

Der medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität

eingereicht von Prof. Dr. med. W. Wuttke

**Effekt von Estradiol und *Cimicifuga racemosa* (C001) BNO1055 und deren
Subfraktionen (C001/S1-S3, R1-R3) auf das Fett- und Muskelgewebe sowie
auf Serumparameter der ovariectomierten Ratte**

INAUGURAL – DISSERTATION

**zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen**

vorgelegt von

Tobias Diewald

aus

Saarbrücken

Göttingen 2016

Die vorliegende Dissertation wurde in Göttingen im Zeitraum von Oktober 2010 bis April 2016 unter der Betreuung von Prof. Dr. med. W. Wuttke angefertigt.

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

I. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Wolfgang Wuttke

II. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Sabine Mihm

III. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Martin Oppermann

Tag der mündlichen Prüfung: 08.11.2016

Inhalt

1. Einleitung	1
1.1 Das Klimakterium	2
1.2 Der postmenopausale Lipid- und Muskelstoffwechsel	4
1.2.1 Sarkopenie	4
1.2.2 Östrogenmangel/Fetzzunahme/Fettumverteilung	6
1.3 <i>CR-Extrakt</i> und bisher nachgewiesene Effekte	9
1.4 Mögliche Wirkungsweisen von <i>CR</i>	11
1.5 Die Rolle des Serotonins im Fett- und Muskelstoffwechsel	13
1.6 Die Rolle von Dopamin im Energiehaushalt und Muskelstoffwechsel	14
1.7 Ziel dieser Studie	16
2. Material und Methoden	17
2.1. Tierversuche	17
2.1.1 Versuchstiere	17
2.1.2 Futter	18
2.1.3 Obduktion:	20
2.2 Messdatenerhebung	21
2.2.1 Quantitatives Computertomogramm (qCT)	21
2.2.2 Serumparameter	23
2.3 Ovariectomie	24
2.4 Statistische Methoden	25
3. Ergebnisse	26
3.1 Allgemeine Ergebnisse	27
3.2 Fettfläche	30
3.3 Herz, Skelettmuskel: Muskeldichte und Muskelfläche	38
3.4 Serumparameter	45
4. Diskussion	47
4.1 Allgemeine Ergebnisse	47
4.2 Fettgewebe	50
4.3 Herz, Skelettmuskel: Muskeldichte und Muskelfläche	60
4.4 Leptin	68
5. Schlussfolgerung	70
6. Literaturverzeichnis	74

Abkürzungen:

AhR: Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor

AMPK: AMP-aktivierte Proteinkinase

ARNT: *aryl-hydrocarbon-receptor-nuclear-translocator*

CR: *Cimicifuga racemosa*

E2: Estradiol

ER: Östrogenrezeptor

GPDH: Glycerol-3-Phosphat-Dehydrogenase

HRT: Hormonersatztherapie

KG: Körpergewicht

LH: luteinisierendes Hormon

LPL: Lipoproteinlipase

LPS: Lipopolysaccharid

MIP-2: *macrophage inflammatory protein*

ovx: ovariectomiert

Ovx: Ovariectomie

PPAR: Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor

qCT: quantitatives Computertomogramm

ROS: reaktive Sauerstoffspezies

SD: Sprague Dawley

TG: Triglyceride

WHO: World-Health-Organization

1. Einleitung

Die vorliegende Doktorarbeit befasst sich mit den Auswirkungen von Estradiol sowie Fraktionen und Subfraktionen (Ko/S1-S3, R1-R3) des *Cimicifuga racemosa*-Extrakts BNO 1055 = C001 (CR) auf Fettgewebe, Muskelgewebe und diverse Serumparameter der ovariectomierten (ovx) Ratte. Ovx Sprague Dawley-Ratten (SD) wurden benutzt, da diese als vergleichbares Tiermodell zu den Veränderungen im Knochengewebe und des Fettmetabolismus der postmenopausalen Frau gesehen werden können (Kalu 1991; Seidlová-Wuttke et al. 2010). Ebenso gilt dies für die Effekte des Östrogenmangels auf das Muskelgewebe (Lowe et al. 2010).

Der Östrogenmangel nach der Menopause resultiert in unterschiedlichen negativen Folgen für den Organismus der Frau. Im Speziellen sind dies:

- Osteoporose
- Hitzewallungen und Schweißausbrüche
- Atrophie im Gewebe des Urogenitalsystems
- Depressionen
- Veränderungen im Fett- und Muskelstoffwechsel.
- Veränderungen der Serumlipide (Carr 2003; Avis et al. 2005)

Die Hormonersatztherapie (HRT) ist durch unerwünschte Nebenwirkungen, wie beispielsweise ein erhöhtes Risiko, an einem Mamma-Karzinom zu erkranken oder kardiovaskuläre Folgeschäden zu erleiden, in die Kritik geraten (Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators 2002; Beral 2003), Daher sucht und sucht die Medizin nach Alternativen.

Unter anderem wird die HRT erfolgreich dazu benutzt, Hitzewallungen postmenopausaler Frauen zu behandeln (Brockie 2013). Studien haben aber bereits gezeigt, dass neben der HRT auch die Inhaltsstoffe aus *CR* diese vegetativen Beschwerden während den Wechseljahren zu lindern vermögen, und zwar zum einen bei Ratten (Kapur et al. 2010), als auch beim Menschen (Shams et al. 2010). Neben dieser Indikation hat sich das *CR*-Extrakt BNO1055 zunehmend auch bei anderen postmenopausalen Beschwerden als Alternative zur konventionellen HRT erwiesen (siehe Abschnitt 1.3).

1.1 Das Klimakterium

Im Folgenden wird der Begriff Klimakterium näher erläutert.

- *Das Klimakterium der Frau*

Mit dem Begriff Klimakterium bezeichnet man die Zeit der hormonellen Umstellung im Leben einer Frau vor und nach der Menopause. Als Menopause ist definitionsgemäß der Zeitpunkt der letzten Regelblutung festgelegt. Dieser wird rückwirkend ein Jahr nach derselbigen festgestellt. Sobald die Zykluslänge der Frau variiert, also während der Monate oder Jahre vor der tatsächlichen Menopause, spricht man von Perimenopause. Der hormonelle Lebensabschnitt nach der Menopause wird auch als Postmenopause bezeichnet. Das durchschnittliche Alter der Frauen zur Zeit der Menopause liegt bei 51 Jahren. Der perimenopausale Übergang dauert meist ungefähr 4-5 Jahre. In dieser Zeit kommt es durch die Atresie der ovariellen Follikel und dem Einbüßen der Fähigkeit zur Produktion von Östrogenen und Progesteron zu einem Abfall der Serumkonzentration dieser

Hormone. Gleichzeitig steigt die Konzentration des Follikel-stimulierenden Hormons (FSH).

Diese Hormonschwankungen können, wie beschrieben, zu individuell unterschiedlich ausgeprägten Veränderungen im Stoffwechsel und Symptomen führen (Greendale et al. 1999; Nelson 2008).

- *Das Klimakterium der Ratte*

Die weibliche Ratte entwickelt, im Gegensatz zur Frau, unter normalen Umständen keinen klimakterischen Hormonzustand. Ratten haben schon nach ungefähr drei Monaten ihre Geschlechtsreife erreicht. Sie entwickeln vom 16. - 18. Monat ihres Lebens einen Hyperestrinismus und versterben kurze Zeit später. Ein Mangel an Geschlechtshormonen kann allerdings sehr gut künstlich herbeigeführt werden, beispielsweise durch Ovariectomie (Ovx). So wird bei den Tieren ein Zustand erzeugt, der dem von Frauen im Klimakterium ähnelt (Bellino 2000). Folgen einer Ovx sind bei der Ratte unter anderem Gewichtszunahme, Veränderung der Blutfette (Zoth et al. 2010), Hot Flashes (Merchantaler et al. 1998) und Insulinresistenz (Saengsirisuwan et al. 2009). Ovx Ratten zeigen also Merkmale des auch von uns teilweise untersuchten Metabolischen Syndroms (Saengsirisuwan et al. 2009).

Ein Vorteil bei der Wahl der Ratte als Modell für postmenopausale Veränderungen im Stoffwechsel ist, dass diese sehr schnell auf Einschnitte im Hormonhaushalt reagiert (Kalu 1991; Frost und Jee 1992). Durch die kurze Lebensspanne der Ratte entspricht 1 Monat im Leben einer Ratte ungefähr 2,5 Lebensjahren des Menschen (Andreollo et al. 2012), sodass wir in unserer Versuchsdauer von 4 Wochen ungefähr einen Zeitraum von 2,5 Jahren in der Entwicklung postmenopausaler Folgeerscheinungen im Stoffwechsel der Frau imitieren können.

1.2 Der postmenopausale Lipid- und Muskelstoffwechsel

Da das Klimakterium der Frau beziehungsweise der damit vergesellschaftete Mangel an Östrogenen mit einem Wandel im Fett- und Muskelstoffwechsel einhergeht, werde ich im Folgenden einige Aspekte inklusive der Ursachen dieser Veränderungen näher erläutern. So kommt es im Rahmen der hormonellen Veränderungen gehäuft zum Auftreten von Sarkopenie und Symptomen des Metabolischen Syndroms (Erläuterungen siehe unten). Die Entwicklung der Serumlipide, deren Veränderung bei der Beschreibung des Metabolischen Syndrom ebenfalls definiert sind, wurde bereits in der Dissertation von Rehmann (2014) diskutiert, sodass ich diesen Aspekt, mit Ausnahme des Leptinspiegels, in meiner Abhandlung nicht näher erläutern werde. Da das Leptin in enger Verbindung zu dem in dieser Arbeit untersuchten Fettgewebe steht (siehe unten), werde ich einige von Rehmann bereits veröffentlichten Daten bezüglich des Leptins hier nochmals abbilden und kurz diskutieren.

1.2.1 Sarkopenie

Sarkopenie bezeichnet einen ausgeprägten Verlust an Muskelmasse sowie Muskelkraft. Es wird geschätzt, dass ungefähr 25 % der Personen über 70 Jahre und 40 % der Menschen ab dem 80. Lebensjahr von Sarkopenie betroffen sind (Baumgartner et al. 1998). Die Abnahme an Muskelkraft ist bei Frauen mit einem Abfall der Östrogenkonzentration assoziiert (Baltgalvis et al. 2010). Allerdings lässt sich schwer beurteilen, in welchem Umfang der Verlust an Muskelqualität durch normale Alterungsprozesse zu erklären ist und inwiefern der postmenopausal veränderte Hormonhaushalt der Frau eine Rolle spielt. Erwähnenswert dabei ist jedoch, dass die Zunahme an

intramuskulärem Fett ohne Bezug zu einer Gewichtszunahme oder der Zunahme an subkutanem Fettgewebe im Alter gesehen werden muss. Dies bedeutet, dass die Abnahme an Muskelqualität durch Fetteinlagerung auch bei Personen beobachtet werden kann, welche im Alter an Gewicht verlieren. Problematisch ist, dass die Zunahme von viszeralem Fettgewebe mit einer Sekretion proinflammatorischer Zytokine einhergeht, welche die Muskelkontraktilität negativ beeinflussen. Ob dieser Effekt auch im Zusammenhang mit intramuskulärem Fettgewebe steht und somit die Kontraktilität negativ beeinflusst oder ob dieses Fettgewebe lediglich eine metabolische Dysfunktion des Muskels darstellt, ist bisher unbekannt (Delmonico et al. 2009). Allerdings weiß man, dass Adipozyten von Fettkörpern an Gelenken die gleichen negativen Eigenschaften bezüglich der Zytokinausschüttung besitzen wie viszerale Adipozyten (Rai und Sandell 2011), sodass anzunehmen ist, dass auch das intramuskuläre Fettgewebe hierzu fähig ist. Ein weiterer Beweis für die entscheidende Rolle der Östrogene im Muskelstoffwechsel stellt die Tatsache dar, dass postmenopausale Frauen unter HRT in Kraftmessungen signifikant besser abschnitten als Frauen ohne Substitution (Lowe et al. 2010). Auch bei der Ratte kommt es nach Ovx zu Sarkopenie (Seidlová-Wuttke et al. 2010; Fonseca et al. 2012). Generell ist bei der Ursachenforschung jedoch ebenfalls das im Alter meist deutlich herabgesetzte Ausmaß an körperlicher Aktivität, Komorbidität sowie der Mangel an Nährstoffzufuhr mit der Nahrungsaufnahme zu berücksichtigen. Insbesondere die körperliche Aktivität scheint eine nicht zu vernachlässigende Rolle einzunehmen. Fonseca et al. (2012) fanden heraus, dass die Reduktion der Muskelfasergröße bei Ratten nach Ovx vor allem durch eine verminderte körperliche Aktivität und nicht ausschließlich durch den verursachten Mangel an Östrogenen hervorgerufen wird. So waren ovx Ratten im Vergleich zu nicht ovx Ratten wesentlich inaktiver. Des Weiteren ist auch bei Ratten und Mäusen eine Abnahme der Muskelkraft nach Ovx zu beobachten, welche durch Gabe von Estradiol gemindert oder sogar aufgehoben werden konnte (Lowe et al. 2010).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Reduktion anaboler Stimuli auf den Muskel wie Östrogene, aber auch Androgene und das Wachstumshormon, der gleichzeitige Anstieg von katabolen Zytokinen sowie neuromuskuläre Veränderungen (siehe folgende Abschnitte) in ihrer Kombination zu dem beobachtbaren Verlust an Muskelgewebe im Alter, insbesondere postmenopausal, beitragen.

1.2.2 Östrogenmangel/Fettzunahme/Fettumverteilung

Nach der Menopause steigt bei der Frau das Risiko, die Kombination aus Symptomen des Metabolischen Syndroms aufzuweisen, um 60 Prozent, auch nach Relativierung einflussnehmender Faktoren, wie beispielsweise Alter, körperliche Aktivität und Einkommen. Der Name Metabolisches Syndrom fasst vier Faktoren zusammen: Dyslipoproteinämie (erhöhte Plasma-Triglyceride (TG), niedrige Plasmalevel von High-Density-Lipoprotein), steigende Insulinresistenz, Zunahme an viszeralem Fettgewebe sowie Bluthochdruck. Diese Faktoren erhöhen die Wahrscheinlichkeit, eine kardiovaskuläre Erkrankung zu erleiden. Ungefähr

20-30 % der erwachsenen Bevölkerung ist von diesem Syndrom betroffen. Die Ursachen des metabolischen Syndroms sind vielfältig, in der Pathophysiologie spielen wohl vor allem viszerale Fettleibigkeit und Insulinresistenz eine Rolle (Carr 2003). Zusätzlich wird deutlich, dass gleichzeitig die peri- und postmenopausalen hormonellen Veränderungen von Bedeutung sind (Janssen 2008; Lobo 2008). Bei Ratten wird, wie in Abschnitt 1.1. bereits erwähnt, ähnlich der Frau, nach Ovx und folgendem Östrogenmangel eine Zunahme des Fettgewebes beobachtet (Seidlová-Wuttke et al. 2010; Abdel-Hakim et al. 2014).

Die von viszeralen Adipozyten sezernierten proinflammatorischen Zytokine beeinflussen nicht nur das Muskelgewebe, sondern führen beim Menschen ebenfalls über die Erhöhung von Cholesterolemie zu Bluthochdruck und Arteriosklerose und damit zu einem erhöhten Risiko für Herzerkrankungen und

Schlaganfällen (Bruce und Byrne 2009). Auch im Fettgewebe übergewichtiger Ratten kommt es zu einer gesteigerten Expression proinflammatorischer Gene (Padilla et al. 2014). Östrogene können die Ausschüttung und Effekte dieser Zytokine beeinflussen, und zwar sowohl am Menschen als auch an Mäusen (Schwenke 1998; Baltgalvis et al. 2010; Choi 2013). Östrogene wirken jedoch nicht nur indirekt über Zytokine, sondern auch direkt im Fettgewebe (Mayes und Watson 2004). Schon 1978 haben Wade und Gray Östrogenrezeptoren (ER) im Fettgewebe von Ratten nachgewiesen. Diese haben ähnliche Eigenschaften wie die Rezeptoren in den Fortpflanzungsorganen, sind allerdings in geringerer Dichte vorhanden (Wade und Gray 1978). Genauso konnte beim Menschen die Existenz von Progesteron- und Östrogenrezeptoren in Fettgewebe belegt werden (Price und O'Brien 1993).

Zurzeit ist die genaue Pathophysiologie des metabolischen Syndroms allerdings noch unzureichend geklärt und es ist gut möglich, dass sich die Entwicklung des Syndroms nicht auf einen bestimmten Pathomechanismus reduzieren lässt (Grundy et al. 2005).

Leptin, ein Produkt der Adipozyten, ist ein Peptidhormon, welches in der Regulation des Körpergewichts (KG) beim Menschen (Armellini et al. 2000) sowie bei der Ratte (Bojanowska und Nowak 2007) eine Rolle spielt. Seine Aufgabe besteht in der Begrenzung der Nahrungsaufnahme beziehungsweise des Hungergefühls. Leptin hemmt die Ausschüttung des Neuropeptids Y, welches Appetit-fördernd wirkt. Gleichzeitig hebt es die Konzentration von Proopiomelanocortin an, welches appetitzügelnde Eigenschaften besitzt. Durch Zunahme von Fettdepots im Körper steigt der Leptinspiegel, was unter normalen Umständen wiederum eine Abnahme des Appetits bewirkt (Berg et al. 2010). Da in fettleibigen Menschen und Ratten jedoch meist ebenfalls ein erhöhter Leptinspiegel gemessen wird, ist anzunehmen, dass es in diesen Individuen zu einer herabgesetzten Leptin-Sensitivität mit dementsprechend gestörter Regulation des Hungergefühls gekommen ist (Friedman und Halaas 1998). Die Entwicklung des Leptinspiegels im Zusammenhang mit der Postmenopause ist noch nicht ganz

geklärt. So konnte einerseits eine Korrelation zwischen dem Leptinspiegel und dem Östrogenspiegel von Frauen beobachtet werden (Hardie et al. 1997). Folgerichtig fanden Shimizu et al. (1997) heraus, dass der Leptinspiegel ab dem Zeitpunkt der Menopause und dem daraus resultierenden Abfall der Sexualhormone ebenfalls sinkt. Dieses Ergebnis konnte im Vergleich zwischen prä- und postmenopausalen Frauen sowie zwischen Ratten vor beziehungsweise nach Ovx beobachtet werden. Einer anderen Studie zufolge kommt es postmenopausal zu einem steigenden Leptinspiegel, wahrscheinlich verursacht durch die Zunahme an zentralem Fettgewebe und des KG (Di Carlo et al. 2002). Insgesamt sind die Ergebnisse bezüglich des Leptinspiegels nach Menopause und auch nach HRT in Studien sehr unterschiedlich.

Zusammenfassend gesagt, kommt es neben der Abnahme an metabolisch aktivem Gewebe aufgrund von Veränderungen im Hormon-, Zytokin- und Enzymhaushalt postmenopausal zu einer Zunahme an Fettgewebe, inklusive einer möglichen Entwicklung des Metabolischen Syndroms.

1.3 CR-Extrakt und bisher nachgewiesene Effekte

Cimicifuga racemosa (andere Bezeichnungen: Traubensilberkerze, *Actaea racemosa*) ist eine Pflanze der Gattung *Actaea* und gehört zur Familie der Hahnenfußgewächse. Ihre Heimat ist der Osten Nordamerikas (Wiersema 2005).

Als Arzneimittel dienen die unterirdischen Bestandteile: die Wurzeln und das Rhizom. Die Pflanze dient vor allem der Behandlung klimakterischer Beschwerden. Die Abteilung der Endokrinologie der Universität Göttingen hat sich über Jahre mit dem Extrakt CR BNO 1055 befasst (Seidlová-Wuttke et al. 2003 a, b, c; Wuttke et al. 2006 a, b).

In verschiedenen Studien an Ratten und am Menschen konnte nachgewiesen werden, dass Extrakte aus *CR* ähnlich positive Effekte auf klimakterische Beschwerden wie Östrogene besitzen. Dabei zeigen die Studien, dass die Behandlung – im Gegensatz zu Östrogenen - keine Proliferation des Endometriums bewirkt (Seidlová-Wuttke et al. 2003 b; Wuttke et al. 2006 b; Wuttke et al. 2014).

Bei Untersuchungen an ovx Ratten gibt es folgende Ergebnisse: So konnte das *CR*-Extrakt in höheren Dosierungen (100mg/kg) das KG im Vergleich zur Kontrollgruppe reduzieren. Die bei Ratten durch Östrogene über eine Hemmung des IGF1-Gens induzierte antiproliferative Wirkung am Herzen wird bei *CR* nicht beobachtet (Seidlová-Wuttke et al. 2009). Ebenso reduziert es die Größenzunahme des sogenannten paratibialen Fettdepots (Seidlová-Wuttke et al. 2003 a). Der Serumleptinspiegel wird von *CR* und Östrogenen in Korrelation zu der Größe des paratibialen Fettdepots reduziert (Seidlová-Wuttke et al. 2003 b).

Schellenberg et al. (2012) zeigten in einem Versuch an Frauen im Klimakterium, dass *CR* typische Beschwerden wie Hitzewallungen, psychische Niedergeschlagenheit und Schlaflosigkeit zu lindern vermag.

Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass *CR* keine Wechselwirkungen mit anderen Substanzen eingeht. Es gibt keine Hinweise auf mutagene,

karzinogene, teratogene oder giftige Eigenschaften von *CR*. Auch andere schädliche Nebenwirkungen sind (mit Ausnahme eines Falles, siehe unten) nicht bekannt (Liske 1998).

Bisher gibt es wenige Studien, die die Auswirkung von *CR* auf den Verlust an Muskelmasse im Klimakterium untersucht hat. In einem Fallbericht über eine Patientin, bei welcher ein Extrakt aus *CR* zur Linderung ihrer klimakterischen Beschwerden eingesetzt wurde, kam es unter der Behandlung zu Asthenie sowie erhöhten Spiegel von Kreatin-Phosphokinase und Laktat-Dehydrogenase, was auf einen Muskelschaden hindeutet. Nach Absetzen des Medikaments normalisierten sich diese Parameter sowie die klinische Symptomatik. Es ist anzunehmen, dass das Extrakt aus *CR* bei dieser Patientin zu dem Muskelschaden geführt hat. Trotzdem bleibt dies zum jetzigen Zeitpunkt ein Einzelfall (Minciullo et al. 2006).

Die genauen Inhaltsstoffe der Pflanze waren bisher weitestgehend unbekannt. Jetzt konnte die Firma Bionorica die Inhaltsstoffe identifizieren und hat diese verschiedenen Fraktionen zugeordnet (siehe Material und Methoden).

