

Die optimale Ernährung bei einer Typ-2-Diabetes-Erkrankung

Der Einfluss von Epigallocatechingallat, Docosahexaensäure und Resveratrol
auf die Insulinsensitivität in Fett- und Muskelzellen



Vivien Kunz, 6aG
Kantonsschule Rychenberg
Betreuung: Patrick Faller
Zweitbeurteilung: Andreas Kyburz
03.12.2024

Inhaltsverzeichnis

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	III
1 VORWORT	1
1.1 PERSÖNLICHE MOTIVATION	1
1.2 GESELLSCHAFTLICHE RELEVANZ.....	1
2 EINLEITUNG.....	2
2.1 DIE ENTSTEHUNG VON DIABETES MELLITUS TYP 2.....	2
2.2 DIE WICHTIGSTEN RISIKOFAKTOREN	4
2.3 BEHANDLUNGSMETHODEN.....	6
2.3.1 <i>Die Ernährung</i>	6
2.3.1.1 Epigallocatechingallat – ein Grünteeextrakt	9
2.3.1.2 Docosahexaensäure – Omega-3-Fettsäure	10
2.3.1.3 Resveratrol – ein Polyphenol	11
2.3.2 <i>Körperliche Aktivität</i>	11
2.3.3 <i>Orale Medikamente</i>	12
2.3.4 <i>Die Insulinbehandlung</i>	13
2.4 DIE ROLLE DES INSULINS	15
2.4.1 <i>Der metabolische Insulinsignalweg</i>	15
2.4.2 <i>AKT</i>	16
2.4.3 <i>GLUT4</i>	17
2.4.4 <i>Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor Gamma (PPAR-γ)</i>	18
2.4.5 <i>PGC-1α</i>	18
2.5 FRAGESTELLUNG.....	19
2.6 HYPOTHESEN	20
2.6.1 <i>Hypothese zu Epigallocatechingallat (EGCG)</i>	20
2.6.2 <i>Hypothese zu Docosahexaensäure (DHA)</i>	20
2.6.3 <i>Hypothese zu Resveratrol</i>	21
3 MATERIAL UND METHODEN	22
3.1 EXPERIMENTDESIGN.....	22
3.2 ZÜCHTEN DER ZELLKULTUREN	24
3.2.1 <i>C2C12-Zellen</i>	25
3.2.1.1 Behandlung der C2C12-Zellen mit den Nahrungsmittelbestandteilen	26
3.2.1.2 Fasten der C2C12-Zellen	26
3.2.1.3 Insulinstimulation der C2C12-Zellen.....	27
3.2.2 <i>3T3-L1-Zellen</i>	27
3.2.2.1 Behandlung der 3T3-L1-Zellen mit den verschiedenen Nahrungsmittelbestandteilen	28
3.2.2.2 Fasten der 3T3-L1-Zellen	29
3.2.2.3 Insulinstimulation der 3T3-L1-Zellen.....	29
3.3 PROTEINE	30
3.3.1 <i>Protein Extraktion</i>	30
3.3.2 <i>Totalmengenbestimmung der Proteine (BCA-Assay)</i>	31
3.3.3 <i>Western Blot Vorbereitung</i>	31
3.3.4 <i>Western Blotting</i>	33
3.3.5 <i>AKT-Proteine</i>	34
3.3.5.1 Inkubation mit AKT-Antikörpern.....	34
3.3.5.2 Membranen mit Akt-Proteinen fotografieren	35
3.3.6 <i>GAPDH-Proteine</i>	35
3.3.6.1 Reinkubation mit GAPDH-Antikörpern	35
3.3.6.2 Membranen mit GAPDH-Proteinen fotografieren.....	35
3.3.7 <i>phosphoryliertes AKT</i>	36
3.3.7.1 Reinkubation mit phosphorylierten AKT-Antikörpern.....	36
3.3.7.2 Membranen mit den phosphorylierten AKT-Antikörpern (phospho-AKT Ser473) fotografieren	36
3.3.8 <i>GLUT-4-Proteine</i>	37
3.3.8.1 Reinkubation mit GLUT-4-Antikörpern.....	37
3.3.8.2 Membranen mit den GLUT-4-Proteinen fotografieren.....	37

3.3.9	<i>Auswertung des Western Blots</i>	37
3.4	RNA	38
3.4.1	<i>RNA-Extraktion</i>	38
3.4.2	<i>RNA Reverse Transkription</i>	38
3.4.3	<i>qPCR</i>	38
3.4.4	<i>Auswertung qPCR</i>	40
4	RESULTATE	41
4.1	PROTEINE	41
4.1.1	<i>BCA Assay</i>	41
4.1.2	<i>Auswertung der Western Blots</i>	42
4.1.3	<i>Proteinexpression Fettzellen</i>	42
4.1.3.1	Proteinexpression Fettzellen – AKT	42
4.1.3.2	Proteinexpression Fettzellen - GLUT4	43
4.1.4	<i>Proteinexpression Muskelzellen</i>	44
4.1.4.1	Proteinexpression Muskelzellen – AKT	44
4.1.4.2	Proteinexpression Muskelzellen - GLUT4	45
4.1.4.3	Phosphorylierte AKT-Proteine	46
4.2	RNA	47
4.2.1	<i>RNA-Konzentration</i>	47
4.2.2	<i>Genexpression Fettzellen</i>	48
4.2.2.1	Genexpression Fettzellen - GLUT4	48
4.2.2.2	Genexpression Fettzellen - PPAR- γ	48
4.2.2.3	Genexpression Fettzellen - PGC-1 α	49
4.2.3	<i>Genexpression Muskelzellen</i>	50
4.2.3.1	Genexpression Muskelzellen - GLUT4	50
4.2.3.2	Genexpression Muskelzellen - PPAR- γ	51
4.2.3.3	Genexpression Muskelzellen - PGC-1 α	52
5	DISKUSSION	53
5.1	INTERPRETATION UND VERGLEICH DER ERGEBNISSE	53
5.1.1	<i>Epigallocatechingallat (EGCG)</i>	53
5.1.2	<i>Docosahexaensäure (DHA)</i>	55
5.1.3	<i>Resveratrol</i>	56
5.1.4	<i>Genexpressionsergebnisse</i>	58
5.2	KRITIK AM EIGENEN VERFAHREN UND VERBESSERUNGSMÖGLICHKEITEN	59
5.2.1	<i>Vorgehen</i>	59
5.2.2	<i>Verwendete Materialien</i>	60
5.3	WEITERFÜHRENDE HYPOTHESEN UND MÖGLICHE ERNÄHRUNGSTHERAPIEN FÜR DIABETIKER	60
5.3.1	<i>EGCG als Diabetestherapie</i>	60
5.3.2	<i>DHA als Diabetestherapie</i>	61
5.3.3	<i>Resveratrol als Diabetestherapie</i>	62
6	ZUSAMMENFASSUNG	63
7	LITERATUR- UND QUELLENVERZEICHNIS	65
7.1	PRINTLITERATUR	65
7.2	MÜNDLICHE ÜBERLIEFERUNGEN	65
7.3	INTERNETSEITEN	65
8	GLOSSAR	71
9	DANKSAGUNG	80
10	ANHANG	81
10.1	EXPERIMENT	81
10.1.1	<i>BCA-Assay</i>	81
10.1.2	<i>RNA-Extraktion</i>	83
10.1.3	<i>RNA Reverse Transkription</i>	83
10.2	INTERVIEW	87

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: INSULINPRODUKTION IN DEN BETA-ZELLEN DER LANGERHANS-INSELN DER BAUCHSPEICHELDRÜSE UND FREISETZUNG IN DIE BLUTGEFÄSSE ZUR REGULATION DES BLUTZUCKERSPIEGELS.....	2	
ABBILDUNG 2: ANDROIDE (LINKS) UND GYNOIDE (RECHTS) TYPEN BEZÜGLICH FETTVERTEILUNGSMUSTER.....	5	
ABBILDUNG 3: BLUTZUCKERSPIEGEL IN ABHÄNGIGKEIT VERSCHIEDENER KOHLENHYDRATE	6	
ABBILDUNG 4: LEBENSMITTELPYRAMIDE-SCHWEIZ.....	7	
ABBILDUNG 5: GRÜNER TEE IN PULVERFORM.....	9	
ABBILDUNG 6: FISCHÖL-KAPSELN.....	10	
ABBILDUNG 7: RESVERATROL STRUKTURFORMEL UND QUELLEN MIT ENTHALTENER MENGE.....	11	
ABBILDUNG 8: GROBE STRUKTUR DER MENSCHLICHEN HAUT.....	14	
ABBILDUNG 9: INSULINPUMPE.....	14	
ABBILDUNG 10: FUNKTIONSWEISE DES KONTINUIERLICHES GLUKOSEMESSGERÄT (LINKS) MIT DER INSULINPUMPE (RECHTS)	15	
ABBILDUNG 11: METABOLISCHER INSULINSIGNALWEG MIT FOKUS AUF ROLLE VON AKT, GLUT4, PPAR- γ UND PGC-1A... 16		
ABBILDUNG 12: PPAR- γ UND SEINE WIRKUNGSMECHANISMEN (LINKS) UND EIN THERAPEUTISCHER ANSATZ MIT RGZ (RECHTS).....	18	
ABBILDUNG 13: PLATTENDESIGN FÜR C2C12, PROTEIN	ABBILDUNG 14: PLATTENDESIGN FÜR C2C12, RNA.....	23
ABBILDUNG 15: PLATTENDESIGN FÜR 3T3-L1, PROTEIN	ABBILDUNG 16: PLATTENDESIGN FÜR 3T3-L1, RNA.....	23
ABBILDUNG 17: VORGEHEN EINES WESTERN BLOTS: PROTEINTRANSFER VON GEL AUF MEMBRAN UND ANSCHLIESSENDE VISUALISIERUNG		24
ABBILDUNG 18: BILDER DER C2C12-ZELLKULTUREN		26
ABBILDUNG 19: BILDER DER 3T3-L1-ZELLKULTUREN.....		28
ABBILDUNG 20: NUMMERIERUNGSSHEMA DER PROTEIN-PROBEN DER 3T2-L1- (LINKS) UND DER C2C12- ZELLKULTUREN (RECHTS).....		30
ABBILDUNG 21: WESTERN BLOT-BOX.....		33
ABBILDUNG 22: PROTEINEXPRESSION VON AKT IM VERHÄLTNIS ZU GAPDH DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN FETTZELLEN.....		42
ABBILDUNG 23: WESTERN BLOT-BANDEN, PROTEINEXPRESSION FETTZELLEN – AKT		42
ABBILDUNG 24: PROTEINEXPRESSION VON GLUT4 IM VERHÄLTNIS ZU GAPDH DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN FETTZELLEN.....		43
ABBILDUNG 25: WESTERN BLOT-BANDEN, PROTEINEXPRESSION FETTZELLEN – GLUT4.....		43
ABBILDUNG 26: PROTEINEXPRESSION VON AKT IM VERHÄLTNIS ZU GAPDH DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN MUSKELZELLEN		44
ABBILDUNG 27: WESTERN BLOT-BANDEN, PROTEINEXPRESSION MUSKELZELLEN – AKT		44
ABBILDUNG 28: PROTEINEXPRESSION VON GLUT4 IM VERHÄLTNIS ZU GAPDH DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN MUSKELZELLEN		45
ABBILDUNG 29: WESTERN BLOT-BANDEN, PROTEINEXPRESSION MUSKELZELLEN – GLUT4.....		45
ABBILDUNG 30: RELATIVE GENEXPRESSION VON GLUT4 DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN FETTZELLEN		48
ABBILDUNG 31: RELATIVE GENEXPRESSION VON PPAR- γ DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN FETTZELLEN		49
ABBILDUNG 32: RELATIVE GENEXPRESSION VON PGC-1A DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN FETTZELLEN		49
ABBILDUNG 33: RELATIVE GENEXPRESSION VON GLUT4 DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN MUSKELZELLEN		50
ABBILDUNG 34: RELATIVE GENEXPRESSION VON PPAR- γ DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN MUSKELZELLEN		51
ABBILDUNG 35: RELATIVE GENEXPRESSION VON PGC-1A DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN MUSKELZELLEN		52
ABBILDUNG 36: FOTO DER PLATTE DES BCA-ASSAYS.....		82

1 Vorwort

1.1 Persönliche Motivation

Das Thema Diabetes-Typ-2 liegt mir aus persönlichem Grund besonders am Herzen, da beide meiner Grosseltern an dieser Erkrankung leiden. Somit habe ich sowohl die Auswirkungen von Diabetes hautnah miterlebt als auch die Probleme und Umstände, welche die ständigen Insulininjektionen mit sich bringen. Ich durfte auch erfahren, wie wichtig eine gesunde Ernährung und Lebensweise für das Wohlbefinden der Betroffenen ist. Diese Erfahrungen haben in mir den Wunsch geweckt, das Themengebiet zu erkunden und Möglichkeiten zu finden, wie der Krankheitsverlauf durch die optimale Ernährung positiv beeinflusst werden kann.

Ausserdem habe ich ein grosses Interesse an medizinischen Themen und möchte mit meiner Maturitätsarbeit ein tieferes Verständnis für die Mechanismen hinter der Erkrankung und der Rolle der Ernährung bei Diabetes mellitus Typ 2 erlangen. Mit dem erarbeiteten Wissen und den Ergebnissen der durchgeführten Experimente möchte ich nicht nur meiner Familie, sondern auch anderen Betroffenen wertvolle Einsichten vermitteln.

1.2 Gesellschaftliche Relevanz

Diabetes Typ II wird oft als Volkserkrankung betitelt. Es handelt sich um eine schwerwiegende chronische Stoffwechselerkrankung, die von einem erhöhten Blutzuckerspiegel geprägt ist und zu schweren Schäden an Herz, Blutgefässen, Augen, Nerven und Nieren führen kann. Diabetes ist somit eine der Hauptursachen für Erblindungen, Herzinfarkte, Schlaganfälle und Amputationen der unteren Gliedmassen. In den letzten dreissig Jahren hat die Häufigkeit von Typ-2-Diabetes laut der WHO in Ländern aller Einkommensschichten drastisch zugenommen. Weltweit leiden etwa 422 Millionen Menschen an der Krankheit. Um die 1,5 Millionen Todesfälle führen jedes Jahr direkt auf die Diabetes-Erkrankung zurück.¹ Laut dem Bundesamt für Statistik waren 2022 6.9% der Männer und 4% der Frauen ab 15 Jahren in Privathaushalten von der Krankheit betroffen. Ab 65 Jahren liegt die Prozentzahl schon bei 12%.² Doch obschon die Krankheit auch teilweise genetisch bedingt ist, besteht die Möglichkeit, ihr mit einem gesunden Lebensstil, viel Bewegung und einer ausgewogenen Ernährung vorzubeugen. Ich finde es wichtig, auf die Krankheit aufmerksam zu machen und die Leute darüber zu informieren, wie sie ihre Gesundheit bis zu einem gewissen Grad selbst in der Hand haben.

¹ WHO (2023): Diabetes. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> (19.09.2024)

² Bundesamt für Statistik (2023): Diabetes.

<https://www.bfs.admin.ch/bfs/de/home/statistiken/gesundheit/gesundheitszustand/krankheiten/diabetes.html> (19.09.2024)

2 Einleitung

2.1 Die Entstehung von Diabetes Mellitus Typ 2

³ Bei gesunden Menschen bleibt der Blutzucker stets unter einer bestimmten Schwelle, da er durch das körpereigene Insulin aus dem Blut in die Zellen transportiert wird. Bei Diabetikern steigt der Blutzuckerspiegel jedoch rapid, da grössere Zuckermengen nicht schnell genug verarbeitet werden können. Bei der Überschreitung der Nierenschwelle von 160- 180 mg/dl Glukose im Blut wird Zucker im Urin ausgeschieden. Daher kommt auch der Begriff «Diabetes mellitus», welcher ursprünglich aus dem Griechischen und dem Lateinischen stammt und «honigsüßer Durchfluss» bedeutet. Diabetes war also schon in der Antike bekannt. Die Ärzte testeten damals, ob der Urin süsslich schmeckte und stellten so die Diagnose fest. Heutzutage ist die Diagnostik fortgeschrittener. Der übermässige Harnfluss kann jedoch noch immer ein Symptom sein, wodurch Diabetiker viel Wasser und Mineralien verlieren. Erste Anzeichen für die deutliche Überzuckerung sind vermehrtes Wasserlassen und dadurch bedingter Durst, Müdigkeit und Abgeschlagenheit.

Das Insulin ist ein Peptidhormon und wird in den Beta-Zellen in den Langerhans-Inseln, kleinen Zellansammlungen in der Bauchspeicheldrüse (*Pankreas*), hergestellt (Abb. 1). Neben den Betazellen befinden sich auch die Alphazellen. Diese produzieren das Hormon Glukagon. Die Bauchspeicheldrüse ist ein Organ und produziert täglich 0.5 – 1.5 Liter «Bauchspeichel», Insulin und andere Hormone wie das Glukagon. Der Bauchspeichel ist von grosser Bedeutung für die Fettverdauung, Aufspaltung der Kohlenhydrate und die Aufbereitung von Eiweiss. Das Insulinmolekül ist ein Eiweiss bestehend aus zwei Aminosäureketten.⁴ Es ist essenziell im Stoffwechsel und treibt den Transport von Glukose in die Zellen, insbesondere die Fett- und Muskelzellen voran. Gleichzeitig vermindert es den Abbau von Stärke zu Glukose in der Leber. Insulin gewährleistet somit einen Aufbau von Energiereserven und verhindert den Abbau.⁵ Es sorgt hauptsächlich dafür, dass die Zellen Zucker aufnehmen und verbrennen können. Dieser ist im Gewebe grundlegend, um Energie für die Funktionsfähigkeit der Organe bereitzustellen. Unter anderem fördert Insulin die Rückresorption von Natrium in die Niere und hat einen Einfluss auf den Eiweiss- und Fettstoffwechsel.⁶

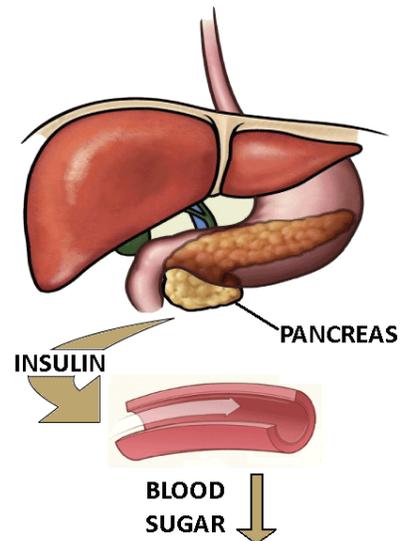


ABBILDUNG 1: INSULINPRODUKTION IN DEN BETA-ZELLEN DER LANGERHANS-INSELN DER BAUCHSPEICHELDRÜSE UND FREISETZUNG IN DIE BLUTGEFÄSSE ZUR REGULATION DES BLUTZUCKERSPIEGELS

Quelle: Maki, Giovanni und NHLBI (2009): Pancreasactiononbloodsugars.gif. <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8d/Pancreasactiononbloodsugars.gif?20091106131138> (29.03.2025). Lizenz: CC-BY-SA-3.0

³ Schmiedel, Volker (2022): TYP-2-DIABETES Heilung ist möglich. 4. Auflage, TRIAS, Stuttgart

⁴ Schmeisl, Gerhard W. (2019): Schulungsbuch Diabetes. 9. Auflage, ELSEVIER, München

⁵ Schmiedel (2022)

⁶ Schmeisl (2019)

⁷Die Ursache einer Typ-2-Diabetes-Erkrankung liegt entweder bei einer angeborenen oder einer erworbenen verminderten Insulinempfindlichkeit. Dieser Zustand wird Insulinresistenz genannt und bezeichnet eine reduzierte Fähigkeit der Körperzellen, auf das Insulin zu reagieren.

Auf diese Weise können sie den Zucker aus dem Blut nicht mehr aufnehmen, was, wie oben beschrieben, zum hohen Blutzuckerspiegel führen kann.

Die Insulinresistenz resultiert aus der Überernährung mit der folgenden Adipositas (starkes Übergewicht), welche zu einem vermehrten Glukoseangebot im Körper führt. Mangelnde Bewegung hat zur Folge, dass die aufgenommene Energie nicht verbraucht werden kann, sondern in Form von Fett im Körper gespeichert wird. Es müssen somit hohe Mengen an Insulin produziert werden, welche einerseits durch die immer weiter zunehmenden Insulinresistenz und andererseits durch das Glukoseüberangebot bedingt sind.

⁸Im Anfangsstadium haben Diabetiker also einen Insulinüberschuss. Es ist in grösseren Mengen vorhanden als bei einer stoffwechselgesunden Person, doch zu wenig, um den Zuckergehalt im Blut auf einem normalen Niveau zu halten. Das Insulin verliert seine Wirkung, was zur Insulinresistenz führt. Es entwickelt sich ein absoluter Insulinüberschuss bei einem relativen Insulinmangel.

⁹Die Bauchspeicheldrüse muss daher verstärkt arbeiten, was auf Dauer zur Erschöpfung der Betazellen führt. Wenn diese weniger Insulin produzieren können und die Körperzellen immer noch zu wenig sensitiv auf das Insulin reagieren, verstärkt sich so der Effekt des zu hohen Blutzuckerspiegels.

Es kann zusätzlich zusammen mit den zuvor genannten Faktoren eine genetische Veranlagung vorliegen, welche den Effekt verstärkt. Schliesslich kommt es mit der Zeit zu einem Betazellversagen. Es wird kaum beziehungsweise kein Insulin mehr produziert.

Die Krankheit entsteht mit einer Verzögerung von ungefähr 5 – 10 Jahren aus dem metabolischen Syndrom.

Das metabolisch-vaskuläre Syndrom umfasst das Eingeweidefett, Fettstoffwechselstörungen, Bluthochdruck und erhöhten Nüchternblutzucker.

¹⁰Es kann mehrere Jahre lang dauern, bis sich aus der Glukosetoleranzstörung ein manifester Diabetes entwickelt. Die Diagnose erfolgt meist erst nach Jahren bei einer Routineuntersuchung. In der Tabelle 1 ist ein Überblick zu den Blutzuckergrenzwerten. Über den HbA_{1c}-Wert kann man herausfinden, wie hoch der Blutzucker in den letzten zwei bis drei Monaten durchschnittlich war. Er zeigt den Anteil des roten Blutfarbstoffs Hämoglobin in verzuckerter Form an. Der Blutzucker verbindet sich bei einer zu hohen Konzentration mit Eiweissen. HbA_{1c} markiert solche Verbindungen. Es kann auch vorkommen, dass eine Diabetes-Erkrankung erst durch Spätfolgen wie Sehstörungen, Nervenschäden oder Herzinfarkte erkannt wird.

⁷ Schmeisl (2019)

⁸ Schmiedel (2022)

⁹ Schmeisl (2019)

¹⁰ Schmiedel (2022)

TABELLE 1: NÜCHTERN-, LANGZEIT- UND KURZZEIT-BLUTZUCKERGRENZWERTE IM VERGLEICH: NORMALBEREICH, PRÄDIABETES UND DIABETES

	Normal	Prädiabetes	Diabetes
Blutzucker, nüchtern (mg/dl)	≤ 100	100 – 125	≥ 126
HbA _{1c} (%), Langzeitblutzucker	≤ 5,6	5,7 – 6,4	≥ 6,5
Blutzucker, 2 Stunden nach oraler Aufnahme von 75 g Glukose	≤ 139	140 - 199	≥ 200

Quelle: Riedl, Matthias (2023): HEILEN SIE IHREN DIABETES. 3. Auflage, GRÄFE UND UNZER, München

¹¹ Die Entstehung des Diabetes-Typ-2 unterscheidet sich gänzlich von der des Diabetes-Typ-1. Letzterer ist eine Autoimmunerkrankung, bei der das Immunsystem Antikörper gegen körpereigene Stoffe produziert. Dabei werden die Langerhans-Inselzellen zerstört, was eine Insulinproduktion unmöglich macht. Es kommt zu einem absoluten Insulinmangel. Die Insulinspritzen sind somit für Diabetiker des Typ 1 unentbehrlich. Auch bei dieser Erkrankung kann von einer gesunden Ernährung profitiert werden, meine Arbeit widmet sich jedoch hauptsächlich dem Typ-2-Diabetes.

2.2 Die wichtigsten Risikofaktoren

Die Diabetes-Erkrankung entwickelt sich durch eine Wechselwirkung zwischen mehreren Lebensstil-, Krankheits-, erblichen, psychosozialen und demografischen Risikofaktoren. Es folgt ein kurzer Überblick zu den wichtigsten Risikofaktoren.

Diabetes selbst ist nicht vererbbar, die Veranlagung einen Diabetes zu entwickeln hingegen schon. Eine Studie ergab, dass eine familiäre Vorbelastung für Diabetes bei Verwandten ersten Grades auch ohne vorliegende Fettleibigkeit ein gravierender und unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten eines Prädiabetes bei Kindern und Jugendlichen ist.¹²

Auch die ethnische Zugehörigkeit kann das Risiko für die Entwicklung einer Typ-2-Diabetes-Erkrankung beeinflussen. Die Studie von Iris Shai zeigte, dass Asiaten, Hispanoamerikaner und Schwarze verglichen mit Weissen ein höheres Risiko für einen Diabetes mellitus Typ 2 haben. Eine mögliche Erklärung könnte der Zusammenhang zwischen BMI und Körperfett sein.¹³

¹¹ Schmiedel (2022)

¹² Rodríguez-Moran, Martha et al. (2010): Obesity and family history of diabetes as risk factors of impaired fasting glucose: implications for the early detection of prediabetes. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19895410/> (20.09.2024)

¹³ Shai, Iris et al. (2006): Ethnicity, obesity, and risk of type 2 diabetes in women: a 20-year follow-up study. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16801583/> (20.09.2024)

Unterschiede in der ethnisch bedingten Insulinempfindlichkeit könnten einen weiteren Grund darstellen. Studien haben ergeben, dass Asiaten, Schwarze und mexikanische Amerikaner im Gegensatz zu nicht-hispanischen Weissen eine geringere Insulinempfindlichkeit aufweisen.^{14, 15}

Ein weiterer Faktor ist die Alterung. Dank der neusten Medizin werden die Menschen immer älter. Mit dem fortschreitenden Lebensalter nehmen jedoch chronische Entzündungen zu, was zur Insulinresistenz führen kann. Auch das Risiko, ein metabolisches Syndrom und chronische Krankheiten wie Typ-2-Diabetes zu entwickeln, nimmt zu.¹⁶

¹⁷Körperliche Inaktivität verringert die Insulinempfindlichkeit und kann einen zunehmenden Verlust von Betazellen verursachen. Dies führt zur Glukosetoleranzstörung und schliesslich zur Diabetes-Erkrankung. Die körperliche Inaktivität wurde bisher noch nicht als unabhängiger Risikofaktor für Diabetes erforscht, sie kann jedoch zur Fettleibigkeit führen.

¹⁸ Um einen gesunden Lebensstandard zu erlangen, sollte sich der Mensch im Bereich des Normalgewichts bewegen. Übergewicht stellt den Hauptfaktor für eine Typ-2-Diabetes-Erkrankung dar. Ein erhöhter Fettanteil im Körper begünstigt die Insulinresistenz und fördert dabei die Entstehung

Android and Gynoid Body Fat Distribution

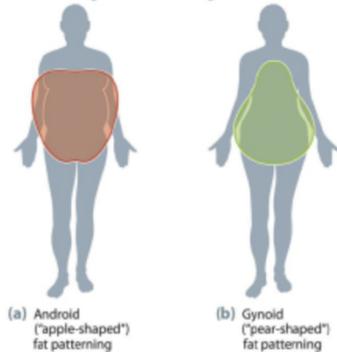


ABBILDUNG 2: ANDROIDE (LINKS) UND GYNOIDE (RECHTS) TYPEN BEZÜGLICH FETTVERTEILUNGSMUSTER

Quelle: RESILIENT HUMAN (2022): Types off at, and the role it plays in our health. <https://www.resilienthuman.co.uk/post/types-of-fat-and-the-role-it-plays-in-our-health> (20.09.2024)

Lipoproteinen niedriger Dichte (LDL) und erniedrigte Werte von Lipoproteinen hoher Dichte (HDL)

einer Diabetes-Erkrankung. Personen mit einem BMI zwischen 25 und 30 im Alter von 20 Jahren haben bereits ein auf 400% erhöhtes Risiko einen Typ-2-Diabetes zu entwickeln. Das Fettverteilungsmuster spielt ebenfalls eine wichtige Rolle. Es gibt den androiden (männlichen) und gynoiden (weiblichen) Typen, welche in der Abbildung 2 bildlich veranschaulicht werden.

