

## **5 Diskussion**

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mögliche Interaktionen zwischen endogenem CCK und 5-HT bei der Kontrolle der Nahrungsaufnahme zu untersuchen.

Dabei wurde zunächst versucht, mittels zweier verschiedener Trypsininhibitoren die endogene Konzentration von CCK zu erhöhen und über die somit erhöhte Verfügbarkeit von CCK am Rezeptor eine Verstärkung des durch CCK ausgelösten hypophagen Effekts zu erzielen.

Anschließend wurde durch Gabe eines indirekten 5-HT Agonisten die Nahrungsaufnahme über das serotonerge System vermindert.

Abschließend wurde geprüft, ob sich durch die Kombination der am cholezystokinergen und am serotonergen System angreifenden Pharmaka synergistische Effekte auf die Nahrungsaufnahme erzeugen lassen oder nicht.

### **5.1 Cholezystokinin und Sättigung**

#### **Camostat und STI**

Seit der Entdeckung des Cholezystokinins konnten verschiedene Untersuchungen wiederholt einen sättigungsinduzierenden Effekt von vor allem exogenem CCK (CCK-8-S) nachweisen. Dabei galt es festzustellen, an welcher Stelle die hypophagische Wirkung des CCK zu suchen ist, wie der Wirkungsmechanismus zu erklären ist, in welchem Maße Cholezystokinin mit anderen Transmissionssystemen zentral und/oder peripher interagiert und nicht zuletzt, ob die sättigende Wirkung des CCK physiologisch ist.

Die Entwicklung selektiver CCK-1- und 2-Rezeptor-Antagonisten machte es im weiteren Verlauf möglich, die Nahrungsaufnahme zu stimulieren und den Sättigungseintritt zu verzögern. Wiederum ein anderer Ansatz, der auch in unserer Arbeit gewählt wurde, sind Untersuchungen mit Proteinaseinhibitoren. Mit der Vorstellung, einen möglichst physiologischen Ablauf der CCK-vermittelten Sättigung zu imitieren, wird durch die selektive Blockade von Proteasen im Gastrointestinaltrakt eine Abbauhemmung bewirkt, welche die Konzentration und Aktivität von endogenem CCK am Rezeptor erhöhen soll.

In dem ersten Teil unserer Arbeit versuchten wir, durch die orale Gabe von Camostat in einer Dosierung von 50,100 und 200mg/kg an nicht futterdeprivierten Ratten eine Reduzierung der Nahrungsaufnahme zu erreichen.

Dabei wurden die Fütterungsbedingungen dem Rhythmus der nachtaktiven Tiere angepasst, und die Messung des Futtermittelsverbrauchs erfolgte direkt nach Beginn der Dunkelphase.

Wir konnten zeigen, dass bei den mit 200mg/kg Camostat behandelten Ratten eine maximale Unterdrückung der Futteraufnahme von durchschnittlich 21% nach 4 Stunden erreicht werden konnte. Ein Effekt, der auch nach 24 Stunden noch anhaltend war.

Die Kontrollen des Körpergewichtes nach 24 Stunden zeigten, dass auch die Gewichtszunahme bei den mit 200mg/kg Camostat behandelten Ratten um durchschnittlich 35% vermindert war.

In Korrelation dazu zeigte sich auch der Wasserverbrauch nach 24 Stunden signifikant vermindert.

Durch die Vorbehandlung mit dem CCK-1-Rezeptor-Antagonisten Devazepid in einer Dosierung von 100µg/kg konnten der CCK-induzierte sättigende Effekt und die verminderte Gewichtszunahme antagonisiert werden.

Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass der durch die Erhöhung der CCK-Konzentration ausgelöste sättigende Effekt von Camostat über den CCK-1-Rezeptor vermittelt wird.

Damit stimmen unsere Untersuchungen mit den meisten bisher auf diesem Gebiet erzielten Ergebnissen überein.

So zeigten Garlicki et al., 1990 nach oraler Verabreichung von 200mg/kg Camostat an nicht-futterdeprivierte Ratten schon 30min nach Substanzgabe eine Verminderung der Nahrungsaufnahme um 36% (Garlicki et al., 1990). Gleichzeitig konnten sie eine signifikante Zunahme der Plasmakonzentration von CCK zeigen. Beide Effekte waren durch die Vorbehandlung mit Devazepid antagonisierbar.

Auch Weller et al., Reidelberger et al. und Moran et al. zeigten eine Beeinflussung der Nahrungsaufnahme über CCK-1-Rezeptoren. Nach Applikation des CCK-1-Rezeptor-Antagonisten Devazepid konnten sie einen dosisabhängigen stimulierenden Effekt auf die Nahrungsaufnahme bei Ratten und Affen beobachten. Die Applikation von L365,260, einem CCK-2-Rezeptor-Antagonisten dagegen hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Nahrungsaufnahme (Weller et al., 1990, Reidelberger et al., 1991, Moran et al., 1998).

