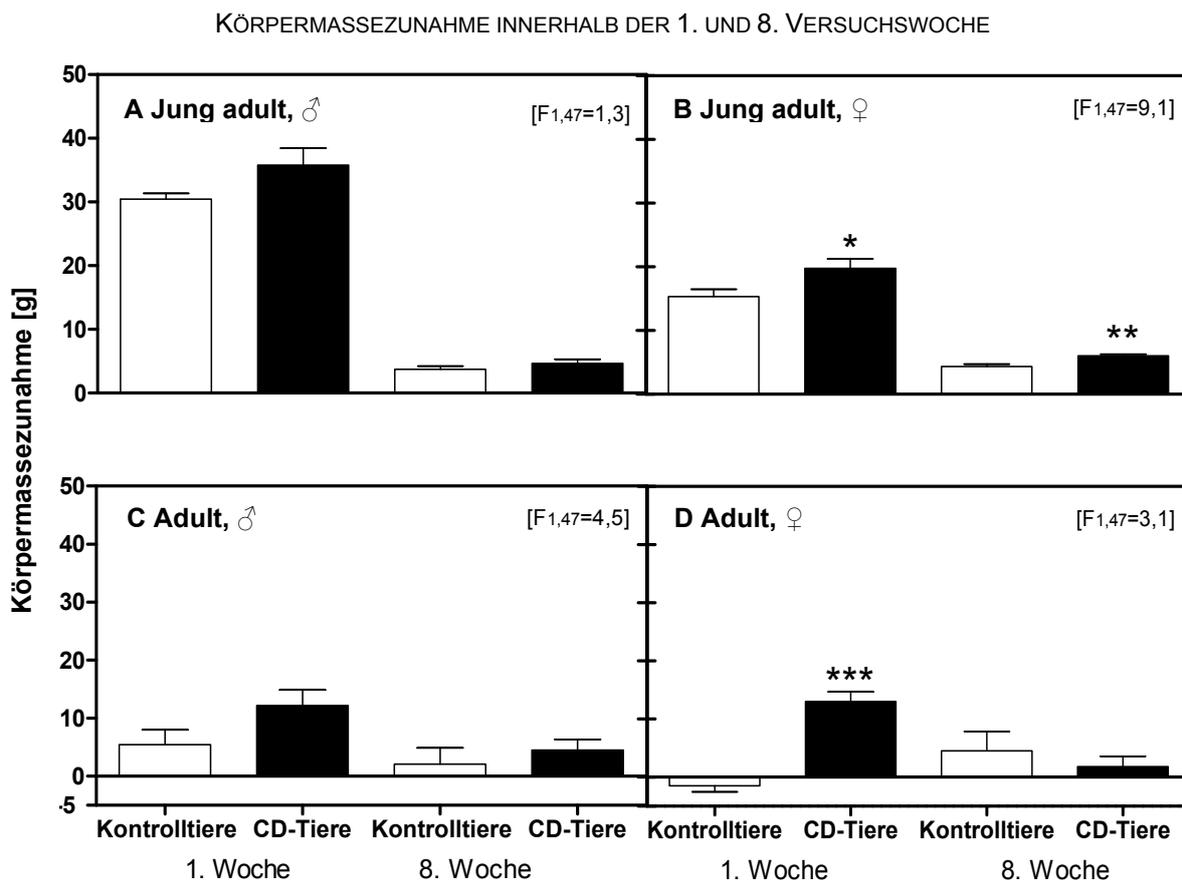
**Abb. 3.11:** Wöchentliche Körpermasseentwicklung über acht Wochen der adulten Tiere. A=Männchen, B=Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Adulte Männchen Tag 1 – 38: N=12/Gruppe, Tag 39 – 56: Kontrollen N=11, CD-Ratten N=12. Adulte Weibchen N=12/Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001).

Anhand der Darstellung der Körpermassezunahmen innerhalb der 1. und 8. Versuchswoche wird die unterschiedliche Körpermasseentwicklung der Tiere im Laufe der Studie sowie in den verschiedenen Altersgruppen verdeutlicht. Jung adulte, männliche Ratten nahmen zu Beginn des Versuches  $33 \pm 1,5$  g pro Woche zu, während die wöchentliche Körpermassezunahme am Ende der Versuchsdauer nur noch bei  $4 \pm 0,4$  g lag. Zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Abb. 3.12A).

Die jung adulten CD-Weibchen nahmen sowohl zu Beginn ( $p < 0,05$ ) als auch am Ende ( $p < 0,01$ ) der Versuchszeit signifikant mehr Körpermasse zu als die Kontrolltiere. Die CD-Ratten zeigten in der 1. Versuchswoche eine Körpermassezunahme von  $20 \pm 1,5$  g, während die der Kontrollen bei  $15 \pm 1,1$  g lag. In der 8. Versuchswoche betrug der Zuwachs an Körpermasse bei den CD-Tieren  $6 \pm 0,3$  g, bei den Kontrollen  $4 \pm 0,4$  g (Abb. 3.12B).

Zwischen den Körpermassezunahmen der adulten, männlichen Kontrollen und CD-Tiere waren zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede feststellbar. Eine statistische Tendenz ergab sich zwischen den Werten der 1. Versuchswoche ( $p = 0,08$ ). Zu Beginn der Versuchszeit lag die wöchentliche Zunahme der Körpermasse bei  $9 \pm 2,0$  g; am Ende der Versuchszeit bei  $3 \pm 1,6$  g (Abb. 3.12C).

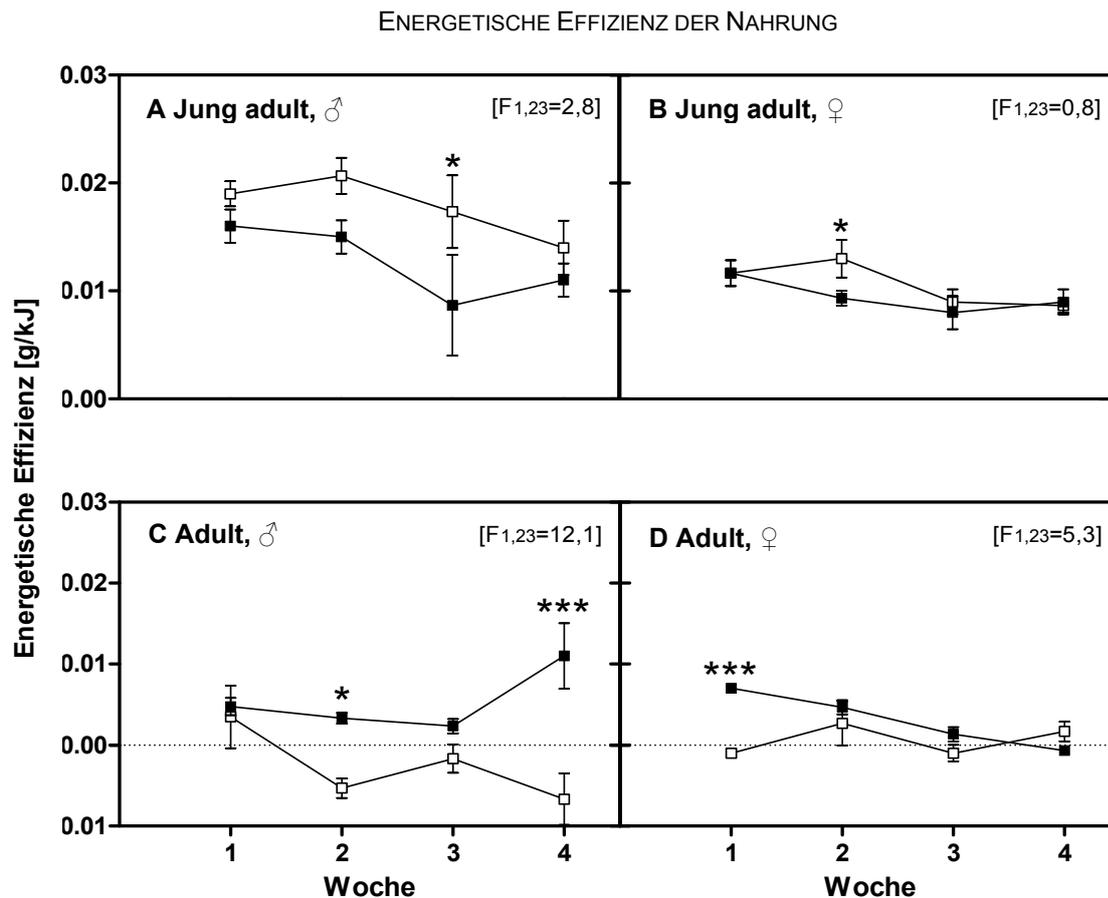
Die adulten, weiblichen CD-Ratten nahmen in der 1. Versuchswoche  $13 \pm 1,7$  g an Körpermasse zu, wohingegen in der 8. Versuchswoche nur noch eine Körpermassezunahme von  $2 \pm 1,8$  g festgestellt werden konnte. Bei den adulten, weiblichen Kontrolltieren konnte in der 1. Versuchswoche keine Zunahme der Körpermasse beobachtet werden ( $-1,5 \pm 1,1$  g). Die Körpermassezunahme in der letzten Versuchswoche lag bei  $5 \pm 3,3$  g. Die Unterschiede in der Entwicklung der Körpermasse bei den Kontroll- und CD-Tieren erreichten während der 1. Versuchswoche ein signifikantes Niveau ( $p < 0,001$ ) (Abb. 3.12D).



**Abb. 3.12: Körpermassezunahme [g]** innerhalb der 1. und 8. Versuchswoche. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. Werte im Minusbereich drücken eine Reduktion der Körpermasse aus. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. N=12 Kontrolltiere/Gruppe + 12 CD-Tiere/Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ).

### 3.2.2 Energetische Effizienz der Nahrung

Die energetische Effizienz der Nahrung wurde errechnet, indem für jedes wöchentliche Intervall die durchschnittliche tägliche Körpermasseentwicklung einer jeden Ratte durch die durchschnittlich täglich aufgenommene Energie geteilt wurde. Bei den jung adulten CD-Ratten war die vermehrte Kalorienzufuhr, die jedoch nicht in einer erhöhten Körpermassezunahme resultierte, energetisch weniger effizient, als die durch die Standarddiät aufgenommene Energie. Die jung adulten CD-Tiere nahmen pro kJ demnach weniger zu als deren Kontrollen (Abb. 3.13A & B). Bei den adulten Tieren war dieses Verhältnis umgekehrt. Im Vergleich mit der Standarddiät hatte die Energie der CD eine höhere Effizienz. Die alleinige Aufnahme von Standardpellets in den Kontrollgruppen führte zuweilen sogar zu einer Reduktion der Körpermasse von einer zur nächsten Woche, weshalb die Werte in den Minusbereich reichen (Abb. 3.13C & D).

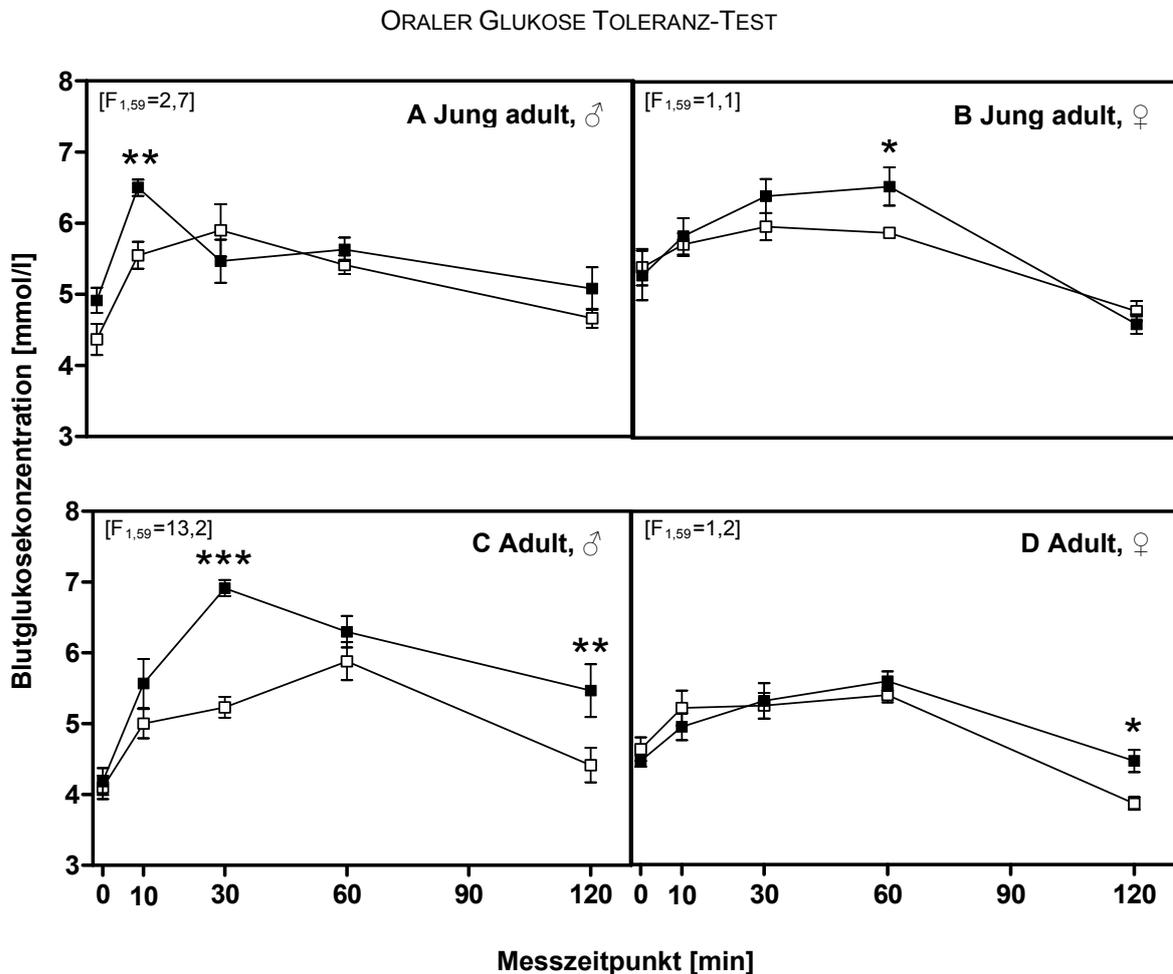


**Abb. 3.13: Energetische Effizienz [g/kJ] der Nahrung.** A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. N=12 Kontrolltiere/Gruppe + 12 CD-Tiere/Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,001$ ).

### 3.2.3 Oraler Glukose Toleranz-Test

In Abbildung 3.14A – D sind die Nüchternblutglukosekonzentration nach sechzehnständiger Futterdeprivation und die Blutglukosekonzentrationen zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der oralen Verabreichung einer Glukoselösung dargestellt. Bei den jung adulten, männlichen CD-Ratten konnte im Vergleich zu den Kontrolltieren ein signifikant stärkerer Blutzuckeranstieg 10 Minuten nach Verabreichung der Zuckerlösung festgestellt werden ( $p < 0,01$ ). Die jung adulten CD-Weibchen zeigten 60 Minuten nach der Glukosegabe eine signifikant erhöhte Blutglukosekonzentration ( $p < 0,05$ ). Bei den adulten, männlichen CD-Tieren waren sowohl nach 30 ( $p < 0,001$ ) als auch nach 120 Minuten ( $p < 0,01$ ) die Glukosekonzentrationen im Blut signifikant erhöht, während ein signifikanter Unterschied bei den adulten Weibchen zwei Stunden nach der Glukosegabe festgestellt werden konnte ( $p < 0,05$ ). Beim Vergleich der Nüchternblutglukosekonzentration der einzelnen futterdeprivierten Tiere mit der Glukosekonzentration nach 120 Minuten, war zu beobachten, dass

bei den adulten männlichen CD-Tieren die Glukosekonzentration am Ende des Tests anhaltend signifikant höher blieb als die Nüchternblutglukosekonzentration ( $p < 0,01$ ). In allen anderen Gruppen hatte sich innerhalb von zwei Stunden der Glukosespiegel im Blut wieder normalisiert.



**Abb. 3.14: Oraler Glukose Toleranz-Test** der jung adulten Männchen (A), jung adulten Weibchen (B), adulten Männchen (C) und adulten Weibchen (D). □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. N=6 Kontrolltiere/Gruppe + 6 CD-Tiere/Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ).

### 3.2.4 Fettgewebe und Adipositas-Index

Unter Bezugnahme der Körpermasse hatte die Gabe der CD in allen vier Gruppen eine signifikante Zunahme des Fettgewebes zur Folge. Anhand der dreifaktoriellen ANOVA (Alter x Geschlecht x Diät) konnte für das viszerale Fettgewebe ein signifikanter Einfluss des Geschlechtes [ $F_{1,87}=5,8$ ;  $p < 0,05$ ] sowie der Diät [ $F_{1,87}=90,3$ ;  $p < 0,001$ ] festgestellt werden. Signifikante Wechselbeziehungen zeigten sich zwischen Geschlecht und Alter [ $F_{1,87}=84,8$ ;  $p < 0,001$ ] sowie Geschlecht und Diät [ $F_{1,87}=5,9$ ;  $p < 0,05$ ].

Auf das epidermale Fettgewebe hatten das Alter [ $F_{1,87}=56,2$ ;  $p<0,001$ ], das Geschlecht [ $F_{1,87}=165,5$ ;  $p<0,001$ ] und die Diät [ $F_{1,87}=62,8$ ;  $p<0,001$ ] einen signifikanten Effekt. Die Interaktionen zwischen Alter und Geschlecht [ $F_{1,87}=17,5$ ;  $p<0,001$ ] sowie Geschlecht und Diät [ $F_{1,87}=12,5$ ;  $p<0,001$ ] waren signifikant, wohingegen sich Alter und Diät nicht beeinflussten.

Hinsichtlich des subkutanen Fettgewebes zeigte sich ein signifikanter Einfluss des Alters [ $F_{1,87}=85,3$ ;  $p<0,001$ ], des Geschlechts [ $F_{1,87}=29,3$ ;  $p<0,001$ ] und der Diät [ $F_{1,87}=80,8$ ;  $p<0,001$ ]. Interaktionen zwischen Alter und Diät [ $F_{1,87}=5,8$ ;  $p<0,05$ ] sowie Geschlecht und Diät [ $F_{1,87}=18,9$ ;  $p<0,001$ ] erreichten ein signifikantes Niveau, wohingegen die Wechselbeziehung zwischen Alter und Geschlecht eine statistische Tendenz ergab [ $F_{1,87}=3,3$ ;  $p=0,07$ ].

Geschlecht [ $F_{1,87}=90,3$ ;  $p<0,001$ ], Alter [ $F_{1,87}=25,1$ ;  $p<0,001$ ] und Diät [ $F_{1,87}=7,1$ ;  $p<0,01$ ] hatten ebenfalls einen signifikanten Effekt auf die braune Fettmasse. Keinerlei signifikante Wechselwirkungen konnten zwischen Geschlecht, Diät und Alter beobachtet werden.

Post hoc Analysen ergaben, dass das viszerale Fettgewebe umgerechnet auf 100 g Körpermasse bei allen CD-Tieren im Vergleich zu den Kontrollen signifikant vermehrt war (Abb. 3.15).

Bei den jung adulten Ratten beider Geschlechter und den adulten, männlichen Tieren resultierte die Gabe der CD in einer signifikanten Zunahme der epidermalen Fettmasse. Unter Bezugnahme der Körpermasse hatte das Angebot der CD keinen Einfluss auf das epidermale Fettgewebe der adulten CD-Weibchen (Abb. 3.16).

Das subkutane Fettgewebe pro 100 g Körpermasse war bei den männlichen, jung adulten sowie männlichen und weiblichen adulten CD-Tieren im Vergleich zu den Kontrollen signifikant vermehrt. Bei den jung adulten Weibchen hatte das Angebot der CD keinen Effekt auf die subkutane Fettmasse (Abb. 3.17).

Allein bei den adulten Weibchen resultierte die Gabe der CD in einer statistischen Tendenz ( $p=0,05$ ) zur Erhöhung des braunen Fettgewebes (Abb. 3.18).

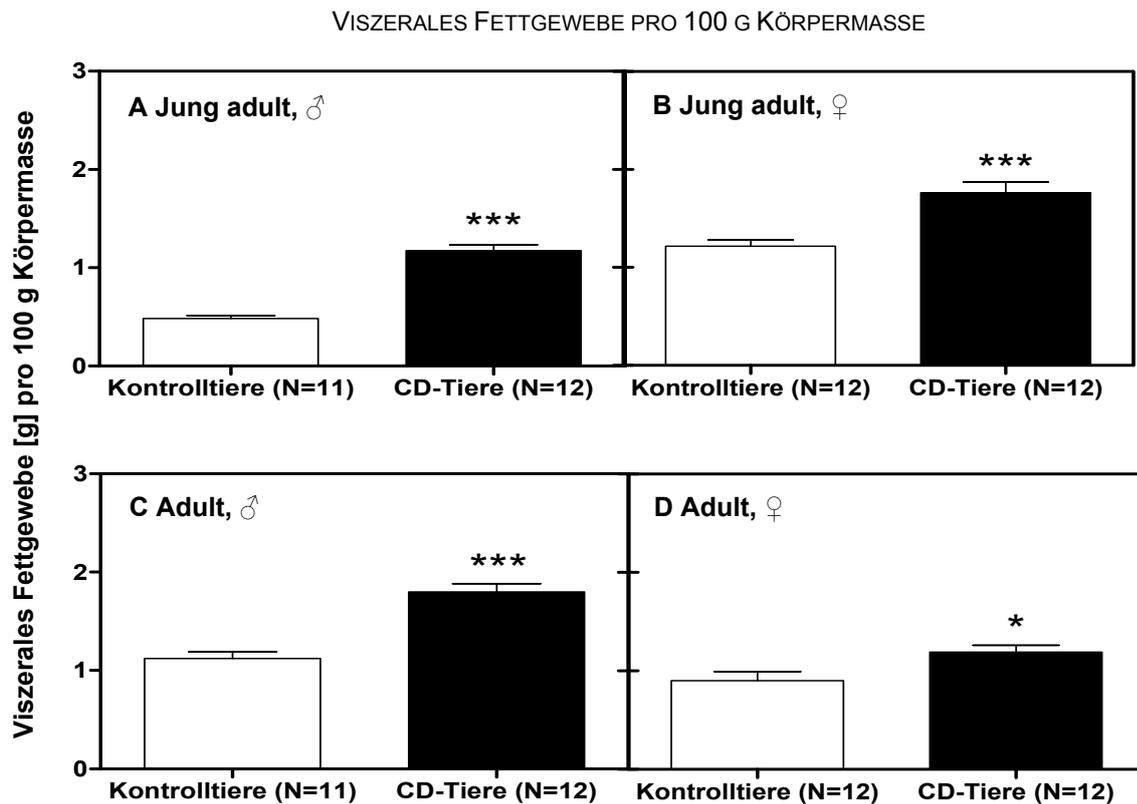


Abb. 3.15: Viszerales Fettgewebe [g] pro 100 g Körpermasse der jung adulten Männchen (A), jung adulten Weibchen (B), adulten Männchen (C) und adulten Weibchen (D). □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\* $p$ <0,05, \*\*\* $p$ <0,001).

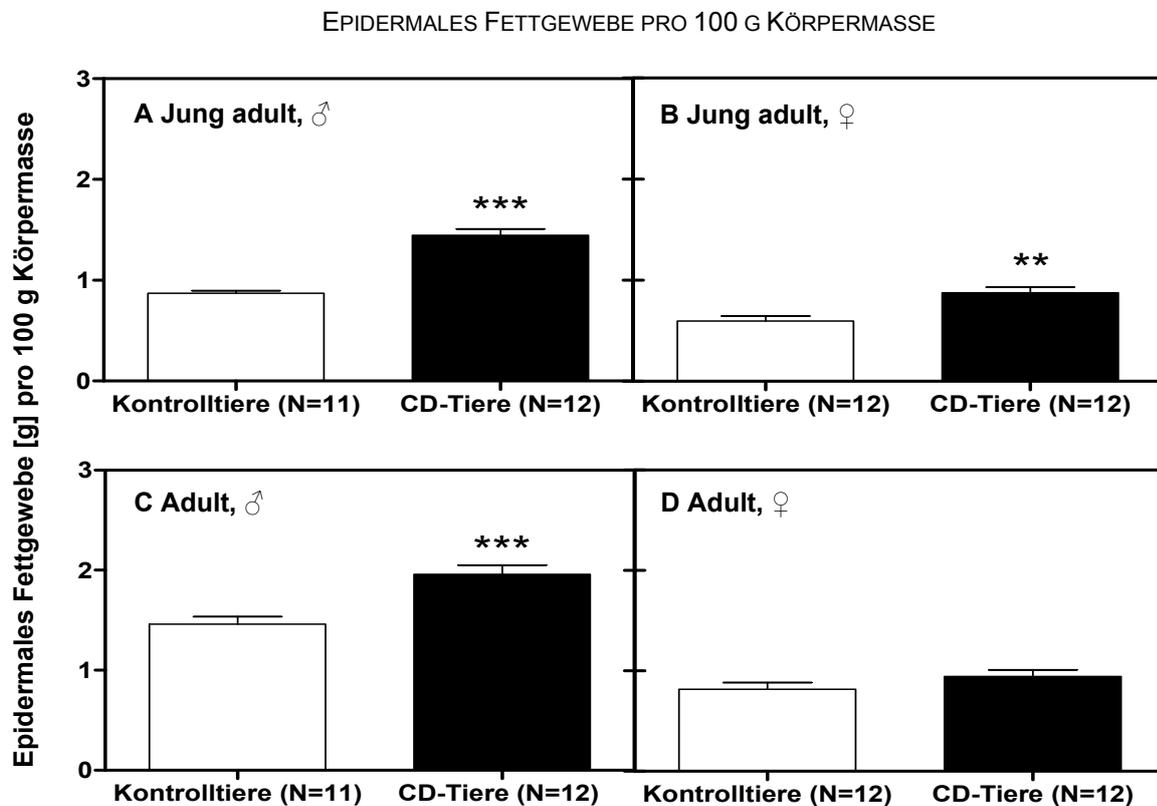


Abb. 3.16: Epidermales Fettgewebe [g] pro 100 g Körpermasse der jung adulten Männchen (A), jung adulten Weibchen (B), adulten Männchen (C) und adulten Weibchen (D). □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*\* $p$ <0,01, \*\*\* $p$ <0,001).

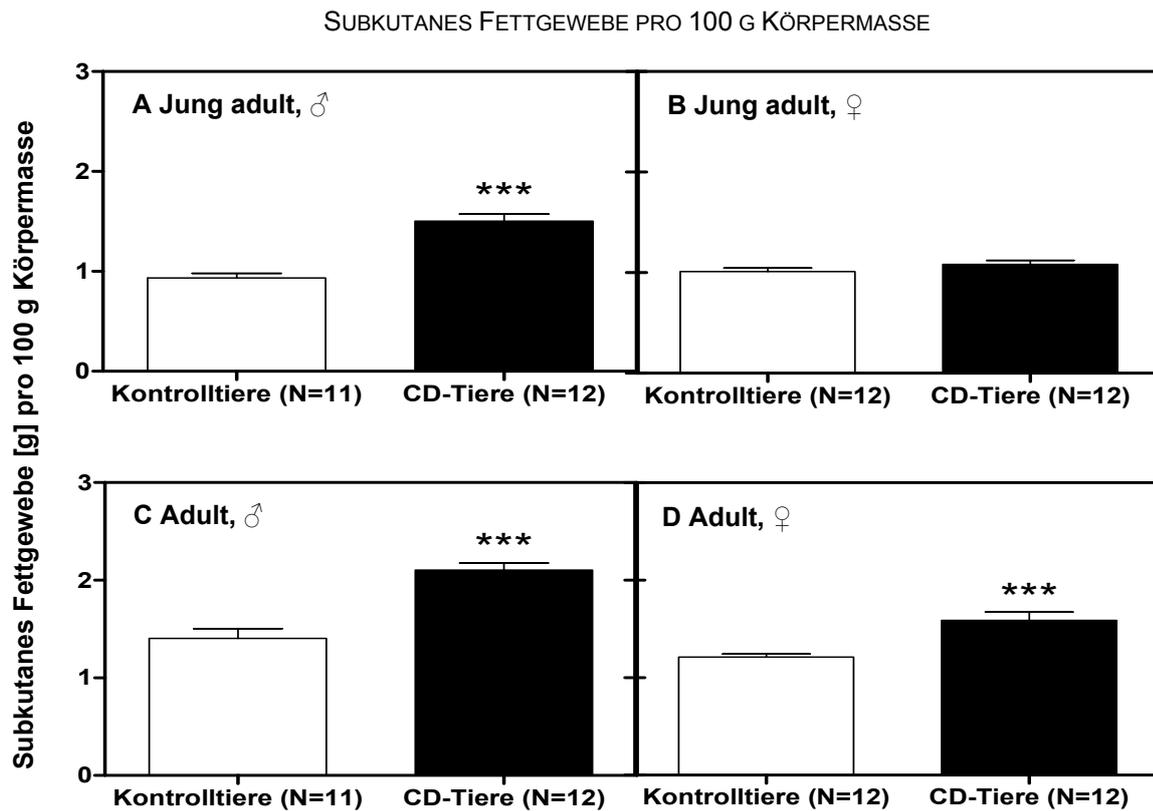


Abb. 3.17: Subkutanes Fettgewebe [g] pro 100 g Körpermasse der jung adulten Männchen (A), jung adulten Weibchen (B), adulten Männchen (C) und adulten Weibchen (D). □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*\* $p < 0,001$ ).

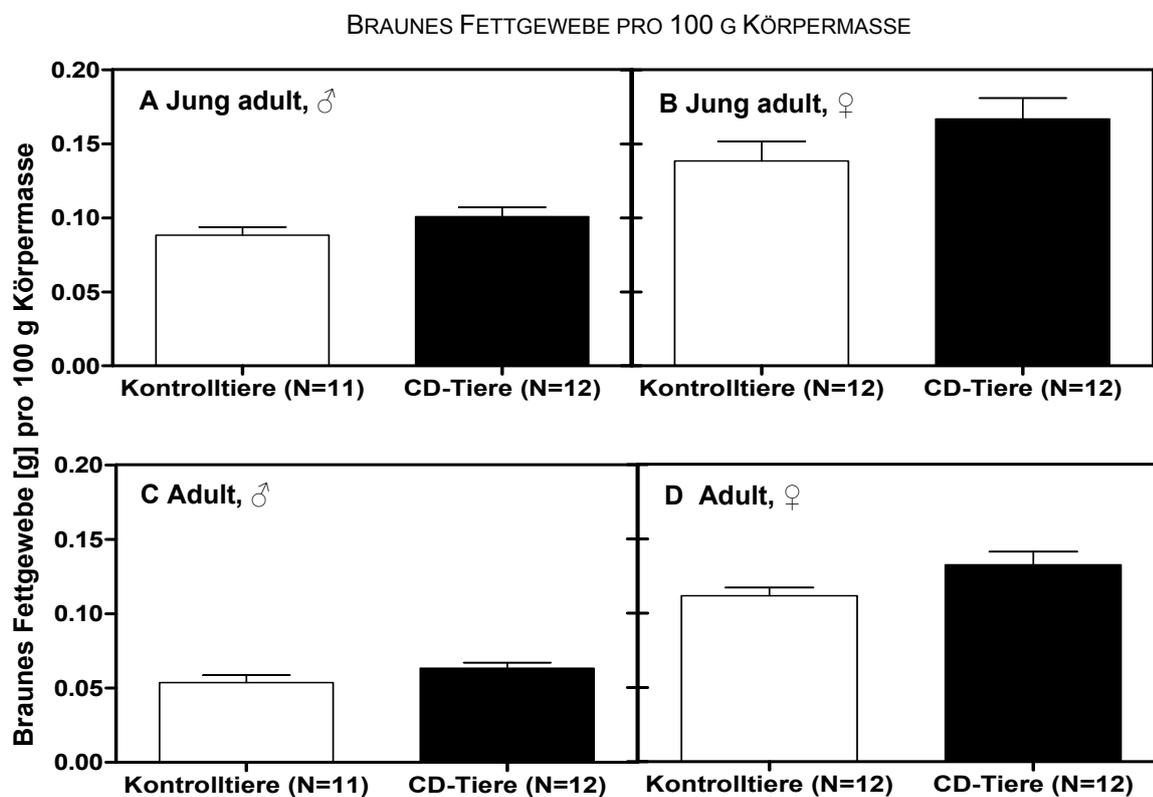
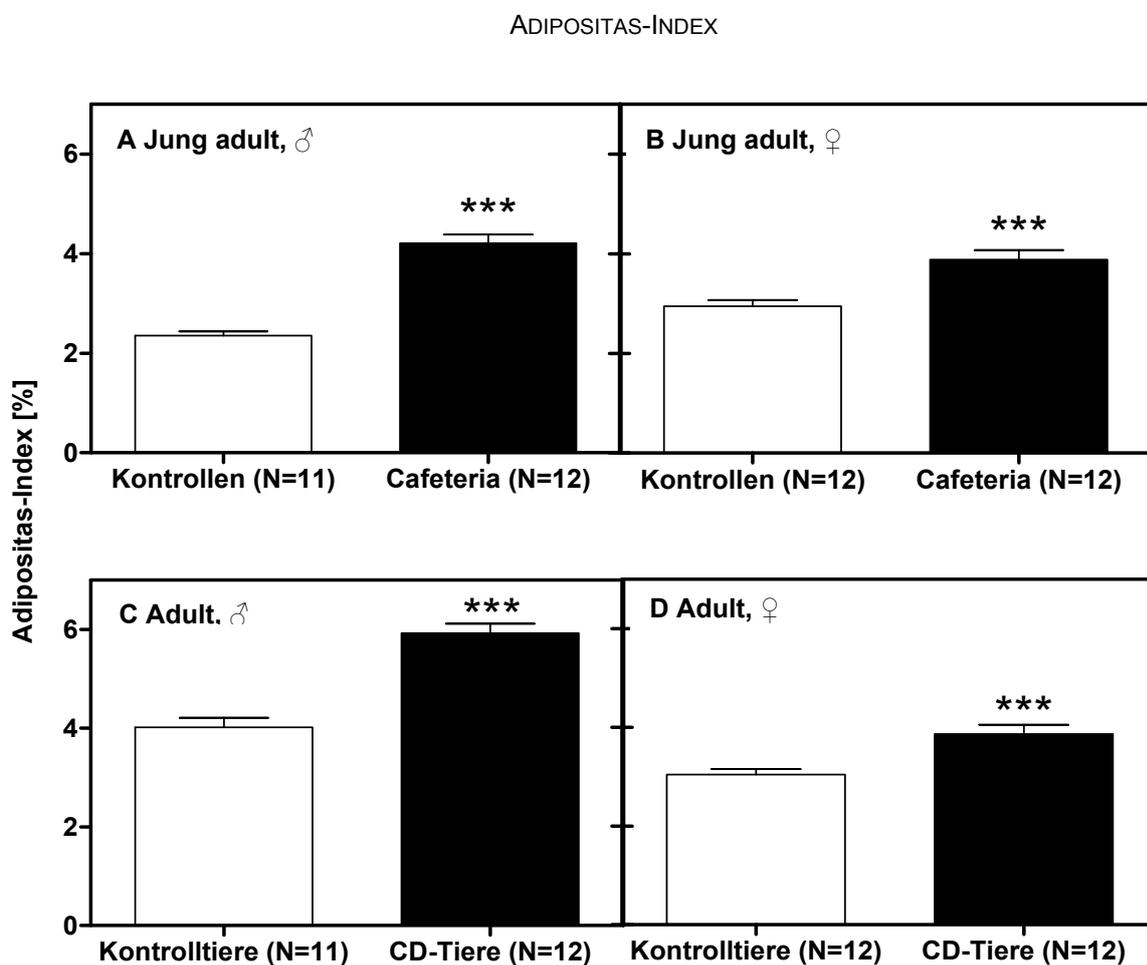


Abb. 3.18: Braunes Fettgewebe [g] pro 100 g Körpermasse der jung adulten Männchen (A), jung adulten Weibchen (B), adulten Männchen (C) und adulten Weibchen (D). □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM.

Der Adipositas-Index wurde errechnet, indem die Masse des gesamten Fettgewebes eines Tieres ins relative Verhältnis mit der Gesamtkörpermasse gesetzt wurde. Bei allen vier CD-Gruppen war der prozentuale Anteil des Fettgewebes an der Körpermasse signifikant ( $p < 0,001$ ) erhöht (Abb. 3.19). Die dreifaktorielle ANOVA (Alter x Geschlecht x Diät) ergab signifikante Effekte aufgrund des Alters [ $F_{1,87}=51,9$ ;  $p < 0,001$ ], des Geschlechtes [ $F_{1,87}=30,8$ ;  $p < 0,001$ ] sowie der Diät [ $F_{1,87}=131,3$ ;  $p < 0,001$ ]. Interaktionen zwischen Alter und Geschlecht [ $F_{1,87}=45,1$ ;  $p < 0,001$ ] sowie Geschlecht und Diät [ $F_{1,87}=18,2$ ;  $p < 0,001$ ] waren statistisch signifikant.



**Abb. 3.19: Adipositas-Index [%]** der jung adulten Männchen (A), jung adulten Weibchen (B), adulten Männchen (C) und adulten Weibchen (D). □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*\* $p < 0,001$ ).

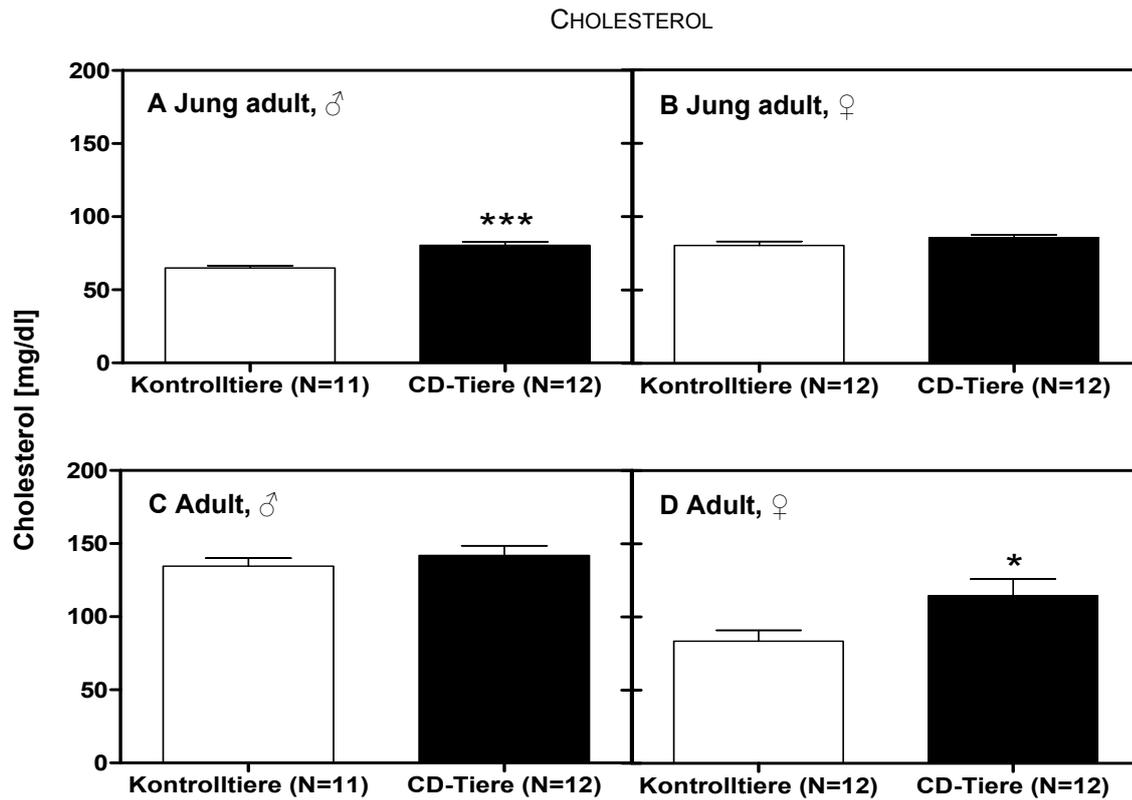
### 3.2.5 Blutfette

Auf die Blutfette der adulten Tiere hatte die Gabe der CD einen stärkeren Effekt als auf jene der jung adulten. Die dreifaktorielle ANOVA (Alter x Geschlecht x Diät) zeigte, dass die Diät auf den Cholesterolspiegel [ $F_{1,87}=13,2$ ;  $p<0,001$ ], die Triglyceride [ $F_{1,87}=13,3$ ;  $p<0,001$ ] und die freien FS [ $F_{1,87}=4,4$ ;  $p<0,05$ ] einen signifikanten Effekt ausübte. Das Alter beeinflusste sowohl den Cholesterolspiegel [ $F_{1,87}=127,8$ ;  $p<0,001$ ] als auch den Triglyceridwert [ $F_{1,87}=42,6$ ;  $p<0,001$ ], während das Geschlecht einen Einfluss auf die Werte der freien FS [ $F_{1,87}=17,2$ ;  $p<0,001$ ] und den Cholesterolspiegel [ $F_{1,87}=24,7$ ;  $p<0,001$ ] hatte.