Bisher weiß man wenig darüber, welche dieser speziellen Inhaltsstoffe die unterschiedlichen positiven Wirkungen auf die klimakterischen Beschwerden herbeiführen, weshalb ich im Hauptteil meiner Dissertation diesen Aspekt eingehend behandeln werde.

1.4 Mögliche Wirkungsweisen von CR

Auch über die genauen Angriffspunkte des CR-Extraktes wird weiter geforscht. Das folgende Kapitel fasst kurz das bisherige Wissen über die Wechselwirkung der Inhaltsstoffe mit verschiedenen Rezeptoren zusammen.

Es konnte bereits gezeigt werden, dass das Extrakt CR BNO 1055 nicht an Estrogenrezeptoren bindet (Wuttke et al. 2006 b). Substanzen, die den ER direkt besetzen, wurden also nicht identifiziert. Man mutmaßt allerdings, dass CR über Östrogen-Rezeptor(ER)-Enhancer- oder – Repressorgene wirken und so modulatorischen Einfluss auf den ER nehmen könnte (Wuttke et al. 2006 a).

Es ist ebenfalls bekannt, dass CR-Extrakte an den AhR binden können (Jarry et al. 2007). Interaktionen zwischen dem CR-Extrakt und dem AhR/ARNT-Komplex könnten ein Grund für den antiosteoporotischen Effekt von CR-Inhaltsstoffen sein (Wuttke et al. 2006 b).

Eine weitere Studie beschreibt, dass CR über Serotoninrezeptoren wirkt. Serotoninrezeptoren befinden sich im Hypothalamus und können Hot Flashes kontrollieren, ein Grund für das Einsetzen von sogenannten Serotonin-Reuptake-Inhibitoren bei Hot Flashes (Burdette et al. 2003). Der Zusammenhang der Systeme des Serotonin- und Östrogenhaushaltes ist bekannt. Östrogene führen über verschiedene Mechanismen zu einer erhöhten Aktivität von Serotonin (Rybaczyk et al. 2005). Da also die Östrogene einen Teil ihrer Effekte über das Serotoninsystem auszuüben scheinen, ist es möglich, dass CR diese zumindest partiell durch Bindung an Serotoninrezeptoren imitiert und auf diese Weise die Folgen des postmenopausalen Östrogenmangels zu lindern vermag.

Weitere Studien weisen darauf hin, dass die Inhaltsstoffe von CR ebenso über das Dopaminsystem wirken (Löhning et al. 1999; Jarry et al. 2003; Nuntanakorn 2004).

Auch eine GABA-erge Stimulation konnte CR, und hierbei vor allem Actein beziehungsweise Actein-ähnlichen Stoffen, nachgewiesen werden (Cicek et al.

2010; Strommer et al. 2014), sodass zentralnervöse Mechanismen über diesen Rezeptor ebenso von Bedeutung bei der Wirkweise spielen können.

Trotz dieses Wissens ist zurzeit noch nicht im Detail geklärt, über welchen Rezeptor und damit über welche Signalwege die spezifischen Effekte von *CR* erzielt werden.

1.5 Die Rolle des Serotonins im Fett- und Muskelstoffwechsel

Da herausgefunden wurde, dass *CR*, zumindest unter anderem, über das Serotoninsystem wirkt, werde ich hier kurz auf die Rolle dieses Neurotransmitters im Fett- und Muskelstoffwechsel eingehen.

Neben Leptin wirkt Serotonin inhibierend auf die Nahrungsaufnahme. Diese Wirkung erfolgt unter anderem durch Rezeptoren in verschiedenen Kerngebieten des Hypothalamus. In diesen Vorgang ist der 5HT_{2c}-Rezeptor involviert (Wright et al. 1995; Curzon et al. 1997; Nonogaki et al. 1998). Dies wird daran deutlich, dass Knock-out-Mäuse, bei denen dieser Rezeptor fehlt, eine gesteigerte Nahrungsaufnahme sowie ein höheres KG aufweisen. Der Fakt, dass Leptin bei Mäusen den Serotoninsatz erhöht, lässt vermuten, dass zumindest ein Teil der gewichtsreduzierenden Eigenschaften des Leptins über die Beeinflussung des Serotoninsystems stattfindet (Calapai et al. 1999). Leptin wirkt allerdings wahrscheinlich auch unabhängig von Serotonin, zumindest unabhängig von oben genannten Rezeptorsubtyp. So konnte gezeigt werden, dass Leptin bei diesen Knock-out-Mäusen ebenfalls eine verminderte Nahrungsaufnahme bewirkt (Nonogaki et al. 1998).

Im Skelettmuskel von Ratten führt Serotonin in einer In-vitro-Studie zu einer Hemmung des Proteinabbaus (Garber 1977).

1.6 Die Rolle von Dopamin im Energiehaushalt und

Muskelstoffwechsel

Wie bereits erläutert, wird ebenfalls eine Wirkung von *CR* über das Dopaminsystem diskutiert.

Da ich in meiner Studie die Wirkung von *CR* unter anderem auf das Fett- und Muskelgewebe untersuche und *CR*, wie beschrieben, dopaminerge Eigenschaften besitzt, zeige ich im Folgenden die Zusammenhänge zwischen Dopamin und dem Energiehaushalt sowie dem Muskelgewebe.

Die Rolle des Dopamins im Energiehaushalt ist noch nicht hinreichend geklärt. Mäuse, die durch eine Inaktivierung der Thyrosin-Hydroxylase in dopaminergen Neuronen zu wenig Dopamin bilden, werden hypoaktiv und beginnen, weniger Futter zu sich zu nehmen. Dabei ist noch unklar, ob dieser Effekt durch einen Mangel an Motivation zur Nahrungsaufnahme, fehlerhafte koordinative Fähigkeiten oder aufgrund einer unspezifischen Depression zutage tritt (Szczycka 1999). Die Tatsache, dass die Wirkung von Dopamin auf das Nahrungsverhalten innerhalb verschiedener Hirnregionen variiert, bedingt ebenfalls, dass die Rolle von Dopamin in dieser Hinsicht weiterhin unsicher ist. Beispielsweise scheinen dopaminerge Neurone des mesolimbischen Systems von Ratten eine Art Belohnungssystem für wohlschmeckende Nahrung zu sein (Pothos et al. 1995). Im Nucleus arcuatus gelegene Neurone mit Signalwegen in den Hypothalamus scheinen dagegen die Nahrungsaufnahme zu hemmen (Oltmans 1983). Eine In-vitro-Studie von Brunetti et al. (1999) wiederum zeigt, dass Leptin die Ausschüttung von Dopamin im Hypothalamus hemmt und so einen Teil seiner Wirkung erzielt.

Auf den Muskel übt Dopamin nicht nur indirekt über Zentren im Gehirn Kontrolle aus, sondern beeinflusst diese auch direkt über Dopaminrezeptoren auf den Motoneuronen. So konnte in einem Tiermodell an SD-Ratten gezeigt werden, dass über D_1 -ähnliche Rezeptoren ein exzitatorischer Effekt ausgelöst werden kann (Schwarz und Peever 2011).

In einem weiteren Tierversuch fanden Pierce et al. (2006) heraus, dass Dopamin bei wiederholten isometrischen Kontraktionen des Diaphragmas die Apoptose von Myozyten lindern sowie die Muskelkontraktilität erhöhen konnte. Außerdem war Dopamin in der Lage, freie Radikale abzufangen.

1.7 Ziel dieser Studie

Obwohl das Extrakt aus *CR*, wie in Abschnitt 1.4 beschrieben, eine wirksame alternative medizinische Behandlungsoption für klimakterische Beschwerden bei Frauen darstellt und in Deutschland seit über 80 Jahren auf dem Markt ist, weiß man bisher wenig über die genauen Inhaltsstoffe und Wirkmechanismen, vor allem die Fett- und Muskelmasse betreffend. Es ist also noch teilweise ungeklärt, welche genauen Einflüsse das Extrakt auf den Fett- und den Muskelmetabolismus ausübt. Ebenso unerforscht ist die Frage, welche Inhaltsstoffe der Pflanze gleichzeitig auch Wirkstoffe sind. Durch das erstmalige Unterteilen des Gesamtextrakts in verschiedene Subfraktionen im Rahmen des Bayerischen Forschungsprojektes AZ-838-08 der Universität Göttingen (Abt. für Endokrinologie), der Firma Bionorica SE, Neumarkt, mit den wissenschaftlichen Laboren in Innsbruck sowie der Universität Würzburg (Orthopädisches Zentrum für Muskuloskelettale Forschung), soll es möglich werden, die Wirkung der Pflanze auf klimakterische Beschwerden einer Stoffklasse zuzuordnen und somit in Zukunft Patientinnen gezielter behandeln zu können. Ebenso ist die Erkenntnis möglich, dass nur durch einen synergistischen Effekt einiger oder sogar aller Inhaltsstoffe eine gewünschte Wirkung erzielt wird. Durch die Verbindung bisher erforschten Wissens über die hier definierten Fraktionen mit den Beobachtungen unserer Studie wird unter Umständen ebenfalls erreicht, den verschiedenen Inhaltsstoffen ein zu Grunde liegendes Wirkprinzip zuzuordnen. Somit versuchen wir in dieser Studie zum einen herauszufinden, welche Stoffklasse therapeutisch bedeutsame Effekte auf oben genannte Kenngrößen erzielt, zum anderen lässt sich gegebenenfalls spekulieren, auf welche Art und Weise das *CR*-Extrakt diese Effekte erreichen konnte.

2. Material und Methoden

2.1. Tierversuche

Den experimentellen Teil meiner Doktorarbeit habe ich unter Aufsicht von Priv.-Doz. Dr. med D. Seidlová–Wuttke zusammen mit den Medizin-Studentinnen Vera Stahnke und Nicole Eder durchgeführt.

2.1.1 Versuchstiere

Für dieses Experiment wurden 100 SD-Ratten (Harlan-Winkelmann, Borcheln) untersucht. Die Erlaubnis, diesen Versuch durchzuführen, wurde uns von der Bezirksregierung Braunschweig 33.11.42504-04-043/08 erteilt.

Die Tiere (n=100, Alter: 3 Monate) wurden auf zwanzig Käfige aufgeteilt (Makrolon®-Käfig Typ IV, Firma Tecniplast Deutschland GmbH, Hohenpeißenberg), jeweils 5 Tiere pro Käfig, 10 Tiere pro Gruppe, 10 Gruppen). Die Zuordnung zu den Käfigen wurde so gewählt, dass das Durchschnittsgewicht der Ratten vor dem Versuch in jedem Käfig im Schnitt $250 \text{ g} \pm 15 \text{ g}$ betrug. So konnte sichergestellt werden, dass alle Gruppen einen ausgeglichenen Ausgangswert, zumindest auf das KG bezogen, aufwiesen, um spätere Messdaten, wie zum Beispiel den Zuwachs an Gewebe pro Gramm KG, besser miteinander vergleichen zu können. Die Tiere waren bei einer konstanten Raumtemperatur von 23 °Celsius, einer relativen Luftfeuchtigkeit im Bereich zwischen 50 und 55% sowie mit Beleuchtung von 6.00 – 18.00 Uhr in der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung der Universität Göttingen untergebracht. Den Tieren stand jederzeit Wasser und Futter zur Verfügung. Zwecks Identifizierung wurde den Ratten ein Transponder (Transponder-UNO MICRO-ID-System mit ISO-Transponder, Firma Uno- Roesvastaal BV, Zevenaar, Niederlande) subkutan in die

Nackenregion implantiert. Mit einem Lesegerät (Gesreader II GeS008: ISO-kompatibler Taschenleser) konnte so jeder Ratte eine Nummer zugeordnet werden. In einer Eingewöhnungsphase von 4 Wochen wurden die Ratten mit sojafreiem Futter (V 1354-000 ssniff R-Z, 10 mm, phytoöstrogenarm, Maus/Ratte, mit 21,7% Rohproteinanteil) gefüttert.

2.1.2 Futter

Testsubstanz für diesen Versuch war das CR-Extrakt BNO 1055 C001. Dieses Extrakt erhielten wir von dem Projektpartner der Firma Bionorica SE. Das Extrakt wurde in folgende Fraktionen mit entsprechenden Inhaltsstoffen aufgetrennt:

Überblick über die in den Fraktionen enthaltenen Stoffklassen:

S1 → polare Saponine, Actein, Deoxyactein, Isoferulasäure

S2 → Hauptbestandteil: Actein, Deoxyactein, daneben: Methylserotonin

S3 → Hauptbestandteil: polare Saponine, daneben: Actein, Deoxyactein, Methylserotonin

R1 → Hauptbestandteil: Kaffeesäure, daneben: Fukinolsäure, Zucker

R2 → Hauptbestandteil: Zimtsäurederivate, daneben: Saponin, Methylserotonin

R3 → Hauptbestandteil: Methylserotonin, Zimtsäurederivate

Unterschiede in der Dosierung der Wirkstoffe in den einzelnen Fraktionen sind folgendermaßen zu erklären: Die Zusammensetzung des ursprünglichen Extraktes C001, welche bereits in vorherigen Studien einen Effekt erzielen konnte, wurde als Basisgröße herangezogen. Bekannt war daher, welche Konzentration des Gesamtextraktes C001 in vorherigen Versuchen notwendig gewesen ist, um eine Wirkung zu beobachten. Gleichzeitig wurden die prozentualen Anteile der einzelnen Wirkstoffe und Subfraktionen C001/S, S1-3 und C001/R, R1-3 ermittelt. Nun konnte errechnet werden, welche

Inhaltsstoffmenge und Wirkstoffkonzentration in den einzelnen Fraktionen und Subfraktionen enthalten sein musste, um den Anteil im bereits erprobten Gesamtextrakt widerzuspiegeln und dadurch potentiell eine Wirkung zu erzielen.

Es wurden folgende Konzentrationen an Inhaltsstoffen von der Firma ssniff (Soest, Deutschland) in die sojafreie Basis eingemischt (siehe Tabelle 1):

Tabelle 1:

Futterfraktion	Dosis (mg/kg Futter)
V 1354-000 ssniff R-Z	phytoöstrogenarm (Kontrollfutter)
Gesamtsaponinfraktion Sap	117,6
Saponinfraktion S1	31,2
Saponinfraktion S2	46,06
Saponinfraktion S3	46,04
Gesamtrestfraktion	382,35
Restfraktion R1	276,81
Restfraktion R2	75,37
Restfraktion R3	35,98
Estradiolvalerat	10

Einmal pro Woche wurde der Futtermittelverbrauch pro Käfig gewogen und über den Mittelwert der Futtermittelverbrauch pro Ratte und Tag bestimmt. Damit konnte unter Berücksichtigung der Wirkstoffmenge auch deren tägliche Einnahme bestimmt werden. Eine Übersicht über den durchschnittlichen Futtermittelverbrauch während der kompletten 4 Wochen gibt Tabelle 3 (siehe Ergebnisse).

2.1.3 Obduktion:

Nach 4-wöchiger Futter- und damit Wirkstoffapplikation und wiederholtem Scan im qCT wurden die Tiere an zwei Vormittagen obduziert. Hierfür wurden die Tiere randomisiert, in den Obduktionsraum gebracht und nach erfolgter Identifizierung mittels Transponder durch CO₂-Gas narkotisiert. Anschließend wurden die Ratten enthauptet, wobei das Blut aufgefangen wurde, um es für spätere Serumuntersuchungen verwenden zu können. Der Uterus, das Herz und andere Organe wurde entnommen, gewogen und bei -70 Grad C gelagert, um sie histologisch aufarbeiten zu können.

2.2 Messdatenerhebung

2.2.1 Quantitatives Computertomogramm (qCT)

Die Messungen mithilfe des qCT wurden durch mich und die beiden Doktorandinnen insgesamt zweimal durchgeführt: Das erste Mal nach der Adaptationsphase, diese Ergebnisse sind im CT1-Wert dargestellt. Im selben Arbeitsschritt wurden die Tiere erneut gewogen. Nach Evaluation der Ausgangsdaten wurden die gleichen Messungen nach 4-wöchiger Applikation des Testfutters abermals durchgeführt, dies ergab den CT2-Wert.

Die Messungen wurden mittels eines qCT (Norland Stratec XCT Research SA+, Firma Stratec Medizintechnik GmbH, Pforzheim) durchgeführt. Die für uns interessanten Parameter waren hierbei Muskelfläche, Muskeldichte und das sogenannte paratibiale Fettdepot. Dafür wurden die Tiere mit Isofluran (Forene®, Abbott, Illinois, USA) betäubt, gewogen und der linke Hinterlauf des Unterschenkels mit dem qCT untersucht. Das Gerät hierfür wurde von der Firma Stratec Medizintechnik GmbH (Pforzheim) für Kleintiere entwickelt, um mit dem speziellen Programm die Knochendichte zu ermitteln. Im Laufe der Jahre wurde durch Bestreben der Abteilung der Endokrinologie die Software um die Möglichkeit, die Fläche und Dichte von Muskel- und Fettgewebe zu messen, erweitert. Dieses Mittel wurde nun genutzt, sodass nun diese beiden Kompartimente (Fett und Muskel) Inhalt meiner Doktorarbeit sind.

Ablauf der qCT-Messung: Die Tiere wurden mit Isofluran (Forene®, Abbott) per Inhalationsnarkosegerät Penlon Sigma Delta, Penlon Ltd. Abingdon, Oxon, UK, beatmet und betäubt.

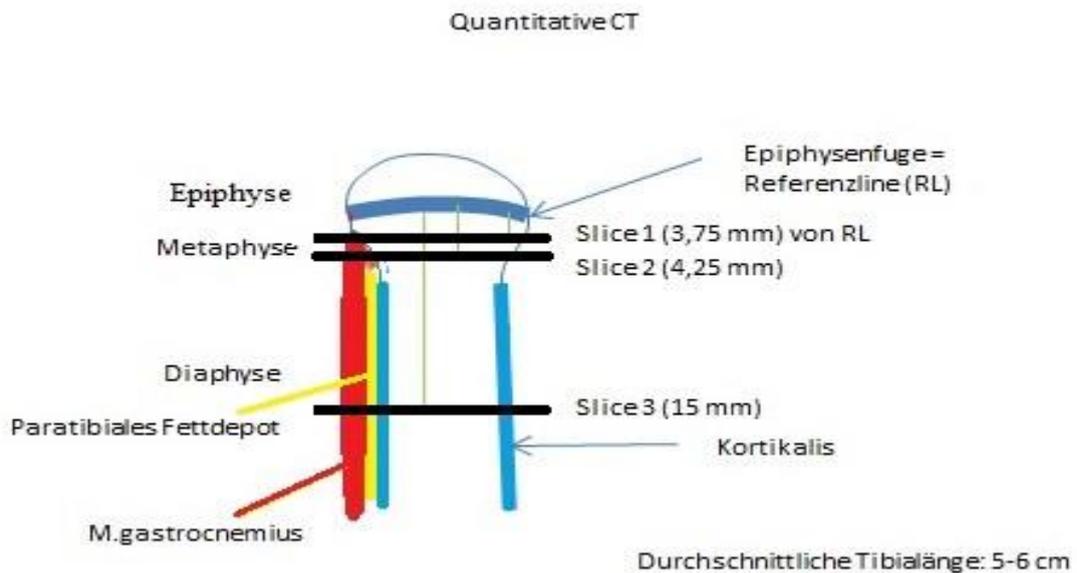


Abb.1: Der Scanner wurde mithilfe einer Vorab-Übersichtsaufnahme in Höhe der Epiphyse der Tibia platziert und drei tomographische Schnittbilder im Abstand von 3,75 mm (Slice1), 4,25 mm (Slice 2) und 15 mm (Slice 3) zu dieser Referenzlinie angefertigt.

Innerhalb dieser Schnittbilder wurde die Menge an Knochen, Muskelgewebe und Fett errechnet. Dabei erfolgte eine Zusammenfassung von Slice 1 und 2, da beide auf Höhe der Metaphyse lokalisiert sind, Slice 3 befindet sich hingegen innerhalb der Diaphyse. Die Zuordnung der Gewebe wurde mittels folgender Referenzwerte durchgeführt (Tabelle 2):

Tabelle 2:

	Fett	Muskel	Trabekulärer Knochen	Kortikalis
Referenzwerte der Dichte (mg/cm³)	<40	40-99	>280	>710

Nach der Messung wurden die Tiere zum Aufwachen in einen zweiten Käfig gelegt und erst nach Beendigung der Narkose in ihre ursprünglichen Käfige zurückverlagert. Nach den qCT-Messungen vor Ovx sowie nach Versuchsende konnten die ermittelten Daten mittels eines Computerprogramms (XCT5, 40;

Stratec, Pforzheim) ausgewertet werden. Die für diese Arbeit ermittelten relevanten Parameter waren hierbei

- die Fläche des paratibialen Fettdepots (Gesamtquerschnittsfläche der Metaphyse abzüglich der Fläche von Knochen und Muskulatur), angegeben in mm²
- die Dichte der Muskulatur, in dieser Arbeit festgelegt als röntgenologische Dichte, abhängig von der Menge an Elastinfasern pro Fläche (in mg/cm³) im Muskel
- die Muskelfläche (gesamter tibialer Querschnitt abzüglich der Fläche von Knochen und Fettgewebe), angegeben in mm²

2.2.2 Serumparameter

Das durch die nach Versuchsende durchgeführte Dekapitation gewonnene Blut wurde genutzt, um diverse Serumparameter zu untersuchen. Der für meine Arbeit relevante Parameter war Leptin. Die Serumuntersuchungen wurden unter meiner Mithilfe von CTA Heidi Brüggemann-Meyer und MTA Sabine Lüdemann durchgeführt. Die Blutprobe wurde zentrifugiert (3000UpM) und das Serum nun bei -20 °C für weitere Analysen gelagert. Die Leptinkonzentration wurde mittels eines spezifischen RIA mit handelsüblichen KITs untersucht.

2.3 Ovariectomie

Die Ovx wurde von PD Dr. med. Seidlová-Wuttke durchgeführt, um die Ratten in einen postmenopausalen Zustand zu versetzen. Vorgehen:

Unter Isoflurannarkose (Forene®, Abbott, Illinois, USA) und Analgesie mit Rimadyl® (Pfizer GmbH, Karlsruhe) wurden die Ratten im Anschluss an die qCT-Messungen beidseitig ovx. Nach einer bilateralen Rasur des Abdomen wurde die Haut in diesem Bereich inzidiert und anschließend die Bauchhöhle eröffnet. Nach Verlagerung des Uterus und der Adnexe nach außen wurden die Ovarien mit einer Klemme unterbunden, anschließend mit einem Faden ligiert und entfernt. Danach wurde der Uterus in die Bauchhöhle zurückverlagert und die Wunde verschlossen. Hierfür wurden Muskulatur und Peritoneum gemeinsam vernäht (Vicryl®, Firma Ethicon, Norderstedt) und die Haut im Folgenden mit Michel-Klammern® (Firma Martin, Tuttlingen) verschlossen. Bis die Tiere wieder aus der Narkose erwacht waren, wurden sie zur Beobachtung in einen zweiten Käfig gelegt. Nachdem sichergestellt war, dass die Wunden nicht nachbluteten, wurden die Ratten zurück in ihre jeweiligen Käfige gesetzt.

