
3. ERGEBNISSE

3.1 Ergebnisse der verhaltensbiologischen Experimente

3.1.1 Effekte von Ghrelin und Bombesin auf die Nahrungsaufnahme

Das Ziel dieses Experiments war es zu überprüfen, ob Bombesin die Ghrelin induzierte Nahrungsaufnahme beeinflusst. Hierzu erhielten die Tiere intraperitoneale Injektionen mit entweder Vehikel, Ghrelin (13 µg/kg KG), Bombesin (4 µg/kg KG oder 8 µg/kg KG) oder simultan Ghrelin (13 µg/kg KG) und Bombesin (4 µg/kg KG oder 8 µg/kg KG).

Ghrelin (13 µg/kg KG, Vehikel + 13 µg Ghrelin-Gruppe) führte zu einem signifikanten Anstieg der Nahrungsaufnahme im Vergleich zur Vehikel + Vehikel-Gruppe innerhalb der ersten 30 Minuten nach der ip. Injektion ($X \pm \text{SEM}$: $3,66 \pm 0,80$ g/kg KG vs. $1,68 \pm 0,42$ g/kg KG; $p < 0,0087$, Abbildung 3.1, Tabelle 3.1). Die simultane Applikation von Ghrelin und Bombesin in niedriger Dosierung (4 µg/kg KG, 13 µg Ghrelin + 4 µg Bombesin-Gruppe) hatte keinen hemmenden Effekt auf die Ghrelin induzierte Nahrungsaufnahme innerhalb der ersten 30 Minuten des Messzeitraums ($3,24 \pm 0,66$ g/kg KG; $p > 0,59$, Abbildung 3.1). Im Gegensatz dazu führte die simultane Gabe von Ghrelin und 8 µg/kg KG Bombesin (13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin-Gruppe) zu einer Blockierung der Ghrelin induzierten Nahrungsaufnahme in der ersten halben Stunde nach ip. Injektion ($1,18 \pm 0,41$ g/kg KG; $p < 0,002$, Abbildung 3.1). Die Applikation von Bombesin allein in den verschiedenen Dosierungen (4 µg/kg KG und 8 µg/kg KG, Vehikel + 4 µg Bombesin- und Vehikel + 8 µg Bombesin-Gruppe) zeigte innerhalb der ersten 30 Minuten des Messzeitraums eine Reduktion der Nahrungsaufnahme im Vergleich zur Vehikel + Vehikel-Gruppe ($1,08 \pm 0,44$ g/kg KG; $p > 0,45$ und $0,55 \pm 0,34$ g/kg KG; $p > 0,16$, Abbildung 3.1). Diese Unterschiede waren als Trend erkennbar, erreichten aber keine statistische Signifikanz.

Auch nach einem Messzeitraum von einer Stunde zeigte die Vehikel + 13 µg Ghrelin-Gruppe eine signifikant höhere Nahrungsaufnahme als die Vehikel + Vehikel-Gruppe ($4,74 \pm 0,85$ g/kg KG vs. $2,72 \pm 0,64$ g/kg KG; $p < 0,03$, Abbildung 3.1, Tabelle 3.1). Dieser signifikante Unterschied bestand außer zur 13 µg Ghrelin + 4 µg Bombesin-Gruppe ($3,85 \pm 0,57$ g/kg KG; $p > 0,37$) zu allen anderen Gruppen ($p < 0,0017$ vs. 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin; $p < 0,0005$ vs. Vehikel + 4 µg Bombesin; $p < 0,0011$ vs. Vehikel + 8 µg Bombesin, Abbildung 3.1). Die Vehikel + Vehikel-Gruppe zeigte außer zur Vehikel + 13 µg Ghrelin-Gruppe nach einer Stunde keine weiteren signifikanten Unterschiede zu anderen Gruppen (Abbildung 3.1).

Nach dem Messzeitraum von zwei Stunden zeigte sich in der Vehikel + 13 µg Ghrelin-Gruppe eine signifikant höhere kumulative Nahrungsaufnahme sowohl gegenüber der 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin-Gruppe ($6,18 \pm 1,16$ g/kg KG vs. $1,63 \pm 0,46$ g/kg KG; $p < 0,0007$, Abbildung 3.1) als auch gegenüber der Vehikel + 8 µg Bombesin-Gruppe ($2,39 \pm 1,23$ g/kg KG; $p < 0,0045$, Abbildung 3.1), nicht aber gegenüber der Vehikel + Vehikel-Gruppe ($4,24 \pm 0,79$ g/kg KG; $p > 0,11$, Abbildung 3.1). Die Applikation von Bombesin allein in den verschiedenen Dosierungen (Vehikel + 4 µg Bombesin- und Vehikel + 8 µg Bombesin-Gruppe) zeigte weder nach einer noch nach zwei Stunden des Messzeitraums signifikante Änderungen der kumulativen Nahrungsaufnahme im Vergleich zur Vehikel + Vehikel-Gruppe (Abbildung 3.1, Tabelle 3.1).

Tabelle 3.1: Kumulative Nahrungsaufnahme in den Versuchsgruppen über den Messzeitraum von zwei Stunden als Mittelwert (X) und Standardabweichung des Mittelwerts (SEM)

* $p < 0,0087$ vs. Vehikel + Vehikel; # $p < 0,002$ vs. 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin; x $p < 0,0017$ vs. Vehikel + 4 µg Bombesin; & $p < 0,0002$ vs. Vehikel + 8 µg Bombesin; ● $p < 0,03$ vs. Vehikel + Vehikel; ○ $p < 0,0017$ vs. 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin; ■ $p < 0,0005$ vs. Vehikel + 4 µg Bombesin; □ $p < 0,0011$ vs. Vehikel + 8 µg Bombesin; ▲ $p < 0,0007$ vs. 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin; Δ $p < 0,0045$ vs. Vehikel + 8 µg Bombesin

Versuchsgruppe	Kumulative Nahrungsaufnahme (g/kg KG) als X ± SEM zu den Messzeitpunkten (h) nach ip. Injektion			Anzahl
	0,5	1	2	
Vehikel + Vehikel	$1,68 \pm 0,42$	$2,72 \pm 0,64$	$4,24 \pm 0,79$	20
Vehikel + 4 µg/kg KG Bombesin	$1,08 \pm 0,44$	$1,08 \pm 0,44$	$3,62 \pm 0,88$	15
Vehikel + 8 µg/kg KG Bombesin	$0,55 \pm 0,34$	$1,36 \pm 1,05$	$2,39 \pm 1,23$	15
Vehikel + 13 µg/kg KG Ghrelin	$3,66 \pm 0,80^{* \# x \&}$	$4,74 \pm 0,85^{\bullet \circ \blacksquare \square}$	$6,18 \pm 1,16^{\blacktriangle \Delta}$	20
13 µg/kg KG Ghrelin + 4 µg/kg KG Bombesin	$3,24 \pm 0,66$	$3,85 \pm 0,57$	$4,74 \pm 0,61$	15
13 µg/kg KG Ghrelin + 8 µg/kg KG Bombesin	$1,18 \pm 0,41$	$1,50 \pm 0,41$	$1,63 \pm 0,46$	15

