

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Einzelversuche

#### 4.1.1 Wirkung von Camostat auf die Futtermittelaufnahme

Nach Vorbehandlung der Ratten mit Camostat zeigte sich 4 Stunden nach Substanzapplikation bei den mit 200mg/kg behandelten Ratten eine signifikante Verminderung der Nahrungsaufnahme (Abb.3a).

Verglichen mit der Kontrollgruppe konnte die Futtermittelaufnahme in der mit 200mg/kg Camostat behandelten Gruppe nach 4 Stunden maximal um 21% ( $P < 0.01$ ) gesenkt werden. Die hypophagische Wirkung ist bei den mit 100 und 200mg/kg behandelten Gruppen auch nach 24 Stunden noch nachweisbar (Abb.3b).

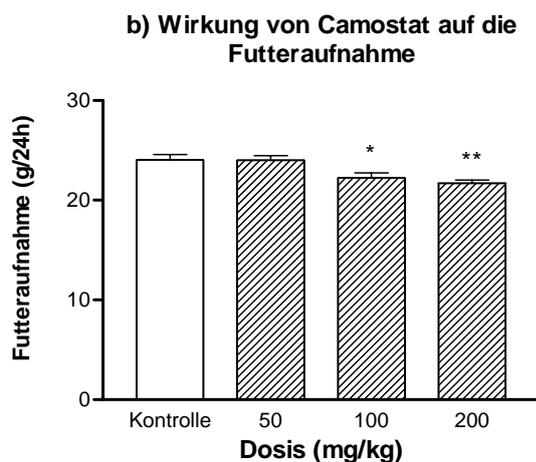
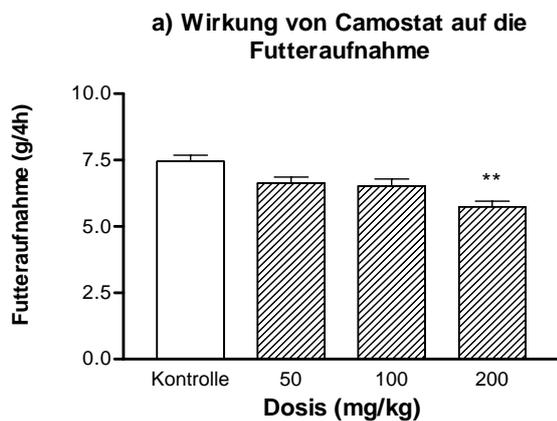


Abb.3a/b: Wirkung von Camostat (50, 100, 200mg/kg oral) auf die Futtermittelaufnahme von Ratten 4 und 24 Stunden nach der Substanzapplikation. Ein signifikanter Unterschied konnte nach 4 Stunden bei den mit 200mg/kg behandelten und nach 24 Stunden bei den mit 100 und 200mg/kg behandelten Gruppen gemessen werden. (n = 10 Ratten/Gruppe. Mittelwert +/- SEM. ANOVA gefolgt von Dunnett's Multiple Comparison Test \* $P < 0.05$  bzw. \*\* $P < 0.01$  gegenüber der Kontrolle).

#### 4.1.1.1 Effekt von Camostat auf die Körpermasse und den Wasserverbrauch nach 24 Stunden

Im Vergleich zur Kontrollgruppe ist die Zunahme der Körpermasse 24 Stunden nach Camostatgabe (200mg/kg) um 35% ( $P < 0.05$ ) geringer (Abb.4a).

Der Wasserverbrauch ist bei den mit 200mg/kg Camostat behandelten Tieren um 17% ( $P < 0.05$ ) gegenüber der Kontrollgruppe vermindert (Abb.4b).

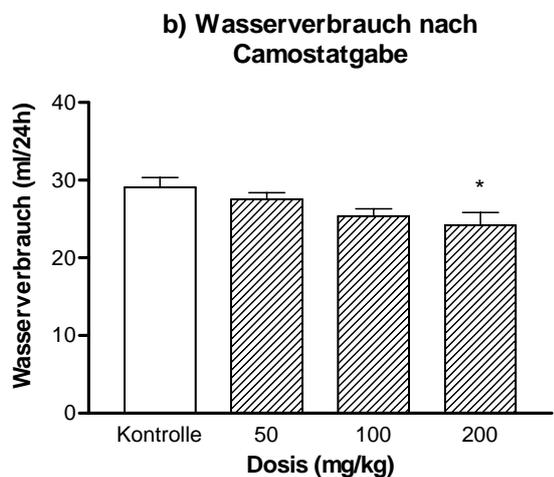
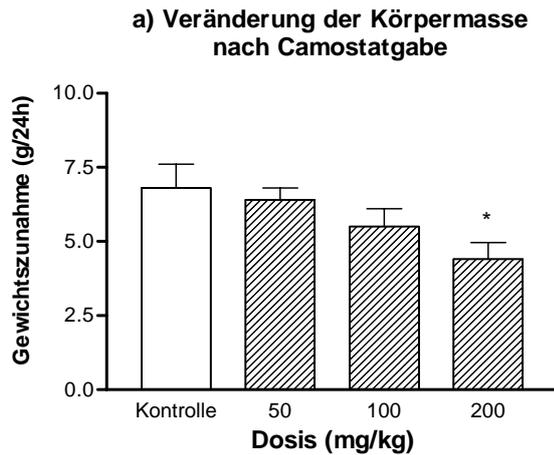