2.4 Statistische Methoden

Für die statistische Auswertung wurden die im qCT ermittelten Werte in die Computersoftware PRISM® (GraphPadPrism 5.0, San Diego, USA) übertragen. Mit dieser Software wurden Graphen zu den Ergebnissen erstellt und statistische Werte berechnet. Zum Vergleichen der Daten wurden eine One-way ANOVA nach Dunnett (Varianzanalyse für wiederholte Messung eines Faktors) sowie teilweise ungepaarte beidseitige t-Tests durchgeführt, in der die Durchschnittswerte der verschiedenen Gruppen mit denen der Kontrollgruppe verglichen wurden. Als statistisch signifikant wurde hierbei $p < 0.05$ vorgegeben.

Korrelierte Werte basieren auf linearen Regressionsanalysen $* < 0,05$ mit PRISM®. Alle Auswertungen habe ich selbst durchgeführt.

3. Ergebnisse

Die hier aufgeführten Angaben sind Teil einer gemeinsamen Studie, sodass diese ebenfalls in den Doktorarbeiten anderer Kommilitonen zu finden sind. Namentlich sind dies: Vera Stahnke, Nicole Eder, Maria Tschernov, Nina Danilova, Robert Rehmann, Jessica Frank, Lisa Lange, Viktoria Bischek und Hans Gratz, Nina Striebe, Maria Metten.

Eine Übersicht über den durchschnittlichen Futterverbrauch und die damit verbundene Wirkstoffaufnahme während der kompletten 4 Wochen gibt Tabelle 3.

Tabelle 3:

Futterfraktion	Futtermenge (g/Tier/Tag)	Wirkstoffaufnahme (mg/Tier/Tag)
Sap	17,1	2,02
S1	18,3	0,57
S2	17,6	0,8
S3	19,56	0,9
Rest	19,03	7,27
R1	18,74	5,2
R2	18,71	1,4
R3	18,5	0,6
E2	10,8	0,11

Im Folgenden werden die Ergebnisse der beiden direkt benachbarten Schnittebenen Slice 1 und Slice 2 jeweils zusammengefasst und ein Mittelwert dieser beiden Ebenen angegeben. Die Schnittebene 3 wird extra aufgeführt.

3.1 Allgemeine Ergebnisse

- Futtermittelaufnahme

Die Inhaltsstoffe der Pflanze üben keinen deutlichen Effekt auf die Futteraufnahme bei den Ratten aus. In den Fraktionen lag der durchschnittliche Futterverbrauch pro Ratte und Tag bei ungefähr 18 g. Lediglich die Ratten, deren Futter Estradiol beigemischt wurde, nahmen signifikant weniger Nahrung zu sich (10,8 g pro Ratte und Tag). Insgesamt spiegeln diese Daten den schon bekannten anorektischen Effekt von E2 wider (→ Abbildung 2).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: durchschnittliche Futteraufnahme

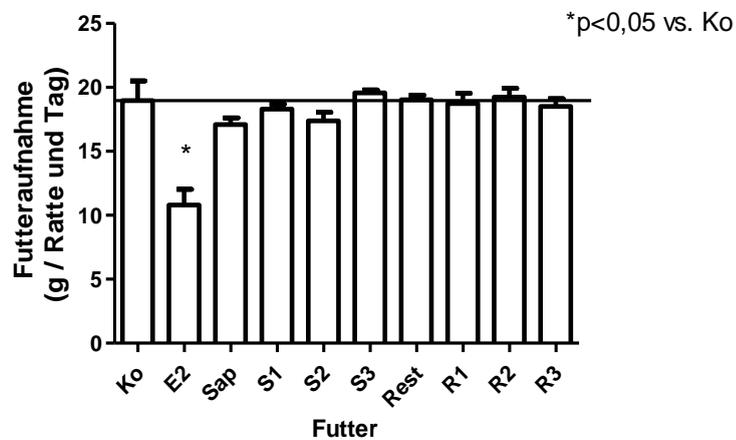


Abb. 2: Durchschnittliche Futteraufnahme während der Versuchszeit pro Ratte und Tag innerhalb der verschiedenen Fraktionen. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

- Gewichtsveränderung

Hier wurde vom KG der Ratten nach 4 Wochen Fütterung mit den CR-Fraktionen und –Subfraktionen das Gewicht vor dem Versuch abgezogen, um Gewichtsveränderungen innerhalb der Gruppen verifizieren zu können. Alle Tiere verzeichnen einen ähnlichen Gewichtszuwachs (Kontrollgruppe: +92 g). Keine der Testsubstanzen kann hierbei einen deutlichen Effekt erzielen. Ausnahme bilden die Tiere der E2-Gruppe, welche an Gewicht verloren haben (-14,5 g) und somit ein zur Kontrollgruppe signifikant abweichendes Ergebnis zeigen (→ Abbildung 3).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Gewichtszunahme

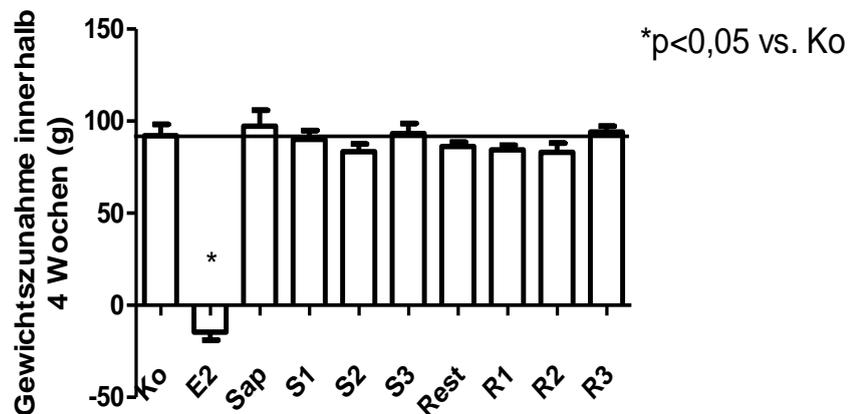


Abb. 3: Durchschnittliche Gewichtszunahme pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in g) nach 4 Versuchswochen. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

Obwohl die Tiere der Sap-Gruppe neben der E2-Fraktion am wenigstens Futter aufgenommen haben, haben diese Ratten den größten Gewichtszuwachs verzeichnet (97 g, keine Signifikanz).

- Uterusgewicht

Bei der Untersuchung des Uterusgewichtes kamen wir zu den gleichen Ergebnissen wie bisherige Studien: Während E2 zu einer Hypertrophie des Endo- und Myometriums führt (0,22 g/100 g KG ↔ Kontrollgruppe: 0,03 g / 100 g KG), hat weder eine der CR-Fractionen noch deren Fraktionen beziehungsweise Subfraktionen nach 4 Wochen einen stimulierenden Effekt auf das Uterusgewicht gezeigt (→ Abbildung 4).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Uterusgewicht pro 100 g Körpergewicht

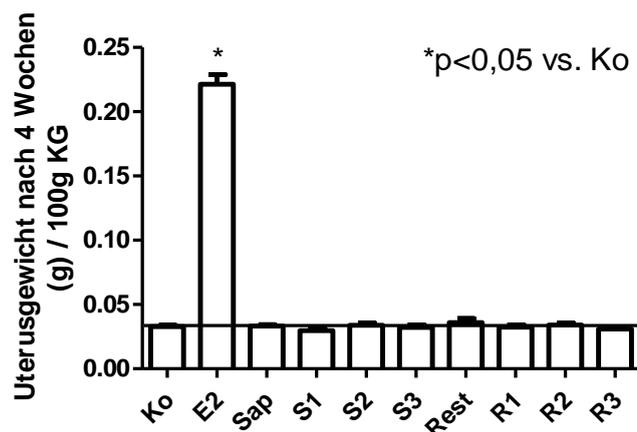


Abb. 4: Durchschnittliche Veränderung des Uterusgewichtes pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in g) nach 4 Versuchswochen, heruntergerechnet auf 100 g Körpergewicht. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

3.2 Fettfläche

Betrachtet man die Fettfläche der Tiere in Slice 1 und 2 zum Zeitpunkt der CT-Untersuchungen vor und nach der Futtergabe, so ist festzustellen, dass einzig die Tiere aus der E2-Gruppe signifikant an Fettfläche verloren haben (-1,9 mm²). Daneben haben die Tiere der S2-Gruppe von allen anderen Gruppen am wenigstens Fettfläche hinzugewonnen (19,3 mm² ↔ Kontrollgruppe: 23,9 mm²). Die Tiere, die mit der S1-Fraktion gefüttert wurden, haben signifikant stärker an Fettfläche hinzugewonnen (+ 30,4 mm²) (→ Abbildung 5).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Fettflächenzunahme (Fläche CT2 minus Fläche CT1) im tibialen Bereich, Slice 1+2

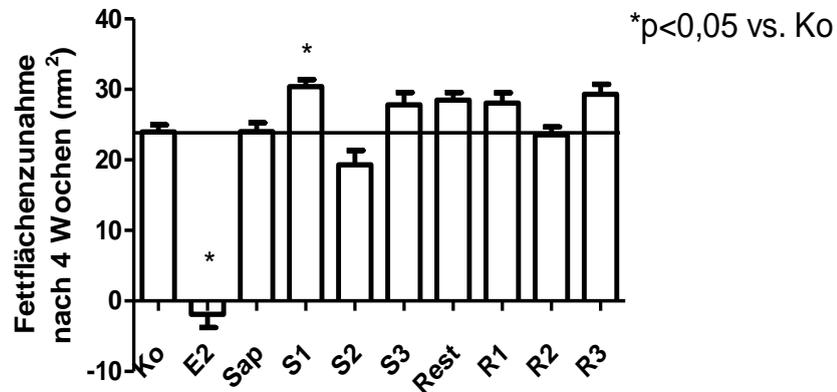


Abb. 5: Durchschnittliche Fettflächenzunahme pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in mm²) nach 4 Versuchswochen in Slice 1+2. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

In Slice 3 haben die Ergebnisse die gleiche Tendenz, wenn auch in unterschiedlicher Ausprägung. Ebenso wie in den vorangegangenen Schnittebenen haben einzig die Tiere der E2-Fraktion signifikant weniger an Fettfläche zugelegt (→ Abbildung 6):

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Fettflächenzunahme (Fläche CT2 minus Fläche CT1) im tibialen Bereich, Slice 3

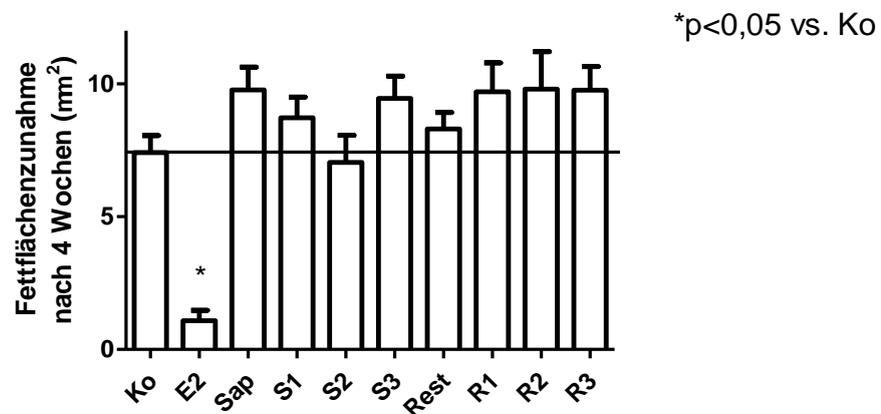


Abb. 6: Durchschnittliche Fettflächenzunahme pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in mm²) nach 4 Versuchswochen in Slice 3. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

Um Differenzen in der Ausgangsfettfläche zu relativieren, habe ich die prozentuale Fettflächenänderung betrachtet. Hier zeigte sich in Slice 1+2, dass keine der Gruppen, die mit den CR-Fractionen und Subfractionen gefüttert wurde, im Vergleich zur Kontrollgruppe (+134,3 % Fettfläche) verhältnismäßig signifikant mehr an Fettfläche hinzugewonnen hat, trotz teilweise größerer Fettflächenzunahme in mm². [Dies ist durch eine erhöhte Ausgangsfettfläche innerhalb dieser Gruppen zu erklären, (nicht gezeigt)]. Neben der E2-Gruppe, welche wie erwähnt, an Gewicht verloren hat (- 4,1 %), zeichnete sich vor allem die S2 (+ 93,5 %) - und R2-Gruppe (+ 88,9 %) durch einen signifikant geringeren Fettflächenzuwachs (prozentual gesehen) aus (→ Abbildung 7).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfractionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Fettzunahme in % (Fläche Fett CT2 / Fläche Fett CT1 *100-100), slice 1+2

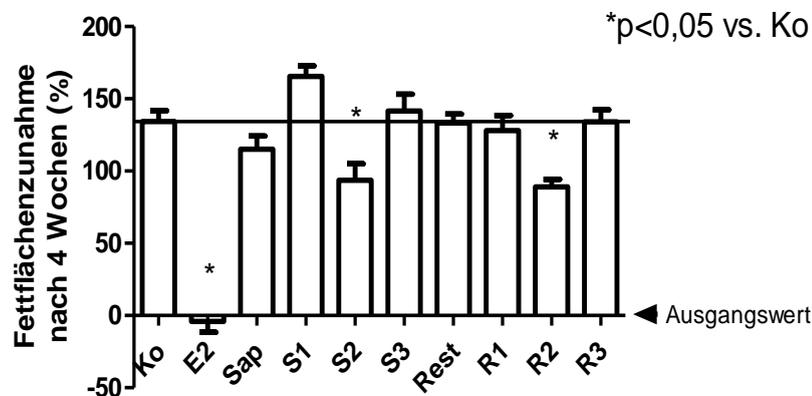


Abb. 7: Durchschnittliche Fettflächenzunahme pro Ratte innerhalb der Subfractionen (in Prozent) nach 4 Versuchswochen in Slice 1+2. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe. (Zum Verständnis: Die Formel „Fläche CT2 / Fläche CT1 * 100 – 100“ bedeutet: Fläche CT2 dividiert durch die Fläche CT1, multipliziert mit 100 minus 100)

In Slice 3 war dieser Effekt nicht sichtbar. Hier zeigte sich nur in der E2-Gruppe ein positiver Effekt auf den prozentualen Zugewinn an Fettfläche (10,5 % Fettflächenzunahme der E2-Gruppe im Vergleich zu 73,1 % Fettflächenzunahme der Kontrolltiere). In den anderen Fraktionen ist der Fettflächenzugewinn im Verhältnis zur Kontrollgruppe sogar tendenziell höher (→ Abbildung 8).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Fettzunahme in % (Fläche Fett CT2 / Fläche Fett CT1 *100-100), slice 3

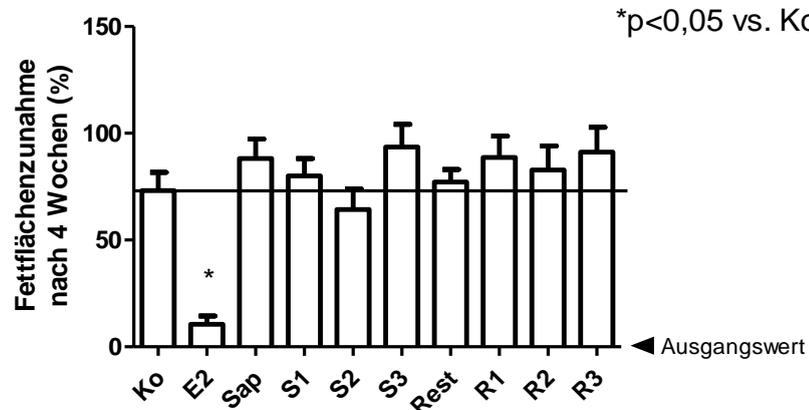


Abb. 8: Durchschnittliche Fettflächenzunahme pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in Prozent) nach 4 Versuchswochen in Slice 3. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe. (Zum Verständnis: Die Formel „Fläche CT2 / Fläche CT1 * 100 – 100“ bedeutet: Fläche CT2 dividiert durch die Fläche CT1, multipliziert mit 100 minus 100)

In einem nächsten Schritt wurden die Fettanteile der Ratten vor Versuchsbeginn und nach Versuchsende miteinander verglichen. Dafür wurde der prozentuale Fettanteil der Tiere innerhalb der Schnittebenen vor Versuchsbeginn und nach der Fütterung betrachtet und die Differenz gebildet. Die Tiere der E2-Gruppe haben, wie schon gesehen, innerhalb der 4 Wochen an Fettgewebe verloren, sodass auch der Anteil an Fettgewebe abgenommen hat. Bei den Tieren der Sap- und S2-Gruppe ist der Anteil an Fettgewebe innerhalb der 4 Versuchswochen angestiegen, jedoch signifikant geringer als bei den Kontrolltieren. Bei den Tieren der S1-Gruppe war die Differenz des Fettanteils signifikant erhöht (→ Abbildung 9).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (28 Tage per Futter) auf: Fettgewebsanteil (%Fett CT2 minus %Fett CT1) im tibialen Bereich, Slice 1+2

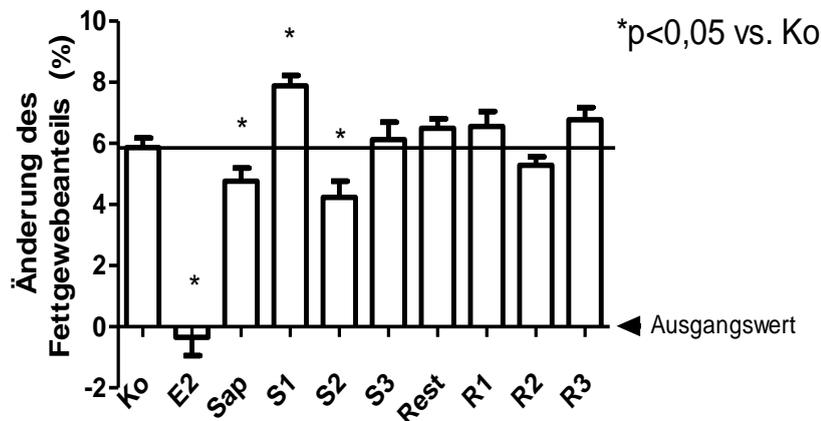


Abb. 9: Durchschnittliche Veränderung des Fettgewebsanteils pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in Prozent) nach 4 Versuchswochen in Slice 1+2. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

In Slice 3 ergab diese Art der Berechnung ein sehr heterogenes Bild ohne deutliche Differenzen. Lediglich die Tiere der R1-Gruppe hatten in diesem Bereich einen signifikant größeren Anstieg des Fettanteils zu verzeichnen (→ Abbildung 10).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (28 Tage per Futter) auf: Fettgewebsanteil (%Fett CT2 minus %Fett CT1) im tibialen Bereich, Slice 3

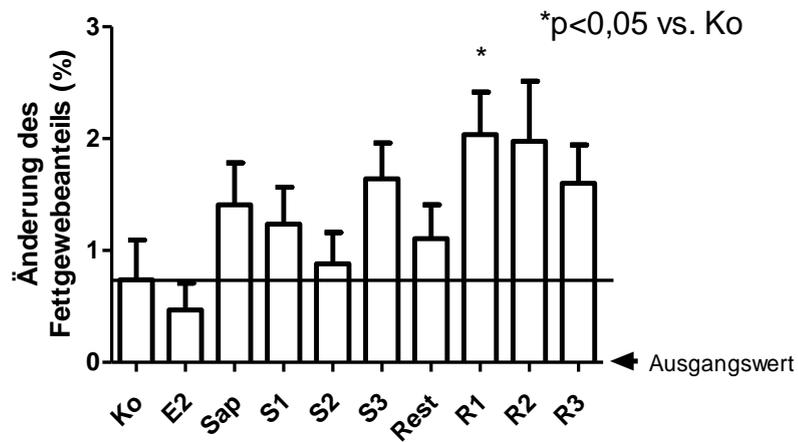


Abb. 10: Durchschnittliche Veränderung des Fettgewebsanteils pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in Prozent) nach 4 Versuchswochen in Slice 3. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

Eine weitere Möglichkeit, die Fettflächen besser miteinander vergleichen zu können, war, die jeweilige Fettfläche von CT1 und CT2 auf 100 g KG der Ratten zu beziehen. Wenn man jetzt den dabei errechneten Wert des ersten CT von dem des zweiten CT nach Versuchsende abzieht, kommt man zu folgenden Ergebnissen:

Wie zu erwarten, konnten ebenso in dieser Berechnung die Tiere der E2-Gruppe in Slice 1+2 eine positive Wirkung auf die Fettfläche erzielen (-0,13 mm²/100 g KG). Die Tiere, die mit der S2-Fraktion gefüttert wurden, haben erneut innerhalb der CR-Fraktionen am wenigsten an Fettgewebe hinzugewonnen (3,6 mm²/100 g KG) (→ Abbildung 11). Es zeigt sich also ein tendenziell ähnliches Bild wie in Graph 7, jedoch ohne Signifikanz. Lediglich die Tiere der S1-Gruppe haben auch hier signifikant mehr an Fettgewebe hinzugewonnen.