Abbildung 3.1

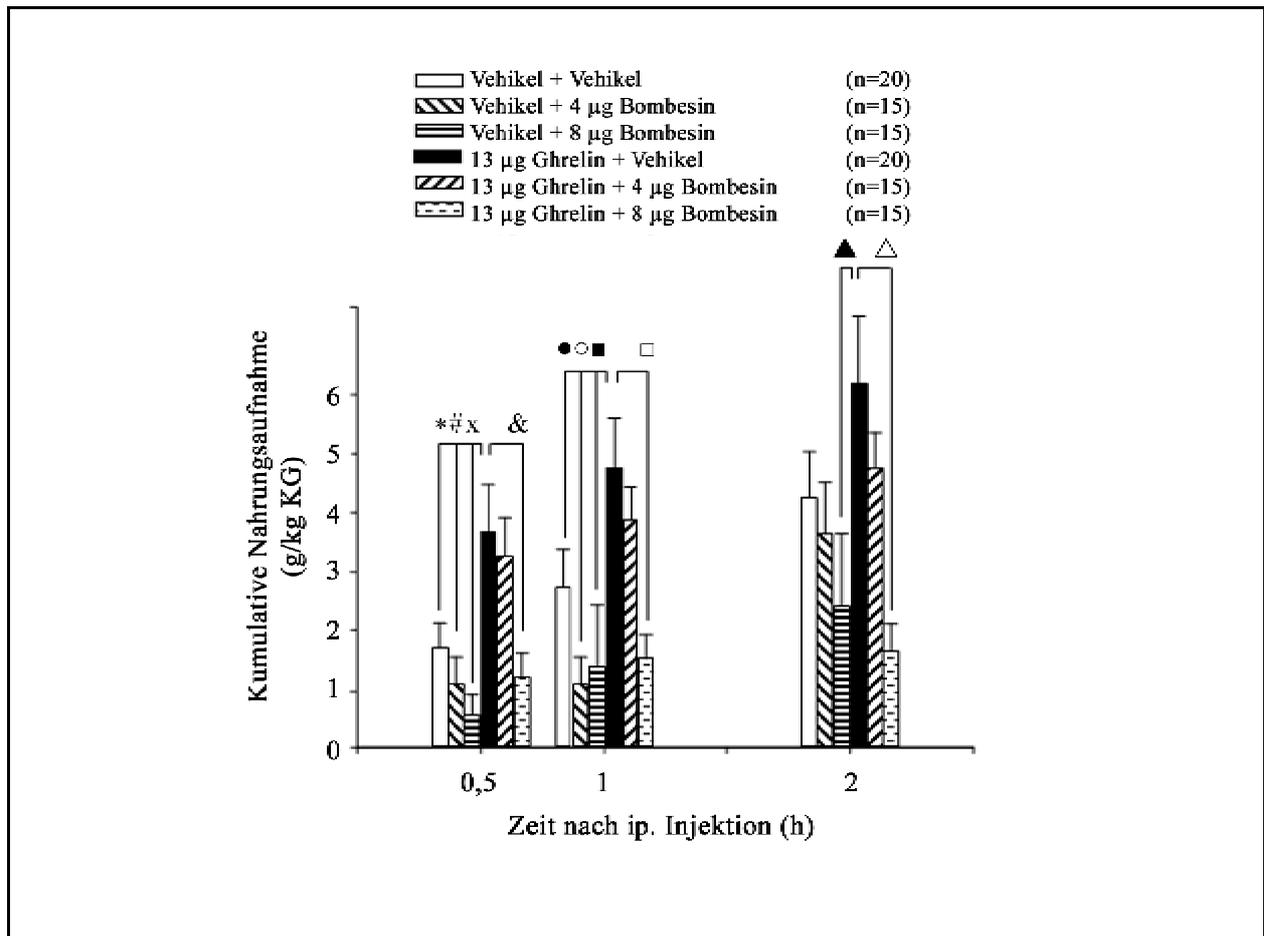


Abbildung 3.1: Effekte von Ghrelin und Bombesin auf die Nahrungsaufnahme

Die Applikation von Bombesin allein in den verschiedenen Dosierungen (4 µg/kg KG und 8 µg/kg KG) hat keinen signifikanten Einfluss auf die Nahrungsaufnahme. Ghrelin (13 µg/kg KG) führt zu einem signifikanten Anstieg der Nahrungsaufnahme innerhalb der ersten Stunde des Messzeitraums. Der stimulierende Effekt von Ghrelin wird durch die simultane Applikation von 8 µg/kg KG Bombesin aufgehoben.

Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung des Mittelwerts angegeben. n = Anzahl

* $p < 0,0087$ vs. Vehikel + Vehikel; # $p < 0,002$ vs. 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin; x $p < 0,0017$ vs. Vehikel + 4 µg Bombesin; & $p < 0,0002$ vs. Vehikel + 8 µg Bombesin; • $p < 0,03$ vs. Vehikel + Vehikel; ◦ $p < 0,0017$ vs. 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin; ■ $p < 0,0005$ vs. Vehikel + 4 µg Bombesin; □ $p < 0,0011$ vs. Vehikel + 8 µg Bombesin; ▲ $p < 0,0007$ vs. 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin; △ $p < 0,0045$ vs. Vehikel + 8 µg Bombesin

3.1.2 Effekte von Ghrelin und Amylin auf die Nahrungsaufnahme

Das Ziel dieser Studie war die Untersuchung der möglichen Beeinflussung der Ghrelin induzierten Nahrungsaufnahme durch Amylin. Den Versuchstieren wurden intraperitoneale Injektionen mit entweder Vehikel, Ghrelin (13 µg/kg KG), Amylin (1 µg/kg KG oder 5 µg/kg KG) oder simultan Ghrelin (13 µg/kg KG) und Amylin (1 µg/kg KG oder 5 µg/kg KG) verabreicht.

Die Injektion von Ghrelin (13 µg/kg KG, Vehikel + 13 µg Ghrelin-Gruppe) führte im Vergleich zur Vehikel + Vehikel-Gruppe zu einem signifikanten Anstieg der Nahrungsaufnahme innerhalb der ersten halben Stunde nach ip. Injektion ($X \pm \text{SEM}$: $3,96 \pm 0,56$ g/kg KG vs. $0,82 \pm 0,59$ g/kg KG; $p < 0,004$, Abbildung 3.2, Tabelle 3.2). Die simultane Applikation von Ghrelin und Amylin in den verschiedenen Dosierungen (1 µg/kg KG und 5 µg/kg KG, 13 µg Ghrelin + 1 µg Amylin- und 13 µg Ghrelin + 5 µg Amylin-Gruppe) hatte keinen hemmenden Effekt auf die Ghrelin induzierte Nahrungsaufnahme innerhalb der ersten 30 Minuten ($4,37 \pm 1,12$ g/kg KG; $p > 0,69$ und $3,01 \pm 0,78$ g/kg KG; $p > 0,37$, Abbildung 3.2, Tabelle 3.2). Die Gabe von Amylin allein in den unterschiedlichen Dosierungen (1 µg/kg KG und 5 µg/kg KG, Vehikel + 1 µg Amylin- und Vehikel + 5 µg Amylin-Gruppe) führte innerhalb der ersten halben Stunde nach ip. Injektion zu ähnlichen Werten der Nahrungsaufnahme wie in der Vehikel + Vehikel-Gruppe ($1,06 \pm 0,63$ g/kg KG; $p > 0,81$ und $0,93 \pm 0,58$ g/kg KG; $p > 0,91$, Abbildung 3.2, Tabelle 3.2).

Signifikante Unterschiede zwischen der Vehikel + 13 µg Ghrelin-Gruppe und den Gruppen, welche nur Amylin in den unterschiedlichen Dosierungen (Vehikel + 1 µg Amylin- und Vehikel + 5 µg Amylin-Gruppe) erhalten haben, waren nach einem Messzeitraum von einer Stunde ($1,36 \pm 0,64$ g/kg KG; $p < 0,0255$ und $1,03 \pm 0,60$ g/kg KG; $p < 0,0128$) und zwei Stunden nach ip. Injektion nachzuweisen ($1,36 \pm 0,64$ g/kg KG; $p < 0,0109$ und $1,47 \pm 0,83$ g/kg KG; $p < 0,0135$, Abbildung 3.2, Tabelle 3.2). Die Applikation von Amylin allein in den verschiedenen Dosierungen (1 µg/kg KG und 5 µg/kg KG) führte im Vergleich zur Vehikel + Vehikel-Gruppe zu einer Reduzierung der kumulativen Nahrungsaufnahme nach einer Stunde ($p > 0,43$ und $p > 0,29$ vs. Vehikel + Vehikel) und zwei Stunden des Messzeitraums ($p > 0,42$ und $p > 0,47$ vs. Vehikel + Vehikel, Abbildung 3.2, Tabelle 3.2). Diese Unterschiede zeigten sich als Trend, erreichten jedoch keine statistische Signifikanz (Abbildung 3.2).

Abbildung 3.2

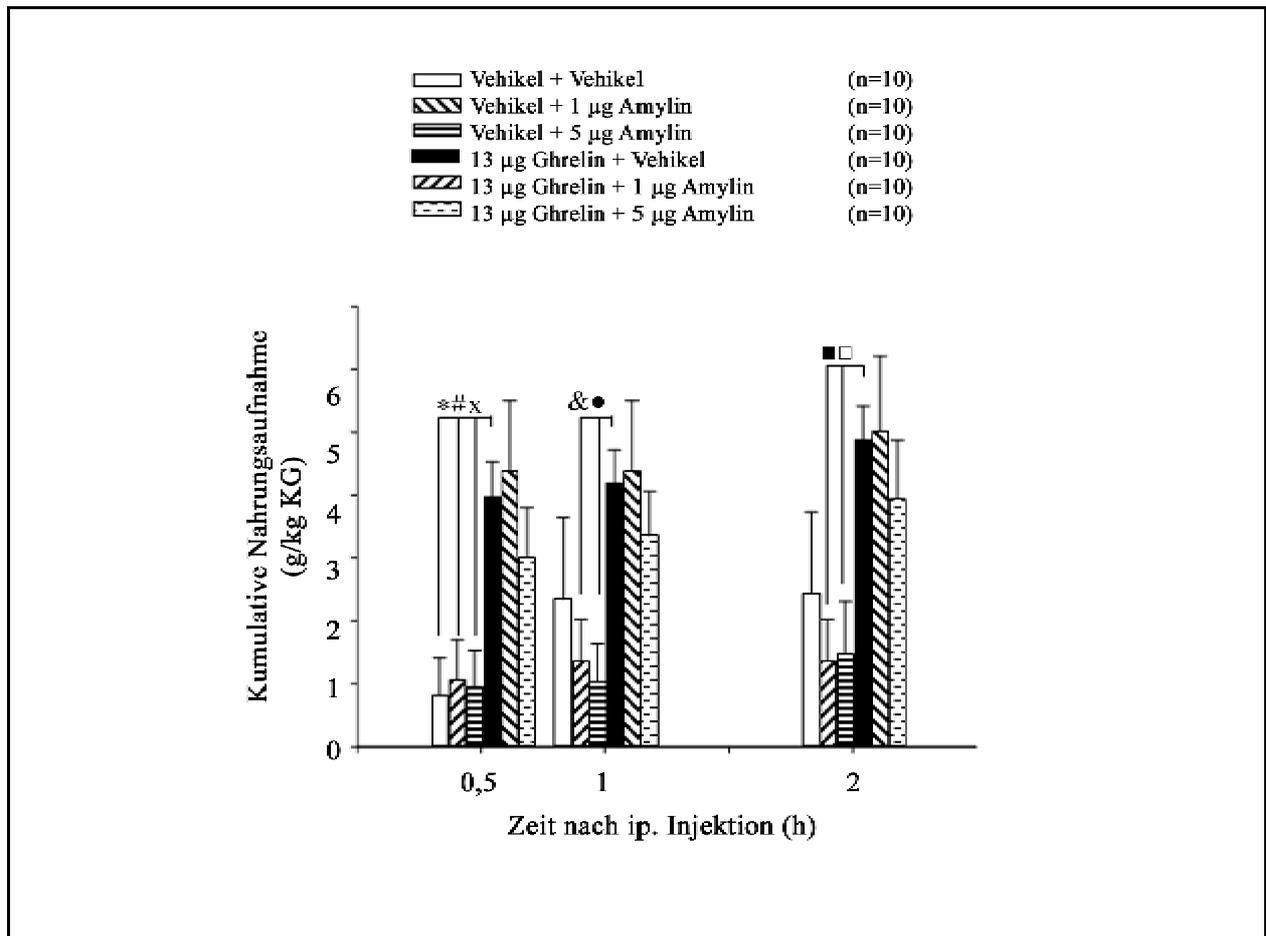


Abbildung 3.2: Effekte von Ghrelin und Amylin auf die Nahrungsaufnahme

Die Gabe von Amylin allein in den verschiedenen Dosierungen (1 µg/kg KG und 5 µg/kg KG) hat keinen signifikanten Einfluss auf die Nahrungsaufnahme. Ghrelin (13 µg/kg KG) führt zu einer signifikanten Steigerung der Nahrungsaufnahme innerhalb der ersten Stunde des Messzeitraums. Der stimulierende Effekt wird durch die simultane Applikation von verschiedenen Dosen Amylin nicht gehemmt.

Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung des Mittelwerts angegeben. n = Anzahl

* $p < 0,004$ vs. Vehikel + Vehikel; # $p < 0,0077$ vs. Vehikel + 1 µg Amylin; x $p < 0,0055$ vs. Vehikel + 5 µg Amylin; & $p < 0,0255$ vs. Vehikel + 1 µg Amylin; • $p < 0,0128$ vs. Vehikel + 5 µg Amylin; ■ $p < 0,0109$ vs. Vehikel + 1 µg Amylin; □ $p < 0,0135$ vs. Vehikel + 5 µg Amylin

Tabelle 3.2: Kumulative Nahrungsaufnahme in den Versuchsgruppen über den Messzeitraum von zwei Stunden als Mittelwert (X) und Standardabweichung des Mittelwerts (SEM)

* p < 0,004 vs. Vehikel + Vehikel; # p < 0,0077 vs. Vehikel + 1 µg Amylin; x p < 0,0055 vs. Vehikel + 5 µg Amylin; & p < 0,0255 vs. Vehikel + 1 µg Amylin; • p < 0,0128 vs. Vehikel + 5 µg Amylin; ■ p < 0,0109 vs. Vehikel + 1 µg Amylin; □ p < 0,0135 vs. Vehikel + 5 µg Amylin

Versuchsgruppe	Kumulative Nahrungsaufnahme (g/kg KG) als X ± SEM zu den Messzeitpunkten (h) nach ip. Injektion			Anzahl
	0,5	1	2	
Vehikel + Vehikel	0,82 ± 0,59	2,34 ± 1,29	2,43 ± 1,28	10
Vehikel + 1 µg/kg KG Amylin	1,06 ± 0,63	1,36 ± 0,64	1,36 ± 0,64	10
Vehikel + 5 µg/kg KG Amylin	0,93 ± 0,58	1,03 ± 0,60	1,47 ± 0,83	10
Vehikel + 13 µg/kg KG Ghrelin	3,96 ± 0,56 ^{*#x}	4,18 ± 0,53 ^{&•}	4,88 ± 0,53 ^{■□}	10
13 µg/kg KG Ghrelin + 1 µg/kg KG Amylin	4,37 ± 1,12	4,37 ± 1,12	5,01 ± 1,19	10
13 µg/kg KG Ghrelin + 5 µg/kg KG Amylin	3,01 ± 0,78	3,35 ± 0,70	3,94 ± 0,92	10

3.1.3 Effekte von Amylin auf die Nahrungsaufnahme zu Beginn der Dunkelphase

Diese Untersuchung diente der Kontrolle der biologischen Aktivität von Amylin. Hierzu wurde die in der Literatur beschriebene Wirkung von Amylin auf die Nahrungsaufnahme in der Dunkelphase untersucht. Den Versuchstieren wurden intraperitoneale Injektionen mit Vehikel oder 5 µg/kg KG Amylin zehn Minuten vor Eintritt in die Dunkelphase, welche von 18.30 Uhr bis 06.30 Uhr dauerte, verabreicht.

Innerhalb der ersten 30 Minuten des Messzeitraums führte die Injektion von Amylin (5 µg/kg KG; 5 µg Amylin-Gruppe) zu einer nicht signifikanten Reduktion der Nahrungsaufnahme gegenüber der Vehikel-Gruppe ($X \pm \text{SEM}$: $7,01 \pm 0,89$ g/kg KG vs. $9,25 \pm 0,8$ g/kg KG; $p > 0,09$, Abbildung 3.3, Tabelle 3.3). Nach dem Messzeitraum von einer Stunde zeigte sich in der 5 µg Amylin-Gruppe eine signifikante Reduktion der kumulativen Nahrungsaufnahme im Vergleich zur Vehikel-Gruppe ($7,01 \pm 0,89$ g/kg KG vs. $10,06 \pm 0,6$ g/kg KG; $p < 0,016$, Abbildung 3.3, Tabelle 3.3).

Tabelle 3.3: Kumulative Nahrungsaufnahme in den Versuchsgruppen über den Messzeitraum von einer Stunde als Mittelwert (X) und Standardabweichung des Mittelwerts (SEM)

* $p < 0,016$ vs. 5 µg Amylin

Versuchsgruppe	Kumulative Nahrungsaufnahme (g/kg KG) als $X \pm \text{SEM}$ zu den Messzeitpunkten (h) nach ip. Injektion		Anzahl
	0,5	1	
Vehikel	$9,25 \pm 0,80$	$10,06 \pm 0,60^*$	9
5 µg/kg KG Amylin	$7,01 \pm 0,89$	$7,01 \pm 0,89$	9

Abbildung 3.3

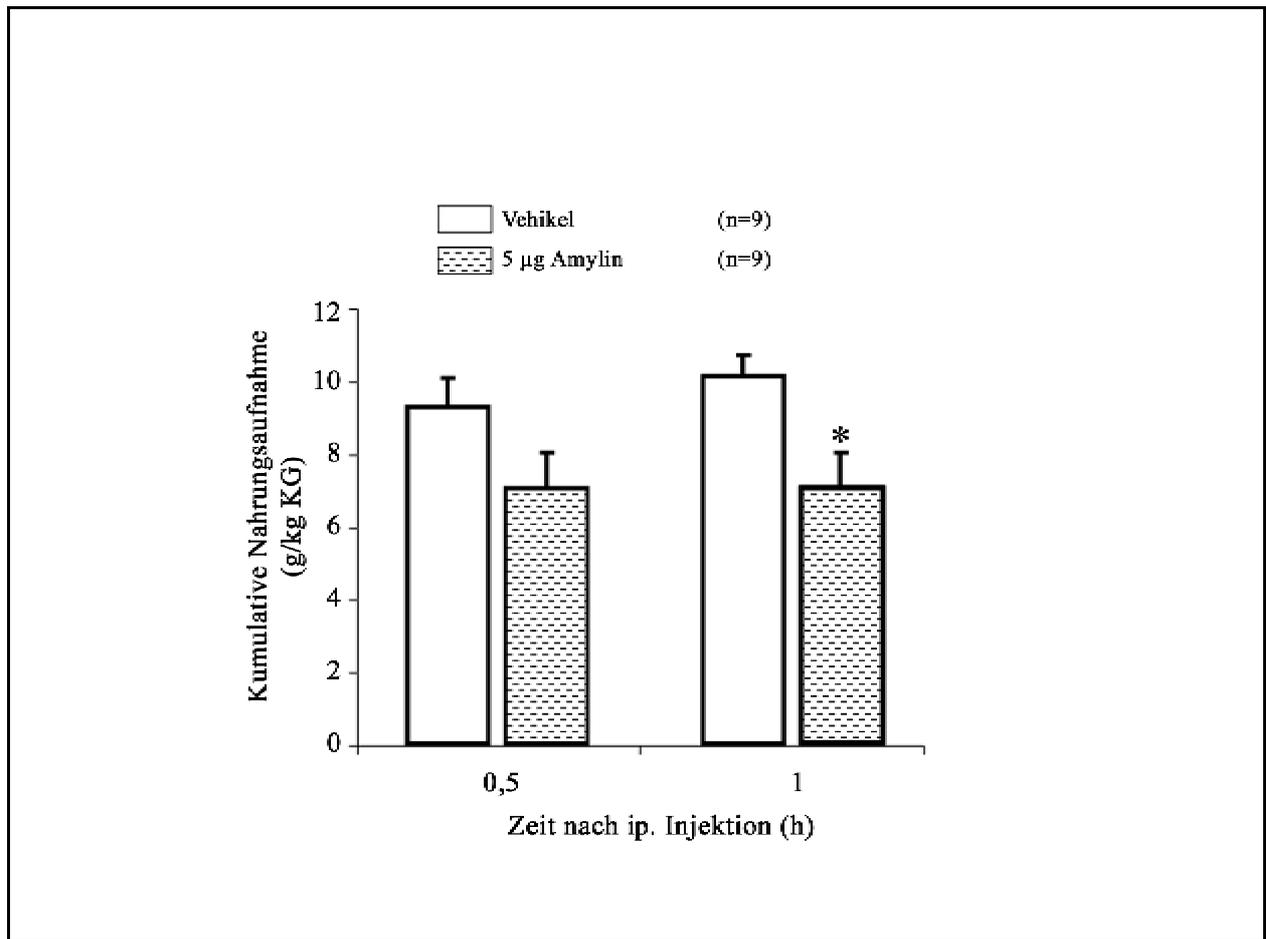


Abbildung 3.3: Effekte von Amylin auf die Nahrungsaufnahme zu Beginn der Dunkelphase

Die Gabe von 5 µg/kg KG Amylin führt zu einer signifikanten Reduktion der Nahrungsaufnahme nach einem Messzeitraum von einer Stunde.

Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung des Mittelwerts angegeben. n = Anzahl

* $p < 0,016$ vs. Vehikel

3.2 Ergebnisse der immunhistologischen Experimente

3.2.1 Ziele der immunhistologischen Experimente

Das Ziel dieser Experimente war es zu überprüfen, ob Bombesin die Ghrelin induzierte Neuronenaktivierung beeinflusst. Die Tiere bekamen intraperitoneale Injektionen mit entweder Vehikel, Ghrelin (13 µg/kg KG), Bombesin (4 µg/kg KG oder 8 µg/kg) oder simultan Ghrelin (13 µg/kg KG) und Bombesin (4 µg/kg KG oder 8 µg/kg KG). Anschließend wurde die Neuronenaktivierung anhand des Markers Fos beurteilt. Weiterhin wurden die Neurone im Nucleus Paraventricularis (PVN) des Hypothalamus mittels Doppelfärbung für Fos und CRF phänotypisiert.

3.2.2 Effekte von Ghrelin und Bombesin auf die Fos-Expression im Nucleus Arcuatus

Die Injektion von Ghrelin (13 µg/kg KG, Vehikel + 13 µg Ghrelin-Gruppe) führte zu einem signifikanten Anstieg Fos-IR positiver Neurone im NARC verglichen mit der Vehikel + Vehikel-Gruppe (Median: 42,35 Neurone/Schnitt vs. 19,0 Neurone/Schnitt; $p < 0,008$, Abbildung 3.4, Tabelle 3.4). Die simultane Applikation von Ghrelin (13 µg/kg KG) und Bombesin in den verschiedenen Dosierungen (4 µg/kg KG und 8 µg/kg KG, 13 µg Ghrelin + 4 µg Bombesin- und 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin-Gruppe) hatte ebenfalls einen signifikanten Anstieg der Neuronenaktivierung im NARC zur Folge verglichen mit der Vehikel + Vehikel-Gruppe (35,6 Neurone/Schnitt; $p < 0,008$ und 31,09 Neurone/Schnitt; $p < 0,008$, Abbildung 3.4, Tabelle 3.4). Die Injektion von Bombesin allein in den unterschiedlichen Dosierungen (4 µg/kg KG und 8 µg/kg KG, Vehikel + 4 µg Bombesin- und Vehikel + 8 µg Bombesin-Gruppe) zeigte keinen Effekt auf die Fos-Expression im NARC (21,72 Neurone/Schnitt; $p > 0,84$ vs. Vehikel + Vehikel und 19,2 Neurone/Schnitt; $p = 1$ vs. Vehikel + Vehikel, Abbildung 3.4).

Abbildung 3.4

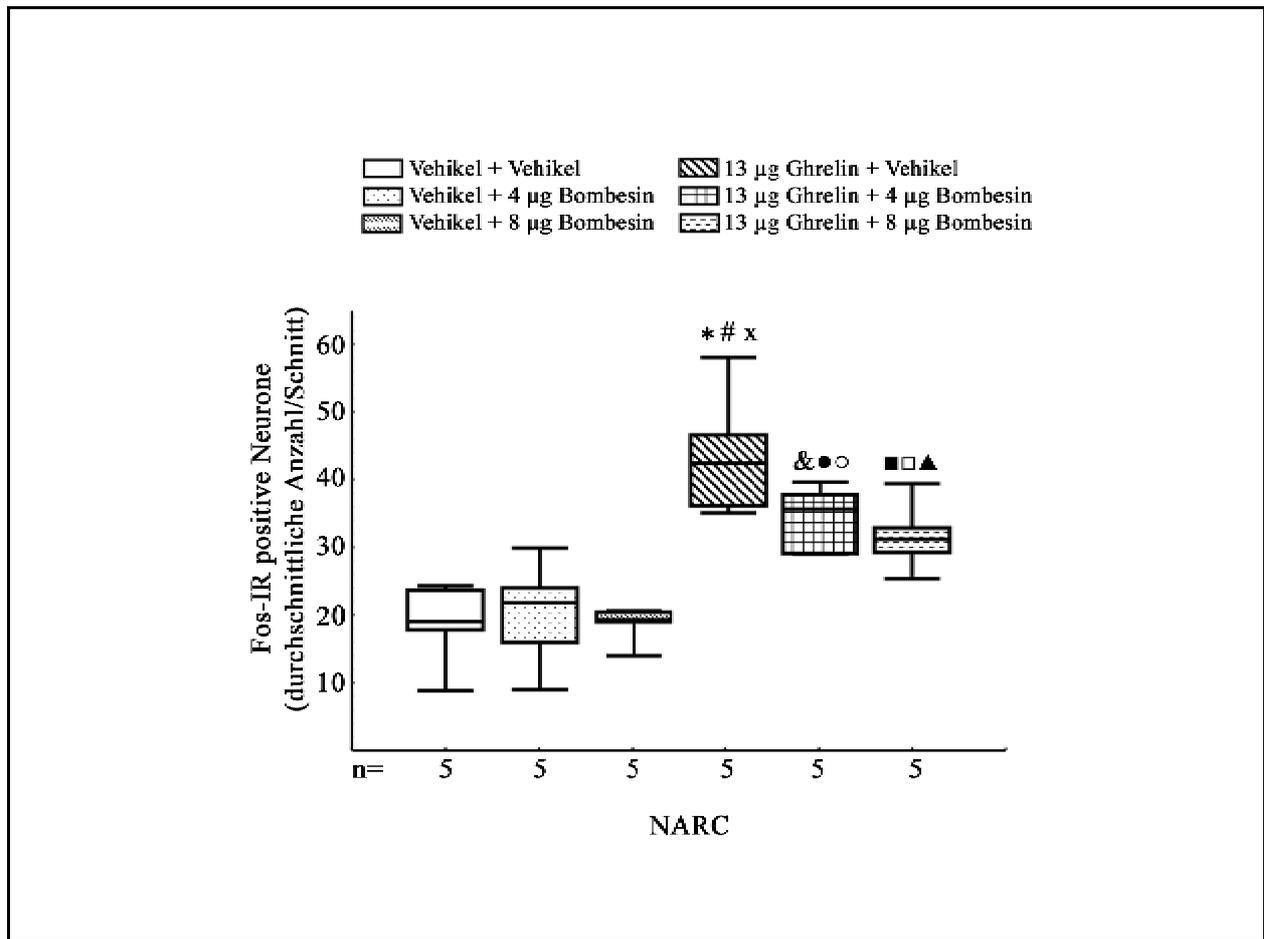


Abbildung 3.4: Effekte von Ghrelin und Bombesin auf die Fos-IR im NARC

Ghrelin (13 µg/kg KG) führt zu einer signifikanten Erhöhung der Fos-Expression im NARC. Die simultane Applikation von Ghrelin (13 µg/kg KG) und Bombesin (4 µg/kg KG oder 8 µg/kg KG) hat keinen hemmenden Effekt auf die Ghrelin induzierte Fos-IR im NARC.

Die Grafik zeigt Box- und Whiskers-Plots. Die obere Begrenzung der Box markiert die 75. Perzentile, die untere die 25. Perzentile. Die Linie in der Box kennzeichnet den Medianwert. Die Linien oberhalb und unterhalb der Boxen stellen den größten und kleinsten gemessenen Wert dar, der nicht weiter entfernt als das 1,5-fache Produkt der F-Spanne (Abstand zwischen der 25. und 75. Perzentile) ist. n = Anzahl

* p < 0,008 vs. Vehikel + Vehikel; # p < 0,008 vs. Vehikel + 4 µg Bombesin; x p < 0,008 vs. Vehikel + 8 µg Bombesin; & p < 0,008 vs. Vehikel + Vehikel; ● p < 0,03 vs. Vehikel + 4 µg Bombesin; ○ p < 0,008 vs. Vehikel + 8 µg Bombesin; ■ p < 0,008 vs. Vehikel + Vehikel; □ p < 0,03 vs. Vehikel + 4 µg Bombesin; ▲ p < 0,008 vs. Vehikel + 8 µg Bombesin

Tabelle 3.4: Mediane der Fos positiven Neurone im NARC

* $p < 0,008$ vs. Vehikel + Vehikel; # $p < 0,008$ vs. Vehikel + 4 μg Bombesin; x $p < 0,008$ vs. Vehikel + 8 μg Bombesin; & $p < 0,008$ vs. Vehikel + Vehikel; ● $p < 0,03$ vs. Vehikel + 4 μg Bombesin; ○ $p < 0,008$ vs. Vehikel + 8 μg Bombesin; ■ $p < 0,008$ vs. Vehikel + Vehikel; □ $p < 0,03$ vs. Vehikel + 4 μg Bombesin; ▲ $p < 0,008$ vs. Vehikel + 8 μg Bombesin

Versuchsgruppe	Anzahl der Fos positiven Neurone als Mediane	25. Perzentile	75. Perzentile	Anzahl
Vehikel + Vehikel	19,00	17,80	23,66	5
Vehikel + 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Bombesin	21,72	15,92	24,00	5
Vehikel + 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Bombesin	19,20	19,00	20,42	5
Vehikel + 13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Ghrelin	42,35 ^{*#x}	36,16	46,55	5
13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Ghrelin + 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Bombesin	35,60 ^{&●○}	29,11	37,75	5
13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Ghrelin + 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Bombesin	31,09 ^{■□▲}	29,21	32,87	5