Abb.4 a/b: Wirkung von Camostat (50, 100, 200mg/kg oral) auf die Körpermasse und den Wasserverbrauch von Ratten 24 Stunden nach Substanzapplikation. Ein signifikanter Unterschied konnte nach 24 Stunden bei den mit 200mg/kg Camostat behandelten Gruppen gemessen werden. (n = 10 Ratten/Gruppe. Mittelwert +/- SEM. ANOVA gefolgt von Dunnett's Multiple Comparison Test \* $P < 0.05$  gegenüber der Kontrolle).

#### 4.1.2 Wirkung von Devazepid auf die Futtermaufnahme

Durch Gabe des CCK1-Antagonisten Devazepid (100µg/kg) konnte der hypophagische Effekt von 200mg/kg Camostat nach 4 Stunden ansatzweise, aber statistisch nicht signifikant aufgehoben werden.

Dagegen konnte die durch Camostat induzierte reduzierte Zunahme der Körpermasse nach 24 Stunden durch die Gabe von Devazepid signifikant antagonisiert werden ( $P < 0.01$ ) (Abb. 5a/b). Devazepid alleine hatte keinen Effekt auf die Nahrungsaufnahme.

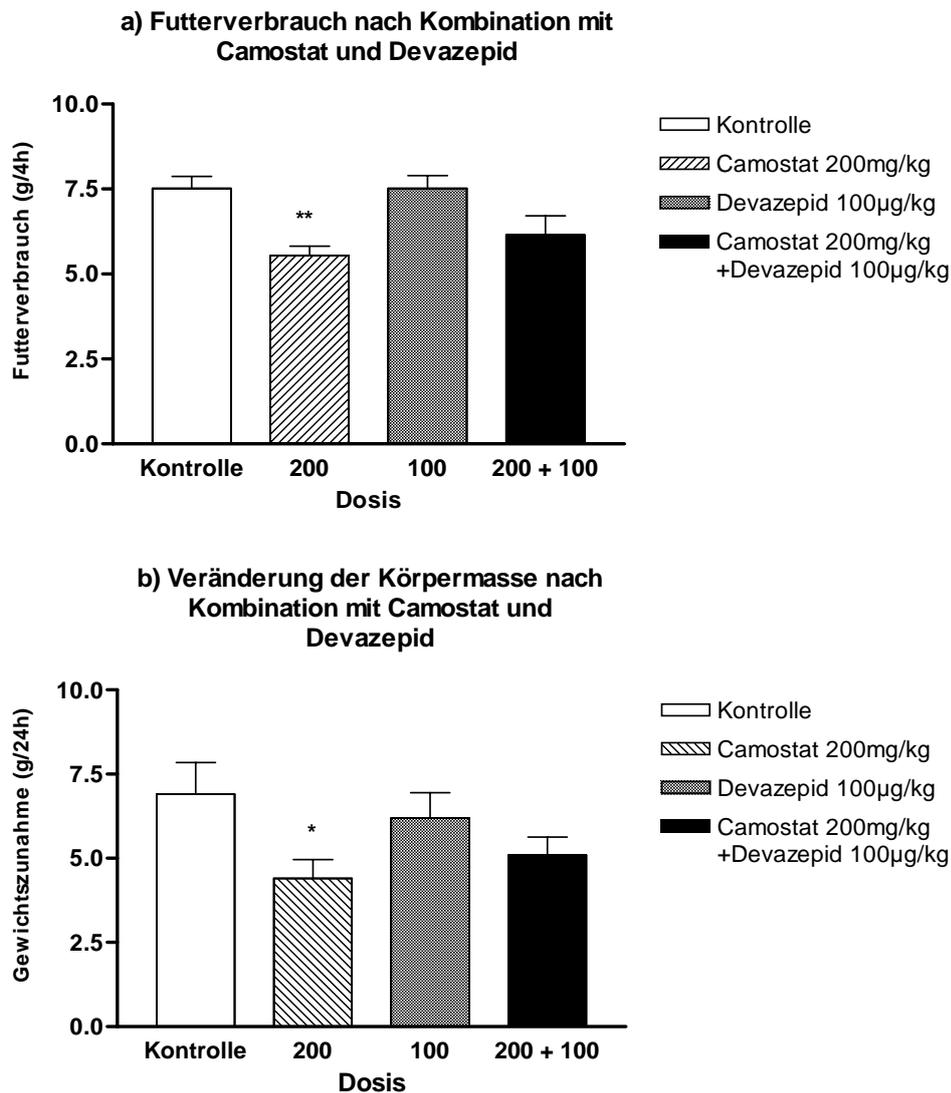


Abb.5a/b: Wirkung des CCK1-Antagonisten Devazepid (100µg/kg) und von Camostat (100mg/kg) auf die Futtermaufnahme 4 und auf die Körpermasse 24 Stunden nach der Substanzapplikation. Devazepid konnte den hypophagischen Effekt von Camostat teilweise und den Effekt auf die Körpermasse signifikant antagonisieren. Die Kombination beider Substanzen im Vergleich zur Kontrolle zeigte keinen signifikanten Effekt. (n = 10-20 Ratten/Gruppe. Mittelwert +/- SEM. ANOVA gefolgt von Bonferroni's Multiple Comparison Test \* $P < 0.05$  bzw. \*\* $P < 0.01$  gegenüber der Kontrolle, gegenüber Devazepid und gegenüber der Kombination beider Substanzen).