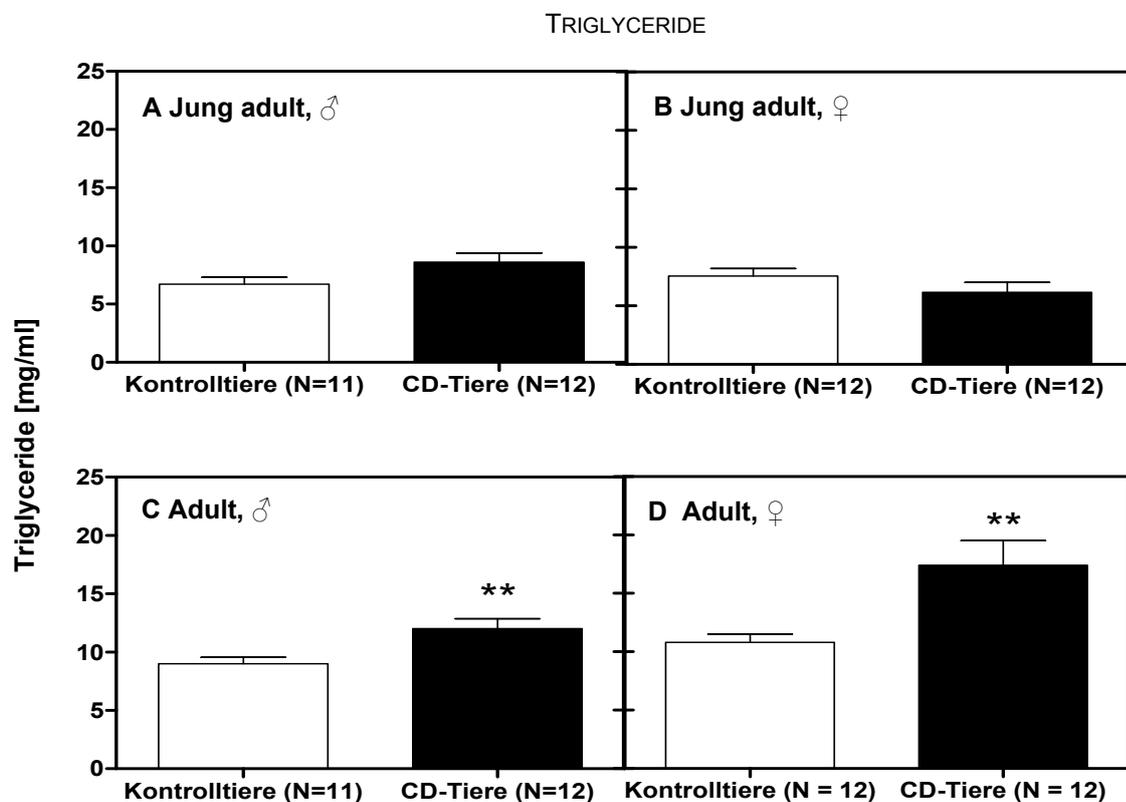
Hinsichtlich aller drei Plasmawerte waren keinerlei Wechselwirkungen zwischen Geschlecht und Fütterung zu finden. Den Cholesterolspiegel [ $F_{1,87}=64,8$ ;  $p<0,001$ ] und die Triglyceride [ $F_{1,87}=6,9$ ;  $p<0,05$ ] betreffend ergab sich eine signifikante Interaktion zwischen Alter und Geschlecht, während sich bei den freien FS [ $F_{1,87}=8,2$ ;  $p<0,01$ ] und Triglyceriden [ $F_{1,87}=10,9$ ;  $p<0,01$ ] das Alter und die Diät signifikant beeinflussten.

Die post hoc Analysen zeigten, dass die Blutfette der jung adulten CD-Weibchen an keiner Stelle signifikant von denen der Kontrolltiere abwichen. Die Cholesterolspiegel der jung adulten CD-Männchen ( $p<0,001$ ) und adulten CD-Weibchen ( $p<0,05$ ) waren im Vergleich zu den Kontrolltieren signifikant erhöht (Abb. 3.20). Bei den adulten CD-Tieren beider Geschlechter waren Triglyceride ( $p_{\beta/\varphi}<0,01$ ) und freie FS ( $p_{\beta}<0,01$ ) ( $p_{\varphi}<0,05$ ) im Vergleich zu den Kontrollen signifikant vermehrt (Abb. 3.21 & 3.22). Jung adulte, männliche CD-Ratten zeigten im Vergleich zu den Kontrollen tendenziell erhöhte Triglyceridwerte ( $p=0,07$ ).

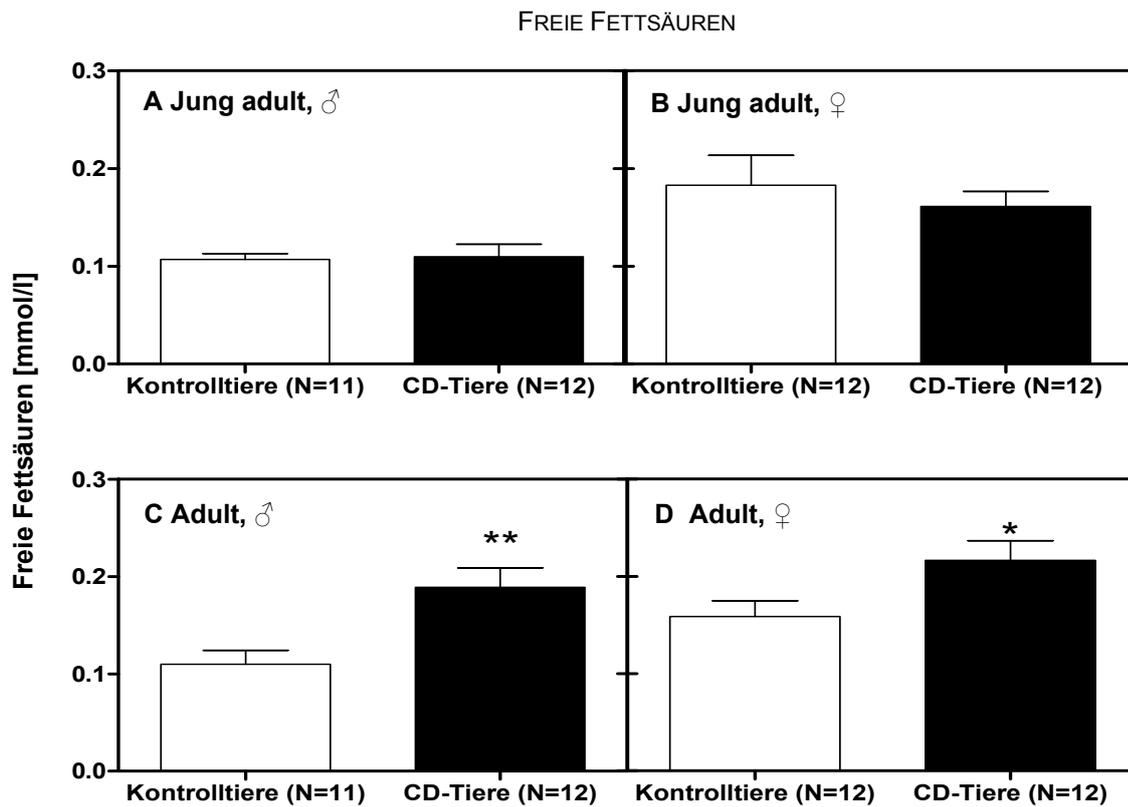
Hinsichtlich der Blutfette der Kontrolltiere konnten höhere Triglycerid- und Cholesterolwerte bei den adulten Ratten im Vergleich mit den jung adulten Tieren beobachtet werden. Bei den Plasmawerten der jung adulten Kontrolltiere war ein Geschlechtsdimorphismus mit grundsätzlich höheren Blutfetten bei den Weibchen zu erkennen. Dieser Effekt war in den adulten Gruppen nicht mehr feststellbar.



**Abb. 3.20: Cholesterolverte [mg/dl]** der jung adulten Männchen (A), jung adulten Weibchen (B), adulten Männchen (C) und adulten Weibchen (D). □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,001$ ).



**Abb. 3.21: Triglyceridwerte [mg/ml]** der jung adulten Männchen (A), jung adulten Weibchen (B), adulten Männchen (C) und adulten Weibchen (D). □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*\* $p < 0,01$ ).



**Abb. 3.22:** Freie Fettsäuren [mmol/l] der jung adulten Männchen (A), jung adulten Weibchen (B), adulten Männchen (C) und adulten Weibchen (D). □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ ).

### 3.3 Verhaltensuntersuchungen

#### 3.3.1 Aktivitätsmessungen

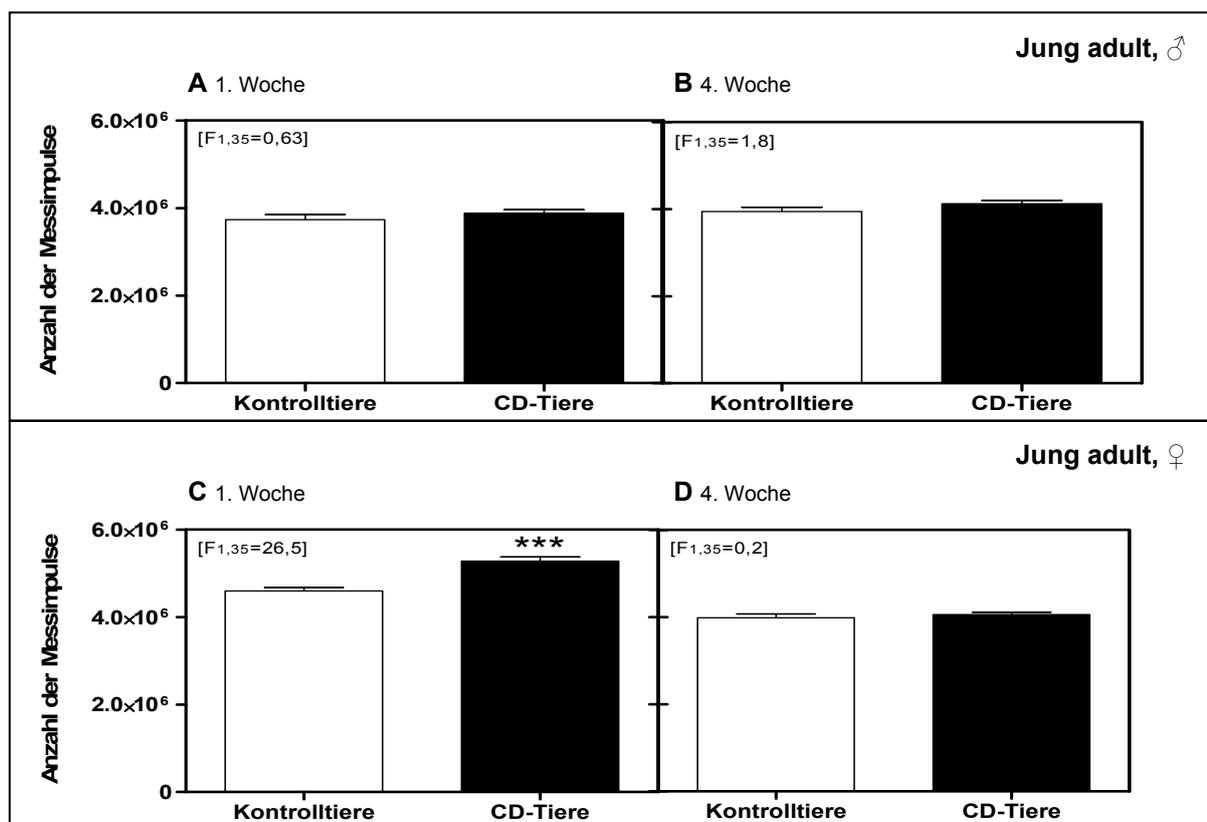
Die Messungen der motorischen Aktivität in der 1. und 4. Versuchswoche ergaben bei den jung adulten Männchen keinen Einfluss der CD (Abb. 3.23A & B).

Jung adulte, weibliche CD-Tiere zeigten in der 1. Versuchswoche eine signifikant gesteigerte motorische Aktivität (Abb. 3.23C), wohingegen sich diese in der 4. Versuchswoche nicht von jener der Kontrollen unterschied (Abb. 3.23D).

Bei den adulten, männlichen Ratten bewirkte die Gabe der CD in beiden Versuchswochen eine signifikant erhöhte motorische Aktivität (Abb. 3.24A & B).

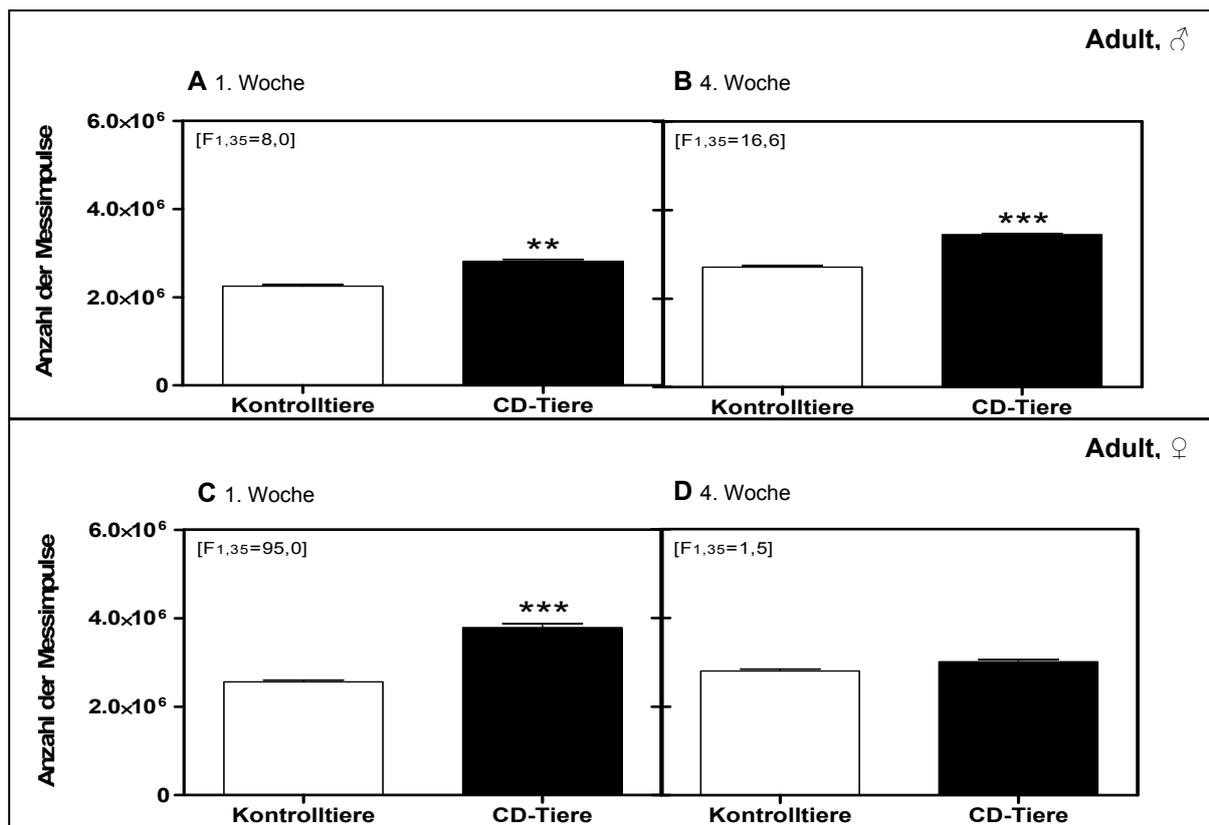
Die adulten, weiblichen CD-Ratten ließen eine signifikant vermehrte Aktivität in der 1. Versuchswoche erkennen (Abb. 3.24C), während in der 4. Versuchswoche kein Unterschied in der Aktivität im Vergleich mit den Kontrolltieren festgestellt werden konnte (Abb. 3.24D).

#### TÄGLICHE GESAMTAKTIVITÄT DER JUNG ADULTEN TIERE



**Abb. 3.23:** Tägliche Gesamtaktivität der jung adulten, männlichen und weiblichen Ratten in der 1. und 4. Versuchswoche. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. N=3 Käfige (à 4 Tiere)/Kontrollgruppe + N=3 Käfige (à 4 Tiere)/CD-Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*\*p<0,01).

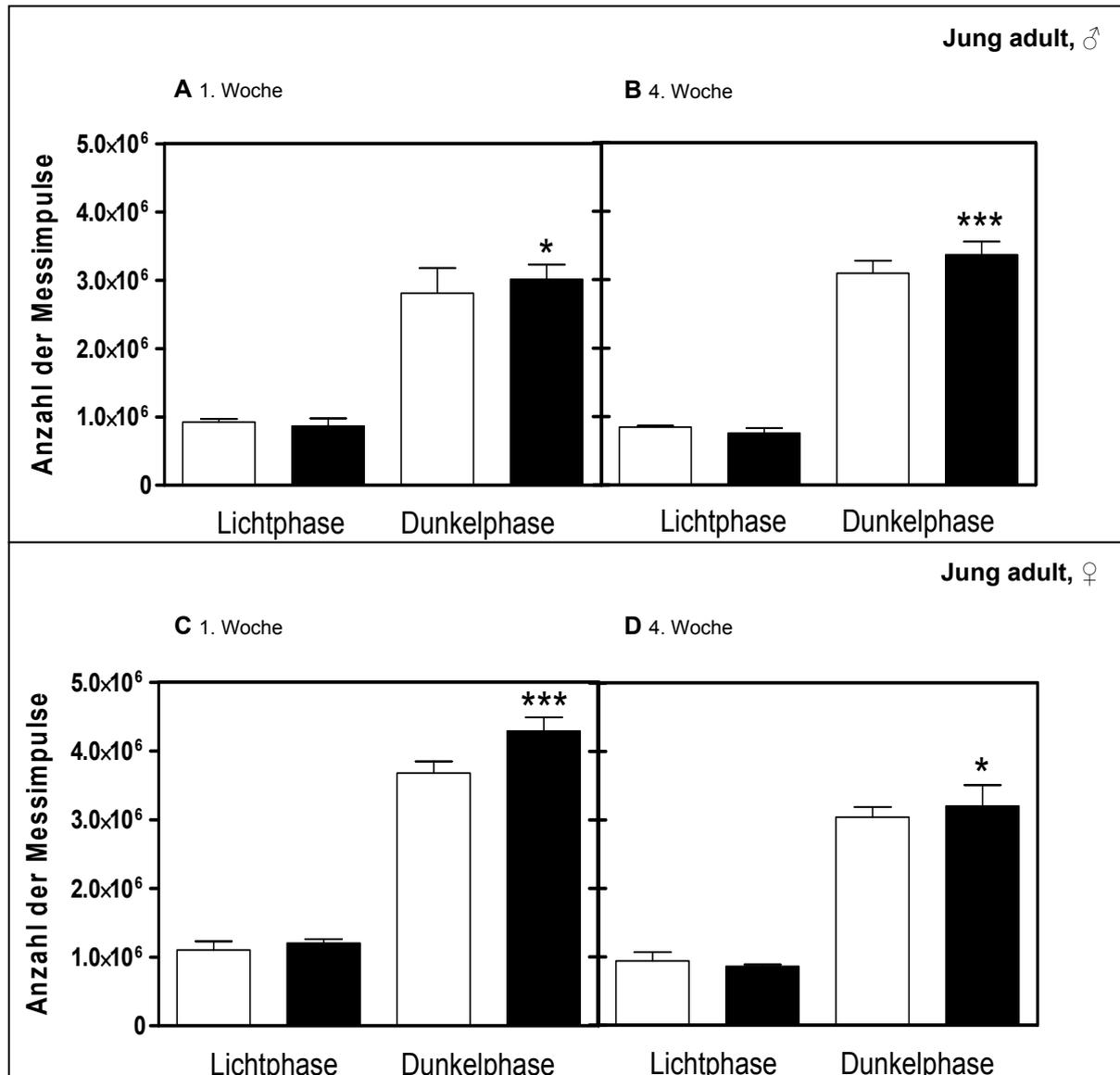
## TÄGLICHE GESAMTAKTIVITÄT DER ADULTEN TIERE



**Abb. 3.24: Tägliche Gesamtaktivität** der adulten, männlichen und weiblichen Ratten in der 1. und 4. Versuchswoche. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. N=3 Käfige (à 4 Tiere)/Kontrollgruppe + N=3 Käfige (à 4 Tiere)/CD-Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001).

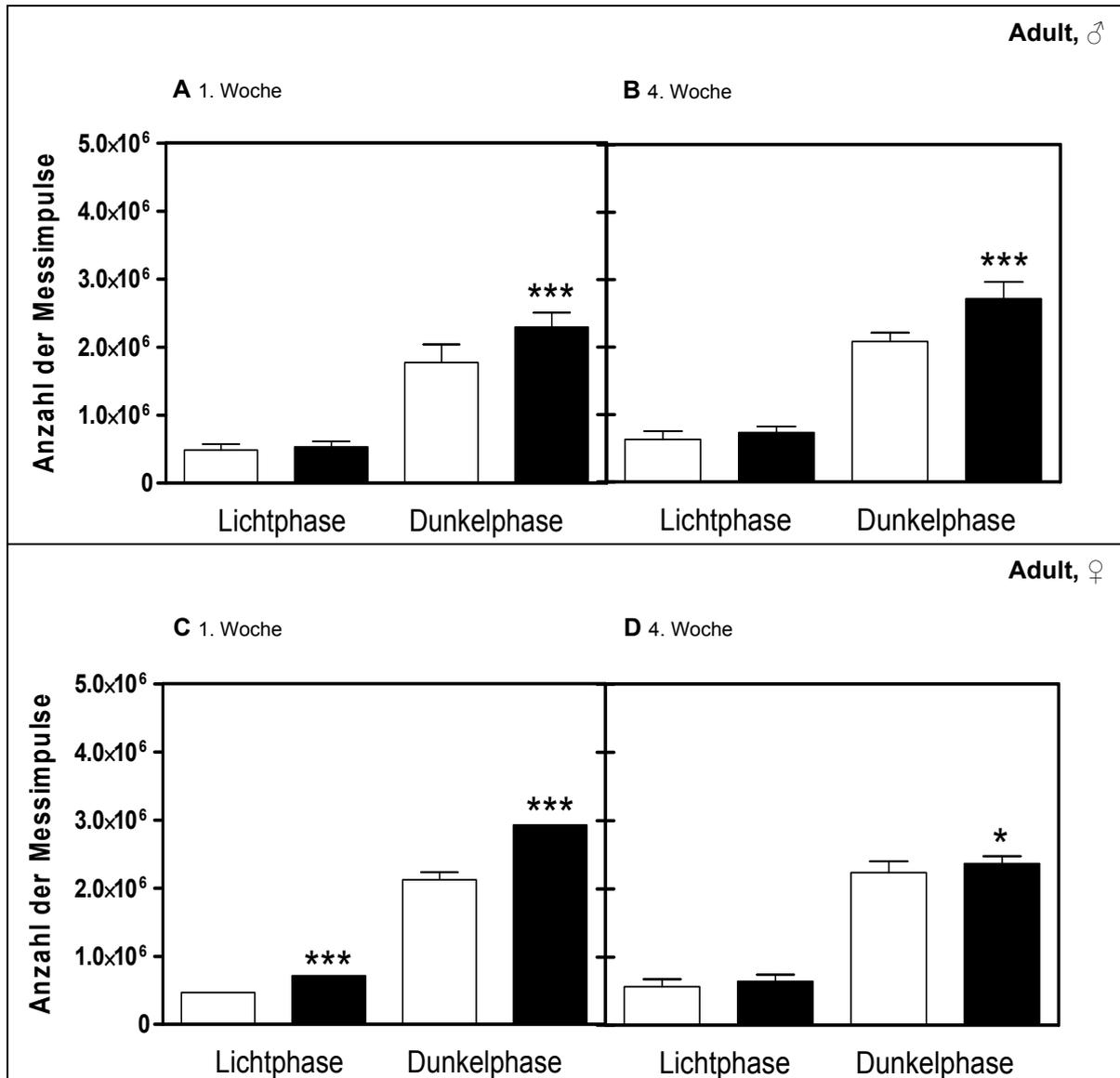
Betrachtet man die Aktivität in der Dunkel- und Lichtphase getrennt voneinander, zeigt sich, dass alle CD-Ratten sowohl in der 1. als auch in der 4. Versuchswoche während der Dunkelphase signifikant aktiver waren als die entsprechenden Kontrolltiere (Abb. 3.25 & 3.26). Die adulten CD-Weibchen wiesen darüber hinaus in der 1. Versuchswoche auch in der Lichtphase eine signifikant gesteigerte Aktivität auf (Abb. 3.26C).

## TÄGLICHE GESAMTAKTIVITÄT DER JUNG ADULTEN TIERE IN DER LICHT- UND DUNKELPHASE



**Abb. 3.25: Tägliche Gesamtaktivität** der jung adulten, männlichen und weiblichen Ratten in der **Licht- und Dunkelphase**. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. N=3 Käfige (à 4 Tiere)/Kontrollgruppe + N=3 Käfige (à 4 Tiere)/CD-Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*p<0,05, \*\*\*p<0,001).

## TÄGLICHE GESAMTAKTIVITÄT DER ADULTEN TIERE IN DER LICHT- UND DUNKELPHASE



**Abb. 3.26: Tägliche Gesamtaktivität** der adulten, männlichen und weiblichen Ratten in der **Licht- und Dunkelphase**. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. N=3 Käfige (à 4 Tiere)/Kontrollgruppe + N=3 Käfige (à 4 Tiere)/CD-Gruppe. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*p<0,05, \*\*\*p<0,001).

### 3.3.2 Elevated Plus Maze-Test

Die Untersuchung der einzelnen Parameter des EPM-Tests mittels einer dreifaktoriellen ANOVA (Alter x Geschlecht x Diät) ergab, dass die Diät keinerlei Einfluss auf das Verhalten der Tiere hatte. Die Anzahl der Eintritte<sub>(a)</sub> sowie die verbrachte Zeit auf den offenen Armen<sub>(b)</sub> waren abhängig vom Alter [ $F_{(a)1,47}=15,4$ ;  $p<0,001$ ]; [ $F_{(b)1,47}=16,1$ ;  $p<0,001$ ] und Geschlecht der Ratten [ $F_{(a)1,47}=5,3$ ;  $p<0,05$ ]; [ $F_{(b)1,47}=8,4$ ;  $p<0,01$ ]. Die Häufigkeit der Gesamteintritte wurde ebenfalls vom Alter der Tiere beeinflusst [ $F_{1,47}=6,5$ ;  $p<0,05$ ]. Interaktionen konnten zwischen dem Geschlecht und der Diät bezüglich des Parameters Grooming aufgezeigt werden [ $F_{1,47}=10,6$ ;  $p<0,01$ ] sowie zwischen dem Alter und dem Geschlecht hinsichtlich der Eintritte in die offenen Arme [ $F_{1,47}=7,9$ ;  $p<0,01$ ], der verbrachten Zeit auf den offenen Armen [ $F_{1,47}=17,0$ ;  $p<0,001$ ] sowie dem Rearing [ $F_{1,47}=7,7$ ;  $p<0,01$ ]. Die Eintritte in die offenen Arme betreffend, konnte eine Wechselwirkung zwischen den Faktoren Alter und Diät ermittelt werden [ $F_{1,47}=4,2$ ;  $p<0,05$ ].

Folgende post hoc Analysen ergaben, dass die Aufnahme der CD bei den jung adulten Tieren beider Geschlechter im Vergleich mit den Kontrollen keinen Einfluss auf das Verhalten der Tiere hatte.

Hinsichtlich der Parameter Gesamteintritte (Abb. 3.28) und Rearing (Abb. 3.31) konnte bei den adulten Ratten beider Geschlechter ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen CD-Tieren und den entsprechenden Kontrollen festgestellt werden. Bei den adulten, männlichen CD-Tieren ergab sich jedoch eine signifikante Reduktion ( $p<0,05$ ) des relativen Verhältnisses der Eintritte in die offenen Arme (Abb. 3.29) sowie eine signifikant verlängerte Dauer des Putzverhaltens ( $p<0,01$ ) im Vergleich zu den Kontrolltieren (Abb. 3.32). Eine statistische Tendenz ( $p=0,08$ ) war hinsichtlich der erhöhten zurückgelegten Distanz bei den adulten, männlichen CD-Tieren feststellbar (Abb. 3.27).

Die adulten, weiblichen CD-Tiere verbrachten im Vergleich mit den Kontrolltieren signifikant mehr Zeit ( $p<0,05$ ) auf den offenen Armen des EPM (Abb. 3.30). Statistische Tendenzen zeigten sich in dem erhöhten prozentualen Verhältnis der Eintritte in die offenen Arme zu den Gesamteintritten ( $p=0,09$ ) sowie beim Grooming ( $p=0,08$ ).

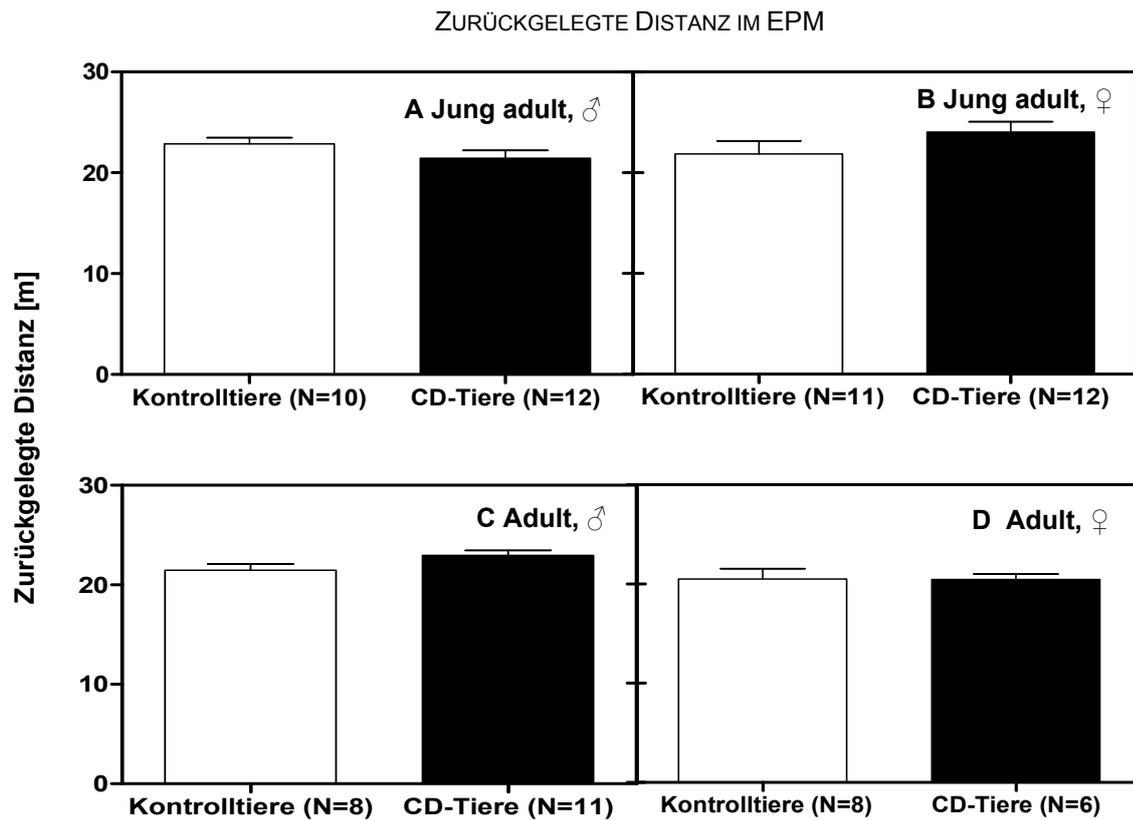


Abb. 3.27: Zurückgelegte Distanz [m] im EPM. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM.

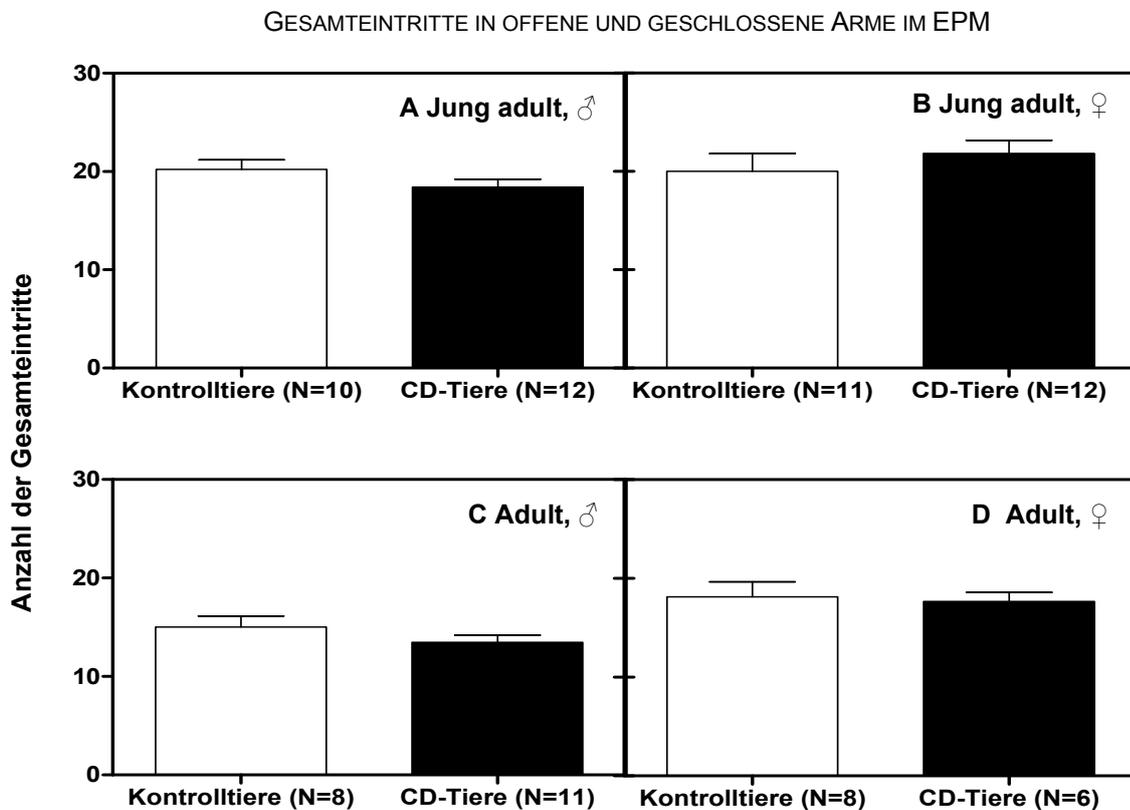


Abb. 3.28: Anzahl der Gesamteintritte in offene und geschlossene Arme im EPM. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM.

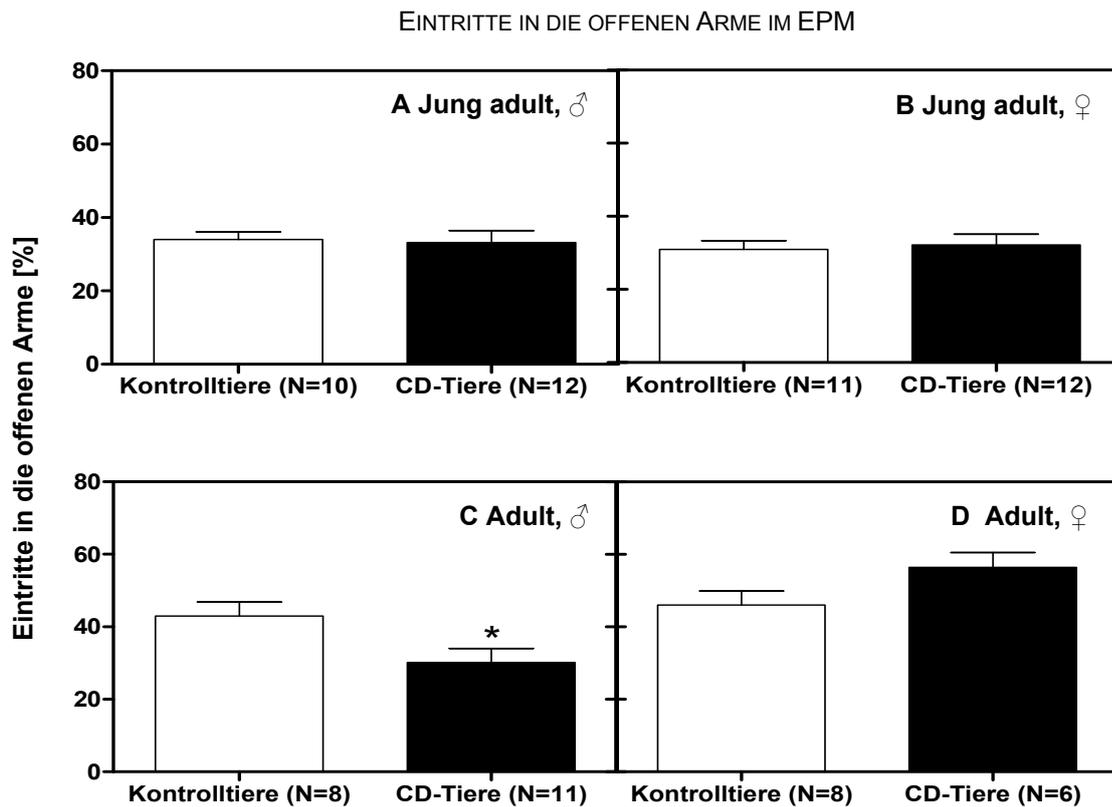


Abb. 3.29: Eintritte in die offenen Arme [%] im EPM. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ ).

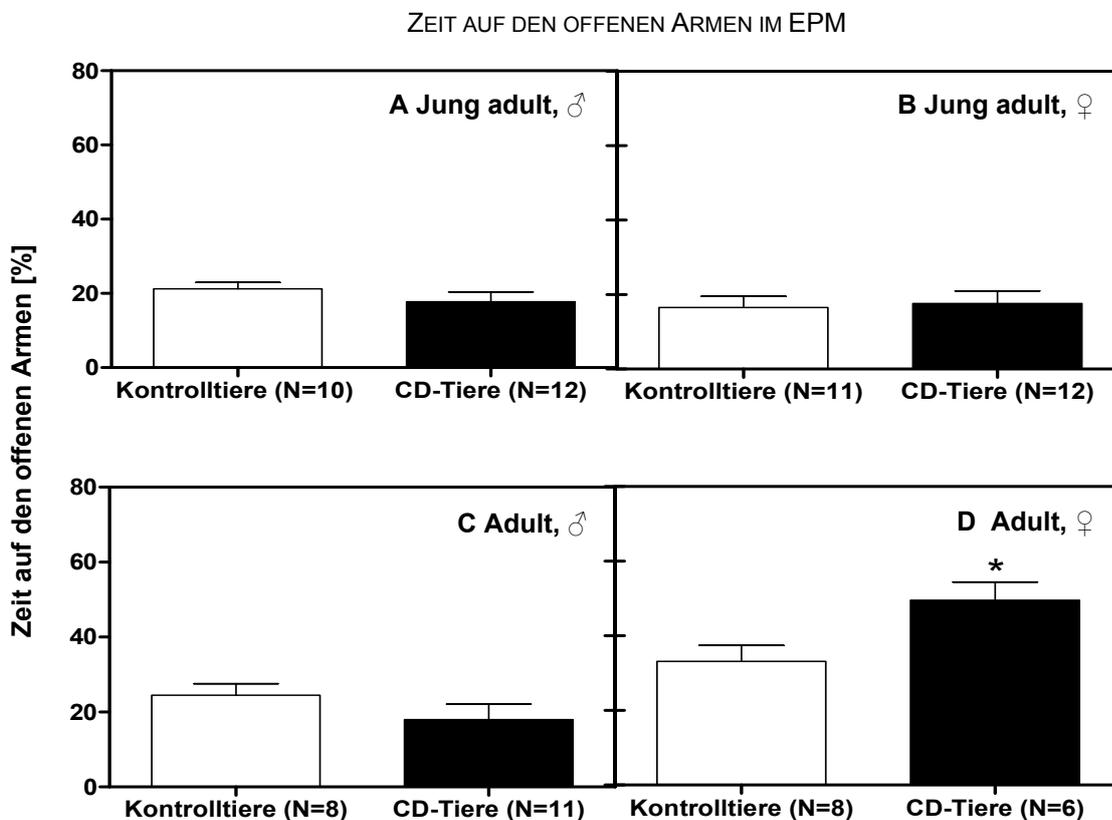


Abb. 3.30: Zeit auf den offenen Armen [%] im EPM. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ ).

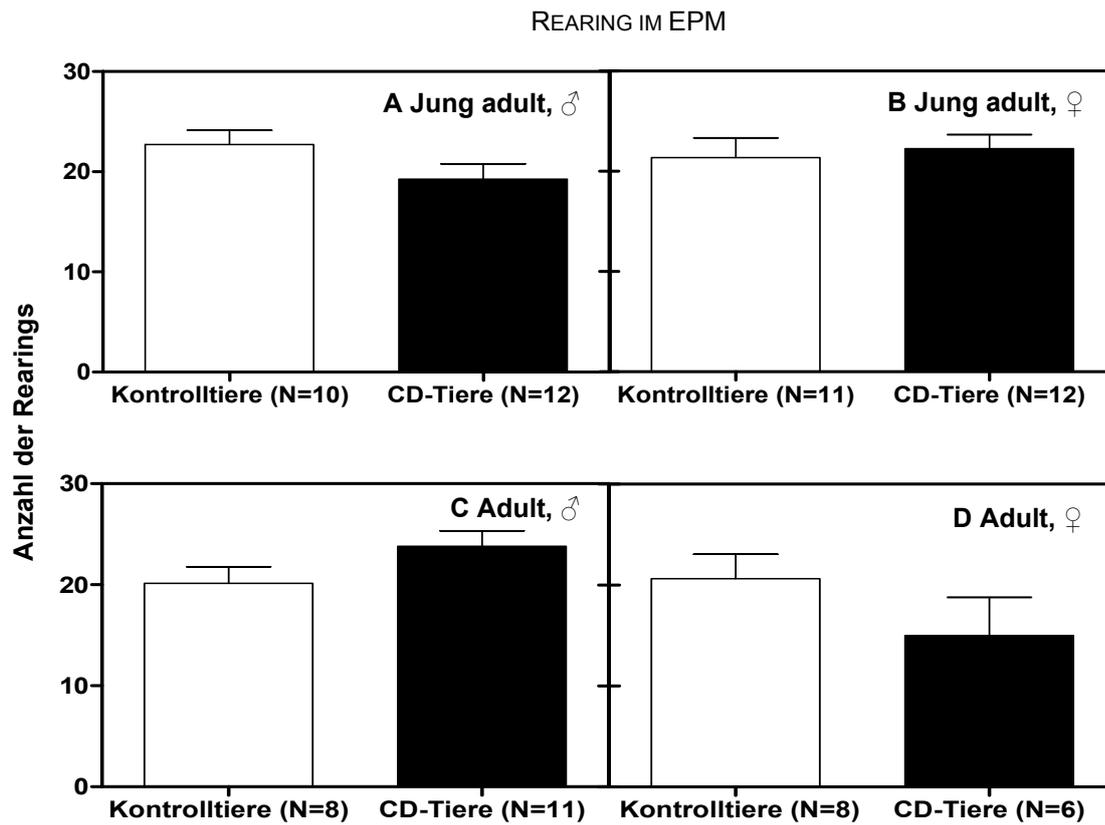


Abb. 3.31: Anzahl der Rearings im EPM. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM.