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Fettflächenveränderung (bezogen auf 100 g Körpergewicht), Slice 1+2

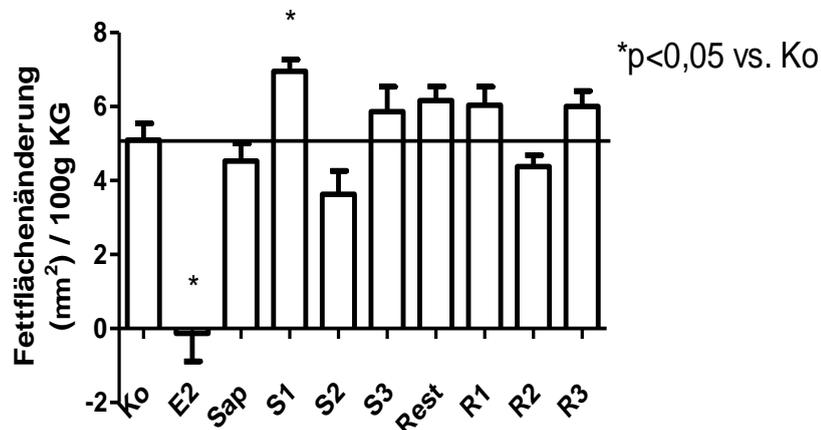


Abb. 11: Durchschnittliche Veränderung der Fettfläche pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in mm²) nach 4 Versuchswochen in Slice 1+2, heruntergerechnet auf 100 g Körpergewicht. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

In Slice 3 gab es in dieser Berechnung keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe. Erwähnenswert ist, dass die S2-Gruppe auch hier innerhalb der CR-Fractionen den geringsten Fettflächenzuwachs aufweist (→ Abbildung 12).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Fettflächenveränderung (bezogen auf 100 g Körpergewicht), Slice 3

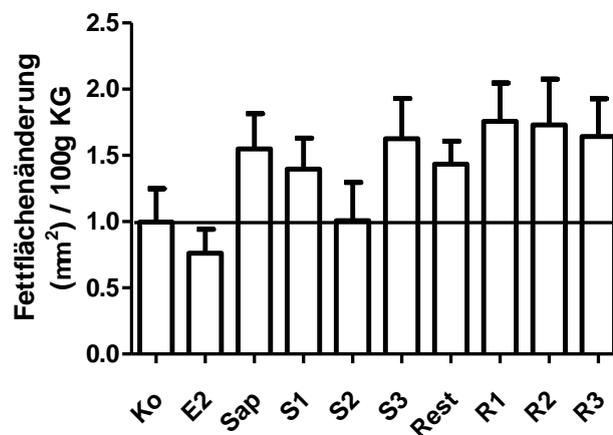


Abb. 12: Durchschnittliche Veränderung der Fettfläche pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in mm²) nach 4 Versuchswochen in Slice 1+2, heruntergerechnet auf 100 g Körpergewicht. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

3.3 Herz, Skelettmuskel: Muskeldichte und Muskelfläche

- Herzgewicht

Die Analyse des Herzgewichts hat ergeben, dass die Tiere aus der E2-Gruppe ein signifikant geringeres Herzgewicht aufweisen. Um dieses Ergebnis zu objektivieren, wurde das Herzgewicht auf 100 g KG umgerechnet. Auch hier kamen wir zu diesem Resultat (Estradiolgruppe: 0,89 g/100 g KG ↔ Kontrollgruppe: 1,14 g/100 g KG). Die CR-Fractionen haben dagegen keinerlei Einfluss auf das Herzgewicht (→ Abbildung 13).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Herzgewicht pro 100 g Körpergewicht

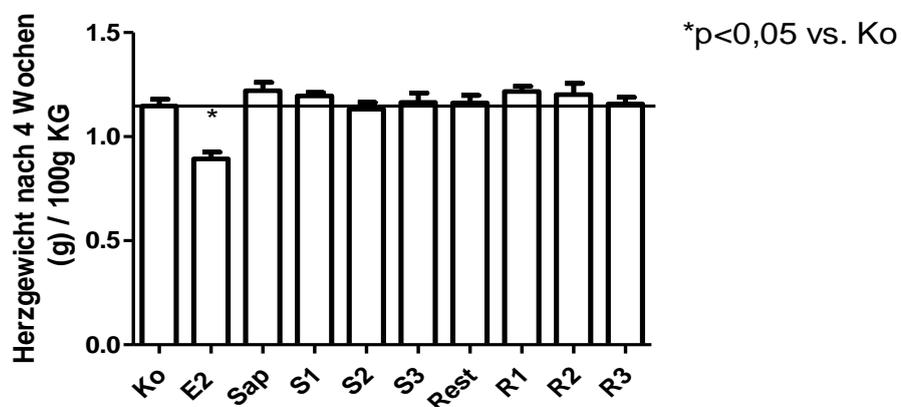


Abb. 13: Durchschnittliche Veränderung des Herzgewichtes pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in g) nach 4 Versuchswochen, heruntergerechnet auf 100 g Körpergewicht. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

- Muskeldichte

Bei dieser Untersuchung stellte sich heraus, dass fast alle Tiere innerhalb der 4 Wochen an Muskeldichte verloren haben (Ko: -1,34 %). Ausnahme bilden die Tiere der E2-Fraktion (+1,2 %) und die der S2-Fraktion (+ 0,04 %), welche einen leichten Zugewinn an Muskeldichte zeigen. Beide Gruppen erzielen damit ein zur Kontrollgruppe signifikant abweichendes Ergebnis (→ Abbildung 14).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Muskeldichteveränderung im tibialen Bereich (Slice 1+2)

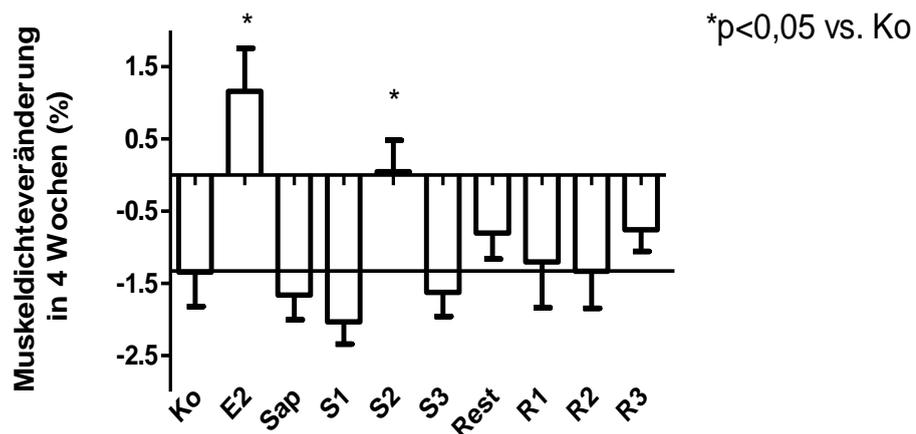


Abb. 14: Durchschnittliche Veränderung der Muskeldichte pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in %) nach 4 Versuchswochen in Slice 1+2. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

Beim Betrachten der Muskeldichteänderung in Slice 3 ergab sich ein sehr heterogenes Bild, ohne, dass eine Futterfraktion signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe aufgewiesen hat. Erwähnenswert ist, dass auch in dieser Schnittfläche das S2-Futter (+2 % Muskeldichte), verglichen mit den anderen CR-Fractionen, den positivsten Effekt auf die Muskeldichte erzielt (→ Abbildung 15).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Muskeldichteänderung im tibialen Bereich, Slice 3

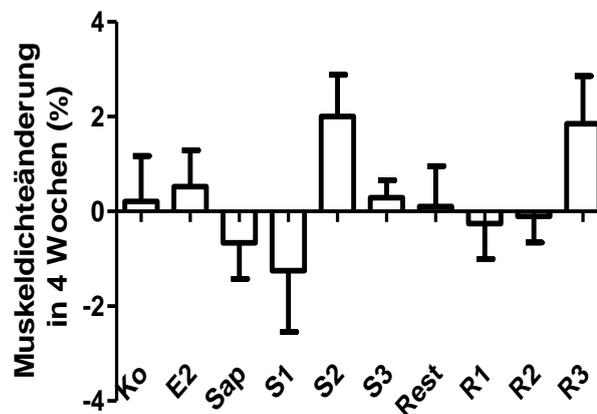


Abb. 15: Durchschnittliche Veränderung der Muskeldichte pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in %) nach 4 Versuchswochen in Slice 3. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

- Muskelfläche

Betrachtet man die Muskelfläche, so erkennt man, dass nur die E2-Fraktion an Muskelfläche verliert (-8,6 mm²). Alle anderen Tiere verzeichneten einen Zuwachs an Muskelfläche. Dabei erreichten vor allem die Saponin- (+ 64,9 mm²) und S3-Fraktion (+ 66 mm²) einen signifikant größeren Gewinn an Muskelfläche als die Kontrollgruppe (+ 55,2 mm²). Die Tiere der R2-Gruppe haben signifikant weniger an Muskelfläche als die Kontrolltiere hinzugewonnen (→ Abbildung 16).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Muskelflächenänderung (Fläche CT2 minus Fläche CT1) im tibialen Bereich, Slice 1+2

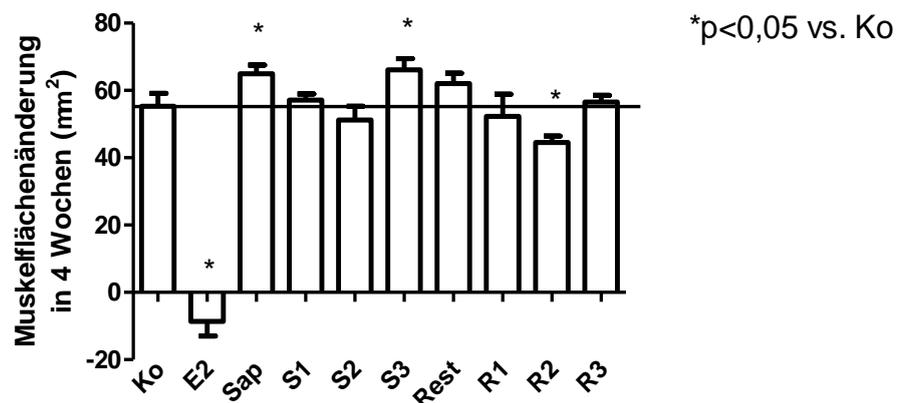


Abb. 16: Durchschnittliche Veränderung der Muskelfläche pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in mm²) nach 4 Versuchswochen in Slice 1+2. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

In Slice 3 konnte kein signifikanter Effekt des CR-Extraktes auf die Muskelfläche nachgewiesen werden. Auch hier war ausschließlich bei den Tieren der E2-Gruppe ein Effekt im Sinne einer geringeren Muskelflächenzunahme zu sehen (→ Abbildung 17).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Muskelflächenänderung (Fläche CT2 minus Fläche CT1) im tibialen Bereich, Slice 3

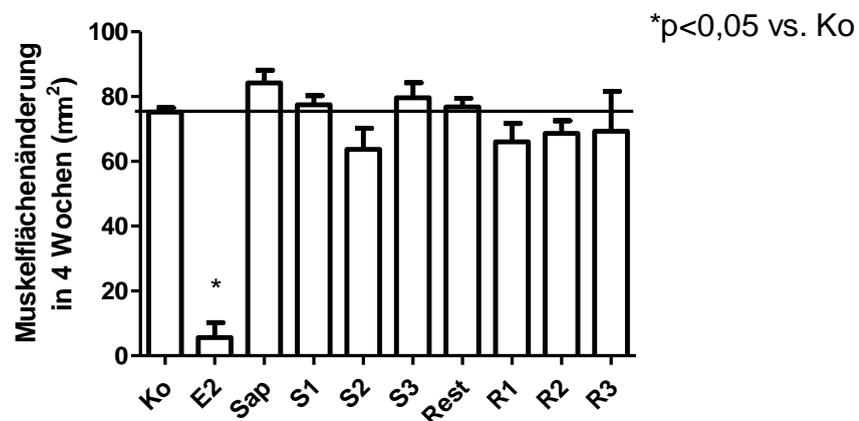


Abb. 17: Durchschnittliche Veränderung der Muskelfläche pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in mm²) nach 4 Versuchswochen in Slice 3. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

Prozentual betrachtet ergibt sich ein ähnliches Bild. Mit Ausnahme der E2-Gruppe verzeichnen in Slice 1+2 alle Gruppen einen Gewinn an Muskelfläche. Die R2-Tiere (+ 23,1 %) weisen allerdings einen signifikant geringeren Muskelflächenzuwachs als die Ko-Tiere (+ 33,4 %) auf. Alle anderen Gruppen erzielen in dieser Berechnung ein vergleichbares Ergebnis (→ Abbildung 18).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Muskelflächenzuwachs (Fläche CT2 / Fläche CT1 * 100 - 100) im tibialen Bereich, Slice 1+2

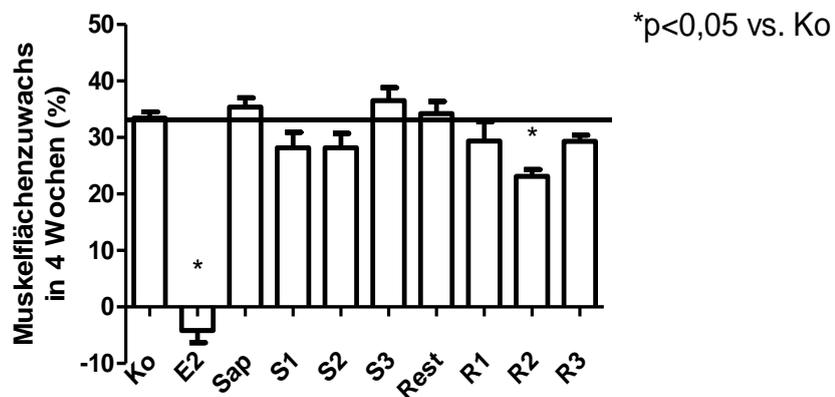


Abb. 18: Durchschnittliche Veränderung der Muskelfläche pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in %) nach 4 Versuchswochen in Slice 1+2. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe. (Zum Verständnis: Die Formel „Fläche CT2 / Fläche CT1 * 100 – 100“ bedeutet: Fläche CT2 dividiert durch die Fläche CT1, multipliziert mit 100 minus 100)

In Slice 3 haben neben der E2- (+ 3,59 %) und R2-Fraktion (+ 42,83 %) auch die Tiere aus der R1-Gruppe (+ 39,75 %) prozentual signifikant weniger Muskelfläche als die Kontrolltiere hinzugewonnen (→ Abbildung 19).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Muskelflächenzuwachs (Fläche CT2 / Fläche CT1 * 100 - 100) im tibialen Bereich, slice 3

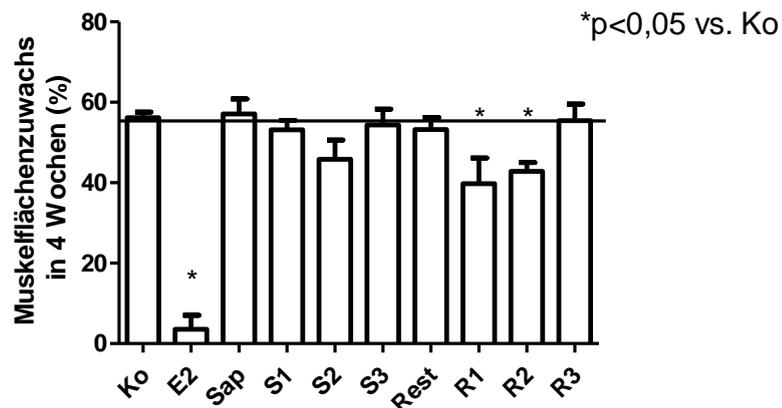


Abb. 19: Durchschnittliche Veränderung der Muskelfläche pro Ratte innerhalb der Subfraktionen (in %) nach 4 Versuchswochen in Slice 3. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe. (Zum Verständnis: Die Formel „Fläche CT2 / Fläche CT1 * 100 – 100“ bedeutet: Fläche CT2 dividiert durch die Fläche CT1 multipliziert mit 100 minus 100)

3.4 Serumparameter

Diskutiert und gezeigt wird in meiner Arbeit der Blutspiegel des Leptins. Bezüglich der Serumlipide, deren Veränderung wie beschrieben einen wichtigen Faktor des Metabolischen Syndroms darstellt, verweise ich wiederholt auf die Dissertation des Arbeitsgruppenmitgliedes Rehmann (2014), in dessen Dissertation ebenfalls die unten aufgeführten Ergebnisse bezüglich des Leptins abgehandelt wurden. Die Analysen wurden von Frau MTA Sabine Lüdemann und CTA Heidi Brügemann - Meyer analysiert. Sie wurden mir sowie den Studenten meiner Arbeitsgruppe (siehe oben) von der Abteilung zur Verfügung gestellt.

- Leptin

Betrachtet man die Leptinwerte, so fallen vergleichsweise große Unterschiede zwischen den Futterfraktionen auf. Der höchste Leptinwert wurde bei der Rest-Gruppe (7,1 ng/ml), der niedrigste Wert, gleichzeitig signifikant niedriger als der im Serum der Ko-Gruppe, wurde in der E2-Gruppe (2,3 ng/ml) gemessen (→ Abbildung 20).

Der Effekt von E2, Saponin- und Restfraktion von CR und deren Subfraktionen (S1-3 und R1-3) bei der ovx Ratte (4 Wochen per Futter) auf: Leptin im Serum

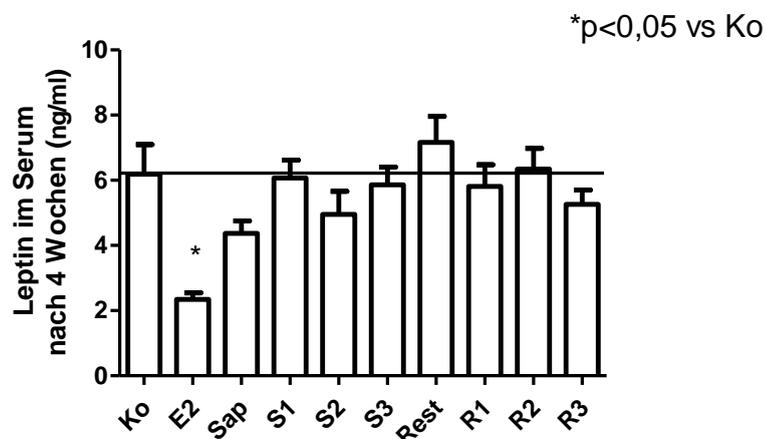


Abb. 20: Durchschnittlicher Leptin-Wert im Serum innerhalb der verschiedenen Fraktionen nach 4 Versuchswochen. Die Linie dient zum besseren Vergleich mit der Ko-Gruppe

Ob die beiden Parameter Leptinwert und Fettfläche miteinander korrelieren, wurde im Folgenden untersucht:

- Korrelation zwischen Leptinwert und Fettfläche

Trägt man die Fettfläche und die Leptinwerte gegeneinander auf, so bestätigt sich die vermutete Korrelation zwischen den beiden Größen (p-value two-tailed: 0,0064) (→ Abbildung 21).

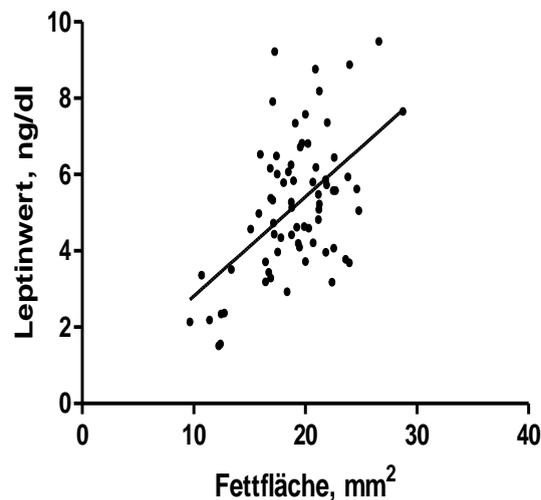


Abb. 21: Leptin-Wert und Fettfläche nach 4 Versuchswochen gegeneinander aufgetragen.

4. Diskussion

Wie beschrieben, wurde bereits mehrfach der Nachweis erbracht, dass Extrakte aus *CR* verschiedene Beschwerden von Frauen in den Wechseljahren zu lindern vermögen. Beispielsweise konnte das Extrakt *CR* BNO1055 in ovx Ratten die Entwicklung einer viszeralen Fettleibigkeit verhindern (Seidlová-Wuttke et al. 2003 b). In dieser Studie wurde das Extrakt nun in verschiedene Fraktionen unterteilt, um die potentiellen Wirkstoffe der Pflanze verifizieren zu können. Dabei war vor allem interessant, ob die Saponinfraktion oder die polarere Restfraktion für die Wirkungen verantwortlich ist. Speziell ging es nun hierbei vor allem um Effekte auf das Muskel- und Fettgewebe sowie Leptin. Des Weiteren wurden das KG der Ratten und ebenso das Gewicht von Herz und Uterus untersucht. Über die medizinische Bedeutung von Extrakten aus *CR* und ihren Inhaltsstoffen speziell auf das Muskel-, aber auch das Fettgewebe, gibt es bisher erst wenige Publikationen.

Da die auffälligsten Befunde in unserer Studie überwiegend im metaphysären Bereich, also in Höhe von Slice 1 und 2 zu beobachten waren und die Ergebnisse in Slice 3 meist denen der ersten beiden Schnittbilder ähneln, werde ich im Folgenden überwiegend auf die Befunde von Slice 1 und 2 eingehen. Da die Ergebnisse außerdem schon in Abschnitt 3 wiedergegeben wurden, erfolgt hier lediglich eine Kurzdarstellung der wichtigsten Befunde.

4.1 Allgemeine Ergebnisse

Betrachtet man die Futteraufnahme der Tiere, so ist ersichtlich, dass bis auf die E2-Gruppe alle Ratten über die 4 Versuchswochen ungefähr die gleiche Futtermenge pro Tag zu sich genommen haben, das bedeutet, es gab keinen signifikanten Effekt der Fraktionen und Subfraktionen von *CR* auf den Appetit der Ratten. Nur die Tiere mit dem E2-angereicherten Futter nahmen über

die gesamten 4 Wochen im Durchschnitt signifikant weniger Nahrung als die Kontrollgruppe zu sich. Dieses Ergebnis ist nicht unerwartet, da Östrogene über die Beeinflussung von Leptin und Serotonin die Nahrungsaufnahme auch beim Menschen hemmen (Quelle: <http://user.medunigraz.at/helmut.hinghofer-szalkay/V.7.htm> 2013). In einer Studie an Nagetieren wurde festgestellt, dass E2 auch unabhängig von Leptin über eine verminderte Futteraufnahme zu einer Reduktion des Körpergewichts führt (Gao et al. 2007). Gleiche Ergebnisse bezüglich der Futteraufnahme zeigte ebenfalls eine Studie von Seidlová-Wuttke et al. (Seidlová-Wuttke et al. 2012 b).

Betrachtet man die Gewichtsveränderung während der Versuchsdauer, so erkennt man, dass alle Versuchsgruppen, mit Ausnahme der E2- Gruppe, etwa gleich viel an Gewicht hinzugewonnen haben. Die Tiere, welche E2-haltiges Futter zu sich genommen haben, nahmen an Gewicht leicht ab. Diese Beobachtung ist passend zum Futtermittelverbrauch der Tiere. Es ist bekannt, dass Frauen nach der Menopause meist an Gewicht hinzugewinnen (Wing et al. 1991), gleiches gilt für die durch Ovx in einen postmenopausalen Zustand versetzten Ratten in unserer Studie. Grund ist, wie in der Einleitung erläutert, die Zunahme an Fettgewebe und die gleichzeitige Abnahme an Muskelmasse, verbunden mit einer Abnahme des Grundumsatzes. Allerdings kann auch bei Frauen, die keinen Gewichtszuwachs verzeichnen, eine Änderung der Körperfettverteilung beobachtet werden (Carr 2003). Im Gegensatz dazu zeigt eine Studie von Jensen et al. (Jensen et al. 2003), dass HRT (E2 und Progestogen) bei postmenopausalen Frauen den Hinzugewinn an KG zu lindern vermag. In unserer Studie zeigen lediglich die Tiere, bei welchen das Östrogendefizit durch E2-haltiges Futter ausgeglichen wurde, keinen Gewichtszuwachs. Dies beweist, dass E2 auch bei Ratten eine wichtige Rolle in der Regulation des Körpergewichts spielt. Die Fraktionen und Subfraktionen des Extraktes *CR BNO 1055* haben keinen Effekt auf das KG. Allerdings konnte schon gezeigt werden (Seidlová-Wuttke et al. 2009), dass das Gesamtextrakt *CR BNO 1055* bei Ratten, ebenso wie E2 zu einer signifikant geringeren Gewichtszunahme führt. In der genannten Studie von

Seidlová-Wuttke et al. lag die Versuchsdauer allerdings bei 3 Monaten, sodass die längere Applikationsdauer hier ursächlich für das abweichende Ergebnis sein könnte. Denkbar ist ebenfalls, dass nur der synergistische Effekt von der unpolaren Sap- und der polaren Rest-Fraktion diesen Effekt ausübt.