Der androide Typ neigt dazu, das Fett um den Bauch zu lagern, während der gynoid Typ das Fett an den Hüften speichert. Das Risiko eine Diabetes-Erkrankung zu entwickeln ist bei einer androiden Adipositas höher.¹⁹

Ein weiterer Risikofaktor könnte die Dyslipidämie sein, wie eine Studie mit Frauen und Männern aus China zeigte. Dies ist ein anormaler Gehalt an Lipiden (Fette) wie Triglycerid und Cholesterin. Erhöhte Werte von

¹⁴ Torrén, Javier I et al. (2004): Ethnic differences in insulin sensitivity and beta-cell function in premenopausal or early perimenopausal women without diabetes: the Study of Women's Health Across the Nation (SWAN). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14747213/> (20.09.2024)

¹⁵ Haffner, SM et al. (1996): Increased insulin resistance and insulin secretion in nondiabetic African-Americans and Hispanics compared with non-Hispanic whites. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8635647/> (20.09.2024)

¹⁶ Sarkar, Devanand (2004): Human polynucleotide phosphorylase (hPNPaseold-35): a potential link between aging and inflammation. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15492272/> (20.09.2024)

¹⁷ Ismail, Leila et al. (2021): Association of risk factors with type 2 diabetes: A systematic review. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8050730/> (20.11.2024)

¹⁸ Schmiedel (2022)

¹⁹ Peterson, Mark D. et al. (2015): <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4506315/> (20.09.2024)

führen zu einem Funktionsverlust der Betazellen, welcher die Insulinproduktion reduziert und somit zu einem Typ-2-Diabetes führen kann.²⁰

²¹Des Weiteren können eine erhöhte Herzfrequenz und Herz-Kreislauf-Erkrankungen zu einem Bluthochdruck in den Arterien führen. Diese Umstände verringern die Glukoseaufnahme des Körpers und führen letzten Endes zur Insulinresistenz. Somit besteht für Herzerkrankte ein höheres Risiko, eine Typ-2-Diabetes-Erkrankung zu entwickeln.

²²Es besteht auch ein Zusammenhang zwischen Depressionen und der Typ-2-Diabetes-Erkrankung, welcher sich bei Frauen und Männern unterscheidet. Depressionen an sich sind kein Risikofaktor, sondern die depressionsbedingten Aktivitäten wie der Bewegungsmangel, schlechte Ernährung und Übergewicht.

²³Stress ist auch ein wichtiger Faktor, welcher nicht zu unterschätzen ist. Bei permanentem Stress produziert der Körper mehr Cortisol. Die vermehrte Ausschüttung dieses Hormons führt dazu, dass der Körper weniger Glukose aufnimmt, mehr Zucker produziert und weniger Insulin bildet. Diese Umstände fördern die Entstehung von Diabetes Typ 2.

Ein ähnlicher Effekt ist bei Rauchern zu sehen, welche eine 30-40% höhere Wahrscheinlichkeit haben, an Diabetes mellitus Typ 2 zu erkranken.²⁴ Beim Rauchen steigt der Nikotinspiegel, was zu einer geringeren Glukoseaufnahme in den Muskelzellen führt und eine Insulinresistenz verursachen kann.²⁵

2.3 Behandlungsmethoden

2.3.1 Die Ernährung

²⁶Um den Blutzuckerspiegel wieder in den Griff zu bekommen, müssen Diabetiker eine Diät halten. Eine moderne Therapie umfasst daher eine ausgewogene Ernährung. Diese wird idealerweise nach den individuellen Bedürfnissen mit Rücksicht auf Grösse, Gewicht, Alter, Geschlecht und körperliche Aktivität, Langzeitblutzucker (HbA_{1c}), regelmässige Blutdruckmessungen, Überprüfung der Blutfettwerte und Prävention von Spätkomplikationen mit einer Fachperson zusammengestellt. Bei einem Übergewicht wirkt sich eine Gewichtsreduktion positiv auf die Senkung des Blutzuckers aus und

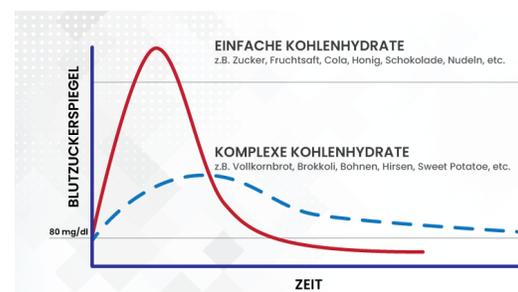


ABBILDUNG 3: BLUTZUCKERSPIEGEL IN ABHÄNGIGKEIT VERSCHIEDENER KOHLENHYDRATE

Quelle: Blättler, Martin (2024): Führt Zucker zu Übergewicht? <https://gymperformance.ch/wp-content/uploads/2018/11/Auswirkung-von-Zucker-auf-Blutzuckerspiegel.png> (21.09.2024)

²⁰ Zheng, Tianpeng (2012): Relationship between blood lipid profiles and pancreatic β cell function in Chinese men and women with normal glucose tolerance: a cross-sectional study. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22876749/> (20.09.2024)

²¹ Ismail, Leila (2021): Association of risk factors with type 2 diabetes: A systematic review. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8050730/> (20.09.2024)

²² Yu, Min et al. (2015): Depression and Risk for Diabetes: A Meta-Analysis. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25773933/> (20.09.2024)

²³ Sharma, Vivek Kumar und Singh, Thakur Gurjeet (2020): Chronic Stress and Diabetes Mellitus: Interwoven Pathologies. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31713487/> (27.09.2024)

²⁴ U.S. Department of Health & Human Services (2023): Smoking and Diabetes. <https://www.cdc.gov/tobacco/campaign/tips/diseases/diabetes.html> (21.09.2024)

²⁵ Bajaj, Mandeep (2012): Nicotine and insulin resistance: when the smoke clears. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23172960/> (21.09.2024)

²⁶ Schweizerische Gesellschaft für Ernährung (2015): Ernährung und Diabetes mellitus Typ 2, Wissen, was essen. Bern

führt somit zu einer besseren Wirksamkeit des Insulins. Auch der Rhythmus der Mahlzeiten sollte den individuellen Bedürfnissen und dem Blutzuckerspiegel entsprechen.

²⁷Eine häufig empfohlene Diät ist die Glyx-Diät, um eine Gewichtsreduktion zu erzielen.

Kohlenhydrate führen zu einem Anstieg des Blutzuckerspiegels, da sie im Körper zu Glukose abgebaut werden. Sie werden in Einfachzucker wie Fruchtzucker (*Fruktose*) oder Traubenzucker (*Glukose*), Mehrfachzucker wie Haushaltszucker (*Fruktose und Glukose*) und komplexe Kohlenhydrate (*Stärke in Mehl, Nudeln, Reis*) eingeteilt. Nach dem Verzehr von einfachen Kohlenhydraten kommt es zu einem sehr raschen Anstieg des Blutzuckerspiegels (Abb. 3). Die Bauchspeicheldrüse schüttet daraufhin sehr viel Insulin aus, mehr als tatsächlich nötig ist. Daraufhin kommt es reaktiv zu einer Unterzuckerung und man hat wieder Hunger. Bei komplexen Kohlenhydraten fällt die reaktive Unterzuckerung sehr moderat aus oder entfällt vollständig. Ballaststoffe verzögern die Verdauung, da sie die von Verdauungsenzymen nur schwer und langsam aufgeschlossen werden können. Somit kommt es nur zu einem minimalen Blutzuckeranstieg und keiner Unterzuckerung.

Der glykämische Index (Glyx) heisst wörtlich übersetzt «Anzeiger von Zucker im Blut». Der Glyx von reinem Traubenzucker entspricht dem willkürlichen Wert von 100. Alle anderen Nahrungsmittelsubstanzen werden damit verglichen und bewertet. Ein Wert unter 50 wird als günstig angesehen, darüber eher als ungünstig. Bei einer Glyx-Diät ist es jedoch wichtig, sich nicht nur auf die blossen Zahlen zu fixieren, sondern auch den Fettgehalt, Mineralien und Vitamine zu beachten.



ABBILDUNG 4: LEBENSMITTELPYRAMIDE-SCHWEIZ

Quelle: BLV (2024): Die Schweizer Lebensmittelpyramide.

<https://www.blv.admin.ch/blv/de/home/lebensmittel-und-ernaehrung/ernaehrung/empfehlungen-informationen/schweizer-ernaehrungsempfehlungen.html#> (08.02.2025)

Die Schweizerische Gesellschaft für Ernährung empfiehlt, sich bei einem Diabetes mellitus Typ 2 an der Schweizer Lebensmittelpyramide zu orientieren (Abb. 4).

Getränke stehen auf der untersten Stufe der Pyramide, weil sie essenziell sind. Diabetiker sollten ungesüßte Getränke konsumieren.²⁸

Auf der zweiten Stufe sind Gemüse und Früchte. Gemüse enthält eine sehr tiefe Menge an Kohlenhydraten, macht satt und hilft einem regelmässigen Stuhlgang. Dr. med. Volker Schmiedel rät jedoch von zu viel Fruchtzucker ab. Dieser weist nämlich zum einen viele Kalorien auf und macht zum anderen Appetit. Deshalb sollten Diabetiker statt den 5-am-Tag empfohlenen Obstsorten lieber vier Portionen Gemüse und eine

Portion Obst essen.²⁹ Clarissa Flüeler rät aber trotzdem nicht von Früchten ab. Diabetiker sollten Früchte mit einem niedrigeren glykämischen Index konsumieren. Sie rät auch dazu, Früchte beispielsweise in Kombination mit einem zuckerfreien und proteinhaltigen Joghurt zu essen, welcher den Blutzucker nicht so stark in die Höhe steigen lässt.³⁰

²⁷ Schmiedel (2022)

²⁸ Flüeler (2024)

²⁹ Schmiedel (2022)

³⁰ Flüeler (2024)

Auf der nächsten Stufe befinden sich die Getreideprodukte, Kartoffeln und Hülsenfrüchte. Diabetikern wird empfohlen, Vollkornprodukte zu bevorzugen, da diese mehr Ballaststoffe aufweisen.

Auf der vierten Stufe befinden sich Milchprodukte, Fleisch, Fisch, Eier und Tofu.

³¹Studien zeigen, dass eine erhöhte Aufnahme von Proteinen aus pflanzlichen und tierischen Lebensmitteln zu einem niedrigeren Typ-2-Diabetes-Risiko führen können. Bei pflanzlichen Stoffen ist das möglicherweise auch auf die Ballaststoffe und die sekundären Pflanzenstoffe zurückzuführen. Die Ergebnisse von tierischen Proteinquellen sind jedoch etwas kontrovers. Manche zeigen einen negativen Effekt auf das Diabetesrisiko, während Milchprodukte einen positiven Effekt aufweisen. Milcheiweisse fördern die Insulinfreisetzung stärker. Dennoch rät Volker Schmiedel dazu, nicht zu viel Eiweisse aufzunehmen, da dies eine negative Wirkung aufweist und zu einem erhöhten Blutdruck und einer Hyperglykämie führen kann.³²

Danach kommen die Öle, Fette und Nüsse.

³³Man sollte qualitativ hochwertige und gesunde Fette präferieren und auf den Energiegehalt achten, da ein Gramm Fett mehr als doppelt so viel Kalorien wie ein Gramm Kohlenhydrate oder Eiweiss aufweist. ³⁴Mehrfach ungesättigte Fettsäuren (Omega-3) schnitten in einer Studie im Vergleich zu Kohlenhydraten, gesättigten Fettsäuren (tierischer Ursprung: Fleisch, Milchprodukte etc.) und ungesättigten Fettsäuren (pflanzliche Öle und Fischöl) am vorteilhaftesten ab. Es führte zu einer Verbesserung des Blutzuckers, der Insulinresistenz und Insulinfreisetzungskapazität.

Auf der letzten Stufe ist Süßes, Salziges und Alkoholisches, was in sehr geringem Masse konsumiert werden sollten. Für Diabetiker ist es wichtig, ihren Kohlenhydratgehalt zu beachten. ³⁵Alkohol kann Hypoglykämien (Unterzuckerungen) verursachen, weil der Alkohol die Neubildung von Zucker in der Leber hemmt.

³⁶Viele Ernährungsberater raten dazu, bei einer Diabetes-Erkrankung lieber auf Süsstoffe zu setzen. Die ursprüngliche Absicht dahinter ist es, die Insulinresistenz und die Fettleibigkeit zu reduzieren, da sie deutlich kalorienarmer sind. ³⁷Daten aus neueren Studien zeigen jedoch, dass künstliche Süsstoffe die Zusammensetzung des Mikrobioms verändern und durch Veränderungen in der Darmflora die Blutzuckerkontrolle verschlechtern. Ob künstliche Süsstoffe tatsächlich eine positive Alternative darstellen, ist eine umstrittene Frage und müsste noch genauer erforscht werden.

In dieser Arbeit wird näher auf die Stoffe Epigallocatechingallat (EGCG), Docosahexaensäure (DHA) und Resveratrol eingegangen. Die Substanzen wurden im Rahmen dieser Maturitätsarbeit auch in

³¹ Comerford, Kevin B und Pasin, Gonca (2016): Emerging Evidence for the Importance of Dietary Protein Source on Glucoregulatory Markers and Type 2 Diabetes: Different Effects of Dairy, Meat, Fish, Egg, and Plant Protein Foods. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27455320/> (22.09.2024)

³² Schmiedel (2022)

³³ Schmiedel (2022)

³⁴ Imamura, Fumiaki et al. (2016): Effects of Saturated Fat, Polyunsaturated Fat, Monounsaturated Fat, and Carbohydrate on Glucose-Insulin Homeostasis: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomised Controlled Feeding Trials. <https://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1002087> (21.09.2024)

³⁵ Willms, Berend (2013): Was ein Diabetiker alles wissen muss. 9. Auflage, © Verlag Kirchheim + Co GmbH, Bad Lauterberg im Harz

³⁶ Pearlman, Michelle et al. (2017): The Association Between Artificial Sweeteners and Obesity. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29159583/> (22.09.2024)

³⁷ Suez, Jotham et al. (2022): Personalized microbiome-driven effects of non-nutritive sweeteners on human glucose tolerance. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35987213/> (20.11.2024)

einem Experiment auf ihre Auswirkungen auf die Insulinsensitivität getestet. Zu diesen Nahrungsinhaltsstoffen gibt es bereits einige Studien, welche vielversprechende Hinweise auf eine verbesserte Insulinsensitivität liefern.

20 µM EGCG (ein Grünteeextrakt) hemmen beispielsweise die Spaltung von Stärke um 34%, wodurch sowohl der Blutzucker- als auch der Insulinspiegel im Blut gesenkt wird.³⁸ Ab einer Dosis von 800 mg kann es jedoch zu einem erhöhten Risiko für Leberschäden kommen.³⁹ Deshalb ist in diesem Bereich weitere Forschung notwendig, um eine sichere Anwendung gewährleisten zu können.

Die Ergebnisse von Studien zu DHA (eine mehrfach ungesättigte Fettsäure) sind sehr kontrovers. Eine Studie ergab beispielsweise, dass es bei Westlern zu einer Erhöhung des Diabetesrisikos, bei Asiaten hingegen zu einer Senkung kommt.⁴⁰ Somit gibt es noch grosses Forschungspotential, um die tatsächliche Wirkung von DHA zu erkunden.

Resveratrol (ein Polyphenol) scheint laut einer Studie einen verbesserten Glukosestoffwechsel, Insulintoleranz und Insulinstoffwechsel mit sich zu bringen.⁴¹ Es werden jedoch noch weitere Forschungen benötigt, um ein tieferes Verständnis für die Wirkung von Resveratrol zu erlangen. All diese Substanzen könnten also als natürliche therapeutische Ansätze zur Verbesserung der Insulinsensitivität beitragen. Sie sind jedoch noch nicht klinisch zugelassen. Daher ist es unerlässlich, weitere Forschung zu betreiben und ein Verständnis zu ihren Wirkungsmechanismen, der Dosierung und der Sicherheit zu erhalten. In den folgenden drei Unterkapiteln werden die einzelnen Nahrungsmittelinhalte genauer erläutert.

2.3.1.1 Epigallocatechingallat – ein Grünteeextrakt

⁴²Epigallocatechingallat (EGCG) gehört zu den Catechinen, die zur Gruppe der sekundären Pflanzenstoffe zählen. Es ist ein Carbonsäureester aus Gallussäure und dem Alkohol Epigallocatechin. Etwa ein Drittel der Trockenmasse des Grüntees besteht aus EGCG (Abb. 5). Es kommt vor allem in koffeinhaltigen Teesorten vor, wie im grünen, weissen oder schwarzen Tee. Geringere Mengen finden sich auch in Schalen von Äpfeln, Pflaumen, Zwiebeln, Hasel- und Pekannüssen, Pistazien, Birnen, Kiwis, Himbeeren, Erdbeeren sowie im Fruchtpulver und Mehl aus den Samen des Johannisbrotbaums.⁴³ Catechine weisen ein hohes antioxidatives Potential auf. Somit verlangsamen oder verhindern sie die Oxidationen anderer Stoffe.



ABBILDUNG 5: GRÜNER TEE IN PULVERFORM

Quelle: Verch, Marco (2019): Powder green tea and green tea leaf on white background. https://img.ccnull.de/1035000/preview/1037791_93406e8b75eabf2093771bee66e5f074.jpg (08.02.2025)

³⁸Forester, Sarah C. et al. (2012): Inhibition of starch digestion by the green tea polyphenol, (-)-epigallocatechin-3-gallate. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mnfr.201200206> (21.09.2024)

³⁹Younes, Maged et al. (2018): Scientific opinion on the safety of green tea catechins. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7009618/> (13.10.2024)

⁴⁰Chen, Cai et al. (2017): Association between omega-3 fatty acids consumption and the risk of type 2 diabetes: A meta-analysis of cohort studies. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5497038/> (21.09.2024)

⁴¹Ma, Nan und Zhang, Youzhi (2022): Effects of resveratrol therapy on glucose metabolism, insulin resistance, inflammation, and renal function in the elderly patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled clinical trial protocol. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9371579/> (21.09.2024)

⁴²Lipp, Peter (o.J.): EGCG. https://www.uniklinikum-saarland.de/de/einrichtungen/fachrichtungen/zellbiologie/seminar_zellbiologie_20192020/kaffee_tee_mehr_ist_besser/inhaltsstoffe/egcg#:~:text=Was%20ist%20EGCG%3F,Stoffe%20verlangsamt%20oder%20komplett%20verhindert. (21.09.2024)

⁴³Wikipedia (2024e): Epigallocatechingallat. <https://de.m.wikipedia.org/wiki/Epigallocatechingallat> (21.09.2024)

EGCG wirkt sich in vielen verschiedenen Aspekten positiv auf die Gesundheit aus. Drei solcher Aspekte werden nachfolgend näher beschrieben.

In einer Studie mit Mäusen konnte nachgewiesen werden, dass Grüntee den Blutzuckeranstieg nach einer kohlenhydratreichen Mahlzeit um die Hälfte reduziert.⁴⁴ EGCG hemmt die Spaltung von Stärke, wodurch sowohl der Blutzucker- als auch der Insulinspiegel im Blut gesenkt wird. Auf diese Weise kann sich der Grünteeextrakt positiv auf eine Diabetes-Erkrankung auswirken.

⁴⁵Es konnte bei Grünteeextrakt auch eine positive Wirkung bezüglich des Cholesterinspiegels festgestellt werden. Eine Studie untersuchte den Einfluss von Grünteeextrakt auf die Lipidwerte bei 100 postmenopausalen Frauen mit abnormalen Lipidprofilen. Diese wurden in zwei Gruppen aufgeteilt. Die Hälfte erhielt den Grünteeextrakt, während die andere Gruppe Placebo bekam. Nach vier Wochen konnte bei der Grüntee-Gruppe eine signifikante Reduzierung bei Gesamtcholesterin, LDL und Triglyceriden nachgewiesen werden.

⁴⁶Ausserdem hemmt EGCG die chemische Umwandlung in das Stresshormon Cortisol. Somit entfaltet Grüntee einige gesundheitliche Vorteile, besonders bei der Prävention von Diabetes mellitus Typ 2.

2.3.1.2 Docosahexaensäure – Omega-3-Fettsäure

⁴⁷Docosahexaensäure (DHA) ist eine mehrfach ungesättigte Fettsäure und gehört somit zu den Omega-3-Fettsäuren (Abb. 6). Sie wird vor allem in die Zellmembranen von zerebralen Nervenzellen und Photorezeptoren im Auge integriert. DHA macht einen Anteil von 97% der Omega-3-Fettsäuren des Gehirns und bis zu 93% der Netzhaut aus.

⁴⁸Sie ist in fettem Fisch (Lachs, Thunfisch, Makrele) und Muttermilch enthalten.

⁴⁹DHA kann die Triglyceride im Blut senken, Thrombosen verringern und Herzrhythmusstörungen verhindern. Diabetikern des Typ 2 wird oft eine fettarme Ernährung mit hohem Kohlenhydratanteil geraten. Dies führt jedoch zu einer Erhöhung der Triglyceridwerten und kann somit den Schweregrad der Erkrankung steigern.

⁵⁰Die epidemiologischen Beweise für den Einfluss von Omega-3-Fettsäuren auf das Typ-2-Diabetes-Risiko sind jedoch umstritten. Die Schlussfolgerungen einer Studie weisen darauf hin, dass die Dosierung und Zusammensetzung von Omega-3, die ethnische



ABBILDUNG 6: FISCHÖL-KAPSELN

Quelle: Verch, Marco (2018): OMEGA 3 geschrieben mit Fischöl-Kapseln die gesunde Fettsäuren enthalten. https://img.ccnul.de/1030000/preview/1030695_d142d845f1d54aaf2a18b513033d51cb.jpg (08.02.2025)

⁴⁴ Forester et al. (2012)

⁴⁵ Tadayon, Mitra et al. (2018): Impact of green tea extract on serum lipid of postmenopausal women: A randomized controlled trial.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2225411017300925#:~:text=Women%20in%20the%20GTE%20group,compared%20with%20the%20control%20group.> (21.09.2024)

⁴⁶ Hintzpeter, Jan et al. (2014): Green Tea and One of Its Constituents, Epigallocatechine-3-gallate, Are Potent Inhibitors of Human 11 β -hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3880318/> (21.09.2024)

⁴⁷ Franchetti, Léo et al. (2024): Docosahexaensäure. <https://flexikon.doccheck.com/de/Docosahexaensäure> (21.09.2024)

⁴⁸ Horrocks, LA und Yeo, YK (1999): Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA).

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10479465/> (21.09.2024)

⁴⁹ Horrocks und Yeo (1999)

⁵⁰ Chen et al. (2017)

Herkunft und das Alter eine Rolle in der Entwicklung von Typ-2-Diabetes spielen. So kann der Konsum von einzelnen Omega-3-Fettsäuren das Risiko für Typ-2-Diabetes erhöhen. Gemischte Omega-3-Fettsäuren zeigten jedoch keinen signifikanten Einfluss.

2.3.1.3 Resveratrol – ein Polyphenol

⁵¹Resveratrol ist eine organische Verbindung aus der Gruppe der Polyphenole mit der Summenformel $C_{14}H_{12}O_3$. Es gehört zu den Phytoalexinen mit antioxidativen Eigenschaften. Resveratrol ist ein weisser Feststoff, welcher in Ölen, Alkohol und in Wasser löslich ist.

⁵²In Pflanzen wird es unter dem katalytischen Einfluss des Enzyms Stilbensynthase hergestellt, wenn diese durch ionisierende Strahlung oder Infektionskrankheiten geschädigt werden.

Trauben und Wein stellen die Hauptquellen dar und decken etwa 98% der täglichen Resveratrol-Aufnahme. Es sind auch Spuren in Erdnüssen, Soja und Beeren vorhanden (Abb. 7).⁵³

⁵⁴Resveratrol hat unter anderem entzündungshemmende, antioxidative und herzscheidende Eigenschaften. Es kann sich positiv auf Entzündungen, Nierenfunktion, Blutzuckerparameter, Insulinresistenz und Nährstoff-Sensorsysteme bei älteren Diabetikern des Typ 2 auswirken. Dies wurde bei einer Studie festgestellt, welche einen verbesserten Glukosestoffwechsel, Insulintoleranz und Insulinstoffwechsel mit einer Resveratrolbehandlung erzielte. Das Antioxidans reduzierte auch die Symptome von Typ-2-Diabetes durch eine Stärkung der Nährstoff-Sensorsysteme. Es zeigte zudem entzündungshemmende Eigenschaften, indem es proinflammatorische Zytokine wie HbA_{1c} , Interleukin-6, $TNF-\alpha$ und $IL-1\beta$ senkte. Diese Stoffe sind bei Typ-2-Diabetes oft erhöht und können zu Komplikationen führen. Unter anderem verbesserte es das Lipidprofil (Cholesterin, LDL, HDL, Triglyceride). Somit schützt Resveratrol die Nierenfunktion und könnte ein potenzielles Therapeutikum zur Behandlung von älteren Patienten mit einer Typ-2-Diabetes-Erkrankung sein.

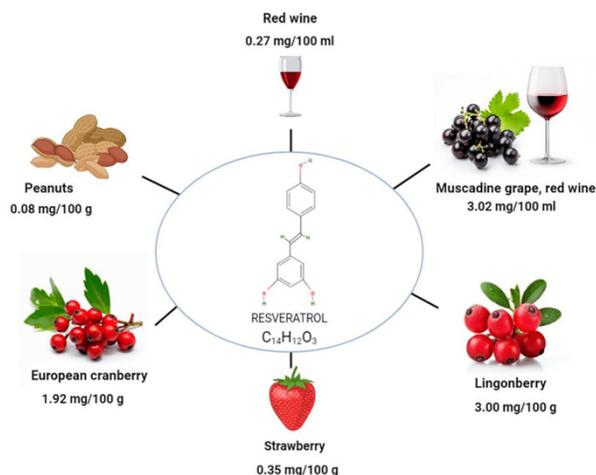


ABBILDUNG 7: RESVERATROL STRUKTURFORMEL UND QUELLEN MIT ENTHALTENER MENGE

Quelle: Prakash, Vidhya et al. (2024): Resveratrol as a Promising Nutraceutical: Implications in Gut Microbiota Modulation, Inflammatory Disorders, and Colorectal Cancer. <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/6/3370> (21.09.2024)

2.3.2 Körperliche Aktivität

⁵⁵Körperliche Bewegung ist gravierend bei der Prävention und der Kontrolle von Insulinresistenz, Prädiabetes, Schwangerschaftsdiabetes, Typ-2-Diabetes und diabetesbedingten Gesundheitsproblemen. Ausdauer- und Krafttraining haben einen positiven Einfluss auf die Insulinwirkung, die Regulierung des Blutzuckerspiegels, die Lipide, den Blutdruck, das kardiovaskuläre Risiko, die Sterblichkeit und die Lebensqualität. Bei Hochrisikogruppen konnte das Diabetesrisiko durch körperliche Aktivität,

⁵¹ Wikipedia (2024o): Resveratrol. https://de.wikipedia.org/wiki/Resveratrol#cite_note-Sales2014rev-7 (21.09.2024)

⁵² Pastor, Raúl Francisco et al. (2017): Resveratrol, human health and winemaking perspectives. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29206058/> (21.09.2024)

⁵³ Breuss, Johannes M et al. (2019): <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30934670/> (21.09.2024)

⁵⁴ Ma und Zhang (2022)

⁵⁵ Colberg, Sheri R. et al. (2010): Exercise and Type 2 Diabetes. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2992225/> (25.09.2024)

Interventionen und moderaten Gewichtsverlust bis zu 58% gesenkt werden. Es ist jedoch wichtig, verschiedene Trainingsarten miteinzubeziehen und der körperlichen Aktivität regelmässig nachzugehen.

⁵⁶Auf molekularer Ebene kann dies folgendermassen erklärt werden. Zellen arbeiten auch im Ruhezustand, um unseren Körper am Leben zu halten. Muskeln verbrauchen in diesem Zustand viel mehr Energie als Fettzellen. Daher ist es von Vorteil, mehr Muskelzellen zu bilden und Fettzellen abzubauen, wenn man ein tieferes Gewicht anstrebt. Körperliche Bewegung ist also eine gut bewährte Therapie bei einer Typ-2-Diabetes-Erkrankung. Diabetiker sollten nach einem Belastungs-EKG mit einer Fachperson die persönliche Sportintensität besprechen und regelmässig Sport treiben.

2.3.3 Orale Medikamente

⁵⁷Mit dem Lebensstil können Diabetiker ihre Blutzuckerwerte und ihre Insulinwirkung auf positive Weise beeinflussen. Teilweise werden auch Medikamente benötigt. Dr. Med. Matthias Riedl meint jedoch dazu: «Diabetes ist mehr und mehr zu einer Medikamentenschlacht geworden.» Dennoch sind sie wichtig für Diabetiker, welche sie benötigen.