### 4.1.3 Wirkung von STI auf die Futtermittelaufnahme

In den Einzelversuchen mit dem Sojabohnen-Trypsin-Inhibitor (STI) wurde die Substanz in Dosierungen von 125, 250 und 500mg/kg oral appliziert.

Nach Verabreichung von 500mg/kg STI wurde die Nahrungsaufnahme in der ersten Stunde um 1,4g (56%) signifikant reduziert ( $P < 0.05$ ) (Abb.6a)

Diese hypophagische Wirkung konnte nach 24 Stunden nicht mehr nachgewiesen werden (Abb.6b).

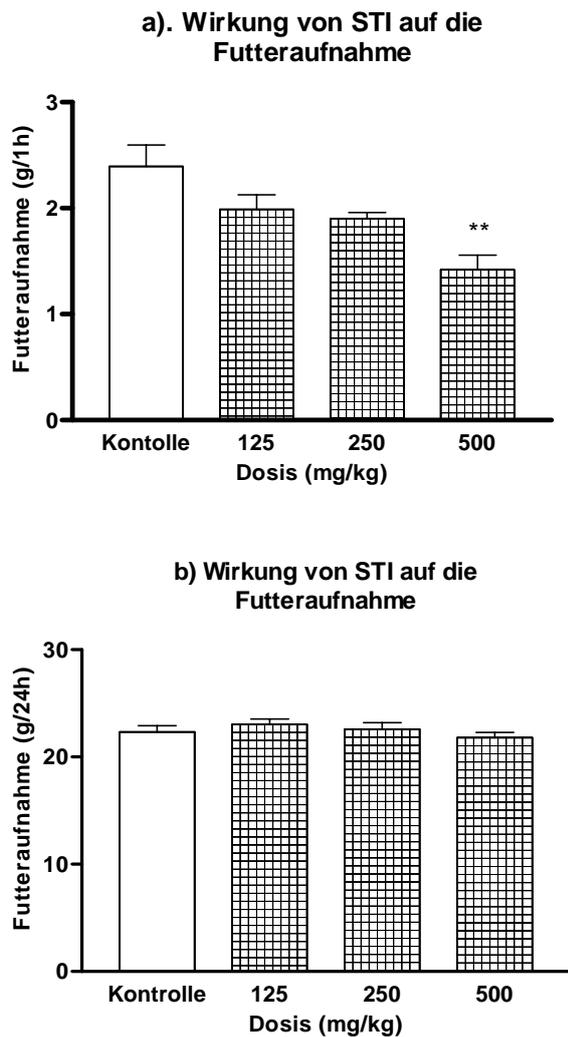


Abb.6a/b: Wirkung von STI (125, 250, 500mg/kg oral) auf die Futtermittelaufnahme von Ratten 1 und 24 Stunden nach der Substanzapplikation. Ein signifikanter Unterschied konnte bei den mit 250 und 500mg/kg behandelten Ratten nach 1 Stunde gemessen werden. Nach 24 Stunden war kein hypophagischer Effekt mehr nachweisbar. ( $n = 10$  Ratten/Gruppe. Mittelwert  $\pm$  SEM. ANOVA gefolgt von Dunnett's Multiple Comparison Test \*\* $P > 0,01$  gegenüber der Kontrolle).

#### 4.1.3.1 Wirkung von STI auf die Körpermasse und den Wasserverbrauch nach 24 Stunden

Im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigten die Tiere nach einer Behandlung mit STI keine signifikante Änderung der Körpermasse nach 24 Stunden (Abb.7a).

Desgleichen zeigten auch die Messungen des Wasserverbrauchs keine Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den vorbehandelten Tieren nach 24 Stunden (Abb.7b).