Am Uterus werden nach Gabe der *CR*-Fraktionen keine ungewollten Folgen beobachtet. Im Gegensatz hierzu ist ein signifikant proliferativer Effekt von E2 zu sehen. Diese Ergebnisse stimmen mit denen anderer Studien an Ratten überein (Seidlová-Wuttke 2003 b; Wuttke 2006 b). Östrogene üben diesen proliferativen Effekt am Endo- und Myometrium über Stimulation des ER- α aus. Dies führt an den Myozyten über IGF-1 zu einem mitogenen Effekt (Klotz et al. 2000). Da bei den Versuchsratten diese Wirkung nicht beobachtet werden konnte, ist zu vermuten, dass die Inhaltsstoffe von *CR* keine direkten oder indirekten Effekte auf die IGF-1-Signalwege von Uterus (und Herzen, siehe Abschnitt 4.3) ausüben. Dies ist ein großer Vorteil gegenüber der HRT als Monotherapie mit E2 zur Therapie postmenopausaler Beschwerden, da diese zu einer Hyperplasie des Endometriums bis hin zum Endometrium-Ca führen kann (Greendale et al. 1999).

4.2 Fettgewebe

Ovx Ratten werden fettleibig und entwickeln die Symptome des Metabolischen Syndroms. Insgesamt steigt der Körperfettanteil, ebenso die Größe des Hoffa-Fettkörpers im Knie. Es scheint also, dass die Zunahme an Fettgewebe in den Extremitäten mit dem metabolischen Syndrom zusammenhängt (Seidlová-Wuttke et al. 2012 a).

Um in diesem Zusammenhang mehr darüber zu erfahren, welche Wirkstoffe für Effekte am Fettgewebe verantwortlich sind, haben wir die Wirkung der verschiedenen Fraktionen und Subfraktionen des CR BNO 1055-Extrakts auf die Entwicklung der Fettfläche im tibialen Bereich der Ratten über die Versuchszeit hin betrachtet. Dafür wurde in einer ersten Berechnung die Fettfläche der Ratten vor Versuchsbeginn von der Fettfläche nach 4 Wochen Fütterung abgezogen (Abbildung 5+6). Wie bereits erläutert, ist bekannt, dass der Mangel an Geschlechtshormonen nach Ovx zu einer Zunahme an Gewicht und Fettmasse führt. Ebenso kommt es nach der Menopause bei Frauen zu Veränderungen im Fettmetabolismus. Die Gabe von Östrogenen kann diese Entwicklung bei Ratten verhindern. Auch bei Frauen führt eine HRT mit E2 alleine oder in Kombination mit Progesteron zu einer Abnahme viszeraler Fettleibigkeit (Chen et al. 2005; Goss et al. 2012). Unklar ist bisher, ob dies über die Wirkung am ER- α oder am ER- β geschieht, da für beide Rezeptoren dieser Effekt bereits postuliert wurde (Roesch 2006; Yepuru et al. 2010).

In vorangegangenen Studien von Seidlová-Wuttke et al. (Seidlová-Wuttke et al. 2003 a, b) haben sowohl Ratten, welche E2-haltiges Futter, als auch Ratten, die mit den verschiedenen CR-Fraktionen gefüttert wurden, signifikant weniger an paratibialem Fett hinzugewonnen. Wünschenswert wäre ein ähnlicher Effekt durch die Gabe von im Idealfall einer speziellen Wirkstoffgruppe aus CR ohne die geschilderten negativen Nebenwirkungen einer HRT mit Östrogenen.

Es fällt direkt ins Auge, dass sich bei allen Versuchsgruppen, mit Ausnahme der Östrogengruppe, das paratibiale Fettdepot vergrößert hat (vgl. Abbildung

5). Dabei haben die Tiere aus der S1-Gruppe signifikant mehr an Fettmasse hinzugewonnen als die Kontrolltiere, bei den mit E2-haltiger Nahrung gefütterten Tieren war eine Verringerung ihrer Fettfläche zu beobachten. Die Tiere der S2-Gruppe verzeichnen einen deutlich, jedoch nicht signifikant geringeren Fettflächenzuwachs in mm^2 . In Slice 3 verzeichnen ebenfalls ausschließlich die Tiere der E2- Gruppe einen signifikant geringeren Zuwachs an Fettfläche (vgl. Abbildung 6).

Um eventuelle Unterschiede in der Ausgangsfettfläche der Ratten zu relativieren, wurde in einer zweiten Berechnung der prozentuale Fettflächenzugewinn der Ratten untersucht (vgl. Abbildungen 7 + 8). Wie zu erwarten, hatten auch in dieser Rechnung die Tiere der E2-Gruppe einen signifikant geringeren Fettflächenzuwachs zu verzeichnen. Allerdings haben in den ersten beiden Schnittebenen auch die Tiere der S2- und der R2-Gruppe prozentual gesehen einen signifikant geringeren Zuwachs an Fettfläche, verglichen mit den Kontrolltieren. Bei den Ratten der S1- Gruppe registriert man auch hier den größten Zuwachs. Dies bedeutet, dass die Adipozyten der S2- und R2-Gruppe innerhalb der 4 Wochen weniger TG gespeichert haben oder aber eine geringere Proliferationsrate aufweisen.

Da alle Tiere mit Ausnahme der E2-Gruppe an Fettgewebe hinzugewonnen haben, hat uns ebenfalls interessiert, wie sich der Fettanteil während der 4 Wochen verändert hat. Hierzu wurde der Fettanteil des ersten CTs von dem des zweiten CTs abgezogen. Auch hier zeigte sich, dass die S2-Gruppe einen signifikant geringeren Anstieg in ihrem Fettanteil aufweist, ebenso die Sap-Tiere (Abbildungen 9 + 10).

Um ebenfalls die Größe der Tiere beziehungsweise ihr KG bei der Betrachtung des Fettgewebes zu berücksichtigen, wurde die Fettfläche in einem dritten Schritt auf 100 g KG umgerechnet. Die so errechnete Fettfläche bei Versuchsbeginn wurde nun wiederum von der auf 100 g KG bezogenen Fettfläche nach den 4 Versuchswochen abgezogen (vgl. Abbildungen 11 + 12). So konnte sichergestellt werden, dass die Fettflächen nicht von der Größe der Ratte beeinflusst und so die Ergebnisse verfälscht werden. Hierbei war das

Ergebnis ähnlich der prozentualen Fettflächenveränderung, sodass diese Tendenz wohl ein relativ gutes Bild der Fettgewebsentwicklung im paratibialen Bereich gibt. Auch hier erzielt das S2- Futter das beste Ergebnis der CR-Fraktionen.

Wenn man sich alle beschriebenen Berechnungen ansieht, so werden folgende Aspekte deutlich: Einen durchgehend signifikanten Effekt auf die Fläche des Fettgewebes erzielt ausschließlich das mit E2 angereicherte Futter. Die CR-Fraktionen konnten nicht im selben Umfang eine Vermehrung des Fettgewebes verhindern. Trotzdem zeigt sich in den wohl aussagekräftigsten, da prozentualen Berechnungen, dass vor allem die Saponinfraktion und dabei im Speziellen das S2-Futter einen positiven und auch signifikanten Effekt auf die Fettgewebezunahme der Ratten nach Ovx ausübt. Auch in den anderen Berechnungen haben die Tiere, welche mit dem S2-Futter gefüttert wurden, eine tendenziell geringere Vergrößerung des Fettgewebes im Vergleich zur Kontrollgruppe aufgewiesen, auch, wenn dieses Ergebnis dort nicht signifikant gewesen ist. Dagegen scheint die S1-Fraktion die Fettakkumulation eher zu fördern.

Doch wie kommt es zu dieser Wirkung? Östrogene wirken unter anderem, indem nicht die Zahl, sondern vor allem die Größe der Adipozyten bei ovx Mäusen reduziert wird. Diese Reduktion ist besonders im intra-abdominalen, aber auch im subkutanen Fettgewebe zu beobachten. Erstaunlich dabei ist, dass ovx Mäuse auch bei gleicher Nahrungsmenge eine signifikante Vergrößerung der Adipozyten im Vergleich zu mit E2 behandelten ovx Mäusen zeigen, E2 also auch unabhängig von der Energiezufuhr einer Adipozytenvergrößerung entgegenwirkt (D'Eon et al. 2005). Es scheint also nicht ausschließlich die Menge an Nahrung die Zunahme an Fettmasse nach der Menopause zu beeinflussen, sondern auch die Aktivierung beziehungsweise Deaktivierung verschiedener Signalwege im Energiestoffwechsel. Dieser Aspekt wurde ebenfalls in unserer Studie sichtbar, da die Tiere der Sap- beziehungsweise S2-Gruppe zwar einen Effekt

auf das Fettgewebe, allerdings nicht auf die Futteraufnahme ausübten. Die darin enthaltenen Inhaltsstoffe müssen also, ähnlich wie E₂, in irgendeiner Form den Fettstoffwechsel beeinflussen. Die Wirkung der Östrogene erfolgt über genomische sowie nicht-genomische Mechanismen. Über Transkription werden beim Menschen beispielsweise die beiden Enzyme Leptin und Lipoproteinlipase (LPL) reguliert (Mayes und Watson 2004). Eine Behandlung mit Östrogenen kann daher Fettleibigkeit verhindern. Grundlage für diese Wirkung könnte unter anderem in der Regulation der besagten LPL liegen. Diese ist ein Schlüsselenzym in der Hydrolyse der TG in freie Fettsäuren und somit auch der Speicherung von Fett (Goldberg und Merkel 2001). So konnte in weiblichen Ratten und auch beim Menschen nachgewiesen werden, dass ein niedriger Östrogenspiegel zu einer verstärkten Aktivität der LPL führt, wohingegen eine Östrogengabe die LPL- Aktivität senkt (Hamosh und Hamosh 1975; Palin et al. 2003). Außerdem zeigte D'Eon et al. (2005) in einer Studie an Nagern, dass Östrogene zum einen die Acetyl-CoA Carboxylase-1 und Fatty Acid Synthase (beide Enzyme bewirken Lipogenese) hemmen sowie zum anderen die catecholamingetriggerte Lipolyse über eine verstärkte Expression von Perilipin fördern. Des Weiteren führen Östrogene über verschiedene Mechanismen zu einer erhöhten Aktivität von Serotonin (Rybaczyk et al. 2005), welches, wie in Kapitel 1.5 beschrieben, ebenfalls zu einer Hemmung der Nahrungsaufnahme führt. Östrogene führen daher also zu einer Abnahme der Adiposytengröße.

Um zu erfahren, wie die CR-Fractionen einen Effekt auf das Fettgewebe ausüben, müssen die bisher bekannten Wirkweisen der Inhaltsstoffe betrachtet werden. Neben der Sap- und der S₂-Fraktion hat auch die R₂-Fraktion in einer Berechnung einen signifikant niedrigeren Fettgewebiszuwachs gezeigt und ansonsten vergleichbare Ergebnisse wie die Kontrolltiere erzielt. Hauptinhaltsstoff der R₂-Fraktion ist Zimtsäure. Sheng et al. zeigten, dass ein Zimtextrakt bei Mäusen die Expression von PPAR- α und - γ steigert (Sheng et al. 2008). Diese Rezeptoren spielen beim Menschen eine große Rolle in der Regulation des Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels. PPAR- α führt

beispielsweise über eine Erhöhung der LPL-Aktivität (van Raalte et al. 2004) sowie über eine Besserung der Insulinsensitivität und einer gesteigerten Aufnahme von TG in Adipozyten zu einer Senkung des TG-Plasmalevels sowie einer Zunahme der Adipozytenzellgröße (Olefsky 2000; Steiner et al. 2001). Somit spielt diese Wirkung von Zimtsäure, welche zumindest zu einer Hypertrophie der Adipozyten führen müsste, in dieser Form und/oder Dosierung anscheinend keine Rolle. Bei Betrachtung der Inhaltsstoffe der S2-Fraktion stellt man fest, dass diese überwiegend aus Actein und Deoxyactein sowie zu sehr geringen Teilen an Methylserotonin besteht. Allerdings gehören auch bei der S1-Fraktion, welche eine eher lipogene Wirkung zeigt, Actein und Deoxyactein zu den Hauptbestandteilen. Die Unterschiede in den Ergebnissen sind eventuell durch Differenzen in der Zusammensetzung beziehungsweise der Konzentration der Inhaltsstoffe zu erklären. Gegebenenfalls ist für den Effekt auf die Fettspeicherung im Organismus eine gewisse Plasmakonzentration an Actein oder Deoxyactein notwendig, die nur durch das S2-Futter erreicht wurde. Ein weiterer Bestandteil des S2-Futters, das Methylserotonin, war ebenfalls in der S3-Fraktion enthalten. Allerdings haben die Tiere der S3-Fraktion vergleichbare Wirkstoffmengen wie die Tiere der S2-Fraktion zu sich genommen, dabei jedoch keine Wirkung auf das Fettgewebe ausgeübt. Da auch die in Kapitel 1.5 beschriebene appetithemmende Wirkung in unserer Studie nicht beobachtet wurde, wird eine ausschlaggebende Rolle von Methylserotonin in dem erzielten Effekt des S2-Futters auf das Fettgewebe und auch generell in unserer Studie eher unwahrscheinlich. Die polaren Saponine, Hauptbestandteil der S1- und S3-Fraktion, haben in unserer Studie mutmaßlich keinen hemmenden Effekt auf die Lipidspeicherung ausgeübt. Dies ist etwas verwunderlich, da eine Studie von Seidlová-Wuttke et al. zeigte, dass die Saponine des auch in unserer Studie verwendeten CR-Extraktes BNO 1055 die Größe des paratibialen Fettdepots bei ovx Ratten im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant zu senken vermochten (Seidlová-Wuttke et al. 2012 a).

Eine andere Untersuchung an Nagern zeigte eine durch Teesaponine vermittelte Hemmung der Pankreaslipase und damit verbunden eine geringere intestinale Absorption von Lipiden (Han et al. 2001). Dadurch kam es bei Ratten, welche mit fettreicher Nahrung gefüttert wurden, zu einem weniger starken Anstieg von KG, parametrialem Fettgewicht und Adipozytenzellgröße. Auch eine andere Studie von Han et al. konnte darlegen, dass Saponine bei Mäusen, welche mit einer fettangereicherten Diät gefüttert wurden, KG und Fettmasse reduzieren konnten (Han et al. 2002).

Zum Teil könnten die unterschiedlichen Ergebnisse der beiden Studien von Han im Vergleich zu unserer Studie in andersartigen Ursachen der Fettleibigkeit der Versuchstiere liegen. In diesen, von Han beschriebenen Studien, bekamen die Versuchstiere eine lipidreiche Diät zugeführt und ein großer Teil der Wirkung wurde dort wahrscheinlich durch eine Hemmung der Pankreaslipase, verbunden mit einer geringeren Absorption dieser überschüssigen Fette (Han et al. 2001), herbeigeführt. Dagegen liegt die Ursache bei dem durch Östrogenmangel verursachten Hinzugewinn an Fettgewebe, beziehungsweise der Umverteilung von Fettgewebe, wahrscheinlich vor allem an dem Wegfall der Hemmung verschiedener für die Fettspeicherung wichtiger Enzyme (siehe oben).

Da die S1-Fraktion sogar, ganz im Gegenteil, in einigen Berechnungen einen größeren Hinzugewinn an Fettgewebe als die Kontrollgruppe aufweist, müssen hier Stoffe enthalten sein, die diese Entwicklung fördern. Am wahrscheinlichsten kommt hier Isoferularsäure in Betracht. Es wurde bewiesen, dass diese, unter anderem durch Hemmung von IL-6 und TNF- α , eine sehr hohe antientzündliche Potenz besitzt (Schmid et al. 2009). Isoferularsäure ist, zumindest in-vitro, in der Lage, reaktive Sauerstoffspezies (ROS), welche die Produktion von IL-6 und TNF- α erhöhen (Mokgobu et al. 2014), abzufangen (Burdette et al. 2002; Kikuzaki et al. 2002). Außerdem hemmt Isoferularsäure direkt einen Lipopolysaccharid (LPS) -induzierten Anstieg von IL-6 und TNF- α im Vollblut gesunder Probanden (Schmid et al. 2009). Da diese beiden Zytokine normalerweise, unter anderem durch Hemmung der LPL, eine

Fettakkumulation unterdrücken (Coppack et al. 2001), beziehungsweise selbst lipolytische Eigenschaften besitzen (Greenberg et al. 1992; Trujillo et al. 2004; Chen et al. 2009), könnte dies ein Grund für die lipogene Wirkung sein. Alle diese, im letzten Absatz genannten, Studien wurden entweder an Nagern oder in-vitro durchgeführt, allerdings zeigen die Ergebnisse an menschlichen Fettgewebe von Trujillo et al. (2004), dass Mäuse beziehungsweise Nager durchaus als Versuchstiere herangezogen werden können, um die betreffenden Signalwege beim Menschen zu verstehen.

Es bleiben noch die beiden Stoffe Actein und Deoxyactein. Bisher wurde leider wenig über die Wirkung von Actein und Deoxyactein auf den Fettstoffwechsel und die Speicherung von Lipiden erforscht. Von Actein ist, was unsere Untersuchungen anbelangt, lediglich bekannt, dass es bei Ratten auf die Cholesterolsynthese Einfluss nimmt und freie Fettsäuren im Blut zu senken vermag (Einbond et al. 2009 a). Interessant sind allerdings die Ergebnisse aus Studien zu Deoxyactein, dem vorherrschenden Triterpen in *CR*. So konnte gezeigt werden, dass Deoxyactein in gewissem Maße an den ER- β binden kann (Onorato und Henion 2001). Der ER- β scheint eine wichtige Rolle in der Regulation des Lipidstoffwechsels zu spielen. ER- β -Liganden reduzierten bei ovx Ratten die abdominale Fettmasse, sowie den Cholesterol- und Leptinspiegel. Diese Wirkung entfaltet der ER- β über indirekte Hemmung des PPAR- γ , welcher beim Menschen eine Schlüsselrolle im Lipidmetabolismus beziehungsweise der Speicherung von Fetten spielt (Liang et al. 2002; Tontonoz und Spiegelman 2008; Yepuru et al. 2010). Osteo-, Chondro-, Myoblasten sowie Adipozyten stammen von der gleichen adulten Stammzelle ab (Chamberlain et al. 2007). Die Aktivierung des PPAR- γ führt dabei zu einer Differenzierung in Adipozyten (Kawai et al. 2010). Der Wirkstoff aus dem von uns verwendeten Extrakt besitzt weder Affinität zu ER- α , noch ER- β (Wuttke et al. 2006 a). Trotzdem ist nicht auszuschließen, dass durch einen anderen Mechanismus über Enhancer- oder Repressor-Gene Einfluss auf diese Signalwege genommen wird, gegebenenfalls über den PPAR- γ . Hierfür bedarf es allerdings weiterer Studien, speziell mit den in unserer Studie verwendeten

Actein- beziehungsweise Deoxyactein-Fractionen, welche beispielsweise die Effekte auf die PPARs untersuchen. Kontrovers sind in diesem Zusammenhang Ergebnisse einer In-vitro-Studie von Einbond (2009 b), die zu dem Ergebnis kommt, dass Actein die PPAR- γ -Level erhöht.

Nicht nachvollziehbar bleibt auch das Ergebnis der R1-Fraktion (im Verhältnis zur Kontrollgruppe erhöhte Fettflächenvergrößerung), welche allerdings auch nur in einer Berechnung eine signifikante Abweichung erzielt hat. Eine In-vitro-Studie von Hsu und Yen (2007), zeigt für Kaffeesäure eine den TG-Gehalt der Adipozyten sowie die GPDH-Aktivität senkende Wirkung, ein wichtiges Enzym beim Aufbau von Fettgewebe (Dulor et al. 1998). Lee et al. (2007) hat in einer Studie mit Myoblasten von Ratten für Kaffeesäurephenylester eine Aktivitätssteigerung der AMPK und damit verbunden eine Steigerung der Lipidoxidation nachgewiesen (Lee et al. 2007). Beide Effekte konnten der in der R1-Fraktion enthaltenen Kaffeesäure also nicht nachgewiesen werden.

Gleiches gilt für das Methylserotonin. Auch wenn, wie oben beschrieben, serotonerge Effekte positiv auf den Lipidstoffwechsel wirken, scheint in unseren Substanzen die Konzentration des Methylserotonins zu gering zu sein (siehe oben), um messbare Auswirkungen zu erzielen.

Zusammenfassend kann man sagen, dass für die schon in anderen Studien beschriebene hemmende Wirkung auf die Fettspeicherung und damit auch auf die Entwicklung von Symptomen des Metabolischen Syndroms (Seidlová-Wuttke et al. 2012 a, b), vor allem Actein- und / oder Deoxyactein verantwortlich zu sein scheinen. Die Zusammenhänge in der Entwicklung der verschiedenen Symptome des Metabolischen Syndroms sind allerdings sehr komplex. Inwiefern beispielsweise die antiinflammatorischen Eigenschaften des Deoxyacteins Einfluss auf die negativen Aspekte des Metabolischen Syndroms nehmen, ist schwierig zu sagen. Der durch die Ausschüttung proinflammatorischen Zytokine hervorgerufene chronische Entzündungszustand führt einerseits zu Insulinresistenz und erhöhtem Risiko für Gefäßerkrankungen, andererseits inhibieren TNF- α und IL-6 die LPL, was zu einer Reduzierung der Fettakkumulation führt (Coppack 2001). Zumindest

scheinen Signalwege aktiviert oder gehemmt zu werden, die einer lipotropischen Entwicklung entgegensteuern.