3.2.3 Effekte von Ghrelin und Bombesin auf die Fos-Expression im Nucleus Paraventricularis

Die simultane Gabe von Ghrelin (13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG) und 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Bombesin (13 μg Ghrelin + 8 μg Bombesin-Gruppe) führte zu einem signifikanten Anstieg der Zahl Fos positiver Neurone im PVN (~ 4,2-fach) verglichen mit der Vehikel + Vehikel-Gruppe (Median: 113,0 Neurone/Schnitt vs. 28,0 Neurone/Schnitt; $p < 0,008$), der Vehikel + 13 μg Ghrelin-Gruppe ($p < 0,0158$) und allen anderen Gruppen ($p < 0,0317$ vs. Vehikel + 4 μg Bombesin; $p < 0,0158$ vs. Vehikel + 8 μg Bombesin; $p < 0,0158$ vs. 13 μg Ghrelin + 4 μg Bombesin, Abbildungen 3.5 und 3.6, Tabelle 3.5). Die Applikation von Ghrelin (13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG, Vehikel + 13 μg Ghrelin-Gruppe) führte zu einem signifikanten Anstieg der Fos-IR im PVN (~ 0,6-fach) gegenüber der Vehikel + Vehikel-

Gruppe (44,77 Neurone/Schnitt; $p < 0,008$, Abbildungen 3.5 und 3.6, Tabelle 3.5). Die gleichzeitige Verabreichung von 13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Ghrelin und 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Bombesin (13 μg Ghrelin + 4 μg Bombesin-Gruppe) führte ebenfalls zu einer gesteigerten Neuronenaktivierung ($\sim 0,7$ -fach) im Vergleich zur Vehikel + Vehikel-Gruppe (48,7 Neurone/Schnitt; $p < 0,008$, Abbildungen 3.5 und 3.6, Tabelle 3.5). Die Injektion von Bombesin allein in den verschiedenen Dosierungen (4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG und 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG, Vehikel + 4 μg Bombesin- und Vehikel + 8 μg Bombesin-Gruppe) hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Neuronenaktivierung im PVN (30,66 Neurone/Schnitt; $p > 0,30$ und 32,87 Neurone/Schnitt; $p > 0,54$, Abbildungen 3.5 und 3.6, Tabelle 3.5).

Tabelle 3.5: Mediane der Fos positiven Neurone im PVN

* $p < 0,008$ vs. Vehikel + Vehikel; # $p < 0,008$ vs. Vehikel + Vehikel; & $p < 0,008$ vs. Vehikel + Vehikel; ● $p < 0,0317$ vs. Vehikel + 4 μg Bombesin; ○ $p < 0,0158$ vs. Vehikel + 8 μg Bombesin; ■ $p < 0,0158$ vs. Vehikel + 13 μg Ghrelin; □ $p < 0,0158$ vs. 13 μg Ghrelin + 4 μg Bombesin

Versuchsgruppe	Anzahl der Fos positiven Neurone als Mediane	25. Perzentile	75. Perzentile	Anzahl
Vehikel + Vehikel	28,00	27,50	28,72	5
Vehikel + 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Bombesin	30,66	28,40	44,27	5
Vehikel + 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Bombesin	32,87	27,66	33,00	5
Vehikel + 13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Ghrelin	44,77*	44,37	57,00	5
13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Ghrelin + 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Bombesin	48,70#	41,25	55,42	5
13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Ghrelin + 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KG Bombesin	113,00*●○■□	102,22	115,33	5

Abbildung 3.5

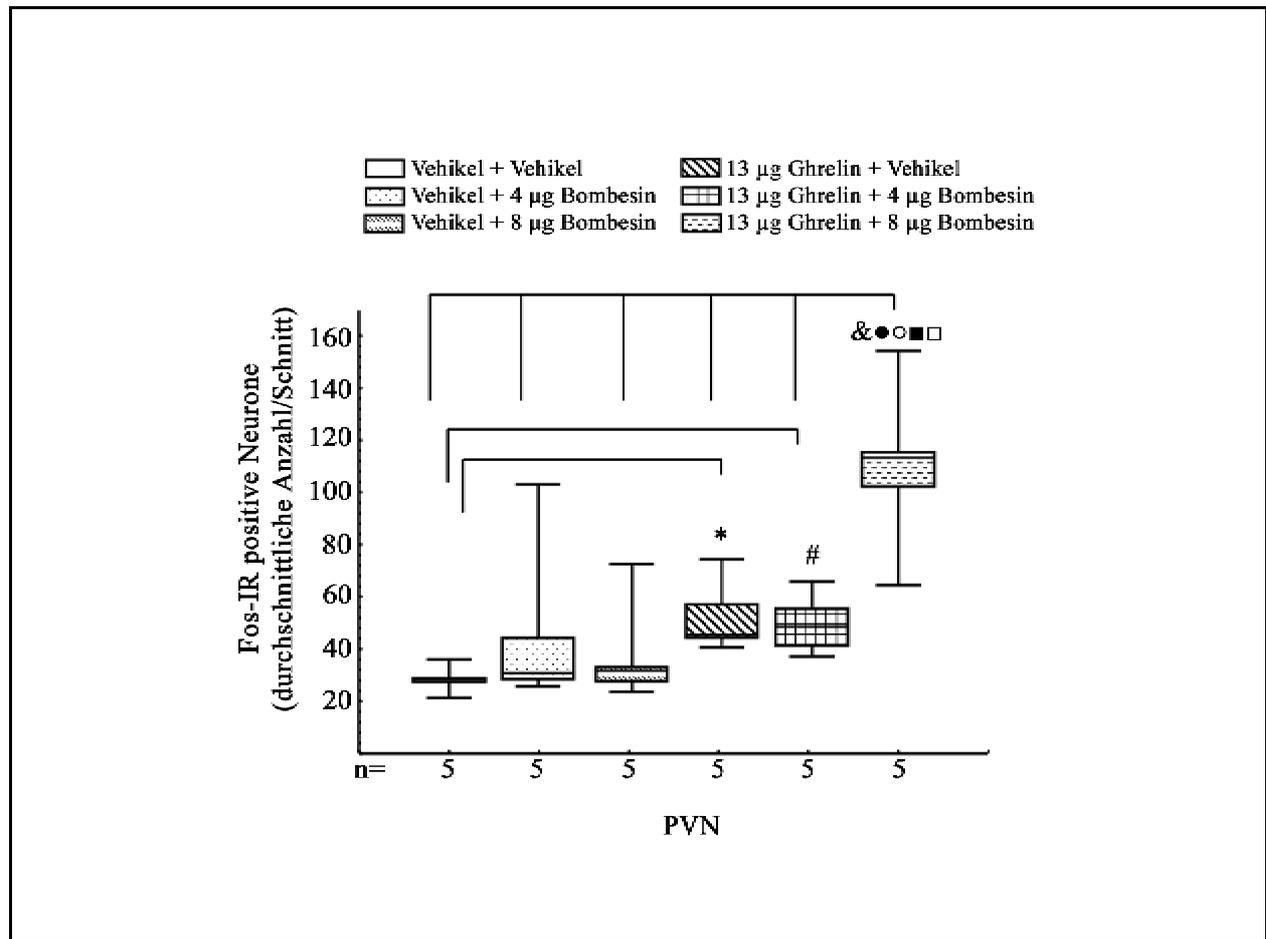


Abbildung 3.5: Effekte von Ghrelin und Bombesin auf die Fos-IR im PVN

Die simultane Applikation von 13 µg/kg KG Ghrelin und 8 µg/kg KG Bombesin führt zu einem signifikanten Anstieg der Fos positiven Neurone gegenüber allen anderen Gruppen. Die simultane Applikation von 13 µg/kg KG Ghrelin und 4 µg/kg KG Bombesin führt ebenso wie 13 µg/kg KG Ghrelin allein zu einer gesteigerten Anzahl Fos positiver Neurone im PVN. Bombesin allein in den verschiedenen Dosierungen (4 µg/kg KG und 8 µg/kg KG) zeigt keinen Effekt auf die Neuronenaktivität im PVN.

Die Grafik zeigt Box- und Whiskers-Plots (Beschreibung siehe Abbildung 3.4). n = Anzahl

* p < 0,008 vs. Vehikel + Vehikel; # p < 0,008 vs. Vehikel + Vehikel; & p < 0,008 vs. Vehikel + Vehikel; ● p < 0,0317 vs. Vehikel + 4 µg Bombesin; ○ p < 0,0158 vs. Vehikel + 8 µg Bombesin; ■ p < 0,0158 vs. Vehikel + 13 µg Ghrelin; □ p < 0,0158 vs. 13 µg Ghrelin + 4 µg Bombesin