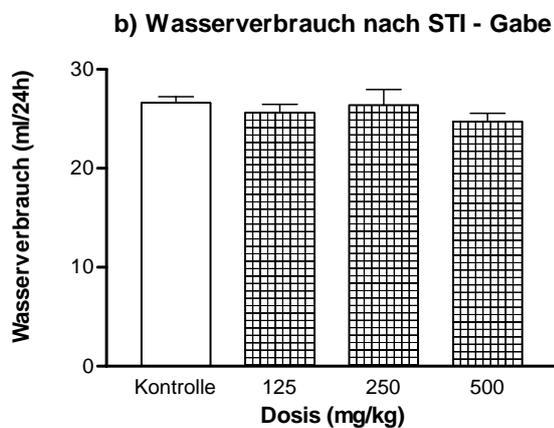
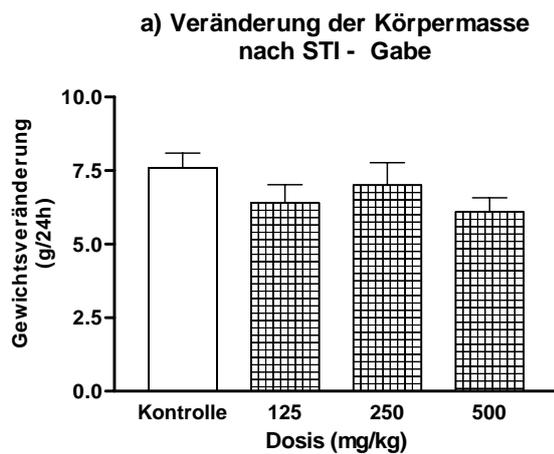


Abb.7a/b: Wirkung von STI (125, 250, 500mg/kg oral) auf die Körpermasse und den Wasserverbrauch von Ratten 24 Stunden nach Substanzapplikation. Ein signifikanter Unterschied konnte nicht gemessen werden. (n = 10 Ratten/Gruppe. Mittelwert +/- SEM. ANOVA gefolgt von Dunnett's Multiple Comparison Test).

#### 4.1.4 Wirkung von Fenfluramin auf die Futtermittelaufnahme

Eine Dosis von 1, 3 und 9mg/kg Fenfluramin reduzierte 1 Stunde nach intraperitonealer Applikation den Futterverbrauch der Tiere signifikant ( $P < 0.01$ ) (Abb.8a).

Der anorektische Effekt ließ sich für die beiden höheren Dosierungen auch nach 4 Stunden noch nachweisen (Abb.8b).

Die Futtermittelaufnahme konnte nach Applikation von 3mg/kg in 4 Stunden um 4,7g (64,4%) und nach Applikation von 9mg/kg um 6,6g (90,4%) gesenkt werden.

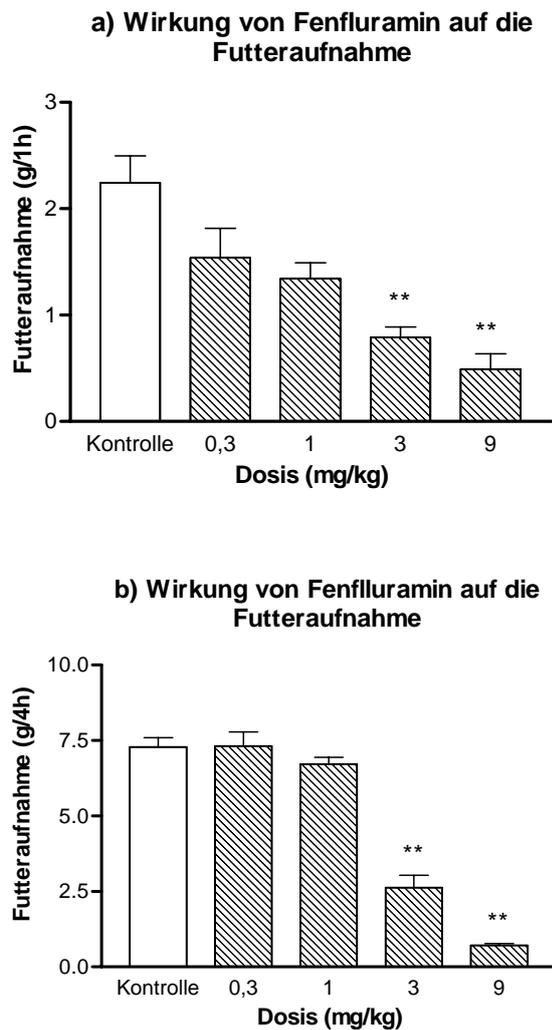


Abb.8 a/b: Wirkung von Fenfluramin (0,3, 1, 3, 9g/kg intraperitoneal) auf die Futtermittelaufnahme von Ratten 1 und 4 Stunden nach der Substanzapplikation. Ein signifikanter Unterschied konnte nach einer Stunde nach Gabe von 1, 3 und 9mg/kg Fenfluramin und nach 4 Stunden nach Gabe von 3 und 9mg/kg nachgewiesen werden. (n = 10-25; Mittelwert +/- SEM. ANOVA gefolgt von Dunett's Multiple Comparison Test \*\*P < 0.01 gegenüber der Kontrolle).

Beobachtet man die Nahrungsaufnahme der Tiere nach Vorbehandlung mit Fenfluramin über 24 Stunden, ist bei der mit 9mg/kg behandelten Gruppe ein anhaltender anorektischer Effekt nachweisbar ( $P < 0.01$ ) (Abb.8c).