Es ist wohl nicht beziehungsweise nicht ausschließlich die Insulinresistenz, wie ursprünglich angenommen, Ausgangspunkt der Entwicklung des Metabolischen Syndroms, sondern ebenfalls die vor allem zentrale Fettleibigkeit, wie sie auch bei postmenopausalen Frauen häufig beobachtet werden kann. Wie beschrieben, wirken Östrogene unter anderem über eine Hemmung des PPAR- γ antilipothrophisch. Durch Antagonisierung des PPAR- γ würden ebenfalls die von Adipozyten sezernierten proinflammatorischen Zytokine reduziert werden. Gleichzeitig würde man allerdings auch die antiinflammatorischen (Tontonoz und Spiegelman 2008), antiarteriosklerotischen und antihypertensiven (Sugawara et al. 2010) Wirkungen des PPAR- γ womöglich unterdrücken. Synthetisch hergestellte PPAR- γ -Liganden, wie Thiazolidindione, erhöhen zwar die Insulinsensitivität, führen jedoch darüber hinaus ebenso zu einer Zunahme der Fettakkumulation. Dabei gilt als gesichert, dass die Fettakkumulation mit der PPAR- γ -Aktivität korreliert. Im Gegensatz hierzu kann die Insulinsensitivität sowohl durch die Aktivierung als auch die Hemmung von PPAR- γ gesteigert werden. Dies zeigt, dass es durch eine kontrollierte, selektive Regulierung beziehungsweise auch Hemmung von PPAR- γ möglich ist, die Insulinsensitivität zu steigern, ohne parallel die Speicherung von Fett zu begünstigen (Cock et al. 2004). Somit wäre denkbar, über gezielte Modulierung der PPARs, die Symptome des Metabolischen Syndroms zu behandeln. Ob hierfür die in unseren Fraktionen enthaltenen Inhaltsstoffe, im Besonderen Actein und Deoxyactein, geeignete Mittel darstellen, muss in weiteren Untersuchungen herausgefunden werden, da diese Fragestellung weit über die Aussagekraft unseres Studiendesigns hinausgeht. In diesem Zusammenhang könnte auch gezielt der Einfluss der in der R1-Fraktion enthaltenen Kaffeesäure auf die PPARs untersucht werden. Wichtig scheint vor allen Dingen die Reduzierung von abdominellen Fettgewebe, da auch Personen mit keiner oder kaum Insulinresistenz, bei

ausreichend abdominellen Fettgewebe ein Metabolisches Syndrom entwickeln können (Ford 2002; Park et al. 2003).

4.3 Herz, Skelettmuskel: Muskeldichte und Muskelfläche

- Herzgewicht

Wie schon in einer früheren Studie an ovx Ratten beschrieben (Seidlová-Wuttke et al. 2009), üben die Fraktionen und Subfraktionen von *CR* keinen Einfluss auf das Herzgewicht aus. Auch nach Relativierung der Unterschiede im Körpergewicht durch Umrechnung der Organgewichte auf 100 g KG zeigte sich dieses Ergebnis in unserer Studie (siehe Abbildung 13). Grundlage hierfür ist wahrscheinlich die fehlende Wirkung auf das lokale IGF-1-System. E2 hingegen führt zu einer signifikanten Abnahme des Herzgewichtes. Verursacht wird dies durch einen antiproliferativen Effekt über Hemmung der IGF-1-Genexpression im Herzen (Seidlová-Wuttke et al. 2009). Ob es neben der Hypoplasie auch zu einer Hypotrophie durch E2 am Herzen kommt, lässt sich nur histologisch beurteilen. Wir können jedoch festhalten, dass die Inhaltsstoffe von *CR* für uns keine beurteilbaren negativen Effekte am Herzen verursacht haben und somit unter diesem Aspekt gefahrlos eingesetzt werden können. Auch beim Menschen sind bisher keine kardiotoxischen Wirkungen beschrieben worden.

- Muskeldichte (siehe Abbildungen 14+15)

Da eine Verringerung der Muskeldichte durch zwei Faktoren erklärt werden kann, nämlich zum einen, durch den Zugewinn an intramuskulärem Fettgewebe und zum anderen, durch die Abnahme an Muskelgewebe ohne gleichzeitigen und gleichwertigen Verlust an Fettgewebe, werde ich im Folgenden auf diese beiden Aspekte parallel eingehen.

Betrachtet man die Veränderung der Muskeldichte während der vier Wochen, so erkennt man den beschriebenen Verlust von Muskelqualität in fast allen Versuchsgruppen. Dabei hat die S1-Fraktion, passend zu der großen Zunahme an extramuskulärem Fettgewebe, einen vergleichsweise großen Muskeldichteverlust zu verzeichnen, was bedeutet, dass es hier mutmaßlich auch zu einer Zunahme des intramuskulären Fettgewebes gekommen ist. Die S2-Gruppe zeigt als einzige Fraktion, neben den mit E2 gefütterten Tieren, in allen Schnittebenen eine Zunahme an Muskeldichte, was in den ersten beiden Schnittebenen ein signifikant abweichendes Ergebnis von den Kontrolltieren bedeutet. Die mit E2-haltiger Nahrung gefütterten Tiere erreichen einen leichten Zugewinn an Muskeldichte, in Slice 1+2 ist dieser ebenfalls signifikant. Die beobachtete Abnahme an Muskeldichte unter Östrogenentzug spiegelt damit unter anderem die bekannte Tatsache wider, dass es im Alter und mit dem Abfall des Östrogenspiegels bei Frauen sowie Ratten zu Fetteinlagerungen in den Muskel und damit auch zur Abnahme der Muskelqualität kommt (Forsberg et al. 1991; Jubrias et al. 1997; Delmonico et al. 2009; Leite et al. 2009). Auch Phillips et al. zeigten, dass der Verlust an Muskelqualität (gemessen als Kraft pro Muskelfläche) bei Frauen früher als bei Männern und im Besonderen postmenopausal stark abnimmt, dies jedoch durch HRT mit Östrogenen vermieden werden kann (Phillips et al. 1993). Die genaue Ursache für diese Fetteinlagerung ist noch nicht genau geklärt, allerdings sind Fettleibigkeit und Diabetes Mellitus beim Menschen mit einem steigenden Transport von langkettigen Fettsäuren in den Muskel assoziiert (Bonen et al. 2004). Außerdem weiß man durch eine Studie

an Probanden, dass Immobilität zu einem vermehrten Einbau von Fett in den Muskel führt (Marcus et al. 2010). Beides, die Zunahme an, vor allem abdomineller, Fettmasse sowie die Abnahme an körperlicher Aktivität lässt sich postmenopausal bei Frauen (Poehlman et al. 1995; Poehlman 2002) und Ratten (Seidlová-Wuttke et al. 2003 b; Fonseca et a. 2012) beobachten.

Dulor et al. zeigten in einer Studie am Muskel von Hasen, dass eine Denervation von Muskelgewebe in einer Atrophie des Muskels sowie Einlagerung von Fettgewebe resultiert. Dieses Fettgewebe exprimiert die Enzyme LPL und GPDH, welche eine wichtige Rolle im weiteren Aufbau von Fettgewebe spielen (Dulor et al. 1998). Interessant ist der Zusammenhang zwischen Denervation und daraus resultierender Fetteinlagerung aus folgendem Grund für unsere Studie: Wie beschrieben, ist Dopamin in der Lage, über D1-Rezeptoren Motoneurone zu aktivieren und so einen exzitatorischen Effekt auf den Muskel auszuüben. So könnte Dopamin sowohl eine Atrophie, als auch die damit verbundene Fetteinlagerung positiv beeinflussen. Von Bedeutung wäre dies, da in *CR*-Extrakten eine dopaminerge Wirkung nachgewiesen wurde. Allerdings ist von Jarry et al. bisher nur eine Affinität zum D2-Rezeptor belegt worden (Jarry et al. 2003).

Es ist anzunehmen, dass die Ursache für die postmenopausalen Veränderungen im Muskel vielfältiger Natur ist. Unter der Annahme, dass der Östrogenmangel bei der Ratte und der postmenopausalen Frau vergleichbare Auswirkungen hat, lassen sich diverse Hypothesen aufstellen. Zum einen fallen die Effekte von Östrogenen auf das Muskelgewebe nach der Menopause weg. So konnte in einer Studie an Mäusen gezeigt werden, dass Östrogene physiologisch die AMPK im Muskel aktivieren und somit die TG-Synthese hemmt. Im Gegensatz wird der Transport langkettiger Fettsäuren in die Mitochondrien und damit deren Oxidation gefördert (D'Eon et al. 2005). Es scheint, als behalten postmenopausale Frauen die Fähigkeit, Fett zu speichern, können allerdings, zumindest teilweise, dieses nicht mehr oxidieren (Maltais et al. 2009), unter anderem wohl durch die Abnahme der AMPK-

Aktivität. Außerdem konnte sowohl in weiblichen Ratten, als auch beim Menschen nachgewiesen werden, dass ein niedriger Östrogenspiegel zu einer verstärkten Aktivität der LPL führt, wohingegen eine Östrogengabe die LPL-Aktivität senkt (Hamosh und Hamosh 1975; Palin et al. 2003). Da dieses Enzym nicht nur im Fettgewebe, sondern auch im Muskelgewebe eine hohe Konzentration aufweist (Mayes und Watson 2004), spielt dessen gesteigerte Aktivität nach der Menopause möglicherweise ebenfalls eine entscheidende Rolle in der Fettakkumulation im Muskel.

Neben der Akkumulation von Fettgewebe im Muskel sind auch proteinkatabole Mechanismen wichtig beim Verständnis der Entstehung von Sarkopenie im Alter. In der Framing Heart-Studie konnte bewiesen werden, dass es bei älteren Personen generell, also unabhängig von klimakterischen Veränderungen im Hormonhaushalt, zu einer Zunahme von IL-6 und IL-1Ra (Rezeptor-Antagonist), nicht jedoch von IL-1 und TNF- α kommt (Roubenoff et al. 1998). Auch an Ratten konnten Balage et al. (2010) im Serum ein im Alter (20 Monate) leicht erhöhtes Level von Entzündungsmarkern messen. Vor allem den Zytokinen IL-1, IL-6 und TNF- α wurden in Experimenten an Ratten und Mäusen Protein-katabole Eigenschaften zugeschrieben (Fong et al. 1989; Tsujinaka et al. 1997). Neben dem Anstieg im Alter scheinen allerdings auch freie Sauerstoffradikale die Produktion von IL-6 und TNF- α zu erhöhen (Choi 2013). Im Rahmen des Metabolischen Syndroms kommt es durch die Fettleibigkeit sowohl beim Menschen (Vincent und Taylor 2006) als auch der Ratte (Roberts et al. 2006) zu einer Überproduktion freier Sauerstoffradikale, welche ihrerseits das Fortbestehen des Syndroms und damit einhergehende kardiovaskuläre Erkrankungen fördern (Ando und Fojita 2009). IL-1 und TNF- α fördern gegenseitig die eigene Hochregulierung und stimulieren gleichzeitig die Sekretion von IL-6 (Morley et al. 2001). Es konnte auch in Studien am Menschen gezeigt werden, dass diese Zytokine in der Lage sind, über Jahre den Abbau von Muskelproteinen zu fördern (Roubenoff et al. 1994). Ebenso zeigen sowohl Frauen nach der Menopause als auch ovx

Ratten eine leichte systemische Entzündungsreaktion, welche durch die Gabe von E2 reduziert werden konnte (Abu-Taha et al. 2009).

In diesen Pathomechanismus können Östrogene also eingreifen, indem sie zum einen die TNF- α - und IL-1-Spiegel senken und zum anderen freie Sauerstoffradikale, welche die Produktion der Zytokine IL-6 und TNF- α stimulieren, abfangen (Deshpande et al. 1997; Squadrito et al. 1997; Schwenke 1998; Baltgalvis et al. 2010; Choi 2013).

Auch das Vitamin D spielt nach neueren Erkenntnissen eine Bedeutung für die intakte Muskelarbeit. Hier konnte gezeigt werden, dass ein Mangel an Vitamin D in älteren Personen zu einer Atrophie von Typ 2-Muskelfasern führt (Visser et al. 2003). Außerdem kommt es durch den Mangel zu einer Zunahme an intramuskulärem Fettgewebe sowie einer Vergrößerung der interfibrillären Räume (Yoshikawa et al. 1979). Dies ist im Zusammenhang mit dem Klimakterium insofern von Bedeutung, da Östrogene für eine verstärkte Umwandlung von 25-Hydroxycholecalciferol (25OHD) zu dem bioaktiven 1,25-Dihydroxycholecalciferol (1,25-(OH) $_2$ D) sorgen (Gallagher et al. 1980).

- Muskelfläche (Abbildungen 16 -19):

Positive Effekte auf die Muskeldichte können wie gesagt durch zwei Aspekte erklärt werden. Entweder erzielen die Wirkstoffe einen positiven Effekt auf den Verlust von Muskelgewebe, sodass ein zeitgleicher Zugewinn an Fettgewebe im Muskel nicht so sehr ins Gewicht fällt. Die zweite Möglichkeit wäre, dass die Inhaltsstoffe den Zugewinn an intramuskulärem Fettgewebe verhindern oder abschwächen. Betrachtet man nun die Veränderung der Muskelfläche während der vier Versuchswochen, so kommt man zu folgendem Ergebnis:

Alle Fraktionen, einschließlich der Kontrollgruppe, zeigen eine Zunahme an Muskelfläche. Dies bedeutet allerdings nicht automatisch, dass die Tiere auch an Muskelgewebe hinzugewonnen haben, da der Zuwachs an Muskelfläche

auch durch den Hinzugewinn an intramuskulärem Fettgewebe verursacht werden kann.

Sieht man sich nun ausschließlich die Veränderung der absoluten Muskelfläche an (Abbildungen 16 + 17), erkennt man in Slice 1+2 einen signifikant größeren Anstieg bei der Sap- und S3-Fraktion. Prozentual gesehen (Abbildungen 18 + 19), nehmen diese beiden Fraktionen allerdings nicht überproportional mehr an Muskelfläche zu. Des Weiteren gab es bei diesen Fraktionen bekanntlich keine signifikanten Differenzen in der Änderung der Muskeldichte zur Kontrollgruppe. Wir können also davon ausgehen, dass diese Abweichung lediglich aufgrund einer größeren Ausgangsfläche aufgetreten und es daher bei den Adipozyten und Myozyten zu keiner im Vergleich zur Kontrollgruppe gesteigerten Zunahme ihrer Zellzahl oder -größe gekommen ist.

Auffallend ist allerdings, dass die R2-Fraktion signifikant weniger Muskelfläche als die Kontrollgruppe hinzugewonnen hat. Da die Entwicklung der Muskeldichte bei beiden Gruppen ähnlich gewesen ist, muss das R2-Futter einen negativen Einfluss auf den Muskelanabolismus ausgeübt haben. Es bleibt die Frage, welcher der Inhaltsstoffe für diese Wirkung verantwortlich ist. Diese waren in der R2-Fraktion Zimtsäure, Saponine sowie Methylserotonin. Zimt kann sowohl in Ratten als auch beim Menschen erwiesenermaßen die Insulinsensitivität erhöhen (Imparl-Radosevich et al. 1998; Khan et al. 2003). Damit wäre über eine gesteigerte Glukoseaufnahme am ehesten eine anabole Wirkung zu vermuten. Allerdings konnten wir schon bei der Untersuchung des Fettgewebes feststellen, dass die in unserem Futter enthaltene Zimtsäure wohl keinen Einfluss auf die Insulinsensitivität ausübt. Auch andere Kenntnisse über Zimtsäure können diese Wirkung nicht erklären. Saponine sind in größeren Konzentrationen ebenfalls in den Fraktionen S1 und S3 vorhanden. Da dort keine vergleichbaren Einflüsse zu beobachten sind, ist ein Saponin-vermitteltes Eingreifen in den Muskelstoffwechsel unwahrscheinlich. Serotonin ist der nächste Inhaltsstoff der R2-Fraktion. Die mögliche Wirkweise des Serotonins ist allerdings etwas komplizierter. In einer

In-vitro-Studie von Soliman et al. an Schweineadipozyten war Serotonin unter gewissen Umständen in der Lage, die Expression des proteinkatabolen Zytokins IL-1 zu fördern (Solimann et al. 2010). Andererseits zeigte Garber, ebenfalls in einer In-vitro-Studie, dass Serotonin den Proteinabbau verhindert (Garber 1977). Bei Mäusen konnte Serotonin die Glukoseaufnahme in den Muskel steigern (Coelho et al. 2007) und damit den Proteinanabolismus unterstützen. Aus diesem Grund und da Serotonin ebenso wie die Saponine auch in anderen Futterfraktionen vorkommt, in denen keine negative Wirkung auf den Proteinanabolismus zu erkennen ist, scheint auch dieser Inhaltsstoff nicht für den beschriebenen Effekt verantwortlich zu sein. Wir können mit unserer Studie daher nicht erklären, welche Mechanismen hinter dieser Beobachtung stehen.

Die S2-Fraktion zeigt einen vergleichsweise geringen Zuwachs, die mit E2-haltigem Futter gefütterten Tiere verlieren sogar an Muskelfläche. In welchem Maße dies an Veränderungen im intramuskulären Fettgewebe und in wieweit es an Veränderungen im Muskelgewebe selbst liegt, lässt sich nicht genau sagen. Da die E2-Fraktion auch leicht an Muskeldichte hinzugewonnen hat, ist dieses Ergebnis auch durch eine leichte Abnahme an intramuskulärem Fettgewebe zu erklären. Erklärungsansätze hierfür wurden bereits genannt. Nach Betrachtung der Ergebnisse des S2- Futters auf den Muskel ist es wahrscheinlich, dass die Inhaltsstoffe der S2- Fraktion ebenfalls nicht nur positiv auf das extramuskuläre, sondern auch auf den intramuskulären Fettanteil wirken. Des Weiteren hat die S2-Gruppe als einzige Fraktion gleichzeitig einen Muskelflächenanstieg ohne Muskeldichteverlust aufzuweisen. Die S2-Tiere haben also sicher an Muskelgewebe hinzugewonnen. Inhaltsstoffe der S2-Fraktion waren vor allem Actein und Deoxyactein. Über welchem Mechanismus dieser Effekt auf das Fettgewebe erzielt werden konnte, wurde bereits erläutert. Eine positive Wirkung auf den Muskel könnte die S2-Fraktion über die Beeinflussung des Calciumhaushaltes nehmen. Man weiß, dass ein Mangel an Vitamin D zu einer Atrophie der Typ-2-Muskelfasern führt sowie die Zunahme an intramuskulärem Fettgewebe

fördert (siehe oben). Actein hingegen spielt eine Rolle in der Transkription verschiedener für den Calciumhaushalt relevanter Gene (Einbond et al. 2007 a; Einbond et al. 2007 b). Außerdem könnte der antioxidative Effekt von Deoxyactein protektiv auf den Muskelabbau wirken, da, wie beschrieben, proinflammatorische Enzyme negativ auf die Kontraktilität des Muskels wirken und den Proteinkatabolismus fördern (Fong et al. 1989; Tsujinaka et al. 1997). Vor allem die katabolen Effekte von Il-6 und TNF- α , welche von Adiozyten sezerniert werden (Coppack 2001), könnten so gehemmt beziehungsweise aufgehoben werden.

Des Weiteren wurde erläutert, dass über Modulierung der PPARs auch eine insulinsensitivierende Wirkung erzielt werden kann, ohne parallel die Speicherung von Lipiden zu fördern. Da eine im Alter zunehmende Insulinresistenz wahrscheinlich eine wichtige Rolle in der Entwicklung von Sarkopenie spielt (Rasmussen 2006), könnte auch dieser Aspekt, unter Vorbehalt eines ausstehenden Nachweises über die Wirkung von Actein und Deoxyactein auf die PPARs, bei dem muskelanabolen beziehungsweise antikatabolen Effekt von Bedeutung sein.

4.4 Leptin

Betrachtet man den Leptinspiegel im Blut der Ratten, so sieht man ein relativ heterogenes Bild, wobei abermals nur die mit E2 gefütterten Tiere einen signifikant niedrigeren Leptinspiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe aufweisen. Ebenfalls leicht, jedoch nicht signifikant niedrigere Leptinwerte als die Kontrollgruppe haben die Tiere der Sap-Fraktion. Tendenziell erhöhte Werte sind in den Gruppen S1, S3 sowie in der Gesamtrestfraktion zu erkennen (Abbildung 20). Es ist bekannt, dass Leptin von den Adipozyten produziert wird. Somit weisen Individuen mit einer hohen Fettmasse normalerweise einen höheren Leptinspiegel auf, als solche mit einer geringen Fettmasse (Mayes und Watson 2004). Um festzustellen, ob diese beiden Werte miteinander in Verbindung gebracht werden können, wurden die Fettfläche und die Leptinwerte der Ratten verglichen. Es konnte gezeigt werden, dass diese Werte miteinander korrelieren (siehe Abbildung 21). Das bedeutet, dass in unserer Studie, analog zu dem eben Beschriebenen, Ratten mit einer geringen Fettfläche im Durchschnitt auch einen geringeren Leptinwert aufweisen. Zu dem gleichen Ergebnis kam schon eine Studie von Seidlová-Wuttke et al. (2003 b) an ovx Ratten. Trotzdem ist die genaue Entwicklung des Leptins nach der Menopause noch unklar. So konnte gezeigt werden, dass der Leptinspiegel bei postmenopausalen Frauen sinkt (Rosenbaum et al. 1996), eine andere Studie hingegen kommt zu dem Ergebnis, dass das Klimakterium keinen Einfluss auf den Leptinspiegel ausübt (Hadjji et al. 2000). Ebenso gibt es unterschiedliche Ergebnisse bezüglich des Effektes einer HRT auf den Leptinspiegel postmenopausaler Frauen (Konukoglu et al. 2000; Gower et al. 2000).

Die CR-Fraktionen nehmen wahrscheinlich nicht direkt Einfluss auf das Leptin, sondern tun dies indirekt über Beeinflussung der Masse an Fettgewebe. In einer In-vitro-Studie an Schweineadipozyten wurde gezeigt, dass Serotonin die Leptinausschüttung stimulieren kann. Außerdem fördert Serotonin die Adiponektinausschüttung (Soliman et al. 2010). Adiponektin wiederum erhöht

die Insulinempfindlichkeit (Hsu und Yen 2007). Da Insulin beim Menschen die Ausschüttung von Leptin stimuliert (Malmström et al. 1996), ist es also wahrscheinlich, dass Serotonin die Leptinausschüttung direkt aber gegebenenfalls über Adiponektin, auch indirekt beeinflusst. So wäre anzunehmen, dass auch die R3-Fraktion einen stimulatorischen Effekt auf die Leptinproduktion ausübt, da dessen Hauptbestandteil das Serotonin ist. In unserer Studie hat diese Fraktion jedoch keine sichtbare Wirkung auf diesen Parameter.