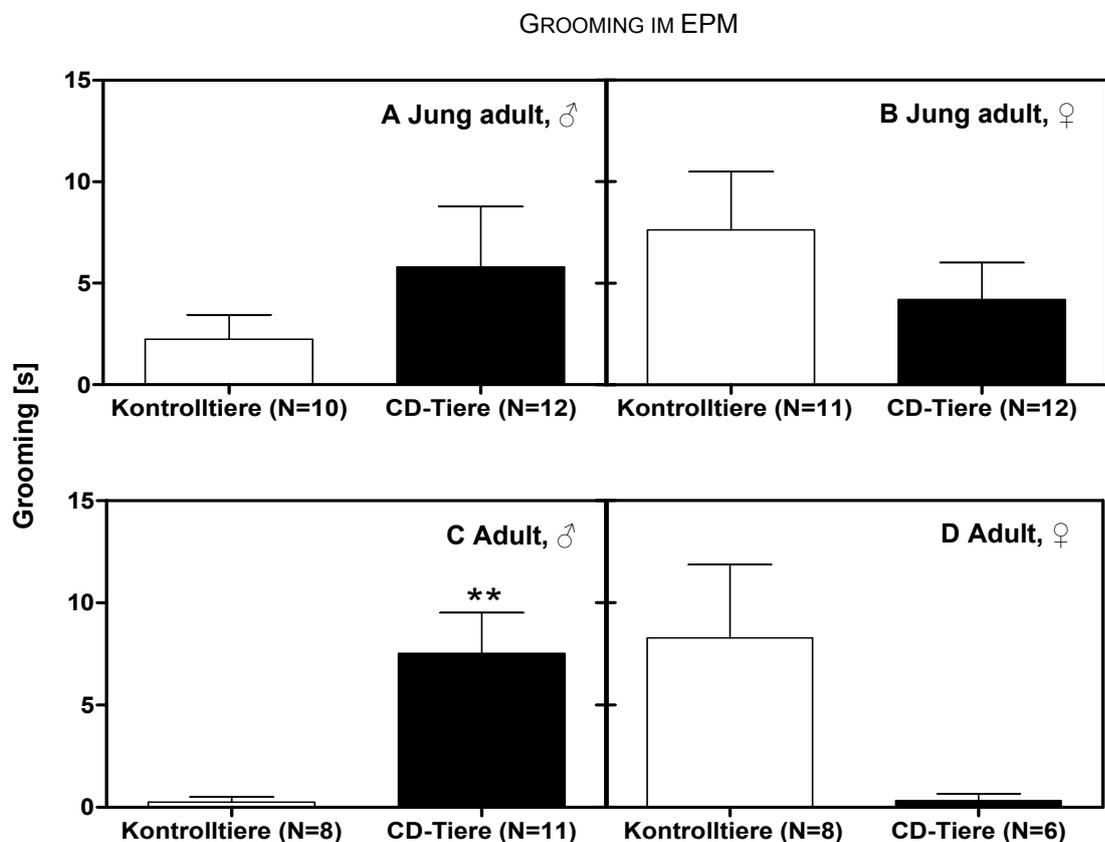


Abb. 3.32: Grooming [s] im EPM. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\*\* $p < 0,01$ ).

### 3.3.3 Open Field-Test

Während des OF-Tests verbrachten sowohl die CD-Ratten als auch die Kontrolltiere fast die gesamte Versuchszeit im Randbereich der Grundfläche. Entsprechend kurz hielten sie sich im Mittelfeld des OF auf. Anhand der dreifaktoriellen ANOVA (Alter x Geschlecht x Diät) konnte für alle Parameter außer dem Rearing ein signifikanter Einfluss des Alters festgestellt werden. Die zurückgelegte Distanz war vom Geschlecht [ $F_{1,87}=18,0$ ;  $p<0,001$ ] und der Diät [ $F_{1,87}=7,3$ ;  $p<0,01$ ] abhängig, während das Geschlecht der Tiere ebenfalls das Rearing beeinflusste [ $F_{1,87}=5,8$ ;  $p<0,05$ ]. Die statistische Auswertung zeigte hinsichtlich der zurückgelegten Distanz eine Wechselwirkung zwischen Alter und Geschlecht [ $F_{1,87}=21,6$ ;  $p<0,001$ ], während diese Interaktion bei der Latenz zum ersten Eintreten in das Mittelfeld eine statistische Tendenz ergab [ $F_{1,87}=3,7$ ;  $p=0,06$ ]. Geschlecht und Diät interagierten hinsichtlich der Eintritte in das Mittelfeld signifikant miteinander [ $F_{1,87}=4,9$ ;  $p<0,05$ ].

Bei den männlichen CD-Ratten beider Altersstufen konnten anhand der post hoc Analysen bezüglich aller untersuchten Parameter keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrollen festgestellt werden.

Bei den weiblichen Tieren beider Altersgruppen zeigten die CD-Ratten im Vergleich mit den Kontrollen eine signifikant erhöhte zurückgelegte Distanz ( $p<0,05$ ) (Abb. 3.33) sowie signifikant vermehrte Eintritte in das Mittelfeld ( $p<0,05$ ) (Abb. 3.34). Die adulten, weiblichen CD-Ratten verbrachten hier auch tendenziell mehr Zeit ( $p=0,09$ ) als die Kontrolltiere (Abb. 3.35). Die jung adulten, weiblichen CD-Ratten zeigten eine signifikant erhöhte Anzahl von Rearings ( $p<0,05$ ) (Abb. 3.37). Eine statistische Tendenz ( $p=0,09$ ) war in dieser Gruppe hinsichtlich der verkürzten Latenz bis zum ersten Eintreten in das Mittelfeld feststellbar (Abb. 3.36). Das Putzverhalten wurde durch die Gabe der CD in keiner der vier Versuchsgruppen signifikant beeinflusst (Abb. 3.38).

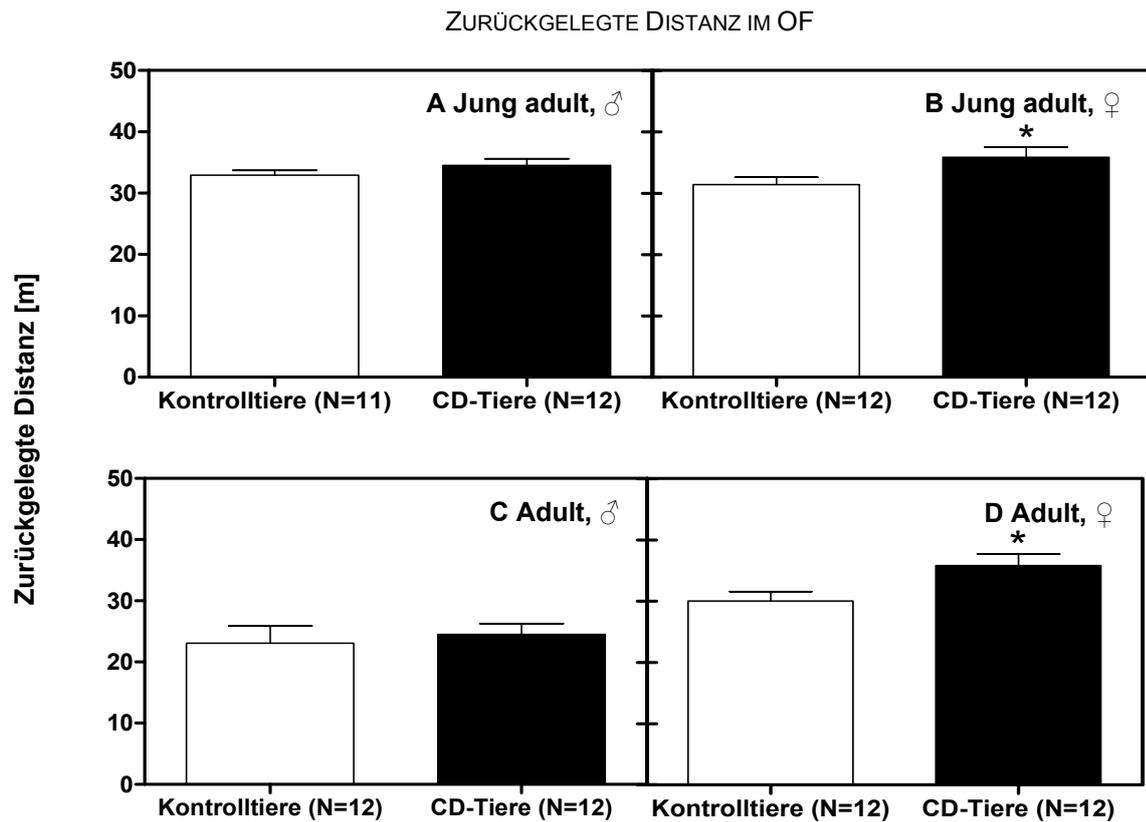


Abb. 3.33: Zurückgelegte Distanz [m] im OF. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ ).

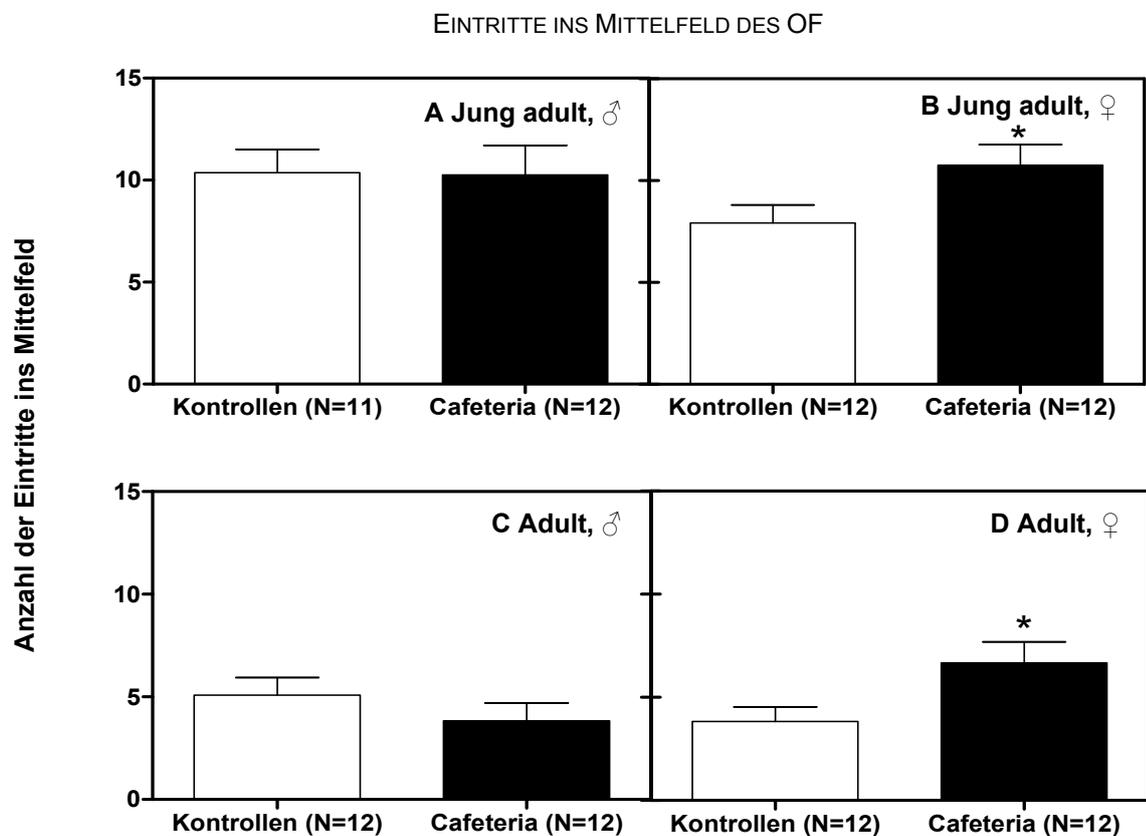
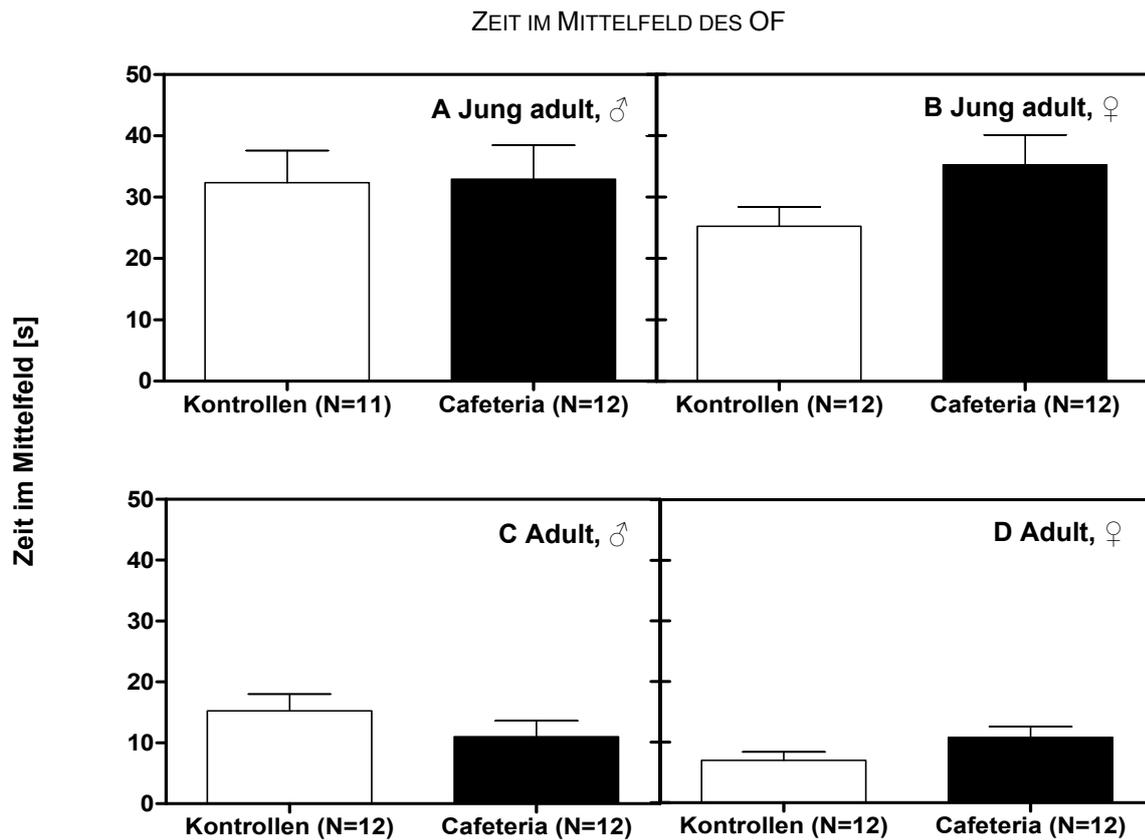
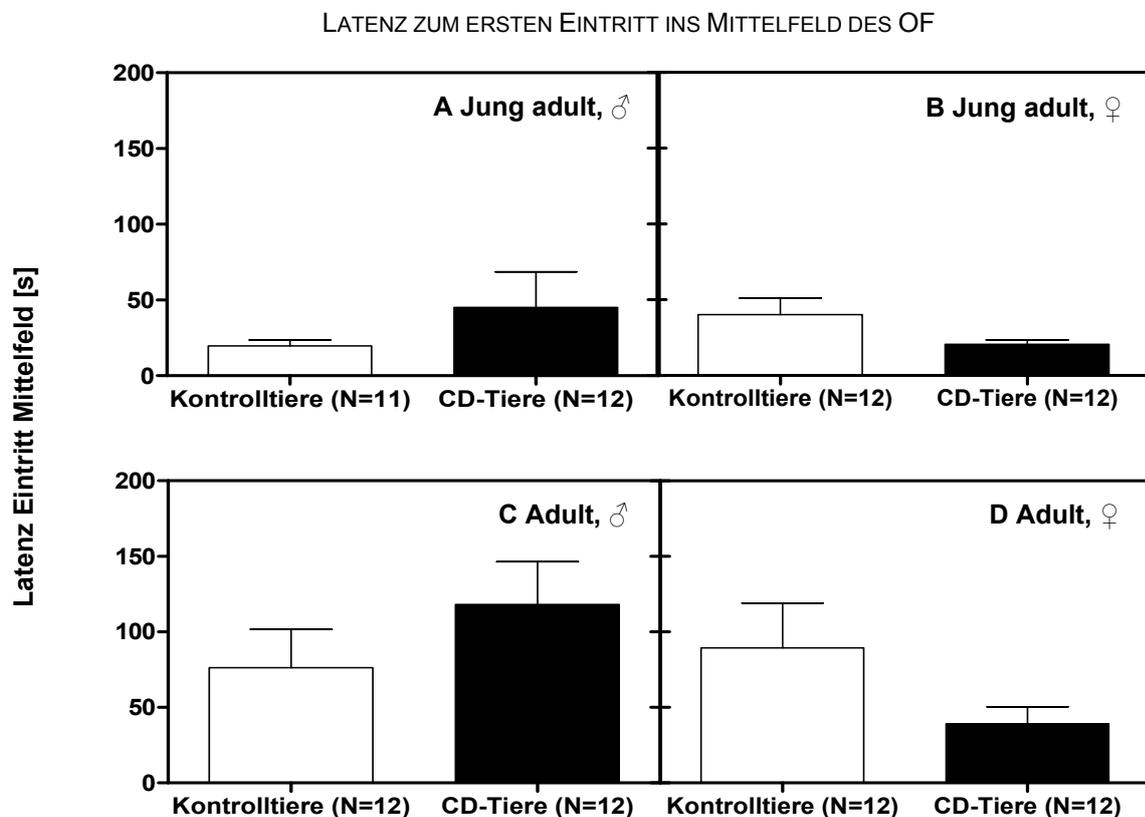


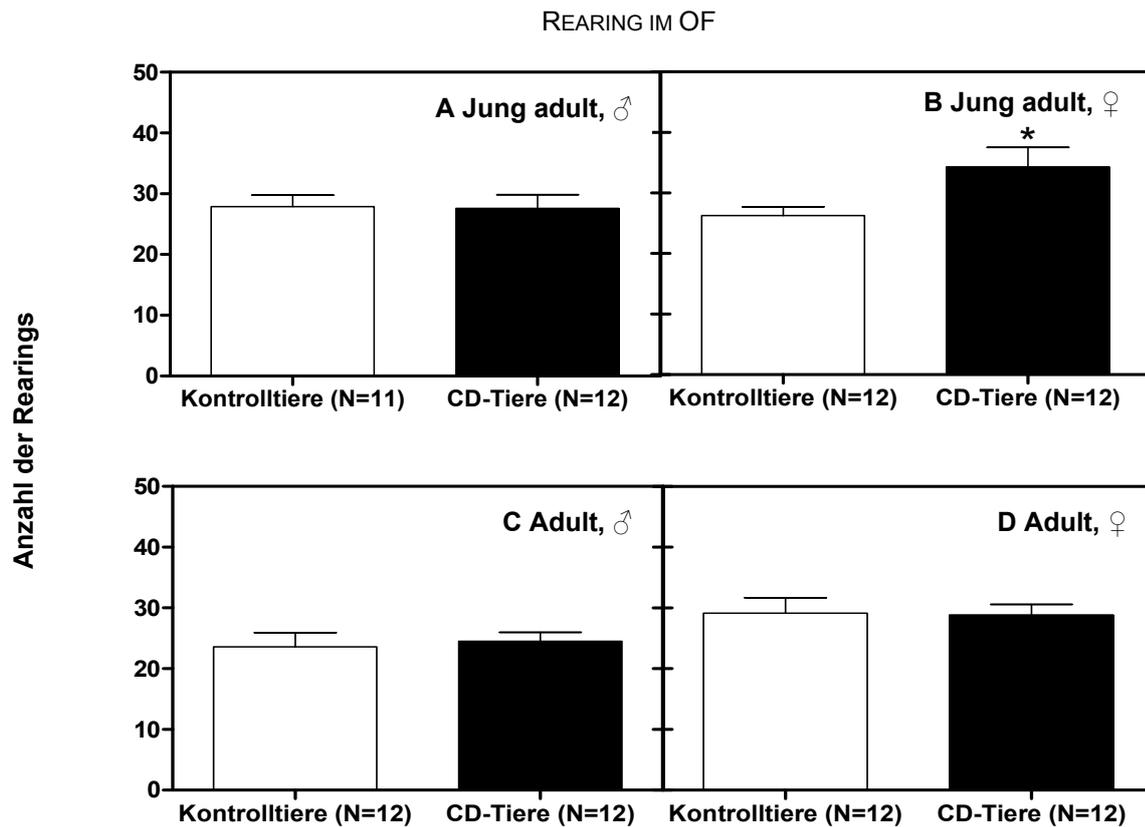
Abb. 3.34: Anzahl der Eintritte ins Mittelfeld des OF. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ ).



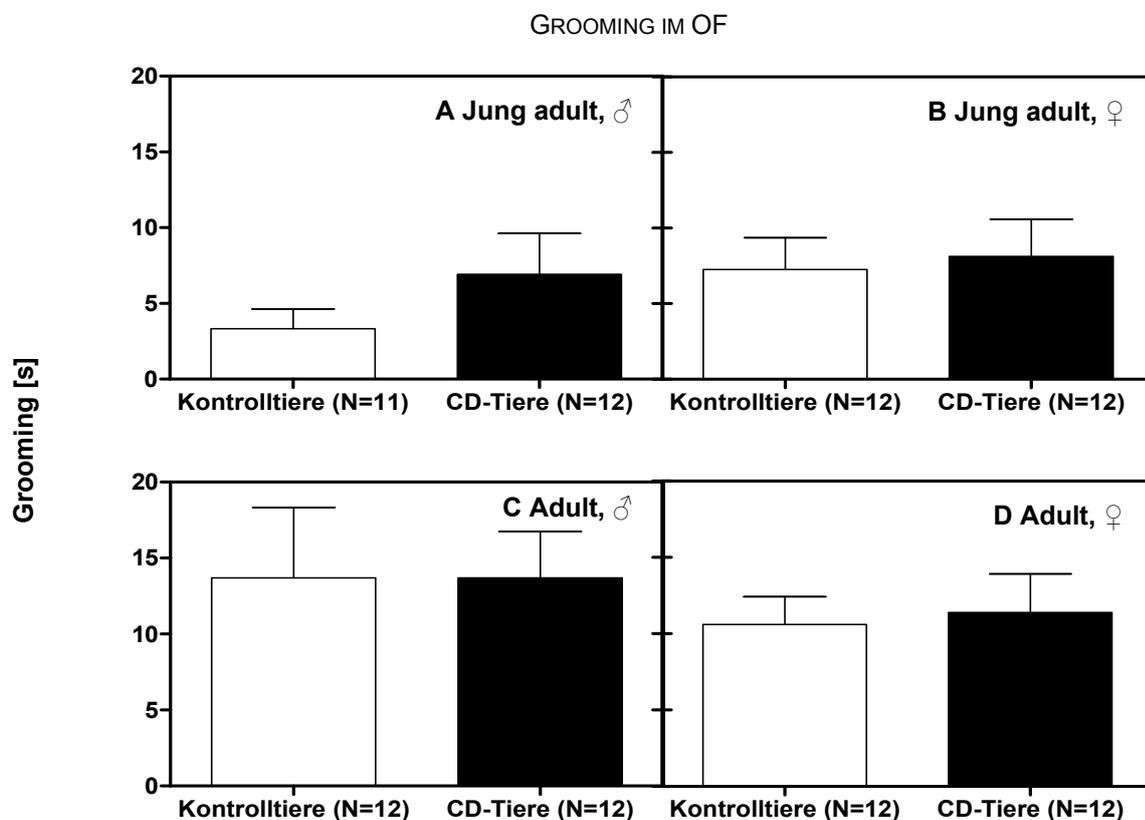
**Abb. 3.35:** Zeit im Mittelfeld [s] des OF. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM.



**Abb. 3.36:** Latenz [s] zum ersten Eintritt ins Mittelfeld des OF. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM.



**Abb. 3.37: Anzahl der Rearings** im OF. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ ).



**Abb. 3.38: Grooming [s]** im OF. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Dreifaktorielle ANOVA gefolgt vom Holm Sidak-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM.

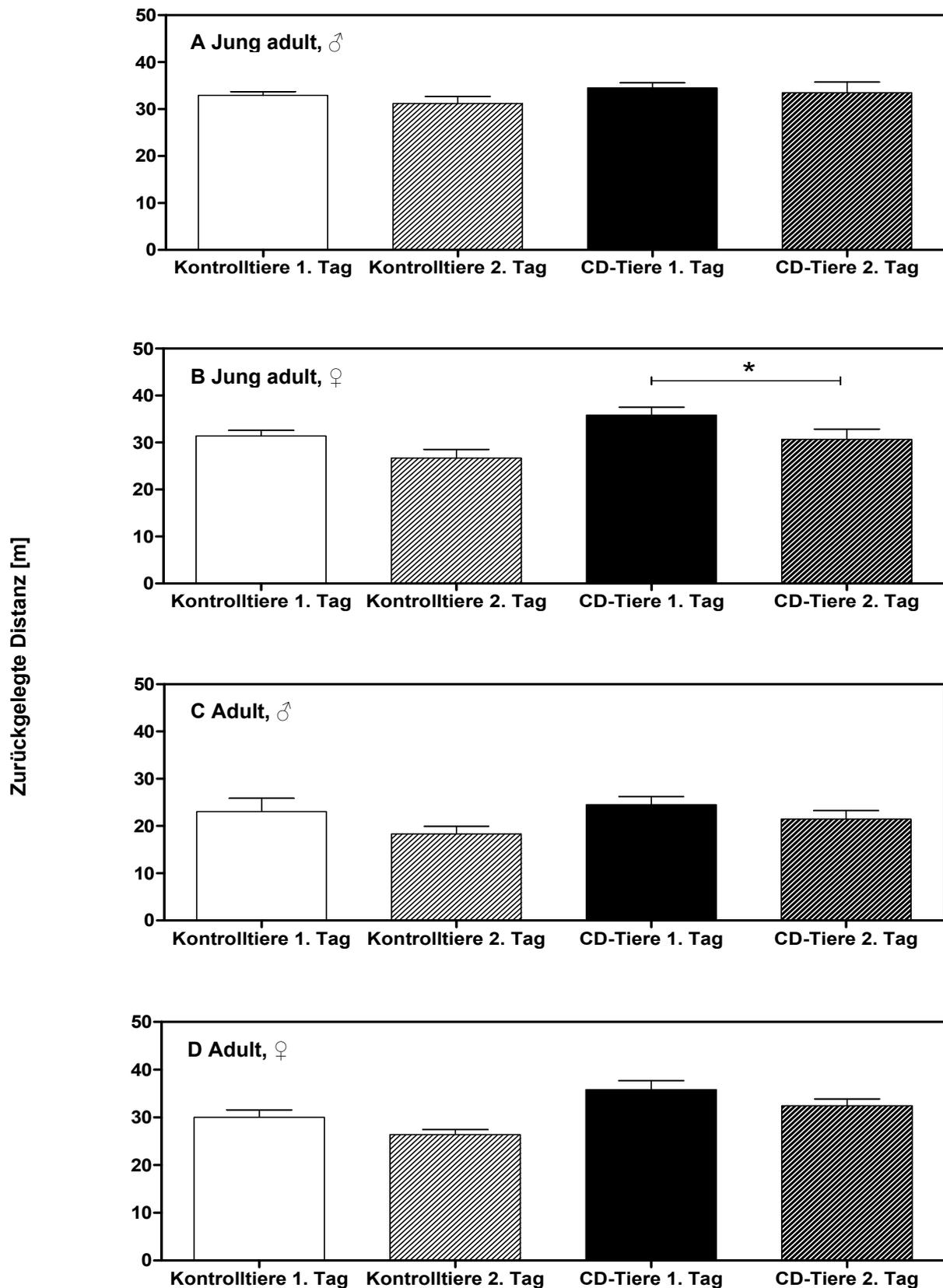
### 3.3.4 Habituation im Open Field-Test

Eine zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen zeigte, dass die jung adulten, männlichen sowie die adulten, weiblichen Kontroll- und CD-Ratten kein deutliches Habitationsvermögen bezüglich der ungewohnten Umgebung aufwiesen. In der zurückgelegten Distanz (Abb. 3.39A & D) und der Aufrichtebewegung (Abb. 3.40A & D) waren keine signifikanten Unterschiede zum Vortag feststellbar.

Bei den jung adulten, weiblichen Kontrolltieren konnte eine tendenzielle ( $p=0,07$ ), bei den jung adulten, weiblichen CD-Tieren eine signifikante ( $p<0,05$ ) Reduktion der zurückgelegten Distanz am zweiten Versuchstag beobachtet werden (Abb. 3.39B). Hinsichtlich der Rearings waren keine signifikanten Unterschiede zum Vortag festzustellen (Abb. 3.40B).

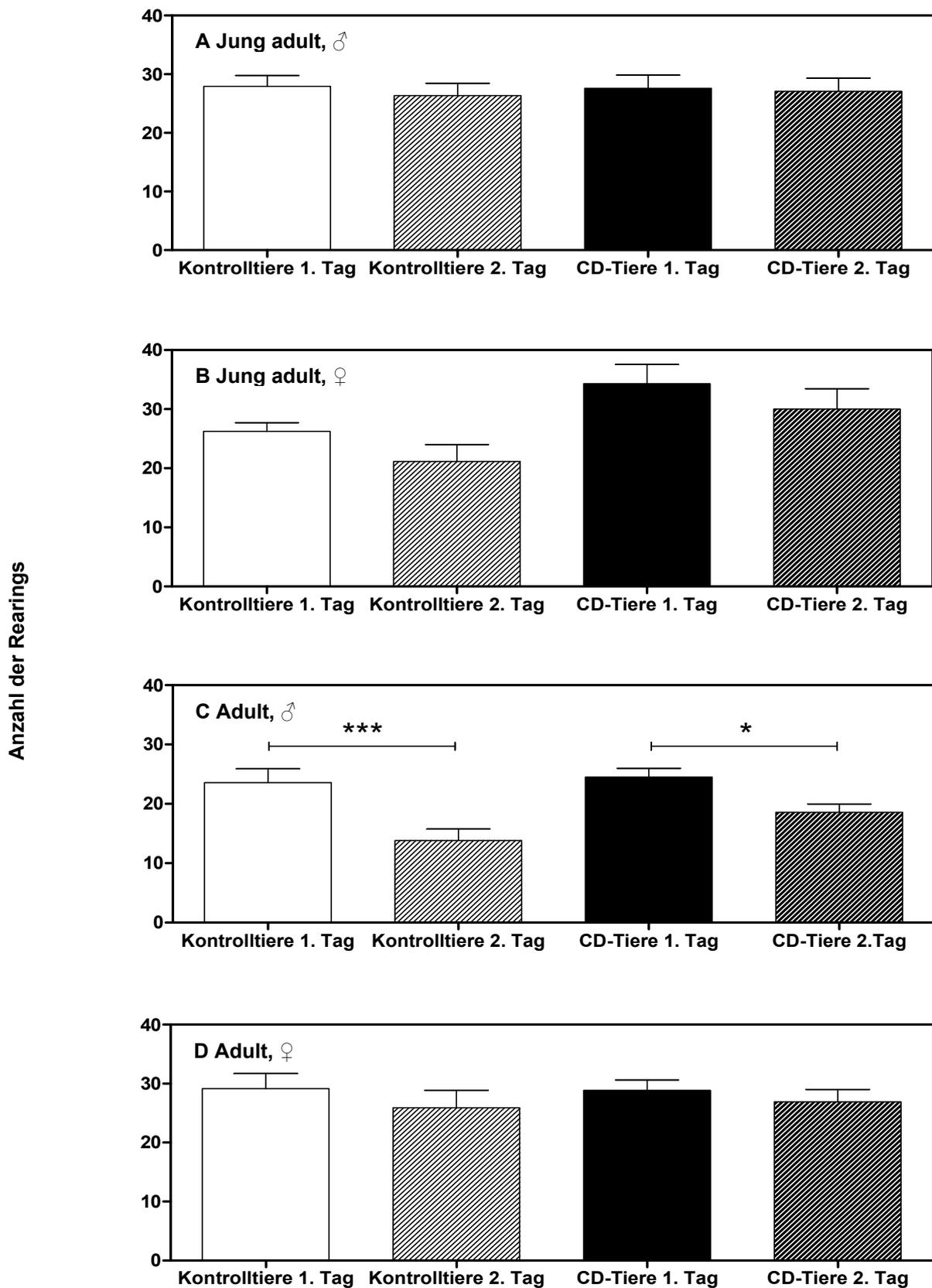
Die Anzahl der Rearings war bei den adulten, männlichen Ratten sowohl innerhalb der Kontrollgruppe ( $p<0,001$ ) als auch der CD-Gruppe ( $p<0,05$ ) am zweiten Versuchstag signifikant reduziert (Abb. 3.40C). Die zurückgelegte Distanz war nicht deutlich verändert (Abb. 3.39C).

## ZURÜCKGELEGTE DISTANZ IM OF AM 1. UND 2. TESTTAG



**Abb. 3.39:** Zurückgelegte Distanz [m] im OF am 1. und 2. Testtag. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen den Daten des 1. und 2. Tages sind mit \* gekennzeichnet (\*p<0,05).

## REARING IM OF AM 1. UND 2. TESTTAG



**Abb. 3.40:** Anzahl der Rearings im OF am 1. und 2. Testtag. A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen den Daten des 1. und 2. Tages sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,001$ ).

### 3.3.5 Novel Object Discrimination-Test

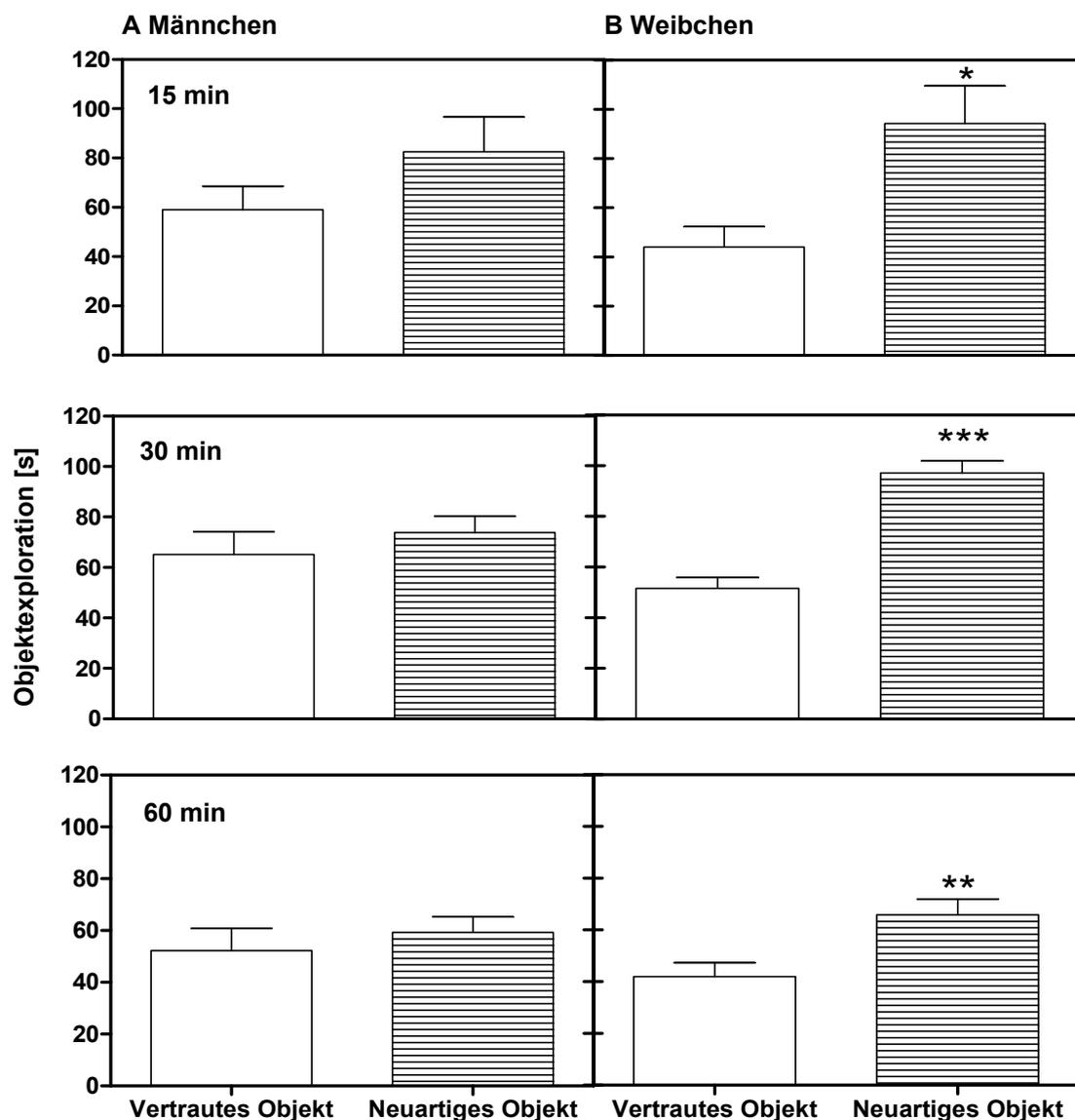
In den Vorversuchen des NOD-Tests wurden anhand von Untersuchungen mit unbehandelten adulten männlichen und weiblichen SD Ratten Seitenpräferenzen oder Neigungen für eines der Objekte ausgeschlossen (Daten nicht gezeigt). Da in der Literatur Hinweise auf eine Abhängigkeit der Gedächtnisleistungen vom Zeitintervall zwischen Trainings- und Testphase zu finden sind (King *et al.*, 2004), wurden verschiedene Intervallzeiten (15 min, 30 min, 60 min) zwischen Trainingsdurchlauf und Testphase untersucht. Die männlichen, unbehandelten Ratten zeigten bei keiner der drei getesteten Intervallzeiten eine Differenzierung hinsichtlich des bekannten und des neuartigen Objekts (Abb. 3.41A), wohingegen die weiblichen Ratten bei allen untersuchten Intervallzeiten das neue Objekt signifikant länger explorierten als das vertraute (Abb. 3.41B).

Im Trainingsdurchlauf des Hauptversuches konnte mit Ausnahme der jung adulten, männlichen Kontrollen bei keiner Gruppe eine signifikante Präferenz für eines der identischen Objekte festgestellt werden. Die jung adulten, männlichen Kontrolltiere explorierten das links stehende Objekt signifikant länger als das rechts stehende ( $p < 0,001$ ). Diese Seitenpräferenz konnte tendenziell ebenfalls bei den jung adulten, männlichen CD-Ratten ( $p = 0,05$ ) sowie den adulten, weiblichen CD-Tieren ( $p = 0,05$ ) festgestellt werden. Zwischen den jeweiligen Kontroll- und CD-Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede beobachtet werden (Abb. 3.42).

Im Testdurchlauf des Hauptversuches, der 60 Minuten nach dem Training stattfand, explorierten die CD-Ratten der jung adulten Weibchen ( $p < 0,01$ ) sowie der adulten Männchen ( $p < 0,01$ ) das neuartige Objekt signifikant länger als das vertraute. Diese Identifizierung des neuartigen Objektes konnte tendenziell ebenfalls bei den jung adulten, männlichen CD-Ratten ( $p = 0,06$ ), den adulten, weiblichen CD-Ratten ( $p = 0,07$ ) sowie den adulten, männlichen Kontrolltieren ( $p = 0,06$ ) festgestellt werden. Ein signifikanter Unterschied zwischen Kontrolltieren und CD-Ratten ergab sich in der Gruppe der jung adulten Männchen. Hier investierten die CD-Tiere signifikant mehr Zeit in die Exploration des neuartigen Objektes als deren Kontrollen ( $p < 0,05$ ) (Abb. 3.43).