Der Arzneistoff Metformin ist der am meisten verordneten Wirkstoff in Tablettenform. Er verringert die Neubildung von Zucker in der Leber und führt dazu, dass der Darm weniger Zucker aufnimmt. Dies verursacht eine Senkung des Glukosespiegels im Blut. Ausserdem hat Metformin einen positiven Einfluss auf die Gewichtsabnahme und diverse Krankheiten wie Krebs, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Stoffwechselerkrankungen.⁵⁸ Es dämpft auch den Appetit. Diese Kombination erlaubt den Patienten ihr neues Gewicht zu halten.

⁵⁹Sulfonylharnstoffe waren lange das Medikament der ersten Wahl. Sie wirken sich auf das Gleichgewicht von Kalzium und Kalium in den Beta-Zellen aus. So kann die Bauchspeicheldrüse mehr Insulin ausschütten und senkt den Blutzuckerspiegel. Da sie jedoch sehr schnell wirken, sollten sie laut Matthias Riedl nur in Ausnahmefällen verschrieben werden, um Unterzuckerungen zu vermeiden.

In den letzten zehn Jahren wurden neue Wirkstoffe entwickelt, welche eine individuellere Behandlung ermöglichen.

Gliflozine sind Antidiabetika, welche sowohl den Blutzucker stabilisieren als auch das Risiko für Folgeerkrankungen reduzieren.

⁶⁰Sie hemmen den natriumabhängigen Glukosetransporter 2, welcher in den Nieren für ca. 90% der Glukoserückresorption verantwortlich ist. Folglich wird mehr Glukose im Harn ausgeschieden. Somit können Gliflozine die Blutglukosewerte bis zu 30 mg/dl und den HbA_{1c}-Wert um etwa 0.6% senken. Ausserdem können sie zu einer leichten Gewichtsabnahme und einer Blutdrucksenkung führen.

⁶¹Glutide sind Wirkstoffe, welche die Hormone GIP und GLP-1 imitieren. Diese befinden sich in der Darmschleimhaut und den senken den Blutzucker. GLP-1 reguliert die Insulinausschüttung, während GIP die Neubildung von Glukagon hemmt.

⁵⁶ Schmiedel (2022)

⁵⁷ Riedl (2023)

⁵⁸ Nadezda Apostolova et al. (2020): Mechanisms of action of metformin in type 2 diabetes: Effects on mitochondria and leukocyte-endothelium interactions. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32535544/> (26.09.2024)

⁵⁹ Riedl (2023)

⁶⁰ Rauch-Kröhnert, Ursula und Landmesser Ulf (2021): Gliflozine – in Zukunft Kardioprotektiva? <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8260408/> (26.09.2024)

⁶¹ Riedl (2023)

⁶²GLP-1-Rezeptorantagonist ist ein Medikament, welches hauptsächlich injiziert wird, aber in verschiedenen Formen erhältlich ist. Die Medikamente senken den Blutzuckerspiegel, indem sie die Insulinproduktion anregen, die Glukagonneubildung hemmen und die Magenentleerung verlangsamen. Unter anderem begünstigen sie einen Gewichtsverlust und wirken sich positiv auf den Blutdruck und Herz-Kreislauf-Risiken aus. Sie können auch Nierenschäden bei der Diabetes-Erkrankung verhindern.

⁶³Gliptine sind neuartige orale Hypoglykämie-medikamente. Sie gelten als sicher und gewichtsneutral und können kardiovaskuläre Schutzwirkungen haben. Ausserdem fördern sie das Überleben der Beta-Zellen und haben ein geringes Hypoglykämierisiko. ⁶⁴Ihre Wirkung beruht auf der Verzögerung des Abbaus von GLP-1. So erhöhen sie nicht nur den Insulinspiegel, sondern reduzieren auch den Zuckergehalt im Blut.

Trotz der medizinischen Fortschritte sollte die Ernährungstherapie jedoch immer im Zentrum stehen und allenfalls mit modernen Medikamenten kombiniert werden.⁶⁵

2.3.4 Die Insulinbehandlung

⁶⁶Durch eine langjährige Überstimulierung von Insulin wird die Insulinresistenz verstärkt und die Bauchspeicheldrüse erschöpft. In einem fortgeschrittenen Stadium des Typ-2-Diabetes kann kein Insulin mehr produziert werden und der Blutzucker steigt in die Höhe.

In diesen Fällen werden oft Insulintherapien angewendet. Bei Übergewicht ist es jedoch ratsam, so weit wie möglich auf zusätzliche Insulininjektionen verzichten. Sie verlangsamen nämlich die Fettverbrennung und fördern die Einlagerung. Dadurch verfetten sowohl die Leber als auch die Bauchspeicheldrüse weiter.

⁶⁷Eine Insulintherapie sollte daher erst in Fällen von schweren Hyperglykämien (Überzuckerung), die eine Hospitalisierung erfordern und nach dem Versagen anderer Behandlungen hinzugezogen werden. Sie kann auch bei fortgeschrittener chronischer Nierenkrankheit, Leberzirrhose, post-transplantationsbedingtem Diabetes und während der Schwangerschaft in Betracht gezogen werden.

⁶⁸Es gibt eine sogenannte «intensivierte konventionelle Insulintherapie». Diese ist eine Kombination aus Verzögerungsinsulinen und kurzwirksamen Insulinen. Verzögerungsinsuline stellen genügend Insulin über den Tag zur Verfügung. Die kurzwirksamen Insuline verhindern einen zu starken Anstieg des Blutzuckers nach einer Mahlzeit. Ein neues ultraschnelles Insulin («ultra rapid lispro») wurde vor kurzem zugelassen. Es verbessert die Therapie, indem es die Hyperglykämien nach Mahlzeiten besser kontrolliert.⁶⁹ Durch die Kombination dieser zwei Insulinarten kann ein Diabetiker seine Insulininjektionen mit einem Pen oder einer Pumpe flexibel steuern.

⁶² Nauck, Michael A et al. (2020): GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes – state-of-the-art. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33068776/> (26.09.2024)

⁶³ Cahn, Avivit und Raz, Itamar (2013): Emerging gliptins for type 2 diabetes. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23725569/> (26.09.2024)

⁶⁴ Riedl (2023)

⁶⁵ Riedl (2023)

⁶⁶ Schmiedel (2022)

⁶⁷ Galdón Sanz-Pastor, Alba et al. (2024): Current barriers to initiating insulin therapy in individuals with type 2 diabetes. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38559691/> (26.09.2024)

⁶⁸ Schmiedel (2022)

⁶⁹ Philips, JC und Paquot, N (2021): [Ultra-rapid lispro (Lyumjev®)] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33443332/> (26.09.2024)

⁷⁰Bei der Therapie müssen die Betroffenen mehrmals am Tag ihren Blutzucker selbst messen. Normalerweise wird die erste Messung am Morgen nüchtern durchgeführt, die zweite vor der Hauptmalzeit und die letzte am späten Abend.

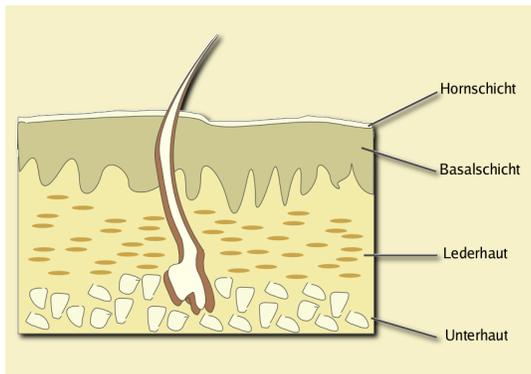


ABBILDUNG 8: GROBE STRUKTUR DER MENSCHLICHEN HAUT

Quelle: Fisch1917 (2004): Haut2pur.
<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/da/Haut2pur.png?20150509151229>
 (09.02.2025). Lizenz: CC-BY-SA-3.0-migrated

Morgens und abends wird eine basale Insulinsekretion durch die Injektionen des Verzögerungsinsulins bereitgestellt. Vor den Mahlzeiten wird dann das kurz wirksame Insulin mit einem Spritz-Ess-Abstand von etwa 15 Minuten injiziert.

⁷¹Pens sind Injektionshilfen, welche durch ihre Form und ihre Funktion an die individuellen Bedürfnisse angepasst sind. Es gibt viele verschiedene Variationen für alle Insulinarten (Kurzzeit-, Langzeit- und Mischinsuline). Die Pen-Nadel muss nach jeder Injektion gewechselt werden. Ihre Länge hängt von der Spritzmethode ab. Die Dicke des Bauchfetts spielt dabei keine Rolle, da das Insulin nur in das Unterhautfettgewebe (Abb. 8) gelangen darf und die Oberhautschicht bei allen Menschen etwa gleich dick ist. Wenn es zu tief gespritzt wird und in die Muskelschicht gelangt, wird das Insulin viel schneller aufgenommen. Dies könnte zu einer Unterzuckerung führen. Die Nadel wird

bei der Injektion entweder senkrecht oder in einem 45 Grad Winkel in eine Hautfalte geführt. Die Injektion muss langsam durchgeführt werden und die Nadel für 10 Sekunden im Unterhautfettgewebe gelassen werden. Langzeitinsuline sollten normalerweise in den Oberschenkel injiziert werden, da dort die Insulinaufnahme langsamer abläuft. Eine Alternative bildet das Gesäss, welche ebenfalls eine langsamere Insulinaufnahme ermöglicht. Kurzzeitinsuline sollten hingegen in den Bauch gespritzt werden, damit sie schnellstmöglich zu den Mahlzeiten wirken können.

⁷²Insulinpumpen (Abb. 9) werden meistens bei Diabetikern des Typ 1 eingesetzt. Es gibt jedoch auch Typ-2-Diabetiker, welche die Pumpe benutzen.

Für die Verwendung wird die erforderliche Insulinmenge anhand der täglichen Insulindosis berechnet. Dabei wird eine Reduktion von 20% als angemessene Dosis für die Pumpentherapie geschätzt. Die Pumpe kann schnell wirkendes Insulin für den Basalbedarf und Mahlzeiten liefern. Ausserdem kann sie Korrekturdosen bei erhöhten Blutzuckerwerten mit dem Insulinempfindlichkeitsfaktor berechnen. Sie berücksichtigt auch die Insulinwirkzeit, um Hyperglykämien und Überdosierungen zu vermeiden.



ABBILDUNG 9: INSULINPUMPE

Quelle: BruceBlaus (2015): Insulin Delivery Devices (bearbeitet: zugeschnitten auf Insulinpumpe).
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/33/Insulin_Delivery_Devices.png?20151105201824

⁷⁰ Antwerpes, Frank et al. (2024a): Intensivierte konventionelle Insulintherapie.
[https://flexikon.doccheck.com/de/Intensivierte_konventionelle_Insulintherapie#:~:text=Die%20intensivierte%20konventionelle%20Insulintherapie%20\(ICT,Insulin%20vor%20den%20Mahlzeiten%20verabreicht.](https://flexikon.doccheck.com/de/Intensivierte_konventionelle_Insulintherapie#:~:text=Die%20intensivierte%20konventionelle%20Insulintherapie%20(ICT,Insulin%20vor%20den%20Mahlzeiten%20verabreicht.) (14.10.2024)

⁷¹ Schmeisl (2019)

⁷² Paldus, Barbora et al. (2018): Insulin pumps in general practice. <https://australianprescriber.tg.org.au/articles/insulin-pumps-in-general-practice.html> (14.10.2024)

Im Messgerät ist eine Insulinpatrone oder ein Reservoir integriert, welches durch einen Schlauch mit einer Kanüle verbunden ist. Die Kanüle liefert dem Patienten das Insulin und ist mit dem Infusionsset am Körper festgeklebt. Die Patienten sollten die Einstichstelle der Kanüle regelmässig wechseln. Zusätzlich zur Insulinpumpe werden oft kontinuierliche Glukosemessgeräte benutzt. Diese können mit einem Sensor unter der Haut den Blutzuckerspiegel messen und alle fünf Minuten die entsprechenden Daten an die Pumpe senden (Abb. 10).

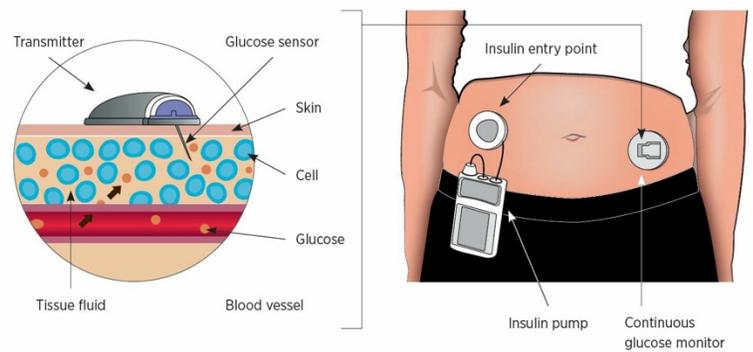


ABBILDUNG 10: FUNKTIONSWEISE DES KONTINUIERLICHES GLUKOSEMESSGERÄT (LINKS) MIT DER INSULINPUMPE (RECHTS)

Quelle: Paldus et al. (2018)

2.4 Die Rolle des Insulins

2.4.1 Der metabolische Insulinsignalweg

⁷³Der Insulinsignalweg ist ein intrazellulärer Signalweg und bildet die Grundlage für den Stoffwechsel des Körpers. Abbildung 11 veranschaulicht den beschriebenen Signalweg bildlich. Diese Arbeit konzentriert sich auf die Wirkung von AKT, GLUT4 und zwei Genen, welche in den Unterkapiteln 2.4.4 *Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor Gamma (PPAR- γ)* und 2.4.5 *PGC-1 α* genauer erläutert werden und auch indirekt im Insulinsignalweg verstrickt sind.

Zuerst binden Insulin und insulinähnliche Wachstumsfaktoren an ihre entsprechenden Rezeptoren auf der Zelloberfläche. Auf diese Weise kann Insulin seine Wirkung übertragen. Daraufhin bindet der Insulinrezeptor an seine direkten Substrate. Die nachfolgende Signalgebung der Insulinrezeptor-Aktivierung besteht aus den metabolischen und den mitogenen Signalen. In der mitogenetischen Reaktion wirkt Insulin als Wachstumsfaktor.

Die metabolische Reaktion wird durch IRS und SH2B2/APS initiiert. Diese zwei Signalwege sorgen dafür, dass der Glukosetransporter Typ 4 (GLUT4) durch die Anpassung von Signalplattformen aus Lipiden, Proteinkinasen, kleinen GTPasen und Adaptorproteinen an der Zelloberfläche zur Zellmembran verlagert werden kann. Nach der Bindung an den Insulinrezeptor werden auch sogenannte IRS-Tyrosinreste phosphoryliert. Dadurch werden nachgeschaltete Effektoren herangezogen, welche die Insulinreaktion verstärken. Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K) enthält eine regulatorische und eine katalytische Untereinheit, welche den Glukosetransport stimuliert. Die regulatorische Untereinheit von Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K) weist eine SH2 Domäne mit einer hohen Affinität für Phospho-Tyrosin der phosphorylierten IRS auf. PTEN (Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten) wird indirekt durch Insulin gehemmt. Zusammen mit der Aktivierung von PI3K führt dies zu einer Akkumulation von Phosphatidylinositol-3,4,5-Triphosphat (PIP3). PIP3 zieht daraufhin Proteine wie die Proteinkinase B/AKT und die phosphoinositidabhängige Kinase 1 (PDK1) an die Plasmamembran. PDK1 phosphoryliert AKT in seinem Aktivierungszyklus, nachdem es an PIP3 gebunden hat. AKT ist in Muskel- und Fettzellen ein Vermittlungsprotein, das die Insulinsignale mit den Effektorproteinen verbindet. Diese steuern daraufhin GLUT4 an die Zelloberfläche, welche wiederum Glukose in die Zelle transportieren. Auf diese Weise erfolgt die Glukoseaufnahme in den Zellen durch den Insulinsignalweg. Der Insulinsignalweg muss immer streng

kontrolliert werden, da jede Abweichung zu Störungen des Stoffwechsels und einer Tumorentstehung führen könnte. Daher muss das Insulinsignal schnell wieder abgeschaltet werden. Dies geschieht durch verschiedene Phosphatasen, Stresskinasen und Adaptorproteine.

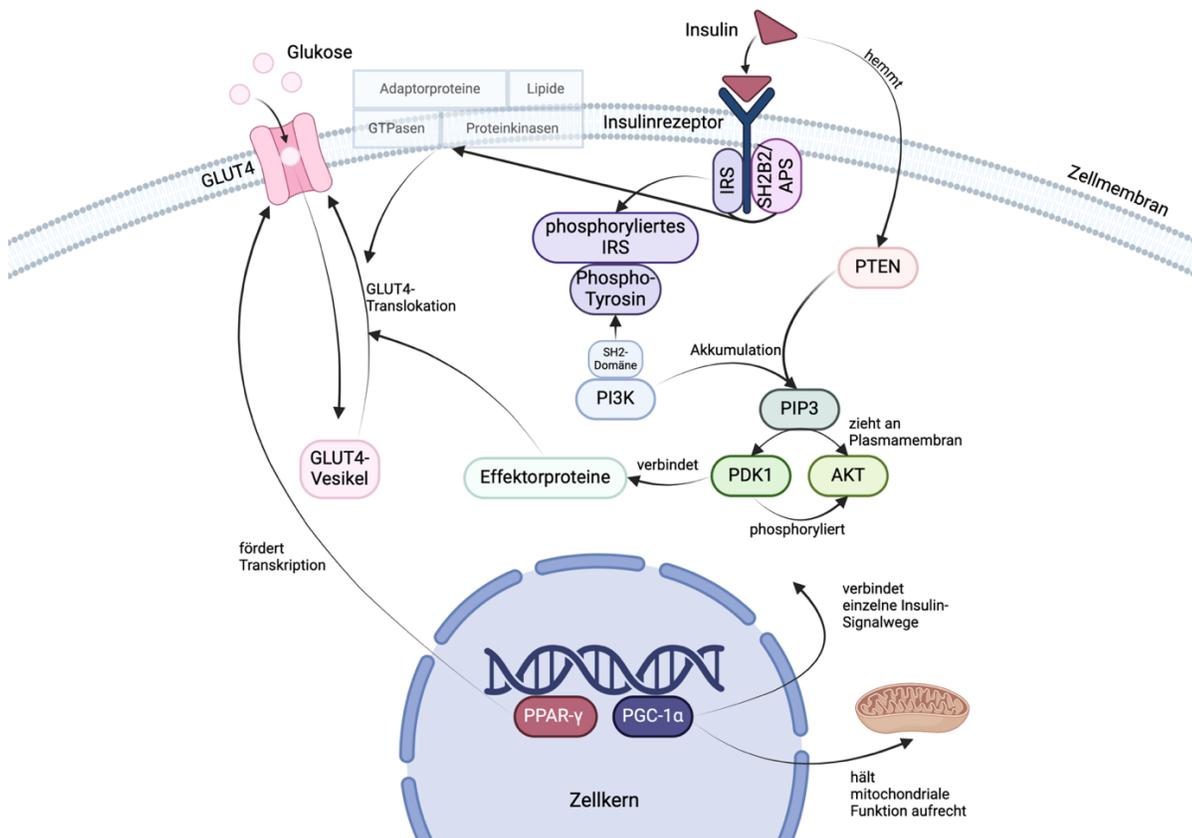


ABBILDUNG 11: METABOLISCHER INSULINSIGNALWEG MIT FOKUS AUF ROLLE VON AKT, GLUT4, PPAR- γ UND PGC-1 α

Quelle: Kunz, Vivien (2024b): Insulinsignalweg. <https://BioRender.com> (22.11.2024)

2.4.2 AKT

⁷⁴AKT und Proteinkinase B (PKB) bezeichnen dieselbe Kinase. Es gibt 3 verschiedene Isoformen, AKT 1 (PKB α), 2 (PKB β) und 3 (PKB γ). Proteinkinase B sind Polypeptide, das heißt sie sind eine Aminosäurekette aus 480 Aminosäuren und werden beinahe in allen Geweben des Körpers gebildet. Sie stammen aus der Untergruppe der Serin/Threonin-Kinase und übertragen Phosphatgruppen auf Proteine. Durch diese Fähigkeit sind sie beteiligt an Signalketten, Wachstum, Proliferation (Vermehrung von Zellen), dem Zellzyklus und der Apoptose (durch Signalwege gesteuerter «Selbstmord» von Zellen).

⁷⁴ Antwerpes, Frank et al. (2022): Proteinkinase B. https://flexikon.doccheck.com/de/Proteinkinase_B (22.09.2024)

⁷⁵AKT ist ein Vermittlungsprotein im Insulinsignalweg, das die Insulinsignale mit den Effektorproteinen verbindet, welche daraufhin GLUT4 an die Zelloberfläche steuern. Es erhöht die intrazelluläre Glukoseaufnahme in den Muskel- und Fettzellen. AKT fördert über den PI3K-AKT-Signalweg auch die Exozytose von GLUT4-Vesikeln. Bei diesem Prozess bewegen sich die GLUT4-Vesikel zur Zellmembran und docken dort an. Anschliessen verschmelzen sie mit der Zellmembran und geben somit ihren Inhalt, darunter auch die GLUT4-Transporter, frei. Diese können somit Glukose aus dem Blut aufnehmen.

Eine Insulinresistenz könnte auf molekularer Ebene durch eine Dephosphorylierung des AKT-Proteins entstehen. Das Protein Tribbles homolog 3 (Trb3) in der Familie der Pseudokinasen, kann an AKT binden, somit seine Aktivierung verhindern und somit die gesamte Insulinsignalisierung hemmen. Das Signalmolekül Inositphosphat IP7 kann wiederum die Verschiebung von AKT an die Zelloberfläche hemmen und so ebenfalls den ganzen Insulinsignalweg abschwächen.

2.4.3 GLUT4

^{76,77}GLUT4 ist ein Glukosetransporter. Er steuert die insulinabhängige Glukoseaufnahme in Skelettmuskel-, Herzmuskel- und Fettzellen.

GLUT4 gehört zur GLUT-Familie der Transmembran-Hexose-Transporter. Sie haben eine hohe Affinität für Glukose und sind vor allem in Muskelzellen und Adipozyten (Fett speichernde Zellen des weissen und braunen Fettgewebes) zu finden. Ohne Insulin befinden sich etwa 5% des gesamten GLUT4 auf der Zellmembran. Nach der Nahrungsaufnahme aktiviert Insulin in der Zelle die Verschiebung von GLUT4 aus intrazellulären Vesikeln zur Plasmamembran. Die Translokation von GLUT4 als Reaktion auf körperliche Aktivität oder Insulin veranlasst eine zehnfache Steigerung der Glukoseaufnahme und stellt den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Insulin-regulierten Glukoseaufnahme dar. Der GLUT4-Transport spielt eine zentrale Rolle bei der Aufrechterhaltung des Gleichgewichts des Blutzuckerspiegels, da es die Zuckerneubildung in der Leber verhindert und die Glukoseaufnahme in Muskel- und Fettzellen fördert. Eine Störung der Insulinwirkung bei der Glukoseaufnahme durch GLUT4, vor allem in den Muskelzellen, führt zur Insulinresistenz.

⁷⁵ Le et al. (2023)

⁷⁶ Antwerpes, Frank et al. (2023): GLUT4.

<https://flexikon.doccheck.com/de/GLUT4#:~:text=GLUT4%20ist%20ein%20Glukosetransporter%2C%20der,Skelettmuskel%20Herzmuskelzellen%20und%20Fettzellen%20reguliert.> (22.09.2024)

⁷⁷ Le et al. (2023)

2.4.4 Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor Gamma (PPAR- γ)

Im Insulinsignalweg sind nicht nur Proteine, sondern auch etliche Gene beteiligt. In dieser Arbeit wird auf die zwei Gene PPAR- γ und PGC-1 α genauer eingegangen.

⁷⁸Peroxisom-Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPARs) werden der Familie der Kernrezeptoren zugeteilt, welche eine DNA-bindende Domäne (Zinkfingerproteine) aufweisen. Mit dieser Domäne können sie definierte DNA-Sequenzen erkennen. PPAR- γ wird hauptsächlich im Fettgewebe exprimiert und induziert Gene, welche die Differenzierung von Fibroblasten (Zellen, die den Hauptbestandteil des Bindegewebes ausmachen) zu Adipozyten regulieren. Ausserdem reguliert es die Transkription von Genen, welche für den intrazellulären Fettsäuretransport und die

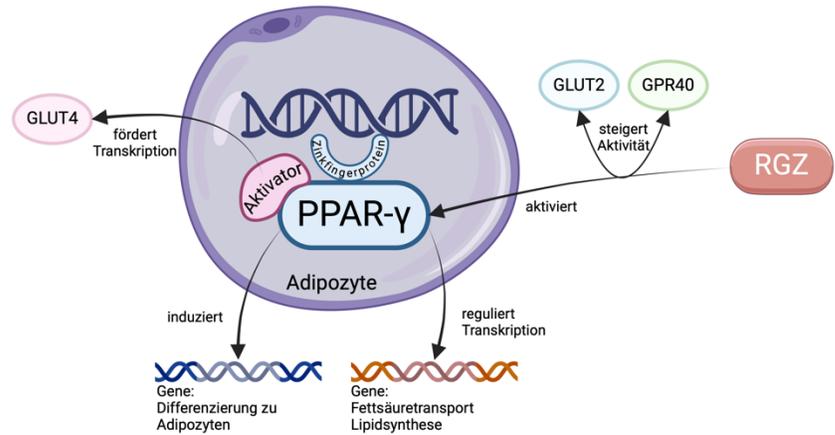


ABBILDUNG 12: PPAR- γ UND SEINE WIRKUNGSMECHANISMEN (LINKS) UND EIN THERAPEUTISCHER ANSATZ MIT RGZ (RECHTS)

Quelle: Kunz, Vivien (2024c): Insulinsignalweg. <https://BioRender.com> (22.11.2024)

Lipidsynthese zuständig sind. Die Aktivatoren von PPAR- γ fördern die Transkription von GLUT4. Auf diese Weise führen sie zu einer Steigerung des Glukoseeinstroms in die Zellen.

Durch das Antidiabetikum Rosiglitazon (RGZ) kann PPAR- γ aktiviert werden und sowohl die Insulinausschüttung als auch die Genexpression in den Betazellen fördern, indem es die Aktivität von GPR40 und GLUT2 steigert (Abb. 12).⁷⁹

Sogenannte Thiazolidindione können in Kombination mit anderen oralen Antidiabetika bei der Typ-2-Diabetes-Therapie eingesetzt werden. Sie führen zu einer Aktivierung von PPAR- γ , wodurch sich die freien Fettsäuren- und Glukosekonzentrationen im Blut senken. Ausserdem werden die Zellen empfindlicher gegenüber Insulin. Die Aktivierung von PPAR- γ führt somit zu einer Verbesserung der Insulinsensitivität im gesamten Körper.

2.4.5 PGC-1 α

^{80, 81}PGC-1 α ist ein transkriptioneller Koaktivator (Proteine, die an Transkriptionsfaktoren binden und die Transkriptionsrate von deren Zielgenen erhöhen), welcher bei der Regulation des Energiestoffwechsels essenziell ist. PGC-1 α erhöht die Expression gewisser Gene durch eine Interaktion mit anderen Transkriptionsfaktoren, die am zellulären Energiestoffwechsel beteiligt sind. Als Koaktivator kann PGC-1 α nämlich nicht direkt an die DNA binden. Er reguliert die Aktivitäten dieser Transkriptionsfaktoren und wirkt somit als molekularer Schalter für diverse zelluläre Prozesse

⁷⁸ Antwerpes, Frank et al. (2024c): Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor.

https://flexikon.doccheck.com/de/Peroxisom-Proliferator-aktivierter_Rezeptor#cite_note-dual-2 (22.09.2024)

⁷⁹ Kim, Hyo-Sup et al. (2013): PPAR- γ activation increases insulin secretion through the up-regulation of the free fatty acid receptor GPR40 in pancreatic beta-cells. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23372643/> (22.09.2024)

⁸⁰ Wu, Haijiang et al. (2016): PGC-1 α , glucose metabolism and type 2 diabetes mellitus.

<https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/229/3/R99.xml> (22.09.2024)

⁸¹ Antwerpes, Frank et al. (2024d): PGC-1 α . [https://flexikon.doccheck.com/de/PGC-1 \$\alpha\$](https://flexikon.doccheck.com/de/PGC-1alpha) (22.09.2024)

wie mitochondriale Biogenese und Atmung, Zuckerneubildung und Glukosetransport, Glykogenolyse (Abbau des Glykogens im Körper) oder Fettsäureoxidation.

Es hat mehrere funktionelle Domänen, welche der Interaktion mit anderen Proteinen und der Kontrolle der Genexpression dienen.

PGC-1 α ist vor allem für die Regulation des Energiestoffwechsels zuständig, indem es die mitochondrialen Funktionen und die oxidative Phosphorylierung (ATP wird unter Verbrauch von Sauerstoff generiert) fördert. Es spielt auch eine Rolle bei der Wärmeerzeugung in braunem Fettgewebe, bei der Regulierung des Glukose- und Lipidstoffwechsel und der Antwort auf den metabolischen Stress.