Untersuchungen mit dem selektiven CCK-1-Rezeptoragonisten A-71378 (Lin et al., 1990) zeigten sich ebenfalls wirksam bei der Unterdrückung der Nahrungsaufnahme (Holladay et al., 1992, Voits et al., 1996b, Nr. 7.16.), so dass insgesamt davon ausgegangen werden kann, dass

der CCK-1-Rezeptor die sättigende Wirkung von endogenem CCK vermittelt (Übersichtsarbeiten Smith und Gibbs, 1992; Moran, 2000).

Diese Vermutung wurde auch durch Untersuchungen an s.g. OLETF (Otsuka Long Evans Tokushima Fatty) Ratten unterstützt. Dies sind Ratten, welche durch eine Deletion am CCK-1-Rezeptorgen den CCK-1-Rezeptor nicht bilden können. Die Ausbildung der CCK-2-Rezeptoren ist dagegen normal. Die OLETF-Ratten sind vorwiegend durch Fettleibigkeit und chronischen Diabetes mellitus charakterisiert (Funakoshi et al., 1995). Sie zeigen sich gegenüber der sättigenden Wirkung von endogenem oder exogenem CCK resistent und fressen in Tests über 24 Stunden mehr als die entsprechenden Kontrollratten. Insgesamt zeigen sie, dass das Fehlen des CCK-1-Rezeptors zu einem Sättigungsdefizit, einer Hyperphagie und schließlich zur Adipositas führt (Moran et al., 1998).

Im Gegensatz dazu zeigten Dourish et al. nach Gabe des CCK-2-Rezeptorantagonisten L365,260 einen verzögerten Sättigungseintritt, der im Vergleich zu Devazepid sogar stärker ausgeprägt war. Da beide Antagonisten die Blut-Hirn-Schranke passieren können, nahmen die Autoren daher an, dass die Sättigungswirkung des CCK zusätzlich über zentrale CCK-2-Rezeptoren vermittelt wird (Dourish et al., 1989a).

Insgesamt lässt sich festhalten, dass trotz der zum Teil divergierenden Ergebnisse in Bezug auf die CCK-Rezeptor-Antagonisten die meisten Studien die sättigende Wirkung von peripherem CCK, ob endogenen oder exogenen Ursprungs, über den CCK-1-Rezeptor belegen (Smith und Gibbs, 1992; Moran, 2000).

Studien, welche die Effekte von Cholezystokinin auf den Wasserverbrauch untersuchen gibt es bisher nur wenige.

1977 konnten Mueller und Hasiao zeigen, dass CCK keinen Einfluss auf die Wasseraufnahme bei Ratten besitzt. Sie nahmen daher an, dass der Effekt von CCK primär nur die Futteraufnahme beeinflusst und CCK als reiner Sättigungsfaktor fungiert (Mueller und Hasiao, 1977).

In Dosierungen, die üblicherweise die unkonditionierte Nahrungsaufnahme hungriger Ratten hemmen, wird auch durch CCK-8S nicht die Wasseraufnahme durstiger Ratten gehemmt (Gibbs et al. 1973, Voits et al. 1996a, Nr. 7.15.). Gelangen wasserdeprivierte Ratten dagegen über operant konditioniertes Verhalten an Wasser, kann CCK auch die Wasseraufnahme hemmen (Ebenezer 1996).

In unseren Untersuchungen war die Wasseraufnahme nach Camostatgabe vermindert. Geht man davon aus, dass CCK primär die Futteraufnahme beeinflusst, könnte man annehmen, dass der Wasserverbrauch mit der Menge der aufgenommenen Nahrung korreliert.

In einem weiteren Versuch ersetzen wir Camostat durch die Gabe von STI in einer Dosierung von 125, 200 und 500mg/kg.

Hier konnten wir zeigen, dass die orale Gabe von 500mg/kg STI eine Stunde nach Futterbeginn eine signifikante Unterdrückung der Nahrungsaufnahme um 34%, nicht aber eine Veränderung des Körpergewichtes nach 24 Stunden erbrachte. Ebenso waren die absolute Nahrungsaufnahme und der Wasserverbrauch nach 24 Stunden in allen behandelten Gruppen nicht unterschiedlich. Ein hypophagischer Effekt konnte demnach nachgewiesen werden, war aber ähnlich dem des Camostats eher schwach ausgeprägt und nur von kurzer Dauer.

Dieses Ergebnis steht im Einklang mit Untersuchungen von Weller et al. Sie zeigten einen hypophagischen Effekt von STI in jungen 9-12 Tage alten Ratten, welcher durch Devazepid antagonisierbar war. Somit bestätigten sie den sättigenden Effekt von endogenem CCK über CCK-1-Rezeptoren (Weller et al., 1990).