Abbildung 3.6

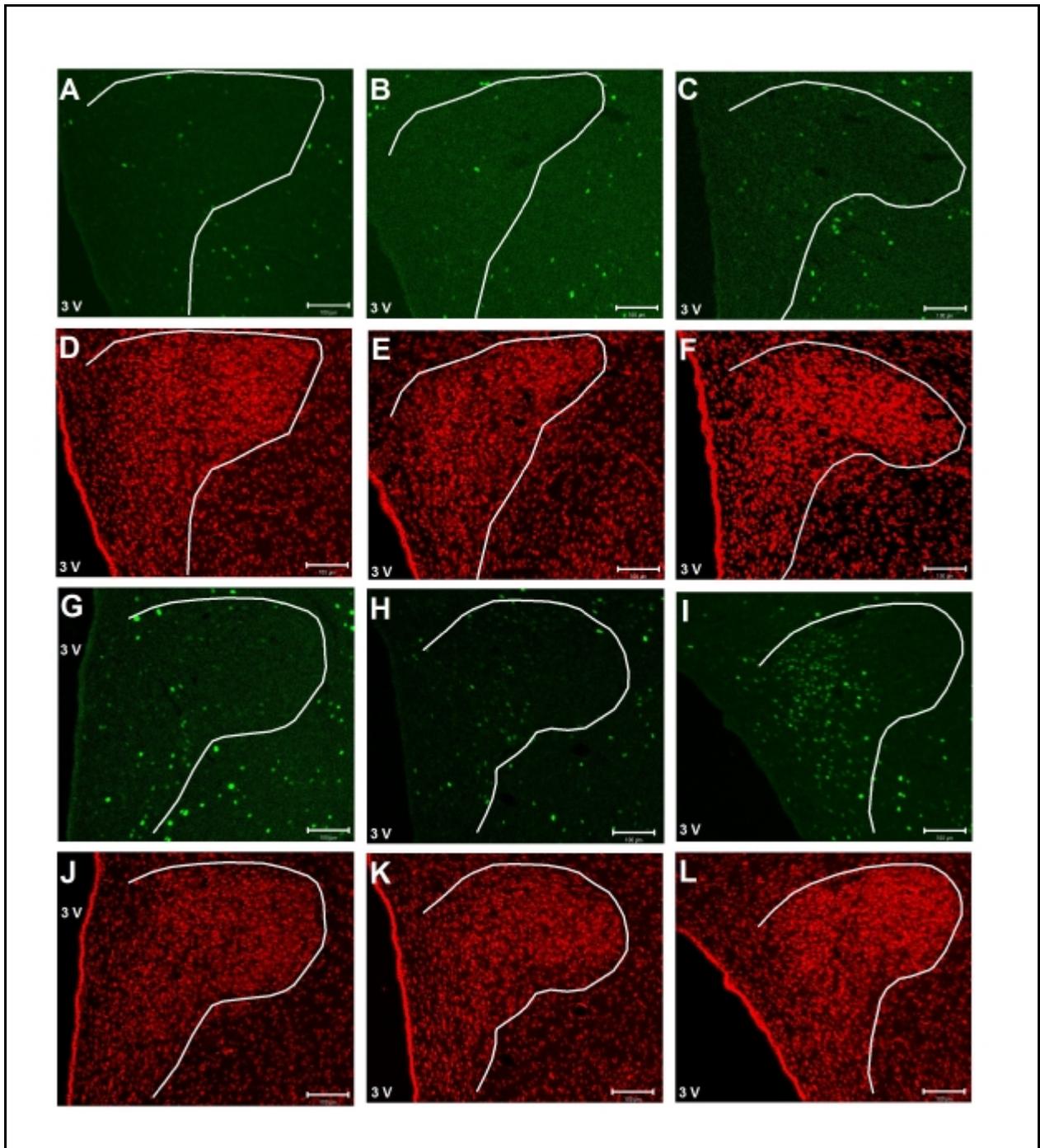


Abbildung 3.6: Repräsentative Gehirnschnitte vom PVN

I) Die simultane Gabe von 13 µg/kg KG Ghrelin und 8 µg/kg KG Bombesin führt zu einem Anstieg der Zahl Fos positiver Neurone (grüne Signale).

A) Vehikel + Vehikel

B) Vehikel + 4 µg/kg KG Bombesin

C) Vehikel + 8 µg/kg KG Bombesin

G) Vehikel + 13 µg/kg KG Ghrelin

H) 13 µg/kg KG Ghrelin + 4 µg/kg KG Bombesin

Zur Lokalisation des PVN wurden bei denselben Gehirnschnitten die Kerne der Neurone mit Propidiumjodid gefärbt (rote Signale).

D) Vehikel + Vehikel

E) Vehikel + 4 µg/kg KG Bombesin

F) Vehikel + 8 µg/kg KG Bombesin

J) Vehikel + 13 µg/kg KG Ghrelin

K) 13 µg/kg KG Ghrelin + 4 µg/kg KG Bombesin

L) 13 µg/kg KG Ghrelin + 8 µg/kg KG Bombesin

Die weiße Linie gibt die Ausdehnung des PVN an, welcher lateral des Dritten Ventrikels (3V) lokalisiert ist. Der weiße Balken markiert 100 µm. Die Angaben orientieren sich am Atlas von Paxinos und Watson (G. Paxinos, C. Watson 1997).

3.2.4 Doppelfärbung für Fos und CRF im Nucleus Paraventricularis

Die immunhistologische Doppelfärbung für Fos und CRF in der 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin-Gruppe zeigte, dass die meisten der Fos positiven Neurone im PVN auch positiv für CRF waren ($59,32 \pm 4,43\%$, Abbildungen 3.7 und 3.8, Tabelle 3.6). In der 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin-Gruppe waren $22,37 \pm 4,43\%$ der CRF positiven Neurone im PVN auch positiv für Fos (Abbildung 3.9, Tabelle 3.7). Weiterhin zeigte sich, dass in der Vehikel + 13 µg Ghrelin-Gruppe $45,36 \pm 10,58\%$ der Fos positiven Neurone im PVN auch positiv für CRF waren (Abbildung 3.8, Tabelle 3.6). In dieser Gruppe waren $10,32 \pm 1,96\%$ der CRF positiven Neurone im PVN auch positiv für Fos (Abbildung 3.9, Tabelle 3.7).

Abbildung 3.7

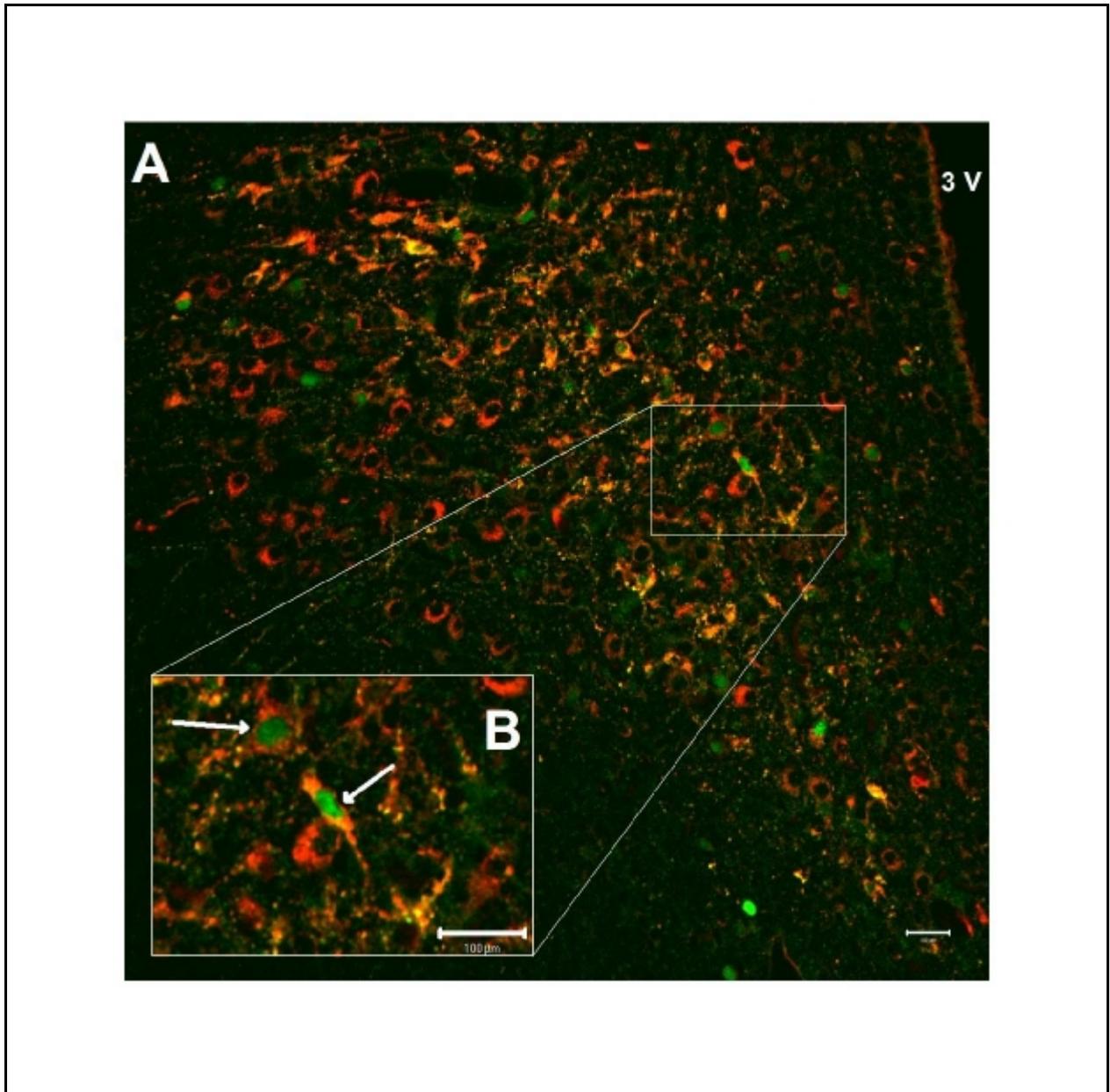


Abbildung 3.7: Repräsentativer Gehirnschnitt der Doppelfärbung für Fos und CRF in der 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin-Gruppe

Der Großteil der Fos positiven Neurone (grünes Signal) im PVN ist auch CRF positiv (rote Signale). Im vergrößerten Bildausschnitt weisen die Pfeile auf Neurone, in denen das gemeinsame Vorkommen von Fos im Nucleus und CRF im Zytoplasma im gleichen Neuron zu erkennen ist.