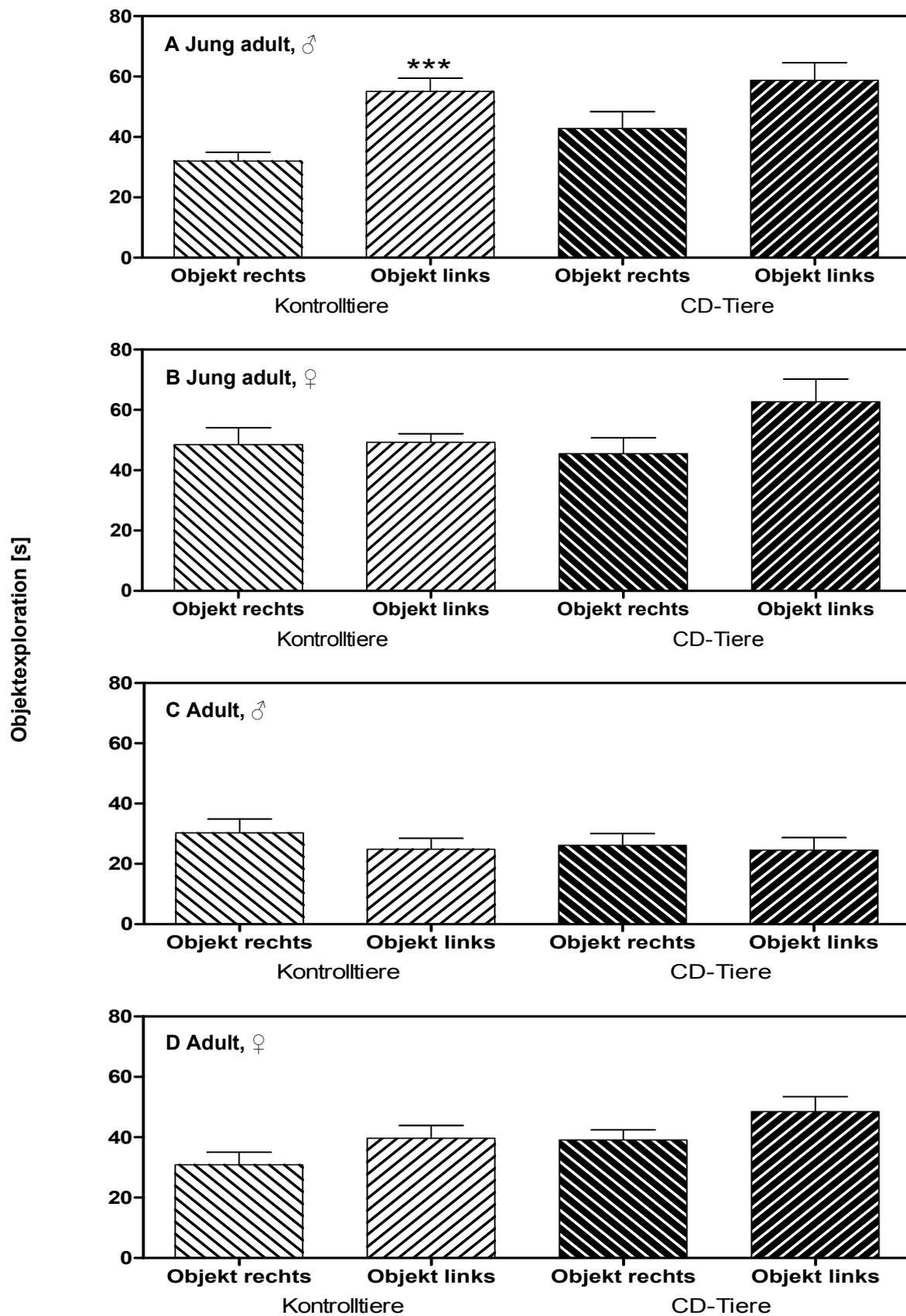
Sowohl im Training als auch im Test verbrachten alle jung adulten Tiere mehr Zeit mit der Objektinvestigation als die adulten. Die Gesamtexplorationszeit beider Objekte war beim Vergleich des Test- mit dem Trainingsdurchlauf bei den adulten, weiblichen Kontrollen im Testdurchlauf signifikant ( $p < 0,05$ ), bei den adulten, männlichen Kontrolltieren tendenziell vermehrt ( $p = 0,07$ ). Im Trainingsdurchlauf investierten die jung adulten männlichen ( $p < 0,01$ ) sowie adulten weiblichen ( $p < 0,05$ ) CD-Ratten signifikant mehr Zeit in die Objektexploration als deren Kontrolltiere. Dies konnte bei den jung adulten Männchen auch im Testdurchlauf beobachtet werden ( $p < 0,01$ ) (Abb. 3.44)

VORVERSUCHE DES NOD-TESTS MIT UNTERSCHIEDLICHEN INTERVALLZEITEN

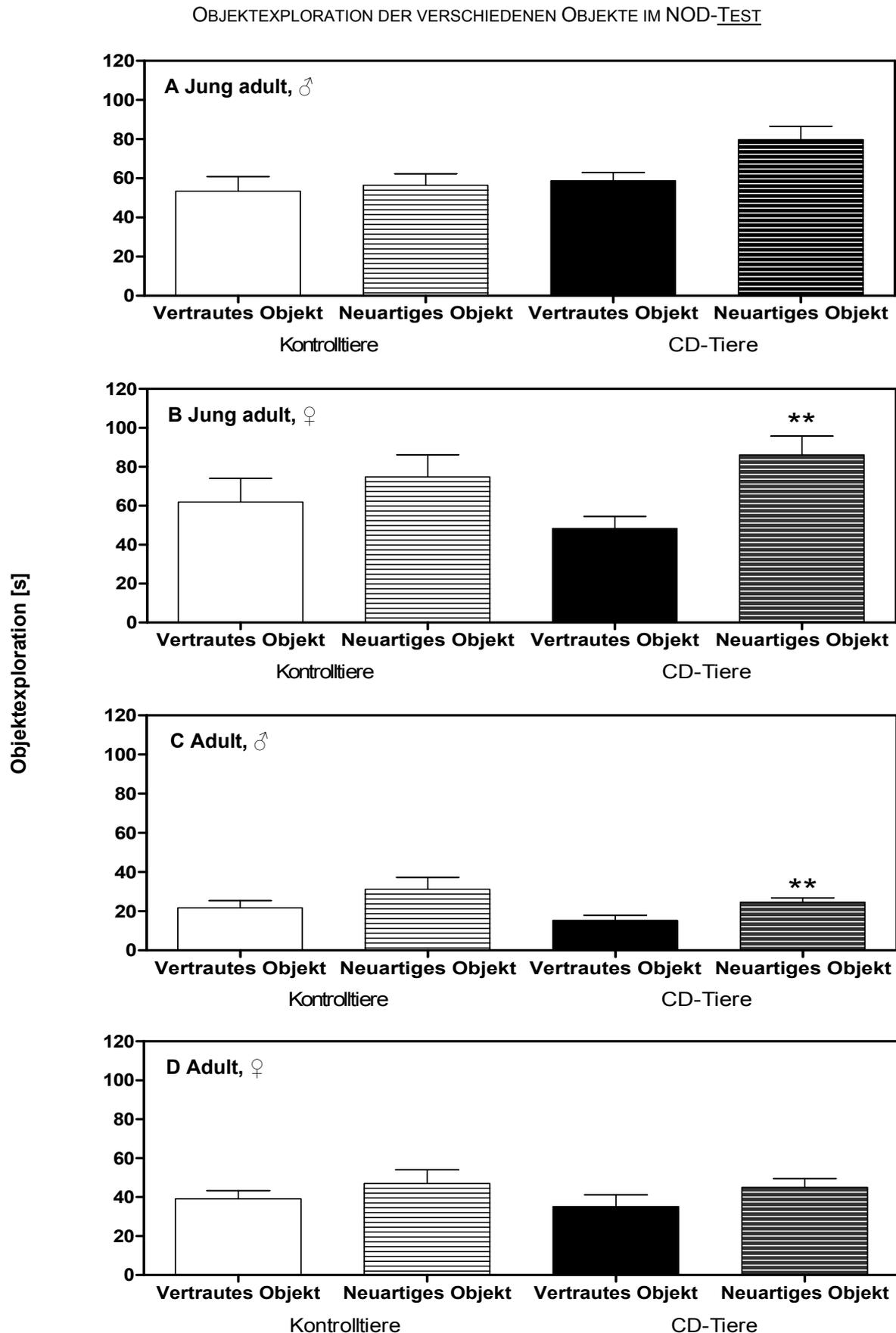


**Abb. 3.41: Vorversuche** des NOD-Tests mit **unterschiedlichen Intervallzeiten** (15 min, 30 min, 60 min). Objektexploration [s] männlicher (A) und weiblicher (B) Ratten. Student's  $t$ -Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen vertrautem und neuartigem Objekt sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ).

## OBJEKTEXPLORATION DER IDENTISCHEN OBJEKTE IM NOD-TRAINING

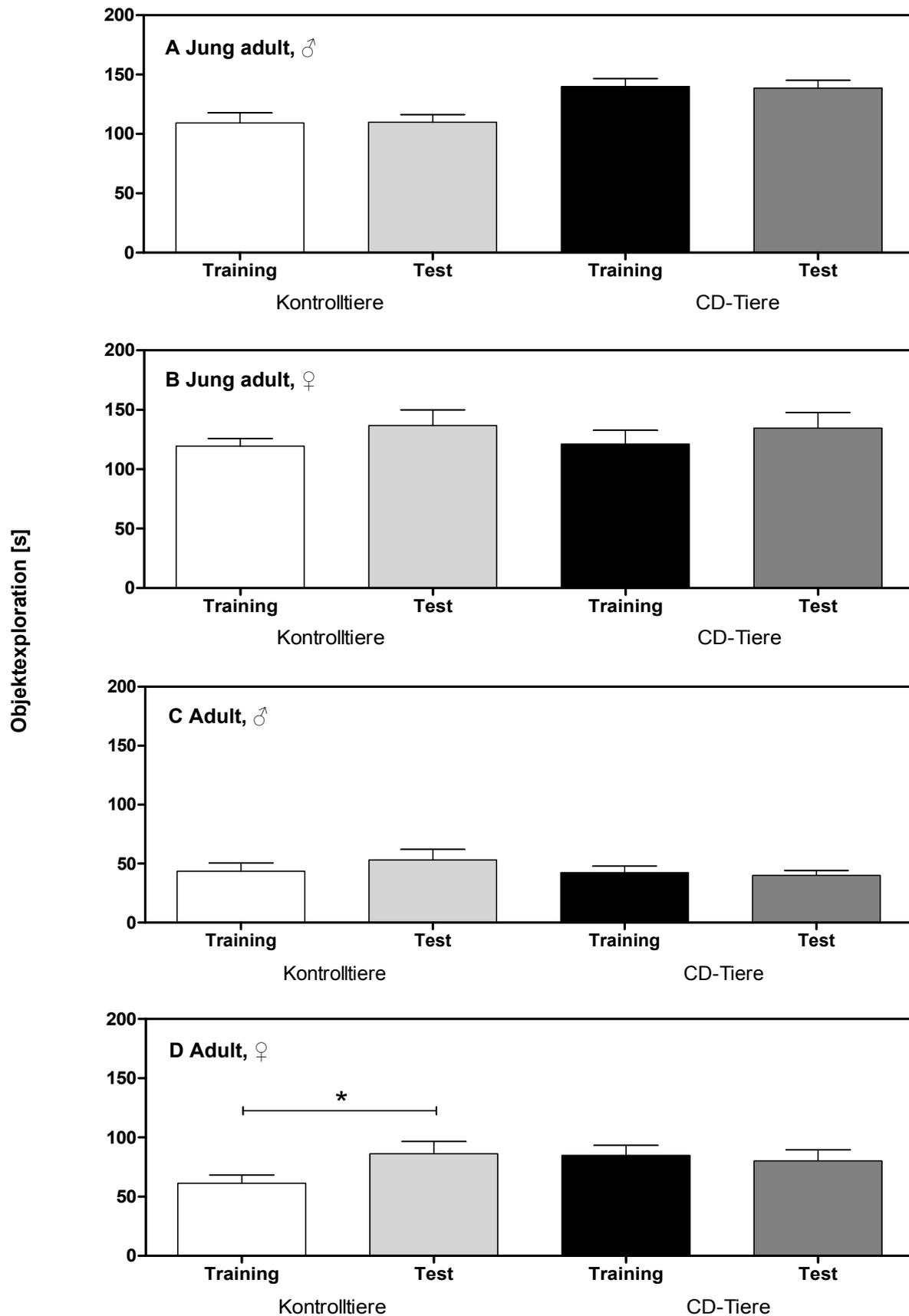


**Abb. 3.42: Objektexploration [s] der identischen Objekte im NOD-Training.** A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Student's *t*-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen rechts und links stehendem Objekt sind mit \* gekennzeichnet (\*\**p*<0,001).



**Abb. 3.43: Objektexploration [s] der verschiedenen Objekte im NOD-Test.** A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Student's *t*-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren siehe Text. Signifikante Unterschiede zwischen vertrautem und neuartigem Objekt sind mit \* gekennzeichnet (\*\* $p < 0,01$ ).

## OBJEKTEXPLORATION BEIDER OBJEKTE IM NOD-TRAINING UND -TEST



**Abb. 3.44: Objektexploration [s] beider Objekte im NOD-Training und -Test.** A=Jung adulte Männchen, B=Jung adulte Weibchen, C=Adulte Männchen, D=Adulte Weibchen. □=Kontrolltiere, ■=CD-Tiere. Student's *t*-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren siehe Text. Signifikante Unterschiede zwischen Training und Test sind mit \* gekennzeichnet (\**p*<0,05).

## 3.3.6 Behavioural satiety sequence

Die einstündige Untersuchung der BSS fand ausschließlich mit den adulten Ratten statt. Bei den männlichen Versuchstieren konnte ein signifikanter Unterschied in der Gesamtdauer der Nahrungsaufnahme (Abb. 3.45A;  $p < 0,01$ ) sowie des Ruhens (Abb. 3.46A;  $p < 0,05$ ) beobachtet werden. Die männlichen CD-Tiere investierten weniger Zeit in die Nahrungsaufnahme ( $2,4 \pm 0,4$  min.) als die Kontrolltiere ( $7,4 \pm 1,5$  min.), während letztere signifikant kürzer ruhten ( $23,1 \pm 1,6$  min.) als die CD-Ratten ( $29,9 \pm 1,6$  min.). Auf das Putzverhalten hatte die Gabe der CD keinen Einfluss (Abb. 3.47A).

Bei den weiblichen Ratten ruhten die CD-Tiere ( $24,4 \pm 1,7$  min.) ebenfalls signifikant länger ( $p < 0,05$ ) als die Kontrolltiere ( $19,2 \pm 0,8$  min.) (Abb. 3.46B). Letztere zeigten eine tendenziell ( $p = 0,08$ ) verlängerte Dauer des Putzverhaltens ( $14,1 \pm 1,4$  min.) im Vergleich zu den CD-Tieren ( $10,5 \pm 1,3$  min.) (Abb. 3.47B). Die Gesamtdauer der Nahrungsaufnahme ergab bei den weiblichen Kontroll- und CD-Tieren keinen signifikanten Unterschied (Abb. 3.45B).

In der Latenz zur ersten Nahrungsaufnahme konnten bei beiden Geschlechtern keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontroll- und CD-Tieren ermittelt werden (Abb. 3.48A & B).

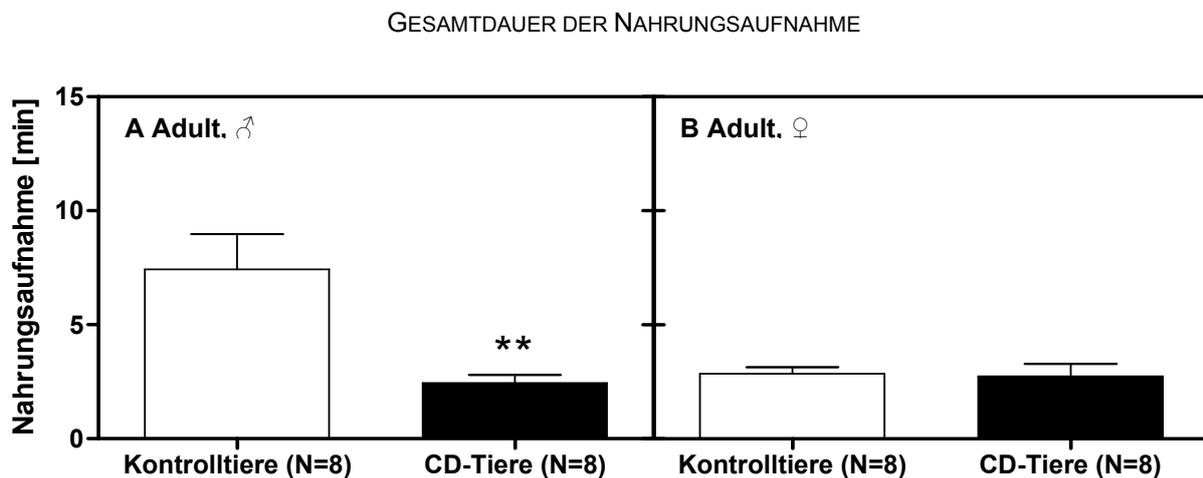
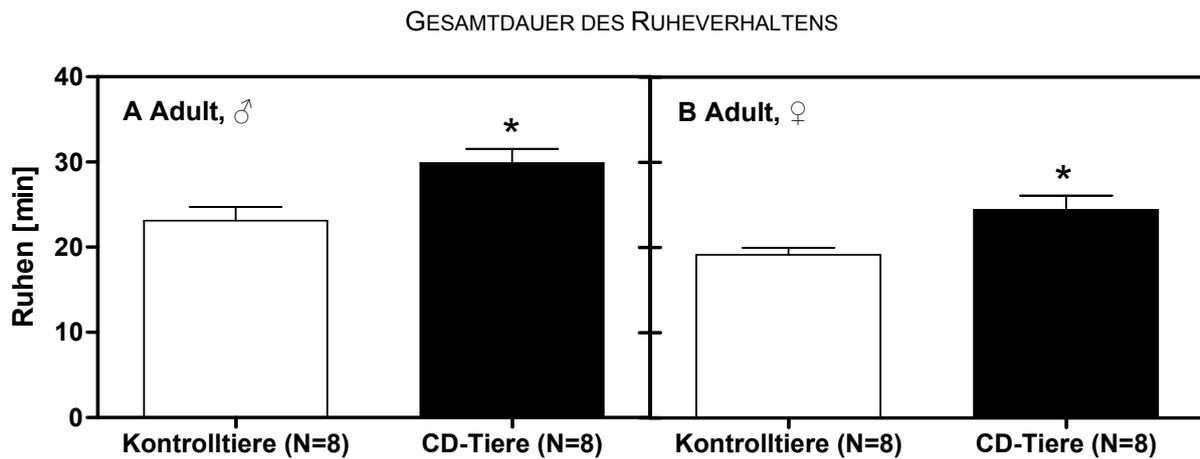
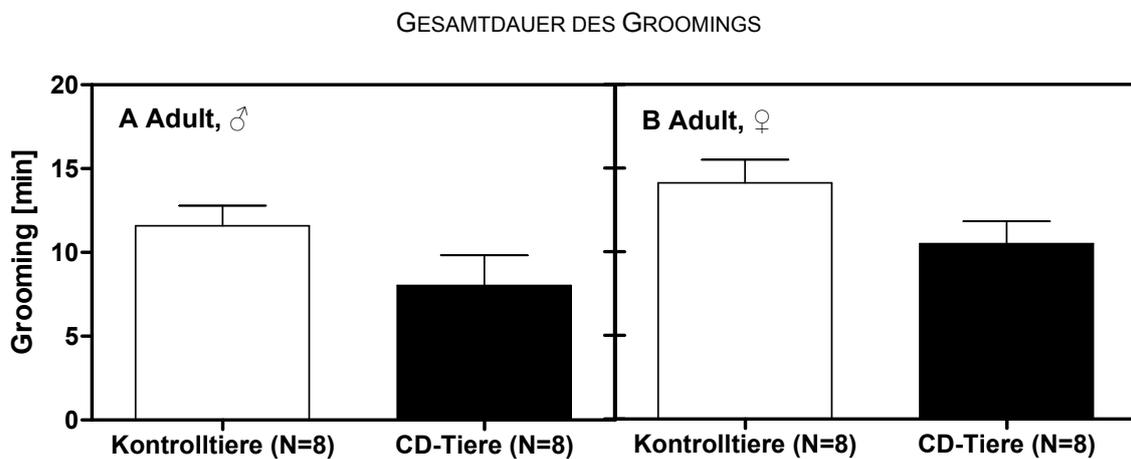


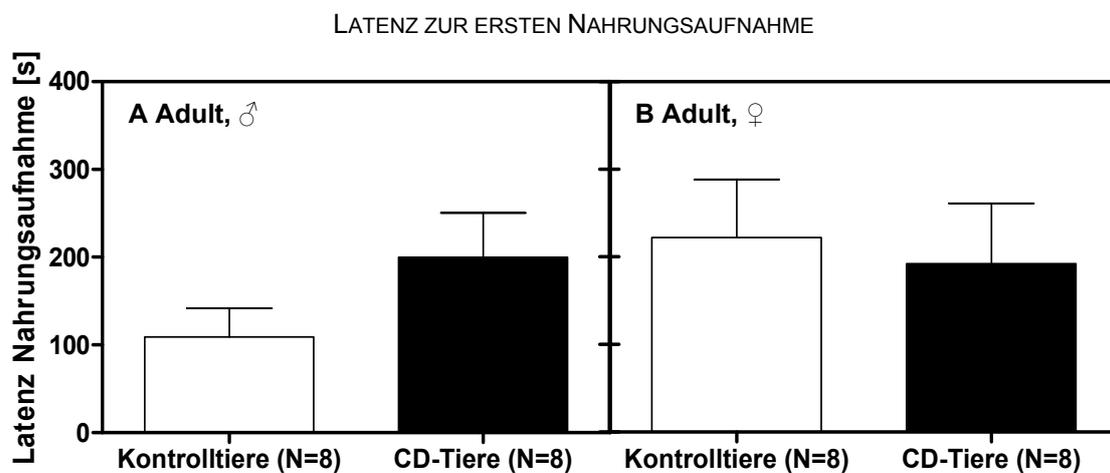
Abb. 3.45: Gesamtdauer [min] der Nahrungsaufnahme während der einstündigen Untersuchung zur BSS. A=Adulte Männchen, B=Adulte Weibchen. Student's *t*-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede sind mit \* gekennzeichnet (\*\* $p < 0,01$ ).



**Abb. 3.46:** Gesamtdauer [min] des Ruheverhaltens während der einstündigen Untersuchung zur BSS. A=Adulte Männchen, B=Adulte Weibchen. Student's *t*-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede sind mit \* gekennzeichnet (\**p*<0,05).

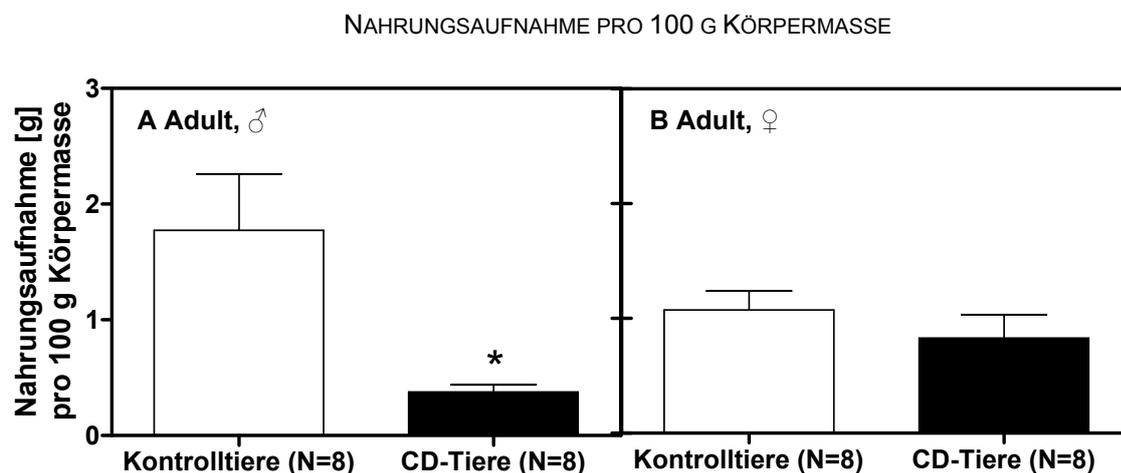


**Abb. 3.47:** Gesamtdauer [min] des Groomings während der einstündigen Untersuchung zur BSS. A=Adulte Männchen, B=Adulte Weibchen. Student's *t*-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM.



**Abb. 3.48:** Latenz [s] zur ersten Nahrungsaufnahme während der einstündigen Untersuchung zur BSS. A=Adulte Männchen, B=Adulte Weibchen. Student's *t*-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM.

Bei der Umrechnung der gesamten Menge der Nahrungsaufnahme auf 100 g Körpermasse zeigte sich ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen den männlichen Kontroll- und CD-Ratten. Die Kontrolltiere nahmen während der einstündigen Untersuchung deutlich mehr Nahrung zu sich als die CD-Tiere. Diese Differenz konnte bei den weiblichen Versuchstieren nicht beobachtet werden (Abb. 3.49A & B).



**Abb. 3.49: Nahrungsaufnahme [g] pro 100 g Körpermasse** während der einstündigen Untersuchung zur BSS. A=Adulte Männchen, B=Adulte Weibchen. Student's *t*-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrolltieren und CD-Tieren sind mit \* gekennzeichnet (\* $p < 0,05$ ).

Die mikrostrukturelle Analyse der BSS ergab bei beiden Geschlechtern einen signifikanten Einfluss der Zeit auf alle untersuchten Parameter. Anhand der zweifaktoriellen ANOVA mit Messwiederholungen konnte keine signifikante Interaktion der Parameter Zeit und Diät festgestellt werden. Die Diät beeinflusste bei den männlichen Tieren das Nahrungsaufnahmeverhalten [ $F_{1,191}=13,0$ ;  $p < 0,01$ ] und das Ruhen [ $F_{1,191}=9,8$ ;  $p < 0,01$ ], wohingegen bei den Weibchen lediglich das Putzverhalten von der Diät tendenziell beeinflusst wurde [ $F_{1,191}=3,2$ ;  $p=0,09$ ].

Die Abbildung 3.50A zeigt die typische Abfolge der BSS bei den männlichen Kontrolltieren mit vermehrtem Fressverhalten innerhalb der ersten 20 Minuten, begleitet von gehäuftem Putzverhalten und einem deutlichen Anstieg des Ruheverhaltens in der letzten halben Stunde. Die kürzere in die Nahrungsaufnahme investierte Zeit der CD-Tiere sowie das vorzeitige Einsetzen des Ruheverhaltens führten zu einem signifikant verfrühten Übergangspunkt von Nahrungsaufnahme zum Ruhen bei den CD-Ratten, was anhand eines Student's *t*-Tests ermittelt werden konnte ( $p < 0,01$ ) (Abb. 3.50B).

MIKROSTRUKTURELLE DARSTELLUNG DER BSS – MÄNNCHEN

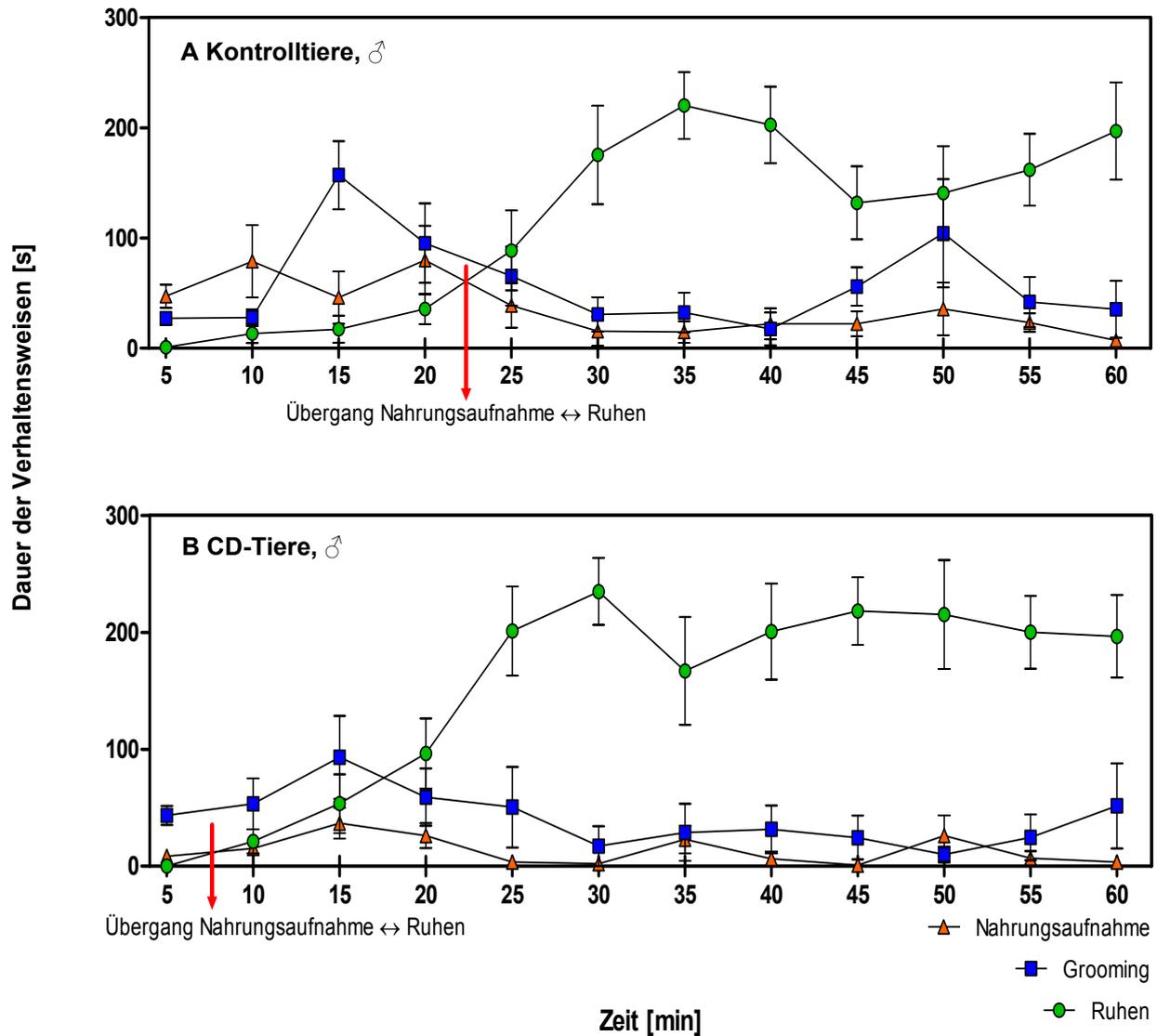
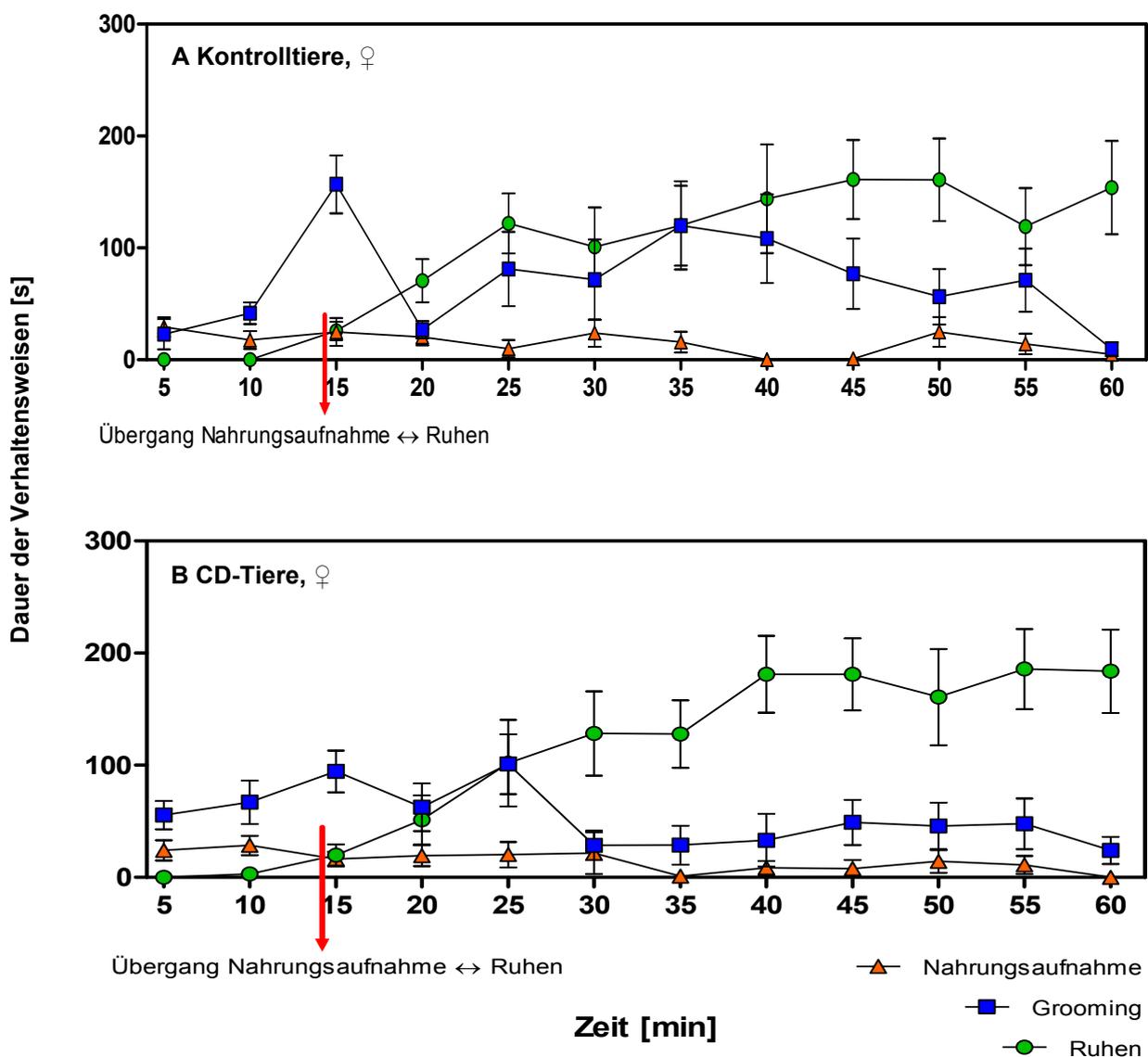


Abb. 3.50: Mikrostrukturelle Darstellung der Verhaltensparameter „Nahrungsaufnahme“, „Grooming“ und „Ruhen“ während der einstündigen Untersuchung zur BSS. A=Adulte, männliche Kontrolltiere, B=Adulte, männliche CD-Tiere. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM.

Bei den Weibchen war zu erkennen, dass sowohl die CD-Tiere als auch die Kontrollen gleich bleibend wenig Zeit in die Nahrungsaufnahme investierten. Der Übergang vom Nahrungsaufnahmeverhalten zum Ruhen ergab sich nach der ersten Viertelstunde. Ab diesem Zeitpunkt konnte ein Anstieg des Ruheverhaltens beobachtet werden. Das Putzverhalten war vornehmlich in den ersten 25 Minuten sichtbar, trat bei den Kontrolltieren jedoch auch in der zweiten Hälfte der Observationszeit vermehrt auf (Abb. 3.51A & B).

#### MIKROSTRUKTURELLE DARSTELLUNG DER BSS – WEIBCHEN



**Abb. 3.51: Mikrostrukturelle Darstellung** der Verhaltensparameter „Nahrungsaufnahme“, „Grooming“ und „Ruhen“ während der einstündigen Untersuchung zur BSS. A=Adulte, weibliche Kontrolltiere, B=Adulte, weibliche CD-Tiere. Zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen gefolgt vom Bonferroni's Multiple Comparison-Test. Dargestellt sind Mittelwerte und SEM.

#### **4 Diskussion**

Es bedarf der experimentellen Bestätigung, dass Überernährung neben den nachgewiesenen metabolischen Veränderungen Einfluss auf das Verhalten eines Individuums besitzt. Zu diesem Zweck wurden in der vorliegenden Studie Auswirkungen der Gabe einer hochkalorischen CD auf das Verhalten von SD Ratten untersucht. Ziel hierbei waren die Erzeugung einer diätinduzierten Fettleibigkeit und die Untersuchung der Auswirkungen auf verschiedene Aspekte des Verhaltens der Ratten, eingeschlossen des Nahrungsaufnahmeverhaltens, der Lern- und Gedächtnisleistungen sowie des angstassoziierten Verhaltens und der Exploration.

Eine Besonderheit dieser Arbeit liegt im Einschluss systematischer Untersuchungen der Faktoren Alter und Geschlecht innerhalb einer Studie. Die beständige Zunahme der Fettleibigkeit unter pubertierenden Jugendlichen und jungen Erwachsenen sowie die vorherrschende Prävalenz für Adipositas bei Menschen mittleren Alters (50 – 69 Jahre, Tab. 1.3), ließ den Schwerpunkt dieser Studie auf die Untersuchung männlicher und weiblicher jung adulter Tiere und Ratten von mittlerem Alter fallen. Anhand dieses vierteiligen Versuchsmodells wurden nebst den Effekten auf das Verhalten die Einflüsse der CD auf die Körpermasseentwicklung, die Glukoseverwertung, das Fettverteilungsmuster und die Blutfette überprüft.

Alle untersuchten Ratten, denen die CD zur Verfügung gestellt wurde, fraßen diese bevorzugt, was Konsequenzen für deren Körperfettzusammensetzung und Metabolismus hatte. Eine signifikante Massenzunahme des Fettgewebes aufgrund der erhöhten Energieaufnahme konnte in allen CD-Gruppen beobachtet werden. Auch die Glukosetoleranz wurde durch das Angebot der CD bei allen Ratten beeinträchtigt. Hinweise auf eine verminderte Insulinsekretion oder beginnende Insulinresistenz waren jedoch bei den adulten Tieren ausgeprägter, da hier der Glukoseabbau während eines oGTT verzögert ablief. Auch hinsichtlich der Körpermassezunahme und Blutfette waren die Effekte der CD bei den adulten Ratten ausgeprägter als bei den jung adulten. Bei den adulten Tieren resultierte die Verabreichung der CD in einem schnellen Anstieg der Körpermasse und erhöhten Blutfettwerten. Im Gegensatz dazu kam es bei den jung adulten CD-Gruppen beider Geschlechter durch die Gabe der CD erst zum Ende der Studie (♂) beziehungsweise gar nicht (♀) zu der Entstehung einer signifikant vermehrten Körpermasse.

Die Auswirkungen des Angebotes der CD auf das Angst- und Explorationsverhalten ließen eindeutige Effekte des Geschlechts erkennen, die im fortgeschrittenen Alter ausgeprägter waren. Im Vergleich zu den Kontrolltieren zeigten weibliche CD-Tiere weniger Anzeichen von Angst, wohingegen das angstassoziierte Verhalten bei den adulten, männlichen Ratten durch die Gabe der CD verstärkt wurde. Im NOD-Test konnte bei den CD-Ratten ein Lernprozess festgestellt werden, der bei den Kontrolltieren nicht beobachtet wurde.

#### **4.1 Einfluss der CD auf die Nahrungs- und Wasseraufnahme**

Die Gabe der CD hatte in allen Gruppen eine signifikante Reduktion der aufgenommenen Pellet- und Wassermenge zur Folge. Die verminderte Aufnahme der Standarddiät ist durch den zusätzlichen Verzehr der CD zu erklären. Die Wasseraufnahme wurde von den CD-Ratten um circa ein Drittel reduziert. Da die CD im Vergleich zu der Standarddiät verhältnismäßig viel Flüssigkeit enthielt und auf sehr salzhaltige Lebensmittel, die in anderen Studien Verwendung fanden (Sclafani & Springer, 1976), verzichtet wurde, geschah dies vermutlich in Anpassung hieran.

Durch das Angebot der CD wurden alle Ratten stimuliert, ihre Kalorienaufnahme zu erhöhen. In einer Studie von Shafat und Kollegen (2009) konsumierte eine männliche CD-Ratte  $431 \pm 16$  kJ pro Tag, während die tägliche Energieaufnahme einer Kontrollratte bei  $273 \pm 7$  kJ lag. Rechnet man diese Ergebnisse auf die wöchentliche Energieaufnahme von vier Tieren hoch, ergeben sich Werte von 7644 kJ bei den Kontrolltieren und 12068 kJ bei den CD-Tieren. Diese Werte sind mit denen der jung adulten, männlichen Ratten dieser Studie durchaus vergleichbar. Hier wurden bei den jung adulten, männlichen Kontrolltieren wöchentlich  $7948 \pm 281$  kJ pro Käfig aufgenommen; bei den jung adulten, männlichen CD-Tieren  $10999 \pm 127$  kJ (Abb. 3.5). Die Ermittlung der Energiezufuhr pro 100 g des Körpergewichtes der Tiere ergab, dass das Angebot der CD bei allen Tieren, außer den jung adulten Weibchen, eine signifikant vermehrte Energieaufnahme zur Folge hatte. Die Hypothese, das Angebot der CD würde zur signifikant vermehrten Kalorienaufnahme führen, konnte demnach für drei der vier untersuchten Gruppen bestätigt werden.

Bei den adulten CD-Ratten beider Geschlechter war ein konstanter Abfall der Energieaufnahme von Woche zu Woche erkennbar, der aus abnehmender Aufnahme der CD resultierte. Eine Erklärungsmöglichkeit hierfür besteht darin, dass über den gesamten Zeitraum der Studie das Angebot der CD für die adulten Tiere etwas an Reiz verloren haben kann. Wahrscheinlicher ist jedoch, dass diese Reduktion auf einen Regulationsmechanismus

zurückzuführen ist, welcher der schnell ansteigenden Körpermasse der adulten Tiere durch gedrosselte Nahrungsaufnahme entgegensteuert und eine weitere Entwicklung von Übergewicht verhindert (Archer *et al.*, 2004).

Im Vergleich zu den Kontrolltieren zeigten die CD-Ratten eine um mehr als drei Viertel reduzierte Aufnahme von Proteinen. Während der Proteingehalt des Standardfutters bei 33 % lag, wurden mit der CD lediglich  $6,4 \pm 0,09$  % an Proteinen aufgenommen. Die CD-induzierte vermehrte Aufnahme von Fett stimmt mit Angaben aus der Literatur überein. In der oben beschriebenen Untersuchung von Shafat und Kollegen (2009) bestand die Energieaufnahme der männlichen CD-Ratten zu  $31,9 \pm 10,9$  % aus Fett; bei den jung adulten, männlichen CD-Tieren der vorliegenden Studie lag dieser Wert bei  $26,6 \pm 1,1$  %. Die vermehrte Fettzufuhr lässt sich durch den hohen Lipidanteil der angebotenen Lebensmittel erklären. Bei den adulten CD-Tieren war diese erhöhte Aufnahme von Fett stärker ausgeprägt als bei den jung adulten. Die zugeführte Menge an Kohlenhydraten war bei den jung adulten CD-Ratten im Vergleich zu den Kontrolltieren erhöht, während sie bei den adulten CD-Tieren vermindert war. Dies lässt auf sich ändernde Geschmackspräferenzen mit einer Vorliebe für süße Lebensmittel im jungen Lebensalter und einer Präferenz für fetthaltige Lebensmittel mit zunehmendem Alter schließen. Auch Jean *et al.* (2002) beobachteten eine kontinuierlich ansteigende Präferenz für Fett mit zunehmendem Alter bei männlichen und weiblichen Wistar Ratten. Die Verschiebung der Präferenz von Kohlenhydrataufnahme zur vermehrten Fettzufuhr wurde bei den weiblichen Tieren bereits ab der 9. Lebenswoche, bei den männlichen Ratten ab der 12. Lebenswoche besonders prägnant.

## **4.2 Einfluss der CD auf den Metabolismus**

Vor allem in den adulten CD-Gruppen ergaben sich Hinweise darauf, dass das Angebot der CD die Entwicklung eines Metabolischen Syndroms mit gesteigerter Körpermasse, gestörter Glukoseverwertung, erhöhten Fettdepots und Blutfettwerten förderte. Aber auch bei den jung adulten Ratten in dieser Studie, bei denen Adipositas äußerlich noch nicht sichtbar wurde, fanden sich bereits Anzeichen, die auf einen beeinflussten Metabolismus hinweisen.