### c) Wirkung von Fenfluramin auf die Futteraufnahme

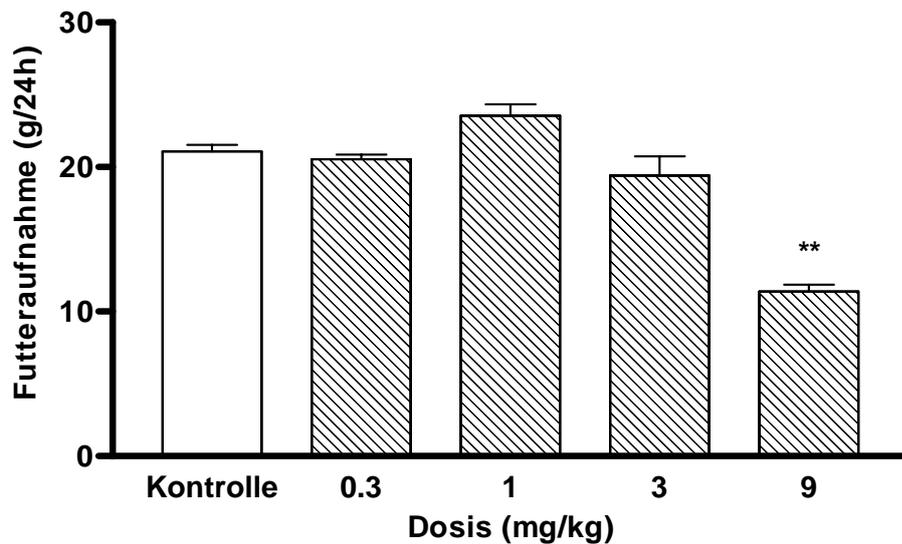


Abb.8c: Wirkung von Fenfluramin (0,3, 1, 3, 9mg/kg intraperitoneal) auf die Futteraufnahme von Ratten 24 Stunden nach der Substanzapplikation. Ein signifikant hypophagischer Effekt konnte nach Gabe von 9mg/kg Fenfluramin nachgewiesen werden. (n = 10-25 ; Mittelwert +/- SEM. ANOVA gefolgt von Dunett's Multiple Comparison Test \*\*P < 0.01 gegenüber der Kontrolle).

#### 4.1.4.1 Wirkung von Fenfluramin auf die Körpermasse und den Wasserverbrauch nach 24 Stunden

Die Messung des Körpergewichts nach 24 Stunden zeigte bei den mit 3mg/kg behandelten Tieren eine deutlich verminderte Zunahme des Körpergewichts. Im Gegensatz zu den Kontrolltieren nahmen sie 1,9g (63,3%) weniger an Gewicht zu.

Die mit 9mg/kg behandelte Gruppe nahm über 24 Stunden sogar an Körpergewicht ab (Abb.9a). Entsprechend zum Körpergewicht war der Wasserverbrauch in der mit 9mg/kg behandelten Gruppe ebenfalls signifikant vermindert (Abb.9b).