Im Widerspruch dazu stehen Arbeiten von Smith et al. 1989. Sie untersuchten die unterschiedlichen Wirkungen von endogenem und exogenem CCK. Hierzu gaben sie 17 Stunden futterdeprivierten Ratten 100-200mg/kg STI oral und verglichen die Effekte mit einer intraperitonealen Gabe von CCK-8-S (2-4µg/kg i.p.). Nach intragastrischer oder duodenaler Applikation von STI an hungrige Ratten konnten sie weder eine Verminderung der Nahrungsaufnahme noch eine Verlangsamung der Magenentleerung beobachten.

Im Gegensatz dazu zeigte die Verabreichung von exogenem zugeführtem CCK-8 beides: eine signifikante Verminderung der Nahrungsaufnahme und eine Verlangsamung der Magenentleerungsgeschwindigkeit.

Bei gleichzeitiger Messung der Plasmakonzentration von CCK fand sich aber nach STI-Gabe überraschenderweise ein sechs- bis neunmal höherer Plasmaspiegel von CCK als nach CCK-8-Gabe (Smith et al., 1989).

In Erwartung, dass eine Erhöhung der Plasmakonzentration von CCK einen dosisabhängigen hypophagischen Effekt ausüben würde, bleiben die unterschiedlichen Reaktionen auf die Nahrungsaufnahme dabei unklar.

Die Ursachen für diese zum Teil widersprüchlichen Befunde sind vielfältig. In Frage kommen u.a. Dosis, Applikationsort und -volumen, aber auch die Wahl des Antagonisten.

Da die häufig benutzten CCK-1- und -2-Antagonisten das Gehirn erreichen, wurde vermutet, dass sie ihre Wirkungen wenigstens teilweise auch über zentrale Mechanismen ausüben. So könnte man annehmen, dass aufgrund der unterschiedlichen Reaktionsweisen der selektiven

CCK-Antagonisten, unabhängig von dem Wirkort des CCK, eine zentrale Beeinflussung der Nahrungsaufnahme die Aktivierung bzw. Blockade sowohl von CCK-1- als auch CCK-2-Rezeptoren einschließen würde. Studien mit selektiven CCK-1- oder -2-Agonisten im Vergleich mit dem gemischten Agonisten CCK-8-S würden eventuell weitere Aufklärung bringen. Jedenfalls scheint die nach zentraler Applikation ausgelöste Sättigung nicht mit der peripher ausgelösten Sättigung identisch zu sein (Moran, 1998).

Des Weiteren könnte neben den Fütterungsbedingungen auch der Sättigungszustand (satt, hungrig) der Tiere eine Rolle spielen.

Otsuki et al. haben nach oraler Verabreichung von 100mg/kg Camostat zum einen an 12 Stunden futterdeprivierte und zum anderen an Ratten, die freien Zugang zu Nahrung hatten, schon nach 30 Minuten einen deutlichen Anstieg der Plasmakonzentration von CCK messen können. Dabei war der Anstieg bei den hungrigen Tieren signifikant höher. Gleichzeitig fanden sie heraus, dass bei hungrigen Ratten schon nach 2 Stunden wieder ein Konzentrationsabfall zu messen war, wogegen die CCK-Spiegel bei den nicht-futterdeprivierten Ratten kontinuierlich angestiegen und auch nach 12 Stunden noch erhöht messbar waren. Sie postulieren daher, dass Camostat je nach Sättigungszustand, unterschiedliche hypophagische Effekte bewirkt (Otsuki et al, 1993).

Dabei wurde die Plasmakonzentration von CCK unabhängig von der Art und Menge der jeweiligen Nahrungsaufnahme bestimmt. Da aber auch die Futteraufnahme an sich eine Freisetzung von endogenem CCK bewirkt (Liddle et al., 1986), besteht die Möglichkeit, dass dieser Prozess mit der Gabe von Trypsininhibitoren interferiert. Das könnte in unserer Arbeit der Fall gewesen sein, in welcher die Tiere freien Zugang zu Nahrung hatten und wir den stärksten hypophagischen Effekt durch Camostat erst nach 4 Stunden nachweisen konnten. Die zusätzlich durch die Nahrung bewirkte Erhöhung der Plasmakonzentration von CCK in Kombination mit Trypsininhibitoren könnte als Ursache des verzögerten Sättigungseintrittes angesehen werden. Insgesamt bleibt festzuhalten, dass, wenn auch sättigende Effekte von CCK bei verschiedenen Spezies beschrieben wurden, es innerhalb einer Spezies, wie z.B. der Ratte, wiederum verschiedene Faktoren gibt, die diese sättigenden Effekte beeinflussen können.

## 5.2 Serotonin und Sättigung

### Fenfluramin

Weiterhin untersuchten wir in unserer Arbeit die sättigungsinduzierende Wirkung des serotonergen Systems.