3V = Dritter Ventrikel

Abbildung 3.8

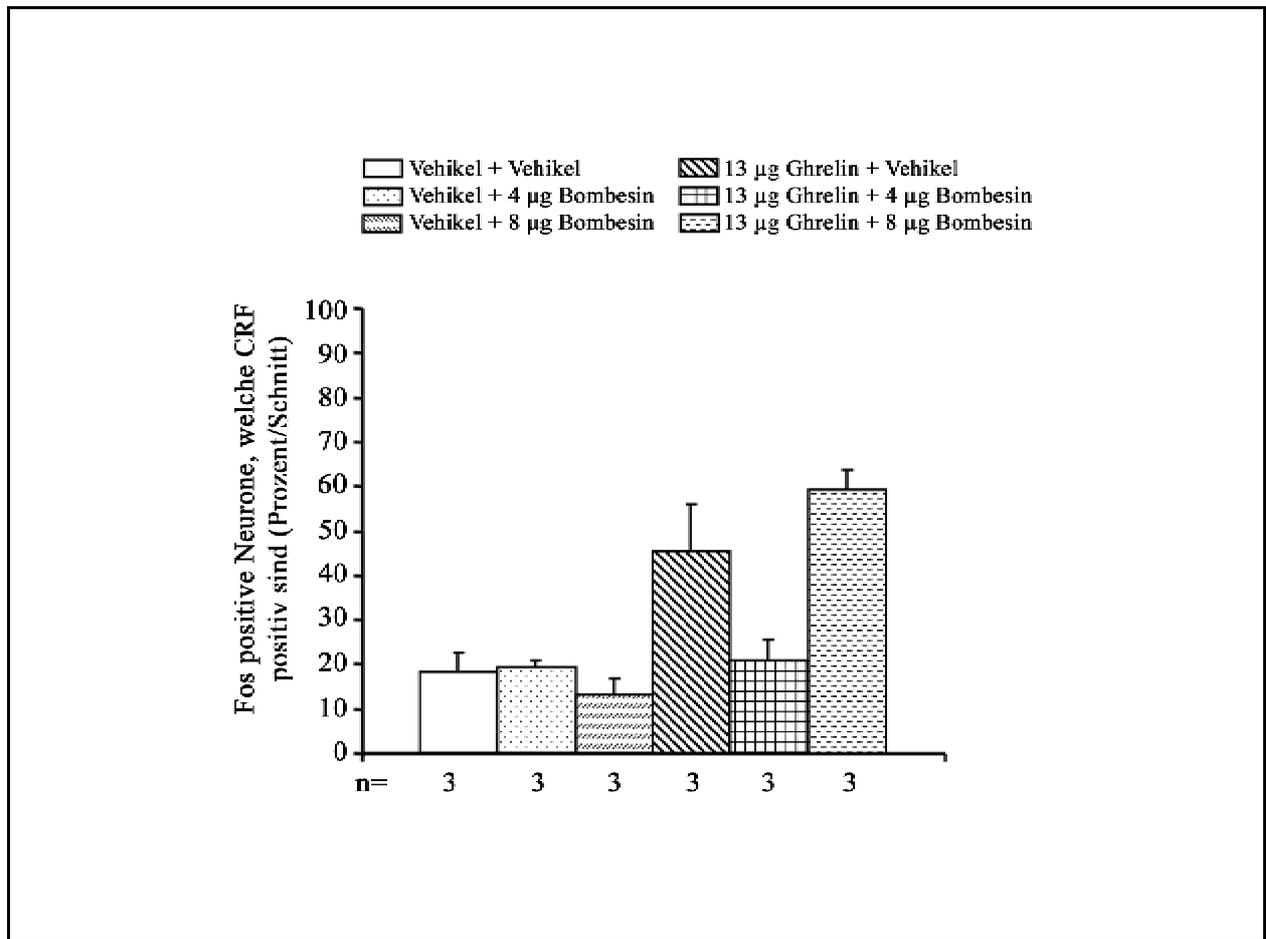


Abbildung 3.8: Anteil Fos positiver Neurone im PVN, welche CRF positiv sind

In der 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin-Gruppe zeigen $59,32 \pm 4,43\%$ der Fos-IR positiven Neurone auch Signale für CRF. In der Vehikel + 13 µg Ghrelin-Gruppe sind $45,36 \pm 10,58\%$ der Fos positiven Neurone ebenfalls positiv für CRF.

n = Anzahl

Tabelle 3.6: Fos positive Neurone im PVN, welche CRF positiv sind, in Prozent als Mittelwert (X) und Standardabweichung des Mittelwerts (SEM)

Versuchsgruppe	Fos positive Neurone, welche CRF positiv sind, in Prozent als X ± SEM	Anzahl
Vehikel + Vehikel	18,16 ± 4,56	3
Vehikel + 4 µg/kg KG Bombesin	19,51 ± 1,34	3
Vehikel + 8 µg/kg KG Bombesin	13,03 ± 3,98	3
Vehikel + 13 µg/kg KG Ghrelin	45,36 ± 10,58	3
13 µg/kg KG Ghrelin + 4 µg/kg KG Bombesin	20,79 ± 4,74	3
13 µg/kg KG Ghrelin + 8 µg/kg KG Bombesin	59,32 ± 4,43	3

Abbildung 3.9

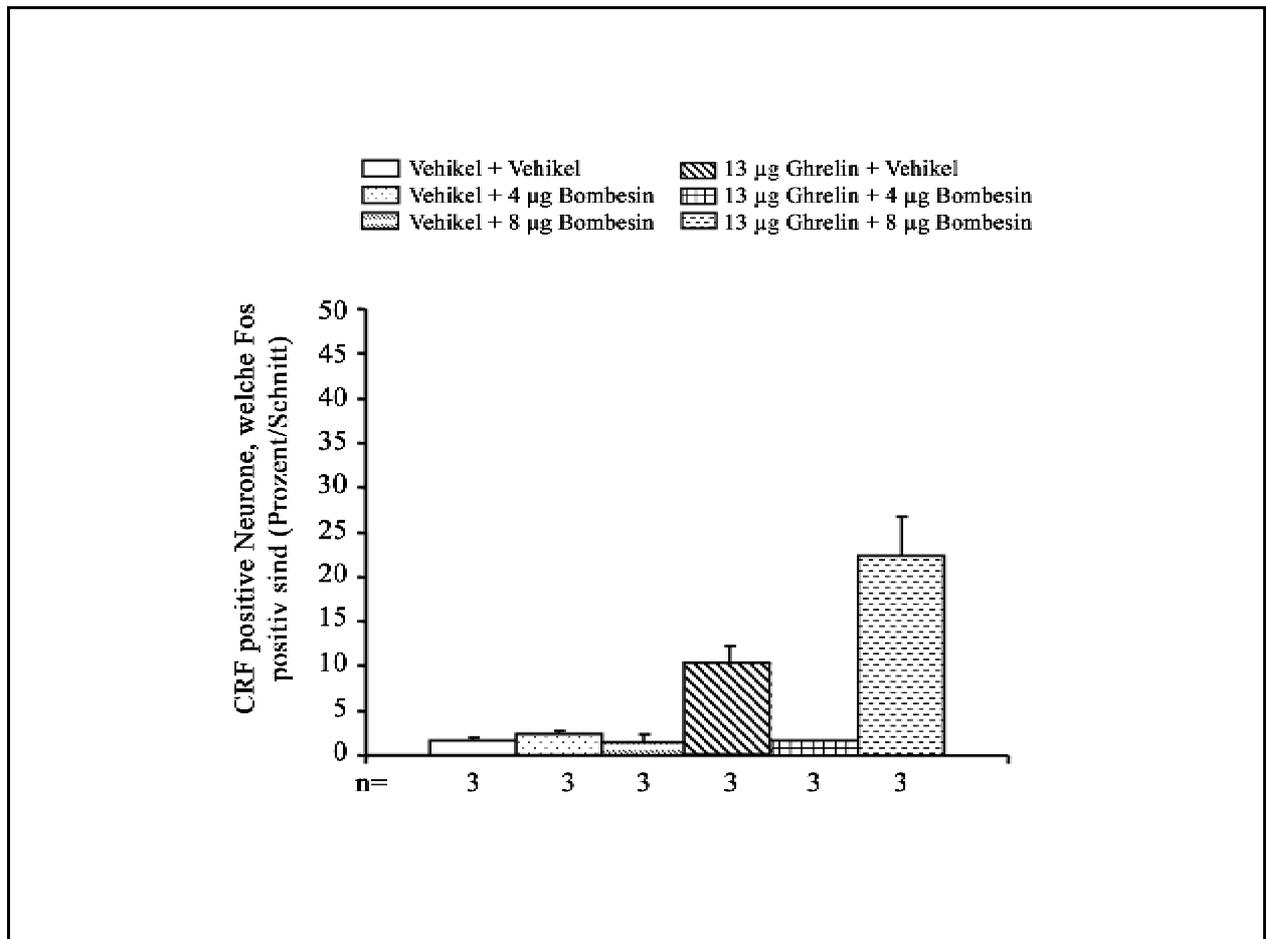


Abbildung 3.9: Anteil CRF positiver Neurone im PVN, welche Fos positiv sind

In der 13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin-Gruppe sind $22,37 \pm 4,43\%$ der CRF positiven Neurone auch positiv für CRF. In der Vehikel + 13 µg Ghrelin-Gruppe zeigen $10,32 \pm 1,96\%$ der CRF positiven Neurone Signale für Fos.

n = Anzahl

Tabelle 3.7: CRF positive Neurone im PVN, welche Fos positiv sind, in Prozent als Mittelwert (X) und Standardabweichung des Mittelwerts (SEM)

Versuchsgruppe	CRF positive Neurone, welche Fos positiv sind, in Prozent als X ± SEM	Anzahl
Vehikel + Vehikel	1,58 ± 0,46	3
Vehikel + 4 µg/kg KG Bombesin	2,42 ± 0,39	3
Vehikel + 8 µg/kg KG Bombesin	1,44 ± 0,90	3
Vehikel + 13 µg/kg KG Ghrelin	10,32 ± 1,96	3
13 µg/kg KG Ghrelin + 4 µg/kg KG Bombesin	1,70 ± 0,03	3
13 µg/kg KG Ghrelin + 8 µg/kg KG Bombesin	22,37 ± 4,43	3

3.2.5 Effekte von Ghrelin und Bombesin auf die Fos-Expression im Nucleus Tractus Solitarii

Die Applikation von 8 µg/kg KG Bombesin allein (Vehikel + 8 µg/kg KG Bombesin-Gruppe) oder simultan mit 13 µg/kg KG Ghrelin (13 µg Ghrelin + 8 µg Bombesin-Gruppe) führte zu einer signifikanten Erhöhung der Fos-IR im NTS (~ 1,5-fach) im Vergleich zur Vehikel + Vehikel-Gruppe (Median: 58,23 Neurone/Schnitt vs. 26,53 Neurone/Schnitt; $p < 0,008$ und 71,69 Neurone/Schnitt; $p < 0,0158$, Abbildung 3.10, Tabelle 3.8). In den anderen Gruppen zeigten sich keine signifikanten Effekte auf die Neuronenaktivität im NTS (Abbildung 3.10, Tabelle 3.8).