Eine andere Studie von Seidlová–Wuttke et al. konnte zeigen, dass vor allem die Saponinfraktion für eine Reduktion des Leptinspiegels sorgt. Dies könnte als Anhalt für einen generellen, die Fettmasse reduzierenden Effekt der Saponinfraktion dienen (Seidlová-Wuttke et al. 2012 a), welcher in unserer Studie allerdings nicht gezeigt wurde.

Generell wird die Leptinausschüttung von vielfältigen Faktoren beeinflusst. So wirken beispielsweise $\text{TNF}\alpha$, das Insulin und Glukokortikoide in-vitro stimulatorisch auf die Leptinausschüttung. Kurzfristig beeinflusst ebenfalls die Nahrungsaufnahme den Leptinspiegel. So sinkt während des Fastens der Level des Leptins. Grund hierfür ist wahrscheinlich der sinkende Insulinspiegel sowie die Fähigkeit von Katecholaminen, die Leptinausschüttung zu hemmen (Fried et al. 2000). Daher ist schwer zu sagen, inwiefern und über welche Wege die von uns untersuchten Inhaltsstoffe Einfluss zu nehmen vermögen.

5. Schlussfolgerung

Bisher gibt es wenige Studien, die auf den Effekt der einzelnen in *CR* enthaltenen Stoffklassen auf das Fett- und Muskelgewebe eingehen und noch seltener ist der genaue Wirkmechanismus beschrieben.

In unserer Studie war keines der *CR*-Extrakte imstande, die Effekte durch das E2-haltige Futter im selben Umfang zu imitieren. Dieser Aspekt ist allerdings bei der Wirkung auf das Endo- und Myometrium ausdrücklich gewollt. Jedoch konnten wir Stoffklassen identifizieren, die eine wünschenswerte Wirkung auf das Fettgewebe und in eingeschränktem Umfang auch auf den Muskel erzielen.

Die durch den Hormonmangel hervorgerufenen Umstellungen im Fettstoffwechsel wurden am positivsten durch das Futter der S2-Fraktion beeinflusst. Obwohl nicht in allen Ergebnissen beziehungsweise Berechnungen ein signifikantes Ergebnis zu beobachten ist, senkt das S2-Extrakt in unserer Studie deutlich den Zugewinn an Fettmasse. Es kann angenommen werden, dass vor allem Actein und Deoxyactein für diesen Effekt verantwortlich sind. Über den genauen Wirkmechanismus, welcher für den antilipotropischen Effekt verantwortlich ist, können wir mittels dieser Studie nur spekulieren. Die antiinflammatorischen Eigenschaften des Deoxyactein sind mutmaßlich nicht, zumindest nicht direkt, hierfür verantwortlich, allerdings könnte Deoxyactein sich so positiv auf kardiovaskuläre Begleiterkrankungen des Metabolischen Syndroms auswirken. Da allerdings der chronische Entzündungszustand im Rahmen des Metabolischen Syndroms eine wichtige Rolle für dessen Aufrechterhaltung spielt, könnten die antiinflammatorischen Eigenschaften das Metabolische Syndrom und die damit einhergehenden Veränderungen im Stoffwechsel generell positiv beeinflussen. Der mit dem metabolischen Syndrom einhergehende chronische Entzündungszustand scheint außerdem ein wichtiger Faktor in der Entwicklung einer Insulinresistenz zu sein. TNF- α ,

eines der von Adipozyten sezernierten Zytokine, hemmt beispielsweise die Ausschüttung von Adiponektin, welches die Insulinsensitivität erhöht (Kern et al. 2003; Wisse 2004). Östrogene hemmen normalerweise diese Mechanismen, indem freie Radikale, welche die Produktion der Zytokine IL-6 und TNF- α stimulieren, direkt abgefangen werden (siehe oben). Gleichzeitig verhindert es die gegenseitige Hochregulation dieser proinflammatorischen Enzyme (Schwenke 1998) und wirkt so der Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen entgegen. Diese antiinflammatorische Funktion könnte von Deoxyactein und anderen entzündungshemmenden Stoffen im *CR*-Extrakt übernommen werden.

Allerdings könnten auch andere Eigenschaften des Deoxyacteins oder der andere Inhaltsstoff, Actein, für die positive Wirkung auf das Fettgewebe verantwortlich sein.

Die S1-Fraktion hat tendenziell den Zugewinn an Fettgewebe gefördert. Ob durch die antiinflammatorischen Fähigkeiten der Inhaltsstoffe andere Symptome des Metabolischen Syndroms, wie beispielsweise die Insulinresistenz über Hemmung von TNF α reduziert werden können (siehe oben), wäre ein Ansatz für weiterführende Studien.

Auf das Muskelgewebe scheint lediglich die S2-Fraktion positiv Einfluss genommen zu haben, indem die Einlagerung von Fett deutlich reduziert wurde. Die antioxydativen Qualitäten des Deoxyactein könnten sich auch hier durch Neutralisierung der katabolen Zytokine TNF- α , IL-1 und IL-6 ausgezeichnet haben. Das bedeutet, dass sich auch hier vor allem die beiden Inhaltsstoffe Actein und Deoxyactein als positiv für postmenopausale Veränderungen im Muskelgewebe erweisen.

Gleichzeitig konnten durch die Behandlung mit Inhaltsstoffen aus *CR* keine negativen Nebenwirkungen auf die Muskulatur von Uterus und Herz beobachtet werden, ein Vorteil gegenüber der HRT mit Östrogenen.

Schwierig wird es, wenn man nicht nur die Wirkstoffe, sondern auch deren Wirkweise aufschlüsseln möchte. Da die *CR*-Fraktionen teilweise die

Beschwerden, hervorgerufen durch postmenopausalen Östrogenmangel, zu lindern vermögen, liegt es nahe, die durch Östrogene beeinflussten Signalwege genauer zu betrachten, um dadurch auch Näheres über die Wirkweise des *CR*-Extraktes zu erfahren. In der Diskussion wurden verschiedene, durch Östrogene beeinflusste Enzyme und deren Wirkung näher erläutert, um so gleichzeitig auch Hinweise auf die Art und Weise zu erfahren, mit der das *CR*-Extrakt potentiell in den Stoffwechsel eingreifen könnte. Trotzdem ist bisher nicht geklärt, wie die in *CR* enthaltenen Stoffe gewisse Effekte der Östrogene imitieren. Grund ist die mangelnde Bindung an ERs durch *CR*. Allerdings ist zu erwägen, dass die Inhaltsstoffe aus *CR* über „Umwege“ die gleichen Signalwege wie Östrogene aktivieren oder hemmen. Daneben lässt sich feststellen, dass die Inhaltsstoffe aus *CR* unter anderem generellen Einfluss auf ROS und damit Stress-induzierte Signalwege im Körper nehmen. Ob und in welchem Ausmaß dieser Aspekt von Bedeutung bei Erforschung der genauen Wirkweise ist, lässt sich durch unser Studiendesign allerdings nicht sagen. Einige Effekte von *CR* sind allerdings durchaus mit dessen antioxidativen Eigenschaften in Einklang zu bringen. Ebenso wurde von Jarry et al. eine Wirkung auf D2-Rezeptoren nachgewiesen. So spielt eventuell auch dieser Aspekt eine Rolle bei der Wirkung des *CR*-Extraktes. Bisher wurde allerdings keinem speziellen Inhaltsstoff eine Bindung an diesen Dopaminrezeptor nachgewiesen.

Auch ein Eingriff in die Signalwege der PPARs durch Inhaltsstoffe aus *CR* eine wesentliche Rolle spielen.

Zu guter Letzt könnten Effekte ebenso über Steigerung der körperlichen Aktivität erzielt werden. Es wurde erwähnt, dass dieser Aspekt ebenfalls eine Rolle im Fettmetabolismus generell und auch bei der Fetteinlagerung in den Muskel spielt. Allerdings haben wir den Bewegungsumfang der Ratten mit dieser Studie nicht untersuchen können.

In unserer Arbeit konnte nicht gezeigt werden, dass oder ob es Wirkstoffe in *CR* gibt, die zu einer differenzierten Behandlung des metabolischen Syndroms

genutzt werden könnten, da unter anderem wenig Einfluss auf die Serumlipide (siehe auch Rehmann 2014) beobachtet werden konnte und die Wirkung auf die Insulinsensitivität in unserer Studie nicht direkt untersucht wurde. Außerdem sind die Zusammenhänge des Metabolischen Syndroms, wie erwähnt, sehr kompliziert. Die potentiell nützlichsten Inhaltsstoffe sind vor allem Actein und Deoxyactein, gegebenenfalls könnten auch die Eigenschaften der Isoferularsäure genutzt werden. Weitere Forschungen über die Beeinflussung gewisser Rezeptoren beziehungsweise Enzyme durch diese Stoffe könnten neuere Erkenntnisse über die Wirkweise der CR-Fractionen liefern.

Ebenfalls erwähnt werden sollte, dass es in unserer Studie im Vergleich zu anderen Studien mit den gleichen Stoffklassen teilweise zu unterschiedlichen Ergebnissen gekommen ist. Zu den möglichen Gründen wurde im jeweiligen Fall direkt Stellung bezogen. Generell können pharmakokinetische Eigenschaften im Organismus der Ratte zu Differenzen zwischen In-vitro- und In-vivo-Studien führen. Mangelnde oder andersartige Umwandlung der Stoffe im Metabolismus würden so in einer fehlenden oder andersartigen Wirkung resultieren. Damit wird gleichzeitig die Applikationsart zu einer Fehlerquelle. Nicht sicher ist ebenfalls, inwiefern alle von uns verwendeten Inhaltsstoffe von der Ratte resorbiert werden. Weitere Ursachen für anderslautende Ergebnisse sind Differenzen in der Applikationsdauer und der Wirkstoffdosierung. Auch das Alter der für die Studien verwendeten Ratten spielt eine Rolle in der Reaktion auf die pharmakologische Behandlung. Ein weiterer, sehr wichtiger Aspekt, welcher die unterschiedlichen Wirkungen zwischen den Fraktionen und Subfraktionen erklärt, ist folgender: In der Phytotherapie ist es nicht möglich, vorherzusagen, wie zwei Substanzen im Zusammenspiel wirken, auch wenn der Effekt jeder einzelnen Substanz für sich alleine genommen bekannt ist. Umgekehrt bedeutet dies, dass es gegebenenfalls nicht möglich ist, eine einzelne Substanz für eine bestimmte Wirkung ausfindig machen zu können, da häufig diese Wirkung nur durch das Zusammenspiel mehrerer Stoffe bewirkt wird.

6. Literaturverzeichnis

- Abdel-Hakim SM, Ibrahim MY, Ibrahim HM, Ibrahim MM (2014): The effect of ghrelin antagonist (D-Lys3) GHRP-6 on ovariectomy-induced obesity in adult female albino rats. *Endocr Regul* 48 (3), 126–134
- Abu-Taha M, Rius C, Hermenegildo C, Noguera I, Cerda-Nicolas J, Issekutz AC, Jose PJ, Cortijo J, Morcillo EJ, Sanz M (2009): Menopause and ovariectomy cause a low grade of systemic inflammation that may be prevented by chronic treatment with low doses of estrogen or losartan. *J. Immunol.* 183, 1393–1402
- Ando K, Fujita T (2009): Metabolic syndrome and oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 47 (3), 213–218.
- Andreollo NA, Santos EFd, Araújo MR, Lopes LR (2012): Rat's age versus human's age: what is the relationship? *Arq Bras Cir Dig* 25, 49–51
- Armellini F, Zamboni M, Bosello O (2000): Hormones and body composition in humans: clinical studies. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 24 Suppl 2, 18-21
- Avis NE, Brockwell S, Colvin A (2005): A universal menopausal syndrome? *Am. J. Med.* 118 Suppl 12B, 37–46.
- Balage M, Averous J, Rémond D, Bos C, Pujos-Guillot E, Papet I, Mosoni L, Combaret L, Dardevet D (2010): Presence of low-grade inflammation impaired postprandial stimulation of muscle protein synthesis in old rats. *J. Nutr. Biochem.* 21, 325–331
- Baltgalvis KA, Greising SM, Warren GL, Lowe DA, Capogrossi MC (2010): Estrogen Regulates Estrogen Receptors and Antioxidant Gene Expression in Mouse Skeletal Muscle. *PLoS ONE* 5, e10164
- Barone E, Calabrese V, Mancuso C (2009): Ferulic acid and its therapeutic potential as a hormetin for age-related diseases. *Biogerontology* 10, 97–108
- Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, Romero L, Heymsfield SB, Ross RR, Garry PJ, Lindeman RD (1998): Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am. J. Epidemiol.* 147, 755–763
- Bellino FL (2000): Nonprimate animal models of menopause: workshop report. *Menopause* 7, 14–24
- Beral V (2003): Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 362, 419–427
- Berg JM, Häcker B, Stryer L, Tymoczko JL: *Biochemie*, 6. Auflage; Spektrum Akad. Verl. Heidelberg 2010
- Bojanowska E, Nowak A (2007): Interactions between leptin and exendin-4, a glucagon-like peptide-1 agonist, in the regulation of food intake in the rat. In: *J. Physiol. Pharmacol.* 58 (2), 349–360

- Bonen A, Parolin ML, Steinberg GR, Calles-Escandon J, Tandon NN, Glatz, Jan F C et al. (2004): Triacylglycerol accumulation in human obesity and type 2 diabetes is associated with increased rates of skeletal muscle fatty acid transport and increased sarcolemmal FAT/CD36. In: *FASEB J.* 18 (10), 1144–1146.
- Brockie J (2013): Managing menopausal symptoms: hot flushes and night sweats. *Nurs Stand* 28, 48–53
- Bruce KD, Byrne CD (2009): The metabolic syndrome: common origins of a multifactorial disorder. *Postgraduate Medical Journal* 85, 614–621
- Brunetti L, Michelotto B, Orlando G, Vacca M (1999): Leptin inhibits norepinephrine and dopamine release from rat hypothalamic neuronal endings. *Eur. J. Pharmacol.* 372, 237–240
- Burdette JE, Chen S, Lu Z, Xu H, White BEP, Fabricant DS, Liu J, Fong HHS, Farnsworth NR, Constantinou AI et al. (2002): Black cohosh (*Cimicifuga racemosa* L.) protects against menadione-induced DNA damage through scavenging of reactive oxygen species: bioassay-directed isolation and characterization of active principles. *J. Agric. Food Chem.* 50, 7022–7028
- Burdette JE, Liu J, Chen S, Fabricant DS, Piersen CE, Barker EL, Pezzuto JM, Mesecar A, van Breemen RB, Farnsworth NR et al. (2003): Black cohosh acts as a mixed competitive ligand and partial agonist of the serotonin receptor. *J. Agric. Food Chem.* 51, 5661–5670
- Calapai G, Corica F, Corsonello A, Sautebin L, Di Rosa M, Campo GM, Buemi M, Mauro VN, Caputi AP (1999): Leptin increases serotonin turnover by inhibition of brain nitric oxide synthesis. *J. Clin. Invest.* 104, 975–982
- Carr MC (2003): The Emergence of the Metabolic Syndrome with Menopause. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 88, 2404–2411
- Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J (2007): Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells* 25, 2739–2749
- Chen X, Xun K, Chen L, Wang Y (2009): TNF- α a potent lipid metabolism regulator. *Cell Biochem. Funct.* 27, 407–416
- Chen Z, Bassford T, Green SB, Cauley JA, Jackson RD, LaCroix AZ, Leboff M, Stefanick ML, Margolis KL (2005): Postmenopausal hormone therapy and body composition - a substudy of the estrogen plus progestin trial of the Women's Health Initiative. *Am. J. Clin. Nutr.* 82, 651–656
- Choi EM (2013): Deoxyactein stimulates osteoblast function and inhibits bone-resorbing mediators in MC3T3-E1 cells. *J. Appl. Toxicol.* 33, 190–195
- Cicek SS, Khom S, Taferner B, Hering S, Stuppner H (2010): Bioactivity-guided isolation of GABA(A) receptor modulating constituents from the rhizomes of *Actaea racemosa*. *J. Nat. Prod.* 73, 2024–2028
- Cock T, Houten SM, Auwerx J (2004): Peroxisome proliferator-activated receptor- γ : too much of a good thing causes harm. *EMBO Rep* 5, 142–147

- Coelho WS, Costa KC, Sola-Penna M (2007): Serotonin stimulates mouse skeletal muscle 6-phosphofructo-1-kinase through tyrosine-phosphorylation of the enzyme altering its intracellular localization. *Mol. Genet. Metab.* 92, 364–370
- Coppack SW (2001): Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc. Nutr. Soc.* 60, 349–356
- Curzon G, Gibson EL, Oluyomi AO (1997): Appetite suppression by commonly used drugs depends on 5-HT receptors but not on 5-HT availability. In: *Trends Pharmacol. Sci.* 18 (1), 21– 25.
- Delmonico MJ, Harris TB, Visser M, Park SW, Conroy MB, Velasquez-Mieyer P, Boudreau R, Manini TM, Nevitt M, Newman AB et al. (2009): Longitudinal study of muscle strength, quality, and adipose tissue infiltration. *American Journal of Clinical Nutrition* 90, 1579–1585
- D'Eon TM, Souza SC, Aronovitz M, Obin MS, Fried SK, Greenberg AS (2005): Estrogen regulation of adiposity and fuel partitioning. Evidence of genomic and non-genomic regulation of lipogenic and oxidative pathways. *J. Biol. Chem.* 280, 35983–35991
- Deshpande R, Khalili H, Pergolizzi RG, Michael SD, Chang MY (1997): Estradiol Down-Regulates LPS-Induced Cytokine Production and NFkB Activation in Murine Macrophages. *American Journal of Reproductive Immunology* 38, 46–54
- Di Carlo C, Tommaselli GA, Nappi C (2002): Effects of sex steroid hormones and menopause on serum leptin concentrations. *Gynecol. Endocrinol.* 16, 479–491
- Dulor JP, Cambon B, Vigneron P, Reyne Y, Nougues J, Casteilla L, Bacou F (1998): Expression of specific white adipose tissue genes in denervation-induced skeletal muscle fatty degeneration. *FEBS Lett.* 439, 89–92
- Einbond LS, Su T, Wu H, Friedman R, Wang X, Jiang B, Hagan T, Kennelly EJ, Kronenberg F, Weinstein IB (2007 a): Gene expression analysis of the mechanisms whereby black cohosh inhibits human breast cancer cell growth. *Anticancer Res.* 27, 697–712
- Einbond LS, Su T, Wu H, Friedman R, Wang X, Ramirez A, Kronenberg F, Weinstein IB (2007 b): The growth inhibitory effect of actein on human breast cancer cells is associated with activation of stress response pathways. *Int. J. Cancer* 121, 2073–2083
- Einbond LS, Wen-Cai Y, He K, Wu H, Cruz E, Roller M, Kronenberg F (2008): Growth inhibitory activity of extracts and compounds from *Cimicifuga* species on human breast cancer cells. *Phytomedicine* 15, 504–511
- Einbond LS, Soffritti M, Degli Esposti D, Park T, Cruz E, Su T, Wu H, Wang X, Zhang Y, Ham J et al. (2009 a): Actein activates stress- and statin-associated responses and is bioavailable in Sprague-Dawley rats. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 23, 311–321
- Einbond LS (2009 b): United States Patent Application Publication.
<https://docs.google.com/viewer?url=www.google.com/patents/US20090075919.pdf>

- Einbond LS, Weinstein IB (2012): ANTI-NEOPLASTIC COMPOSITIONS COMPRISING EXTRACTS OF BLACK COHOSH.
<http://www.google.de/patents/US20120034217?printsec=drawing&hl=de&dq=actein+ppar>
- Fong Y, Moldawer LL, Marano M, Wei H, Barber A, Manogue K, Tracey KJ, Kuo G, Fischman DA, Cerami A (1989): Cachectin/TNF or IL-1 alpha induces cachexia with redistribution of body proteins. *Am. J. Physiol.* 256, 659-65
- Ford ES (2002): Prevalence of the Metabolic Syndrome Among US Adults: Findings From the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 287, 356–359
- Forsberg AM, Nilsson E, Werneman J, Bergström J, Hultman E (1991): Muscle composition in relation to age and sex. *Clin. Sci.* 81, 249–256
- Fonseca H, Powers S, Gonçalves D, Santos A, Mota M, Duarte J (2012): Physical Inactivity is a Major Contributor to Ovariectomy-Induced Sarcopenia. In: *Int J Sports Med* 33 (04), 268–278
- Fried SK, Ricci MR, Russell CD, Laferrère B (2000): Regulation of leptin production in humans. *J. Nutr.* 130, 3127S-3131S
- Friedman JM, Halaas JL (1998): Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395, 763–770
- Frost HM, Jee WS (1992): On the rat model of human osteopenias and osteoporoses. *Bone Miner* 18, 227–236
- Gallagher JC, Riggs BL, DeLuca HF (1980): Effect of estrogen on calcium absorption and serum vitamin D metabolites in postmenopausal osteoporosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51, 1359–1364
- Gao Q, Mezei G, Nie Y, Rao Y, Choi CS, Bechmann I, Leranath C, Toran-Allerand D, Priest CA, Roberts JA, Gao XB, Mobbs C, Shulman GI, Diano, Horvath TL (2007): Anorectic estrogen mimics leptin's effect on the rewiring of melanocortin cells and Stat3 signaling in obese animals. In: *Nat. Med.* 13 (1), 89–94
- Garber AJ (1977): Inhibition of serotonin of amino acid release and protein degradation in skeletal muscle. *Mol. Pharmacol.* 13, 640–651
- Goldberg IJ, Merkel M (2001): Lipoprotein lipase: physiology, biochemistry, and molecular biology. *Front. Biosci.* 6, D388-405
- Goss AM, Darnell BE, Brown MA, Oster RA, Gower BA (2012): Longitudinal associations of the endocrine environment on fat partitioning in postmenopausal women. *Obesity (Silver Spring)* 20, 939–944
- Gower BA, Nagy TR, Goran MI, Smith A, Kent E (2000): Leptin in postmenopausal women: influence of hormone therapy, insulin, and fat distribution. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85, 1770–1775
- Greendale GA, Lee NP, Arriola ER (1999): The menopause. *Lancet* 353, 571–580