Hierzu erhielten die Ratten Fenfluramin in einer Dosierungen zwischen 0,3 und 9mg/kg i.p.. Hier zeigte sich eine dosisabhängige Verminderung der Nahrungsaufnahme, wobei bereits nach einer Stunde in der mit 1mg/kg behandelten Gruppe eine signifikante Unterdrückung der Nahrungsaufnahme zu beobachten war. Am nachhaltigsten war dieser Effekt in der mit 9mg/kg Fenfluramin behandelten Gruppe. Nach vier Stunden fraßen die Tiere insgesamt 90% weniger als die Kontrollgruppe.

Auch in Bezug auf die absolute Nahrungsaufnahme, das Körpergewicht und den Wasserverbrauch zeigten sich nach 24 Stunden noch signifikante Unterschiede. So fraßen die Tiere im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant weniger, nahmen sogar an Körpergewicht ab und zeigten außerdem einen um 25% signifikant verminderten Wasserverbrauch.

Somit ist ein sättigender Effekt von Fenfluramin in fast allen Dosierungen nachweisbar, sehr stark ausgeprägt und auch lange anhaltend.

Damit konnten wir in unserer Arbeit die hypophagische Wirkung des serotonergen Systems bestätigen.

Fenfluramin wirkt als indirekter Agonist am 5-HT-Rezeptor indem es die Freisetzung von 5-HT stimuliert und die Wiederaufnahme in die präsynaptischen Nervenendigungen hemmt. Es reduziert die Mahlzeitgröße und vermindert die Frequenz der Nahrungsaufnahme in verschiedenen Spezies einschließlich des Menschen. Um herauszufinden über welchen 5-HT-Rezeptorsubtypen Fenfluramin seine Wirkung entfaltet, zeigten Grignaschi und Samanin 1992 nach Vorbehandlung mit dem 5-HT<sub>1A/B</sub>-Antagonisten Cyanopindolol, dass sie die durch Fenfluramin-induzierte Reduktion der Mahlzeitgröße antagonisieren konnten. Dagegen antagonisierte der 5-HT<sub>2A/B</sub>-Antagonist Ritanserin nur die durch Fenfluramin-induzierte Verlangsamung der Fressrate, was die Vermutung nahe legte, dass die Effekte von Fenfluramin über verschiedene Rezeptoren vermittelt werden. 2001 behandelten Vickers et al. Ratten mit dem selektiven 5-HT<sub>2C</sub>-Antagonisten SB-242084 (0,3-3,0mg/kg) und konnten dosisabhängig den sättigungsinduzierenden Effekt von *d*-Fenfluramin und *d*-Norfenfluramin antagonisieren. Im Gegensatz dazu war die Gabe der selektiven 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptorantagonisten SB-215505 und RS-

127445, die Gabe des 5-HT<sub>2A</sub>-Antagonisten MDL 100,907 und Ketanserin oder die Gabe der 5-HT<sub>1A</sub>- und -B-Rezeptorantagonisten WAY 100635 (-1A) und GR-127935(-1B) und SB 224289(-1B) ohne Einfluss auf den durch Fenfluramin induzierten Sättigungsmechanismus (Vickers et al., 2001). Dies entspricht der Meinung von Mennini et al., welcher postuliert, dass der Metabolit des *d*-Fenfluramins, das *d*-Norfenfluramin, Affinität zum 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptorsubtyp besitzt und die Nahrungsaufnahme reduziert (Menini et al., 1991). Demzufolge könnte Fenfluramin nach Biotransformation als direkter Agonist am 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptor die Nahrungsaufnahme vermindern (Curzon et al., 1997; Vickers et al., 2001).

Neuere Arbeiten von Halford et al. bestätigen nochmals die besondere Rolle des 5-HT<sub>1B</sub> und -2C- Rezeptors im Zusammenhang mit der Sättigung. Sie zeigten, dass *d*-Fenfluramin, SSRIs und 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoragonisten wie mCPP die Kalorienaufnahme nicht nur bei Nagetieren, sondern auch bei schlanken und adipösen Menschen vermindern können. Nach klinischer Anwendung konnte nach der Behandlung mit *d*-Fenfluramin oder Sibutramin ein signifikanter Gewichtsverlust beobachtet werden, welcher nach Gabe von SSRIs ausblieb (Halford et al., 2005). Die besondere Rolle des 5-HT<sub>2C</sub> Rezeptors und die Entwicklung einer neuen Generation spezifischer 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptor-Agonisten wie z.B. Ro 60-0175, Org 12962 oder VER-3323 lassen auf eine Weiterentwicklung der medikamentösen Therapie der Adipositas hoffen.