Eine schlechtere Funktion von PGC-1 α kann zu einer gestörten mitochondrialen Funktion und Energiehomöostase führen, was eine Typ-2-Diabetes-Erkrankung verursachen kann.

⁸²PGC-1 α spielt auch eine Rolle im Insulinsignalweg in Skelettmuskelzellen (Abb. 11). Es dient als Verbindung zwischen den einzelnen Insulinsignalwegen und hält die mitochondriale Funktion aufrecht. Auf diese Weise beeinflusst es die Reaktion der Zellen auf Insulin und optimiert die Funktion der Mitochondrien, damit sie effizienter Energie aus Nährstoffen umwandeln.

PGC-1 α kann durch den Arzneistoff Pioglitazon aktiviert werden und somit die gestörte Insulin-Signalübertragung und die mitochondriale Dysfunktion, welche durch hohe Blutzucker- und Insulinspiegel verursacht wurde, wiederherstellen. Somit stellt PGC-1 α auch ein attraktives Ziel für antidiabetische Therapie dar.

2.5 Fragestellung

Diese Arbeit wird im Rahmen einer Maturitätsarbeit in der Fachschaft Biologie durchgeführt und beschäftigt sich mit folgender Fragestellung:

«Erhöhen drei unterschiedliche Nahrungsbestandteile (Grünteextrakt, Omega-3-Fettsäure und ein Antioxidans) die Insulinsensitivität von Muskel- und Fettzellen?»

Die präzise Fragestellung lautet:

Erhöhen die verschiedenen Nahrungsbestandteile Epigallocatechingallat (EGCG, ein Grünteextrakt), Docosahexaensäure (DHA, eine Omega-3-Fettsäure) und Resveratrol (ein Polyphenol) die Proteinexpression von AKT und GLUT4 und die Genexpression von GLUT4, PPAR- γ und PGC-1 α in Fett-(3T3-L1) und Muskelzellen (C2C12)?

Auf diese Weise kann ermittelt werden, ob sich die Insulinsensitivität in den zwei Zelltypen durch die Einnahme dieser Nahrungsmittelbestandteile verbessert.

Die Insulinsensitivität gibt an, wie gut die Zellen auf das Peptidhormon Insulin reagieren.⁸³

Je höher die Konzentration der entsprechenden Proteine und Genen ist, desto stärker wird die Insulinsensitivität verbessert, sofern diese Akteure den Insulinsignalweg aktivieren. Umgekehrt fördert eine niedrigere Konzentration von hemmenden Proteinen und Genen ebenfalls eine bessere Insulinsensitivität.

Wenn sich die Nahrungsmittelbestandteile positiv auf die Sensitivität auswirken, können sie vorteilhaft in der Diät eines Typ-2-Diabetikers sein, da sie die Wirkung des Insulins verbessern.

⁸² Pagel-Langenickel, Ines et al. (2008): PGC-1 α Integrates Insulin Signaling, Mitochondrial Regulation, and Bioenergetic Function in Skeletal Muscle. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2504883/> (22.09.2024)

⁸³ Nolte, Janica (2024): Insulinsensitivität. <https://flexikon.doccheck.com/de/Insulinsensitivität> (25.09.2024)

2.6 Hypothesen

Im Rahmen meiner Maturitätsarbeit werden die folgenden Hypothesen aufgestellt, welche die Wirkungen von EGCG, DHA und Resveratrol auf die Insulinsensitivität in Muskel- und Fettzellen testen.

2.6.1 Hypothese zu Epigallocatechingallat (EGCG)

Die erste Hypothese legt dar, dass sich EGCG durch eine erhöhte Proteinexpression von AKT und GLUT4 und eine erhöhte Genexpression von GLUT4 und PGC-1 α positiv auf die Insulinsensitivität in Muskel- und Fettzellen auswirkt. EGCG reduziert vermutlich die Genexpression von PPAR- γ und führt somit zu einer reduzierten Differenzierung von den Vorläuferzellen in Adipozyten. So hemmt EGCG die Fettbildung und fördert den Fettabbau. Daher wirkt es sich indirekt positiv auf die Insulinresistenz aus.

⁸⁴In einer Studie konnte beobachtet werden, dass EGCG AKT in insulinresistenten Skelettmuskelzellen (*L6-Zellen*) aktivierte und somit zu einer verbesserten Glukoseaufnahme führte. Ausserdem wurde auch festgestellt, dass EGCG die Translokation von GLUT4 zur Plasmamembran verbesserte. Auf diese Weise verringert EGCG die Insulinresistenz. ⁸⁵Eine andere Studie zeigte, dass EGCG die Genexpression von PGC-1 α in Leberzellen (*HepG2*) und Fettzellen (*3T3-L1*) erhöht. Diejenige von PPAR- γ wird in 3T3-L1-Zellen jedoch laut einer anderen Forschungsarbeit herunterreguliert.⁸⁶

2.6.2 Hypothese zu Docosahexaensäure (DHA)

Die zweite Hypothese besagt, dass sich DHA durch eine erhöhte Proteinexpression von AKT und GLUT4 und eine erhöhte Genexpression von GLUT4, PPAR- γ und PGC-1 α positiv auf die Insulinsensitivität in Muskel- und Fettzellen auswirkt.

⁸⁷Eine Studie, welche die präventive Wirkung von DHA gegen die Insulinresistenz, Lipotoxizität und Entzündungen im Skelettmuskel untersuchte, konnte zeigen, dass DHA die Insulinsensitivität in Muskelzellen fördert. Es unterstützt die Phosphorylierung von AKT und kann somit zu einer verbesserten Glukoseaufnahme in den Zellen führen.

⁸⁸Eine andere Studie konnte zeigen, dass DHA die GLUT4-Translokation in Skelettmuskeln fördert. Somit könnte eine langfristige Einnahme von DHA eine positive Wirkung in einer Diabetes-Therapie haben.

⁸⁹Obwohl die Resultate von früheren Studien bezüglich der Auswirkungen von Omega-3-Fettsäuren auf PPAR- γ umstritten sind, konnte 2020 bestätigt werden, dass eine moderate Dosis von DHA-reichem Fischöl die PPAR- γ -Aktivität erhöhen kann. Die Studie untersuchte die Auswirkungen von DHA-reichem Fischöl bei Typ-2-Diabetes Patienten.

⁸⁴ Zhang, Z. F. et al. (2010): Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG) protects the insulin sensitivity in rat L6 muscle cells exposed to dexamethasone condition. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0944711309002360> (25.09.2024)

⁸⁵ Lee, Mak-Soon et al. (2016b): Green Tea (-)-Epigallocatechin-3-Gallate Induces PGC-1 α Gene Expression in HepG2 Cells and 3T3-L1 Adipocytes. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4827637/> (25.09.2024)

⁸⁶ Chan, Cheuk Ying et al. (2011): (-)-Epigallocatechin-3-gallate blocks 3T3-L1 adipose conversion by inhibition of cell proliferation and suppression of adipose phenotype expression. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21978785/> (16.10.2024)

⁸⁷ Capel, Frédéric et al. (2015): DHA at nutritional doses restores insulin sensitivity in skeletal muscle by preventing lipotoxicity and inflammation. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26007287/> (25.09.2024)

⁸⁸ Li, Haoyu et al. (2021): DHA/EPA Improves GLUT4 Translocation, Glycogen Synthesis and Aerobic Glycolysis in Skeletal Muscle of db/db Mice. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8181834/> (25.09.2024)

⁸⁹ Naeini, Zeinab (2020): Effects of DHA-enriched fish oil on gene expression levels of p53 and NF- κ B and PPAR- γ activity in PBMCs of patients with T2DM: A randomized, double-blind, clinical trial. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0939475319304119> (25.09.2024)

⁹⁰Es konnte auch festgestellt werden, dass DHA und EPA (*Eicosapentaensäure, eine Fettsäure*) in Muskelzellen (*C2C12*) die Genexpression von PGC-1 α unterstützen und so die mitochondriale Funktion verbessern.

2.6.3 Hypothese zu Resveratrol

Die dritte Hypothese beruht darauf, dass sich Resveratrol durch eine erhöhte Proteinexpression von AKT und GLUT4 und eine erhöhte Genexpression von GLUT4 und PGC-1 α positiv auf die Insulinsensitivität in Muskel- und Fettzellen auswirkt.

⁹¹Eine Forschungsarbeit konnte zeigen, dass Resveratrol die Insulinsensitivität beim Menschen verbessert. Es verringerte nach vier Wochen die Insulinresistenz. Dies ist höchstwahrscheinlich auf eine bessere Insulinsensitivität über die Reduzierung des oxidativen Stresses über den AKT-Weg zurückzuführen. ⁹²Eine weitere Studie zeigte eine vorteilhafte Wirkung von Resveratrol, welche sich sogar bei Typ-1-Diabetikern mit einem absoluten Insulinmangel rentieren könnte. Resveratrol aktiviert nämlich AKT in den Zellen. Über den AKT-Signalweg wird schliesslich GLUT4 an die Zelloberfläche bewegt. Der ganze Mechanismus erfolgt unabhängig von Insulin. Dies deutet darauf hin, dass Resveratrol auch ohne Insulin den Blutzuckerspiegel senken könnte. ⁹³Laut einer Untersuchung aktiviert Resveratrol das Enzym Histon-Deacetylase (SIRT1), welches wiederum PGC-1 α aktiviert. Somit wird die mitochondriale Funktion verbessert. Ausserdem erhöht Resveratrol die Aktivität der AMP-aktivierten Proteinkinase (AMPK), welche auch PGC-1 α phosphoryliert und aktiviert. Auf diese Weise beeinflusst Resveratrol PGC-1 α indirekt.

Vermutlich wird Resveratrol zu einer verminderten Genexpression von PPAR- γ führen.

⁹⁴In einer Studie wurde nämlich herausgefunden, dass Resveratrol als Antagonist auf PPAR γ und PPAR α wirkt. Somit verhindert Resveratrol die Aktivierung dieser Transkriptionsfaktoren, indem es direkt an die Liganden-Bindungsdomäne bindet.

⁹⁰ Lee, Mak-Soon et al. (2016a): Effects of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid on Mitochondrial DNA Replication and PGC-1 α Gene Expression in C2C12 Muscle Cells.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5216882/> (25.09.2024)

⁹¹ Brasnyó, Pál et al. (2011): Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21385509/> (25.09.2024)

⁹² Penumathsa, S Varma (2008): Resveratrol enhances GLUT-4 translocation to the caveolar lipid raft fractions through AMPK/Akt/eNOS signalling pathway in diabetic myocardium. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4514113/> (25.09.2024)

⁹³ Fullerton, Morgan D. et al. (2010): SIRT1 Takes a Backseat to AMPK in the Regulation of Insulin Sensitivity by Resveratrol. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2828657/> (25.09.2024)

⁹⁴ Higashida, Kazuhiko et al. (2013): Effects of Resveratrol and SIRT1 on PGC-1 α Activity and Mitochondrial Biogenesis: A Reevaluation. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3706311/> (25.09.2024)

3 Material und Methoden

Nach Alexandra Kellenberger | Prof. Christian Wolfrum | TNB Lab (2024)

3.1 Experimentdesign

Das Experimentdesign und die angewandten Methoden wurden von Alexandra Kellenberger in der Abteilung von Professor Christian Wolfrum im Laboratory of Translational Nutrition Biology in der ETH Zürich entwickelt und basieren auf den von ihr bereitgestellten Protokollen. Zuerst folgt ein grober Überblick, um ein Grundverständnis über die Idee des Experiments zu erhalten.

Es wurden in Fettzellen (*3T3-L1*) und Muskelzellen (*C2C12*) deren Insulinsensitivität auf EGCG, DHA und Resveratrol bei akuter Behandlung von 24 Stunden getestet. Dafür wurden zuerst die entsprechenden Zellkulturen gezüchtet, welche als Vorläuferzellen kultiviert und daraufhin in definierte Fett- und Muskelzellen differenziert wurden. Die Vorläufer-Fettzellen wurden profiliert, bis 100% der Platte bedeckt war und dann noch weitere 48 Stunden, damit sie begannen, über sich zu wachsen. Daraufhin konnte das Differenzierungsprogramm gestartet werden, welches dazu diente, die Vorläuferzellen in definierte Zellen zu entwickeln. Die Differenzierung erfolgte über eine Woche. Die Behandlung konnte schliesslich an Tag 6 gestartet werden.

Die Muskelzellen wurden profiliert, bis 90% der Platte bedeckt waren. Danach konnte bereits mit dem Differenzierungsprogramm, welches über 5 Tage lang dauerte, begonnen werden. Die C2C12-Zellen wurden an Tag 4 mit den Nahrungsbestandteilen behandelt. Die Behandlung mit den verschiedenen Substanzen erfolgte über 24 Stunden nach dem Plattendesign (Abb. 13-16). Es wurden vier Konditionen entwickelt. Die Reihe A erhielt jeweils bloss das «normale» Nährmedium, welches aus einem Dimethylsulfoxid-Puffer (DMSO) bestand.

Die Reihe B wurde mit 50 μM EGCG, die Reihe C mit 100 μM DHA und die Reihe D mit 50 μM Resveratrol behandelt.

Nach der Behandlung erfolgte das zweistündige Fasten in einem Krebs-Ringer-Hepes (KRH)-Puffer. Während dieser Zeit erhielten die Zellen weder Nährstoffe noch ein Serum oder Zucker. Das Fasten brachte die Zellen in einen metabolischen Basalzustand. Dieser bringt zwei Vorteile mit sich. Zum einen wird damit der Einfluss vorhergegangener Aufnahme von Nährstoffmedien auf ein Minimum reduziert, was einer besser vergleichbaren Insulinsensitivität dient. Zum anderen werden die Zellen somit noch sensitiver auf das Insulin.

Anschliessend wurde jeweils in der rechten Hälfte der Platte die Zellen eine Stunde lang mit 100 μM Insulin stimuliert, um den Insulinsignalweg zu aktivieren. Somit würde man später beobachten können, ob und welchen Effekt die vorhergegangenen Behandlungen mit den verschiedenen Substanzen auf die Insulinantwort hatten. In den Zellen, welche der Insulinstimulation nicht unterzogen wurden, sollte der Insulinsignalweg gar nicht oder nur sehr gering aktiviert werden. Somit kann man später die Effekte der verschiedenen Nahrungsbestandteilen auf die Zellen beobachten, ohne eine Einwirkung des Insulins. Mit dieser Vorgehensweise konnte schliesslich innerhalb der Behandlungsgruppen der Unterschied in der Insulinsensitivität zwischen den Zellen, die sich noch immer im Basalzustand befanden (linke Seite der Platte) und den Zellen, welche mit Insulin stimuliert wurden (rechte Seite der Platte), untersucht werden. Die linke Hälfte diente als Negativkontrolle und die rechte Hälfte als Positivkontrolle. Dazu konnten auch die unbehandelten Kontrollzellen mit den Zellen verglichen werden, die mit den verschiedenen Nahrungsmittelbestandteilen behandelt worden waren. Dies stellte auch eine positive Kontrolle dar, weil in den Kontrollzellen der Insulinsignalweg lediglich durch das Insulin selbst stimuliert werden sollte.

Auf diese Weise konnten drei Konditionen verglichen werden. Zum einen die Zellen B-D ohne Stimulation mit der Kontrolle ohne Insulinstimulation. Zum anderen konnten auch die Zellen A-D mit

der Insulinstimulation mit der Kontrolle ohne die Stimulation verglichen werden. Dieser Vergleich würde die Unterschiede in der aktivierten Insulinsensitivität zeigen. Ausserdem war auch innerhalb der Behandlungsgruppen ein Vergleich zwischen den insulinstimulierten und nicht stimulierten Zellen möglich.

C2C12, Protein

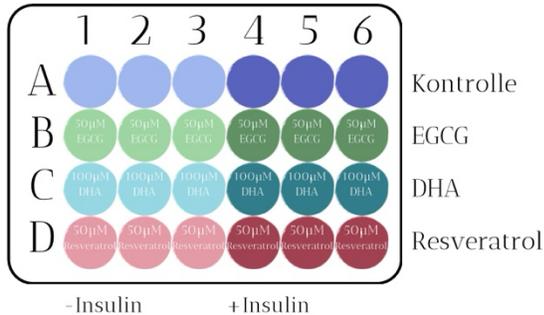


ABBILDUNG 13: PLATTENDESIGN FÜR C2C12, PROTEIN

C2C12, RNA

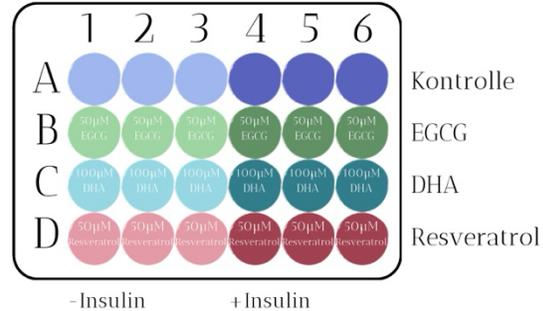


ABBILDUNG 14: PLATTENDESIGN FÜR C2C12, RNA

3T3-L1, Protein

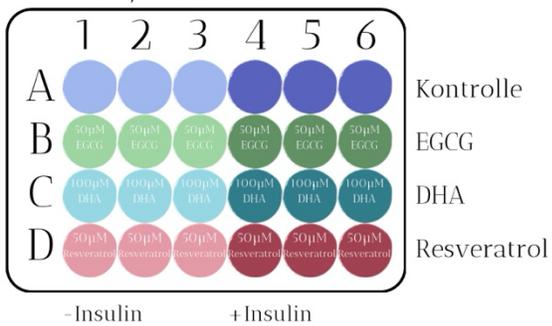


ABBILDUNG 15: PLATTENDESIGN FÜR 3T3-L1, PROTEIN

3T3-L1, RNA

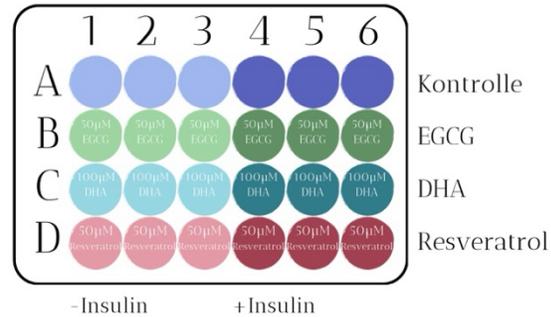


ABBILDUNG 16: PLATTENDESIGN FÜR 3T3-L1, RNA

Nach der Insulinstimulation wurden die Zellen für das weitere Vorgehen geerntet. Die resultierende Insulinsensitivität wurde anhand von verschiedenen Proteinen und RNA-Abschnitten getestet, welche im Insulinsignalweg beteiligt sind. Die RNA-Abschnitte sind die «übersetzten Baupläne» von der DNA für die Herstellung der entsprechenden Proteine. Die Proteine selbst sind der nächste Schritt nach der RNA und stellen die Akteure in den Signalwegen dar. Je höher die Konzentration bestimmter Proteine und RNA-Abschnitte ist, desto stärker wird die Insulinsensitivität verbessert, sofern diese Akteure den Insulinsignalweg aktivieren. Umgekehrt fördert eine niedrigere Konzentration von hemmenden Proteinen und Genen ebenfalls eine bessere Insulinsensitivität. Für die Proteinanalyse wurde zuerst eine Totalmengenbestimmung an Proteinen in Form eines BCA-Assays durchgeführt. Diese war essenziell, um von jedem Sample die gleiche Menge an Gesamtprotein durchsuchen zu können. Daraufhin wurde mit Western Blots nach den spezifischen Proteinen gesucht. Dafür wurden die Zellen zuerst aufgespalten und alle Proteine isoliert. Diese wurden jeweils in einem Gel nach ihrer Grösse, bzw. ihrer Masse aufgetrennt. Aufgrund der Instabilität des Gels wurden die Proteine in einem nächsten Schritt auf eine Membran transferiert. Um ein spezifisches Protein zu prüfen, wurde ein erster Antikörper auf die Membran gegeben, welcher an das entsprechende Protein band. Daraufhin wurde ein zweiter Antikörper, welcher spezifisch gegen den 1. Antikörper gerichtet war, in die Lösung gegeben. Dieser war mit einem Enzym markiert, welches Meerrettichperoxidase (HRP) zu Chemilumineszenz aktivierte. Somit konnte die Membran in einem Chemidoc fotografiert werden. Die Stärke des Chemilumineszenz-Signals repräsentierte die Menge an Proteinen. Die Zellen wurden nach

der Konzentration an AKT-, GAPDH-, phosphorylierten AKT-, und GLUT-4-Proteinen untersucht. Das GAPDH-Protein ist ein sogenanntes Housekeeping-Gen. Dies ist die Bezeichnung für spezifische Gene, welche permanent exprimiert werden und die basalen Zellfunktionen aufrechterhalten.⁹⁵ Mithilfe dieser Eigenschaft können sie als Referenzwert für die gesuchten Zielproteine benutzt werden. Alle anderen Proteine sind wichtige Akteure des Insulinsignalwegs. Abbildung 17 erklärt das Vorgehen eines Western Blots.

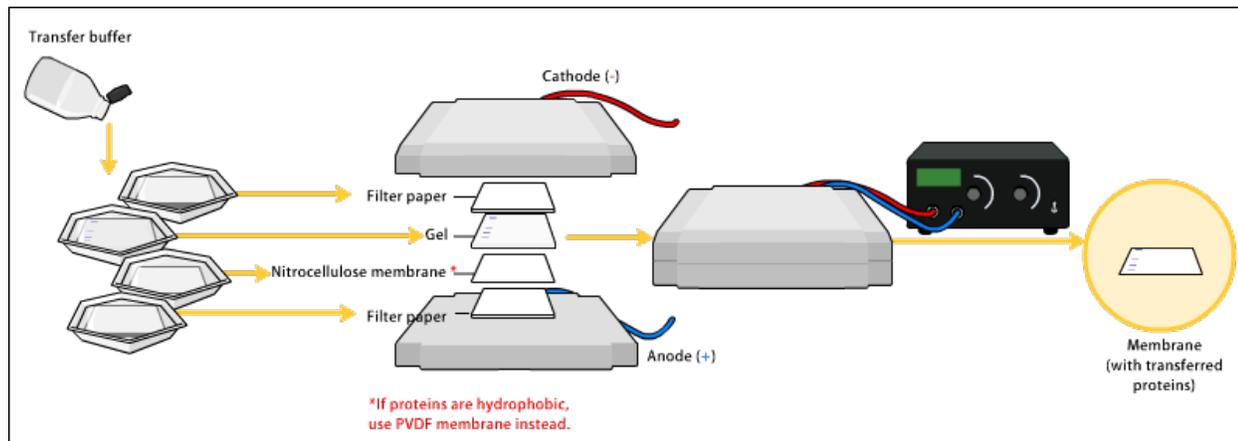


ABBILDUNG 17: VORGEHEN EINES WESTERN BLOTS: PROTEINTRANSFER VON GEL AUF MEMBRAN UND ANSCHLIESSENDE VISUALISIERUNG

Quelle: Bensaccount (2009): Western blot transfer.

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/93/Western_blot_transfer.png?20100913092654 (10.02.2025).

Lizenz: CC-BY-3.0

Für die RNA-Analyse wurde das qPCR-Verfahren angewendet. Dafür wurden die Zellen ebenso lysiert und die RNA isoliert. Da die RNA jedoch sehr instabil und somit auch schwer zu analysieren ist, wurde sie in der Reverse Transkription in die entsprechende cDNA umgeschrieben. Die cDNA ist eine Kopie eines DNA-Fragments, welche nur die codierten Abschnitte ohne Introns enthält. Daraufhin wurde die cDNA vervielfältigt und dabei ein fluoreszierender Marker an die DNA gehängt. Die Stärke dieses Signals entsprach der Menge der ursprünglichen RNA, welche wiederum die Menge der Genexpression ausdrückte. Es wurde nach den Genen GLUT4, PPAR- γ , PGC-1 α und 36B4 (ein Housekeeping-Gen) getestet.

3.2 Züchten der Zellkulturen

Für die Zellkulturen wurden 3T3-L1- (Fettzellen) und C2C12-Zellen (Muskelzellen) benutzt, um ein breiteres Spektrum an Zelltypen für die Untersuchung abzudecken. Alle verwendeten Chemikalien sind von Sigma-Aldrich. Die Zellkulturen wurden von Alexandra Kellenberger gezüchtet. Dabei wurde folgendermassen vorgegangen.

Zuerst wurden für die Plattenvorbereitung zwei 12-Well Platten mit 1ml Kollagen (Typ 1, 1:500 verdünnt) beschichtet. Für eine gleichmässige und stabile Beschichtung wurden diese für zwei Stunden bei 37 °C inkubiert und daraufhin mit 1ml H₂O gewaschen, um überschüssiges Kollagen zu entfernen. Nach der Plattenvorbereitung wurden zwei Falcons eines Fassungsvermögens von je 50 ml mit jeweils 9 ml Hochglukose-DMEM (*high-glucose Dulbecco's Modified Eagle Medium*) vorbereitet, welches ein

⁹⁵ Dodegge, Miriam (2024): Haushaltsgen. <https://flexikon.doccheck.com/de/Haushaltsgen> (28.08.2024)

Nährmedium ist und das Wachstum der Zellen fördert.⁹⁶ Es beinhaltet auch 10% FBS (Fetal Bovine Serum) und 1% Penicillin/Streptomycin («volles DMEM»). Die Gefässe mit den C2C12- und den 3T3-L1-Zellen wurden zum Auftauen in ein heisses Wasserbad gegeben. Nach dem Auftauen wurden die Zellen in den entsprechenden mit DMEM gefüllten Falcon gegeben. Diese Mischungen wurden dann bei 200 rcf für 5 min zentrifugiert. Danach wurde der Überstand abgesaugt. Schliesslich wurden die Zellen in 500 µl vollem DMEM resuspendiert, damit sich die Zellen gleichmässig in der Lösung verteilten. Dafür wurde den C2C12-Zellen 25 ml volles DMEM beigegeben und durch rauf und runter Pipettieren untergemischt. 10 ml dieser Lösung wurden dann auf eine P10-Platte verteilt. Auch den 3T3-L1 Zellen wurden 25 ml volles DMEM beigegeben und mit demselben Vorgehen untergemischt. Jeweils 1 ml dieser Lösung wurde dann pro Well auf eine 12-Well-Platte gegeben. Die Platten wurden schliesslich über Nacht zurück in den Inkubator gestellt.

3.2.1 C2C12-Zellen

Einen Tag später waren die Muskelzellen bereits 50% konfluent. Sie wurden einmal mit 10 ml PBS (Phosphat-gepufferte Salzlösung) gewaschen, um das Medium wegzuwaschen. Danach wurden 3 ml 0.25% Trypsin hinzugefügt, um Zellen, die an der Oberfläche hafteten, zu lösen.⁹⁷ Die gesamten Platten wurden wieder für drei Minuten in den Inkubator gestellt und daraufhin mit 7 ml vollem DMEM genährt. Die gesamte Lösung mit den Zellkulturen wurde schliesslich in 50 ml Falcon-Röhrchen transferiert und vier Minuten lang bei 1000 rpm zentrifugiert. Währenddessen wurden zwei 12-Well-Platten (mit Kollagen beschichtet) und eine P15-Platte beschriftet. Die P15-Platte wurde als «Backup» behalten, damit man während des Experiments bei einer Wiederholung sofort Zellen bereit hätte. Nach dem Zentrifugieren wurde der Überstand in den Röhrchen abgesaugt und die zurückbleibenden Zellen mit 500 µl vollem DMEM resuspendiert, indem das Medium vorsichtig rauf und runter pipettiert wurde. Die ganze Lösung wurde daraufhin nochmals in 39 ml vollem DMEM resuspendiert. 15ml der Zellen wurden auf die entsprechende P15-Platte gegeben, während auf die zwei 12-Well-Platten 1ml pro Well pipettiert wurde. Alle drei Platten wurden daraufhin zurück in den Inkubator gestellt.

Drei Tage nach Experimentbeginn waren wieder ungefähr 50% der Zellen konfluent.

Die Muskelzellen profilierten, bis 90% der Platte bedeckt waren und sie somit einen subkonfluenten Zustand erreicht hatten. Es ist wichtig, dass die Muskelzellen nicht zu eng sind, da sie sich sonst nicht richtig ausbilden können. Einen Tag später hatten sie die ideale Dichte und das fünftägige Differenzierungsprogramm konnte gestartet werden. In diesem Programm wurden die Zellen von einer undefinierten Vorläuferform in eine differenzierte Muskelzelle entwickelt. Dafür wurden 25 ml des Differenzierungsmedium vorbereitet, welches aus Hochglukose-DMEM und 500 µl Pferdeserum (2%) bestand. Danach wurde das alte Medium aus den Platten aspiriert und 1 ml pro Well von dem Differenzierungsmedium in die zwei 12-Well-Platten gegeben, welche schliesslich wieder zurück in den Inkubator gestellt wurden.