### **4.2.1 Körpermasse und Fettgewebe**

Das erste Ziel dieser Arbeit, mit Hilfe der CD eine signifikant stärkere Zunahme der Körpermasse hervorzurufen, konnte in den adulten Gruppen beider Geschlechter innerhalb

der ersten beiden Versuchswochen erreicht werden. Nach längerfristiger Gabe der CD wurde die Zunahme der Körpermasse im Vergleich zu den Kontrollen ebenfalls bei den jung adulten Männchen in der 7. und 8. Versuchswoche signifikant. Bei den jung adulten Weibchen bewirkte das Angebot der CD keine signifikante Vermehrung der Körpermasse. Dies steht im Einklang damit, dass in dieser Gruppe das Angebot der CD keine signifikant erhöhte Energieaufnahme pro 100 g Körpermasse zur Folge hatte.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie finden sich in der Literatur diverse Untersuchungen, welche die Entwicklung von Adipositas durch die Verabreichung einer CD bestätigen (Sahakian *et al.*, 1982; Shafat *et al.*, 2009), jedoch auch solche, bei denen die Gabe einer CD die Entstehung von Übergewicht verfehlte (Brooks *et al.*, 1980). Rothwell und Stock (1981) nahmen an, dass ein kleiner Teil der vermehrt aufgenommenen Energie dazu verwendet wird, Verdauung, Absorption und Verwertung der zusätzlich aufgenommenen Nahrung aufrecht zu erhalten. Der größere Anteil der überschüssigen Energie gehe jedoch aufgrund von diätinduzierter Thermogenese (DIT) „verloren“ (Moore, 1987). Diese Form von Wärmeproduktion geht auf das braune Fettgewebe zurück, dessen Zellen in der Lage sind, durch Oxidation von FS Wärme zu produzieren. Das Nichtzustandekommen von Übergewicht ist folglich auf das Phänomen der DIT zurückzuführen, bei der überschüssige Energie in Form von Wärme abgegeben wird, anstatt sie als Fettmasse zu speichern. Sahakian *et al.* (1982) stellten fest, dass Untersuchungen, bei denen die Gabe der CD zu einer erfolgreichen Steigerung der Körpermasse führte, vornehmlich mit adulten Ratten durchgeführt wurden, wohingegen das Nichtzustandekommen von Übergewicht meist bei jüngeren Tieren zu beobachten war. Diesen deutlichen Einfluss des Alters bei der Ausprägung der Körpermasse nach Gabe der CD zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit gleichermaßen. Neben individuellen Unterschieden in der Nahrungsverwertung scheint demzufolge eine erhöhte metabolische Wärmeproduktion bei jüngeren Individuen zu einer geringeren Körpermasseszunahme zu führen. Hierfür spricht die prinzipiell vermehrte braune Fettmasse bei den jung adulten Tieren im Vergleich zu den adulten. Bei älteren Individuen führt die eingeschränkte metabolische Wärmebildung zu einer verringerten Energieabgabe, was bei einer konstant hohen Energieaufnahme zwangsläufig zu einer Vermehrung der Energiespeicherung in Form von Fett führen muss.

Auch Volkow und Wise (2005) betonten die Tatsache, dass ein im Überfluss vorhandenes Angebot fetthaltiger Nahrung nicht zwangsläufig zu der Entstehung von Adipositas führen muss. Bei jungen Ratten, die mit einer hochenergetischen Diät gefüttert werden, senkt sich

charakteristischerweise die metabolische Effizienz in Abhängigkeit von der aufgenommenen Nahrung, was dazu führt, dass sie weniger an Körpermasse zunehmen als die erhöhte Energieaufnahme erwarten lassen würde (Levin *et al.*, 1986). Dementsprechend war die gesteigerte Energiezufuhr bei den jung adulten CD-Ratten dieser Studie, die jedoch nicht in einer drastischen Gewichtszunahme resultierte, energetisch weniger effizient als die durch die Standarddiät aufgenommene Energie. Pro verzehrtem kJ nahmen die jung adulten CD-Tiere demnach weniger zu als deren Kontrollen. Bei den adulten Tieren war dieses Verhältnis umgekehrt. Im Vergleich mit der Standarddiät hatte die Energie der CD eine höhere Effizienz. Die Unterschiede in der metabolischen Wärmeproduktion sowie in der energetischen Effizienz der Nahrung erklären den in dieser Studie beobachteten unmittelbaren Anstieg der Körpermasse bei den adulten CD-Tieren und begründen, weshalb es bei den jung adulten CD-Ratten erst zum Ende der Untersuchungen (♂) beziehungsweise gar nicht (♀) zu einer Entstehung von Übergewicht kam. Ein weiterer Faktor, der in die Körpermasseregulation eines Individuums eingreifen kann ist die lokomotorische Aktivität, welche im Abschnitt 4.3.1 diskutiert wird.

Eine Massenzunahme des Fettgewebes aufgrund der vermehrten Energieaufnahme konnte in allen CD-Gruppen beobachtet werden, was anhand der signifikant erhöhten Adipositas-Indizes verdeutlicht wurde. Hierbei war das viszerale Fettgewebe am stärksten betroffen. Die schnelle Vergrößerung der Fettdepots erscheint vor allem aufgrund des Hintergrunds schlüssig, dass der Ansatz von größeren Fettreserven sich im Laufe der Evolution nicht als krankhafte Erscheinung, sondern als eine wichtige Überlebensstrategie entwickelt hat.

Die beobachtete Zunahme der Fettmasse aufgrund des Angebotes der CD deckt sich mit diversen Angaben aus der Literatur (Brooks *et al.*, 1980; Sahakian *et al.*, 1982; Archer *et al.*, 2004; Sinitskaya *et al.*, 2007) und erscheint aufgrund der erhöhten Energieaufnahme und Fettzufuhr nachvollziehbar. Sowohl Hyperplasie (Björntorp & Sjöström, 1979; Tulp *et al.*, 1982) als auch Hypertrophie (Levin *et al.*, 1985; Rodriguez *et al.*, 2001; Bayol *et al.*, 2005) des Fettgewebes konnten aufgrund des Angebotes einer hochenergetischen Diät nachgewiesen werden. In den jung adulten CD-Gruppen beider Geschlechter steht die Vergrößerung des Fettgewebes jedoch im Widerspruch zu der kaum (♂) oder nicht (♀) vorhandenen Steigerung der Körpermasse im Vergleich zu den Kontrolltieren.

Brooks *et al.* (1980) konnten durch die Gabe einer CD gleichsam eine Vermehrung von Fettgewebe bei Nichtvorhandensein einer Körpermassenzunahme beobachten und erklärten dies anhand des oben beschriebenen Phänomens der DIT, die bei jungen Individuen effektiver

zu sein scheint als bei alten. Dennoch bleibt ungeklärt, warum die jung adulten CD-Tiere im Vergleich zu den Kontrollen eine schwerere Fettmasse besaßen, wohingegen sich die Körpermassen erst zum Ende der Studie (♂) oder gar nicht (♀) signifikant voneinander unterschieden. Es ergibt sich die Frage, welches Gewebe oder welche Substanz als Konsequenz der Fettzunahme reduziert wurde. Möglicherweise ist eine Abnahme von Organewebe oder Muskelmasse verantwortlich für das annähernd gleich bleibende Körpergewicht bei gleichzeitig schwererer Fettmasse in den jung adulten CD-Gruppen (Mittelman *et al.*, 2000; Archer *et al.*, 2004; Bayol *et al.*, 2005). Einen weiteren Erklärungsansatz bietet der Zusammenhang von Ernährung, Übergewicht und Diabetes mellitus Typ 2 mit der Knochendichte und dem Knochenwachstum (Mollard *et al.*, 2005). In der Literatur sind Hinweise darauf zu finden, dass eine Modifikation aufgenommener Mikro- (Hunt *et al.*, 1988) und Makronährstoffe (Yoon & Hwang, 2006) die Knochenstärke und -dichte von Ratten beeinflussen kann. Mit der Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 assoziierte Veränderungen im Stoffwechsel wie Hyperinsulinämie, Hyperglykämie und Glukoseintoleranz können die Ossifikation bei juvenilen Individuen sowie die Beschaffenheit der Knochensubstanz im adulten Organismus negativ beeinflussen (Sparks *et al.*, 1998). Hierbei konnten Hyperinsulinämie mit der Beeinträchtigung des Knochenwachstums, Hyperglykämie mit einer reduzierten Knochendichte in Zusammenhang gebracht werden (Prisby *et al.*, 2008). Inwieweit sich diese nachteiligen Effekte auf die Knochensubstanz der in dieser Studie verwendeten jung adulten CD-Tiere ausgewirkt haben, bleibt ungeklärt. Sie bieten jedoch einen plausiblen Erklärungsansatz, da bei diabetischen, nicht übergewichtigen Individuen bereits eine reduzierte Knochendichte sicher nachgewiesen werden konnte (Buyschaert *et al.*, 1992).

#### 4.2.2 Oraler Glukose Toleranz-Test und Blutfette

Im oGTT wichen die Nüchternblutglukosewerte der CD-Ratten in keiner Gruppe signifikant von jenen der Kontrolltiere ab, wohingegen die Glukoseverwertung während des oGTT in allen vier CD-Gruppen beeinträchtigt war (Brandt *et al.*, 2010). Bei den adulten Tieren waren die Anzeichen für eine verminderte Insulinsekretion oder beginnende Insulinresistenz ausgeprägter, da hier der Abbau der Glukose verzögert ablief und 120 Minuten nach der Glukosegabe die Blutglukosekonzentration im Vergleich zu den Kontrolltieren signifikant erhöht blieb. Vermutlich hemmte ein durch die erhöhte Nahrungsaufnahme angestiegener Leptinspiegel bei den CD-Tieren die Insulinsekretion durch Öffnen von K<sup>+</sup>-Kanälen in den

pankreatischen  $\beta$ -Zellen. Bei den adulten, männlichen CD-Ratten war die Blutglukosekonzentration am Ende des Tests sogar im Vergleich zum Nüchternblutglukosewert noch signifikant erhöht, was eine Insulinresistenz umso wahrscheinlicher macht. Hinweise auf die Abhängigkeit vom Alter bei der Entstehung einer Insulinresistenz konnten durch diese Ergebnisse weiter gestützt werden (Bracho-Romero & Reaven, 1977). Die CD-Männchen beider Altersstufen wiesen direkt nach der Glukosegabe einen rapideren Anstieg der Glukosekonzentration im Vergleich zu den Kontrolltieren auf. Dies kann eine Folge von Modifikationen in der Expression der Glukosetransportproteine aufgrund der Diät sein. Bei Ratten mit diätinduzierter Adipositas konnte ein Anstieg der Expression des insulinunabhängigen Glukosetransporters Typ 2 (GLUT2) (Hyland *et al.*, 2010) und eine leptinabhängige Reduktion der Expression des Natrium/Glukose-Cotransporters 1 (SGLT1) (Ducroc *et al.*, 2005) festgestellt werden.

Die Kombination familiärer Disposition sowohl für Adipositas, für Diabetes mellitus Typ 2 als auch für eine herabgesetzte Insulinempfindlichkeit mit reichlicher Nahrungszufuhr und unzureichender Bewegung (siehe Abschnitt 4.3.1) führt zu einem Missverhältnis von Energiezufuhr und Energieverbrauch und steigert die Konzentration von Triglyceriden und freien FS im Blut, was wiederum die Glukoseverwertung im Muskel- und Fettgewebe stört (Bouanane *et al.*, 2009). Die Blutfettwerte der adulten CD-Ratten beider Geschlechter, deren Gehalt an Triglyceriden und freien FS signifikant erhöht war, fügen sich passend in diese Aussage ein. Tendenziell konnte dies ebenso bei den jung adulten, männlichen CD-Tieren bestätigt werden. Das erhöhte Angebot freier FS kann in der Leber zu einer verzögerten und verminderten Insulindegradierung und somit zu einer peripheren Hyperinsulinämie führen. Erhöhte freie FS interferieren aber auch direkt mit der Insulinwirkung und können die Glukoseaufnahme in der Muskulatur stören, was wiederum die Ausbildung einer Insulinresistenz begünstigt. Generell nimmt der Plasmaspiegel der Blutfette mit dem Alter zu (Huffman & Barzilai, 2009) und ist durch Ernährung schneller beeinflussbar, was durch die vorliegende Studie bestätigt werden konnte.

Cholesterol ist ein lebenswichtiges Lipid und ein wichtiger Bestandteil der Plasmamembran, wo es zusammen mit Proteinen an der Ein- und Ausschleusung von Signalstoffen beteiligt ist. Die Höhe des Cholesterolspiegels hängt vor allem von der körpereigenen Produktion ab und erst in zweiter Linie von der Zufuhr über die Nahrung. Signifikant erhöhte Cholesterolspiegel ergaben sich in dieser Untersuchung bei den jung adulten CD-Männchen sowie adulten CD-Weibchen. Letzteres konnte ebenso in einer Studie von Bouanane und Kollegen (2009)

festgestellt werden, in der weibliche Wistar Ratten vor, während und nach der Trächtigkeit mit einer CD gefüttert wurden. Die langfristige Gabe der Diät hatte einen signifikanten Anstieg der Cholesterol- und Triglyceridwerte zu den Messzeitpunkten um die Entbindung sowie zum Ende der Laktationsphase zur Folge.

#### 4.2.3 Diskussion der Ergebnisse der metabolischen Untersuchungen

Wie in vorangegangenen Studien schon mehrfach beschrieben, hatte das Angebot der CD eine erhöhte Nahrungsaufnahme zur Folge (Shafat *et al.*, 2009). Diese erhöhte Energiezufuhr erklärt die signifikant vermehrte Körpermassenzunahme bei den jung adulten CD-Männchen sowie den adulten CD-Tieren beider Geschlechter. Der Anstieg der Körpermasse war mit einer Vermehrung der Fettdepots assoziiert, was die Adipositas fördernden Eigenschaften der CD belegt. Auch die durch das Angebot der CD erhöhten Blutfettwerte und die Abweichungen in der Glukoseverwertung finden Bestätigung in weiteren Publikationsdaten (Bouanane *et al.*, 2009).

Bei den jung adulten Weibchen konnte keine signifikant vermehrte Energieaufnahme pro 100 g Körpermasse festgestellt werden. Trotz des ausbleibenden diätbedingten Anstiegs der Körpermasse war die Fettmasse der jung adulten CD-Weibchen im Vergleich zu den Kontrolltieren signifikant vermehrt. Dies spricht für die Bildung einer relativen, beziehungsweise abdominalen Adipositas in dieser Gruppe. Bemerkenswert ist, dass es bei den jung adulten CD-Weibchen aufgrund von Kompensationsmechanismen nicht zu der Entstehung einer optisch sichtbaren Adipositas kommt, sich im Metabolismus der Tiere aber dennoch bereits Anzeichen, die den Beginn eines Metabolischen Syndroms anzeigen, finden.

Die einleitend vorgestellten Hypothesen

- das Angebot der CD verursacht Hyperphagie,
- das Angebot der CD führt zu einer deutlichen Zunahme der Körpermasse,
- das Angebot der CD bewirkt eine verschlechterte Glukosetoleranz,
- das Angebot der CD resultiert in vermehrtem Fettgewebe,
- das Angebot der CD verursacht erhöhte Blutfettwerte,

konnten folglich für die adulten Individuen vollständig, für die jung adulten zum größten Teil bestätigt werden. Die Annahme, das Angebot der CD würde zu einer „ungesünderen“ Zusammensetzung von Makronährstoffen in der aufgenommenen Nahrung führen

(Galef, 1991), wurde anhand der drastischen Zunahme der Fettzufuhr und der deutlichen Abnahme der Proteinaufnahme zwar bekräftigt; ob hinsichtlich der Proteinaufnahme jedoch von einer Malnutrition gesprochen werden kann, bietet Diskussionspotential. In mehreren Studien wurde der Begriff Malnutrition bereits bei einem sechsprozentigen Proteingehalt in der Nahrung angewandt (Almeida *et al.*, 1993; Francolin-Silva & Almeida, 2004; Francolin-Silva *et al.*, 2006). Dies würde dafür sprechen auch in der vorliegenden Arbeit mit rund 6 % Proteinaufnahme in den CD-Gruppen von einer Malnutrition auszugehen. In einer Studie von Lieberman und Kollegen (2005), in der Ratten eine Diät mit vierprozentigem Proteingehalt verabreicht bekamen, wurde diese Bezeichnung jedoch nicht verwendet und lediglich von einer proteinarmen Ernährung gesprochen. Ein Goldstandard für die Definition der Malnutrition ist bis heute nicht vorhanden, was den Gebrauch dieses Ausdrucks schwierig erscheinen lässt (Hoffer, 2009). Fest steht jedoch, dass die Verwendung des Begriffes Malnutrition sich größtenteils nicht allein auf einen Proteinmangel bezieht, sondern meist im Zusammenhang mit einer energetischen Unterversorgung, einer negativen Energiebilanz, der Abnahme fettfreien Gewebes sowie einer Gewichtsreduktion steht (Meijers *et al.*, 2010). Da die CD-Ratten dieser Studie jedoch weitaus mehr Energie zu sich nahmen als die Kontrolltiere und keine Reduktion in der Körpermasse aufwiesen, wird in dieser Arbeit von dem Gebrauch dieses Terminus abgesehen.

Zusammengefasst ergeben sich Anzeichen für die Entwicklung eines Metabolischen Syndroms mit gesteigerter Körpermasse, gestörter Glukoseverwertung, erhöhten Fettdepots und Blutfettwerten vor allem in den adulten CD-Gruppen. Auch beim Menschen sind sowohl Männer als auch Frauen der Altersgruppen 50 – 69 Jahre am stärksten von Übergewicht und Adipositas betroffen (Tab. 1.3). Individuen mittleren Alters, egal ob Mensch oder Ratte, sind demzufolge für die Ausprägung von Übergewicht und hiermit assoziierten Komplikationen prädestinierter als jüngere.

Aber auch bei den jung adulten Ratten dieser Arbeit, bei denen Adipositas äußerlich noch nicht sichtbar ist, finden sich bereits Anzeichen, die auf einen beeinflussten Metabolismus hinweisen und möglicherweise den Beginn eines Metabolischen Syndroms kennzeichnen. Im Bezug auf den Menschen erscheint hier besonders besorgniserregend, dass nicht nur die stets anwachsende Anzahl an übergewichtigen und adipösen Jugendlichen von gesundheitlichen Konsequenzen ausgehen muss. Auch Jugendliche und junge Erwachsene, die aufgrund einer „westlichen“ Ernährungsweise nicht sichtbar fettleibig werden, müssen mit negativen Veränderungen im Metabolismus und assoziierten Komorbiditäten rechnen.

### 4.3 Einfluss der CD auf das Verhalten

Die metabolischen Untersuchungen ergaben, dass die Verhaltensteste im Anschluss mit jung adulten, nicht adipösen CD-Ratten mit signifikant vermehrtem Fettgewebe und moderaten Veränderungen im Metabolismus sowie mit adulten, übergewichtigen CD-Ratten mit deutlichen metabolischen Veränderungen und ebenfalls signifikant gesteigerter Fettmasse durchgeführt wurden. Aufgrund der Rolle des Fettgewebes als endokrines Organ ist eine Verhaltensbeeinflussung in allen vier CD-Gruppen denkbar. Bei den jung adulten Ratten sind die Effekte auf das Verhalten jedoch relativ gering. Hingegen werden die adulten Individuen aufgrund des Angebotes der CD deutlich im Verhalten beeinflusst und weisen einen offensichtlichen Geschlechtsdimorphismus auf. Ob die Verhaltensänderungen Adipositas zur Voraussetzung haben oder unabhängig hiervon entstehen, soll im folgenden Abschnitt geklärt werden.

#### 4.3.1 Lokomotorische Aktivität

Neben Hyperphagie und einer vermehrten Energieaufnahme gibt es weitere Faktoren, die in die Körpermasseregulation eines Individuums eingreifen. Hierzu zählt die motorische Aktivität, über welche ein Teil der aufgenommenen Energie wieder abgegeben wird. Die lokomotorische Aktivität eines Individuums wird durch die Modifikation interner Handlungsbereitschaft und exogener Stimuli bestimmt und durch das limbische und motorische System sowie die Basalganglien reguliert (Mogenson *et al.*, 1980). In einer Studie von Levin (1991), in der die motorische Aktivität männlicher SD Ratten während der Entwicklung einer diätinduzierten Adipositas untersucht wurde, konnte eine negative Korrelation zwischen der Körpermasse und der horizontalen Bewegung festgestellt werden. Ratten mit diätinduzierter Adipositas zeigten nach dreimonatiger Fütterung eine reduzierte lokomotorische Aktivität im Vergleich zu schlanken Tieren. Die vertikale Aktivität der Tiere war von der Körpermasse dabei unabhängig. Auch in der vorliegenden Studie wurde aufgrund der erhöhten Körpermassen in den adulten Gruppen eine Abnahme der Aktivität erwartet, welche jedoch nicht beobachtet werden konnte. Die jung adulten CD-Männchen zeigten keinerlei Abweichungen in der Gesamtaktivität zu den Kontrolltieren. Aufgrund der kaum erhöhten Körpermasse in dieser CD-Gruppe erscheint dies jedoch plausibel. Humanstudien zeigen, dass morbide Adipositas (Chirico & Stunkard, 1960), nicht jedoch eine leichte Form von Übergewicht, mit Bewegungsarmut verbunden ist (Tryon, 1987). Die CD-Ratten der

vorliegenden Studie hatten demzufolge nicht genug an Körpermasse zugenommen, um einen reduzierenden Effekt auf die Aktivität auszulösen. Warum die adulten CD-Ratten im Vergleich zu den Kontrolltieren im Allgemeinen sogar eine gesteigerte Gesamtaktivität im Heimatkäfig zeigten, kann im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden. Bei genauerer Betrachtung zeigt sich jedoch, dass die vermehrte Aktivität vornehmlich in der Dunkelphase auftrat, was durch eine vermehrte Fressaktivität der CD-Tiere erklärt werden kann.

Ein weiterer möglicher Erklärungsansatz besteht in der Beeinflussung des dopaminergen Systems. Bei Nagetieren ist hinsichtlich der lokomotorischen Aktivität vor allem die dopaminbedingte Signaltransduktion im NAc von Bedeutung, da eine erhöhte mesolimbische Neurotransmission zu einem Anstieg der lokomotorischen Aktivität führt (White *et al.*, 2006). Die mesolimbische dopaminerge Belohnungsbahn wird durch Nahrungsaufnahme angeregt und aufgrund von Abwandlungen der aufgenommenen Mikro- und Makronährstoffe beeinflusst. Anhand von Mikrodialyseuntersuchungen konnte bestätigt werden, dass es aufgrund von  $\omega$ -3-FS-Mangelernährung zur Hyperaktivität des mesolimbischen Systems kommt (Zimmer *et al.*, 1998).

#### 4.3.2 Angst- und Explorationsverhalten

Der EPM-Test gilt als gut untersuchtes Modell zur Erforschung angstassozierten Verhaltens bei Nagern, bei dem die neue Umgebung den angstausslösenden Stimulus darstellt. Dieser Test findet in der Evaluierung anxiolytischer oder anxiogener Pharmaka häufig Verwendung. Das Meiden der offenen Arme und das überwiegende Bewegen auf den geschlossenen Armen gelten hierbei als Anzeichen von Angst (Pellow *et al.*, 1985; Pellow & File, 1986).

Die Aufnahme der CD hatte bei den jung adulten Tieren beider Geschlechter im Vergleich mit den Kontrollen keinen Effekt auf das Verhalten im EPM. Bei den adulten CD-Ratten konnte hingegen eine Beeinflussung des Verhaltens mit einem deutlichen Geschlechtsdimorphismus beobachtet werden. Faktoren, die zu diesem unterschiedlichen Ergebnis geführt haben können, sind das Alter und die unterschiedliche Ausprägung der Körpermasse bei jung adulten und adulten CD-Tieren. In einer Studie von Chaouloff (1994) hatte die Körpermasse von adipösen und schlanken Zuckerratten jedoch keinen Einfluss auf die Ergebnisse im EPM-Test. Es erscheint daher wahrscheinlich, dass die Kombination der unterschiedlichen Faktoren Körpermasse und Alter zu der Entwicklung der Diskrepanz zwischen jung adulten und adulten Ratten führte.

Adulte, männliche CD-Ratten zeigten auf dem EPM im Vergleich zu den Kontrolltieren mehr Anzeichen von Angst. Die CD-Männchen wiesen im Vergleich mit den Kontrolltieren signifikant weniger Eintritte auf die offenen Arme auf. Dieses Ergebnis widerspricht der in der Literatur bereits mehrfach beschriebenen Anxiolyse aufgrund einer proteinarmen Ernährung (Almeida *et al.*, 1993; Francolin-Silva *et al.*, 2006, Rocinholi & Landeira-Fernandez, 2010). Bei den zitierten Studien wurde das Angstverhalten jedoch bei juvenilen Wistar Ratten, die bereits während der Laktation über die Muttermilch proteinarm versorgt wurden und bei denen dies mit einer Abnahme der Körpermasse assoziiert war, untersucht. In einer Studie von Liebermann *et al.* (2005) führte die elftägige Gabe proteinarmen Futters bei adulten, männlichen F344 Ratten ebenfalls zu reduziertem Angstverhalten im EPM, allerdings nur unter hyperthermen Versuchsbedingungen. Zu der Gewichtsentwicklung der untersuchten Tiere wurden in dieser Studie keinerlei Angaben gemacht, jedoch bestand zwischen der proteinarmen Diät (4 % Protein) und dem Standardfutter (20 % Protein) kein Unterschied in den weiteren Makronährstoffen (5-6 % Fett, 62-68 % Kohlenhydrate), so dass davon ausgegangen werden kann, dass es in dieser Studie bei den mangelernährten Tieren wahrscheinlich ebenfalls zu einer Gewichtsreduktion, in keinem Fall jedoch zu einem Anstieg der Körpermasse kam. Dies spricht dafür, dass in der vorliegenden Studie nicht die proteinarme Diät, sondern die Ausprägung der Adipositas mit dem Anstieg des Angstverhaltens im Zusammenhang steht. Diese Annahme stützend konnten Buchenauer *et al.* (2009) bereits feststellen, dass die Gabe einer hochkalorischen Diät, die in der Ausprägung einer diätinduzierten Adipositas resultierte, bei acht Wochen alten, männlichen F344 Ratten zu erhöhtem Angst- und Aggressionsverhalten führte. Darüber hinaus konnten bei diesen Ratten im Vergleich zu den Kontrolltieren erhöhte Corticosteronkonzentrationen im Blut nachgewiesen werden. Ein Anstieg der Corticosteronkonzentration wurde bereits mehrfach mit einer Verstärkung angstassoziierten Verhaltens in Zusammenhang gebracht (Mitra & Sapolsky, 2008). Auch Souza und Kollegen (2007) konnten durch die Gabe einer schmackhaften, energiedichten Diät einen Anstieg im Angstverhalten bei adulten, männlichen Wistar Ratten beobachten. Das Verhalten der Tiere im OF-Test wurde durch die viermonatige Gabe der zucker- und fettreichen Diät jedoch nicht beeinflusst. Auch in der vorliegenden Arbeit konnten bei den männlichen CD-Ratten beider Altersstufen im OF keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrollen festgestellt werden.

Die Ergebnisse der Untersuchungen der weiblichen Ratten dieser Studie zeigen ein entgegengesetztes Bild zu den Resultaten der männlichen Tiere. Im OF-Test wurden mehrere Unterschiede deutlich, die auf ein vermindertes Angstprofil der weiblichen CD-Tiere beider Altersstufen hinweisen. Bei den adulten CD-Weibchen war dies ebenso im EPM-Test zu beobachten. Grundlegende geschlechtsspezifische Unterschiede in Bezug auf angst-assoziiertes Verhalten konnten bei Nagetieren in verschiedenen Testsituationen bereits mehrfach erfasst werden (Beatty, 1979). Männliche Ratten entwickeln im Allgemeinen ein stärkeres angstassoziiertes Verhalten als weibliche, was an herabgesetzter Aktivität und vermehrter Defäkation im OF deutlich wird (Archer, 1975; Masur *et al.*, 1980). Auch im EPM-Test weist ein reduzierter Aufenthalt auf den offenen Armen bei männlichen Ratten auf ein erhöhtes Angstverhalten hin (Johnston & File, 1991; Imhof *et al.*, 1993; Lucion *et al.*, 1996). Diese geschlechtsspezifischen Unterschiede scheinen vom Alter der Tiere abhängig zu sein, da sie erst um den 60. Lebensstag auftreten (Masur *et al.*, 1980; Johnston & File, 1991; Imhof *et al.*, 1993). Fernandes *et al.* (1999) zeigten anhand einer Faktorenanalyse, dass die zwei Größen Angst und Aktivität bei männlichen und weiblichen Ratten im EPM-Test einen unterschiedlichen Stellenwert bei der Beeinflussung des Verhaltens besitzen. Während das Verhalten der Männchen vornehmlich von Angst beeinflusst wurde, war das Verhalten der Weibchen hauptsächlich vom Faktor Aktivität gekennzeichnet.

Neben den allgemeinen Geschlechtsunterschieden können sich Variationen aufgenommener Makronährstoffe auf das Verhalten der Tiere auswirken. In einer Studie von Prasad & Prasad (1996) wurde offenbart, dass die Gabe einer fettreichen Diät zu einer reduzierten Angstreaktion im EPM führte. Die Autoren nahmen an, dass der Grund für das reduzierte Angstverhalten in einer infolge des Verzehrs der fettreichen Diät entstehenden Reduktion des Corticotropin Releasing Hormons (CRH) liege. Auch Nakaishi *et al.* (1993) konnten Abnormalitäten in der CRH-Regulation bei adipösen Ratten feststellen. Die anxiogene Wirkung von CRH konnte sowohl in präklinischen als auch in klinischen Untersuchungen bereits nachgewiesen werden (Carrasco & Van de Kar, 2003). Es ist in Betracht zu ziehen, dass die fetthaltige, hochkalorische CD auch das Vorkommen des CRH bei den in dieser Studie untersuchten CD-Ratten beeinflusste und dass diese Beeinflussung bei den fettleibigen adulten CD-Weibchen am stärksten ausgeprägt war.

Das auf dem EPM und OF gezeigte Verhalten reflektiert neben angstassoziiertem Verhalten stets die Aktivität der untersuchten Tiere (Lister, 1987). Relevante Parameter zur Messung der Lokomotion sind die zurückgelegte Distanz und die Aufrichtebewegung sowie im EPM-Test zusätzlich die gezeigten Gesamteintritte. Hierbei muss beachtet werden, dass lediglich das Rearing die Aktivität unabhängig vom Angstverhalten widerspiegelt, während die Gesamteintritte und die zurückgelegte Distanz auch vom Angstverhalten der Tiere beeinflusst werden (Rodgers *et al.*, 1997). Im EPM-Test konnten bei allen untersuchten Ratten hinsichtlich der Parameter Gesamteintritte, zurückgelegte Distanz und Rearing keine signifikanten Unterschiede zwischen CD-Tieren und den Kontrollen festgestellt werden, was auf eine von der Diät unbeeinflusste Aktivität der Tiere hinweist. Im OF-Test wurde eine erhöhte zurückgelegte Distanz bei den weiblichen CD-Tieren beider Altersstufen beobachtet, die durch deren herabgesetztes Angstprofil bedingt sein kann, da die zurückgelegte Distanz vom Angstverhalten abhängig und ein reduziertes angstassoziiertes Verhalten mit einer erhöhten Lokomotion assoziiert ist (Cruz *et al.*, 1994). Die jung adulten, weiblichen CD-Ratten zeigten darüber hinaus eine vermehrte Anzahl von Rearings, was ebenfalls für eine erhöhte Aktivität der Tiere spricht.

#### 4.3.3 Lernen und Gedächtnis

Habituation ist eine Form nicht-assoziativen Lernens, die bei Säugetieren von hippocampalen Funktionen abhängig ist (Vianna *et al.*, 2000). Die Auswirkungen des Verzehrs der CD auf das Habitationsvermögen der Ratten wurden durch Wiederholen des OF-Tests am darauf folgenden Tag untersucht. Habituation ist charakterisiert durch eine Reduktion des explorativen und lokomotorischen Verhaltens (Leussis & Bolivar, 2006) und wird im OF-Test als eine Abnahme der zurückgelegten Distanz und der Aufrichtebewegung definiert (Gerhardt *et al.*, 1994; Schildein *et al.*, 2002).

Aufgrund verschiedener Hinweise aus der Literatur, in der eine proteinarme Versorgung (Lukoyanov & Andrade, 2000) und ein Defizit an  $\omega$ -3-FS (Moriguchi *et al.*, 2000; Greiner *et al.*, 2001) mit beeinträchtigten Lern- und Gedächtnisleistungen in Zusammenhang gebracht werden konnte, wurde die Hypothese aufgestellt, dass die CD-Tiere im Vergleich mit den Kontrollen ein schlechteres Habitationsvermögen aufweisen würden. Dieser Unterschied aufgrund der Diät konnte jedoch nicht festgestellt werden. Die jung adulten, männlichen sowie die adulten, weiblichen Kontroll- und CD-Ratten zeigten kein deutliches Habitationsvermögen am 2. Tag des OF-Tests, was eine verminderte Gedächtnisfähigkeit

und / oder ein beeinträchtigt Lernvermögen vermuten lässt. Eine tendenzielle (Kontrollen) beziehungsweise signifikante (CD-Tiere) Reduktion der zurückgelegten Distanz bei den jung adulten Weibchen sowie eine Abnahme der Anzahl der Aufrichtebewegungen bei den adulten Kontroll- und CD-Männchen am 2. Versuchstag des OF-Tests lässt in diesen Gruppen auf vorhandenes Habituationlernen schließen. In der Literatur ist ein reduziertes Explorationsverhalten bei Ratten, die ein und derselben Umgebung wiederholt ausgesetzt wurden, mehrfach zu finden und wird als Gedächtnisformation interpretiert (Thiel *et al.*, 1998; Leussis & Bolivar, 2006).

Da bei den weiblichen Tieren dieser Studie in der Gruppe der jung adulten Ratten ein Lerneffekt festzustellen war, der in der Gruppe der adulten Tiere nicht beobachtet werden konnte, kann hier ein altersabhängiger Rückgang von Gedächtnisleistungen vermutet werden. Dieser kann durch Degeneration oder Modifikation spezifischer Neuronenkomponenten und den Verlust von Signalsystemen, die für die Gedächtnisbildung notwendig sind, bedingt sein (Korol & Gold, 1998). Driscoll und Kollegen (2006) untersuchten in einer Studie an jung adulten (3 Monate), adulten (12 Monate) und alten (24 Monate) weiblichen Fischer Ratten den Zusammenhang zwischen dem Alter, dem Hippocampus und Gedächtnisleistungen. Die Autoren verwendeten hierfür eine Kombination aus Verhaltensversuchen, nicht-invasiver magnetischer Kernresonanztomographie und histologischen Untersuchungen *post mortem*. Im Vergleich zu den jung adulten Tieren zeigten sowohl die adulten als auch die alten Ratten ein verschlechtertes Erinnerungsvermögen bezüglich der am vorangegangenen Tag erlernten Position der Plattform im Morris Water Maze-Test. Neben diesem altersbedingten Rückgang von Gedächtnisleistungen konnten strukturelle Änderungen im Hippocampus festgestellt werden.

Der NOD-Test, entwickelt von Ennaceur und Delacour (1988), beruht auf der Gegebenheit, dass Nagetiere die Tendenz aufweisen, einen neuartigen Gegenstand intensiver als einen vertrauten zu untersuchen, unter der Voraussetzung, dass sie sich an den bekannten Gegenstand erinnern (Bevins & Besheer, 2006). Die Objektwiedererkennung im NOD-Test ist eine anerkannte Methodik, um Kurzzeitgedächtnisleistungen von Ratten zu evaluieren (Everts & Koolhaas, 1997) und ist gemeinhin mit den in Humanstudien gebräuchlichen Prüfmethode zur Objektwiedererkennung vergleichbar.

Da in Publikationsdaten eine Abhängigkeit der Gedächtnisleistungen vom Zeitintervall zwischen Trainingsphase und Testdurchlauf zu finden ist, wurden verschiedene Intervallzeiten zwischen Training und Test mit unbehandelten männlichen und weiblichen SD Ratten in Vorversuchen getestet. In der Literatur wurden Objektwiedererkennungen mit Intervallzeiten von bis zu drei Stunden beschrieben, wohingegen eine Intervallzeit von vier Stunden die Fähigkeit zur Differenzierung zwischen bekanntem und neuartigem Objekt unterbrach (King *et al.*, 2004; Sutcliffe *et al.*, 2007). Bei den weiblichen Ratten widersprechen die Ergebnisse der in dieser Studie untersuchten Intervallzeiten von 15, 30 und 60 Minuten diesen Angaben nicht, da die weiblichen Ratten bei allen untersuchten Intervallzeiten das neue Objekt signifikant länger explorierten als das vertraute. Die unbehandelten männlichen Ratten zeigten hingegen bei keiner der drei getesteten Intervallzeiten eine Differenzierung hinsichtlich des bekannten und des neuartigen Objekts. Diesen deutlichen Geschlechtsdimorphismus konnten Sutcliffe und Kollegen (2007) im NOD-Test ebenfalls beobachten. Weibliche Lister Hooded Ratten zeigten ein besseres Gedächtnis für die Objektwahrnehmung, während männliche in einem modifizierten NOD-Test, der vordergründig nicht die Objektwiedererkennung, sondern das räumliche Gedächtnis testete, den weiblichen Ratten überlegen waren. Dies begründet die schlechteren Resultate der männlichen Tiere dieser Arbeit, da hier die Objektwahrnehmung und nicht das räumliche Gedächtnis untersucht wurde.

Sowohl im Training als auch im Test verbrachten alle jung adulten Tiere grundsätzlich mehr Zeit mit der Objektinvestigation als die adulten. Eine allgemeine altersabhängige Reduktion des explorativen Verhaltens ist hierfür eine denkbare Erklärung. Die Gesamtexplorationszeit beider Objekte war beim Vergleich des Trainings- mit dem Testdurchlauf bei den adulten, weiblichen Kontrollen im Testdurchlauf signifikant vermehrt. Da in der Literatur eine Reduktion der objektgerichteten Exploration von der Trainings- zur Testphase als Folge von Habituation beschrieben wurde (King *et al.*, 2004), lässt dies auf eine fehlende Habituation der adulten, weiblichen Kontrolltiere schließen, was mit den Ergebnissen des 2. Versuchstages im OF harmoniert. Eine Identifizierung des neuartigen Objektes wurde bei allen CD-Tieren entweder signifikant (jung adulte Weibchen und adulte Männchen) oder tendenziell (jung adulte Männchen und adulte Weibchen) festgestellt. Keine Objektwiedererkennung konnte hingegen bei allen Kontrolltieren beobachtet werden. Lediglich die adulten, männlichen Kontrolltiere verbrachten tendenziell mehr Zeit mit der

Objektexploration des neuartigen Gegenstandes. Demzufolge scheint es, als habe bei den CD-Ratten ein Lernprozess stattgefunden, welcher bei den Kontrolltieren nicht eingetreten ist.

Die Diskussion der Lernverbesserungen aufgrund der CD liefert die Problematik, dass eingangs von beeinträchtigten Lern- und Gedächtnisleistungen bei den CD-Tieren ausgegangen wurde. Die Analyse von Studien, in denen ein negativer Effekt einer fettreichen Diät auf kognitive Funktionen festgestellt werden konnte, macht jedoch deutlich, dass diese Effekte aufgrund der Konzentration des Fettes in der Nahrung, aufgrund eines zusätzlichen Zuckerkonsums und aufgrund von umweltbedingten Einflüssen variieren können (Winocur & Greenwood, 2005). Eine Möglichkeit, weshalb die CD-Tiere bessere Gedächtnisleistungen zeigten als die Kontrollen, besteht in der Annahme, dass die CD als Umgebungsbereicherung (Enrichment) angesehen werden kann (Segovia *et al.*, 2009). Verschiedene Studien konnten bei Labortieren, die in einer komplexeren Umgebung (Zusatz von Tunneln, Plattformen, Laufrädern) gehalten wurden, Änderungen im Verhalten der Tiere sowie in verschiedenen Neurotransmittersystemen nachweisen (Rosenzweig & Bennett, 1996: cholinerges; Rasmuson *et al.*, 1998: serotonerges; Bowling *et al.*, 1993: dopaminerges; Mlynarik *et al.*, 2004: glutamerges System). Diese Angaben deuten darauf hin, dass Umgebungsbereicherungen Neurotransmittersysteme beeinflussen, die sich positiv auf Lern- und Gedächtnisleistungen ausüben können (Mora *et al.*, 2007). Ob die in dieser Arbeit angebotene CD als Enrichment gelten kann und aufgrund dessen einen positiven Effekt auf die Lernleistungen der Tiere ausübte, bleibt jetzt zu klären. Dafür spricht eine Studie von Winocur & Greenwood (2005), in der negative Effekte einer fettreichen Diät auf kognitive Leistungen bei jung adulten Ratten durch Enrichment reduziert werden konnten. Dagegen sprechen jedoch in unserem Labor durchgeführte Untersuchungen an männlichen SD und Wistar Ratten, bei denen komplexere Haltungsbedingungen nicht in einem verbesserten Habitationsvermögen resultierten (Winestone, 2008 - unpubliziert). Da die SD Ratten in der vorliegenden Studie derselben Zuchtlinie entstammten und die jung adulten Tiere im gleichen Alter wie eben genannte SD und Wistar Ratten getestet wurden, ist der Faktor Enrichment folglich eher auszuschließen. Eine weitere Hypothese für die schlechteren Lernleistungen der Kontrolltiere könnte darin bestehen, dass die Pelletdiät nicht optimal zusammengestellt ist, um bestmögliche Lerneffekte bei SD Ratten zu erreichen. Die industrielle Fertigung von Standardfutter zielt darauf hin, Labortiere auf einem adäquaten Niveau ohne Mängel zu ernähren, nicht jedoch Lernleistungen zu verbessern. Es ist durchaus möglich, dass es in Bezug auf Lernleistungen förderlichere Zusammensetzungen von Diäten gibt und dass die in dieser Studie verwendete

CD neben den negativen Effekten, die sie auf den Metabolismus hat, für das Lernen besser in der Nährstoffzusammensetzung ist.