5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren sind wahrscheinlich nicht an der anorektischen Wirkung des Fenfluramins beteiligt (Neill und Cooper, 1989), obwohl angenommen werden kann, dass sie bei der Kontrolle der Nahrungsaufnahme trotzdem eine Rolle spielen. So zeigten Versuche mit dem selektiven 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor-Antagonisten Odansetron (van der Hoek und Cooper, 1990; Hayes 2004, 2005, 2006) signifikante hypophagische Effekte bei nicht futterdeprivierten Ratten, worauf aber noch später eingegangen werden soll.

### **5.3 Kombinationsversuche**

Nachdem verschiedene pharmakologische Daten und Modelle eine Interaktion zwischen dem cholezystokinergen und dem serotonergen System gezeigt haben, widmeten wir uns im letzten Teil unserer Arbeit der möglichen koergistischen Wirkung zwischen CCK und 5-HT. Dabei ging es uns insbesondere um die CCKerge Beeinflussung der durch Fenfluramin induzierten Sättigung.

Dazu erhielten die Tiere vorerst eine effektive Dosis Camostat (200mg/kg) in Kombination mit einer subeffektiven Dosis Fenfluramin (1mg/kg). Im Vergleich zu den Einzelversuchen der

jeweiligen Substanzen war keine signifikante Zunahme des sättigenden Effektes zu beobachten. Auch die Kombination einer effektiven Camostatdosis (200mg/kg) mit einer effektiven Fenfluramindosis (3mg/kg) war ohne erkennbaren koergistischen Effekt. Übereinstimmend damit zeigten die gleichen Fenfluramindosen (1 und 3mg/kg) in Kombination mit 500mg/kg STI ebenfalls keinen interaktiven Effekt.

Dieses Ergebnis war für uns eher überraschend, da wir aufgrund des Modells von Dourish und Cooper (s.S.29) annahmen, dass ein indirekt wirkender Agonist am CCK-System und die damit bewirkte indirekte Erhöhung des endogenen CCKs in Kombination mit *d*-Fenfluramin über einen koergistischen Effekt am serotonergen System zumindest eine additive Wirkung und davon ausgehend, dass die erhöhte Plasmakonzentration von CCK das serotonerge System noch stimuliert, sogar eine Potenzierung der Wirkung verursacht.

Die Annahme, dass der fehlende Koergismus der Substanzen auf eine Wirkungsabschwächung des Fenfluramins zum Meßzeitpunkt zurückzuführen sein könnte (stärkste Wirksamkeit von Fenfluramin nach zwei Stunden und von Camostat nach vier Stunden), konnte durch eine vorzeitige Behandlung mit Camostat ebenfalls ausgeschlossen werden.

Basierend auf dem Modell von Dourish et al. resultieren daher folgende Fragen:

1. Besitzt endogenes CCK vielleicht nur eine periphere Sättigungswirkung, so dass eine Aktivierung zentraler 5-HT- Rezeptoren verfehlt wurde?
2. Unterliegt die hypophagische Wirkung der Trypsininhibitoren noch anderen bisher weniger beachteten Effekten?
3. War die Wirkung der Trypsininhibitoren zu schwach bzw. die von Fenfluramin zu stark, so dass eine Dysbalance der beiden Systeme das Ausbleiben der Interaktion bewirkte?
4. Welche Rezeptoren oder Rezeptorsubtypen vermitteln die Interaktionen von 5-HT und CCK?
5. Gibt es Situationen, in denen Interaktionen von CCK und 5-HT nicht auftreten, oder in denen sie modifiziert werden?

Da mehrfach Interaktionen zwischen cholezystokinergem und serotonergem System beschrieben wurden und das von Cooper und Dourish entwickelte Modell besagt, dass ein enges Zusammenspiel des CCKergen und serotonergen Systems notwendig ist, um die Sättigung zur



vollen Ausprägung zu bringen (Abb.2), stellt sich die Frage, warum in unserer Arbeit keine Interaktion gezeigt werden konnte.

Da wir im Vergleich zu Dourish et al. anstelle von CCK- Antagonisten oder exogenem CCK mit einer indirekten Erhöhung von endogenem CCK arbeiteten, ist die Frage, ob die hypophagische Wirkung des endogenen CCKs vielleicht von vornherein nur peripher stattfand und damit die Aktivierung zentraler Strukturen verfehlte.

Untersuchungen welche sich mit der Frage beschäftigen, ob die Wirkungen des CCK peripher oder zentral stattfinden, wurden u.a. von Ebenezer et al. durchgeführt. Sie zeigten, dass die Gabe der nicht liquorgängigen CCK-1-Rezeptorantagonisten (2-NAP und A70104) keinen stimulierenden Einfluss auf die Nahrungsaufnahme haben. Interessanterweise war aber der durch exogenes CCK (CCK-8-S) induzierte sättigende Effekt durch beide CCK-1-Rezeptorantagonisten antagonisierbar. Sie postulierten daher, dass die Sättigungswirkung des Cholezystokinins, zumindest nach externer Applikation, zusätzlich zentralen Mechanismen unterliegt (Ebenezer et al., 1994, 1995, 2003).