Zwei Tage nach der Induktion, wurde das Medium der Muskelzellen gewechselt. Dafür wurde ein frisches Differenzierungsmedium aus 13 ml Hochglukose-DMEM und 260 µl Pferdeserum vorbereitet. Danach folgte der Mediumwechsel, wofür zuerst das alte Medium aspiriert wurde und dann 1 ml des Differenzierungsmediums pro Well auf die Platten verteilt wurde. Schliesslich stellte man die Platten wieder zurück in den Inkubator.

⁹⁶ Sigma-Aldrich (2024a): Dulbeccos Modified Eagle Medium (DMEM).

<https://www.sigmaaldrich.com/CH/de/products/cell-culture-and-analysis/cell-culture-media-and-buffers/classical-media-and-buffers/dulbeccos-modified-eagle-medium> (28.08.2024)

⁹⁷ Wikipedia (2023e) Trypsinization. <https://en.wikipedia.org/wiki/Trypsinization> (25.08.2024)

Zwei Tage später wurden die Muskelzellen auf zwei 24-Well-Platten geteilt. Zuerst wurden dafür die entsprechenden Platten beschriftet und mit Kollagen beschichtet. Daraufhin wurden auch diese Zellkulturen mit Trypsin behandelt. Für die Trypsin-Behandlung wurden die Zellen zuerst in PBS gewaschen. Dann wurden 300 µl 0.25% Trypsin hinzugefügt. Schliesslich wurde die Lösung für 5 Minuten in den Inkubator gestellt. Nach dem Inkubieren wurden den Zellen pro Well 700 µl vollständiges DMEM hinzugefügt und in Falcons transferiert. Die Lösung wurde bei 1000 rpm fünf Minuten lang zentrifugiert, damit sich alle Zellen absetzten. Der Überstand wurde aspiriert und die Zellen in 500 µl Nährstoffentzugs-DMEM resuspendiert. Der Lösung wurden 24.5 ml Hochglukose-DMEM und 0.5 ml Pferdeserum hinzugefügt. Schliesslich wurden jeweils 500 µl pro Well auf die 24-Well-Platte gegeben. Diese wurde dann wieder zurück in den Inkubator gestellt. In Abbildung 18 sind Bilder der C2C12-Zellkulturen zu finden.

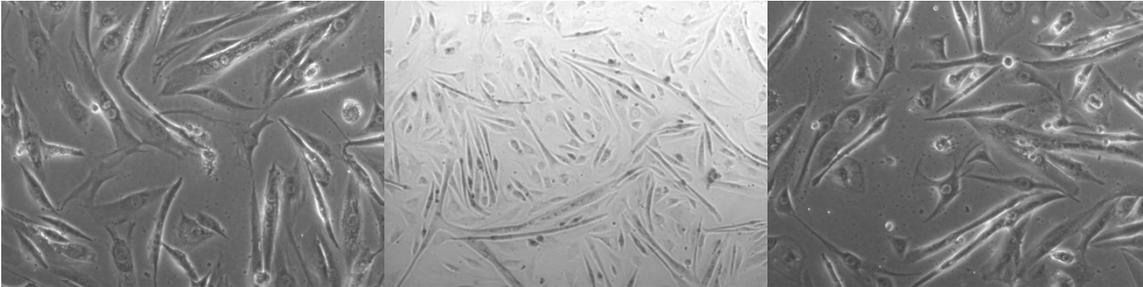


ABBILDUNG 18: BILDER DER C2C12-ZELLKULTUREN

3.2.1.1 Behandlung der C2C12-Zellen mit den Nahrungsmittelbestandteilen

Fünf Tage nach der Induktion wurden die Muskelzellen für 24 Stunden mit den verschiedenen Nahrungsmittelbestandteilen behandelt. Dafür wurden zuerst die Bestände vorbereitet: Für 10 mM EGCG wurden davon 4.584 mg/ml in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst, für 10 mM DHA wurden davon 25 mg in flüssigem Zustand in 7.61 ml Ethanol (*EtOH, purum, absolute ethanol, denatured with 4.8% isopropanol, ≥99.8%, Sigma-Aldrich, Katalognummer 02856-5L*) gelöst und für 10 mM Resveratrol wurden davon 2.28 mg/ml in DMSO gelöst. Danach wurden die Medien mit den entsprechenden Verbindungen vorbereitet. Dafür füllte man vier 15 ml Falcon-Röhrchen mit jeweils 7 ml des Hochglukose-DMEMs und 140 µl Pferdeserum. Das erste Röhrchen wurde mit 35 µl DMSO für die Kontrolle gefüllt, das Zweite mit einer Gesamtmenge von 50 µM EGCG, in Form von 35 µl 10 mM EGCG, das Dritte erhielt die Gesamtmenge von 100 µM DHA, in Form von 70 µl 10 mM DHA und das Letzte 50 µM Resveratrol, in Form von 35 µl 10 mM Resveratrol. Nach der Vorbereitung wurde das alte Medium abgesaugt und jeweils 500 µl des Mediums mit den entsprechenden Verbindungen hinzugefügt, wobei auch die Zeit auf den Platten festgehalten wurde. Die fertigen Lösungen wurden folgendermassen auf den zwei Platten verteilt: Die erste Reihe (A) erhielt bloss den DMSO-Puffer, da sie lediglich als Kontrolle diente. Die zweite Reihe (B) erhielt die 50 µM EGCG-Lösung, die dritte die 100 µM DHA-Lösung und die vierte (D) erhielt schliesslich die 50 µM Resveratrol-Lösung. Abbildung 13 zeigt das Plattendesign der C2C12-Zellen für die Proteinexpression, Abbildung 14 jenes für die Genexpression in Form von RNA. Die behandelten Platten wurden schliesslich wieder zurück in den Inkubator gestellt.

3.2.1.2 Fasten der C2C12-Zellen

Am darauffolgenden Tag erfolgte der Nährstoffentzug. Dafür wurden die Zellen zuerst unter Serum-Entzugsbedingungen gehalten, während sie gleichzeitig den entsprechenden Substanzen ausgesetzt waren. Für diesen Schritt wurden vier 15 ml Falcon-Röhrchen mit jeweils 14 ml Krebs-Ringer-Hepes Puffer (KRH) vorbereitet. Den vier Röhrchen wurden die entsprechenden Verbindungen hinzugefügt: 70 µl DMSO als Kontrolle, 70 µl 10 mM EGCG für 50 µM, 140 µl 10 mM DHA für 100 µM und 70 µl

10mM Resveratrol für 50 µM. Die Zellkulturen wurden einmal mit dem PBS-Puffer gewaschen. Daraufhin wurden 500 µl des Nährstoffentzug-Mediums mit entsprechendem Zusatz pro Well hinzugegeben. Der Rest des Mediums wurde in ein Wasserbad gegeben, um es aufzubewahren. Die Zellen fasteten zwei Stunden lang im Krebs-Ringer-Hepes-Puffer (KRH-Puffer), damit sie in einen metabolischen Basalzustand kamen. Somit wurde der Einfluss vorhergegangener Aufnahme von Nährstoffen minimiert, die Insulinstimulation wurde besser vergleichbar und die Zellen wurden noch sensitiver auf das Insulin.

3.2.1.3 Insulinstimulation der C2C12-Zellen

Nach den zwei Stunden folgte die Insulinstimulation. Dafür wurden zu jedem Röhrchen 1.33 µl 10 mg/ml Insulin (*1:6000, Insulin human, 1'000 IE/UI = 10 ml von Novo Nordisk Pharma AG*) gegeben. Das Medium in den Wells der rechten Hälfte der Platte (Abb. 13 und 14) wurde mit dem Insulin-KRH ersetzt. Es wurde nur die Hälfte der Zellen mit Insulin stimuliert. Die mit Insulin stimulierten Zellkulturen wurden für 60 Minuten zurück in den Inkubator gestellt. Schliesslich konnten die Zellen nach einer Stunde geerntet werden. Dafür wurden die Zellkulturen zuerst mit PBS gewaschen. Daraufhin wurden die gesamten Platten bei -80 °C eingefroren.

3.2.2 3T3-L1-Zellen

Einen Tag nach Experimentbeginn waren auch alle Fettzellen bereits 50% konfluent. Das Medium wurde abgesaugt und mit vollem DMEM ersetzt, das mit 1 ml pro Well auf die Platte pipettiert wurde. Die Platte wurde daraufhin zurück in den Inkubator gestellt.

Zwei Tage später waren etwa 80% der Zellen konfluent.

Am nächsten Tag wurde das alte Medium wieder abgesaugt und mit Neuem ersetzt. Dafür wurde auf beide 12-Well-Platten 1 ml volles DMEM pro Well hinzugefügt. Die gesamte Platte wurde zurück in den Inkubator gestellt. Zu diesem Zeitpunkt waren 100% der Zellen konfluent.

Während weiterer 48 Stunden nach dem Erreichen der vollständigen Konfluenz begannen die Fettzellen übereinander zu wachsen. So konnte drei Tage später das siebentägige Differenzierungsprogramm der Fettzellen gestartet werden, in dem sich die Vorläuferzellen zu fertig definierten Zellen entwickelten und ihre charakteristischen Lipidbläschen ausbildeten, um als Fettzellen funktionieren zu können. Dafür wurde zuerst das Induktionsmedium vorbereitet, welches die biologischen Prozesse, welche für die entsprechende Weiterentwicklung der Zelle notwendig sind, induziert. Dieses bestand aus 13 ml vollständigem hochglukosehaltigem DMEM, 130 µl frisch vorbereitetes 3-Isobutyl-1-methylxanthin (IBMX), 1.3 µl Insulin und 1.3 µl Dexamethason. Tabelle 2 listet die ursprüngliche und die finale Konzentration, den Verdünnungsfaktor und das Volumen der Lösung auf, welche pro ml und schliesslich pro 13 ml notwendig war.

TABELLE 2: ZUSAMMENSETZUNG DER PROBEN FÜR DAS DIFFERENZIERUNGSPROGRAMM 3T3-L1

Lösung	Ursprüngliche Konzentration	Finale Konzentration	Verdünnungsfaktor	Pro ml	13 ml
IBMX	11.5 mg/ml 0.5M KOH	0.5 mM	1:100	10µl	130µl
Insulin	10 mg/ml	1 µg/ml	1:10'000	0.1µl	1.3µl
Dexamethason	10 mM in EtOH	1µM	1:10'000	0.1µl	1.3µl

Nach der Vorbereitung wurde das alte Medium aspiriert und 1ml pro Well des Induktionsmediums hinzugefügt. Die zwei Platten wurden wieder zurück in den Inkubator gestellt.

Neun Tage nach dem Experimentbeginn wurde das Insulinmedium für die Muskelzellen vorbereitet. Dieses bestand aus 25 ml vollem und glukosereichem DMEM, welchem 2.4 µl frisches Insulin

hinzugefügt wurden. Dieses wies eine ursprüngliche Konzentration von 10 mg/ml auf und wurde 1:10'000 verdünnt, was einer Konzentration von 0.1µl/ml entsprechen. Nach der Vorbereitung des neuen Mediums folgte wieder ein Mediumwechsel. Dafür wurde zuerst das alte Medium abgesaugt, dann 1 ml pro Well des Insulinmediums auf den Platten verteilt und schliesslich wurden die Platten wieder in den Inkubator gestellt.

Vier Tage nach der Induktion wurden die Fettzellen auf zwei 24-Well-Platten verteilt. Dafür wurden die zwei vorgesehenen Platten zuerst mit Kollagen beschichtet. Danach folgte das Trypsinieren der Zellen: Die Zellkulturen wurden zuerst in PBS gewaschen und mit 300 µl 0.25% Trypsin behandelt. Das Ganze wurde für fünf Minuten in den Inkubator gestellt. Nach dieser Zeit wurden 700 µl vollständiges DMEM pro Well hinzugefügt und bei 1000 rpm fünf Minuten lang zentrifugiert. Anschliessend wurde der Überstand aspiriert, und die Zellen wurden in 500 µl vollständigem DMEM resuspendiert. Daraufhin wurden 24.5 ml vollständiges DMEM hinzugefügt. Schliesslich wurden die Zellen umplattiert, indem 500 µl Zellen pro Well auf je eine neue Platte verteilt wurden. Die neuen Platten wurden wieder in den Inkubator gestellt. Abbildung 19 zeigt Bilder der 3T3-L1-Zellkulturen.

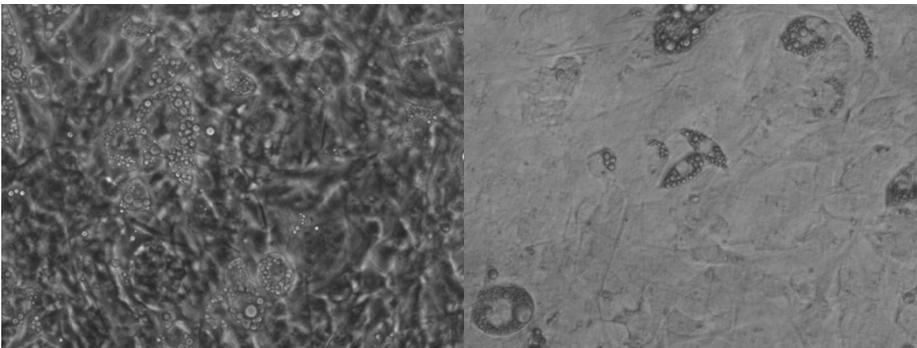


ABBILDUNG 19: BILDER DER 3T3-L1-ZELLKULTUREN

3.2.2.1 Behandlung der 3T3-L1-Zellen mit den verschiedenen Nahrungsmittelbestandteilen

Sechs Tage nach der Induktion konnten die Fettzellen mit den verschiedenen Nahrungsmittelbestandteilen behandelt werden. Für diesen Schritt wurden zuerst die Medien mit den entsprechenden Verbindungen vorbereitet. Es wurden vier Falcon-Röhrchen mit einem Fassungsvermögen von je 15 ml mit jeweils 7 ml vollständigem DMEM gefüllt. In das erste Röhrchen wurden für die Kontrolle bloss 35 µl DMSO hinzugegeben, in das Zweite eine Gesamtmenge von 50 µM EGCG in Form von 35µl einer 10 mM EGCG-Lösung, in das Dritte im Ganzen 100 µM DHA, in Form von 70 µl einer 10mM DHA-Lösung und in das Vierte eine Gesamtmenge von 50 µM Resveratrol, in Form von 35 µl einer 10 mM Resveratrol-Lösung. Nach der Vorbereitung wurde zuerst das alte Medium aspiriert und danach jeweils 500 µl des Mediums mit den entsprechenden Verbindungen hinzugefügt. Dabei wurde die Zeit auf den Platten vermerkt, um die Zellen exakt 24 Stunden den Nahrungsmittelbestandteilen auszusetzen. Die Platte wurde auch dieses Mal wieder zurück in den Inkubator gestellt.

3.2.2.2 Fasten der 3T3-L1-Zellen

24 Stunden nach der Behandlung, erfolgte das Fasten für zwei Stunden im KRH-Puffer. Dafür wurden die Zellen zuerst unter Serum-Entzugsbedingungen gehalten, während sie gleichzeitig den entsprechenden Substanzen ausgesetzt waren. Es wurden vier 15 ml Falcon-Röhrchen mit jeweils 14 ml KRH-Puffer gefüllt. Danach wurden die entsprechenden Verbindungen hinzugefügt: in das erste Röhrchen wurde für die Kontrolle 70 µl DMSO gefüllt, in das Zweite eine Gesamtmenge von 50 µM EGCG in Form von 70 µl einer 10 mM EGCG-Lösung, in das Dritte eine Gesamtmenge von 100 µM DHA, in Form von 140 µl einer 10 mM DHA-Lösung und in das Vierte eine Gesamtmenge von 50 µM Resveratrol, in Form von 70 µl einer 10 mM Resveratrol-Lösung. Die Zellkulturen wurden einmal mit warmem PBS gewaschen. Dafür wurde das PBS vorsichtig hinzugefügt und wieder abgesaugt. Danach wurden 500 µl des Nährstoffentzug-Mediums pro Well auf den Platten verteilt. Die fertigen Lösungen wurden folgendermassen auf den zwei Platten verteilt: Die erste Reihe (A) erhielt bloss den DMSO-Puffer. Die zweite Reihe (B) erhielt die 50 µM EGCG-Lösung, die dritte (C) die 100 µM DHA-Lösung und die vierte (D) erhielt schliesslich die 50 µM Resveratrol-Lösung. Abbildung 15 zeigt das Plattendesign für die Proteinexpression und Abbildung 16 diejenige für die Genexpression. Der Rest des Mediums wurde in ein Wasserbad gestellt, um es später nochmals brauchen zu können.

3.2.2.3 Insulinstimulation der 3T3-L1-Zellen

Nach den zwei Stunden konnten auch die Fettzellen mit Insulin stimuliert werden. Dafür wurde zu jedem Falcon-Röhrchen, welches im Wasserbad gelagert wurden, 1.33 µl Insulin mit einer Konzentration von 10 mg/ml und einem Mischverhältnis von 1:6000 zwischen dem Insulin und dem Insulin-KRH hinzugefügt. Das Medium in den Wells der rechten Seite der Platte wurden mit dem Insulin-KRH ersetzt (Abb. 15 und 16). Schliesslich stellte man die Platten für 60 Minuten wieder zurück in den Inkubator.

Nach einer Stunde konnten die Zellen geerntet werden. Dafür wurden die Zellkulturen mit PBS gewaschen und die Platten auf -80°C gefroren bis damit weitergearbeitet wurde.

3.3 Proteine

3.3.1 Protein Extraktion

Zuerst wurden zweimal 48 Eppendorf-Röhrchen mit einem Fassungsvermögen von je 1.5ml von 1-48 nummeriert (Abb. 20). In diese Röhrchen wurden später die Zellen transferiert.

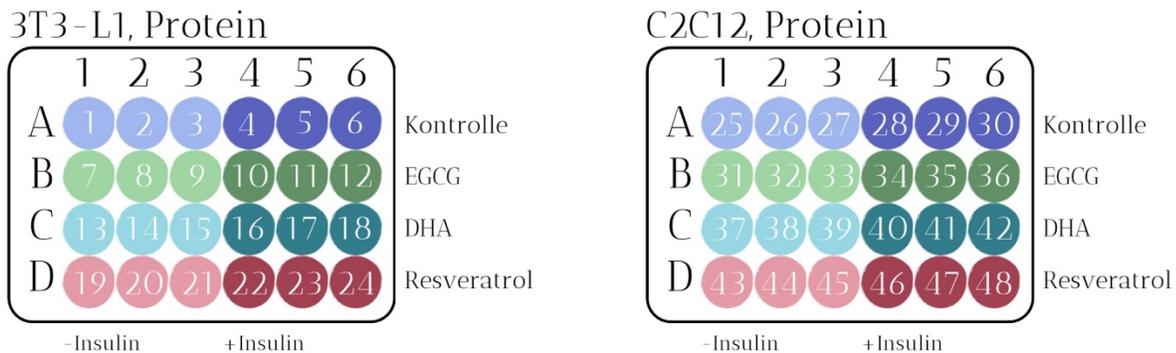


ABBILDUNG 20: NUMMERIERUNGSSHEMA DER PROTEIN-PROBEN DER 3T2-L1- (LINKS) UND DER C2C12-ZELLKULTUREN (RECHTS)

Daraufhin wurden die Proben vorbereitet. Für zwei 24-Well-Platten wurden 100 µl eiskalter Radioimmunoprecipitation Assay Puffer (RIPA), 1 µl eines 100X Protease-Hemmer (cOmplete™, EDTA-freier Proteasehemmer-Cocktail, 05056489001) und 1 µl eines 100X Phosphatase-Hemmer (Halt™ Phosphatase Inhibitor Cocktail, 78427) gebraucht. Im Ganzen wurden 6 ml RIPA-Puffer, 60 µl Protease-Hemmer und 60 µl Phosphatase-Hemmer vorbereitet. Der RIPA-Puffer war zur Lyse der Zellen notwendig und bewirkte somit die Extraktion der Proteine.⁹⁸ Der Protease-Hemmer verhindert die Spaltung der Proteine durch die Protease.⁹⁹ Der Inhibitor war notwendig, da nach dem Aufbruch alle Zellbestandteile in offener Form daliegen, und die Protease somit problemlos die Proteine angreifen könnte. Die verschiedenen Proben wurden zuerst aufgetaut. Danach wurden 100 µl des RIPA-Lysepuffers pro Well hinzugefügt und die Zellen somit aufgebrochen. Anschliessend wurden sie mit einer Pipettenspitze vom Boden gekratzt und in eines der zuvor vorbereiteten 1.5 ml Eppendorf-Röhrchen transferiert. Die beiden Lösungen wurden mit der Pipette durchgemischt, indem die Flüssigkeit 10-mal aufgezogen und wieder hereingespritzt wurde. Es war wichtig, immer die Pipettenspitze zu wechseln, um Kontaminationen zu vermeiden. Die transferierten Zellen wurden danach 15 Minuten lang auf Eis bei einer Temperatur von 4° C inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Eppendorf-Röhrchen bei 16'000 g bei 4° C 20 Minuten lang zentrifugiert. Daraufhin wurde aus jedem Röhrchen der flüssige Überstand mit der Pipette in ein neues 1.5 ml Eppendorf-Röhrchen transferiert, und das Alte mit dem Pellet weggeworfen. Das Pellet war als braunes Tröpfchen unten im Röhrchen erkennbar. Es bestand aus den restlichen Zellbestandteilen, welche nicht zu den Proteinen gehörten.

⁹⁸ Wikipedia (2024n): Radioimmunoprecipitation assay buffer.

https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Radioimmunoprecipitation_assay_buffer&oldid=1224554011 (28.08.2024)

⁹⁹ Wikipedia (2024t): Protease. <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Protease&oldid=1231840142> (28.08.2024)

3.3.2 Totalmengenbestimmung der Proteine (BCA-Assay)

Nach der Protein-Extraktion konnte mit dem BCA-Assay fortgefahren werden. Es wurde das Pierce™ BCA Protein Assay Kit von thermo scientific mit der Referenz-Nummer 23225 verwendet. Die Durchführung erfolgte basierend auf dem entsprechenden Protokoll.¹⁰⁰

Das exakte Vorgehen ist im Anhang unter *10.1.1 BCA-Assay* zu finden.

3.3.3 Western Blot Vorbereitung

15 Tage nach dem Experimentbeginn wurde der Western Blot zur Analyse von Proteinen durchgeführt. Mithilfe der Ergebnisse des BCA-Assays konnten die Zusammensetzungen der zu ladenden Proben mit Excel berechnet werden. Die Proben bestanden aus 6X Lämmli Puffer mit β -Mercaptoethanol (bestehend aus 900 μ l Lämmli Puffer und 100 μ l β -Mercaptoethanol), der Menge der Probe bestehend aus den Proteinen und dem RIPA-Puffer. Das gesamte geladene Volumen war jeweils 30 μ l, worin idealerweise 20 μ g des Proteins geladen wurden. Tabelle 3 zeigt die Mischkombinationen für die 3T3-L1-Zellen. In der ersten Spalte ist jeweils das Well mit seiner Nummer angegeben. Die zweite Spalte gibt die Proteinmenge in der Probe an, welche aus dem BCA-Assay resultierte. In der dritten Spalte ist die Menge des Lämmli Puffers zu finden. Sie betrug bei jeder Probe 5 μ l, womit sie einen Sechstel des Gesamtvolumens ausmachte. Der Lämmli Puffer ist ein Probenpuffer, welcher unter anderem Natriumlaurylsulfat (SDS) enthält. SDS denaturiert die Proteine vor der Gelelektrophorese, damit sie in eine Form kommen, die erkennbar ist. Er sorgt auch dafür, dass die Proteine negativ geladen werden. Der Puffer enthält auch den Farbstoff Bromphenolblau, der visualisieren kann, wie weit die Proben im Gel gewandert sind. Das enthaltene Glycerin erhöht die Dichte der Proben, was dazu führt, dass diese in die Vertiefungen des Gels sinken.¹⁰¹ Die vierte Spalte gibt die Menge der hinzuzufügenden Proteinprobe an, um insgesamt 20 μ g Proteine zu laden. Mit dem RIPA-Puffer wurde schliesslich das Volumen auf 30 μ l aufgefüllt. Für die Wells 21-23 wurden jedoch aufgrund der geringen Konzentrationen ganze 25 μ l der Probe, um das Maximum an Proteinen herauszubekommen, 5 μ l des Lämmli Puffers und kein RIPA verwendet.

¹⁰⁰ Thermo Fisher (2024a): Pierce™ BCA Protein Assay Kit. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets%2FFLSG%2Fmanuals%2FMAN0011430_Pierce_BCA_Protein_Asy_UG.pdf (28.08.2024)

¹⁰¹ Share Biology (2024): Laemmli buffer: Preparation (1x, 2x & 4x) and principle. <https://sharebiology.com/laemmli-buffer-preparation/> (28.08.2024)

TABELLE 3: MISCHVERHÄLTNISSE FÜR DIE PROBEN DES WESTERN BLOTS, 3T3-L1

Gesamtes geladenes Volumen (μl):	30.00
Menge des geladenen Proteins (μg):	20.00

3T3L1

Well	$\mu\text{g/ml}$	6x Lämmli Puffer	Probe (μl)	RIPA (μl)	Total
1	896.466431	5.0	22.3	2.69	30.0
2	1122.61484	5.0	17.8	7.18	30.0
3	1016.60777	5.0	19.7	5.33	30.0
4	956.537102	5.0	20.9	4.09	30.0
5	1200.35336	5.0	16.7	8.34	30.0
6	977.738516	5.0	20.5	4.54	30.0
7	995.40636	5.0	20.1	4.91	30.0
8	1041.34276	5.0	19.2	5.79	30.0
9	1059.0106	5.0	18.9	6.11	30.0
10	953.003534	5.0	21.0	4.01	30.0
11	935.335689	5.0	21.4	3.62	30.0
12	949.469965	5.0	21.1	3.94	30.0
13	1129.68198	5.0	17.7	7.30	30.0
14	1133.21555	5.0	17.6	7.35	30.0
15	1143.81625	5.0	17.5	7.51	30.0
16	998.939929	5.0	20.0	4.98	30.0
17	1207.42049	5.0	16.6	8.44	30.0
18	868.19788	5.0	23.0	1.96	30.0
19	945.936396	5.0	21.1	3.86	30.0
20	991.872792	5.0	20.2	4.84	30.0
21	815.194346	5.0	25 (24.5)	0 (0.47)	30.0
22	472.438163	5.0	25 (42.3)	0 (-17.33)	30.0
23	744.522968	5.0	25 (26.9)	0 (-1.86)	30.0
24	953.003534	5.0	21.0	4.01	30.0

Für die Proben der C2C12-Zellen (25-48) wurden aufgrund der geringen Konzentrationen ganze 25 μl der Proteinproben und 5 μl Lämmli Puffer gemischt, um das Maximum an Proteinen herauszuholen. Nach der Fertigstellung der Proben wurden die Gels für den Western Blot vorbereitet. Das Auflösungsgel (10%) bestand aus 13.2 ml 30% Gel, 16 ml MQ-H₂O, 10 ml Gel Puffer und 0.4 ml 10% SDS. In dem Gel wurden die Proteine später im Western Blot nach ihrer Masse geordnet. Das 4% Stapelgel wurde aus 2.01 ml 30% Gel, 10.8 ml MQ-H₂O, 1.875 ml Gel Puffer und 0.15 ml 10% SDS gemischt. Es hat eine niedrigere Acrylamidkonzentration und konzentriert und bündelt die Proteine, bevor sie in das Auflösungsgel gelangen. Das Auflösungsgel weist hingegen einen höheren

Acrylamidanteil auf und trennt die Proteine nach ihrer Grösse auf.¹⁰² Die beiden Gelmixe wurden kurz geschüttelt, damit sich alle Inhaltsstoffe gut vermischten. Danach wurden 4-mal (je zwei pro Zelltyp) zwei Western-Blot-Glasplatten aufeinandergelegt. Daraufhin wurde zuerst das Separation-Gel zwischen die Glasplatten gespritzt und danach das Stapelgel obendrauf. Schliesslich wurde jeweils ein Kamm mit 15 Wells (Vertiefungen) in das Stapelgel gesetzt, welcher die Vertiefungen für die Proben formte. Das Gel brauchte zum Aushärten bei Raumtemperatur etwa 30-60 Minuten. Dabei wurde das Separation-Gel aufgrund der höheren Konzentration etwas fester.