Der Anstieg der Fettmasse bei den CD-Tieren bietet einen weiteren Erklärungsansatz für die besseren Lernleistungen dieser Ratten, da ein durch die erhöhte Nahrungsaufnahme und das vermehrte Fettgewebe angestiegener Leptinspiegel für Lern- und Gedächtnisfunktionen förderliche Effekte besitzen kann (Oomura *et al.*, 2010). Neben Leptin sezerniert das Fettgewebe als endokrines Organ jedoch noch viele weitere Adipozytokine wie Resistin, Apelin, Visfatin und Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (Henry & Clarke, 2008; Schulz *et al.*, 2010). Die Konzentrationen dieser Adipozytokine sind bei adipösen Organismen aufgrund des vermehrten Fettgewebes erhöht (Jackson & Ahima, 2006). Eine positive Korrelation zwischen der Vermehrung des Fettgewebes und dem Anstieg von TNF- $\alpha$  konnte bei fettleibigen Nagetieren und Menschen nachgewiesen werden (Moller, 2000; Ahima, 2005). TNF- $\alpha$  ist ein multifunktionaler Signalstoff mit komplexer Wirkungsweise, der neben apoptotischen Eigenschaften die Zellproliferation und Zelldifferenzierung anzuregen vermag. Neuroprotektive Eigenschaften gegen exzitotoxische, oxidative und ischämische Schäden konnten nachgewiesen werden (Figiel, 2008). Verschiedene Studien liefern Hinweise darauf, dass TNF- $\alpha$  die synaptische Plastizität modulieren und hierüber positive Effekte auf Lern- und Gedächtnisprozesse haben kann (Pickering *et al.*, 2005; Viviani *et al.*, 2007).

#### 4.3.4 Nahrungsaufnahme und Sättigung

Die BSS ist für diverse Sättigungsfaktoren bereits gut untersucht (Kirkham & Blundell, 1984: Naloxon; Tallett *et al.*, 2007: Rimonabant; Hodge *et al.*, 2008: AM 251; Tallett *et al.*, 2010: Sibutramin). Beispielsweise führte die Verabreichung des 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptor-Agonisten CP-94253 zu einer signifikant reduzierten Nahrungsaufnahme und einer Beschleunigung der Sättigung, während das strukturierte Verhaltensmuster der BSS bestehen blieb. Dies verdeutlicht die wichtige Rolle des 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptors bei der Regulierung des Nahrungsaufnahmeverhaltens und weist auf eine anorexigene Wirkung durch die selektive Aktivierung dieses Rezeptors hin (Halford & Blundell, 1996). Weniger gut untersucht ist die BSS für Abwandlungen bestimmter Diätbestandteile und Motivationsunterschiede zwischen verschiedenartig gefütterten Tieren.

Da die Effekte der CD in dieser Arbeit bei den adulten Individuen deutlich stärker ausgeprägt waren als bei den jung adulten, wurden die Untersuchungen zur BSS an den adulten Ratten vorgenommen. Die CD-Tiere beider Geschlechter ruhten während der einstündigen Untersuchungszeit signifikant länger als die Kontrolltiere. Dies erscheint verwunderlich, da die Untersuchungen der BSS zu Beginn der Dunkelphase stattfanden und die CD-Tiere bei den Aktivitätsmessungen im Heimatkäfig in der Dunkelphase deutlich aktiver waren als deren Kontrollen. Auch im OF war die zurückgelegte Distanz der adulten CD-Tiere im Vergleich zu den Kontrollen nicht signifikant reduziert. Möglicherweise hat bei den CD-Tieren im Vergleich zu den Kontrollen innerhalb der einstündigen Untersuchung eine schnellere Habituation an die ungewohnte Umgebung stattgefunden, was bei den Männchen durch die Daten des 2. Untersuchungstages im OF unterstrichen wird.

In Abb. 4.1 ist die strukturelle Abfolge der BSS unbehauelter männlicher Lister Hooded Ratten dargestellt (Rodgers *et al.*, 2010). Die mikrostrukturelle Analyse der BSS der in dieser Arbeit untersuchten unbehauelten männlichen SD Ratten zeigte eine Abfolge von vermehrtem Fressverhalten innerhalb der ersten 20 Minuten und einen deutlichen Anstieg des Ruheverhaltens in der letzten halben Stunde und ist mit der BSS aus Abb. 4.1 vergleichbar. Die BSS der männlichen Kontrolltiere kann folglich als typische BSS angesehen werden.

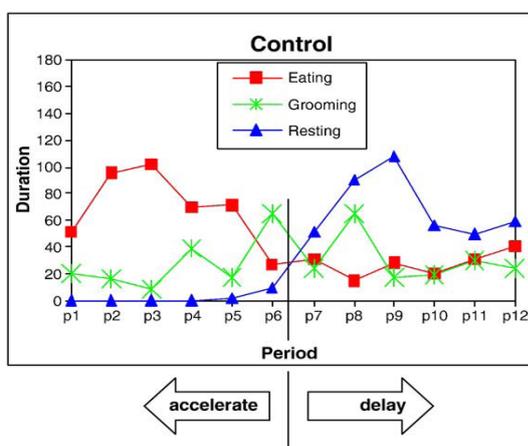


Abb. 4.1: Strukturelle Abfolge einer BSS unbehauelter männlicher Lister Hooded Ratten (N=10). Die horizontalen Pfeile verdeutlichen, dass der Übergangspunkt vom Nahrungsaufnahmeverhalten zum Ruhen durch Appetit zügelnde Substanzen nach links, durch Appetit stimulierende Substanzen nach rechts verschoben werden würde (aus Rodgers *et al.*, 2010).

Bei den männlichen CD-Tieren offenbarte die mikrostrukturelle Analyse der BSS eine kürzere Dauer der Nahrungsaufnahme und ein früheres Einsetzen des Ruheverhaltens, was zu einem vorzeitigen Übergangspunkt von Nahrungsaufnahme zum Ruhen (nach ca. 7,5 min) im Vergleich zu den Kontrolltieren (nach ca. 22,5 min) führte. In dem Review von Halford *et al.* (1998) werden verschiedene Faktoren diskutiert, die zu einer veränderten Struktur der BSS führen können. Der Faktor Hyperaktivität kann in dieser Arbeit ausgeschlossen werden, da

bei hyperaktiven Tieren kein verfrühtes Einsetzen des Ruhens vorzufinden wäre und dieses Verhalten nicht in so klassischer Art und Weise zum Ende der Untersuchung hin ansteigen würde. Auch Übelkeit kann als Einfluss verworfen werden, da keine Substanz, die zu Übelkeit führen könnte, verabreicht wurde. Eine Sedation der Tiere ist ebenfalls unwahrscheinlich, da starke Sedation eine komplette Desorganisation der BSS zur Folge hätte, während eine leichte Ermüdung zu einer verlängerten Fressperiode durch verlangsamte Nahrungsaufnahme und einem späteren Beginn der Ruhephase führen würde. Die Faktoren Schmackhaftigkeit und Vorfütterung (unmittelbare Nahrungsaufnahme vor der Untersuchung der BSS) müssen etwas genauer beleuchtet werden. Es erscheint möglich, dass der Pelletbrei auf die CD-Männchen weniger anregend wirkte als auf die männlichen Kontrolltiere. Ishii *et al.* (2003) beobachteten in ihrer Studie, dass eine Reduktion der Schmackhaftigkeit durch den Zusatz von Bitterstoffen zu einer nahezu kompletten Eliminierung des Ruheverhaltens der Tiere führte. Die CD-Ratten dieser Studie zeigten jedoch keine Reduktion, sondern eine Zunahme im Ruheverhalten. Allerdings stellten Ishii und Kollegen ebenso fest, dass die Zugabe von Saccharin zu einer Verschiebung des Übergangspunktes vom Nahrungsaufnahmeverhalten zum Ruhen nach rechts, also zu einem späteren Einsetzen des Ruheverhaltens führte. Bei der Übertragung dieser Feststellungen auf die Ergebnisse dieser Studie erscheint es möglich, dass der Pelletbrei, da dieser nicht bitter war, für die CD-Tiere zwar keinen aversiven Stimulus darstellte, auf die Kontrolltiere im Vergleich jedoch einen reizvolleren Effekt ausübte. Während der Pelletbrei für die Kontrolltiere einen Reiz des Neuen bot, war sie für die CD-Tiere, die über acht Wochen alternierend mit schmackhaften Lebensmitteln gefüttert wurden, möglicherweise weniger reizvoll. Es kann demnach von Motivationsunterschieden zwischen den CD-Tieren und Kontrolltieren aufgrund der vorab gefütterten Diät ausgegangen werden.

Eine direkte Fütterung der Tiere unmittelbar vor der Untersuchung der BSS (Vorfütterung) hat in dieser Arbeit nicht stattgefunden. Im Gegenteil wurden die Ratten sogar drei Stunden vor Versuchsbeginn futterdepriviert. Möglicherweise spielt der Faktor Vorfütterung jedoch im weiteren Sinne eine Rolle, da es denkbar erscheint, dass die CD-Tiere aufgrund ihrer achtwöchigen Ernährung höhere Leptinspiegel aufwiesen, welche sie grundsätzlich nicht mehr so hungrig sein ließen wie die Kontrolltiere. Es ist zu vermuten, dass die CD-Tiere die Nahrungsaufnahme nicht mehr mit dem Gefühl der Sättigung, sondern mit Belohnung verknüpften. Da der Pelletbrei dieses Empfinden bei den CD-Tieren jedoch nicht auszulösen vermochte, war er weniger begehrt als bei den Kontrolltieren. Warum dieser Unterschied

jedoch nur bei den männlichen und nicht bei den weiblichen Tieren festzustellen war, kann innerhalb dieser Studie nicht geklärt werden.

Bei den weiblichen Kontroll- und CD-Tieren konnte eine kürzere Dauer der in die Nahrungsaufnahme investierten Zeit sowie ein früheres Einsetzen des Ruheverhaltens im Vergleich zu den männlichen Kontrollen beobachtet werden. Hierdurch bedingt erscheint der Wechsel vom Nahrungsaufnahmeverhalten zum Ruheverhalten verfrüht. Jedoch sind in der Literatur ebenfalls Übergangspunkte vom Fressverhalten zum Ruhen nach einer Viertelstunde bei unbehandelten Ratten beschrieben worden (Halford *et al.*, 1998). Cooper *et al.* (2010) konnten bei weiblichen Wistar Kontrollratten einen Übergang von der Nahrungsaufnahme zum Ruheverhalten nach 25 Minuten beobachten.

#### 4.3.5 Diskussion der Ergebnisse der Verhaltensuntersuchungen

Das Verhalten der Ratten wurde durch das Angebot der CD in unterschiedlicher Art und Weise beeinflusst. Im Vergleich zu den Kontrolltieren wiesen die mit der CD gefütterten Ratten im Allgemeinen eine gesteigerte Gesamtaktivität im Heimatkäfig auf, welche sich bei genauerer Betrachtung vornehmlich auf die Dunkelphase konzentrierte. Die vermutete Abnahme der Aktivität aufgrund einer erhöhten Körpermasse konnte in dieser Arbeit folglich nicht bestätigt werden. Jedoch kann die gesteigerte Aktivität in der Dunkelphase durch eine vermehrte Fressaktivität der CD-Tiere erklärt werden.

Auf das Angst- und Explorationsverhalten der jung adulten, männlichen Tiere hatte die Gabe der CD keinerlei Effekt. Die jung adulten, weiblichen CD-Ratten zeigten im Vergleich zu den Kontrolltieren im OF-Test weniger Anzeichen von Angst, wohingegen im EPM-Test keine Beeinflussung des Verhaltens festgestellt werden konnte. Auch die adulten, weiblichen CD-Ratten wiesen im OF-Test ein reduziertes Angstverhalten im Vergleich zu den Kontrolltieren auf. Hier war dieser Effekt ebenfalls im EPM-Test zu beobachten. Im Gegensatz dazu zeigten adulte, männliche CD-Ratten auf dem EPM im Vergleich zu den Kontrolltieren mehr Anzeichen von Angst. Im OF konnten keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrollen festgestellt werden. Die unterschiedliche Beeinflussung des Angst- und Explorationsverhaltens lässt eindeutige Effekte des Geschlechts mit reduzierter Angst bei den weiblichen Tieren erkennen, die im fortgeschrittenen Alter ausgeprägter zu sein scheinen. Anhand einer Faktorenanalyse konnten Fernandes *et al.* (1999) belegen, dass das Verhalten

im EPM-Test bei Männchen vornehmlich von Angst, bei Weibchen vom Faktor Aktivität beeinflusst wurde.

Die Annahme, die Ratten würden aufgrund der CD schlechter mit Mikro- und Makronährstoffen versorgt sein, führte zu der Vermutung, dass die mit der CD gefütterten Tiere schlechtere Lern- und Gedächtnisleistungen aufweisen würden als die Kontrollen (Winocur & Greenwood, 2005). Diese Hypothese konnte anhand der in dieser Arbeit gesammelten Daten nicht bekräftigt werden. Hinsichtlich des Habitationsvermögens im OF gab es keine Effekte der Diät. Im NOD-Test schien es, als habe bei den CD-Ratten ein Lernprozess stattgefunden, der bei den Kontrolltieren nicht beobachtet werden konnte. Mögliche Erklärungsansätze für die Lernverbesserungen aufgrund der CD könnten sein: A) Die CD kann als Umgebungsbereicherung (Enrichment) angesehen werden. Aufgrund von an unserem Institut durchgeführten Untersuchungen an Ratten derselben Zuchtlinie und des gleichen Alters wird diese Möglichkeit jedoch als unwahrscheinlich betrachtet. B) Die Zusammensetzung der Pelletdiät der Kontrolltiere ist nicht optimal, um bestmögliche Lerneffekte zu erreichen. C) Die vom Fettgewebe sezernierten Adipozytokine besitzen neuroprotektive Eigenschaften.

Die mikrostrukturelle Auswertung der BSS ließ Motivationsunterschiede zwischen den männlichen CD-Tieren und Kontrolltieren aufgrund der vorab gefütterten Diät vermuten. Während die BSS der adulten, männlichen Kontrolltiere als eine typische Sättigungssequenz angesehen werden kann, offenbarte die mikrostrukturelle Analyse der BSS bei den männlichen und weiblichen CD-Tieren sowie weiblichen Kontrollen eine kürzere Dauer der Nahrungsaufnahme und ein früheres Einsetzen des Ruheverhaltens, was zu einem vorzeitigen Übergangspunkt von Nahrungsaufnahme zum Ruhen führte.

#### **4.4 Diskussion der Geschlechterdifferenzen**

Es ist bekannt, dass das Verhalten einer weiblichen Ratte abhängig vom Stand des sexuellen Zyklusses variieren kann. Aufgrund des sich regelmäßig verändernden hormonellen Statusses bei weiblichen Individuen wird angenommen, dass die Versuchsdurchführung mit weiblichen Ratten eine größere Variabilität der Ergebnisse als mit männlichen zur Folge hat. Darüber hinaus gibt es eine Anzahl von Reaktionen, bei denen sich die Durchschnittswerte von weiblichen und männlichen Tieren deutlich voneinander unterscheiden. So sind weibliche Ratten im Allgemeinen aktiver (Joseph & Gallagher, 1980) und scheinen weniger ängstlich (Fernandes *et al.*, 1999). Dies ließ sich durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit

bestätigen. Geschlechtsspezifische Unterschiede auf vielen Untersuchungsebenen, wie sie in der vorliegenden Arbeit festgestellt werden konnten, sprechen für eine unterschiedliche Sensitivität bei weiblichen und männlichen Ratten, bedingt durch Unterschiede in der Physiologie und im neuronalen Entwicklungsverlauf.

Der Einfluss geschlechtsspezifischer Hormone auf das Nahrungsaufnahmeverhalten und die Körpermasseentwicklung wurde bereits in den 70er Jahren untersucht (Wade, 1972; Bull *et al.*, 1974; Rowland *et al.*, 1980). Wade und Gray (1979) wiesen darauf hin, dass ovariale und testikuläre Steroide bedeutende Effekte auf die Körpermasseentwicklung und das Fettverteilungsmuster von Ratten besitzen. Während sich Östradiol und Testosteron reduzierend auf die Fettmasseakkumulation im Körper auswirken, wird die Bildung von Fettgewebe durch Progesteron stimuliert. Diese hormoninduzierten Abweichungen in Körpermasse und –komposition werden häufig von Unterschieden in der Nahrungsaufnahme und im Aktivitätsmuster der Tiere begleitet, was vermuten lässt, dass diese Hormone ebenfalls Einfluss auf das Verhalten der Tiere ausüben. Dieser Zusammenhang tritt jedoch nicht zwangsläufig auf (Toth *et al.*, 2001). Hervey und Hervey (1969) konnten feststellen, dass die Behandlung von gesunden weiblichen Ratten mit Progesteron zu einer signifikanten Körpermassezunahme führte, auch wenn sie an einer vermehrten Futtermittelaufnahme gehindert wurden. Sie demonstrierten folglich, dass ovariale Hormone das Körpergewicht beeinflussen können, ohne auf die Nahrungsaufnahme zu wirken, was die Annahme zuließ, dass die Änderungen des Fressverhaltens eher als eine Konsequenz des geänderten Fettmetabolismus zu sehen sind und nicht den Grund für die Körpermassezunahme darstellen.

Sexualhormone haben bedeutsame Effekte auf das Verhalten und den Gemütszustand von Individuen (Toufexis, 2007). In tierexperimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass weibliche Ratten weniger Anzeichen von Angst als deren männliche Artgenossen aufweisen (Palanza, 2001). Mit Bezugnahme auf den sexuellen Zyklus wurde deutlich, dass diese Reduktion im Angstverhalten vermehrt während des Proöstrus (hohe Level von Östrogen) und selten während des Diöstrus (niedrige Level von Östrogen) auftrat. So verbringen weibliche Ratten im Proöstrus mehr Zeit auf den offenen Armen des EPM als diöstrische (Frye *et al.*, 2000; Marcondes *et al.*, 2001). Dies lässt auf eine Abschwächung des Angstverhaltens aufgrund des hohen Niveaus von Östrogen schließen, welches an der Modulation verschiedener Neurotransmittersysteme beteiligt ist. Bei einer Vielzahl von Neurotransmittersystemen, eingeschlossen 5-HT, GABA und Acetylcholin, konnte ein deutlicher Geschlechtsdimorphismus nachgewiesen werden.

Auch hinsichtlich des Lernverhaltens konnte die Forschung der letzten Jahrzehnte die Annahme belegen, dass Sexualhormone die Fähigkeit besitzen, auf Regionen des Gehirns einzuwirken, die dem Lernen und Gedächtnis dienen. Die Mehrzahl der Untersuchungen fokussierte sich auf die neuroprotektiven Effekte von Östrogen auf kognitive Funktionen, da Östrogenrezeptoren in verschiedenen Arealen des Gehirns, eingeschlossen Amygdala, cerebraler Cortex, Cerebellum und Hippocampus, nachgewiesen werden konnten (Shughrue & Merchenthaler, 2000; Tsutsui *et al.*, 2004). Da davon auszugehen ist, dass sich die in dieser Studie untersuchten Weibchen zum Zeitpunkt der Verhaltensuntersuchungen nicht alle gleichzeitig im Proöstrus sondern in unterschiedlichen Phasen des sexuellen Zyklus befanden, ist der Einfluss der Sexualhormone als minimal zu betrachten.

#### **4.5 Diskussion der Altersdifferenzen**

Mit zunehmendem Alter ist ein charakteristischer Anstieg der Körpermasse und des Fettgewebes zu beobachten (Das *et al.*, 2004), bevor es zur altersbedingten Kachexie und somit zur Reduktion von Nahrungsaufnahme und Körpergewicht kommt (Thomas, 2007). Darüber hinaus ist eine spezielle Körperfettverteilung mit zunehmender viszeraler Fettmasse bei älter werdenden Individuen kennzeichnend (Huffman & Barzilai, 2009). Diese vermehrte viszerale Fettmasse konnte mit einem Anstieg freier FS im Blut in Verbindung gebracht werden (Björntorp, 1990). Durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit werden diese Angaben aus der Literatur bekräftigt.

In der vorliegenden Arbeit kann ein altersabhängiger Rückgang von Gedächtnisleistungen bei den weiblichen Versuchstieren vermutet werden. Am 2. Untersuchungstag im OF präsentierten die jung adulten, weiblichen Ratten ein intaktes Habitationsvermögen, während die adulten Weibchen keine Anzeichen von Habituation zeigten. Ein altersbedingter Gedächtnisverlust kann zum einen auf die Dezimierung spezifischer Neuronenkomponenten, zum anderen auf die Abwesenheit neuroendokriner Regulatoren und Signale zurückgeführt werden (Korol & Gold, 1998). In einer Studie von Driscoll *et al.* (2006) konnte an jung adulten (3 Monate), adulten (12 Monate) und alten (24 Monate) weiblichen Fischer Ratten der Zusammenhang zwischen Alter, Hippocampus und Gedächtnisleistungen aufgezeigt werden. Die 12 und 24 Monate alten Ratten zeigten neben einem altersbedingten Rückgang von Gedächtnisleistungen im Morris Water Maze-Test ein herabgesetztes hippocampales Volumen (reduzierter prozentualer Anteil vom intrakranialen Gesamtvolumen). Auch eine

altersbedingte Abnahme des Neurotransmitters Acetylcholin resultiert in verringerten Lernleistungen, da viele kognitive Prozesse an Acetylcholin als Botenstoff gebunden sind. Durch die Verabreichung von Cholin, dem Ausgangsstoff von Acetylcholin, kann dieser Gedächtnisverlust gemindert werden. Neben dem Einfluss zentraler Funktionen spielen auch physiologische Prozesse, zu denen der Glukosestoffwechsel gehört, bei der altersbedingten Reduktion kognitiver Fähigkeiten eine Rolle (Korol & Gold, 1998). Tierexperimentelle Studien belegen, dass die schädlichen Wirkungen einer gestörten Glukosetoleranz auf kognitive Funktionen mit zunehmendem Alter stärker werden (Lampont *et al.*, 2009).

Neben Gedächtnisleistungen sind auch weitere Verhaltensweisen vom Alter eines Individuums abhängig. Ferguson und Gray (2005) stellten anhand von Untersuchungen im EPM fest, dass sich mit zunehmendem Alter das Angstverhalten von SD Ratten erhöht. Dieser Effekt kann anhand der Ergebnisse dieser Studie nicht in dieser Deutlichkeit bestätigt werden. Im Vergleich zu den jung adulten Tieren wiesen die adulten Ratten im OF-Test zwar weniger Eintritte und eine reduzierte Aufenthaltsdauer im Mittelfeld auf, im EPM-Test zeigten sie jedoch mehr Eintritte auf die offenen Arme und verbrachten hier zudem mehr Zeit als die jung adulten Ratten. Interessanterweise stellten Ferguson und Gray innerhalb derselben Studie bei zwei weiteren Rattenstämmen eine Reduktion des Angstverhaltens mit zunehmendem Alter fest. Elf Wochen alte Wistar und SH Ratten verbrachten weniger Zeit auf den offenen Armen des EPM als elf Monate alte Artgenossen. Mit Bezugnahme auf eine Studie von Pisarska *et al.* (2000), in der männliche F344 Ratten einen Rückgang des Angstverhaltens erst ab einem Alter von 24 Monaten zeigten, verwiesen Ferguson und Gray auf Rattenstamm abhängige Unterschiede in der altersabhängigen Entwicklung des Angstverhaltens. Darwish und Kollegen (2001) konnten jedoch bei 3, 15 und 24 Monate alten männlichen Wistar Ratten einen Anstieg angstassozierten Verhaltens mit zunehmendem Alter feststellen, was den Angaben von Ferguson & Gray widerspricht. Die Autoren zeigten darüber hinaus, dass das Präsentieren von neuartigen Objekten kurz vor der Untersuchung im EPM unabhängig vom Alter zu einem reduzierten Angstverhalten der Tiere führte. Diese Studien legen die Komplexität des angstassozierten Verhaltens dar, indem sie aufzeigen, dass neben Rattenstamm und Alter viele weitere Faktoren wie Haltungsbedingungen, Ernährung, Handling und Enrichment Einfluss nehmen können.

#### 4.6 Schlussbetrachtung

In modernen Zivilisationen wird der Verzehr hochkalorischer, fett- und zuckerreicher Lebensmittel in Kombination mit einem bewegungsarmen Lebensstil längst mit der Entwicklung metabolischer und kardiovaskulärer Dysfunktionen in Zusammenhang gebracht (Schrauwen & Westerterp, 2000; Unger & Orci, 2001). Darüber hinaus ist Fettsucht häufig mit psychischen Störungen assoziiert (Becker *et al.*, 2001; Chakravarthy & Booth, 2004; Simon *et al.*, 2006; Teegarden & Bale, 2007). Anhand eines genetischen Tiermodells können Zusammenhänge dieser Art nicht gleichermaßen adäquat untersucht werden wie an einem diätinduzierten Tiermodell der Adipositas. Aus diesem Grund wurde sich in dieser Arbeit für die Verabreichung einer hochkalorischen CD entschieden.

Hinsichtlich der metabolischen Untersuchungen sind die gewonnenen Kernaussagen dieser Arbeit, dass sich Anzeichen für die Entwicklung eines Metabolischen Syndroms mit gesteigerter Körpermasse, gestörter Glukoseverwertung, erhöhten Fettdepots und Blutfettwerten vor allem in den adulten CD-Gruppen fanden. Adulte Individuen, egal ob Mensch oder Ratte, sind demzufolge für die Ausprägung von Übergewicht und hiermit assoziierten Komplikationen prädestinierter als jüngere. Bemerkenswerterweise konnten aber auch bei den jung adulten Ratten, bei denen es aufgrund von Kompensationsmechanismen nicht zu der Entstehung einer optisch sichtbaren Adipositas kam, bereits Anzeichen gefunden werden, die den Beginn eines Metabolischen Syndroms anzeigen. Bei der Übertragung dieses Ergebnisses auf den Menschen erscheint besonders bedenklich, dass nicht nur die anhaltend zunehmende Anzahl an fettleibigen Kindern und Jugendlichen mit Komorbiditäten rechnen muss. Auch Jugendliche, die aufgrund einer westlichen Ernährungsweise nicht sichtbar übergewichtig werden, müssen von negativen Veränderungen im Metabolismus und assoziierten gesundheitlichen Konsequenzen ausgehen, wenn sie unter Beibehaltung ihres Lebensstils erwachsen werden. Weitere physiologische Daten zur Bestätigung dieser Annahme wären die Untersuchungen der Insulin- und Leptinwerte. Es ist anzunehmen, dass die Gabe der CD auch auf diese einen negativen Einfluss hatte (Sinitskaya *et al.*, 2007; Bouanane *et al.*, 2009).

Die Verhaltensuntersuchungen wurden mit jung adulten, nicht adipösen CD-Ratten mit signifikant vermehrtem Fettgewebe und moderaten Veränderungen im Metabolismus sowie adulten, übergewichtigen CD-Ratten mit deutlichen metabolischen Veränderungen und ebenfalls signifikant gesteigerter Fettmasse durchgeführt. Bei den jung adulten Ratten waren

die Effekte auf das Verhalten relativ gering. Hingegen wurden die adulten Individuen aufgrund des Angebotes der CD deutlich im Verhalten beeinflusst und wiesen einen offensichtlichen Geschlechtsdimorphismus auf. Dies könnte vordergründig vermuten lassen, dass die Verhaltensänderungen Übergewicht zur Voraussetzung hatten. Bei genauerer Betrachtung ist jedoch anzunehmen, dass die Änderungen im Verhalten nicht per se von der Entwicklung einer Adipositas abhängen, sondern viel mehr durch die physiologischen Begleiterscheinungen, wie Konzentrationsunterschiede der vom Fettgewebe sezernierten Adipozytokine oder eine beeinträchtigte Glukosetoleranz und verminderte Insulinsekretion, bedingt waren. Die geringeren Veränderungen im Metabolismus bei den jung adulten Tieren führten demzufolge zu geringeren Verhaltenseffekten als die deutlichen Abweichungen im Metabolismus der adulten Ratten. Da die Zusammensetzung des Futters neben Effekten auf den Metabolismus auch zu Veränderungen der neuronalen Aktivität im Gehirn führen kann, ist anzunehmen, dass das Verhalten der in dieser Arbeit untersuchten Ratten ebenfalls durch Modifikationen der Synthese und Ausschüttung spezifischer Neurotransmitter beeinflusst wurde.

Auf neuronaler Ebene ist hinsichtlich der Aktivität von Nagetieren vor allem die dopaminbedingte Signaltransduktion im NAc von Bedeutung. Eine erhöhte mesolimbische Neurotransmission, die durch eine vermehrte Zufuhr schmackhafter Nahrungsmittel erreicht werden kann, führt zu einem Anstieg der lokomotorischen Aktivität. Auch durch die Verabreichung einer  $\omega$ -3-FS-defizienten Diät konnte sowohl bei Hamstern (Lavialle *et al.*, 2008) als auch bei Ratten (Levant *et al.*, 2004) eine Erhöhung der Aktivität nachgewiesen werden. Eine Hyperaktivität des mesolimbischen Systems aufgrund von  $\omega$ -3-FS-Mangelernährung wurde anhand von Mikrodialyseuntersuchungen bestätigt (Zimmer *et al.*, 1998). Möglicherweise haben auch in dieser Studie der Verzehr der CD und die Abwandlungen aufgenommener Mikro- und Makronährstoffe einen Effekt auf das dopaminerge System und die Aktivität der Tiere ausgeübt.

Auch auf kognitive Funktionen hat die Verfügbarkeit spezieller Nährstoffe essentiellen Einfluss. Eine Vielzahl wissenschaftlicher Veröffentlichungen beleuchtet die Effekte verschiedener Nährstoffe auf das Gehirn und seine Funktionen (Innis, 2008:  $\omega$ -3-FS; Buhusi *et al.*, 2008; Cheng *et al.*, 2008a, b: Cholin; Corniola *et al.*, 2008; Takeda *et al.*, 2008: Zink; Carlson *et al.*, 2008; Gewirtz *et al.*, 2008: Eisen; Palmer *et al.*, 2008: Protein). Diese Publikationen heben die Bedeutung hervor, zwischen den zugrunde liegenden Mechanismen einer kognitiven Beeinflussung zu unterscheiden. Hierzu zählen epigenetische Modifikationen (McGowan *et al.*, 2008), oxidativer Stress, Auswirkungen auf die Zellproliferation und den

Zelltod (Nag *et al.*, 2008; Wong-Goodrich *et al.*, 2008), Schädigungen der DNA sowie Beeinflussungen von Neurotransmitterkonzentrationen (Williams, 2008).

Die Bedeutungen spezifischer Nährstoffe für die Entwicklung von Gehirnfunktionen, kognitiver und mentaler Gesundheit und Prädispositionen für cerebrale Dysfunktionen sind heute in ersten Ansätzen erforscht und die Erkenntnisgewinnung darüber, wie Nährstoffe via Membran- und Rezeptormodulationen und Änderungen von Signalkaskaden das Verhalten eines Individuums beeinflussen, nimmt mehr und mehr zu. Häufig konzentrieren sich die Untersuchungen der molekularen Veränderungen auf den Hippocampus, der besonders empfindlich für Abwandlungen der Nahrung zu sein scheint (Williams, 2008). Die Erforschung der Zusammenhänge von Adipositas, veränderten Transmittersystemen und Effekten auf das Verhalten hat bisher jedoch nur unzureichend und in Ansätzen stattgefunden. Hierfür bietet die vorliegende Studie ein Fundament, um anknüpfende Arbeiten zur Untersuchung der Transmittersysteme oder zur Evaluierung potentieller Appetitzügler durchzuführen. Durch den erstmaligen Einschluss der Faktoren Alter und Geschlecht innerhalb einer Studie und die Unterschiede in den erlangten Ergebnissen bezüglich der Körpermasseentwicklung, der metabolischen Parameter sowie der Verhaltensänderungen wird deutlich, dass weiterführende Untersuchungen das komplette vierteilige Versuchsmodell (Männchen und Weibchen, jüngere und ältere Individuen) integrieren müssen, da sonst lediglich Teilinformationen erlangt werden, die zu falschen Interpretationen und Schlussfolgerungen führen können. Zusammenfassend liefert die vorliegende Studie einen wichtigen Beitrag zur Charakterisierung eines Rattenmodells mit diätinduzierten metabolischen Veränderungen und bietet neue Erkenntnisse über die Rolle von Alter und Geschlecht bei der Beeinflussung verschiedener Verhaltensprozesse durch eine hochkalorische Ernährung.

## **5 Zusammenfassung**

Adipositas als komplexes Krankheitsbild betrifft alle Bevölkerungsschichten und Altersgruppen. Es wird geschätzt, dass allein in Deutschland 17 % der Männer und 20 % der Frauen unter Fettleibigkeit (BMI > 30) und deren Begleiterscheinungen wie kardiovaskuläre und metabolische Erkrankungen, Fettstoffwechselstörungen, Diabetes mellitus Typ 2, Hypertonie und schwerwiegenden Schäden am Stütz- und Bewegungsapparat leiden. Genetische Tiermodelle sind geeignet, Hypothesen zur Entstehung der Adipositas beim Menschen zu überprüfen, da sie die Rolle einzelner Neurotransmitter und Hormone wie Leptin aufklären können.

Um der bedeutenden Rolle der Umwelt bei der Entwicklung von Übergewicht Rechnung zu tragen, war das Ziel dieser Studie, ein Modell zum Einsatz zu bringen, das nicht auf einem Gendefekt sondern auf einer Manipulation der Diät beruht. Da Alters- und Geschlechtsunterschiede häufig heterogene Ergebnisse bei identisch durchgeführten Untersuchungen bewirken, liegt eine Besonderheit dieser Arbeit im Einschluss systematischer Untersuchungen der Faktoren Alter und Geschlecht innerhalb einer Studie. Die zunehmende Verbreitung der Fettleibigkeit unter pubertierenden Jugendlichen und jungen Erwachsenen sowie die vorherrschende Prävalenz für Adipositas bei Menschen mittleren Alters (50 – 69 Jahre), ließ den Schwerpunkt dieser Studie auf die Untersuchung männlicher und weiblicher jung adulter (sechs Wochen) und adulter Ratten (zwölf Monate) fallen. Anhand dieses multifaktoriellen Versuchsmodells wurde der Einfluss einer Cafeteria-Diät (CD), die aus hochkalorischen, schmackhaften Lebensmitteln bestand, auf das Verhalten und metabolische Parameter bei Sprague-Dawley (SD) Ratten untersucht.

Nach vierwöchiger Verabreichung der CD zusätzlich zu den Standardpellets wurden alle Versuchstiere in Hinblick auf ihr Angst- und Explorationsverhalten sowie ihre Lern- und Gedächtnisleistungen im Elevated Plus Maze-Test (EPM), Open Field-Test (OF), Novel Object Discrimination-Test (NOD) sowie in einem Habituationstest untersucht. Des Weiteren fanden Analysen zur Behavioural Satiety Sequence (BSS) statt. Energiezufuhr sowie Gewichtszunahme wurden täglich dokumentiert. Am Ende der Versuche erfolgte die Durchführung eines oralen Glukose Toleranz-Tests. Abschließend wurden Blutproben zur Analyse der Blutfettwerte entnommen und das Fettgewebe präpariert.

Trotz ihrer erhöhten Energiezufuhr waren die jung adulten Ratten in der Lage, der Entwicklung einer Adipositas durch Kompensationsmechanismen entgegenzuwirken, während die adulten Ratten eine signifikant erhöhte Körpermasse aufwiesen. In allen CD-Gruppen war die viszerale Fettmasse signifikant erhöht und die Glukosetoleranz beeinträchtigt. Die Plasmawerte der Triglyceride und freien Fettsäuren waren bei den adulten CD-Ratten in stärkerem Maße erhöht als bei den jung adulten CD-Tieren. In den Verhaltenstests zeigten die männlichen CD-Ratten vermehrte Anzeichen von Angst, während die CD-Weibchen im Vergleich zu den Kontrollen ein reduziertes angstassoziiertes Verhalten aufwiesen. Dieser Geschlechtsdimorphismus war bei den adulten Tieren ausgeprägter als bei den jung adulten. Während die Lernleistungen im NOD-Test bei allen CD-Ratten höher als bei den Kontrollen lagen, waren im Habituationstest keine signifikanten Unterschiede feststellbar. Bei der Untersuchung der BSS zeigten die adulten, männlichen CD-Ratten ein verfrühtes Einsetzen des Ruheverhaltens, was zu einem vorgezogenen Übergangspunkt vom Nahrungsaufnahmeverhalten zum Ruhen führte.

Die Ergebnisse lassen einen deutlichen Effekt des Alters und des Geschlechts auf die Entwicklung der Körpermasse und die mit ihr verbundenen Begleiterscheinungen erkennen. Die diätinduzierten physiologischen Veränderungen gingen mit einem breiten Spektrum an Verhaltensänderungen einher. Durch die Integration der Faktoren Alter und Geschlecht und die Unterschiede in den erlangten Ergebnissen bezüglich der Körpermasseentwicklung, der metabolischen Parameter sowie der Verhaltensänderungen wird deutlich, dass anknüpfende Arbeiten das komplette vierteilige Versuchsmodell einschließen müssen, da es sonst zur Erlangung von Teilinformationen kommt, die zu irrtümlichen Schlussfolgerungen führen können. Zusammenfassend leistet die vorliegende Arbeit einen bedeutenden Beitrag zur Charakterisierung eines Rattenmodells mit diätinduzierten metabolischen Veränderungen und liefert wichtige Erkenntnisse über die Rolle von Alter und Geschlecht bei der Beeinflussung verschiedener Verhaltensprozesse durch eine hochkalorische Ernährung.

## **6 Summary**

Obesity affects a very broad level of the population. Approximately 17 % of German men and 20 % of German women suffer from obesity (BMI > 30) and its associated symptoms like cardiovascular and lipometabolic disorders, type-2-diabetes, hypertension and severe injury of the musculoskeletal system. Genetically manipulated animal models are suitable to study mechanisms of human obesity as they are particularly helpful to clarify the involvement of single neurotransmitters and hormones, as for example leptin.

Since diet induced obesity mimics the evolution of human obesity in a more lifelike way, the intention in this study was to use an animal model of obesity which is based on manipulations of the diet. Given that differences in age and gender often result in contradictory outcomes of similarly conducted tests, one distinct feature of this study is the inclusion of systematic examinations of age and gender. The increasing spread of obesity among adolescent youths and young adults as well as the predominating prevalence for obesity among middle-aged people (50 – 69 years) were the decisive factors to put the main focus on the examination of male and female young adult (six weeks) and adult rats (twelve months). On the basis of this multifactorial design the influence of a cafeteria diet (CD) consisting of high caloric, palatable food items on behaviour and metabolic parameters of Sprague-Dawley (SD) rats was examined.

After four weeks of feeding the CD additionally to standard chow, all animals were tested for their anxiety-related behaviour and learning abilities in the Elevated Plus Maze test (EPM), Open Field test (OF), Novel Object Discrimination test (NOD) and in a habituation trial. Additionally, the Behavioural Satiety Sequence (BSS) was analysed. Energy intake as well as body weight gain were documented daily and glucose tolerance was measured. At the end of the study fat tissue was dissected and blood samples were collected.

Despite their increased energy intake, younger rats were able to resist the development of obesity through compensatory mechanisms whereas adult rats showed an elevated body weight. In all groups fed with CD visceral fat mass was significantly enlarged and glucose tolerance was impaired. Plasma triglyceride and free fatty acids were distinctly more affected in the aged groups. Upon behavioural testing, male CD fed rats showed a higher anxiety-related behaviour whereas females seemed to be less anxious than chow fed controls. This discrepancy was again more pronounced in the older animals. When exposed to the NOD, all

CD fed rats showed better object recognition than controls while no differences could be found in the habituation trial. Regarding the BSS adult male CD-rats showed a premature initiation of resting behaviour leading to a precipitate transition point between feeding and repose.

The results show a considerable impact of age and gender on the development of obesity and its associated symptoms. Diet induced physiological changes were accompanied by a broad spectrum of behavioural changes. The integration of the factors age and gender and the different results regarding body mass development, metabolic parameters and behavioural changes reveal that following up studies must enclose the whole quadrinomial experimental model to avoid partial information which might lead to erroneous conclusions. Summing up this study makes an essential contribution to characterise a rat model with diet induced metabolic changes and provides important knowledge on the part of age and gender with regard to the influence of a high caloric diet on behavioural processes.