Im Widerspruch dazu stehen Untersuchungen von Reidelberger et al., Brenner et al. und Corp et al. die zeigen konnten, dass beide, A70104 und Devazepid (liquorgängig), die Nahrungsaufnahme stimulieren, den Effekt von exogenem CCK blockieren und außerdem den anorektischen Effekt einer oral verabreichten Lipidlösung vermindern. Außerdem zeigten sie, dass die Sättigungswirkungen von CCK-8 und der Lipidlösung nur durch peripher, nicht aber durch zentral verabreichtes Devazepid antagonisiert werden konnte. Sie gehen daher von einer vorwiegend peripheren Wirkung des endogenen und exogenen CCKs aus und halten eine zentral vermittelte Sättigungswirkung des Devazepids über zentrale CCK-1-Rezeptoren für eher unwahrscheinlich (Reidelberger et al., 2003; Brenner et al, 1998; Corp et al., 1997).

Betrachtet man die Ergebnisse unserer Arbeit, wird deutlich, dass die Wirkung der Trypsininhibitoren eher schwach ist. Geht man zusätzlich davon aus, dass Devazepid vorwiegend peripher wirkt und der hypophagische Effekt der Trypsininhibitoren durch die Blockade von CCK-1-Rezeptoren antagonisierbar ist, muss deren Wirkung ebenfalls eher peripher stattfinden. Basierend auf dieser Annahme würden die resultierenden Effekte der Trypsininhibitoren nicht ausreichen, um mit zentralen Strukturen des serotonergen Systems zu interagieren.

Da Fenfluramin seine Sättigungswirkung im Wesentlichen über zentrale 5-HT<sub>2C</sub>- Rezeptoren entfaltet (Halford et al, 2005), wäre in diesem Falle eine voneinander unabhängige Sättigungswirkung der beiden Transmissionssysteme denkbar.

Die meisten Untersuchungen, die eine Interaktion zwischen CCKergen und serotonerem System beschreiben, wurden mit exogenem CCK durchgeführt. Insbesondere die Einführung der zerebralen Mikrodialysetechnik konnte zeigen, dass exogenes CCK in entsprechenden Dosierungen im Gehirn eine 5-HT-Freisetzung bewirkt. So zeigten Voigt et al., dass bei futterdeprivierten Ratten zum einen nach Nahrungsaufnahme und zum anderen nach Gabe von CCK-8-S eine signifikante Erhöhung der extrazellulären 5-HT-Konzentration im lateralen Hypothalamus gemessen werden konnte. Dies belegte messbar die Aktivitätssteigerung des serotonergen Systems nach Gabe von exogenem CCK und nach Nahrungsaufnahme (Voigt et al., 1998).

Um die Hypothese zu prüfen, ob endogenes CCK tatsächlich keinen Einfluss auf die zentrale 5-HT-Freisetzung besitzt, wären ähnliche Untersuchungen interessant, welche mittels Mikrodialysetechnik die zentrale 5-HT-Freisetzung nach Camostatgabe prüfen.

Interessant wären aber auch vergleichende Untersuchungen, welche zum Einen nach Gabe von Trypsininhibitoren und zum Andern nach Gabe von CCK-8-S neben dem Verlauf der Plasmakonzentration von CCK gleichzeitig die 5-HT-Konzentrationen im lateralen Hypothalamus beobachten würden. So könnte eine Aussage darüber gemacht werden, ob und ab welcher Plasmakonzentration von CCK eine Stimulation des serotonergen Systems stattfindet. Erste Ergebnisse hierzu erbrachten Dourish und Cooper 1990, als sie umgekehrt zeigen konnten, dass der sättigende Effekt des Fenfluramins oder von systemisch verabreichten 5-HT durch die Gabe von Devazepid blockiert werden konnte (Cooper und Dourish 1990b, 1992).

Die nächste Frage beschäftigt sich damit, ob die Wirkungen von endogenem und exogenem CCK miteinander vergleichbar sind oder ob die hypophagischen Effekte des endogenen CCK noch komplexeren physiologischen Mechanismen unterliegen als die des exogen verabreichten CCK-8-S.

Diese Vermutung ist wahrscheinlich, da nach Zusammenschau verschiedener Untersuchungen die sättigungsinduzierende Wirkung der Trypsininhibitoren nicht eindeutig scheint. Messungen der Plasmakonzentration von CCK nach Gabe von Trypsininhibitoren vs. CCK-8-S haben schon mehrfach gezeigt, dass STI und Camostat deutlich höhere Plasmakonzentrationen von CCK induzieren als CCK-8-S (Weller et. al., 1990, Garlicki et al., 1990).