3.3.4 Western Blotting

Für die Durchführung des Western Blots wurde zunächst der Kamm aus den festen Gels entfernt. Danach wurden jeweils zwei Gelplatten pro Zelltyp in eine Western Blot-Box (Abb. 21) gestellt, welche daraufhin mit einem Laufpuffer (900 ml dH₂O, 100 ml 10X Running Buffer) gefüllt wurden. Dieser wird während der Gelelektrophorese gebraucht und enthält Ionen, die den elektrischen Strom leiten. Somit hilft er den Proteinen, sich durch das Gel zu bewegen.¹⁰³

Die Protein-Proben wurden kurz abzentrifugiert und gemäss dem Protokoll geladen. Dafür wurden jeweils in das erste und das letzte Well eine Probe von 14 µl für die Musterleiter pipettiert. Diese bestand aus 50 mg Luminol in 200 ml 0.1 M Tris (pH 8.6) und 22 mg p-Cumarsäure in 20 ml DMSO. Sie half zum einen, den Anfang und den Schluss der Proteinstreifen visuell zu erkennen und zum anderen diente sie als Orientierung. In die anderen Wells wurden von jeder Proteinprobe 30 µl hereingefüllt. Danach konnte die Elektrophorese begonnen werden. Zuerst wurde der Western Blot 15 Minuten lang bei 85 Volt geführt, bis das Stapelgel leer war. Danach wurde er auf 100 Volt während 45-105 Minuten umgestellt, bis sich die blaue Linie des Farbstoffs Bromphenolblau nahe dem unteren Ende des Gels befand.

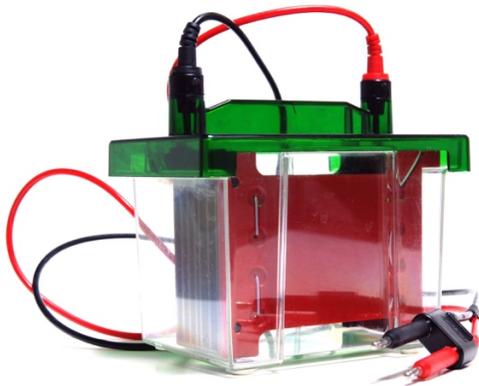


ABBILDUNG 21: WESTERN BLOT-BOX

Quelle: Lilly_M (2011): Western blot wet transfer system Criterion.

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/df/Western_blot_wet_transfer_system_Criterion-02.jpg/1599px-Western_blot_wet_transfer_system_Criterion-02.jpg?20110207200455 (12.02.2025). Lizenz: CC-BY-SA-3.0 / GFDL-1.2.

¹⁰² Holschbach, Martin (2024): Western Blot: Gelelektrophorese für Proteine. <https://www.antikoerper-online.de/resources/17/1224/western-blot-gelelektrophorese-fuer-proteine/> (28.09.2024)

¹⁰³ ThermoFisher (2024b): Überblick über die Proteinelektrophorese. <https://www.thermofisher.com.translate.goog/ch/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-electrophoresis.html? x tr sl=en& x tr tl=de& x tr hl=de& x tr pto=rq#:~:text=The%20running%20buffer%20contains%20ions,sieving%20properties%20of%20the%20gel.> (28.09.2024)

Nach dem Western Blot folgte der Transfer der Proteine auf eine Membran (*Nitrocellulose Membranes, 0.2 µm von BIO RAD, 1620112*), da das Gel zu instabil ist und man die Proteine darin nicht sehen kann. Dafür wurde der Transfer-Stapel vorbereitet. Zunächst wurde der Stacking-Gel-Teil entfernt. Jeder Bestandteil des Stapels wurde vorerst im Transfer-Puffer (800 ml dH₂O, 100 ml 10X Transfer-Puffer, 100 ml 100% EtOH) getränkt. Dieser ist wichtig während des Transfers der Proteine vom Gel auf die Membran. Es wurde auf der schwarzen Seite der Transferkassette begonnen, welche den negativen Pol repräsentierte. Darauf folgte ein Schwamm, zwei Whatman-Papiere, das Gel, die Membran, zwei Whatman-Papiere und zuletzt wieder ein Schwamm. Der ganze Stapel wurde mit der transparenten Seite der Transferkassette geschlossen, welche den positiven Pol repräsentierte. Jede Schicht des Stapels wurde beim Erstellen kurz vorsichtig gewalzt, um Luftbläschen zu entfernen. Der Schwamm und die Filterpapiere üben einen gleichmässigen Druck auf die Membran und das Gel aus und helfen somit, die Proteine effizient auf die Membran zu übertragen. Alle vier Stapel wurden mit einem Kühlkissen in die entsprechenden Western Blot Boxen gestellt, welche mit dem Transferpuffer gefüllt wurde. Schliesslich wurde das Ganze während einer Stunde bei lauwarmer Temperatur bei 100 Volt laufen gelassen.

3.3.5 AKT-Proteine

3.3.5.1 Inkubation mit AKT-Antikörpern

Zunächst wurden die Membranen für die Inkubation mit den primären Antikörpern blockiert. Dieser Schritt ist wichtig, um die unspezifischen Bindungsstellen zu blockieren, damit die Antikörper nur an die spezifischen Zielproteine binden können. Dafür wurde 4-mal 5% Milch (0.5 g Milchpulver pro 10 ml TBS-Tween) vorbereitet. TBS-Tween besteht aus einem Puffer aus Tris-gepufferter Kochsalzlösung und Tween-20. Nach der Vorbereitung der Milchlösung wurden die Membranen vorsichtig aus dem Stapel gelöst. Danach wurden die Membranen entlang des Gels geschnitten und anschliessend in jeweils einen Plastikbehälter gegeben, in welchem sie für eine Stunde mit 10 ml der 5% Milch blockiert wurden. Währenddessen wurde 4-mal die Antikörper-Milch vorbereitet. Sie bestand ebenfalls aus 0.5 g Milchpulver pro 10 ml TBS-Tween und 1:1000 Primärantikörper (*Akt, Cell Signaling, 9272, 10 µl pro 10 ml*). Der erste Antikörper bindet an das gesuchte AKT-Protein an. Es stammt ursprünglich von einem Hasen. Nach einer Stunde wurde aus den Plastikbehältern die alte Milch ausgeleert und durch jeweils 10 ml der Antikörper-Milch ersetzt. Schliesslich wurden alle vier Membranen bei 4° C über Nacht für 16 Stunden inkubiert.

Am nächsten Tag konnte mit der Inkubation der sekundären Antikörper fortgefahren werden. Dafür wurden zuerst die Membranen aus dem Kühlraum geholt und dann die Milch aus den Behältern ausgeleert. Die Membranen wurden anschliessend mit dem 0.1% TBS-Tween einmal schnell gewaschen. Das heisst, das TBS-Tween wurde hereingefüllt und gleich wieder ausgeleert. Darauf folgte noch zweimal ein 10-minütiges Waschen. Man füllte den TBS-Tween in den Behälter und liess es 10 Minuten einwirken, daraufhin wurde es wieder ausgeleert und mit frischem TBS-Tween ersetzt, welcher wieder 10 Minuten lang einwirken konnte. Nachdem auch dieses Mal der Puffer wieder ausgeleert wurde, konnten jeweils 10 ml der sekundären Antikörpermilch auf die Membran gegeben werden. Der sekundäre Antikörper war ein Anti-Rabbit-Antikörper. Er bindet an den primären Antikörper und gibt in Kombination mit dem Enzym Meerrettichperoxidase (HRP) ein Signal, welches vom ChemiDoc erkannt und ausgewertet werden kann. Die Membranen wurden während 30-40 Minuten mit dem sekundären Antikörper inkubiert. Danach wurde die sekundäre Antikörpermilch entsorgt und die Membran wurden wieder wie zuvor einmal schnell und zweimal während 10 Minuten mit dem 0.1% TBS-Tween gewaschen.

3.3.5.2 Membranen mit Akt-Proteinen fotografieren

Für die Bildentwicklung wurden zuerst für alle vier Membranen Klarsichttaschen aus Klarsichtmüppchen auf deren Passform zurechtgeschnitten. Danach wurde die Entwicklungslösung für das Visualisieren von Western Blots vorbereitet. Pro Membran wurden dafür 1 ml der Lösung A, 100 µl der Lösung B und 1 µl H₂O₂ gebraucht. Lösung A wurde bei 4° C gelagert und bestand aus 50 mg Luminol in 200 ml 0.1 M Tris (pH 8.6). Lösung B wurde bei Raumtemperatur gelagert und bestand aus 22 mg p-Cumarsäure in 20 ml DMSO. Das H₂O₂ wurde ebenfalls bei 4° C gelagert. Zur Sicherheit wurde das sechsfache der Mischung vorbereitet, welche in der Dunkelheit gelagert wurde, um eine Frühreaktion zu vermeiden. Danach wurde jeweils eine der Membranen in eine Klarsichttasche gelegt und in der Entwicklungslösung getränkt. Anschliessend wurden noch vorsichtig die Luftbläschen weggewalzt. Die Membran wurde hinterher 2 Minuten lang in der Dunkelheit inkubiert. Nach den 2 Minuten wurde jeweils eine Membran in der Klarsichttasche mittig in den ChemiDoc gelegt. Daraufhin wurde die Chemilumineszenz zuerst für 20 Sekunden eingestellt. Wenn man nach dieser Zeit auf den Bildern nichts erkennen konnte, wurde die Zeit auf 10 Minuten verlängert, was bei den Muskelzellen der Fall war. Die optimale Belichtung wurde definiert und unter *Colorimetric: Auto rapid* wurde auch der Kontrollbalken der Membranen fotografiert. Schliesslich wurden die beiden Bilder zusammengeführt und abgespeichert.

3.3.6 GAPDH-Proteine

3.3.6.1 Reinkubation mit GAPDH-Antikörpern

Am selben Tag konnte die Reinkubation mit den GAPDH-Antikörpern begonnen werden. Vor der Reinkubation mussten die Membranen für 30 Minuten bis zu einer Stunde in 5% Milch blockiert werden. Dazu wurde die 5% Milch, bestehend aus 2 g Milchpulver, welches bis 40 ml mit TBS-Tween aufgefüllt wurde, vorbereitet. Jede der vier Membranen wurde schliesslich mit jeweils 10 ml der 5% Milch für 30 Minuten blockiert. Währenddessen wurde die Antikörpermilch vorbereitet. Diese bestand aus 40 ml der 5% Milch, in welche 20 µl der GAPDH-Antikörper gegeben wurden (1:2000). Danach wurde die Milch wieder aus den Gefässen ausgeleert und mit jeweils 10 ml der Antikörpermilch ersetzt. Die Membranen wurden über Nacht bei 4° C in einem Kühlraum inkubiert.

Am nächsten Tag konnten die Membranen dann mit dem zweiten Antikörper inkubiert werden. Dafür wurden sie zuerst wieder einmal schnell und zweimal 10 Minuten lang mit dem 0.1% Tween-Puffer gewaschen. Danach wurde der Tween-Puffer weggeleert und in jedes der vier Gefässe wurden 10 ml der sekundären Antikörpermilch (1:2000, anti-rabbit, 7074S, Cell Signaling) gegeben. Die Zusammensetzung dieser Antikörpermilch bestand auch wieder aus 20 µl der Antikörper in 40 ml der 5% Milch. Die Membranen wurden dann während 30-40 Minuten mit den sekundären Antikörpern inkubiert. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die sekundäre Antikörpermilch ausgeleert und die Membranen wieder einmal schnell und zweimal 10 Minuten lang, wie zuvor, mit dem 0.1% TBS-Tween gewaschen.

3.3.6.2 Membranen mit GAPDH-Proteinen fotografieren

Als Vorbereitung für die Bilderstellung wurden wieder vier Klarsichttaschen aus Klarsichtfolien für die Membranen zugeschnitten. Danach wurde die Entwicklungslösung gemischt. Die Zusammensetzung bestand auch hier wieder aus 1 ml der Lösung A, 100 µl der Lösung B und 1 µl des H₂O₂ pro Membran. Daraufhin wurde wieder jeweils eine Membran in die Klarsichttasche gegeben und in der Blockierungsentwicklungslösung getränkt. Um eine Frühreaktion zu vermeiden, wurden die Membranen 2 Minuten lang in der Dunkelheit inkubiert. Danach wurde jeweils eine Membran in der Klarsichttasche mittig in den Chemidoc gelegt. Die Chemilumineszenz wurde zuerst auf 20 Sekunden eingestellt. Falls nach dieser Zeit noch nichts zu erkennen war, was bei den Muskelzellen wieder der Fall war, wurde sie auf 10 Minuten verlängert. Danach wurde noch die optimale Belichtung definiert.

Unter Colometric: Auto rapid wurde noch der Kontrollbalken der Membranen fotografiert. Schliesslich wurden die beiden Bilder zu einem zusammengeführt und abgespeichert. Die Membranen wurden für 30 Minuten bis zu einer Stunde inkubiert.

3.3.7 phosphoryliertes AKT

3.3.7.1 Reinkubation mit phosphorylierten AKT-Antikörpern

Als nächstes wurden die Membranen auf phosphorylierte AKT-Proteine untersucht. Man versuchte somit herauszufinden, wie viele von den AKT-Proteinen tatsächlich aktiv waren. Dafür wurde zuerst 5% Bovine Serum Albumin (BSA) in TBS-Tween vorbereitet. BSA ist ein einzelnes Protein aus Rinderserum und wurde für die Blockierung verwendet. Es konnte hier keine Milch verwendet werden, da die Antikörper sonst auch an Proteine der Milch binden würden und somit ein verfälschtes Resultat liefern würden. Die Membranen wurden dann wieder mit jeweils 10 ml der 5% BSA-Lösung für 30 Minuten bis zu einer Stunde blockiert. Währenddessen wurde die Antikörpermilch vorbereitet. Sie bestand aus Phospho-AKT (*Ser473*) (4060, *Cell Signaling*, 1:1000) in TBS-Tween. Dieser Antikörper sollte bloss an die aktivierten AKT-Proteine binden. Nach der abgelaufenen Zeit wurde die Blockierlösung ausgeleert und mit jeweils 10 ml der Antikörpermilch ersetzt. Die Membranen wurden dann bei Raumtemperatur während einer Stunde inkubiert.

Danach wurde die Antikörpermilch ausgeleert und die Membranen wurden wieder einmal schnell und zweimal während 10 Minuten mit dem 0.1% Tween-Puffer gewaschen. Nun konnten jeweils 10 ml der sekundären Antikörperlösung (*Starbright blue 520 goat anti-rabbit*, 12005869, *Bio-Rad*, 1:2500) in 5% BSA auf die Membranen verteilt werden. Dieser sekundäre Antikörper ist mit einem fluoreszierenden Farbstoff namens Star-Bright Blue 520 markiert. Der StarBright-Fluorophor setzt sich aus mehreren Monomeren zusammen, die das Licht absorbieren und emittieren. Der Farbstoff weist eine aussergewöhnliche Helligkeit auf und führt somit zu kürzeren Belichtungszeiten.¹⁰⁴ Der fluoreszenzbasierte Antikörper StarBright Blue 520 beruht somit auf einem anderen System als der zuvor verwendete chemilumineszenzbasierte HRP-konjugierte Antikörper. So sollte man durch das unterschiedliche Signal das phosphorylierte AKT trotz der gleichen Masse von den allgemeinen AKT-Proteinen unterscheiden können. Die Membranen wurden während 30-40 Minuten mit den sekundären Antikörpern inkubiert. Danach wurde die Lösung mit den sekundären Antikörpern ausgeleert und die Membranen wurden nach dem gleichen Prinzip wie zuvor mit 0.1% Tween gewaschen.

3.3.7.2 Membranen mit den phosphorylierten AKT-Antikörpern (phospho-AKT Ser473) fotografieren

Für die Bilderstellung wurden wieder vier Klarsichttaschen für die Membranen zurechtgeschnitten und dann die Entwicklungslösung für das Blockieren von Western Blots, bestehend aus 1 ml der Lösung A, 100 µl der Lösung B und 1 µl H₂O₂ pro Membran, gemischt. Die Membran wurde in die Folie gelegt und in der Entwicklungslösung getränkt. Danach wurde sie während zwei Minuten in der Dunkelheit inkubiert. Die Klarsichttaschen mit den Membranen wurden nach den zwei Minuten jeweils mittig in den ChemiDoc gelegt und die Chemilumineszenz zuerst auf 20 Sekunden eingestellt. Falls diese Zeit nicht ausreichte, wurde sie auf 10 Minuten verlängert. Danach wurde die optimale Belichtung eingestellt und unter Colorimetric: Auto rapid die Kontrollbalken der Membranen fotografiert. Schliesslich wurden beide Bilder zu einem zusammengeführt.

¹⁰⁴ Bio-Rad Laboratories (2024): StarBright™ Blue 520 Goat Anti-Rabbit IgG, 400 µl #12005869. <https://www.bio-rad.com/en-ch/sku/12005869-starbright-blue-520-goat-anti-rabbit-igg-400-ul?ID=12005869> (14.09.2024)

3.3.8 GLUT-4-Proteine

3.3.8.1 Reinkubation mit GLUT-4-Antikörpern

Noch an demselben Tag wurden die Membranen mit den primären GLUT-4-Antikörpern inkubiert. Dafür wurden die Membranen 30 Minuten lang in der 5% Milch (0.5 g Milchpulver pro 10 ml TBS-Tween) blockiert. Währenddessen wurden die primären Antikörper für GLUT4 (*07-1404, Cell Signaling*) in 5% Milch, nach dem obigen Verfahren, um 1:1000 verdünnt. Nach den 30 Minuten wurde der Milch-Blocking-Puffer mit 10 ml der primären Antikörper-Milch pro Behälter ersetzt. Die Membranen wurden über Nacht bei 4° C mit den primären Antikörpern inkubiert.

Am nächsten Tag wurde die primäre Antikörpermilch weggeleert. Die Membranen wurden wieder einmal kurz und zweimal 10 Minuten lang bei Raumtemperatur mit dem 0.1% TBS-Tween-Puffer gewaschen. Währenddessen wurden die sekundären Antikörper (*7074, Cell Signaling, 1:2000*) in einer 5% Milch-Lösung verdünnt. Die Membranen wurden 40 Minuten lang mit dem sekundären Antikörper bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden die Membranen wieder nach dem obigen Verfahren mit dem TBS-Tween-Puffer gewaschen. Die Entwicklungslösung für das Blockieren von Western Blots bestand aus 1 ml der Lösung A, 100 µl der Lösung B und 1 µl H₂O₂ pro Membran.

3.3.8.2 Membranen mit den GLUT-4-Proteinen fotografieren

Aus Sichtmappchen wurden wieder passende Taschen zugeschnitten, in welche die Membranen dann hineingelegt wurden. Dann wurden die Membranen mit jeweils 1 ml der Developing Solution bedeckt und anschliessend in der Dunkelheit bei Raumtemperatur zwei Minuten lang inkubiert. Daraufhin wurde die Membran entwickelt. Sie wurde wieder mittig in den ChemiDoc gelegt. Die Chemilumineszenz wurde bei den 3T3-L1-Zellen auf 20 Sekunden Belichtungszeit definiert und bei den C2C12-Zellen auf 5 Minuten. Danach wurde die optimale Belichtung eingestellt und unter Colorimetric: Auto rapid die Kontrollbalken der Membranen fotografiert. Schliesslich wurden beide Bilder zu einem zusammengeführt. Danach wurde nochmals die optimale Belichtung eingestellt und unter Colorimetric: Auto rapid die Kontrollbalken der Membranen fotografiert. Schliesslich wurden beide Bilder zu einem zusammengeführt.

3.3.9 Auswertung des Western Blots

Die Analyse des Western Blots wurde mit Fiji1 (1-12) gemacht und schliesslich mit dem Foldchange ausgewertet. Die Statistik wurde mit Graph Pad Prism 10.2.3 durchgeführt. Diese wurde wiederum mit der statistischen Methode One-Way ANOVA ausgewertet. Eine allfällige statistische Signifikanz wurde ab dem Wert $p = 0.05$ angegeben.

3.4 RNA

3.4.1 RNA-Extraktion

16 Tage nach dem Experimentbeginn wurde die RNA-Extraktion mithilfe des RNA-Extraktion-Kits Quick-DNA/RNATM Miniprep mit der Katalognummer D700 durchgeführt.

Die Durchführung erfolgte basierend auf dem entsprechenden Protokoll.¹⁰⁵

Es wurde jedoch bei den Muskelzellen aufgrund der geringen Konzentration eine Anpassung getroffen, indem die Lösungen bloss mit 30 µl statt 50 µl DNase/RNase-freiem Wasser verdünnt wurden.

Das exakte Vorgehen ist im Anhang unter *10.1.2 RNA-Extraktion* zu finden.

3.4.2 RNA Reverse Transkription

Einen Tag später konnte die RNA Reverse Transkription durchgeführt werden. Sie wurde mit dem High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit von appliedbiosystems by Thermo Fisher Scientific mit der Referenznummer 4368813 durchgeführt. Die Durchführung erfolgte auch hier basierend auf dem entsprechenden Protokoll.¹⁰⁶ Die einzige Abweichung erfolgte bei den Proben 37, 38 und 42. Hier wurde aufgrund der sehr geringen Konzentration das Wasser weggelassen.

Das exakte Vorgehen ist im Anhang unter *10.1.3 RNA Reverse Transkription* zu finden.

3.4.3 qPCR

Für die qPCR wurden die cDNA-Proben verdünnt, um eine verringerte Konzentration zu erzielen und ein pipettierbares Volumen zu erhalten. Die cDNA-Lösungen der 3T3-L1-Zellen wurden 1:20 verdünnt, indem jeweils 190 µl H₂O in die Proben gegeben wurden. Das ist eine Konzentration von 1 ng/µl, was 2 ng pro Well für den qPCR macht. Die cDNA-Lösungen der C2C12-Zellen wurden in einem Verhältnis von 1:2 mit 10 µl H₂O verdünnt. Danach wurde 4-mal der Fast Syber Green Master Mix für jedes der zu prüfende Gene: GLUT4, PPAR-γ, PGC-1α und 36B4, hergestellt. Der Mastermix bestand aus Fast Syber Green (*KAPA SYBR FAST, Universal, KK4618, 07959567001*). Fast Syber Green ist ein Farbstoff, der an die doppelsträngige DNA bindet, die während der PCR gebildet wird.¹⁰⁷ Somit kann die Menge der amplifizierten DNA nachgewiesen werden, welche in der gleichen Menge wie die RNA vorliegen sollte. Der Mix beinhaltet auch den Forward Primer und den Reverse Primer (Fw+Rv mix). Dabei wurden für jedes der vier Gene die spezialisierten Primer verwendet. Die Primer bestimmen, welcher Teil der DNA amplifiziert werden soll.¹⁰⁸ Unter anderem wurde auch der passive Referenzfarbstoff Carboxy Rhodamin (50X ROX mit niedriger Konzentration) verwendet. Er war dazu da, die Variationen der Fluoreszenzintensität auszugleichen.¹⁰⁹ Das letzte Element war Wasser. Tabelle 4 zeigt alle Elemente und ihre benötigte Menge auf. Die mittlere Spalte zeigt auf, wie viel der Lösung jeweils pro Well benötigt wurde und in der rechten Spalte ist die insgesamt Menge mit eingerechnetem Vorrat aufgelistet.

¹⁰⁵ ZYMO RESEARCH (2024): Quick-DNA/RNATM Miniprep Kit.

https://files.zymoresearch.com/protocols/d7001_quick-dna-rna_miniprep_kit.pdf (28.08.2024)

¹⁰⁶ ZYMO RESEARCH (2024)

¹⁰⁷ Applied Biosystems (2010): Fast SYBR[®] Green Master Mix Protocol. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/cms_046776.pdf (14.09.2024)

¹⁰⁸ Wikipedia (2023f): Primerdesign. <https://de.wikipedia.org/wiki/Primerdesign> (14.09.2024)

¹⁰⁹ Bio-Rad Laboratories (2024): Normalization of Real-Time PCR Fluorescence Data with ROX Passive Reference Dye. [https://www.bio-rad.com/en-ch/applications-technologies/normalization-real-time-pcr-fluorescence-data-with-rox-passive-reference-dye?ID=MW472W15#:~:text=ROX%20\(carboxy%2DX%2Drhodamine,optical%20path%20variations%20among%20wells](https://www.bio-rad.com/en-ch/applications-technologies/normalization-real-time-pcr-fluorescence-data-with-rox-passive-reference-dye?ID=MW472W15#:~:text=ROX%20(carboxy%2DX%2Drhodamine,optical%20path%20variations%20among%20wells) (14.09.2024)

TABELLE 4: FAST SYBER GREEN MASTER MIX MENGEN PRO WELL (MITTE) UND INSGESAMT (RECHTS)

	1 Well	(n) Wells + 3
Wells	1	100
Fast syber green 2x	5	500
Fw+Rv mix	1	100
50X ROX low	0.5	50
H ₂ O	1.5	150
Totales Volumen	8	800

Nach den Vorbereitungen wurden jeweils 2 µl der zuvor verdünnten cDNA-Proben und 8 µl des entsprechenden Master-Mixes in das vorgesehene Well einer 384-Well-Platte pipettiert. Das Plattendesign ist unter Tabelle 5 zu finden. Die obere Hälfte war den 3T3-L1-Zellen gewidmet und die untere Hälfte den C2C12-Zellen. Es wurden jeweils zwei Wells pro Probe gefüllt, um später einen Durchschnittswert zu erhalten. Nur bei den Proben 37-48 wurde bloss ein Well gefüllt. Jedes Zweite wurde leer gelassen, um eine Negativkontrolle (No Template Control, NTC) zu erhalten. In den ersten zwei Reihen beider Zelltypen wurde der Mastermix von GLUT4 gegeben, in die folgenden zwei der von PPAR-γ, in die 5. und 6. Reihe kam der Mastermix von PGC-1α und in die letzten zwei Reihen der von 36B4. Unter Tabelle 6 ist die Farblegende des Plattendesigns noch genauer erklärt.

TABELLE 5: PLATTENDESIGN 3T3-L1-PROBEN (OBEN) UND C2C12-ZELLEN (UNTEN) FÜR QPCR

3T3-L1	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10	11	11	12	12
	13	13	14	14	15	15	16	16	17	17	18	18	19	19	20	20	21	21	22	22	23	23	24	24
	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10	11	11	12	12
	13	13	14	14	15	15	16	16	17	17	18	18	19	19	20	20	21	21	22	22	23	23	24	24
	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10	11	11	12	12
	13	13	14	14	15	15	16	16	17	17	18	18	19	19	20	20	21	21	22	22	23	23	24	24
	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10	11	11	12	12
	13	13	14	14	15	15	16	16	17	17	18	18	19	19	20	20	21	21	22	22	23	23	24	24
C2C12	25	25	26	26	27	27	28	28	29	29	30	30	31	31	32	32	33	33	34	34	35	35	36	36
	37	37	38	38	39	39	40	40	41	41	42	42	43	43	44	44	45	45	46	46	47	47	48	48
	25	25	26	26	27	27	28	28	29	29	30	30	31	31	32	32	33	33	34	34	35	35	36	36
	37	37	38	38	39	39	40	40	41	41	42	42	43	43	44	44	45	45	46	46	47	47	48	48
	25	25	26	26	27	27	28	28	29	29	30	30	31	31	32	32	33	33	34	34	35	35	36	36
	37	37	38	38	39	39	40	40	41	41	42	42	43	43	44	44	45	45	46	46	47	47	48	48
	25	25	26	26	27	27	28	28	29	29	30	30	31	31	32	32	33	33	34	34	35	35	36	36
	37		38		39		40		41		42		43		44		45		46		47		48	NTC

TABELLE 6: FARBLEGENDE DES PLATTENDESIGNS (TAB. 5)

GLUT4
PPAR-γ
PGC-1α
36B4

Nach der Fertigstellung der Platte, wurde der Thermocycler nach dem Schema der Tabelle 7 programmiert. Bei 95° wurde die doppelsträngige DNA denaturiert, das heisst sie wurde durch das Erhitzen in zwei Einzelstränge getrennt. So konnten die Primer und die Polymerase an die DNA binden. Dies passierte in der Phase der Anlagerung bei 50-65° C, in welcher die Primer an die komplementären Sequenzen auf der DNA banden. Zuletzt fand die Elongation der Primer entlang der DNA-Matrize zu einem neuen Tochterstrang statt.¹¹⁰ Die Datenerhebung erfolgte schliesslich bei 60°C.

TABELLE 7: PROGRAMMIERUNG THERMOCYCLER FÜR QPCR

Phase	Zeit	Temperatur	Zyklen
Aktivierung	halten	95 °C	halten
Denaturierung	3 s	95 °C	40
Anlagerung/ Elongation	30 s	60 °C	

3.4.4 Auswertung qPCR

Die Analyse des qPCRs wurde mit dem Foldchange ausgewertet. Die Statistik wurde mit Graph Pad Prism 10.2.3 durchgeführt. Diese wurde wiederum mit der statistischen Methode One-Way ANOVA ausgewertet. Eine allfällige statistische Signifikanz wurde ab dem Wert $p = 0.05$ angegeben.