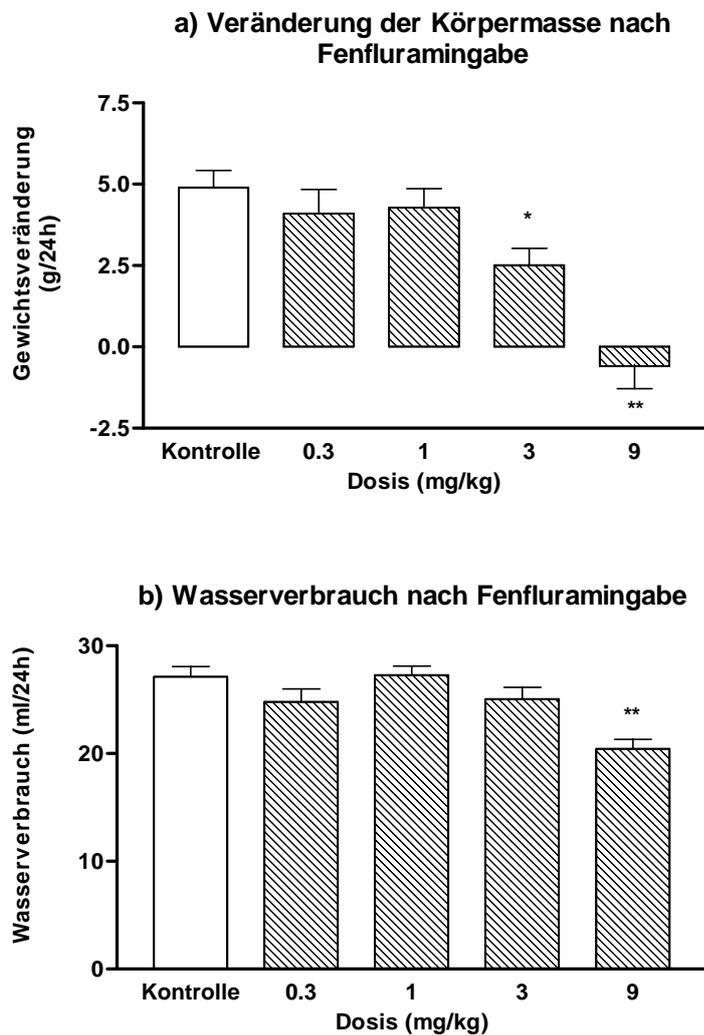


Abb.9a/b.: Wirkung von Fenfluramin (0,3, 1, 3 und 9mg/kg i.p.) auf die Körpermasse und den Wasserverbrauch von Ratten 24 Stunden nach der Substanzapplikation. Ein signifikanter Unterschied konnte in beiden Versuchen in der mit 9mg/kg behandelten Gruppe gemessen werden, die Messung der Körpermasse gab auch in der mit 3mg/kg behandelten Gruppe eine signifikant verminderte Zunahme der Körpermasse. (n = 10-25; Mittelwert +/- SEM. ANOVA gefolgt von Bonferroni's Multiple Comparison Test).

## 4.2 Kombinationsversuche

### 4.2.1 Wirkung der Kombination von Camostat und Fenfluramin auf die Futteraufnahme

Mit der Frage nach einem synergistischen Effekt wird hier die Wirkung von Camostat (200mg/kg) in Kombination mit einer subeffektiven Dosis von Fenfluramin (1mg/kg) untersucht. Die Vorbehandlung mit 200mg/kg Camostat zeigte innerhalb von 4 Stunden eine signifikante Verminderung der Nahrungsaufnahme um 1,9g (25%).

Die Kombination beider Substanzen zeigte jedoch keinen synergistischen Effekt, d.h. es gibt keinen Unterschied zwischen der mit 200mg/kg Camostat behandelten Gruppe und der zusätzlich mit 1mg/kg Fenfluramin behandelten Gruppe (Abb.10a)

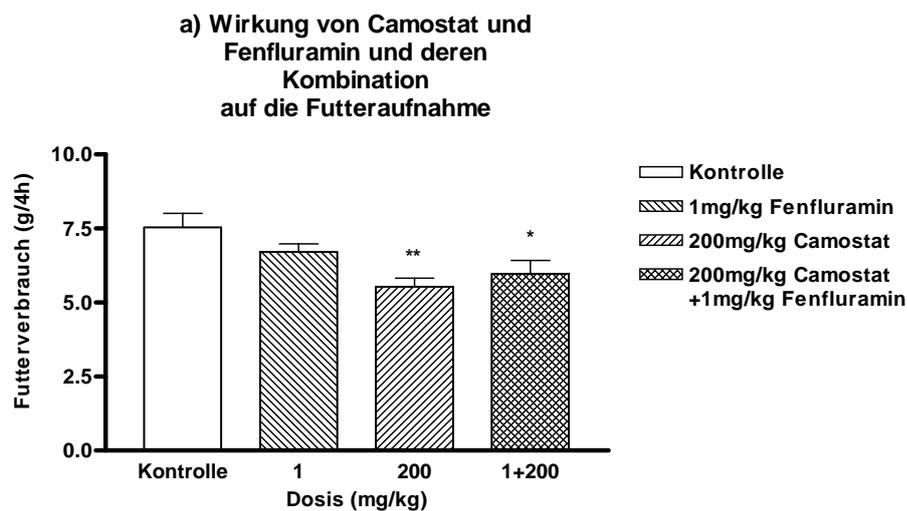


Abb. 10a: Wirkung der Kombination von Camostat (200mg/kg, oral) und Fenfluramin (1, 3, 9µg/kg, i.p.) auf die Futteraufnahme von Ratten 4 Stunden nach der Substanzapplikation. Ein signifikanter Unterschied konnte nach 4 Stunden bei der mit 200mg/kg Camostat behandelten Gruppen und in der Kombinationsgruppe gemessen werden. (n = 10; Mittelwert +/- SEM. ANOVA gefolgt von Bonferroni's Multiple Comparison Test \*P < 0.05 bzw. \*\*P < 0.01 gegenüber der Kontrolle).

Des Weiteren kombinierten wir Camostat (200mg/kg) mit einer effektiven Dosis von Fenfluramin (3mg/kg).

Den Einzelversuchen entsprechend zeigten Camostat und Fenfluramin eine signifikante Verminderung der Nahrungsaufnahme nach 4 Stunden, die Kombination beider Substanzen war aber ebenfalls ohne synergistischen Effekt (Abb.10b).