Da die Höhe der Plasmakonzentration von CCK entgegen den Erwartungen demnach nicht mit einer konzentrationsabhängigen Sättigungswirkung korreliert, müssen noch andere Mechanismen die hypophagische Wirkung des endogenen CCK vermitteln.

Dabei spielen vor allem durch CCK vermittelte Reize parakriner, neuroendokriner oder hormoneller Art eine Rolle, welche unter physiologischen Bedingungen den frühen Eintritt von Sättigung modulieren und die Mahlzeitgröße kontrollieren (Moran und Kinzig 2004).

Auch durch Magendehnung und Nahrungszusammensetzung aktivierte afferente Erregungsbahnen des N. vagus könnten zentrales CCK neuronal aktivieren und in den 5-HT vermittelten Sättigungseffekt eingreifen (Hayes et al. 2006).

Hiergegen spricht in unserem Falle allerdings, dass die hypophagische Wirkung der Trypsininhibitoren wie auch die hypophagische Wirkung von CCK-8-S durch die Gabe des CCK-1-Rezeptorantagonisten Devazepid antagonisierbar waren, sodass zumindest ein Teil der hypophagischen Wirkung über CCK-1- Rezeptoren vermittelt wird.

Da bekannt ist, dass durch Beschränkung des Futterzugangs auf vier Stunden täglich bei Ratten auch der zentrale 5-HT-Stoffwechsel beeinflusst wird (Haleem und Haider et al., 1996), kann vermutet werden, dass auch noch andere Variablen Ursachen veränderter CCK-5-HT-Interaktionen sein können, bzw. Interaktionen nicht unter allen Bedingungen stattfinden.

Die folgende Frage beschäftigt sich mit einem möglichen Ungleichgewicht der beiden Transmissionssysteme. Die anorektische Wirkung des Fenfluramins ist durch viele Studien ausreichend gesichert und jederzeit reproduzierbar und damit in der Regel ein geeignetes Instrument, um pharmakologische Effekte und Interaktionen sichtbar zu machen und zu untersuchen.

An den Ergebnissen unserer Untersuchungen fällt auf, dass die sättigende Wirkung des Fenfluramins im Vergleich zu den Trypsininhibitoren sehr viel stärker und im Verlauf von 24 Stunden auch deutlicher ausgeprägt war. Damit wurde ein sehr starkes mit einem eher schwachen anorexinogenem Pharmakon verglichen und kombiniert. Geht man davon aus, dass es sich unter physiologischen Verhältnissen im Körper um sehr fein abgestimmte Interaktionen zwischen zwei unterschiedlichen Transmissionssystemen handelt, stellt sich die Frage, ob Fenfluramin durch seine dominierende Wirkung nicht massiv in den Regulationsmechanismus des cholezystokinergen Systems eingegriffen hat und somit der eher schwache hypophagische Effekt von Camostat oder STI nicht zum Tragen kommen konnte.

Auf der anderen Seite reichte aber auch der sättigungsinduzierende Effekt des Camostats nicht aus, um von einer subeffektiven Fenfluramindosis beeinflusst werden zu können. Hier stellt sich wiederum die Frage, ob die hypophagische Wirkung der beiden Proteinaseinhibitoren, obwohl durchweg reproduzierbar und konstant, insgesamt zu schwach war, um das serotonerge System

zu stimulieren oder ob umgekehrt die Wirkung des Camostats über die eher schwache Fenfluramindosis dominierte.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass offensichtlich die Balance zwischen beiden Transmissionssystemen nicht ausgeglichen war und entweder jeweils ein System dominierte oder die Wirkung des einen nicht ausreichte, um mit dem anderen zu interagieren.

Zum Schluss interessiert die Frage, welche 5-HT-Rezeptorsubtypen genau an der CCK-vermittelten Sättigungswirkung eine Rolle spielen.

Erste Untersuchung hierzu wurden zunächst von Poeschla et al. (1993) vorgenommen. Anhand ihrer Daten schlussfolgerten sie, dass die CCK-induzierte Sättigung über den 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptor vermittelt wird. Außerdem konnten sie 1992 nachweisen, dass die Aktivierung des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptors mit 8-OH-DPAT die CCK-induzierte Sättigung vermindert (Poeschla et al., 1992). Eine Hypothese, welche von Ebenezer und Brooman (1994) allerdings nicht bestätigt werden konnte.

Auf den Untersuchungen von Poeschla (1992) aufbauend haben Voigt et al. 1995 weitere Aspekte zur Rolle des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptors bei Interaktionen von 5-HT und CCK untersucht. Sie konnten zeigen, dass die hyperphage Wirkung von 8-OH-DPAT durch verschiedene Dosierungen von CCK vermindert werden konnte. Dieses Ergebnis unterstützt ebenfalls die Vorstellung, dass CCK und 5-HT bei der Kontrolle der Nahrungsaufnahme interagieren.