¹¹⁰ MEDICOVER DIAGNOSTICS (o.J.): Methoden & Technologien, Polymerasekettenreaktion, PCR.
<https://www.medicover-diagnostics.de/unternehmen/methoden-technologien/polymerasekettenreaktion-pcr#> (14.09.2024)

4 Resultate

4.1 Proteine

4.1.1 BCA Assay

Mithilfe des Bicinchoninic Acid Assay-Verfahrens wurden die Proteine quantifiziert. Unter Tabelle 9 ist das Plattenschema des BCA Assays zu finden. In den Spalten 1 und 2 in den Reihen A bis G befindet sich die Standardkurve, welche als Referenz dient. In Tabelle 9 ist in den entsprechenden Feldern die Konzentration der Standardkurve in mg/ml angegeben. Die Proteinlösungen von jeweils 5 µl sind nach dem Nummerierungsschema der Zellkulturen (Abb. 20) durchnummeriert. Die Proteine der 3T3-L1-Zellen befinden sich in der Reihe A in den Wells 4-12, in der Reihe B in die Wells 3-12 und in der Reihe C in die Wells 3-7. Die Proteine der C2C12-Zellen sind in den Reihen D und E in den Wells 3-12 und in der Reihe F in den Wells 3-6. Tabelle 8 zeigt die Farblegende der Tabellen 9 und 10. Tabelle 10 zeigt die Ergebnisse des BCA Assays in mg/ml. Es fällt auf, dass die C2C12-Zellen in einer verhältnismässig sehr geringen Konzentration vorliegen. Die höchsten Werte sind die der Proben 9 (0.24 mg/ml) und der Probe 18 (0.211 mg/ml). Der tiefste Wert der 3T3-L1-Zellen liegt hingegen bei 0.253 mg/ml der Probe 22.

TABELLE 8: FARBLEGENDE DER TABELLEN 9 UND 10

Standardkurve	Wasser	3T3-L1	C2C12
---------------	--------	--------	-------

TABELLE 9: PLATTENSHEMA DES BCA ASSAYS: STANDARDKURVE LINKS, 3T3-L1-PROBEN RECHTS OBEN UND C2C12-PROBEN DARUNTER

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	10	10		2	3	4	5	6	7	8	9	10
B	5	5	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
C	2.5	2.5	21	22	23	24	1					
D	1.25	1.25	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
E	0.625	0.625	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
F	0.3125	0.3125	45	46	47	48						
G	0.15625	0.15625										
H	H ₂ O	H ₂ O										

TABELLE 10: ERGEBNISSE DES BCA ASSAYS IN MG/ML MIT PLATTENSHEMA (TAB. 9)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2.016	2.063	0.407	0.437	0.407	0.39	0.459	0.396	0.401	0.414	0.419	0.389
B	1.519	1.484	0.384	0.388	0.439	0.44	0.443	0.402	0.461	0.365	0.387	0.4
C	0.873	0.847	0.35	0.253	0.33	0.389	0.373	0.074	0.074	0.074	0.074	0.075
D	0.503	0.561	0.115	0.161	0.194	0.116	0.141	0.116	0.114	0.108	0.24	0.111
E	0.319	0.319	0.113	0.112	0.103	0.112	0.108	0.109	0.106	0.211	0.113	0.155
F	0.195	0.213	0.156	0.158	0.115	0.107	0.075	0.074	0.074	0.075	0.074	0.075
G	0.134	0.133	0.047	0.046	0.046	0.047	0.047	0.046	0.046	0.046	0.046	0.046
H	0.076	0.066	0.047	0.046	0.047	0.047	0.047	0.047	0.046	0.047	0.046	0.045

4.1.2 Auswertung der Western Blots

Die Analyse des Western Blots wurde mit Fiji (1-12) gemacht und schliesslich mit dem Foldchange ausgewertet. Die Statistik wurde mit Graph Pad Prism 10.2.3 durchgeführt. Diese wurde wiederum mit dem statistischen Test One-Way ANOVA ausgewertet. Eine allfällige statistische Signifikanz wurde ab dem Wert $p = 0.05$ angegeben.

Die Punkte in den Diagrammen (Abb. 22, 24, 26, 28 und 30-35) entsprechen den Datenpunkten des Foldchanges. Die Striche repräsentieren den Standardabweichungsbalken. Der Y-Wert gibt an, um welchen Wert sich die Konzentration im Vergleich zur Kontrolle unterscheidet. Abbildungen 23, 25, 27 und 29 zeigen die Western Blot-Banden. Die Intensität der Balken repräsentiert die Menge der Proteine.

4.1.3 Proteinexpression Fettzellen

4.1.3.1 Proteinexpression Fettzellen – AKT

In der AKT-Proteinexpression der Fettzellen sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Substanzen zu erkennen. EGCG mit Insulin, DHA und Resveratrol haben sogar eine Tendenz zur geringeren AKT-Expression als die Kontrolle (Tab. 11). Ausserdem tendiert EGCG zu einer hohen Standardabweichung (Abb. 22).

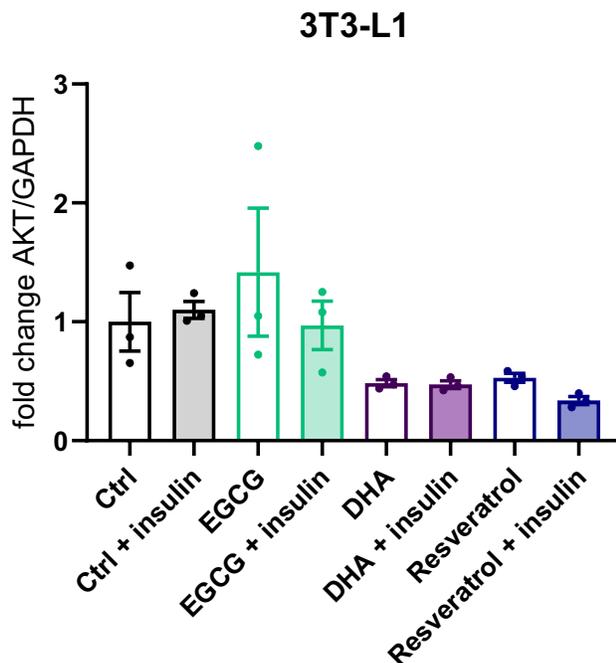


ABBILDUNG 22: PROTEINEXPRESSION VON AKT IM VERHÄLTNIS ZU GAPDH DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN FETTZELLEN

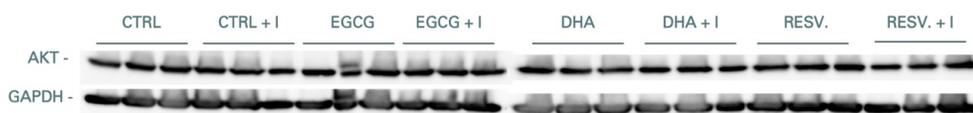


ABBILDUNG 23: WESTERN BLOT-BANDEN, PROTEINEXPRESSION FETTZELLEN – AKT

TABELLE 11: DURCHSCHNITTLICHER FOLDCHANGE PROTEINEXPRESSION FETTZELLEN - AKT

Ctrl	Ctrl + Insulin	EGCG	EGCG + Insulin	DHA	DHA + Insulin	Resveratrol	Resveratrol + Insulin
1	1.100	1.417	0.969	0.485	0.472	0.529	0.337

4.1.3.2 Proteinoxpression Fettzellen - GLUT4

In der Proteinoxpression von GLUT4 sind auch keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Nahrungsbestandteilen aufgetreten. Auch hier zeigen EGCG mit Insulin, DHA und Resveratrol eine Tendenz zu einer geringeren Expression als in der Kontrolle (Abb. 24). In der Tabelle 12 ist zu sehen, dass die Foldchange-Werte dieser Proben alle unter 1 liegen. EGCG scheint mit einem Foldchange-Wert von etwa 1.566 eine Tendenz zur höheren Expression zu haben. Ausserdem tendiert es auch hier zu einer höheren Standardabweichung.

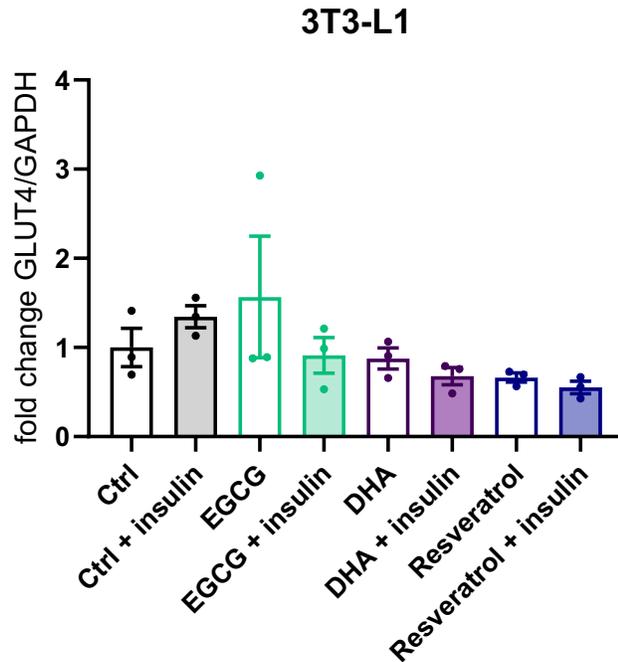


ABBILDUNG 24: PROTEINEXPRESSION VON GLUT4 IM VERHÄLTNIS ZU GAPDH DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN FETTZELLEN



ABBILDUNG 25: WESTERN BLOT-BANDEN, PROTEINEXPRESSION FETTZELLEN – GLUT4

TABELLE 12: DURCHSCHNITTLICHER FOLDCHANGE PROTEINEXPRESSION FETTZELLEN – GLUT4

Ctrl	Ctrl + Insulin	EGCG	EGCG + Insulin	DHA	DHA + Insulin	Resveratrol	Resveratrol + Insulin
1	1.345	1.566	0.911	0.876	0.678	0.663	0.551

4.1.4 Proteinexpression Muskelzellen

4.1.4.1 Proteinexpression Muskelzellen – AKT

In den Muskelzellen gab es signifikante Unterschiede der AKT-Expression zwischen den verschiedenen Substanzen (Abb. 26). Die Protein-Bande von EGCG mit Insulin ist 2.53-mal stärker als die der Kontrolle und etwa 3.53-mal stärker als die der Kontrolle, welche mit Insulin stimuliert wurde. Sie ist auch etwa 3.34-mal stärker als die Bande von Resveratrol und 3.03-mal stärker als die Bande von Resveratrol, die mit Insulin stimuliert wurde (Tab. 13). Die Muskelzellen, welche mit Insulin stimuliert wurden, weisen also eine signifikant höhere Expression an AKT-Proteinen auf als die Kontrolle und jene, welche mit Resveratrol behandelt wurden. Der Western Blot lieferte keine Ergebnisse für die Zellen, welche mit DHA behandelt wurden. Die Kontrolle, welche mit Insulin stimuliert wurde und die Zellen, welche mit Resveratrol behandelt wurden, tendieren zu einer geringeren AKT-Expression. Sie haben alle Foldchange-Werte unter 1.

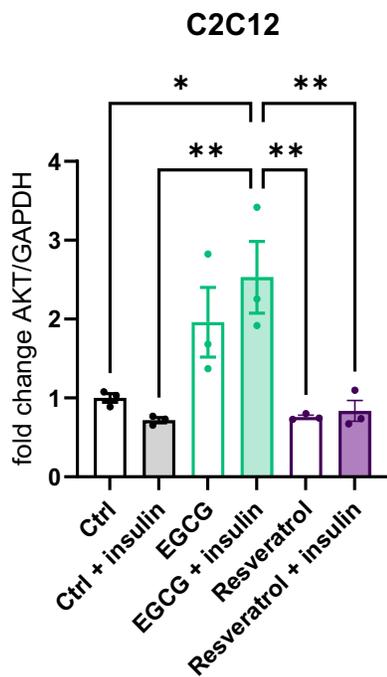


ABBILDUNG 26: PROTEINEXPRESSION VON AKT IM VERHÄLTNIS ZU GAPDH DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN MUSKELZELLEN



ABBILDUNG 27: WESTERN BLOT-BANDEN, PROTEINEXPRESSION MUSKELZELLEN – AKT

TABELLE 13: DURCHSCHNITTLICHER FOLDCHANGE PROTEINEXPRESSION MUSKELZELLEN – AKT

Ctrl	Ctrl + Insulin	EGCG	EGCG + Insulin	DHA	DHA + Insulin	Resveratrol	Resveratrol + Insulin
1	0.718	1.960	2.530	-	-	0.759	0.834

4.1.4.2 Proteinexpression Muskelzellen - GLUT4

Bei der Proteinexpression von GLUT4 in den Muskelzellen traten ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen auf (Abb. 28). Die Banden der Zellen der EGCG-Behandlungsgruppe, welche mit Insulin stimuliert wurden, wiesen eine 7.39-mal stärkere Protein-Bande auf als die Kontrolle (Tab. 14). Die Bande war ebenfalls um etwa 5.20 stärker als die der Kontrolle, welche mit Insulin stimuliert wurde. Sie unterschied sich auch signifikant von der Behandlungsgruppe mit Resveratrol (Abb. 28). Die Bande war um etwa 10.5 stärker als die von Resveratrol und um etwa 3.41 stärker als die von den Zellen der Behandlungsgruppe Resveratrol, welche mit Insulin stimuliert wurde (Tab. 14). Auch dieser Western Blot lieferte keine Ergebnisse für die Zellen, welche mit DHA behandelt wurden.

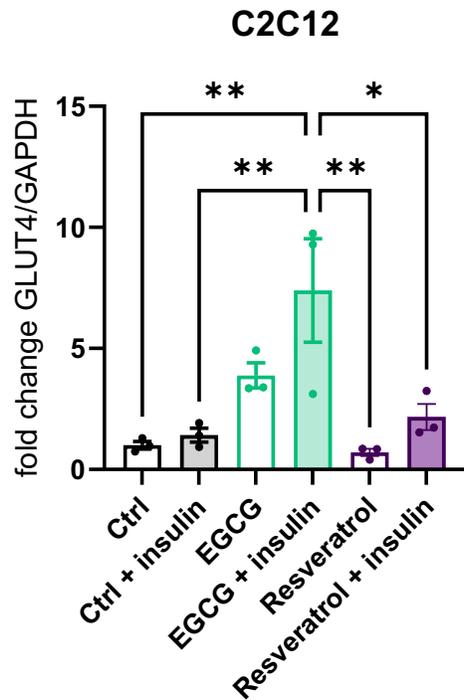


ABBILDUNG 28: PROTEINEXPRESSION VON GLUT4 IM VERHÄLTNIS ZU GAPDH DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN MUSKELZELLEN



ABBILDUNG 29: WESTERN BLOT-BANDEN, PROTEINEXPRESSION MUSKELZELLEN – GLUT4

TABELLE 14: DURCHSCHNITTLICHER FOLDCHANGE PROTEINEXPRESSION MUSKELZELLEN – GLUT4

Ctrl	Ctrl + Insulin	EGCG	EGCG + Insulin	DHA	DHA + Insulin	Resveratrol	Resveratrol + Insulin
1	1.422	3.886	7.389	-	-	0.704	2.166

4.1.4.3 Phosphorylierte AKT-Proteine

In den Bildern der phosphorylierten AKT-Proteinen waren trotz des fluoreszenzbasierten Systems auch die GAPDH-Proteine sichtbar. Daher konnten keine spezifischen Ergebnisse für die phosphorylierten AKT-Proteine erfasst werden.

4.2 RNA

4.2.1 RNA-Konzentration

TABELLE 15: KONZENTRATION DER RNA IN NG/ μ L, FARBLEGENDE (TAB. 8), NUMMERIERUNGSSCHEMA (ABB. 20)

Probe	Nukleinsäure	Einheit
1	150.4	ng/ μ l
2	192.9	ng/ μ l
3	180.1	ng/ μ l
4	182.8	ng/ μ l
5	147.7	ng/ μ l
6	173.8	ng/ μ l
7	173.7	ng/ μ l
8	186.4	ng/ μ l
9	187.1	ng/ μ l
10	179.8	ng/ μ l
11	164.6	ng/ μ l
12	168	ng/ μ l
13	198.7	ng/ μ l
14	184.3	ng/ μ l
15	179.8	ng/ μ l
16	171.6	ng/ μ l
17	178.1	ng/ μ l
18	158.2	ng/ μ l
19	151.3	ng/ μ l
20	174.7	ng/ μ l
21	160.6	ng/ μ l
22	137.2	ng/ μ l
23	119	ng/ μ l
24	134.6	ng/ μ l
25	22.7	ng/ μ l
25 2	18.8	ng/ μ l
26	16.4	ng/ μ l
27	17	ng/ μ l
28	16	ng/ μ l
29	18.2	ng/ μ l
30	10.6	ng/ μ l
31	17.1	ng/ μ l
32	17	ng/ μ l
33	17.8	ng/ μ l
34	15.6	ng/ μ l
35	14.6	ng/ μ l
36	13.6	ng/ μ l
37	7	ng/ μ l
38	7.7	ng/ μ l
39	8.8	ng/ μ l
40	8.9	ng/ μ l
41	19.3	ng/ μ l
42	7.1	ng/ μ l
43	15.5	ng/ μ l
44	20.5	ng/ μ l
45	25.5	ng/ μ l
46	10	ng/ μ l
47	117.1	ng/ μ l
47 2	25.7	ng/ μ l
48	9.8	ng/ μ l

Unter Tabelle 15 sind die RNA-Konzentrationen zu finden, welche mithilfe des Geräts Nanodrop gemessen wurden. Die Farblegende ist unter Tabelle 8 zu finden. Die Tabelle 15 beruht auf dem Nummerierungsschema der Zellkulturen (Abb. 20). Auch bei diesen Proben fällt auf, dass die Konzentrationen der RNA von den C2C12-Zellen in verhältnismässig sehr geringer Menge vorliegen. Die Konzentrationen der C2C12-RNAs reichen bloss von 7 ng/μl (Probe 37) bis zu 117.1 ng/μl (Probe 47). Die der 3T3-L1-RNAs haben jedoch eine Spannweite von 119 ng/μl (Probe 23) bis zu 198.7 ng/μl (Probe 13).

4.2.2 Genexpression Fettzellen

4.2.2.1 Genexpression Fettzellen - GLUT4

In der Genexpression des Gens GLUT4 traten in den Fettzellen keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen auf (Abb. 30). Es fällt jedoch auf, dass EGCG mit einem Foldchange-Wert von 0.016, DHA mit 0.012 und DHA mit Insulin und einem Foldchange-Wert von 0.090 zu einer geringen Expression tendieren (Tab. 16).

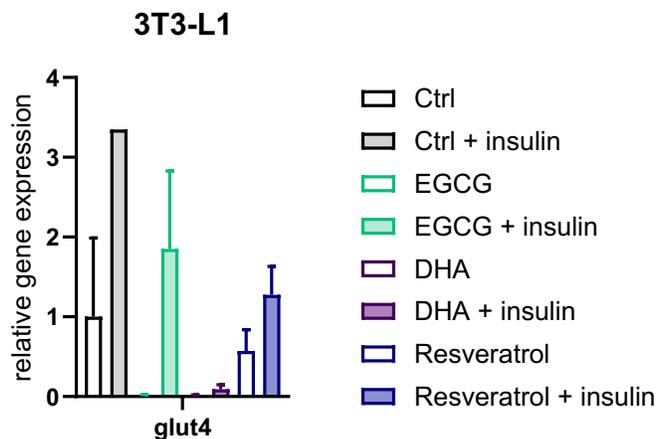


ABBILDUNG 30: RELATIVE GENEXPRESSION VON GLUT4 DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN FETTZELLEN

TABELLE 16: DURCHSCHNITTLICHER FOLDCHANGE, GENEXPRESSION FETTZELLEN – GLUT4

Ctrl	Ctrl + Insulin	EGCG	EGCG + Insulin	DHA	DHA + Insulin	Resveratrol	Resveratrol + Insulin
1	3.347	0.016	1.851	0.012	0.090	0.571	1.274

4.2.2.2 Genexpression Fettzellen - PPAR-γ

In der Genexpression des Gens PPAR- γ gab es einen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrolle und der Kontrolle, welche mit Insulin stimuliert wurde. Letztere weist einen sehr hohen Foldchange-Wert von 8.625 auf (Tab. 17). Alle anderen Behandlungsgruppen tendieren zu einer sehr geringen Expression mit einem Wert nahe bei 0 (Abb. 31).

3T3-L1

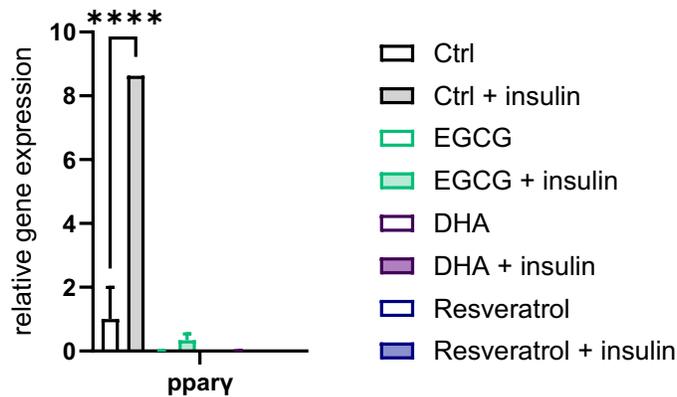


ABBILDUNG 31: RELATIVE GENEXPRESSION VON PPAR- γ DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN FETTZELLEN

TABELLE 17: DURCHSCHNITTLICHER FOLDCHANGE, GENEXPRESSION FETTZELLEN – PPAR- γ

Ctrl	Ctrl + Insulin	EGCG	EGCG + Insulin	DHA	DHA + Insulin	Resveratrol	Resveratrol + Insulin
1	8.625	0.010	0.336	0.004	0.010	0.005	0.002

4.2.2.3 Genexpression Fettzellen - PGC-1 α

In der Genexpression des Gens PGC-1 α gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen (Abb. 32). Man kann jedoch sehen, dass Proben, welche mit Insulin stimuliert wurden innerhalb der Behandlungsgruppen zu höheren Genexpressionen neigen (Tab. 18).

3T3-L1

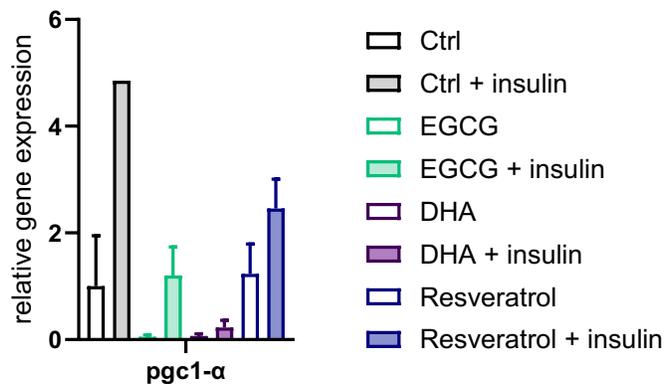


ABBILDUNG 32: RELATIVE GENEXPRESSION VON PGC-1A DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN FETTZELLEN

TABELLE 18: DURCHSCHNITTLICHER FOLDCHANGE, GENEXPRESSION FETTZELLEN – PGC-1A

Ctrl	Ctrl + Insulin	EGCG	EGCG + Insulin	DHA	DHA + Insulin	Resveratrol	Resveratrol + Insulin
1	4.854	0.053	1.200	0.068	0.228	1.231	2.458

4.2.3 Genexpression Muskelzellen

4.2.3.1 Genexpression Muskelzellen - GLUT4

Bei der Genexpression des Gens GLUT4 traten in den Muskelzellen zwischen den Behandlungsgruppen von EGCG und DHA, EGCG mit Insulin stimuliert und DHA und zwischen DHA und Resveratrol signifikante Unterschiede auf (Abb. 33). DHA sticht mit dem hohen Foldchange-Wert von 100.804 deutlich heraus, weist jedoch wie die insulinstimulierten Resveratrol-Proben eine grosse Standardabweichung auf. Die insulinstimulierten DHA- (13.976) und Resveratrol-Proben (46.613) tendieren auch zu höheren Expressionen (Tab. 19).

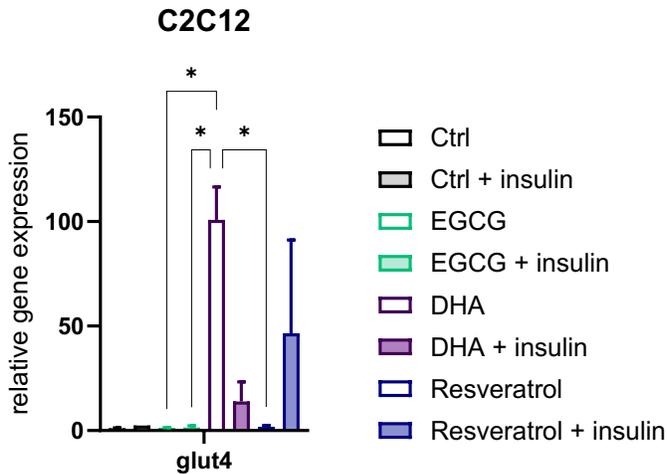


ABBILDUNG 33: RELATIVE GENEXPRESSION VON GLUT4 DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN MUSKELZELLEN

TABELLE 19: DURCHSCHNITTLICHER FOLDCHANGE, GENEXPRESSION MUSKELZELLEN – GLUT4

Ctrl	Ctrl + Insulin	EGCG	EGCG + Insulin	DHA	DHA + Insulin	Resveratrol	Resveratrol + Insulin
1	2.409	1.280	1.499	100.804	13.976	1.751	46.613

4.2.3.2 Genexpression Muskelzellen - PPAR- γ

Bei der Genexpression des Gens PPAR- γ in den Muskelzellen traten keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen auf (Abb. 34). Es fällt jedoch auf, dass die Expression in allen Behandlungsgruppen zu einem geringeren Foldchange-Wert tendieren als die Kontrollgruppe, da sie alle Durchschnittswerte unter 1 aufweisen (Tab. 20).

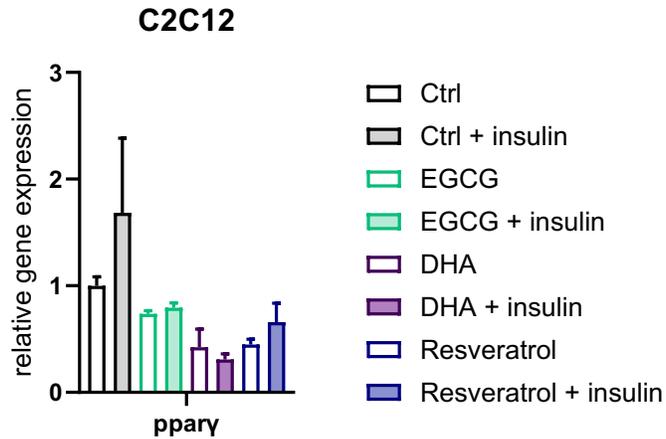


ABBILDUNG 34: RELATIVE GENEXPRESSION VON PPAR- γ DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN MUSKELZELLEN

TABELLE 20: DURCHSCHNITTLICHER FOLDCHANGE, GENEXPRESSION MUSKELZELLEN – PPAR- γ

Ctrl	Ctrl + Insulin	EGCG	EGCG + Insulin	DHA	DHA + Insulin	Resveratrol	Resveratrol + Insulin
1	1.685	0.736	0.794	0.423	0.310	0.450	0.659

4.2.3.3 Genexpression Muskelzellen - PGC-1 α

Bei der Genexpression des Gens PGC-1 α traten in den Muskelzellen ebenfalls signifikante Unterschiede auf (Abb. 35). Die Proteinexpression der DHA-Proben ist mit einem Foldchange-Wert von 25.382 signifikant höher als diejenige der Kontrolle und der insulinstimulierten DHA-Proben (Tab. 21). Die Proteinbanden von DHA sind auch 40.03-mal stärker als die der EGCG-Gruppe und 22.28-mal stärker als die der insulinstimulierten EGCG-Gruppe. Des Weiteren sind die Banden signifikant stärker als die tiefer ausfallenden Expressionen von den insulinstimulierten Resveratrol-Proben und der Resveratrol-Gruppe ohne Insulin. Resveratrol mit einem Foldchange-Wert von 0.366, das insulinstimulierte Resveratrol mit 0.410 und EGCG mit 0.634 tendieren zu geringeren Expressionen (Tab. 21).