## **7 Literaturverzeichnis**

- Adam, T. C., E. S. Epel (2007) Stress, eating and the reward system. *Physiol Behav*, 91, 449-458.
- Adamantidis, A., L. de Lecea (2009) A role for Melanin-Concentrating Hormone in learning and memory. *Peptides*, 30, 2066-2070.
- Ahima, R. S. (2005) Central actions of adipocyte hormones. *Trends Endocrinol Metab*, 16, 307-313.
- Albright, C. D., C. B. Friedrich, E. C. Brown, M. H. Mar, S. H. Zeisel (1999) Maternal dietary choline availability alters mitosis, apoptosis and the localization of TOAD-64 protein in the developing fetal rat septum. *Brain Res Dev Brain Res*, 115, 123-129.
- Almeida, S. S., R. A. Garcia, L. M. de Oliveira (1993) Effects of early protein malnutrition and repeated testing upon locomotor and exploratory behaviors in the elevated plus-maze. *Physiol Behav*, 54, 749-752.
- Almeida, S. S., J. Tonkiss, J. R. Galler (1996a) Prenatal protein malnutrition affects the social interactions of juvenile rats. *Physiol Behav*, 60, 197-201.
- Almeida, S. S., J. Tonkiss, J. R. Galler (1996b) Prenatal protein malnutrition affects avoidance but not escape behavior in the elevated T-maze test. *Physiol Behav*, 60, 191-195.
- Almeida, S. S., J. Tonkiss, J. R. Galler (1996c) Prenatal protein malnutrition affects exploratory behavior of female rats in the elevated plus-maze test. *Physiol Behav*, 60, 675-680.
- Antalis, C. J., L. J. Stevens, M. Campbell, R. Pazdro, K. Ericson, J. R. Burgess (2006) Omega-3 fatty acid status in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 75, 299-308.
- Archer, J. (1975) Rodent sex differences in emotional and related behavior. *Behav Biol*, 14, 451-479.
- Archer, Z. A., D. V. Rayner, J. G. Mercer (2004) Hypothalamic gene expression is altered in underweight but obese juvenile male Sprague-Dawley rats fed a high-energy diet. *J Nutr*, 134, 1369-1374.
- Archer, Z. A., J. G. Mercer (2007) Brain responses to obesogenic diets and diet-induced obesity. *Proc Nutr Soc*, 66, 124-130.
- Armitage, J. A., P. D. Taylor, L. Poston (2005) Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development. *J Physiol*, 565, 3-8.
- Asakawa, A., A. Inui, H. Yuzuriha, T. Nagata, T. Kaga, N. Ueno, M. A. Fujino, M. Kasuga (2001) Cocaine-amphetamine-regulated transcript influences energy metabolism, anxiety and gastric emptying in mice. *Horm Metab Res*, 33, 554-558.
- Avena, N. M., M. E. Bocarsly, P. Rada, A. Kim, B. G. Hoebel (2008) After daily bingeing on a sucrose solution, food deprivation induces anxiety and accumbens dopamine/acetylcholine imbalance. *Physiol Behav*, 94, 309-315.
- Avena, N. M., P. Rada, B. G. Hoebel (2009) Sugar and fat bingeing have notable differences in addictive-like behavior. *J Nutr*, 139, 623-628.
- Azari, N. P. (1991) Effects of glucose on memory processes in young adults. *Psychopharmacology (Berl)*, 105, 521-524.
- Barrera, G., D. J. Echevarria, J. F. Poulin, S. Laforest, G. Drolet, D. A. Morilak (2005) One for all or one for one: does co-transmission unify the concept of a brain galanin "system" or clarify any consistent role in anxiety? *Neuropeptides*, 39, 289-292.
- Bayol, S. A., B. H. Simbi, N. C. Stickland (2005) A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. *J Physiol*, 567, 951-961.
- Bayol, S. A., S. J. Farrington, N. C. Stickland (2007) A maternal 'junk food' diet in pregnancy and lactation promotes an exacerbated taste for 'junk food' and a greater propensity for obesity in rat offspring. *Br J Nutr*, 98, 843-851.
- Beatty, W. W. (1979) Gonadal hormones and sex differences in nonreproductive behaviors in rodents: organizational and activational influences. *Horm Behav*, 12, 112-163.
- Beck, B., A. Bulet, J. P. Nicolas, C. Bulet (1990) Hypothalamic neuropeptide Y (NPY) in obese Zucker rats: implications in feeding and sexual behaviors. *Physiol Behav*, 47, 449-453.
- Beck, B. (2000) Neuropeptides and obesity. *Nutrition*, 16, 916-923.
- Becker, E. S., J. Margraf, V. Turke, U. Soeder, S. Neumer (2001) Obesity and mental illness in a representative sample of young women. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 25 Suppl 1, S5-9.
- Bellinger, L. L., L. L. Bernardis (2002) The dorsomedial hypothalamic nucleus and its role in ingestive behavior and body weight regulation: lessons learned from lesioning studies. *Physiol Behav*, 76, 431-442.

- Belzung, C., A. M. Leguisquet, S. Barreau, S. Delion-Vancassel, S. Chalon, G. Durand (1998) Alpha-linolenic acid deficiency modifies distractibility but not anxiety and locomotion in rats during aging. *J Nutr*, 128, 1537-1542.
- Bendotti, C., R. Samanin (1986) 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) elicits eating in free-feeding rats by acting on central serotonin neurons. *Eur J Pharmacol*, 121, 147-150.
- Bernardis, L. L., L. L. Bellinger (1996) The lateral hypothalamic area revisited: ingestive behavior. *Neurosci Biobehav Rev*, 20, 189-287.
- Berthoud, H. R. (2002) Multiple neural systems controlling food intake and body weight. *Neurosci Biobehav Rev*, 26, 393-428.
- Berthoud, H. R. (2007) Interactions between the "cognitive" and "metabolic" brain in the control of food intake. *Physiol Behav*, 91, 486-498.
- Berthoud, H. R. (2008) Vagal and hormonal gut-brain communication: from satiation to satisfaction. *Neurogastroenterol Motil*, 20 Suppl 1, 64-72.
- Bevins, R. A., J. Besheer (2006) Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study 'recognition memory'. *Nat Protoc*, 1, 1306-1311.
- Bielajew, C., A. T. Konkle, Z. Merali (2002) The effects of chronic mild stress on male Sprague-Dawley and Long Evans rats: I. Biochemical and physiological analyses. *Behav Brain Res*, 136, 583-592.
- Björntorp, P., L. Sjöström (1979) Does adipocyte hypercellularity in obesity exist? *Br Med J*, 1, 1145-1146.
- Björntorp, P. (1990) "Portal" adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arteriosclerosis*, 10, 493-496.
- Bonat, S., A. Pathomvanich, M. F. Keil, A. E. Field, J. A. Yanovski (2002) Self-assessment of pubertal stage in overweight children. *Pediatrics*, 110, 743-747.
- Bosch, G., B. Beerda, W. H. Hendriks, A. F. van der Poel, M. W. Verstegen (2007) Impact of nutrition on canine behaviour: current status and possible mechanisms. *Nutr Res Rev*, 20, 180-194.
- Bouanane, S., N. B. Benkalfat, F. Z. Baba Ahmed, H. Merzouk, N. S. Mokhtari, S. A. Merzouk, J. Gresti, C. Tessier, M. Narce (2009) Time course of changes in serum oxidant/antioxidant status in overfed obese rats and their offspring. *Clin Sci (Lond)*, 116, 669-680.
- Bourre, J. M., M. Francois, A. Youyou, O. Dumont, M. Piciotti, G. Pascal, G. Durand (1989) The effects of dietary alpha-linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poisons and performance of learning tasks in rats. *J Nutr*, 119, 1880-1892.
- Bowling, S. L., J. K. Rowlett, M. T. Bardo (1993) The effect of environmental enrichment on amphetamine-stimulated locomotor activity, dopamine synthesis and dopamine release. *Neuropharmacology*, 32, 885-893.
- Bracho-Romero, E., G. M. Reaven (1977) Effect of age and weight on plasma glucose and insulin responses in the rat. *J Am Geriatr Soc*, 25, 299-302.
- Brandner, C. (2002) Perinatal choline treatment modifies the effects of a visuo-spatial attractive cue upon spatial memory in naive adult rats. *Brain Res*, 928, 85-95.
- Brandt, K. R., S. I. Sunram-Lea, K. Qualtrough (2006) The effect of glucose administration on the emotional enhancement effect in recognition memory. *Biol Psychol*, 73, 199-208.
- Brandt, K. R., S. I. Sunram-Lea, P. M. Jenkinson, E. Jones (2010) The effects of glucose dose and dual-task performance on memory for emotional material. *Behav Brain Res*, 211, 83-88.
- Branson, R., N. Potoczna, J. G. Kral, K. U. Lentz, M. R. Hoehe, F. F. Horber (2003) Binge eating as a major phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. *N Engl J Med*, 348, 1096-1103.
- Bray, G. A. (2000) Afferent signals regulating food intake. *Proc Nutr Soc*, 59, 373-384.
- Brock, J. W., C. Prasad (1992) Alterations in dendritic spine density in the rat brain associated with protein malnutrition. *Brain Res Dev Brain Res*, 66, 266-269.
- Brooks, S. L., N. J. Rothwell, M. J. Stock, A. E. Goodbody, P. Trayhurn (1980) Increased proton conductance pathway in brown adipose tissue mitochondria of rats exhibiting diet-induced thermogenesis. *Nature*, 286, 274-276.
- Buchenauer, T., P. Behrendt, F. J. Bode, R. Horn, G. Brabant, M. Stephan, H. Nave (2009) Diet-induced obesity alters behavior as well as serum levels of corticosterone in F344 rats. *Physiol Behav*, 98, 563-569.
- Buettner, R., J. Scholmerich, L. C. Bollheimer (2007) High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity (Silver Spring)*, 15, 798-808.
- Buhusi, C. V., J. A. Lamoureux, W. H. Meck (2008) Prenatal choline supplementation increases sensitivity to contextual processing of temporal information. *Brain Res*, 1237, 204-213.
- Bull, L. S., W. L. Hurley, W. S. Kennett, C. B. Tamplin, W. F. Williams (1974) Effect of sex hormones on feed intake in rats. *J Nutr*, 104, 968-975.

- Buyschaert, M., F. Cauwe, J. Jamart, C. Brichant, P. De Coster, A. Magnan, J. Donckier (1992) Proximal femur density in type 1 and 2 diabetic patients. *Diabete Metab*, 18, 32-37.
- Campfield, L. A., F. J. Smith, Y. Guisez, R. Devos, P. Burn (1995) Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*, 269, 546-549.
- Cannon, W. B., A. L. Washburn (1912) An explanation of hunger. *Am J Physiol*, 444-454.
- Carlini, V. P., M. E. Monzon, M. M. Varas, A. B. Cragolini, H. B. Schioth, T. N. Scimonelli, S. R. de Barioglio (2002) Ghrelin increases anxiety-like behavior and memory retention in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 299, 739-743.
- Carlini, V. P., M. M. Varas, A. B. Cragolini, H. B. Schioth, T. N. Scimonelli, S. R. de Barioglio (2004) Differential role of the hippocampus, amygdala, and dorsal raphe nucleus in regulating feeding, memory, and anxiety-like behavioral responses to ghrelin. *Biochem Biophys Res Commun*, 313, 635-641.
- Carlson, E. S., R. Magid, A. Petryk, M. K. Georgieff (2008) Iron deficiency alters expression of genes implicated in Alzheimer disease pathogenesis. *Brain Res*, 1237, 75-83.
- Carrasco, G. A., L. D. Van de Kar (2003) Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol*, 463, 235-272.
- Carrie, I., M. Clement, D. de Javel, H. Frances, J. M. Bourre (2000) Phospholipid supplementation reverses behavioral and biochemical alterations induced by n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency in mice. *J Lipid Res*, 41, 473-480.
- Casper, R. C., E. L. Sullivan, L. Tecott (2008) Relevance of animal models to human eating disorders and obesity. *Psychopharmacology (Berl)*, 199, 313-329.
- Chagnon, Y. C., L. Perusse, S. J. Weisnagel, T. Rankinen, C. Bouchard (2000) The human obesity gene map: the 1999 update. *Obes Res*, 8, 89-117.
- Chaki, S., N. Kawashima, Y. Suzuki, T. Shimazaki, S. Okuyama (2003) Cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide produces anxiety-like behavior in rodents. *Eur J Pharmacol*, 464, 49-54.
- Chakravarthy, M. V., F. W. Booth (2004) Eating, exercise, and "thrifty" genotypes: connecting the dots toward an evolutionary understanding of modern chronic diseases. *J Appl Physiol*, 96, 3-10.
- Challis, B. G., G. S. Yeo, I. S. Farooqi, J. Luan, S. Aminian, D. J. Halsall, J. M. Keogh, N. J. Wareham, S. O'Rahilly (2000) The CART gene and human obesity: mutational analysis and population genetics. *Diabetes*, 49, 872-875.
- Chaouloff, F. (1994) Failure to find behavioural differences between lean and obese Zucker rats exposed to novel environments. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 18, 780-782.
- Chen, H., M. J. Hansen, J. E. Jones, R. Vlahos, S. Bozinovski, G. P. Anderson, M. J. Morris (2007) Regulation of hypothalamic NPY by diet and smoking. *Peptides*, 28, 384-389.
- Cheng, R. K., A. C. Scott, T. B. Penney, C. L. Williams, W. H. Meck (2008a) Prenatal-choline supplementation differentially modulates timing of auditory and visual stimuli in aged rats. *Brain Res*, 1237, 167-175.
- Cheng, R. K., C. L. Williams, W. H. Meck (2008b) Oscillatory bands, neuronal synchrony and hippocampal function: implications of the effects of prenatal choline supplementation for sleep-dependent memory consolidation. *Brain Res*, 1237, 176-194.
- Chirico, A. M., A. J. Stunkard (1960) Physical activity and human obesity. *N Engl J Med*, 263, 935-940.
- Ciccocioppo, R., D. R. Gehlert, A. Ryabinin, S. Kaur, A. Cippitelli, A. Thorsell, A. D. Le, P. A. Hipkind, C. Hamdouchi, J. Lu, E. J. Hembre, J. Cramer, M. Song, D. McKinzie, M. Morin, D. Economidou, S. Stopponi, N. Cannella, S. Braconi, M. Kallupi, G. de Guglielmo, M. Massi, D. T. George, J. Gilman, J. Hersh, J. T. Tauscher, S. P. Hunt, D. Hommer, M. Heilig (2009) Stress-related neuropeptides and alcoholism: CRH, NPY, and beyond. *Alcohol*, 43, 491-498.
- Considine, R. V., J. F. Caro (1997) Leptin and the regulation of body weight. *Int J Biochem Cell Biol*, 29, 1255-1272.
- Cooper, G. D., A. J. Goudie, J. C. Halford (2010) Acute effects of olanzapine on behavioural expression including the behavioural satiety sequence in female rats. *J Psychopharmacol*, 24, 1069-1078.
- Corniola, R. S., N. M. Tassabehji, J. Hare, G. Sharma, C. W. Levenson (2008) Zinc deficiency impairs neuronal precursor cell proliferation and induces apoptosis via p53-mediated mechanisms. *Brain Res*, 1237, 52-61.
- Craft, S. (2009) The role of metabolic disorders in Alzheimer disease and vascular dementia: two roads converged. *Arch Neurol*, 66, 300-305.
- Cragolini, A. B., H. B. Schioth, T. N. Scimonelli (2006) Anxiety-like behavior induced by IL-1beta is modulated by alpha-MSH through central melanocortin-4 receptors. *Peptides*, 27, 1451-1456.

- Cruz, A. P., F. Frei, F. G. Graeff (1994) Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav*, 49, 171-176.
- Cummings, D. E., J. Q. Purnell, R. S. Frayo, K. Schmidova, B. E. Wisse, D. S. Weigle (2001) A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes*, 50, 1714-1719.
- Da Silva, N. L., V. M. Ferreira, P. Carobrez Ade, G. S. Morato (1996) Individual housing from rearing modifies the performance of young rats on the elevated plus-maze apparatus. *Physiol Behav*, 60, 1391-1396.
- Dallman, M. F., N. Pecoraro, S. F. Akana, S. E. La Fleur, F. Gomez, H. Houshyar, M. E. Bell, S. Bhatnagar, K. D. Laugero, S. Manalo (2003) Chronic stress and obesity: a new view of "comfort food". *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100, 11696-11701.
- Dallman, M. F., N. C. Pecoraro, S. E. la Fleur (2005) Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. *Brain Behav Immun*, 19, 275-280.
- Darwish, M., L. Koranyi, C. Nyakas, O. F. Almeida (2001) Exposure to a novel stimulus reduces anxiety level in adult and aging rats. *Physiol Behav*, 72, 403-407.
- Das, M., I. Gabriely, N. Barzilai (2004) Caloric restriction, body fat and ageing in experimental models. *Obes Rev*, 5, 13-19.
- Davis, C., J. C. Carter (2009) Compulsive overeating as an addiction disorder. A review of theory and evidence. *Appetite*, 53, 1-8.
- de la Monte, S. M. (2009) Insulin resistance and Alzheimer's disease. *BMB Rep*, 42, 475-481.
- de Wilde, M. C., E. Hogyes, A. J. Kiliaan, T. Farkas, P. G. Luiten, E. Farkas (2003) Dietary fatty acids alter blood pressure, behavior and brain membrane composition of hypertensive rats. *Brain Res*, 988, 9-19.
- Degen, L., D. Matzinger, J. Drewe, C. Beglinger (2001) The effect of cholecystokinin in controlling appetite and food intake in humans. *Peptides*, 22, 1265-1269.
- Del Angel-Meza, A. R., L. Ramirez-Cortes, I. G. Adame-Gonzalez, I. Gonzalez Burgos, C. Beas-Zarate (2002) Cerebral GABA release and GAD activity in protein- and tryptophan-restricted rats during development. *Int J Dev Neurosci*, 20, 47-54.
- DeMar, J. C., Jr., K. Ma, J. M. Bell, M. Igarashi, D. Greenstein, S. I. Rapoport (2006) One generation of n-3 polyunsaturated fatty acid deprivation increases depression and aggression test scores in rats. *J Lipid Res*, 47, 172-180.
- DGSP (2007) Deutsche Gesellschaft für Sportmedizin und Prävention. S 1- Leitlinie Vorsorgeuntersuchung im Sport. 1 - 49.
- Diane, A., M. Victoriano, G. Fromentin, D. Tome, C. Larue-Achagiotis (2008) Acute stress modifies food choice in Wistar male and female rats. *Appetite*, 50, 397-407.
- Dominguez, G., E. M. del Giudice, M. J. Kuhar (2004) CART peptide levels are altered by a mutation associated with obesity at codon 34. *Mol Psychiatry*, 9, 1065-1066.
- Dourish, C. T., P. H. Hutson, G. Curzon (1985) Characteristics of feeding induced by the serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT). *Brain Res Bull*, 15, 377-384.
- Driscoll, I., S. R. Howard, J. C. Stone, M. H. Monfils, B. Tomanek, W. M. Brooks, R. J. Sutherland (2006) The aging hippocampus: a multi-level analysis in the rat. *Neuroscience*, 139, 1173-1185.
- Dube, M. G., S. P. Kalra, P. S. Kalra (1999) Food intake elicited by central administration of orexins/hypocretins: identification of hypothalamic sites of action. *Brain Res*, 842, 473-477.
- Ducroc, R., S. Guilmeau, K. Akasbi, H. Devaud, M. Buyse, A. Bado (2005) Luminal leptin induces rapid inhibition of active intestinal absorption of glucose mediated by sodium-glucose cotransporter 1. *Diabetes*, 54, 348-354.
- Duff, S. J., E. Hampson (2001) A sex difference on a novel spatial working memory task in humans. *Brain Cogn*, 47, 470-493.
- Eals, M., I. Silverman (1997) The hunter-gatherer theory of spatial sex differences; proximate factors mediating the female advantage in the recall of object arrays. *Ethol Sociobiol*, 15, 95-105.
- Eiden, S., G. Preibisch, I. Schmidt (2001) Leptin responsiveness of juvenile rats: proof of leptin function within the physiological range. *J Physiol*, 530, 131-139.
- Elias, C. F., C. Aschkenasi, C. Lee, J. Kelly, R. S. Ahima, C. Bjorbaek, J. S. Flier, C. B. Saper, J. K. Elmquist (1999) Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area. *Neuron*, 23, 775-786.
- Elias, M. F., P. K. Elias, L. M. Sullivan, P. A. Wolf, R. B. D'Agostino (2003) Lower cognitive function in the presence of obesity and hypertension: the Framingham heart study. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 27, 260-268.
- Elmquist, J. K., C. F. Elias, C. B. Saper (1999) From lesions to leptin: hypothalamic control of food intake and body weight. *Neuron*, 22, 221-232.

- Ennaceur, A., J. Delacour (1988) A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behav Brain Res*, 31, 47-59.
- Esel, E., S. Ozsoy, A. Tutus, S. Sofuoglu, S. Kartalci, F. Bayram, Z. Kokbudak, M. Kula (2005) Effects of antidepressant treatment and of gender on serum leptin levels in patients with major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 29, 565-570.
- Everts, H. G., J. M. Koolhaas (1997) Lateral septal vasopressin in rats: role in social and object recognition? *Brain Res*, 760, 1-7.
- Farr, S. A., W. A. Banks, J. E. Morley (2006) Effects of leptin on memory processing. *Peptides*, 27, 1420-1425.
- Fedorova, I., N. Salem, Jr. (2006) Omega-3 fatty acids and rodent behavior. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 75, 271-289.
- Ferguson, S. A., E. P. Gray (2005) Aging effects on elevated plus maze behavior in spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto and Sprague-Dawley male and female rats. *Physiol Behav*, 85, 621-628.
- Fernandes, C., M. I. Gonzalez, C. A. Wilson, S. E. File (1999) Factor analysis shows that female rat behaviour is characterized primarily by activity, male rats are driven by sex and anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*, 64, 731-738.
- Fernstrom, J. D., R. J. Wurtman (1971) Brain serotonin content: physiological dependence on plasma tryptophan levels. *Science*, 173, 149-152.
- Fibiger, H. C. (1991) Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: a review of recent evidence. *Trends Neurosci*, 14, 220-223.
- Figiel, I. (2008) Pro-inflammatory cytokine TNF-alpha as a neuroprotective agent in the brain. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 68, 526-534.
- File, S. E. (1980) The use of social interaction as a method for detecting anxiolytic activity of chlordiazepoxide-like drugs. *J Neurosci Methods*, 2, 219-238.
- Finger, B. C., T. G. Dinan, J. F. Cryan (2010) Leptin-deficient mice retain normal appetitive spatial learning yet exhibit marked increases in anxiety-related behaviours. *Psychopharmacology (Berl)*, 210, 559-568.
- Fink, H., A. Rex, M. Voits, J. P. Voigt (1998) Major biological actions of CCK--a critical evaluation of research findings. *Exp Brain Res*, 123, 77-83.
- Fitzpatrick, A. L., L. H. Kuller, O. L. Lopez, P. Diehr, E. S. O'Meara, W. T. Longstreth, Jr., J. A. Luchsinger (2009) Midlife and late-life obesity and the risk of dementia: cardiovascular health study. *Arch Neurol*, 66, 336-342.
- Ford, C. E., A. B. Scholey, G. Ayre, K. Wesnes (2002) The effect of glucose administration and the emotional content of words on heart rate and memory. *J Psychopharmacol*, 16, 241-244.
- Foster, J. K., P. G. Lidder, S. I. Sunram (1998) Glucose and memory: fractionation of enhancement effects? *Psychopharmacology (Berl)*, 137, 259-270.
- Foster, L. A., N. K. Ames, R. S. Emery (1991) Food intake and serum insulin responses to intraventricular infusions of insulin and IGF-I. *Physiol Behav*, 50, 745-749.
- Frances, H., C. Monier, J. M. Bourre (1995) Effects of dietary alpha-linolenic acid deficiency on neuromuscular and cognitive functions in mice. *Life Sci*, 57, 1935-1947.
- Frances, H., P. Drai, M. Smirnova, I. Carrie, M. Debray, J. M. Bourre (2000) Nutritional (n-3) polyunsaturated fatty acids influence the behavioral responses to positive events in mice. *Neurosci Lett*, 285, 223-227.
- Francolin-Silva, A. L., S. S. Almeida (2004) The interaction of housing condition and acute immobilization stress on the elevated plus-maze behaviors of protein-malnourished rats. *Braz J Med Biol Res*, 37, 1035-1042.
- Francolin-Silva, A. L., A. da Silva Hernandez, M. T. Fukuda, C. T. Valadares, S. S. Almeida (2006) Anxiolytic-like effects of short-term postnatal protein malnutrition in the elevated plus-maze test. *Behav Brain Res*, 173, 310-314.
- Frederich, R. C., B. Lollmann, A. Hamann, A. Napolitano-Rosen, B. B. Kahn, B. B. Lowell, J. S. Flier (1995) Expression of ob mRNA and its encoded protein in rodents. Impact of nutrition and obesity. *J Clin Invest*, 96, 1658-1663.
- Freund-Levi, Y., M. Eriksdotter-Jonhagen, T. Cederholm, H. Basun, G. Faxen-Irving, A. Garlind, I. Vedin, B. Vessby, L. O. Wahlund, J. Palmblad (2006) Omega-3 fatty acid treatment in 174 patients with mild to moderate Alzheimer disease: OmegaAD study: a randomized double-blind trial. *Arch Neurol*, 63, 1402-1408.
- Frye, C. A., S. M. Petralia, M. E. Rhodes (2000) Estrous cycle and sex differences in performance on anxiety tasks coincide with increases in hippocampal progesterone and 3alpha,5alpha-THP. *Pharmacol Biochem Behav*, 67, 587-596.

- Gajre, N. S., S. Fernandez, N. Balakrishna, S. Vazir (2008) Breakfast eating habit and its influence on attention-concentration, immediate memory and school achievement. *Indian Pediatr*, 45, 824-828.
- Galani, R., E. Duconseille, O. Bildstein, J. C. Cassel (2001) Effects of room and cage familiarity on locomotor activity measures in rats. *Physiol Behav*, 74, 1-4.
- Galef, B. G., Jr. (1991) A contrarian view of the wisdom of the body as it relates to dietary self-selection. *Psychol Rev*, 98, 218-223.
- Georgieff, M. K. (2007) Nutrition and the developing brain: nutrient priorities and measurement. *Am J Clin Nutr*, 85, 614S-620S.
- Gerhardt, P., M. Voits, H. Fink, J. P. Huston (1994) Evidence for mnemotropic action of cholecystokinin fragments Boc-CCK-4 and CCK-8S. *Peptides*, 15, 689-697.
- Gewirtz, J. C., K. L. Hamilton, M. A. Babu, J. D. Wobken, M. K. Georgieff (2008) Effects of gestational iron deficiency on fear conditioning in juvenile and adult rats. *Brain Res*, 1237, 195-203.
- Gibbs, J., R. C. Young, G. P. Smith (1973) Cholecystokinin decreases food intake in rats. *J Comp Physiol Psychol*, 84, 488-495.
- Gomez-Martinez, S., A. Martin, J. Romeo, M. Castillo, M. Mesena, J. C. Baraza, D. Jimenez-Pavon, C. Redondo, S. Zamora, A. Marcos (2009) Is soft drink consumption associated with body composition? A cross-sectional study in Spanish adolescents. *Nutr Hosp*, 24, 97-102.
- Greenwood, M. H., M. H. Lader, B. D. Kantameneni, G. Curzon (1975) The acute effects of oral (--) tryptophan in human subjects. *Br J Clin Pharmacol*, 2, 165-172.
- Greiner, R. S., T. Moriguchi, B. M. Slotnick, A. Hutton, N. Salem (2001) Olfactory discrimination deficits in n-3 fatty acid-deficient rats. *Physiol Behav*, 72, 379-385.
- Halaas, J. L., K. S. Gajiwala, M. Maffei, S. L. Cohen, B. T. Chait, D. Rabinowitz, R. L. Lallone, S. K. Burley, J. M. Friedman (1995) Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science*, 269, 543-546.
- Halford, J. C., J. E. Blundell (1996) The 5-HT<sub>1B</sub> receptor agonist CP-94,253 reduces food intake and preserves the behavioural satiety sequence. *Physiol Behav*, 60, 933-939.
- Halford, J. C., S. C. Wanninayake, J. E. Blundell (1998) Behavioral satiety sequence (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake. *Pharmacol Biochem Behav*, 61, 159-168.
- Harlan, W. R. (1993) Epidemiology of childhood obesity. A national perspective. *Ann N Y Acad Sci*, 699, 1-5.
- Harro, J. (2006) CCK and NPY as anti-anxiety treatment targets: promises, pitfalls, and strategies. *Amino Acids*, 31, 215-230.
- Harvey, J. (2007) Leptin regulation of neuronal excitability and cognitive function. *Curr Opin Pharmacol*, 7, 643-647.
- Havel, P. J. (2001) Peripheral signals conveying metabolic information to the brain: short-term and long-term regulation of food intake and energy homeostasis. *Exp Biol Med (Maywood)*, 226, 963-977.
- Heilig, M. (2004) The NPY system in stress, anxiety and depression. *Neuropeptides*, 38, 213-224.
- Heinz, A., T. Siessmeier, J. Wrase, D. Hermann, S. Klein, S. M. Grusser, H. Flor, D. F. Braus, H. G. Buchholz, G. Grunder, M. Schreckenberger, M. N. Smolka, F. Rosch, K. Mann, P. Bartenstein (2004) Correlation between dopamine D(2) receptors in the ventral striatum and central processing of alcohol cues and craving. *Am J Psychiatry*, 161, 1783-1789.
- Henry, B. A., I. J. Clarke (2008) Adipose tissue hormones and the regulation of food intake. *J Neuroendocrinol*, 20, 842-849.
- Hervey, E., G. R. Hervey (1969) Energy storage in female rats treated with progesterone in the absence of increased intake of food. *J Physiol*, 200, 118P-119P.
- Heude, B., P. Ducimetiere, C. Berr (2003) Cognitive decline and fatty acid composition of erythrocyte membranes--The EVA Study. *Am J Clin Nutr*, 77, 803-808.
- Hodge, J., J. P. Bow, K. S. Plyler, V. K. Vemuri, A. Wisniecki, J. D. Salamone, A. Makriyannis, P. J. McLaughlin (2008) The cannabinoid CB1 receptor inverse agonist AM 251 and antagonist AM 4113 produce similar effects on the behavioral satiety sequence in rats. *Behav Brain Res*, 193, 298-305.
- Hoffer, L. J. (2009) The need for consistent criteria for identifying malnutrition. *Nestle Nutr Workshop Ser Clin Perform Programme*, 12, 41-52.
- Hökfelt, T., C. Broberger, M. Diez, Z. Q. Xu, T. Shi, J. Kopp, X. Zhang, K. Holmberg, M. Landry, J. Koistinaho (1999) Galanin and NPY, two peptides with multiple putative roles in the nervous system. *Horm Metab Res*, 31, 330-334.
- Holmes, A., M. Heilig, N. M. Rupniak, T. Steckler, G. Griebel (2003) Neuropeptide systems as novel therapeutic targets for depression and anxiety disorders. *Trends Pharmacol Sci*, 24, 580-588.
- Houseknecht, K. L., C. A. Baile, R. L. Matteri, M. E. Spurlock (1998) The biology of leptin: a review. *J Anim Sci*, 76, 1405-1420.

- Huang, Q., A. Viale, F. Picard, J. Nahon, D. Richard (1999) Effects of leptin on melanin-concentrating hormone expression in the brain of lean and obese Lep(ob)/Lep(ob) mice. *Neuroendocrinology*, 69, 145-153.
- Huffman, D. M., N. Barzilai (2009) Role of visceral adipose tissue in aging. *Biochim Biophys Acta*, 1790, 1117-1123.
- Hunt, C. D., E. S. Halas, M. J. Eberhardt (1988) Long-term effects of lactational zinc deficiency on bone mineral composition in rats fed a commercially modified Luecke diet. *Biol Trace Elem Res*, 16, 97-113.
- Hyland, N. P., J. M. Rybicka, W. Ho, Q. J. Pittman, W. K. Macnaughton, K. A. Sharkey (2010) Adaptation of intestinal secretomotor function and nutrient absorption in response to diet-induced obesity. *Neurogastroenterol Motil*, 22, 602-e171.
- Imhof, J. T., Z. M. Coelho, M. L. Schmitt, G. S. Morato, A. P. Carobrez (1993) Influence of gender and age on performance of rats in the elevated plus maze apparatus. *Behav Brain Res*, 56, 177-180.
- Innis, S. M. (2008) Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain. *Brain Res*, 1237, 35-43.
- Iribarren, C., J. H. Markovitz, D. R. Jacobs, Jr., P. J. Schreiner, M. Daviglius, J. R. Hibbeln (2004) Dietary intake of n-3, n-6 fatty acids and fish: relationship with hostility in young adults--the CARDIA study. *Eur J Clin Nutr*, 58, 24-31.
- Ishii, Y., J. E. Blundell, J. C. Halford, R. J. Rodgers (2003) Palatability, food intake and the behavioural satiety sequence in male rats. *Physiol Behav*, 80, 37-47.
- Jackson, M. B., R. S. Ahima (2006) Neuroendocrine and metabolic effects of adipocyte-derived hormones. *Clin Sci (Lond)*, 110, 143-152.
- Jahng, J. W., J. G. Kim, H. J. Kim, B. T. Kim, D. W. Kang, J. H. Lee (2007) Chronic food restriction in young rats results in depression- and anxiety-like behaviors with decreased expression of serotonin reuptake transporter. *Brain Res*, 1150, 100-107.
- Jean, C., G. Fromentin, D. Tome, C. Larue-Achagiotis (2002) Wistar rats allowed to self-select macronutrients from weaning to maturity choose a high-protein, high-lipid diet. *Physiol Behav*, 76, 65-73.
- Johnston, A. L., S. E. File (1991) Sex differences in animal tests of anxiety. *Physiol Behav*, 49, 245-250.
- Joseph, R., R. E. Gallagher (1980) Gender and early environmental influences on activity, overresponsiveness, and exploration. *Dev Psychobiol*, 13, 527-544.
- Jurdak, N., R. B. Kanarek (2009) Sucrose-induced obesity impairs novel object recognition learning in young rats. *Physiol Behav*, 96, 1-5.
- Kalra, S. P., M. G. Dube, S. Pu, B. Xu, T. L. Horvath, P. S. Kalra (1999) Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev*, 20, 68-100.
- Kask, A., H. B. Schioth, F. Mutulis, J. E. Wikberg, L. Rago (2000) Anorexigenic cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide intensifies fear reactions in rats. *Brain Res*, 857, 283-285.
- Kask, A., J. Harro, S. von Horsten, J. P. Redrobe, Y. Dumont, R. Quirion (2002) The neurocircuitry and receptor subtypes mediating anxiolytic-like effects of neuropeptide Y. *Neurosci Biobehav Rev*, 26, 259-283.
- Kiefer, F., M. Grosshans (2009) [What can addiction research contribute towards the understanding of obesity?]. *Nervenarzt*, 80, 1040-1049.
- King, M. V., A. J. Sleight, M. L. Woolley, I. A. Topham, C. A. Marsden, K. C. Fone (2004) 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists reverse delay-dependent deficits in novel object discrimination by enhancing consolidation--an effect sensitive to NMDA receptor antagonism. *Neuropharmacology*, 47, 195-204.
- Kirkham, T. C., J. E. Blundell (1984) Dual action of naloxone on feeding revealed by behavioural analysis: separate effects on initiation and termination of eating. *Appetite*, 5, 45-52.
- Kivipelto, M., T. Ngandu, L. Fratiglioni, M. Viitanen, I. Kareholt, B. Winblad, E. L. Helkala, J. Tuomilehto, H. Soininen, A. Nissinen (2005) Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 62, 1556-1560.
- Klingenspor, M., A. Dickopp, G. Heldmaier, S. Klaus (1996) Short photoperiod reduces leptin gene expression in white and brown adipose tissue of Djungarian hamsters. *FEBS Lett*, 399, 290-294.
- Kojima, M., H. Hosoda, Y. Date, M. Nakazato, H. Matsuo, K. Kangawa (1999) Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 402, 656-660.
- Kolotkin, R. L., M. Zeller, A. C. Modi, G. P. Samsa, N. P. Quinlan, J. A. Yanovski, S. K. Bell, D. M. Maahs, D. G. de Serna, H. R. Roehrig (2006) Assessing weight-related quality of life in adolescents. *Obesity (Silver Spring)*, 14, 448-457.
- Korol, D. L., P. E. Gold (1998) Glucose, memory, and aging. *Am J Clin Nutr*, 67, 764S-771S.

- Kretschmer, B. D., P. Schelling, N. Beier, C. Liebscher, S. Treutel, N. Kruger, H. P. Scholz, A. Haus (2005) Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. *Life Sci*, 76, 1553-1573.
- Krugel, U., T. Schraft, H. Kittner, W. Kiess, P. Illes (2003) Basal and feeding-evoked dopamine release in the rat nucleus accumbens is depressed by leptin. *Eur J Pharmacol*, 482, 185-187.
- Lafortuna, C. L., F. Agosti, M. Proietti, F. Adorni, A. Sartorio (2006) The combined effect of adiposity, fat distribution and age on cardiovascular risk factors and motor disability in a cohort of obese women (aged 18-83). *J Endocrinol Invest*, 29, 905-912.
- Lakka, H. M., D. E. Laaksonen, T. A. Lakka, L. K. Niskanen, E. Kumpusalo, J. Tuomilehto, J. T. Salonen (2002) The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *Jama*, 288, 2709-2716.
- Lampont, D. J., C. L. Lawton, M. W. Mansfield, L. Dye (2009) Impairments in glucose tolerance can have a negative impact on cognitive function: a systematic research review. *Neurosci Biobehav Rev*, 33, 394-413.
- Lavialle, M., G. Champeil-Potokar, J. M. Alessandri, L. Balasse, P. Guesnet, C. Papillon, P. Pevet, S. Vancassel, B. Vivien-Roels, I. Denis (2008) An (n-3) polyunsaturated fatty acid-deficient diet disturbs daily locomotor activity, melatonin rhythm, and striatal dopamine in Syrian hamsters. *J Nutr*, 138, 1719-1724.
- Lehnert, H., D. K. Reinstein, B. W. Strowbridge, R. J. Wurtman (1984) Neurochemical and behavioral consequences of acute, uncontrollable stress: effects of dietary tyrosine. *Brain Res*, 303, 215-223.
- Leibowitz, S. F., J. T. Alexander, W. K. Cheung, G. F. Weiss (1993) Effects of serotonin and the serotonin blocker metergoline on meal patterns and macronutrient selection. *Pharmacol Biochem Behav*, 45, 185-194.
- Leussis, M. P., V. J. Bolivar (2006) Habituation in rodents: a review of behavior, neurobiology, and genetics. *Neurosci Biobehav Rev*, 30, 1045-1064.
- Levant, B., J. D. Radel, S. E. Carlson (2004) Decreased brain docosahexaenoic acid during development alters dopamine-related behaviors in adult rats that are differentially affected by dietary remediation. *Behav Brain Res*, 152, 49-57.
- Levy, E. A., A. Govic, J. Penman, A. G. Paolini, S. Kent (2007) Effects of adult-onset calorie restriction on anxiety-like behavior in rats. *Physiol Behav*, 92, 889-896.
- Levin, B. E., M. Finnegan, J. Triscari, A. C. Sullivan (1985) Brown adipose and metabolic features of chronic diet-induced obesity. *Am J Physiol*, 248, R717-723.
- Levin, B. E., J. Triscari, A. C. Sullivan (1986) Metabolic features of diet-induced obesity without hyperphagia in young rats. *Am J Physiol*, 251, R433-440.
- Levin, B. E. (1991) Spontaneous motor activity during the development and maintenance of diet-induced obesity in the rat. *Physiol Behav*, 50, 573-581.
- Levin, B. E., V. H. Routh (1996) Role of the brain in energy balance and obesity. *Am J Physiol*, 271, R491-500.
- Levine, A. S., J. E. Morley (1981) Stress-induced eating in rats. *Am J Physiol*, 241, R72-76.
- Levine, A. S., J. E. Morley (1982) Tail pinch-induced eating: is it the tail or the pinch? *Physiol Behav*, 28, 565-567.
- Li, X. L., S. Aou, Y. Oomura, N. Hori, K. Fukunaga, T. Hori (2002) Impairment of long-term potentiation and spatial memory in leptin receptor-deficient rodents. *Neuroscience*, 113, 607-615.
- Lieberman, H. R., S. Corkin, B. J. Spring, J. H. Growdon, R. J. Wurtman (1982) Mood, performance, and pain sensitivity: changes induced by food constituents. *J Psychiatr Res*, 17, 135-145.
- Lieberman, H. R., S. K. Yeghiayan, T. J. Maher (2005) A low-protein diet alters rat behavior and neurotransmission in normothermic and hyperthermic environments. *Brain Res Bull*, 66, 149-154.
- Lim, S., H. Suzuki (2001) Changes in maze behavior of mice occur after sufficient accumulation of docosahexaenoic acid in brain. *J Nutr*, 131, 319-324.
- Lim, S. Y., J. Hoshiba, N. Salem, Jr. (2005) An extraordinary degree of structural specificity is required in neural phospholipids for optimal brain function: n-6 docosapentaenoic acid substitution for docosahexaenoic acid leads to a loss in spatial task performance. *J Neurochem*, 95, 848-857.
- Lister, J. P., G. J. Blatt, W. A. DeBassio, T. L. Kemper, J. Tonkiss, J. R. Galler, D. L. Rosene (2005) Effect of prenatal protein malnutrition on numbers of neurons in the principal cell layers of the adult rat hippocampal formation. *Hippocampus*, 15, 393-403.
- Lister, R. G. (1987) The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl)*, 92, 180-185.
- Lowe, M. R., M. L. Butryn (2007) Hedonic hunger: a new dimension of appetite? *Physiol Behav*, 91, 432-439.