Doch nicht zuletzt durch den Mangel an hochselektiven Agonisten bedingt kann gegenwärtig noch nicht ausgeschlossen werden, dass neben den 5-HT<sub>1A/B</sub> und 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoren auch andere Subtypen für die Vermittlung von Sättigung von Bedeutung sind.

So sind z.B. kürzlich neuere Arbeiten von Hayes et al. erschienen, welche eine Interaktion zwischen CCK-1- und 5-HT-3-Rezeptoren belegen (Hayes et al., 2004, 2005).

Sie konnten 2004 zeigen, dass eine durch CCK-8 induzierte Sättigung einmal durch den CCK-1-Antagonisten Lorglumide und zum anderen durch den hochselektiven 5-HT-3-Antagonisten Odansetron antagonisiert werden konnte. Die gleichzeitige Gabe beider Antagonisten zeigte eine positiv koergistische Wirkung und bestätigte das schon von Dourish und Cooper entwickelte Modell, in dem es durch eine Interaktion zwischen CCK und Serotonin zu einer Verstärkung der Sättigungswirkung kam (Hayes et al., 2004).

In einer anderen Arbeit von 2005 zeigten sie des Weiteren, dass eine durch 5-HT induzierte Sättigung nur durch Gabe von Odansetron, nicht aber durch Gabe von Lorglumide antagonisiert werden konnte. Sie schlossen daraus, dass die Sättigungswirkung des 5-HT über 5-HT-3-Rezeptoren, nicht aber über CCK-1-Rezeptoren wirken kann.

Gleichzeitig konnten sie in dieser Arbeit nachweisen, dass durch eine Kombinationsbehandlung von 5-HT und CCK-8 im Vergleich zu der Gabe von 5-HT oder CCK-8 alleine, ein synergistischer Sättigungseffekt erreicht werden konnte. D.h. über die zusätzliche Aktivierung des cholezystokinergen Systems konnte eine Aktivitätssteigerung der 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren erzielt und die Abhängigkeit der beiden Transmissionssysteme untereinander bewiesen werden (Hayes et al., 2005).

Auf dem Boden der Untersuchungen von Hayes et al. könnte ein neuer Versuchsansatz die Interaktionen zwischen endogenem CCK und 5-HT<sub>3</sub>- Rezeptoren untersuchen. Ziel wäre es, wiederum durch Gabe von Trypsininhibitoren eine Aktivitätssteigerung des CCKergen Systems zu erreichen und die Sättigungswirkung über 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren mit Hilfe des selektiven 5-HT<sub>3</sub>-Antagonisten Odanetron zu beeinflussen. Die Frage ist, ob sich die durch Trypsininhibitoren erzeugte Sättigung durch Odanetron antagonisieren lässt und ob sich durch die gleichzeitige Gabe von Devazepid und Odanetron eine Verstärkung der Sättigungswirkung erreichen ließe.

Auch wenn unsere eigenen Untersuchungen eine Interaktion von CCK und 5-HT nicht bestätigen konnten, nehmen wir an, dass die beiden Transmissionssysteme in den Sättigungsmechanismus eingreifen, sich gegenseitig beeinflussen und insbesondere durch eine gemeinsame Endstrecke ihre sättigende Wirkung verstärken. Dabei stellt sich die Frage, ob es Situationen gibt, in denen Interaktionen von CCK und 5-HT nicht auftreten, bzw. in denen sie modifiziert werden?

Da weder zwischen Camostat und Fenfluramin noch zwischen STI und Fenfluramin synergistische Wirkungen nachweisbar waren und auch additive Wirkungen nicht beobachtet werden konnten, könnte man annehmen, dass Interaktionen von CCK und 5-HT nicht unter allen Bedingungen stattfinden.

Dieses Resultat unterstützt die Vorstellung, dass Interaktionen von Sättigungsmechanismen das Nahrungsaufnahmeverhalten koordinieren, aber nicht in jeder Situation erforderlich sind. Unser Verständnis dieser Interaktionen erfordert demnach also auch die Kenntnis der Situationen, unter denen diese Interaktionen nicht auftreten und sollte bei zukünftigen Untersuchungen mit berücksichtigt werden.

Insgesamt lässt sich festhalten, dass die Komplexität der gesamten Energiehomöostase mit den vielen Regulationsmechanismen auch weiterhin eine große Herausforderung für die Forschung darstellt.

Um die pathophysiologische Regulation der Nahrungsaufnahme als Ganzes besser verstehen zu können, gehört neben einer weiteren Separierung der einzelnen Regulationsmechanismen auch das Verständnis über das komplexe Zusammenspiel der verschiedenen Transmissionsysteme. Deren Erkenntnisse bilden wiederum die Grundlage für die Durchführung weiterer pharmakologischer Studien und können damit geeigneter Ansatzpunkt für eine Weiterentwicklung der medikamentösen Therapie gewichtsassoziierter Erkrankungen sein.