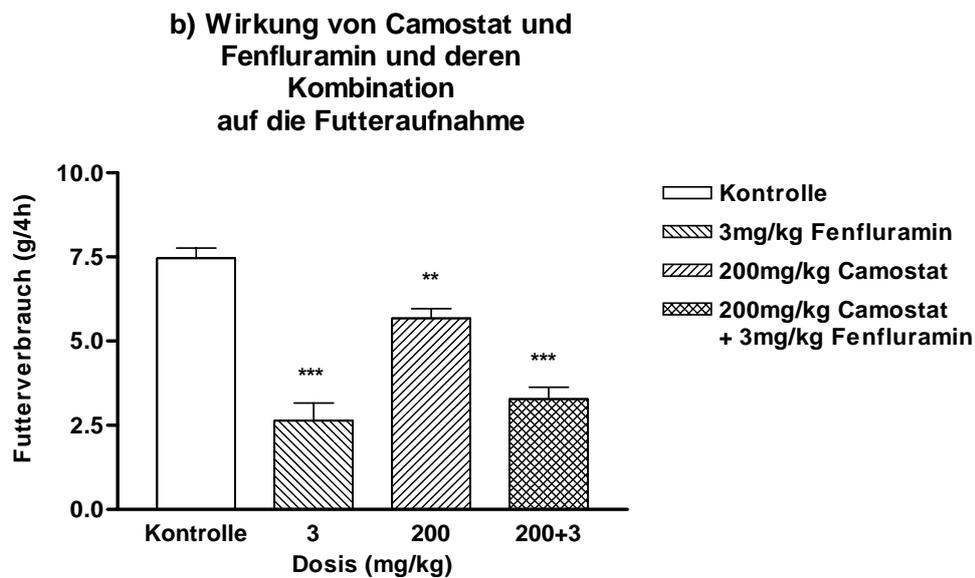


Abb.10b. : Wirkung der Kombination von Camostat (200mg/kg) und Fenfluramin (3mg/kg) auf die Futteraufnahme von Ratten 4 Stunden nach der Substanzapplikation. Ein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Kontrollgruppe konnte bei allen behandelten Gruppen gemessen werden. Die Kombination von Camostat (200mg/kg) und Fenfluramin (3mg/kg) zeigt im Vergleich zu der Behandlung mit Fenfluramin (3mg/kg) keinen signifikanten Unterschied. (n = 10; Mittelwert +/- SEM. ANOVA gefolgt von Bonferroni's Multiple Comparison Test \*\*P < 0.01 bzw. \*\*\*P < 0.001 gegenüber der Kontrolle).

#### 4.2.2 Frühe Vorbehandlung mit Camostat in Kombination mit Fenfluramin

Um die Möglichkeit auszuschließen, dass Camostat und Fenfluramin aufgrund des unterschiedlichen Zeitpunktes der maximalen Wirkungsstärke (von Fenfluramin nach 2 Stunden und von Camostat nach 4 Stunden) nicht miteinander interagieren, wurde die Vorbehandlungszeit mit Camostat um 2 Stunden verlängert.

Die Kombination beider Substanzen zeigt weder mit der effektiven (3mg/kg) noch mit der subeffektiven (1mg/kg) Fenfluramindosis in Kombination mit 200mg/kg Camostat einen synergistischen Effekt (Abb.11).

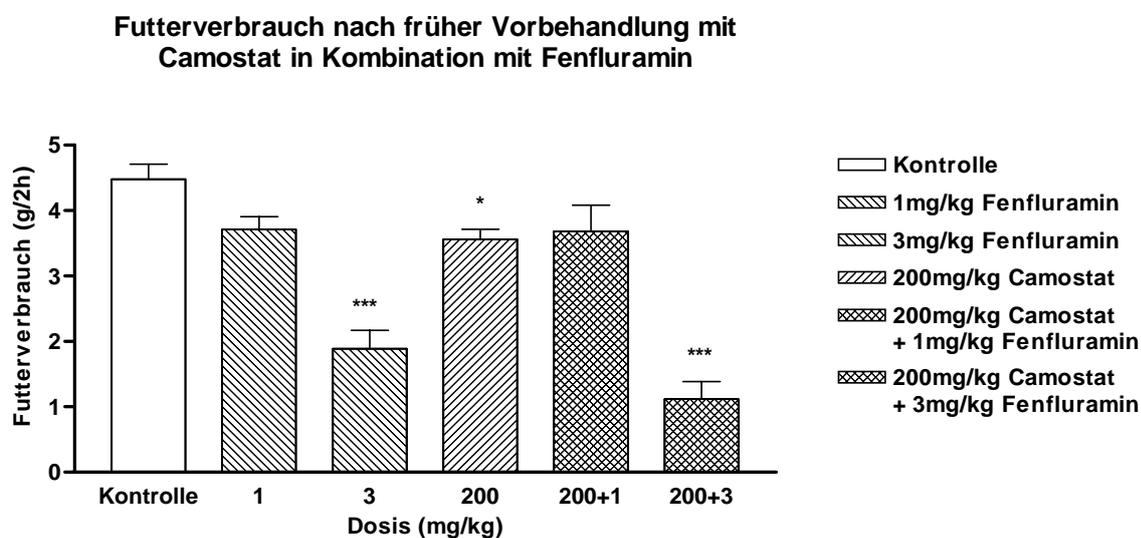


Abb.11: Wirkung von Camostat (200mg/kg) und Fenfluramin (1, 3mg/kg) und deren Kombination auf die Nahrungsaufnahme 2 Stunden nach Beginn der Dunkelphase. Im Gegensatz zu dem letzten Versuch wurden die Ratten schon 2 Stunden früher mit Camostat behandelt.