- Luchsinger, J. A., B. Patel, M. X. Tang, N. Schupf, R. Mayeux (2007) Measures of adiposity and dementia risk in elderly persons. *Arch Neurol*, 64, 392-398.
- Lucion, A. B., H. Charchat, G. A. Pereira, A. A. Rasia-Filho (1996) Influence of early postnatal gonadal hormones on anxiety in adult male rats. *Physiol Behav*, 60, 1419-1423.
- Lucki, I. (1998) The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biol Psychiatry*, 44, 151-162.
- Lukoyanov, N. V., J. P. Andrade (2000) Behavioral effects of protein deprivation and rehabilitation in adult rats: relevance to morphological alterations in the hippocampal formation. *Behav Brain Res*, 112, 85-97.
- Lutter, M., E. J. Nestler (2009) Homeostatic and hedonic signals interact in the regulation of food intake. *J Nutr*, 139, 629-632.
- Marcondes, F. K., K. J. Miguel, L. L. Melo, R. C. Spadari-Bratfisch (2001) Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test. *Physiol Behav*, 74, 435-440.
- Masur, J., M. T. Schutz, R. Boerngen (1980) Gender differences in open-field behavior as a function of age. *Dev Psychobiol*, 13, 107-110.
- Mathew, S. J., R. B. Price, D. S. Charney (2008) Recent advances in the neurobiology of anxiety disorders: implications for novel therapeutics. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 148C, 89-98.
- Mavrakanas, T. A., G. Konsoula, I. Patsonis, B. P. Merkouris (2009) Childhood obesity and elevated blood pressure in a rural population of northern Greece. *Rural Remote Health*, 9, 1150.
- McCann, J. C., M. Hudes, B. N. Ames (2006) An overview of evidence for a causal relationship between dietary availability of choline during development and cognitive function in offspring. *Neurosci Biobehav Rev*, 30, 696-712.
- McCormick, C. M., C. Smith, I. Z. Mathews (2008) Effects of chronic social stress in adolescence on anxiety and neuroendocrine response to mild stress in male and female rats. *Behav Brain Res*, 187, 228-238.
- McGowan, P. O., M. J. Meaney, M. Szyf (2008) Diet and the epigenetic (re)programming of phenotypic differences in behavior. *Brain Res*, 1237, 12-24.
- McLaughlin, C. L., C. A. Baile (1980) Decreased sensitivity of Zucker obese rats to the putative satiety agent cholecystokinin. *Physiol Behav*, 25, 543-548.
- McLaughlin, C. L., C. A. Baile, M. A. Della-Fera, T. G. Kasser (1985) Meal-stimulated increased concentrations of CCK in the hypothalamus of Zucker obese and lean rats. *Physiol Behav*, 35, 215-220.
- McNay, E. C. (2007) Insulin and ghrelin: peripheral hormones modulating memory and hippocampal function. *Curr Opin Pharmacol*, 7, 628-632.
- McNeilly, A. D., R. Williamson, C. Sutherland, D. J. Balfour, C. A. Stewart (2010) High fat feeding promotes simultaneous decline in insulin sensitivity and cognitive performance in a delayed matching and non-matching to position task. *Behav Brain Res*.
- Meck, W. H., C. L. Williams (1997) Simultaneous temporal processing is sensitive to prenatal choline availability in mature and aged rats. *Neuroreport*, 8, 3045-3051.
- Meck, W. H., C. L. Williams (1999) Choline supplementation during prenatal development reduces proactive interference in spatial memory. *Brain Res Dev Brain Res*, 118, 51-59.
- Meijers, J. M., M. A. van Bokhorst-de van der Schueren, J. M. Schols, P. B. Soeters, R. J. Halfens (2010) Defining malnutrition: mission or mission impossible? *Nutrition*, 26, 432-440.
- Meister, B. (2007) Neurotransmitters in key neurons of the hypothalamus that regulate feeding behavior and body weight. *Physiol Behav*, 92, 263-271.
- Mellott, T. J., C. L. Williams, W. H. Meck, J. K. Blusztajn (2004) Prenatal choline supplementation advances hippocampal development and enhances MAPK and CREB activation. *Faseb J*, 18, 545-547.
- Meneilly, G. S., E. Cheung, D. Tessier, C. Yakura, H. Tuokko (1993) The effect of improved glycemic control on cognitive functions in the elderly patient with diabetes. *J Gerontol*, 48, M117-121.
- Mensink, G. B., T. Lampert, E. Bergmann (2005) [Overweight and obesity in Germany 1984-2003]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 48, 1348-1356.
- Mercer, J. G., C. B. Lawrence, T. Atkinson (1996) Regulation of galanin gene expression in the hypothalamic paraventricular nucleus of the obese Zucker rat by manipulation of dietary macronutrients. *Brain Res Mol Brain Res*, 43, 202-208.
- Messing, R. B., L. D. Lytle (1977) Serotonin-containing neurons: their possible role in pain and analgesia. *Pain*, 4, 1-21.
- Meszaros, Z., J. Meszaros, E. Volgyi, A. Sziva, P. Pampakas, A. Prokai, M. Szmodis (2008) Body mass and body fat in Hungarian schoolboys: differences between 1980-2005. *J Physiol Anthropol*, 27, 241-245.

- Miesel, A., H. Muller, M. Thermann, M. Heidbreder, P. Dominiak, W. Raasch (2010) Overfeeding-induced obesity in spontaneously hypertensive rats: an animal model of the human metabolic syndrome. *Ann Nutr Metab*, 56, 127-142.
- Miraglia del Giudice, E., N. Santoro, P. Fiumani, G. Dominguez, M. J. Kuhar, L. Perrone (2006) Adolescents carrying a missense mutation in the CART gene exhibit increased anxiety and depression. *Depress Anxiety*, 23, 90-92.
- Mitra, R., R. M. Sapolsky (2008) Acute corticosterone treatment is sufficient to induce anxiety and amygdaloid dendritic hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105, 5573-5578.
- Mittelman, S. D., G. W. Van Citters, S. P. Kim, D. A. Davis, M. K. Dea, M. Hamilton-Wessler, R. N. Bergman (2000) Longitudinal compensation for fat-induced insulin resistance includes reduced insulin clearance and enhanced beta-cell response. *Diabetes*, 49, 2116-2125.
- Mlynarik, M., B. B. Johansson, D. Jezova (2004) Enriched environment influences adrenocortical response to immune challenge and glutamate receptor gene expression in rat hippocampus. *Ann N Y Acad Sci*, 1018, 273-280.
- Mogenson, G. J., D. L. Jones, C. Y. Yim (1980) From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog Neurobiol*, 14, 69-97.
- Mohanty, A., R. W. Flint, Jr. (2001) Differential effects of glucose on modulation of emotional and nonemotional spatial memory tasks. *Cogn Affect Behav Neurosci*, 1, 90-95.
- Mokler, D. J., J. R. Galler, P. J. Morgane (2003) Modulation of 5-HT release in the hippocampus of 30-day-old rats exposed in utero to protein malnutrition. *Brain Res Dev Brain Res*, 142, 203-208.
- Mollard, R. C., M. E. Gillam, T. M. Wood, C. G. Taylor, H. A. Weiler (2005) (n-3) fatty acids reduce the release of prostaglandin E2 from bone but do not affect bone mass in obese (fa/fa) and lean Zucker rats. *J Nutr*, 135, 499-504.
- Moller, D. E. (2000) Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab*, 11, 212-217.
- Monzon, M. E., S. R. De Barioglio (1999) Response to novelty after i.c.v. injection of melanin-concentrating hormone (MCH) in rats. *Physiol Behav*, 67, 813-817.
- Monzon, M. E., M. M. de Souza, L. A. Izquierdo, I. Izquierdo, D. M. Barros, S. R. de Barioglio (1999) Melanin-concentrating hormone (MCH) modifies memory retention in rats. *Peptides*, 20, 1517-1519.
- Moore, B. J. (1987) The cafeteria diet--an inappropriate tool for studies of thermogenesis. *J Nutr*, 117, 227-231.
- Mora, F., G. Segovia, A. del Arco (2007) Aging, plasticity and environmental enrichment: structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. *Brain Res Rev*, 55, 78-88.
- Moran, T. H., S. Gao (2006) Looking for food in all the right places? *Cell Metab*, 3, 233-234.
- Moriguchi, T., R. S. Greiner, N. Salem, Jr. (2000) Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration. *J Neurochem*, 75, 2563-2573.
- Morley, J. E., A. S. Levine, S. S. Murray, J. Kneip, M. Grace (1982) Peptidergic regulation of stress-induced eating. *Am J Physiol*, 243, R159-163.
- Morton, G. J., M. W. Schwartz (2001) The NPY/AgRP neuron and energy homeostasis. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 25 Suppl 5, S56-62.
- Naderali, E. K., S. H. Ratcliffe, M. C. Dale (2009) Obesity and Alzheimer's disease: a link between body weight and cognitive function in old age. *Am J Alzheimers Dis Other Demen*, 24, 445-449.
- Nag, N., T. J. Mellott, J. E. Berger-Sweeney (2008) Effects of postnatal dietary choline supplementation on motor regional brain volume and growth factor expression in a mouse model of Rett syndrome. *Brain Res*, 1237, 101-109.
- Nakaishi, S., Y. Nakai, J. Fukata, Y. Naito, T. Usui, M. Fukushima, H. Jingami, K. Nakao, H. Imura (1993) Immunoreactive corticotropin-releasing hormone levels in discrete hypothalamic nuclei of genetically obese Zucker rats. *Neurosci Lett*, 159, 29-31.
- Nakashima, Y., S. Yuasa, Y. Hukamizu, H. Okuyama, T. Ohhara, T. Kameyama, T. Nabeshima (1993) Effect of a high linoleate and a high alpha-linolenate diet on general behavior and drug sensitivity in mice. *J Lipid Res*, 34, 239-247.
- Napoli, I., J. K. Blusztajn, T. J. Mellott (2008) Prenatal choline supplementation in rats increases the expression of IGF2 and its receptor IGF2R and enhances IGF2-induced acetylcholine release in hippocampus and frontal cortex. *Brain Res*, 1237, 124-135.
- Ng, S. F., R. C. Lin, D. R. Laybutt, R. Barres, J. A. Owens, M. J. Morris (2010) Chronic high-fat diet in fathers programs beta-cell dysfunction in female rat offspring. *Nature*, 467, 963-966.
- Niederau, C., K. Meereis-Schwanke, H. Klonowski-Stumpe, L. Herberg (1997) CCK-resistance in Zucker obese versus lean rats. *Regul Pept*, 70, 97-104.

- O'Brien, M. D., R. P. Rhoads, S. R. Sanders, G. C. Duff, L. H. Baumgard (2010) Metabolic adaptations to heat stress in growing cattle. *Domest Anim Endocrinol*, 38, 86-94.
- Onaivi, E. S., J. W. Brock, C. Prasad (1992) Dietary protein levels alter rat behavior. *Nutr. Res.*, 12, 1025 - 1039.
- Oomura, Y., S. Aou, K. Fukunaga (2010) Prandial increase of leptin in the brain activates spatial learning and memory. *Pathophysiology*, 17, 119-127.
- Orosco, M., C. Rouch, F. Beslot, S. Feurte, A. Regnault, V. Dauge (2004) Alpha-lactalbumin-enriched diets enhance serotonin release and induce anxiolytic and rewarding effects in the rat. *Behav Brain Res*, 148, 1-10.
- Orozco-Solis, R., R. J. Matos, O. Guzman-Quevedo, S. Lopes de Souza, A. Bihouee, R. Houlgatte, R. Manhaes de Castro, F. Bolanos-Jimenez (2010) Nutritional programming in the rat is linked to long-lasting changes in nutrient sensing and energy homeostasis in the hypothalamus. *PLoS One*, 5, e13537.
- Palanza, P. (2001) Animal models of anxiety and depression: how are females different? *Neurosci Biobehav Rev*, 25, 219-233.
- Palmer, A. A., A. S. Brown, D. Keegan, L. D. Siska, E. Susser, J. Rotrosen, P. D. Butler (2008) Prenatal protein deprivation alters dopamine-mediated behaviors and dopaminergic and glutamatergic receptor binding. *Brain Res*, 1237, 62-74.
- Park, C. R., R. J. Seeley, S. Craft, S. C. Woods (2000) Intracerebroventricular insulin enhances memory in a passive-avoidance task. *Physiol Behav*, 68, 509-514.
- Park, S., S. M. Hong, I. S. Ahn (2009) Long-term intracerebroventricular infusion of insulin, but not glucose, modulates body weight and hepatic insulin sensitivity by modifying the hypothalamic insulin signaling pathway in type 2 diabetic rats. *Neuroendocrinology*, 89, 387-399.
- Peet, M. (2008) Omega-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of schizophrenia. *Isr J Psychiatry Relat Sci*, 45, 19-25.
- Pelchat, M. L. (2009) Food addiction in humans. *J Nutr*, 139, 620-622.
- Pelleymounter, M. A., M. J. Cullen, M. B. Baker, R. Hecht, D. Winters, T. Boone, F. Collins (1995) Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*, 269, 540-543.
- Pellow, S., P. Chopin, S. E. File, M. Briley (1985) Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods*, 14, 149-167.
- Pellow, S., S. E. File (1986) Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*, 24, 525-529.
- Perusse, L., Y. C. Chagnon, C. Bouchard (1998) Etiology of massive obesity: role of genetic factors. *World J Surg*, 22, 907-912.
- Pich, E. M., L. F. Agnati, I. Zini, P. Marrama, C. Carani (1993) Neuropeptide Y produces anxiolytic effects in spontaneously hypertensive rats. *Peptides*, 14, 909-912.
- Pickering, M., D. Cumiskey, J. J. O'Connor (2005) Actions of TNF-alpha on glutamatergic synaptic transmission in the central nervous system. *Exp Physiol*, 90, 663-670.
- Pisarska, M., J. J. Mulchahey, J. A. Welge, T. D. Geraciotti, Jr., J. W. Kasckow (2000) Age-related alterations in emotional behaviors and amygdalar corticotropin-releasing factor (CRF) and CRF-binding protein expression in aged Fischer 344 rats. *Brain Res*, 877, 184-190.
- Pissios, P., R. L. Bradley, E. Maratos-Flier (2006) Expanding the scales: The multiple roles of MCH in regulating energy balance and other biological functions. *Endocr Rev*, 27, 606-620.
- Prasad, A., C. Prasad (1996) Short-term consumption of a diet rich in fat decreases anxiety response in adult male rats. *Physiol Behav*, 60, 1039-1042.
- Prisby, R. D., J. M. Swift, S. A. Bloomfield, H. A. Hogan, M. D. Delp (2008) Altered bone mass, geometry and mechanical properties during the development and progression of type 2 diabetes in the Zucker diabetic fatty rat. *J Endocrinol*, 199, 379-388.
- Prut, L., C. Belzung (2003) The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol*, 463, 3-33.
- Qu, D., D. S. Ludwig, S. Gammeltoft, M. Piper, M. A. Pelleymounter, M. J. Cullen, W. F. Mathes, R. Przypek, R. Kanarek, E. Maratos-Flier (1996) A role for melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behaviour. *Nature*, 380, 243-247.
- Rankinen, T., A. Zuberi, Y. C. Chagnon, S. J. Weisnagel, G. Argyropoulos, B. Walts, L. Perusse, C. Bouchard (2006) The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)*, 14, 529-644.
- Rasmuson, S., T. Olsson, B. G. Henriksson, P. A. Kelly, M. C. Holmes, J. R. Seckl, A. H. Mohammed (1998) Environmental enrichment selectively increases 5-HT1A receptor mRNA expression and binding in the rat hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res*, 53, 285-290.

- Rauch, T. M., H. R. Lieberman (1990) Tyrosine pretreatment reverses hypothermia-induced behavioral depression. *Brain Res Bull*, 24, 147-150.
- Renard, G. M., M. M. Suarez, G. M. Levin, M. A. Rivarola (2005) Sex differences in rats: effects of chronic stress on sympathetic system and anxiety. *Physiol Behav*, 85, 363-369.
- Rex, A., T. Barth, J. P. Voigt, A. M. Domeney, H. Fink (1994) Effects of cholecystokinin tetrapeptide and sulfated cholecystokinin octapeptide in rat models of anxiety. *Neurosci Lett*, 172, 139-142.
- Rex, A., E. Morgenstern, H. Fink (2002) Anxiolytic-like effects of kava-kava in the elevated plus maze test--a comparison with diazepam. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 26, 855-860.
- Richardson, A. J. (2008) n-3 Fatty acids and mood: the devil is in the detail. *Br J Nutr*, 99, 221-223.
- Rocinholi, L. F., J. Landeira-Fernandez (2010) Anxiety-like behavior in weanling and young adult male and female malnourished rats. *Physiol Behav*.
- Rodgers, R. J., B. J. Cao, A. Dalvi, A. Holmes (1997) Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Braz J Med Biol Res*, 30, 289-304.
- Rodgers, R. J., P. Holch, A. J. Tallett (2010) Behavioural satiety sequence (BSS): Separating wheat from chaff in the behavioural pharmacology of appetite. *Pharmacol Biochem Behav*.
- Rodriguez, E., M. Monjo, S. Rodriguez-Cuenca, E. Pujol, B. Amengual, P. Roca, A. Palou (2001) Sexual dimorphism in the adrenergic control of rat brown adipose tissue response to overfeeding. *Pflugers Arch*, 442, 396-403.
- Rosenzweig, M. R., E. L. Bennett (1996) Psychobiology of plasticity: effects of training and experience on brain and behavior. *Behav Brain Res*, 78, 57-65.
- Ross, B. M., J. Seguin, L. E. Sieswerda (2007) Omega-3 fatty acids as treatments for mental illness: which disorder and which fatty acid? *Lipids Health Dis*, 6, 21.
- Rothwell, N. J., M. J. Stock (1981) Regulation of energy balance. *Annu Rev Nutr*, 1, 235-256.
- Rothwell, N. J., M. J. Stock (1988) The cafeteria diet as a tool for studies of thermogenesis. *J Nutr*, 118, 925-928.
- Rowland, D. L., T. S. Perrings, J. A. Thommes (1980) Comparison of androgenic effects on food intake and body weight in adult rats. *Physiol Behav*, 24, 205-209.
- Sagvolden, T. (2000) Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). *Neurosci Biobehav Rev*, 24, 31-39.
- Sahakian, B. J., C. Burdess, H. Luckhurst, P. Trayhurn (1982) Hyperactivity and obesity: the interaction of social isolation and cafeteria feeding. *Physiol Behav*, 28, 117-124.
- Sahu, A. (1998) Evidence suggesting that galanin (GAL), melanin-concentrating hormone (MCH), neurotensin (NT), proopiomelanocortin (POMC) and neuropeptide Y (NPY) are targets of leptin signaling in the hypothalamus. *Endocrinology*, 139, 795-798.
- Sajdyk, T. J., A. Shekhar, D. R. Gehlert (2004) Interactions between NPY and CRF in the amygdala to regulate emotionality. *Neuropeptides*, 38, 225-234.
- Salvati, S., L. Attorri, C. Avellino, A. Di Biase, M. Sanchez (2000) Diet, lipids and brain development. *Dev Neurosci*, 22, 481-487.
- Sanacora, G., M. Kershaw, J. A. Finkelstein, J. D. White (1990) Increased hypothalamic content of preproneuropeptide Y messenger ribonucleic acid in genetically obese Zucker rats and its regulation by food deprivation. *Endocrinology*, 127, 730-737.
- Sato, M., K. Uzu, T. Yoshida, E. M. Hamad, H. Kawakami, H. Matsuyama, I. A. Abd El-Gawad, K. Imaizumi (2008) Effects of milk fermented by *Lactobacillus gasseri* SBT2055 on adipocyte size in rats. *Br J Nutr*, 99, 1013-1017.
- Sattar, N., A. Gaw, O. Scherbakova, I. Ford, D. S. O'Reilly, S. M. Haffner, C. Isles, P. W. Macfarlane, C. J. Packard, S. M. Cobbe, J. Shepherd (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, 414-419.
- Scallet, A. C., J. W. Olney (1986) Components of hypothalamic obesity: bipiperidyl-mustard lesions add hyperphagia to monosodium glutamate-induced hyperinsulinemia. *Brain Res*, 374, 380-384.
- Schaefer, E. J., V. Bongard, A. S. Beiser, S. Lamon-Fava, S. J. Robins, R. Au, K. L. Tucker, D. J. Kyle, P. W. Wilson, P. A. Wolf (2006) Plasma phosphatidylcholine docosahexaenoic acid content and risk of dementia and Alzheimer disease: the Framingham Heart Study. *Arch Neurol*, 63, 1545-1550.
- Schildein, S., J. P. Huston, R. K. Schwarting (2000) Injections of tacrine and scopolamine into the nucleus accumbens: opposing effects of immediate vs delayed posttrial treatment on memory of an open field. *Neurobiol Learn Mem*, 73, 21-30.
- Schildein, S., J. P. Huston, R. K. Schwarting (2002) Open field habituation learning is improved by nicotine and attenuated by mecamlamine administered posttrial into the nucleus accumbens. *Neurobiol Learn Mem*, 77, 277-290.

- Schrauwen, P., K. R. Westerterp (2000) The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. *Br J Nutr*, 84, 417-427.
- Schulz, C., K. Paulus, H. Lehnert (2010) Adipocyte-brain: crosstalk. *Results Probl Cell Differ*, 52, 189-201.
- Sclafani, A., D. Springer (1976) Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. *Physiol Behav*, 17, 461-471.
- Segovia, G., A. del Arco, F. Mora (2009) Environmental enrichment, prefrontal cortex, stress, and aging of the brain. *J Neural Transm*, 116, 1007-1016.
- Shafat, A., B. Murray, D. Rumsey (2009) Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. *Appetite*, 52, 34-38.
- Shughrue, P. J., I. Merchenthaler (2000) Estrogen is more than just a "sex hormone": novel sites for estrogen action in the hippocampus and cerebral cortex. *Front Neuroendocrinol*, 21, 95-101.
- Sierra-Honigmann, M. R., A. K. Nath, C. Murakami, G. Garcia-Cardena, A. Papapetropoulos, W. C. Sessa, L. A. Madge, J. S. Schechner, M. B. Schwabb, P. J. Polverini, J. R. Flores-Riveros (1998) Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science*, 281, 1683-1686.
- Silver, A. J., J. E. Morley (1991) Role of CCK in regulation of food intake. *Prog Neurobiol*, 36, 23-34.
- Simansky, K. J., J. Jakubow, F. C. Sisk, A. H. Vaidya, K. Eberle-Wang (1992) Peripheral serotonin is an incomplete signal for eliciting satiety in sham-feeding rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 43, 847-854.
- Simon, G. E., M. Von Korff, K. Saunders, D. L. Miglioretti, P. K. Crane, G. van Belle, R. C. Kessler (2006) Association between obesity and psychiatric disorders in the US adult population. *Arch Gen Psychiatry*, 63, 824-830.
- Sinitskaya, N., S. Gourmelen, C. Schuster-Klein, B. Guardiola-Lemaitre, P. Pevet, E. Challet (2007) Increasing the fat-to-carbohydrate ratio in a high-fat diet prevents the development of obesity but not a prediabetic state in rats. *Clin Sci (Lond)*, 113, 417-425.
- Small, D. M., R. J. Zatorre, A. Dagher, A. C. Evans, M. Jones-Gotman (2001) Changes in brain activity related to eating chocolate: from pleasure to aversion. *Brain*, 124, 1720-1733.
- Smith, M. A., J. K. Foster (2008) Glucoregulatory and order effects on verbal episodic memory in healthy adolescents after oral glucose administration. *Biol Psychol*, 79, 209-215.
- Souza, C. G., J. D. Moreira, I. R. Siqueira, A. G. Pereira, D. K. Rieger, D. O. Souza, T. M. Souza, L. V. Portela, M. L. Perry (2007) Highly palatable diet consumption increases protein oxidation in rat frontal cortex and anxiety-like behavior. *Life Sci*, 81, 198-203.
- Sparks, J. D., T. L. Phung, M. Bolognino, J. Cianci, R. Khurana, R. G. Peterson, M. P. Sowden, J. P. Corsetti, C. E. Sparks (1998) Lipoprotein alterations in 10- and 20-week-old Zucker diabetic fatty rats: hyperinsulinemic versus insulinopenic hyperglycemia. *Metabolism*, 47, 1315-1324.
- Speliotes, E. K., C. J. Willer, S. I. Berndt et al. (2010) Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nat Genet*, 42, 937-948.
- Spencer, S. J., A. Tilbrook (2009) Neonatal overfeeding alters adult anxiety and stress responsiveness. *Psychoneuroendocrinology*, 34, 1133-1143.
- Stanek, L. M. (2006) Cocaine- and amphetamine related transcript (CART) and anxiety. *Peptides*, 27, 2005-2011.
- Steiger, J. L., M. J. Alexander, J. R. Galler, D. H. Farb, S. J. Russek (2003) Effects of prenatal malnutrition on GABAA receptor alpha1, alpha3 and beta2 mRNA levels. *Neuroreport*, 14, 1731-1735.
- Stevens, J. (2000) Impact of age on associations between weight and mortality. *Nutr Rev*, 58, 129-137.
- Stevens, K. E., C. E. Adams, T. J. Mellott, E. Robbins, M. A. Kisley (2008) Perinatal choline deficiency produces abnormal sensory inhibition in Sprague-Dawley rats. *Brain Res*, 1237, 84-90.
- Stone, W. S., G. L. Wenk, D. S. Olton, P. E. Gold (1990) Poor blood glucose regulation predicts sleep and memory deficits in normal aged rats. *J Gerontol*, 45, B169-173.
- Stoving, R. K., A. Andries, K. Brixen, A. Flyvbjerg, K. Horder, J. Frystyk (2009) Leptin, ghrelin, and endocannabinoids: potential therapeutic targets in anorexia nervosa. *J Psychiatr Res*, 43, 671-679.
- Strube, H. (2006) [It is never too late--nutrition in the elderly]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 49, 547-557.
- Stubbs, R. J. (1999) Peripheral signals affecting food intake. *Nutrition*, 15, 614-625.
- Sünram-Lea, S. I., J. K. Foster, P. Durlach, C. Perez (2002) Investigation into the significance of task difficulty and divided allocation of resources on the glucose memory facilitation effect. *Psychopharmacology (Berl)*, 160, 387-397.
- Sutcliffe, J. S., K. M. Marshall, J. C. Neill (2007) Influence of gender on working and spatial memory in the novel object recognition task in the rat. *Behav Brain Res*, 177, 117-125.

- Suzuki, M., C. T. Beuckmann, K. Shikata, H. Ogura, T. Sawai (2005) Orexin-A (hypocretin-1) is possibly involved in generation of anxiety-like behavior. *Brain Res*, 1044, 116-121.
- Sweeting, H., P. West, R. Young (2008) Obesity among Scottish 15 year olds 1987-2006: prevalence and associations with socio-economic status, well-being and worries about weight. *BMC Public Health*, 8, 404.
- Takeda, A., H. Tamano, F. Kan, T. Hanajima, K. Yamada, N. Oku (2008) Enhancement of social isolation-induced aggressive behavior of young mice by zinc deficiency. *Life Sci*, 82, 909-914.
- Takeuchi, T., M. Iwanaga, E. Harada (2003) Possible regulatory mechanism of DHA-induced anti-stress reaction in rats. *Brain Res*, 964, 136-143.
- Tallett, A. J., J. E. Blundell, R. J. Rodgers (2007) Grooming, scratching and feeding: role of response competition in acute anorectic response to rimonabant in male rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 195, 27-39.
- Tallett, A. J., J. E. Blundell, R. J. Rodgers (2010) Sibutramine & naloxone: infra-additive interaction in the regulation of appetite? *Behav Brain Res*, 207, 174-181.
- Teegarden, S. L., T. L. Bale (2007) Decreases in dietary preference produce increased emotionality and risk for dietary relapse. *Biol Psychiatry*, 61, 1021-1029.
- Teegarden, S. L., A. N. Scott, T. L. Bale (2009) Early life exposure to a high fat diet promotes long-term changes in dietary preferences and central reward signaling. *Neuroscience*, 162, 924-932.
- Thiel, C. M., J. P. Huston, R. K. Schwarting (1998) Hippocampal acetylcholine and habituation learning. *Neuroscience*, 85, 1253-1262.
- Thomas, D. R. (2007) Loss of skeletal muscle mass in aging: examining the relationship of starvation, sarcopenia and cachexia. *Clin Nutr*, 26, 389-399.
- Tokunaga, K., M. Fukushima, J. W. Kemnitz, G. A. Bray (1986) Comparison of ventromedial and paraventricular lesions in rats that become obese. *Am J Physiol*, 251, R1221-1227.
- Toth, M. J., E. T. Poehlman, D. E. Matthews, A. Tchernof, M. J. MacCoss (2001) Effects of estradiol and progesterone on body composition, protein synthesis, and lipoprotein lipase in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 280, E496-501.
- Toufexis, D. (2007) Region- and sex-specific modulation of anxiety behaviours in the rat. *J Neuroendocrinol*, 19, 461-473.
- Tryon, W. W. (1987) Activity as a function of body weight. *Am J Clin Nutr*, 46, 451-455.
- Tschop, M., M. L. Heiman (2002) Overview of rodent models for obesity research. *Curr Protoc Neurosci*, Chapter 9, Unit 9 10.
- Tsutsui, K., H. Sakamoto, H. Shikimi, K. Ukena (2004) Organizing actions of neurosteroids in the Purkinje neuron. *Neurosci Res*, 49, 273-279.
- Tulp, O. L., R. Frink, E. Danforth, Jr. (1982) Effect of cafeteria feeding on brown and white adipose tissue cellularity, thermogenesis, and body composition in rats. *J Nutr*, 112, 2250-2260.
- Unger, R. H., L. Orci (2001) Diseases of liporegulation: new perspective on obesity and related disorders. *Faseb J*, 15, 312-321.
- van Dijk, G., B. Buwalda (2008) Neurobiology of the metabolic syndrome: an allostatic perspective. *Eur J Pharmacol*, 585, 137-146.
- Varas, M., M. Perez, M. E. Monzon, S. R. de Barioglio (2002a) Melanin-concentrating hormone, hippocampal nitric oxide levels and memory retention. *Peptides*, 23, 2213-2221.
- Varas, M., M. Perez, O. Ramirez, S. R. de Barioglio (2002b) Melanin concentrating hormone increase hippocampal synaptic transmission in the rat. *Peptides*, 23, 151-155.
- Veldhorst, M., A. Smeets, S. Soenen, A. Hochstenbach-Waelen, R. Hursel, K. Diepvens, M. Lejeune, N. Luscombe-Marsh, M. Westerterp-Plantenga (2008) Protein-induced satiety: effects and mechanisms of different proteins. *Physiol Behav*, 94, 300-307.
- Vianna, M. R., M. Alonso, H. Viola, J. Quevedo, F. de Paris, M. Furman, M. L. de Stein, J. H. Medina, I. Izquierdo (2000) Role of hippocampal signaling pathways in long-term memory formation of a nonassociative learning task in the rat. *Learn Mem*, 7, 333-340.
- Viviani, B., F. Gardoni, M. Marinovich (2007) Cytokines and neuronal ion channels in health and disease. *Int Rev Neurobiol*, 82, 247-263.
- Voigt, J. P., J. P. Huston, M. Voits, H. Fink (1996) Effects of cholecystokinin octapeptide (CCK-8) on food intake in adult and aged rats under different feeding conditions. *Peptides*, 17, 1313-1315.
- Voigt, J. P., R. Schade, H. Fink, H. Hortnagl (2002) Role of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the control of food intake in obese Zucker rats of different ages. *Pharmacol Biochem Behav*, 72, 403-409.
- Voigt, J. P., H. Hortnagl, A. Rex, L. van Hove, M. Bader, H. Fink (2005) Brain angiotensin and anxiety-related behavior: the transgenic rat TGR(ASrAOGEN)680. In *Brain Res*, Vol. 1046, pp. 145-156.

- Voits, M., S. Forster, S. Rodel, J. P. Voigt, A. Plagemann, H. Fink (1996) Obesity induced by unspecific early postnatal overfeeding in male and female rats: hypophagic effect of CCK-8S. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 354, 374-378.
- Volkow, N. D., L. Chang, G. J. Wang, J. S. Fowler, Y. S. Ding, M. Sedler, J. Logan, D. Franceschi, J. Gatley, R. Hitzemann, A. Gifford, C. Wong, N. Pappas (2001) Low level of brain dopamine D2 receptors in methamphetamine abusers: association with metabolism in the orbitofrontal cortex. *Am J Psychiatry*, 158, 2015-2021.
- Volkow, N. D., R. A. Wise (2005) How can drug addiction help us understand obesity? *Nat Neurosci*, 8, 555-560.
- Von Diemen, V., E. N. Trindade, M. R. M. Trindade (2006) Experimental Model to Induce Obesity in Rats. *Acta Cirurgica Brasileira*, 21, 425-429.
- Wade, G. N. (1972) Gonadal hormones and behavioral regulation of body weight. *Physiol Behav*, 8, 523-534.
- Wade, G. N., J. M. Gray (1979) Gonadal effects on food intake and adiposity: a metabolic hypothesis. *Physiol Behav*, 22, 583-593.
- Wang, G. J., N. D. Volkow, J. Logan, N. R. Pappas, C. T. Wong, W. Zhu, N. Netusil, J. S. Fowler (2001) Brain dopamine and obesity. *Lancet*, 357, 354-357.
- Wetzler, S., V. Dumaz, M. Goubern, D. Tome, C. Larue-Achagiotis (2004) Intraperitoneal leptin modifies macronutrient choice in self-selecting rats. *Physiol Behav*, 83, 65-72.
- White, I. M., C. Whitaker, W. White (2006) Amphetamine-induced hyperlocomotion in rats: Hippocampal modulation of the nucleus accumbens. *Hippocampus*, 16, 596-603.
- Whitmer, R. A., E. P. Gunderson, E. Barrett-Connor, C. P. Quesenberry, Jr., K. Yaffe (2005) Obesity in middle age and future risk of dementia: a 27 year longitudinal population based study. *Bmj*, 330, 1360.
- Whitmer, R. A., D. R. Gustafson, E. Barrett-Connor, M. N. Haan, E. P. Gunderson, K. Yaffe (2008) Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later. *Neurology*, 71, 1057-1064.
- WHO (2000) Obesity: preventing and managing the global epidemic. WHO Technical Report Series, Genf, 894.
- Widdowson, P. S., L. Henderson, L. Pickavance, R. Buckingham, M. Tadayyon, J. R. Arch, G. Williams (1999) Hypothalamic NPY status during positive energy balance and the effects of the NPY antagonist, BW 1229U91, on the consumption of highly palatable energy-rich diet. *Peptides*, 20, 367-372.
- Wilding, J. P., S. G. Gilbey, C. J. Bailey, R. A. Batt, G. Williams, M. A. Ghatei, S. R. Bloom (1993) Increased neuropeptide-Y messenger ribonucleic acid (mRNA) and decreased neurotensin mRNA in the hypothalamus of the obese (ob/ob) mouse. *Endocrinology*, 132, 1939-1944.
- Williams, C. L. (2008) Food for thought: brain, genes, and nutrition. *Brain Res*, 1237, 1-4.
- Winestone, J. (2008) The welfare of laboratory animals: The effect of enrichment on the behaviour of Wistar and Sprague-Dawley rats. Dissertation Format - unpublished Data.
- Winocur, G., C. E. Greenwood (2005) Studies of the effects of high fat diets on cognitive function in a rat model. *Neurobiol Aging*, 26 Suppl 1, 46-49.
- Wong-Goodrich, S. J., M. J. Glenn, T. J. Mellott, J. K. Blusztajn, W. H. Meck, C. L. Williams (2008) Spatial memory and hippocampal plasticity are differentially sensitive to the availability of choline in adulthood as a function of choline supply in utero. *Brain Res*, 1237, 153-166.
- Wurtman, R. J., F. Hefti, E. Melamed (1980) Precursor control of neurotransmitter synthesis. *Pharmacol Rev*, 32, 315-335.
- Wurtman, R. J. (2008) Synapse formation and cognitive brain development: effect of docosahexaenoic acid and other dietary constituents. *Metabolism*, 57 Suppl 2, S6-10.
- Yamada, K., X. Yuan, S. Otabe, A. Koyanagi, W. Koyama, Z. Makita (2002) Sequencing of the putative promoter region of the cocaine- and amphetamine-regulated-transcript gene and identification of polymorphic sites associated with obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 26, 132-136.
- Yanik, T., G. Dominguez, M. J. Kuhar, E. M. Del Giudice, Y. P. Loh (2006) The Leu34Phe ProCART mutation leads to cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) deficiency: a possible cause for obesity in humans. *Endocrinology*, 147, 39-43.
- Yoon, G. A., H. J. Hwang (2006) Effect of soy protein/animal protein ratio on calcium metabolism of the rat. *Nutrition*, 22, 414-418.
- Young, S. N., S. E. Smith, R. O. Pihl, F. R. Ervin (1985) Tryptophan depletion causes a rapid lowering of mood in normal males. *Psychopharmacology (Berl)*, 87, 173-177.
- Young, S. N. (1996) Behavioral effects of dietary neurotransmitter precursors: basic and clinical aspects. *Neurosci Biobehav Rev*, 20, 313-323.

- Zanarini, M. C., F. R. Frankenburg (2003) omega-3 Fatty acid treatment of women with borderline personality disorder: a double-blind, placebo-controlled pilot study. *Am J Psychiatry*, 160, 167-169.
- Zeisel, S. H. (2008) Genetic polymorphisms in methyl-group metabolism and epigenetics: lessons from humans and mouse models. *Brain Res*, 1237, 5-11.
- Zhang, Y., R. Proenca, M. Maffei, M. Barone, L. Leopold, J. M. Friedman (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372, 425-432.
- Zheng, H., H. R. Berthoud (2007) Eating for pleasure or calories. *Curr Opin Pharmacol*, 7, 607-612.
- Zimmer, L., S. Hembert, G. Durand, P. Breton, D. Guilloteau, J. C. Besnard, S. Chalon (1998) Chronic n-3 polyunsaturated fatty acid diet-deficiency acts on dopamine metabolism in the rat frontal cortex: a microdialysis study. *Neurosci Lett*, 240, 177-181.

## **8 Vorveröffentlichungen**

### **Stock differences in Sprague-Dawley rats (Poster)**

Warneke W; Voigt JP; Rex A; Bert B. 18<sup>th</sup> European Students' Conference. Berlin, 7.-11.10.2007. European Journal of Medical Research, Vol. 12 (Suppl. IV). München: I. Holzapfel Verlag GmbH, 2007. - S. 103. ISBN:0949-2321

### **Behavioural analysis of two stocks of Sprague-Dawley rats obtained from different breeders (Poster)**

Warneke W; Fink H; Voigt JP; Rex A; Bert B. 49. Frühjahrstagung der DGPT. Mainz, 11.-13.3.2008. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, Vol. 377 (Suppl. 1). Berlin-Heidelberg: Springer, 2008. - S. 63. ISBN:0028-1298

### **Die Cafeteria Diät - Untersuchungen zur Diet Induced Obesity (Poster)**

Warneke W; Rex A; Fink H; Voigt J-P. 3. Doktorandensymposium am Fachbereich Veterinärmedizin. Berlin, 27.6.2008. Programm und Abstracts. Berlin: Mensch und Buch Verlag, 2008. - S. 62. ISBN: 9783866644120

### **Effect of Cafeteria Diet on Body Weight in Sprague-Dawley Rats of two different ages (Vortrag)**

Warneke W; Rex A; Fink H; Voigt J-P. 19<sup>th</sup> European Students' Conference. Berlin, 29.9. - 3.10.2008. European Journal of Medical Research, Vol. 13 (Suppl. I). München: I. Holzapfel Verlag GmbH, 2008. - S. 128. ISBN:0949-2321

### **Effects of a Cafeteria Diet in female Sprague-Dawley rats (Poster)**

Warneke W; Rex A; Fink H; Voigt J-P. 11<sup>th</sup> International congress of the European Association of Veterinary Pharmacology and Toxicology (EAVPT). Leipzig, 12.-16.6.2009. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Vol. 32 (Suppl. 1). England: Wiley-Blackwell, 2009. - S. 263-264. ISBN:0140-7783

### **Gender differences of Sprague-Dawley Rats fed a Cafeteria Diet (Poster)**

Warneke W. 20<sup>th</sup> European Students' Conference. Berlin, 4.-7.10.2009. European Journal of Medical Research Vol. 14 (Suppl. II). München: I. Holzapfel Verlag GmbH, 2009. - S. 178. ISBN:0949-2321

### **Age Effects in Sprague-Dawley Rats fed a Cafeteria Diet (Vortrag)**

Warneke W. 4. Doktorandensymposium am Fachbereich Veterinärmedizin. Berlin, 6.11.2009. Programm und Abstracts. Berlin: Mensch und Buch Verlag, 2009. - S. 42-43. ISBN: 9783866646834

### **Effekt einer Cafeteriadiät bei männlichen und weiblichen Sprague-Dawley Ratten zweier Altersstufen (Vortrag)**

Warneke W. 5. Doktorandensymposium am Fachbereich Veterinärmedizin / DRS Präsentations-seminar. Berlin, 2. 7. 2010. Programm und Abstracts. Berlin: Mensch und Buch Verlag, 2010. - S. 27 ISBN: 9783866648012

### **Does diet induced obesity affect behaviour? A study to detect impacts of age and gender (Poster)**

Warneke W, Voigt JP, Fink H. 7<sup>th</sup> International Ph.D. Symposium. Berlin Brain Days, 2010. Berlin, 1.-3.11.2010. Program and Abstracts. S. 87

## **9 Danksagung**

Mein größter Dank gilt meinen fantastischen Eltern, die mich in jeder Lebenslage ohne Wenn und Aber unterstützt haben. Ohne Euer Vertrauen, Euren Rückhalt und Eure Liebe wäre dieses Werk niemals zustande gekommen.

Des Weiteren möchte ich mich ganz besonders bei Frau Prof. Schäfer-Korting, Frau Prof. Fink und Herrn Prof. Voigt für die Überlassung des spannenden Themas, die wissenschaftliche Anleitung bei der Durchführung der Versuche und der Abfassung dieser Dissertation bedanken.

Der Stiftung der Deutschen Wirtschaft möchte ich nicht nur für die finanzielle Unterstützung mittels eines Promotionsstipendiums danken, sondern ebenso für die ideelle Förderung, die mich mit interessanten Persönlichkeiten zusammengebracht hat und es mir mehrfach ermöglichte, über den Tellerrand zu schauen.

Der AG Fink danke ich aufrichtig für ihre große Hilfsbereitschaft, die gute Arbeitsatmosphäre und eine tolle Zusammenarbeit. Besonders hervorzuheben ist Frau Sabine Jacobs, die gleichzeitig rechte Hand und Doktorandenseelsorge war. Eine bessere Zimmergenossin hätte ich mir nicht vorstellen können.

Bei den Mitarbeitern der AG Physiologie des Energiestoffwechsels des Deutschen Instituts für Ernährungsforschung unter der Leitung von Frau Prof. Klaus möchte ich mich für die Unterstützung bei der Auswertung der Blutfette bedanken. Frau Elke Thom gilt mein besonderer Dank für die hervorragende Hilfe bei den Präparationen des Fettgewebes.

Herrn Thomas Wright und Herrn Prof. Voigt danke ich für die Betreuung an der School of Veterinary Medicine and Science der University of Nottingham und für die fachliche Einweisung in die Untersuchung zur Behavioural Satiety Sequence.

Allen Doktoranden und Doktorandinnen sei für den regen Austausch – egal ob fachlich oder privat – gedankt. Es tut gut zu wissen, dass man mit Problemen nicht allein da steht. Darüber hinaus möchte ich mich aufrichtig bei den zwei guten Feen des Hauses – Frau Jäger und Frau Magunsky – für die vielen nützlichen Handgriffe bedanken.

Den Tierpflegern sei für die sorgsame Betreuung der Ratten gedankt.

Meinem Vater danke ich herzlich für das gewissenhafte Korrekturlesen dieses Schriftstückes.

Nicht zuletzt gilt mein ganz besonderer Dank dem Rest meiner Familie, meinen Freunden und meinem lieben Patrick. Eure Geduld und Euer Zuspruch haben mir viel Kraft gegeben.