Tabelle 3.8: Mediane der Fos positiven Neurone im NTS

* $p < 0,008$ vs. Vehikel + Vehikel; # $p < 0,008$ vs. Vehikel + 13 µg Ghrelin; x $p < 0,008$ vs. 13 µg Ghrelin + 4 µg Bombesin; & $p < 0,0158$ vs. Vehikel + Vehikel; ● $p < 0,0317$ vs. Vehikel + 13 µg Ghrelin; ○ $p < 0,0317$ vs. 13 µg Ghrelin + 4 µg Bombesin

Versuchsgruppe	Anzahl der Fos positiven Neurone als Mediane	25. Perzentile	75. Perzentile	Anzahl
Vehikel + Vehikel	26,53	25,50	26,69	5
Vehikel + 4 µg/kg KG Bombesin	41,70	41,56	46,56	5
Vehikel + 8 µg/kg KG Bombesin	58,23 ^{*#x}	49,56	59,00	5
Vehikel + 13 µg/kg KG Ghrelin	19,54	17,66	29,66	5
13 µg/kg KG Ghrelin + 4 µg/kg KG Bombesin	25,10	24,71	35,00	5
13 µg/kg KG Ghrelin + 8 µg/kg KG Bombesin	71,69 ^{&●○}	61,00	81,00	5

Abbildung 3.10

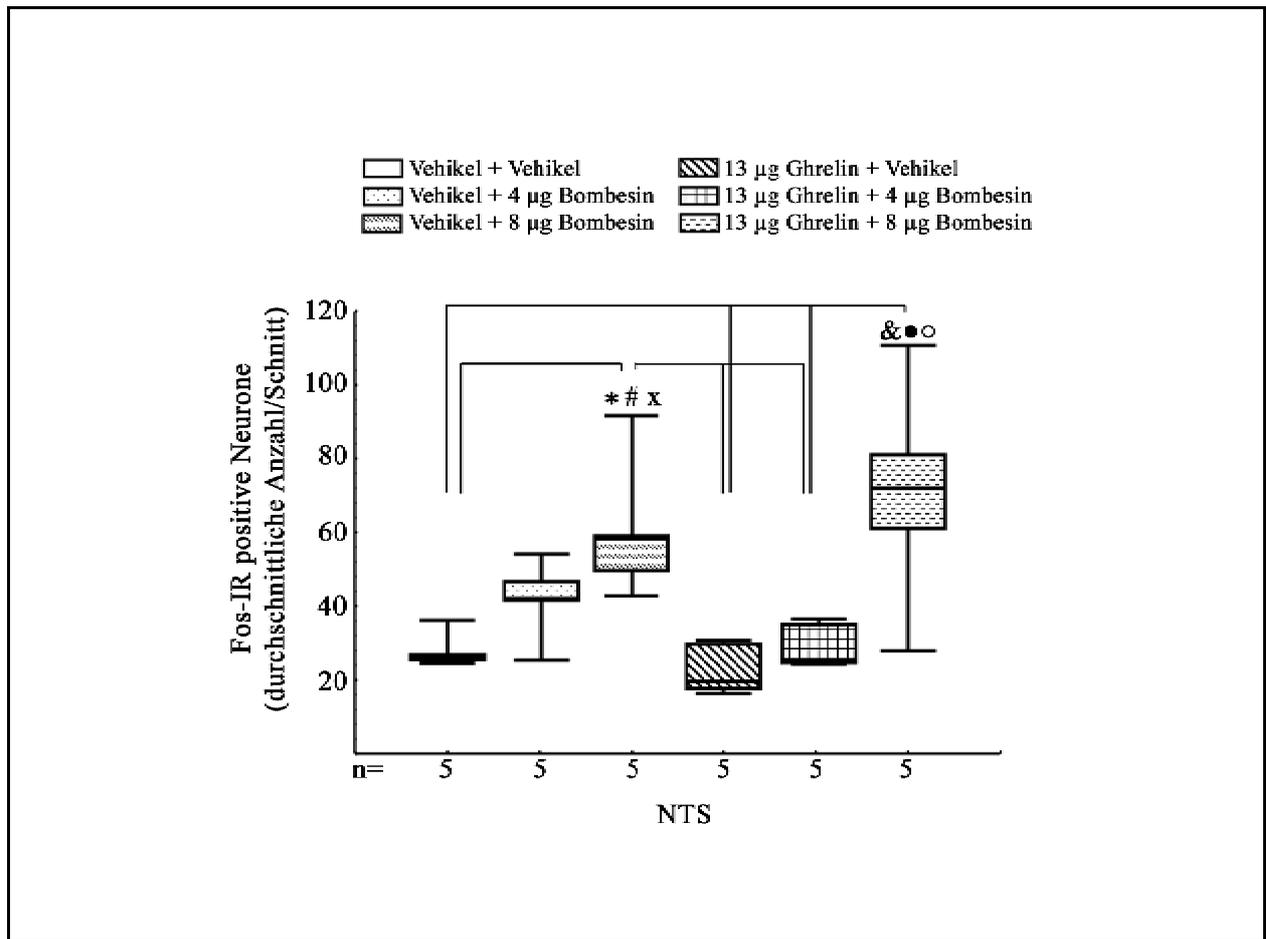


Abbildung 3.10: Effekte von Ghrelin und Bombesin auf die Fos-IR im NTS

Die Gabe von 8 µg/kg KG Bombesin allein oder simultan mit 13 µg/kg KG Ghrelin hat einen signifikanten Anstieg der Fos Expression im NTS zur Folge.

Die Grafik zeigt Box- und Whiskers-Plots (Beschreibung siehe Abbildung 3.4). n = Anzahl

* $p < 0,008$ vs. Vehikel + Vehikel; # $p < 0,008$ vs. Vehikel + 13 µg Ghrelin; x $p < 0,008$ vs. 13 µg Ghrelin + 4 µg Bombesin; & $p < 0,0158$ vs. Vehikel + Vehikel; • $p < 0,0317$ vs. Vehikel + 13 µg Ghrelin; o $p < 0,0317$ vs. 13 µg Ghrelin + 4 µg Bombesin

3.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

In den verhaltensbiologischen Experimenten führten 13 µg/kg KG Ghrelin zu einer signifikanten Steigerung der Nahrungsaufnahme innerhalb der ersten Stunde des Messzeitraums. Diese Steigerung wurde durch die simultane Applikation von 8 µg/kg KG Bombesin gehemmt. Der inhibierende Einfluss von Bombesin hielt über den gesamten Messzeitraum von zwei Stunden an. Eine Dosis von 4 µg/kg KG war nicht ausreichend, um den Ghrelin-Stimulus zu hemmen.

Im Gegensatz zu Bombesin zeigte Amylin (1 µg/kg KG und 5 µg/kg KG) keinen hemmenden Effekt auf die Ghrelin induzierte Nahrungsaufnahme. Die Gabe von 5 µg/kg KG Amylin zu Beginn der Dunkelphase der Ratten führte jedoch im Vergleich zur Vehikel-Gruppe zu einer signifikanten Reduktion der Nahrungsaufnahme innerhalb einer Stunde nach Injektion.

Immunhistologisch zeigte sich nach der Gabe von 13 µg/kg KG Ghrelin eine signifikant gesteigerte Neuronenaktivität im NARC. Die simultane Gabe von Ghrelin und Bombesin (4 µg/kg KG und 8 µg/kg KG) zeigte keinen hemmenden Effekt auf die Fos-IR in den Neuronen des NARC. Bombesin allein (4 µg/kg KG und 8 µg/kg KG) hatte keinen Einfluss auf die Fos-Expression im NARC.

Im PVN führte die gleichzeitige Applikation von Ghrelin und 8 µg/kg KG Bombesin zu einer signifikanten Steigerung der Anzahl Fos positiver Neurone verglichen mit allen anderen Gruppen. Die immunhistologische Doppelfärbung der Ghrelin + 8 µg Bombesin-Gruppe zeigte, dass die Mehrzahl ($59,32 \pm 4,43\%$) der Fos positiven Neurone auch CRF positiv war. In dieser Gruppe war außerdem zu beobachten, dass $22,37 \pm 4,43\%$ der CRF positiven Neurone im PVN auch Signale für Fos zeigten.

Im NTS führte sowohl die Applikation von 8 µg/kg KG Bombesin allein als auch die simultane Injektion von 13 µg/kg KG Ghrelin und 8 µg/kg KG Bombesin zu einer signifikanten Erhöhung der Neuronenaktivität.