200mg/kg Camostat und 3mg/kg Fenfluramin führten jeweils zu einer signifikanten Reduktion der Nahrungsaufnahme.

Die Kombinationen von 1mg/kg Fenfluramin mit 200mg/kg Camostat und von 3mg/kg Fenfluramin mit 200mg/kg Camostat zeigten keine additive Wirkung. (Mittelwert  $\pm$ SEM, n = 10 – 20, \*P < 0.05, \*\*\*P < 0.001 gegenüber der Kontrollgruppe. ANOVA gefolgt von Bonferroni's Multiple Comparison Test).

### 4.2.3 Wirkung der Kombination von Fenfluramin und STI auf die Nahrungsaufnahme

Während des zweiten Kombinationsversuches wurde Fenfluramin mit STI kombiniert.

Nach einer Stunde konnte durch die Kombination beider Substanzen im Vergleich zu der Gabe von Fenfluramin (1mg/kg) oder STI (500mg/kg) allein kein verminderter Futterverbrauch gemessen werden.

Wie in den Einzelversuchen zeigte die Vorbehandlung mit beiden Substanzen eine signifikante Reduktion der Nahrungsaufnahme nach einer Stunde, ein synergistischer Effekt blieb aber aus.

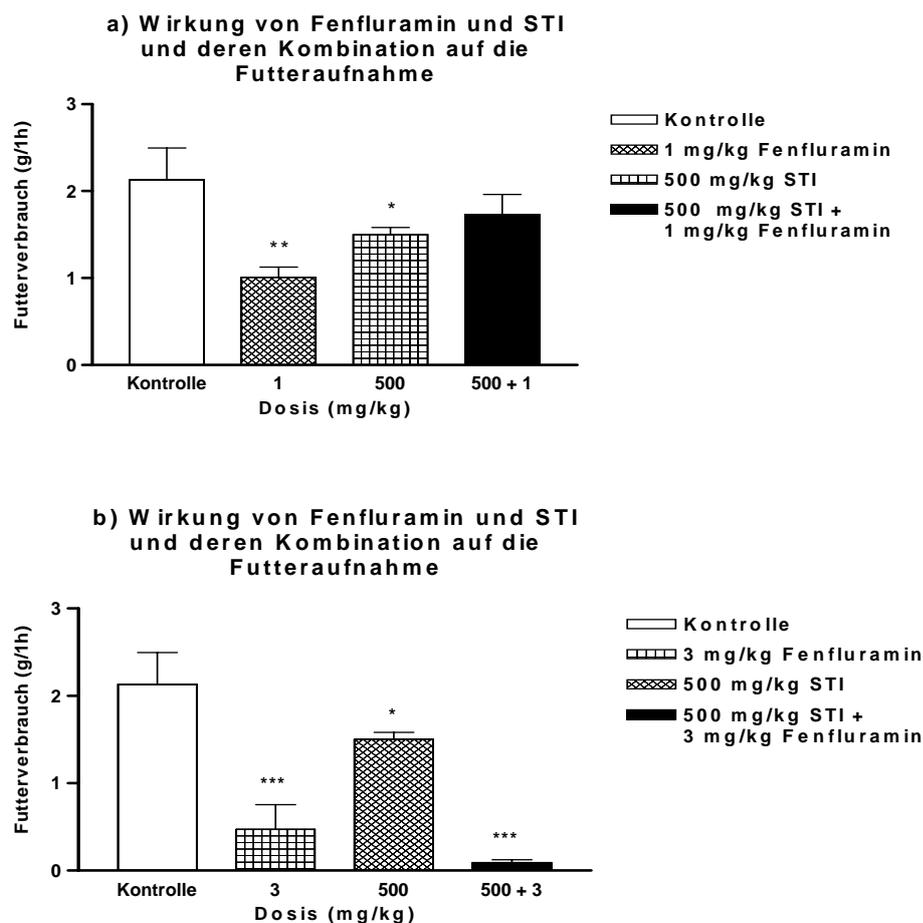


Abb.12a/b.: Wirkung von STI (500mg/kg) und Fenfluramin (1, 3mg/kg) und deren Kombination auf die Nahrungsaufnahme 1 Stunde nach Substanzapplikation.

Verglichen zur Monotherapie mit Fenfluramin oder STI zeigt weder die Kombination von 1mg/kg noch von 3mg/kg Fenfluramin mit 500mg/kg STI einen synergistischen Effekt. (n = 07 – 25; Mittelwert +/- SEM. ANOVA gefolgt von Bonferroni's Multiple Comparison Test \*P < 0.05, bzw. \*\*P < 0,01, bzw., \*\*\*P < 0.001 gegenüber der Kontrollgruppe).