- Greenberg AS, Nordan RP, McIntosh J, Calvo JC, Scow RO, Jablons D (1992): Interleukin 6 reduces lipoprotein lipase activity in adipose tissue of mice in vivo and in 3T3-L1 adipocytes: a possible role for interleukin 6 in cancer cachexia. *Cancer Res.* 52, 4113–4116
- Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC et al. (2005): Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 112, 2735–2752
- Hadji P, Hars O, Bock K, Sturm G, Bauer T, Emons G, Schulz KD (2000): The influence of menopause and body mass index on serum leptin concentrations. *Eur. J. Endocrinol.* 143, 55–60
- Hamosh M, Hamosh P (1975): The effect of estrogen on the lipoprotein lipase activity of rat adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 55, 1132–1135
- Han LK, Kimura Y, Kawashima M, Takaku T, Taniyama T, Hayashi T, Zheng YN, Okuda H (2001): Anti-obesity effects in rodents of dietary teasaponin, a lipase inhibitor. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 25, 1459–1464
- Han L, Zheng Y, Xu B, Okuda H, Kimura Y (2002): Saponins from platycodi radix ameliorate high fat diet-induced obesity in mice. *J. Nutr.* 132, 2241–2245
- Hardie L, Trayhurn P, Abramovich D, Fowler P (1997): Circulating leptin in women: a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 47, 101–106
- Hashizume M, Mihara M (2011): IL-6 and lipid metabolism. *Inflammation and Regeneration* 31 (3), 325-333
- Hsu C, Yen G (2007): Effects of flavonoids and phenolic acids on the inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *J. Agric. Food Chem.* 55, 8404–8410
- Imparl-Radosevich J, Deas S, Polansky MM, Baedke DA, Ingebritsen TS, Anderson RA, Graves DJ (1998): Regulation of PTP-1 and insulin receptor kinase by fractions from cinnamon: implications for cinnamon regulation of insulin signalling. *Horm. Res.* 50, 177–182
- Internetdokument (2013): Physiologie: Hypothalamus: metabolische Steuerung. <http://user.meduni-graz.at/helmut.hinghofer-szalkay/V.7.htm>
- Janssen I (2008): Menopause and the Metabolic Syndrome The Study of Women's Health Across the Nation. *Arch Intern Med* 168, 1568
- Jarry H, Metten M, Spengler B, Christoffel V, Wuttke W (2003): In vitro effects of the *Cimicifuga racemosa* extract BNO 1055. *Maturitas* 44 Suppl 1, S31-8
- Jarry H, Stromeier S, Wuttke W, Nahrstedt A (2007): Petasiphenone, a Phenol Isolated from *Cimicifuga Racemosa* in vitro Inhibits Proliferation of the Human Prostate Cancer Cell Line LNCaP. *Planta Med* 73, 184–187

- Jensen LB, Vestergaard P, Hermann AP, Gram J, Eiken P, Abrahamsen B, Brot C, Kolthoff N, Sørensen OH, Beck-Nielsen H et al. (2003): Hormone replacement therapy dissociates fat mass and bone mass, and tends to reduce weight gain in early postmenopausal women: a randomized controlled 5-year clinical trial of the Danish Osteoporosis Prevention Study. *J. Bone Miner. Res.* 18, 333–342
- Jubrias SA, Odderson IR, Esselman PC, Conley KE (1997): Decline in isokinetic force with age: muscle cross-sectional area and specific force. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology* 434, 246–253
- Kalu DN (1991): The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner* 15, 175–191
- Kapur P, Wuttke W, Seidlová-Wuttke D (2010): The *Cimicifuga racemosa* special extract BNO 1055 prevents hot flashes in ovariectomized rats. *Phytomedicine* 17, 890–894
- Kawai M, Sousa KM, MacDougald OA, Rosen CJ (2010): The many facets of PPAR: Novel insights for the skeleton. *AJP: Endocrinology and Metabolism* 299, E3
- Kern PA, Di Gregorio GB, Lu T, Rassouli N, Ranganathan G (2003): Adiponectin Expression From Human Adipose Tissue: Relation to Obesity, Insulin Resistance, and Tumor Necrosis Factor-Expression. *Diabetes* 52, 1779–1785
- Khan A, Safdar M, Ali Khan MM, Khattak KN, Anderson RA (2003): Cinnamon improves glucose and lipids of people with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 26, 3215–3218
- Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K, Taniguchi H (2002): Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. *J. Agric. Food Chem.* 50, 2161–2168
- Klotz DM, Hewitt SC, Korach KS, Diaugustine RP (2000): Activation of a uterine insulin-like growth factor I signaling pathway by clinical and environmental estrogens: requirement of estrogen receptor-alpha. *Endocrinology* 141, 3430–3439
- Konukoglu D, Serin O, Ercan M (2000): Plasma leptin levels in obese and non-obese postmenopausal women before and after hormone replacement therapy. *Maturitas* 36, 203–207
- Lee ES, Uhm K, Lee YM, Han M, Lee M, Park JM, Suh P, Park S, Kim HS (2007): CAPE (caffeic acid phenethyl ester) stimulates glucose uptake through AMPK (AMP-activated protein kinase) activation in skeletal muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 361, 854–858
- Leite RD, Prestes J, Bernardes CF, Shiguemoto GE, Pereira GB, Duarte JO, Domingos MM, Baldissera V, Andrade Perez SE de (2009): Effects of ovariectomy and resistance training on lipid content in skeletal muscle, liver, and heart; fat depots; and lipid profile. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 34, 1079–1086
- Liang Y, Akishita M, Kim S, Ako J, Hashimoto M, Iijima K, Ohike Y, Watanabe T, Sudoh N, Toba K et al. (2002): Estrogen receptor beta is involved in the anorectic action of estrogen. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 26, 1103–1109
- Liske E (1998): Therapeutic efficacy and safety of *Cimicifuga racemosa* for gynecologic

disorders. *Adv Ther* 15, 45–53

- Lobo RA (2008): Metabolic syndrome after menopause and the role of hormones. *Maturitas* 60, 10–18
- Löhning A, Verspohl EJ, Winterhoff H (1999): Pharmacological studies on the dopaminergic activity of *Cimicifuga racemosa*. Workshop of the society for medicinal plant research
- Lowe DA, Baltgalvis KA, Greising SM (2010): Mechanisms behind estrogen's beneficial effect on muscle strength in females. *Exerc Sport Sci Rev* 38, 61–67
- Malmström R, Taskinen MR, Karonen SL, Yki-Järvinen H (1996): Insulin increases plasma leptin concentrations in normal subjects and patients with NIDDM. In: *Diabetologia* 39 (8), 993–996.
- Maltais ML, Desroches J, Dionne IJ (2009): Changes in muscle mass and strength after menopause. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 9, 186–197
- Marcus RL, Addison O, Kidde JP, Dibble LE, Lastayo PC (2010): Skeletal muscle fat infiltration: impact of age, inactivity, and exercise. In: *J Nutr Health Aging* 14 (5), S. 362–366.
- Mayes JS, Watson GH (2004): Direct effects of sex steroid hormones on adipose tissues and obesity. *Obes Rev* 5, 197–216
- Merchantlaler I, Funkhouser JM, Carver JM, Lundeen SG, Ghosh K, Winneker RC (1998): The effect of estrogens and antiestrogens in a rat model for hot flush. *Maturitas* 30, 307–316
- Minciullo PL, Saija A, Patafi M, Marotta G, Ferlazzo B, Gangemi S (2006): Muscle damage induced by black cohosh (*Cimicifuga racemosa*). *Phytomedicine* 13, 115–118
- Mohamed-Ali V, Pinkney JH, Coppack SW (1998): Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 22, 1145–1158
- Mokgobu MI, Cholo MC, Anderson R, Steel HC, Motheo MP, Hlatshwayo TN, Tintinger GR, Theron AJ (2014): Oxidative induction of pro-inflammatory cytokine formation by human monocyte-derived macrophages following exposure to manganese in vitro. *J Immunotoxicol* 12 (1), 98-103
- Morley JE, Baumgartner RN, Roubenoff R, Mayer J, Nair KS (2001): Sarcopenia. *J. Lab. Clin. Med.* 137, 231–243
- Nelson HD (2008): Menopause. *The Lancet* 371, 760–770
- Nonogaki K, Strack AM, Dallman MF, Tecott LH (1998): Leptin-independent hyperphagia and type 2 diabetes in mice with a mutated serotonin 5-HT_{2C} receptor gene. *Nat. Med.* 4, 1152-1156
- Nuntanakorn (2004): Black Cohosh A Review. *Silpakorn University Journal of Social Sciences, Humanities, and Arts*, Vol.4, Number 1-2, 118-134
- Olefsky JM (2000): Treatment of insulin resistance with peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J. Clin. Invest.* 106, 467–472
- Oltmans GA (1983): Norepinephrine and dopamine levels in hypothalamic nuclei of the genetically

- obese mouse (ob/ob). *Brain Research* 273, 369–373
- Onorato J, Henion JD (2001): Evaluation of triterpene glycoside estrogenic activity using LC/MS and immunoaffinity extraction. *Anal. Chem.* 73, 4704–4710
 - Padilla J, Jenkins NT, Thorne PK, Lansford KA, Fleming NJ, Bayless DS, Sheldon RD, Rector RS, Laughlin MH (2014): Differential regulation of adipose tissue and vascular inflammatory gene expression by chronic systemic inhibition of NOS in lean and obese rats. In: *Physiol Rep* 2 (2), S. e00225
 - Palin SL, McTernan PG, Anderson LA, Sturdee DW, Barnett AH, Kumar S (2003): 17Beta-östrogen and anti-estrogen ICI:compound 182,780 regulate expression of lipoprotein lipase and hormone-sensitive lipase in isolated subcutaneous abdominal adipocytes. *Metab. Clin. Exp.* 52, 383–388
 - Park Y, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Carnethon MR, Heymsfield SB (2003): The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch. Intern. Med.* 163, 427–436
 - Pierce JD, Goodyear-Bruch C, Hall S, Clancy RL (2006): Effect of dopamine on rat diaphragm apoptosis and muscle performance. *Exp. Physiol.* 91, 731–740
 - Phillips SK, Rook KM, Siddle NC, Bruce SA, Woledge RC (1993): Muscle weakness in women occurs at an earlier age than in men, but strength is preserved by hormone replacement therapy. *Clinical Science* 84, 95–98
 - Poehlman ET (2002): Menopause, energy expenditure, and body composition. *Acta Obstet Gynecol Scand* 81, 603–611
 - Poehlman ET, Toth MJ, Gardner AW (1995): Changes in energy balance and body composition at menopause: a controlled longitudinal study. *Ann. Intern. Med.* 123, 673–675
 - Pothos EN, Creese I, Hoebel BG (1995): Restricted eating with weight loss selectively decreases extracellular dopamine in the nucleus accumbens and alters dopamine response to amphetamine, morphine, and food intake. *J. Neurosci.* 15, 6640–6650
 - Price TM, O'Brien SN (1993): Determination of estrogen receptor messenger ribonucleic acid (mRNA) and cytochrome P450 aromatase mRNA levels in adipocytes and adipose stromal cells by competitive polymerase chain reaction amplification. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 77, 1041–1045
 - Rai MF, Sandell LJ (2011): Inflammatory mediators: tracing links between obesity and osteoarthritis. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 21, 131–142
 - Rasmussen BB (2006): Insulin resistance of muscle protein metabolism in aging. *The FASEB Journal*
 - Rehmann: Der Effekt von Cimicifuga eracemosa BNO 1055-Subfraktionen auf Leberfettgehalt, Kolonepithel und ausgewählte Blutlipidparameter, Med. Diss, Universität Göttingen 2014
 - Roberts CK, Barnard RJ, Sindhu RK, Jurczak M, Ehdaie A, Vaziri ND (2006): Oxidative stress and

dysregulation of NAD(P)H oxidase and antioxidant enzymes in diet-induced metabolic syndrome. *Metab. Clin. Exp.* 55, 928–934

- Roesch DM (2006): Effects of selective estrogen receptor agonists on food intake and body weight gain in rats. *Physiol. Behav.* 87, 39–44
- Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Heymsfield SB, Gallagher D, Chu F, Leibel RL (1996): Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81, 3424–3427
- Roubenoff R, Roubenoff RA, Cannon JG, Kehayias JJ, Zhuang H, Dawson-Hughes B, Dinarello CA, Rosenberg IH (1994): Rheumatoid cachexia: cytokine-driven hypermetabolism accompanying reduced body cell mass in chronic inflammation. *J. Clin. Invest.* 93, 2379–2386
- Roubenoff R, Harris TB, Abad LW, Wilson PWF, Dallal GE, Dinarello CA (1998): Monocyte Cytokine Production in an Elderly Population: Effect of Age and Inflammation. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 53, M20
- Rybaczyk LA, Bashaw MJ, Pathak DR, Moody SM, Gilders RM, Holzschu DL (2005): An overlooked connection: serotonergic mediation of estrogen-related physiology and pathology. *BMC Womens Health* 5, 12
- Saengsirisuwan V, Pongseeda S, Prasannarong M, Vichaiwong K, Toskulkao C (2009): Modulation of insulin resistance in ovariectomized rats by endurance exercise training and estrogen replacement. *Metabolism* 58, 38–47
- Schellenberg R, Saller R, Hess L, Melzer J, Zimmermann C, Drewe J, Zahner C (2012): Dose-Dependent Effects of the *Cimicifuga racemosa* Extract Ze 450 in the Treatment of Climacteric Complaints: A Randomized, Placebo-Controlled Study. In: *Evid Based Complement Alternat Med* 2012
- Schmid D, Woehs F, Svoboda M, Thalhammer T, Chiba P, Moeslinger T (2009): Aqueous extracts of *Cimicifuga racemosa* and phenolcarboxylic constituents inhibit production of proinflammatory cytokines in LPS-stimulated human whole blood. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 87, 963–972
- Schwarz PB, Peever JH (2011): Dopamine triggers skeletal muscle tone by activating D1-like receptors on somatic motoneurons. *Journal of Neurophysiology* 106, 1299–1309
- Schwenke DC (1998): Aging, menopause, and free radicals. *Semin. Reprod. Endocrinol.* 16, 281–308
- Seidlová-Wuttke D, Hesse O, Jarry H, Christoffel V, Spengler B, Becker T, Wuttke W (2003a): Evidence for selective estrogen receptor modulator activity in a black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) extract: comparison with östrogen-17beta. *Eur. J. Endocrinol.* 149, 351–362
- Seidlová-Wuttke D, Jarry H, Becker T, Christoffel V, Wuttke W (2003b): Pharmacology of *Cimicifuga racemosa* extract BNO 1055 in rats: bone, fat and uterus. *Maturitas* 44 Suppl 1, S39-50

- Seidlová-Wuttke D, Becker T, Christoffel V, Jarry H, Wuttke W (2003c): Silymarin is a selective estrogen receptor beta (ERbeta) agonist and has estrogenic effects in the metaphysis of the femur but no or antiestrogenic effects in the uterus of ovariectomized (ovx) rats. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 86, 179–188
- Seidlová-Wuttke D, Jarry H, Wuttke W (2009): Effects of Östrogen Benzoate, Raloxifen and an Ethanolic Extract of *Cimicifuga racemosa* in Nonclassical Estrogen Regulated Organs of Ovariectomized Rats. *Planta Med* 75, 1279–1285
- Seidlová-Wuttke D, Ehrhardt C, Wuttke W (2010): Metabolic effects of 20-OH-Ecdysone in ovariectomized rats. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 119, 121–126
- Seidlová-Wuttke D, Eder N, Stahnke V, Kammann M, Stecher G, Haunschild J, Wessels JT, Wuttke W (2012 a): *Cimicifuga racemosa* and its triterpene-saponins prevent the Metabolic Syndrome and deterioration of cartilage in the knee joint of ovariectomized rats by similar mechanisms. *Phytomedicine* 19, 846–853
- Seidlová-Wuttke D, Stecher G, Kammann M, Haunschild J, Eder N, Stahnke V, Wessels J, Wuttke W (2012 b): Osteoprotective effects of *Cimicifuga racemosa* and its triterpene-saponins are responsible for reduction of bone marrow fat. *Phytomedicine* 19, 855–860
- Shams T, Setia MS, Hemmings R, McCusker J, Sewitch M, Ciampi A (2010): Efficacy of black cohosh-containing preparations on menopausal symptoms: a meta-analysis. *Altern Ther Health Med* 16, 36–44
- Sheng X, Zhang Y, Gong Z, Huang C, Zang YQ (2008): Improved Insulin Resistance and Lipid Metabolism by Cinnamon Extract through Activation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors. *PPAR Research* 2008, 1–9
- Shimizu H, Shimomura Y, Nakanishi Y, Futawatari T, Ohtani K, Sato N, Mori M (1997): Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects. *J. Endocrinol.* 154, 285–292
- Soliman M, Z.S. Ibrahim A, Abdel-Aal, Ismaeil RS: Modulation of cytokines, adiponectin and leptin expression in mature bovine adipocytes by serotonin. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 2010, 1157–1164
- Squadrito F, Altavilla D, Squadrito G, Campo GM, Arlotta M, Arcoraci V, Minutoli L, Saitta A, Caputi AP (1997): The involvement of tumour necrosis factor- α in the protective effects of 17 β oestradiol in splanchnic ischaemia-reperfusion injury. *British Journal of Pharmacology* 121, 1782–1788
- Steiner G, Hamsten A, Hosking J, Stewart D (2001): Effect of fenofibrate on progression of coronary-artery disease in type 2 diabetes: the Diabetes Atherosclerosis Intervention Study, a randomised study. *Lancet* 357, 905–910
- Strommer B, Khom S, Kastenberger I, Cicek SS, Stuppner H, Schwarzer C, Hering S (2014): A cycloartane glycoside derived from *Actaea racemosa* L. modulates GABAA receptors and induces

- pronounced sedation in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 351, 234–242
- Sugawara A, Uruno A, Kudo M, Matsuda K, Yang CW, Ito S (2010): Effects of PPAR γ on hypertension, atherosclerosis, and chronic kidney disease. *Endocr J* 57, 847–852
 - Szczypka MS (1999): Feeding behavior in dopamine-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96, 12138–12143
 - Tontonoz P, Spiegelman BM (2008): Fat and Beyond: The Diverse Biology of PPAR γ . *Annu. Rev. Biochem.* 77, 289–312
 - Trujillo ME, Sullivan S, Harten I, Schneider SH, Greenberg AS, Fried SK (2004): Interleukin-6 regulates human adipose tissue lipid metabolism and leptin production in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89, 5577–5582
 - Tsujinaka T, Kishibuchi M, Yano M, Morimoto T, Ebisui C, Fujita J, Ogawa A, Shiozaki H, Kominami E, Monden M (1997): Involvement of interleukin-6 in activation of lysosomal cathepsin and atrophy of muscle fibers induced by intramuscular injection of turpentine oil in mice. *J. Biochem.* 122, 595–600
 - van Raalte DH, Li M, Pritchard PH, Wasan KM (2004): Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-alpha: a pharmacological target with a promising future. *Pharm. Res.* 21, 1531–1538
 - Vincent HK, Taylor AG (2006): Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (Lond)* 30, 400–418
 - Visser M, Deeg DJH, Lips P (2003): Low vitamin D and high parathyroid hormone levels as determinants of loss of muscle strength and muscle mass (sarcopenia): the Longitudinal Aging Study Amsterdam. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 5766–5772
 - Wade GN, Gray JM (1978): Cytoplasmic 17 beta-[3H]östrogen binding in rat adipose tissues. *Endocrinology* 103, 1695–1701
 - Wiersema JH (2005): *Actaea racemosa* information from NPGS/GRIN. <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?411899>
 - Wing RR, Matthews KA, Kuller LH, Meilahn EN, Plantinga PL (1991): Weight gain at the time of menopause. *Arch. Intern. Med.* 151, 97–102
 - Wisse BE (2004): The Inflammatory Syndrome: The Role of Adipose Tissue Cytokines in Metabolic Disorders Linked to Obesity. *Journal of the American Society of Nephrology* 15, 2792–2800
 - Wright DE, Seroogy KB, Lundgren, KH, Davis, BM, Jennes L (1995): Comparative localization of serotonin1A, 1C, and 2 receptor subtype mRNAs in rat brain. In: *J. Comp. Neurol.* 351 (3), 357–373
 - Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators (2002): Risks and Benefits of Estrogen Plus Progestin in Healthy Postmenopausal Women: Principal Results From the

Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 288, 321–333

- Wuttke W, Gorkow C, Seidlová-Wuttke D (2006 a): Effects of black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) on bone turnover, vaginal mucosa, and various blood parameters in postmenopausal women: a double-blind, placebo-controlled, and conjugated estrogens- controlled study. *Menopause* 13, 185–196
- Wuttke W, Rimoldi G, Christoffel J, Seidlová-Wuttke D (2006 b): Plant extracts for the treatment of menopausal women: Safe? *Maturitas* 55, S92–S100
- Wuttke W, Jarry H, Haunschild J, Stecher G, Schuh M, Seidlová-Wuttke D (2014): The non-estrogenic 7 alternative for the treatment of climacteric complaints: Black cohosh (*Cimicifuga* or *Actaea racemosa*). In: *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 139, 302–310
- Yepuru M, Eswaraka J, Kearbey JD, Barrett CM, Raghov S, Veverka KA, Miller DD, Dalton JT, Narayanan R (2010): Estrogen Receptor- selective Ligands Alleviate High-fat Diet- and Ovariectomy- induced Obesity in Mice. *Journal of Biological Chemistry* 285, 31292–31303
- Yoshikawa S, Nakamura T, Tanabe H, Imamura T (1979): Osteomalacic myopathy. *Endocrinol. Jpn.* 26, 65–72
- Zoth N, Weigt C, Laudénbach-Leschowski U, Diel P (2010): Physical activity and estrogen treatment reduce visceral body fat and serum levels of leptin in an additive manner in a diet induced animal model of obesity. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 122, 100–105

7. Lebenslauf:

Am 16. Januar 1985 wurde ich, Tobias Diewald, als Sohn von Dr. Bernd Diewald und Silvia Grewelinger-Diewald in Saarbrücken geboren.

Zwischen 1991 und 1995 besuchte ich die Ellerschule in Riegelsberg und wechselte daraufhin auf das Gymnasium am Rothenbühl in Saarbrücken. Ab 1996 ging ich für 3 Jahre nach Kirchheimbolanden auf das Weierhof Gymnasium. Anschließend besuchte ich von 1999 bis 2001 das Gutenberg Gymnasium in Mainz. Ab 2001 ging ich erneut in Saarbrücken im Gymnasium am Rothenbühl zur Schule und machte dort 2004 mein Abitur.

Nach dem Abitur absolvierte ich ein Freiwilliges Soziales Jahr beim Deutschen Roten Kreuz und machte im Rahmen dessen eine Ausbildung zum Rettungssanitäter. Anschließend arbeitete ich weiterhin bis April 2006 ehrenamtlich im Krankentransport und Rettungsdienst.

Von April 2006 bis September 2007 begann ich eine Ausbildung zum Gesundheits- und Krankenpfleger.

Ab Oktober 2007 studierte ich an der Georg-August-Universität in Göttingen Humanmedizin und habe dort im September 2009 den ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung bestanden.

Im September 2010 nahm ich meine Doktorandentätigkeit in der Abteilung für klinische und experimentelle Endokrinologie in der Universitätsmedizin Göttingen auf.

Mein Medizinstudium habe ich im Mai 2014 mit dem zweiten Staatsexamen abgeschlossen.

Seit Oktober 2014 arbeite ich als Anästhesist im Uniklinikum Göttingen.

Göttingen, Oktober 2015