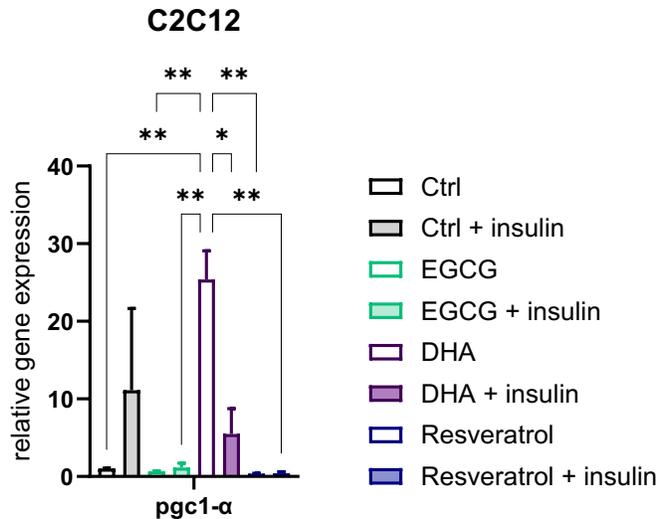


ABBILDUNG 35: RELATIVE GENEXPRESSION VON PGC-1A DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSGRUPPEN IN DEN MUSKELZELLEN

TABELLE 21: DURCHSCHNITTLICHER FOLDCHANGE, GENEXPRESSION MUSKELZELLEN – PGC-1A

Ctrl	Ctrl + Insulin	EGCG	EGCG + Insulin	DHA	DHA + Insulin	Resveratrol	Resveratrol + Insulin
1	11.129	0.634	1.139	25.382	5.490	0.366	0.410

5 Diskussion

5.1 Interpretation und Vergleich der Ergebnisse

5.1.1 Epigallocatechingallat (EGCG)

EGCG bewirkte keinen signifikanten Unterschied in der Stimulation der AKT-Proteine in den 3T3-L1 Zellen. Ohne Insulinstimulation tendierte es zu einer höheren AKT-Konzentration. Somit wurde die Hypothese, welche eine erhöhte Proteinexpression voraussagte, falsifiziert.

¹¹¹Eine Studie untersuchte die Wirkung von EGCG auf die Differenzierung von Fettzellen (*3T3-L1-Zellen*) und mögliche Mechanismen. Laut dieser Studie hemmt EGCG den PI3K-AKT-FOXO1-Signalweg und reduziert somit auch die Aktivierung von AKT. Durch die Hemmung des AKT-Signalwegs wird auch die Expression des nachgeschalteten Moleküls FOXO1 reduziert. Dieses reduziert seinerseits die Expression von PPAR- γ , welches eine wichtige Rolle in der Differenzierung von den Vorläuferzellen in Adipozyten spielt. Somit führt EGCG dazu, dass in den Fettzellen weniger Glukose aufgenommen wird und sich somit weniger Fett ansammelt.

Dies könnte die Ursache für die tieferen AKT-Expressionswerte sein. Auf diese Weise wirkt sich EGCG auf eine andere Art positiv auf eine Typ-2-Diabetes-Erkrankung aus. Es sorgt dafür, dass weniger Fett akkumuliert wird und hilft somit beim Abnehmen, was sich wiederum positiv auf den Glukose- und den Insulinspiegel auswirkt.

Die Ursache für die niedrigeren Werte könnte jedoch auch auf Messungenauigkeiten, Pipettierfehler, Kontaminationen oder Fehler beim Western Blot zurückzuführen sein.

Der Grund für die Tendenz einer höheren AKT-Konzentration ohne Insulinstimulation könnte auf ähnliche Aspekte der unreinen Arbeitsweise zurückzuführen sein.

¹¹²Es könnte jedoch auch an einer negativen Rückkopplung durch Insulinsignalwege liegen. Insulin aktiviert zwar den PI3K-AKT-Signalweg, löst dadurch aber auch negative Feedback-Mechanismen aus. So ein Mechanismus könnte die AKT-Proteinexpression als Schutzmassnahme vor einer übersteigerten Signalübertragung reduzieren.

Auch bei GLUT4 sind in den Fettzellen keine signifikanten Unterschiede zu erkennen, es tendierte jedoch auch hier ohne Insulinstimulation zu einer höheren GLUT4-Expression. Die Hypothese, welche eine erhöhte GLUT4-Expression voraussagte, wurde nicht belegt. Die Studie von Z. F. Zhang konnte in den Skelettmuskelzellen zwar eine verbesserte Translokation von GLUT4 zur Plasmamembran feststellen¹¹³, was jedoch nicht zwingend zu einer höheren GLUT4-Expression führt.

¹¹⁴Eine andere Studie befasste sich mit den Auswirkungen von Teekatechinen auf die Translokation des Glukosetransporters GLUT4 in 3T3-L1-Adipozyten. Sie konnte bei EGCG ebenfalls eine verminderte Glukoseaufnahme beobachten. EGCG hemmte dabei sogar die GLUT4-Translokation, was die Ergebnisse dieses Experiments erklären könnte. EGCG scheint in Fettzellen also vor allem die Glukoseaufnahme zu verringern und wirkt sich somit eher negativ oder neutral auf die Insulinsensitivität aus.

¹¹¹ Lu, Yi et al. (2017): Epigallocatechin-3-gallate suppresses differentiation of adipocytes via regulating the phosphorylation of FOXO1 mediated by PI3K-AKT signaling in 3T3-L1 cells. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29484120/> (16.10.2024)

¹¹² Kearney, Alison L et al. (2021): Akt phosphorylates insulin receptor substrate to limit PI3K-mediated PIP3 synthesis. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34253290/> (16.10.2024)

¹¹³ Lu et al. (2017)

¹¹⁴ Ueda, Manabu et al. (2010): Tea catechins modulate the glucose transport system in 3T3-L1 adipocytes. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21776468/> (16.10.2024)

Auch hier könnte die Ursache für die niedrigeren Werte auf Messungenauigkeiten, Pipettierfehler, Kontaminationen oder Fehler beim Western Blot zurückzuführen sein.

Der Grund für die Tendenz einer höheren GLUT4-Konzentration ohne Insulinstimulation könnte auf ähnliche Aspekte der unreinen Arbeitsweise zurückzuführen sein.

Eine andere Erklärung wäre eine negative Rückkopplung, ähnlich wie bei den AKT-Proteinen.

¹¹⁵Eine Studie fand heraus, dass Insulin die Menge des GLUT4-Proteins in 3T3-L1-Mausfettzellen schnell verringerte. Der GLUT4-mRNA-Spiegel sank in etwa 10 Stunden auf bloss 20-30% des normalen Werts. Insulin blockiert die Herstellung von GLUT4, indem es den Abbau der mRNA beschleunigt. Daher resultiert auch die Insulinresistenz. Nach längerem Kontakt mit Insulin können die Fettzellen Glukose nicht mehr schnell aufnehmen. Dies könnte eine Erklärung dafür sein, warum die insulinstimulierte Probe eine Tendenz zu einer geringeren GLUT4-Expression zeigte.

Es liegt jedoch kein signifikanter Unterschied vor.

¹¹⁶In den C2C12-Zellen führte EGCG mit Insulinstimulation zu einer signifikant höheren AKT-Expression im Vergleich zur Kontrollgruppe und zu den Zellen, welche mit Resveratrol stimuliert wurden. Dies bestätigt auch die Hypothese, welche eine erhöhte AKT-Expression voraussagte. 2019 wurde eine ähnliche Studie durchgeführt, welche die Wirkung von EGCG auf die Phosphorylierung der Moleküle AktS473 und IRS1S307 in insulinresistenten C2C12-Muskelzellen untersuchte und ähnliche Ergebnisse erhielt. Es konnte beobachtet werden, dass EGCG allein oder in Kombination mit dem Antidiabetikum Rosiglitazon die Phosphorylierung von AktS473 steigerte und somit die Glukoseaufnahme in die C2C12-Zellen förderte.

Die Studie von Z.F. Zhang erwies ebenfalls, dass EGCG AKT in insulinresistenten Skelettmuskelzellen (*L6-Zellen*) aktivierte und somit zu einer verbesserten Glukoseaufnahme führte.¹¹⁷

Somit könnte es therapeutische Wirkungen zur Vorbeugung oder Behandlung von Diabetes-Typ-2 haben.

Bei der GLUT4-Expression in den Muskelzellen zeigten sich ähnliche Ergebnisse. Auch hier war die GLUT4-Expression mit EGCG signifikant höher als bei der Kontroll- und der Resveratrol-Gruppe. Somit wurde die Hypothese bestätigt.

¹¹⁸Eine japanische Studie untersuchte, ob EGCG die Glukoseaufnahme und die Translokation von GLUT4 in Skelettmuskeln beeinflusst. Eine mündliche Verabreichung von EGCG erhöhte die GLUT4-Translokation in Skelettmuskeln bei Ratten und führte somit zu einer höheren Glukoseaufnahme. Ähnliche Effekte wurden bei insulinresistenten L6-Myotuben und in Skelettmuskeln von Mäusen beobachtet. Ausserdem fand man heraus, dass Wortmannin (ein Inhibitor) sowohl die erhöhte Glukoseaufnahme durch EGCG als auch diejenige durch Insulin hemmte. Der Inhibitor Genistein beeinflusste die Aufnahme durch EGCG jedoch nicht. Dies könnte ein Indiz dafür sein, dass EGCG die Translokation von GLUT4 durch einen teilweise anderen Mechanismus als Insulin erhöht. Somit könnte es bei einer Diabetes-Erkrankung helfen, den hohen Blutzucker zu senken. Die Studie

¹¹⁵ Flores-Riveros, JR et al. (1993): Insulin down-regulates expression of the insulin-responsive glucose transporter (GLUT4) gene: effects on transcription and mRNA turnover. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC45693/> (16.10.2024)

¹¹⁶ Bakhtiyari, Salar et al. (2019): The Phosphorylation of IRS1^{S307} and Akt^{S473} Molecules in Insulin-Resistant C2C12 Cells Induced with Palmitate Is Influenced by Epigallocatechin Gallate from Green Tea. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30891789/> (16.10.2024)

¹¹⁷ Zhang et al. (2010)

¹¹⁸ Ueda, Manabu et al. (2008): Epigallocatechin gallate promotes GLUT4 translocation in skeletal muscle. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X0801930X> (16.10.2024)

untersuchte aber nicht, ob sich auch die GLUT4-Expression erhöhte und verwendete auch nicht die gleichen Zellkulturen.

Die Ergebnisse dieses Experiments lassen jedoch darauf schliessen, dass EGCG auch die Expression von GLUT4 erhöht und somit zu einer höheren Konzentration dieses Proteins führt. Es müssten jedoch noch weitere Versuche durchgeführt werden, um diese Hypothese zu bekräftigen.

5.1.2 Docosahexaensäure (DHA)

DHA führte in den Fettzellen zu keiner signifikanten Veränderung der AKT-Expression. Somit wurde die Hypothese, welche eine erhöhte Expression voraussagte, falsifiziert. Es fällt jedoch auf, dass die AKT-Expression mit dem DHA-Treatment zu geringeren Werten als die Kontrollgruppe tendiert.

¹¹⁹Eine Studie untersuchte die Auswirkungen von DHA auf den programmierten Zelltod in reifen 3T3-L1-Fettzellen. Es konnte festgestellt werden, dass DHA die Lebensfähigkeit der Fettzellen verringerte, den Zelltod auslöste und den Lipidgehalt reduzierte. Unter anderem führte es zum Verlust des mitochondrialen Membranpotentials. Es reduzierte auch den totalen AKT- und den p-AKT-Spiegel. Dies könnte eine Erklärung für die Tendenz zu einer niedrigeren AKT-Expression sein. Auf diese Weise könnte sich DHA indirekt positiv auf eine Typ-2-Diabetes-Erkrankung auswirken, da es die Adipozyten reduziert und so zu einer Gewichtsreduktion führt. Es hat jedoch keinen positiven Einfluss auf den Insulinsignalweg.

Die unerwarteten Ergebnisse könnten jedoch auch auf Messungenauigkeiten, Pipettierfehler, Kontaminationen oder Fehler beim Western Blot zurückzuführen sein.

Ähnliche Ergebnisse liefert die GLUT4-Expression in den Fettzellen. Auch hier traten keine signifikanten Unterschiede auf, wobei die Werte mit dem DHA-Treatment ebenfalls zu geringeren Werten als die Kontrollgruppe tendieren. Die Hypothese, welche eine erhöhte GLUT4-Expression voraussagte, wurde somit widerlegt.

¹²⁰Eine Studie zeigte, dass DHA die Transportfunktion von GLUT4 in normalen und insulinresistenten Fettzellen reguliert. Die Omega-3-Fettsäure erhöhte den Glukoseverbrauch im Ruhezustand, indem sie die Translokation von GLUT4-Vesikeln und die Fusion mit der Zellmembran verbesserte. Dies erhöht aber nicht zwingend die Expression des Gens und könnte somit erklären, warum diese nicht so hoch war, wie erwartet.

Durch eine höhere GLUT4-Translokation würde sich DHA dennoch positiv auf die Insulinsensitivität auswirken, indem mehr Glukose aufgenommen werden kann.

Die Tendenz zur geringeren GLUT4-Expression könnte auf Messungenauigkeiten, Pipettierfehler, Kontaminationen oder Fehler beim Western Blot zurückzuführen sein. Es könnte auch sein, dass das DHA-Treatment den Zellen nicht gutgetan hat.

Der Western Blot lieferte keine Ergebnisse für die AKT- und die GLUT4-Proteinexpression in den Muskelzellen, welche mit DHA behandelt wurden. Daher können leider keine Aussagen darüber gemacht werden, ob die Hypothesen bestätigt wurden oder nicht. Der Grund für die fehlenden Banden liegt höchstwahrscheinlich an der zu geringen Zellkonzentration, da bei den entsprechenden Proben auch keine GAPDH-Balken ersichtlich waren. Im Vergleich zu den Fettzellen, war in den Zellkulturen der C2C12-Zellen eine viel geringere Zellkonzentration. Es wurden für beide Zellkulturen gleich

¹¹⁹ Wang, An-Shi et al. (2016): DHA induces mitochondria-mediated 3T3-L1 adipocyte apoptosis by down-regulation of Akt and ERK. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464616000025> (16.10.2024)

¹²⁰ Zhang, Yu et al. (2022): Omega-3 polyunsaturated fatty acids promote SNAREs mediated GLUT4 vesicle docking and fusion. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0955286321003326> (16.10.2024)

grosse Platten verwendet.¹²¹ Während Fettzellen jedoch die Fähigkeit haben, übereinander zu wachsen, nehmen Muskelzellen durch ihre Ausdehnung viel mehr Platz ein. Dies führte dazu, dass eine sehr geringe C2C12-Zellkonzentration vorlag und könnte eine Erklärung für die fehlenden Banden sein. Auffallend ist aber, dass die Banden der anderen Treatment-Gruppen trotzdem auftraten. Möglicherweise tat DHA den Muskelzellen nicht gut, sodass sie reduziert wurden.

¹²²Andere Ursachen für die fehlenden Banden könnten zu tiefe Antikörper-Konzentrationen, Antikörper-Unverträglichkeit, zu viel Waschen der Zellmembran oder zu viel Blocking, unzureichende Belichtung des Films oder das Wandern von kleinen Proteinen durch die Transfermembran sein.

¹²³Eine Studie, welche die biologischen Effekte von DHA und Eicosapentaensäure auf die Zellproliferation, Differenzierung und Genexpression in C2C12-Myozyten untersuchte, konnte zeigen, dass beide Säuren die Phosphorylierung von AKT und ERK1/2 in C2C12-Muskelzellen verringerten. Auf diese Weise führen sie auch zu einer geringeren Proliferation und Differenzierung von Muskelzellen und reduzieren die Expression muskelbezogener Gene.

Möglicherweise führten diese Umstände dazu, dass die Muskelzellen schliesslich eine so tiefe Konzentration hatten, dass sie gar keine Banden mehr aufzeigen konnten.

¹²⁴Eine andere Studie untersuchte die Auswirkungen von DHA und Eicosapentaensäure (EPA) auf den Glukosestoffwechsel, der Glukoseaufnahme und -verwertung in Skelettmuskeln und C2C12-Muskelzellen. Die Ergebnisse zeigten, dass eine langzeitige Aufnahme von DHA und EPA die Translokation von GLUT4, die Synthese von Glukose und die aerobe Glykolyse im Skelettmuskel förderte. Die Forschungsergebnisse zu DHA scheinen somit etwas kontrovers zu sein.

5.1.3 Resveratrol

Die Behandlung mit Resveratrol führte zu keiner signifikanten Veränderung der AKT-Proteinexpression in den Fettzellen. Wie die Behandlung mit DHA, führte auch diese zu einer Tendenz von geringeren AKT-Konzentrationen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Somit wurde die Hypothese, welche eine erhöhte AKT-Proteinexpression voraussagte, widerlegt.

¹²⁵2013 wurde eine Studie durchgeführt, welche zeigte, dass Resveratrol die Vermehrung und Reifung von 3T3-L1-Vorläuferzellen zu reifen Fettzellen vermeidet. Es blockiert die AKT- und MAPK-Signale und stoppt somit die Zellteilung. Auf diese Weise könnte sich Resveratrol indirekt positiv auf eine Diabetes-Typ-2-Erkrankung auswirken, indem es die Entwicklung von Fettzellen stört und somit zur Gewichtsreduktion führt. Dies könnte auch eine mögliche Erklärung für die Tendenz zu einer geringeren AKT-Expression sein. Die Studie wies jedoch nicht explizit eine geringere AKT-Expression nach.

¹²⁶Eine koreanische Studie konnte zeigen, dass hohe Dosen von Resveratrol in 3T3-L1 Zellen die insulinabhängige Aktivierung von AKT hemmen. Interessanterweise führte eine langfristige

¹²¹ Kellenberger, Alexandra (2024): C2C12- und 3T3-L1-Zellen. Persönliche Mitteilung, 22.07.2024

¹²² SinoBiological (o.J.): No Bands Troubleshooting in Western Blots. <https://www.sinobiological.com/category/wb-troubleshooting-no-bands> (16.10.2024)

¹²³ Zhang, Jing et al. (2019): EPA and DHA Inhibit Myogenesis and Downregulate the Expression of Muscle-related Genes in C2C12 Myoblasts. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6356802/> (16.10.2024)

¹²⁴ Li, Haoyu et al. (2021): DHA/EPA Improves GLUT4 Translocation, Glycogen Synthesis and Aerobic Glycolysis in Skeletal Muscle of db/db Mice. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8181834/> (16.10.2024)

¹²⁵ Mitterberger, Maria C und Zwerschke, Werner (2013): Mechanisms of resveratrol-induced inhibition of clonal expansion and terminal adipogenic differentiation in 3T3-L1 preadipocytes. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23525482/> (16.10.2024)

¹²⁶ Lee, Haemi und Kim, Jae-woo (2013): High-dose Resveratrol Inhibits Insulin Signaling Pathway in 3T3-L1 Adipocytes. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4390751/> (16.10.2024)

Behandlung mit niedrigeren Resveratrol-Dosen jedoch zu einer höheren AKT-Phosphorylierung. Dies könnte darauf hinweisen, dass in unserem Experiment zu hohe Dosen genommen wurden.

¹²⁷Eine andere Studie konnte zeigen, dass Resveratrol die Insulinsensitivität beim Menschen verbessert. Es verringerte nach vier Wochen die Insulinresistenz, was höchstwahrscheinlich auf eine bessere Insulinsensitivität über die Reduzierung des oxidativen Stresses über den AKT-Weg zurückzuführen ist. Die Wirkung entfaltete sich jedoch bei Menschen und lässt nicht darauf schliessen, wie sich Resveratrol in Zellkulturen auswirken würde.

Auch hier könnten die unerwarteten Messergebnisse auf Messungenauigkeiten, Pipettierfehler, Kontaminationen oder Fehler beim Western Blot zurückzuführen sein.

Ähnliche Ergebnisse sind auch bei der GLUT4-Expression in den Fettzellen aufzufinden. Es traten zwar keine signifikanten Unterschiede auf, die Resveratrol-Gruppen tendieren jedoch zu geringeren GLUT4-Konzentrationen als die Kontrollgruppe. Die Hypothese sagte eine erhöhte GLUT4-Proteinexpression voraus und wurde somit falsifiziert.

¹²⁸Eine Studie fand heraus, dass hohe Dosen von Resveratrol in 3T3-L1-Zellen die Insulinsignale blockieren, die GLUT4-Translokation und die Glukoseaufnahme vermindern. Bei einer Langzeitbehandlung mit kleineren Dosen kam es jedoch zu einer verbesserten Stoffwechsellage. Dies könnte eine mögliche Erklärung für die Tendenz zu einer geringeren GLUT4-Expression liefern. Möglicherweise waren die Resveratrol-Dosen zu hoch und es wäre eine bessere Wirkung bei einer langzeitigen Behandlung zu sehen gewesen. Die Studie konnte jedoch nur eine verminderte GLUT4-Translokation beobachten, was keine Aussagen über die Proteinexpression macht. Die unerwarteten Ergebnisse könnten jedoch auch auf Messungenauigkeiten, Pipettierfehler, Kontaminationen oder Fehler beim Western Blot zurückzuführen sein.

In den Muskelzellen fiel die AKT-Proteinexpression nicht signifikant anders aus als bei der Kontrollgruppe. Sie war jedoch im Vergleich zur EGCG-Gruppe signifikant tiefer. Somit wurde auch die Hypothese, welche eine höhere AKT-Proteinexpression in C2C12-Zellen voraussagte, falsifiziert.

¹²⁹2023 wurde eine Studie durchgeführt, welche untersuchte, wie Resveratrol die durch Palmitinsäure ausgelöste Insulinresistenz in C2C12-Zellen verbessert. Nach der Behandlung mit Resveratrol wiesen die Zellen einen tieferen Glukosegehalt und eine tiefere zelluläre Lipidablagerung auf. Unter anderem waren die Proteinexpressionswerte von p-PI3K-, p-AKT und GLUT4 erhöht. Diese Ergebnisse widersprechen dem Resultat unseres Experiments. Dies könnte jedoch daran liegen, dass die Zellen in der Studie mit Palmitinsäure insulinresistent gemacht wurden. Möglicherweise entfaltet Resveratrol unter diesen Bedingungen eine andere Wirkung.

Mögliche Ursachen für die unerwarteten Ergebnisse könnten Messungenauigkeiten, Pipettierfehler, Kontaminationen oder Fehler beim Western Blot sein. Vielleicht waren auch die verwendeten Konzentrationen und Inkubationszeiten nicht optimal.

Es könnte jedoch auch sein, dass Resveratrol tatsächlich keine Auswirkungen auf die Insulinsensitivität hat und die AKT-Expression nicht beeinflusst.

Die AKT-Expression ermöglicht jedoch keine Aussage darüber, wie viele von diesen Proteinen phosphoryliert wurden. So könnte es sein, dass zwar eine ähnliche Konzentration an AKT-Proteinen wie bei der Kontrollgruppe vorliegt, wovon jedoch eine höhere Anzahl phosphoryliert wurde. Somit

¹²⁷ Brasnyó et al. (2011)

¹²⁸ Lee und Kim (2013)

¹²⁹ Pan, Xinyan et al. (2023): Resveratrol improves palmitic acid-induced insulin resistance via the DDIT4/mTOR pathway in C2C12 cells. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10463219/> (17.10.2024)

könnte es trotz der ähnlichen AKT-Expression eine bessere Insulinsensitivität geben. Um diese Hypothese zu überprüfen, müsste man die phosphorylierten AKT-Proteine bestimmen.

Ähnliche Ergebnisse zeigt die GLUT4-Proteinexpression in den Muskelzellen. Auch hier war der Unterschied zur Kontrollgruppe nicht signifikant. Nach der Stimulation mit Insulin tendiert die Resveratrol-Gruppe jedoch zu höheren GLUT4-Proteinexpressionswerten als die Kontrolle. EGCG wies jedoch eine signifikant höhere Expression auf. Die Hypothese, welche eine signifikant höhere GLUT4-Expression in C2C12-Zellen voraussagte, wurde falsifiziert.

¹³⁰2008 wurde eine Studie durchgeführt, welche eine vorteilhafte Wirkung von Resveratrol zeigte. Diese könnte sich sogar bei Typ-1-Diabetikern mit einem absoluten Insulinmangel rentieren. Resveratrol aktiviert nämlich AKT in den Zellen. Über den AKT-Signalweg wird schliesslich GLUT4 an die Zelloberfläche bewegt. So kann die Zelle Glukose aufnehmen. Der ganze Mechanismus erfolgt unabhängig von Insulin. Dies deutet darauf hin, dass Resveratrol auch ohne Insulin den Blutzuckerspiegel senken könnte. Die Studie wurde jedoch mit Ratten durchgeführt und nicht mit C2C12-Zellkulturen. Auch hier wurde hauptsächlich eine verbesserte GLUT4-Translokation beobachtet, welche nicht unbedingt durch eine erhöhte GLUT4-Expression zustande kommen muss. Somit könnte Resveratrol trotz der ähnlichen GLUT4-Expression zu einer besseren Insulinsensitivität führen.

¹³¹Die Studie von 2023, auf die zuvor bereits eingegangen wurde, zeigte unter anderem auch eine erhöhte Proteinexpression von GLUT4 in insulinresistenten C2C12-Zellen, welche mit Resveratrol behandelt wurden. Dies könnte darauf hinweisen, dass es tatsächlich eine Tendenz zu höheren Expressionswerten nach der Insulinstimulation gibt. Es könnte jedoch auch sein, dass die Unstimmigkeiten auf Messungenauigkeiten, Pipettierfehler, Kontaminationen oder Fehler beim Western Blot zurückzuführen sind. Möglich wäre auch, dass ungeeignete Konzentrationen und Inkubationszeiten verwendet wurden. Eventuell hat Resveratrol auch gar keinen Einfluss auf die Insulinsensitivität in C2C12-Zellen.

5.1.4 Genexpressionsergebnisse

Im Experiment war ursprünglich geplant, die Auswirkungen von EGCG, DHA und Resveratrol auf die Genexpression von PPAR- γ und PGC-1 α in den Muskel- und Fettzellen mit einem qPCR zu untersuchen. Leider sind die Ergebnisse nur sehr schwer interpretierbar und entsprechen nicht den erwarteten Ergebnissen. Die Kontrollgruppen lieferten zwar meistens aussagekräftige und erwartungsgemässe Ergebnisse, die Daten der Fettzellen mit den Treatments EGCG, DHA und Resveratrol haben aber teilweise kaum messbare Genexpressionen.

Diese Unstimmigkeiten könnten auf technische Probleme während des qPCRs zurückzuführen sein. Auch möglich wäre eine mangelhafte RNA-Qualität oder eine zu geringe RNA-Menge. Vielleicht liegt die Ursache auch bei Pipettierfehlern, einer schlechten Inkubationsdauer oder einer falschen Konzentration.

Aufgrund dieser widersprüchlichen und schwer verständlichen Daten wird die Analyse der Gendaten nicht weiter diskutiert. Der Fokus liegt stattdessen auf den Proteindaten, welche verlässlichere Ergebnisse lieferten.

¹³⁰ Penumathsa (2008)

¹³¹ Pan et al. (2023)

5.2 Kritik am eigenen Verfahren und Verbesserungsmöglichkeiten

5.2.1 Vorgehen

Basierend auf dem Insulinsignalweg waren die Proteinkonzentration und die Genexpression allein nicht sehr aussagekräftig darüber, ob sich tatsächlich die Insulinsensitivität verbessert hatte. Bei dem Protein AKT konnte man das beispielsweise gut sehen. Durch den Western Blot hatte man die Menge aller AKT-Proteine vorliegen. Dies lässt jedoch nicht auf die Anzahl phosphorylierter AKT-Proteine schliessen, welche ihrerseits eine aussagekräftigere Aussage über die Insulinsensitivität an sich liefern würden. Man könnte also versuchen die phosphorylierten AKT-Proteine zu quantifizieren. Dies wurde in diesem Experiment auch versucht. Leider funktionierte das Vorgehen nicht, weil die Antikörper trotzdem an alle AKT-Proteine gebunden hatten. Im Kapitel *Phosphorylierte AKT-Proteine* wird das genaue Vorgehen erklärt. Man könnte den Versuch wiederholen, oder einen anderen Antikörper verwenden. Man könnte auch das ganze Experiment noch einmal durchführen und von Anfang an nur die phosphorylierten AKT-Proteine mit den Antikörpern taggen. Auf diese Weise hätte man nicht das Problem, dass die Proteine schon mit einem Antikörper inkubiert worden waren.

Einen ähnlichen Effekt kann man bei dem GLUT4-Protein sehen. Im Vergleich zu anderen Studien, welche im Kapitel *5.1 Interpretation und Vergleich der Ergebnisse* angesprochen wurden, lässt die Proteinexpression an sich nicht darauf schliessen, ob sich die Insulinsensitivität verbessert. GLUT4 trägt nämlich hauptsächlich durch die verbesserte Translokation zu einer besseren Glukoseaufnahme bei. In einem nächsten Schritt müsste man also untersuchen, ob sich die Translokation von GLUT4 verbessert hat.

Eine bessere Insulinsensitivität ist nicht die einzige positive Wirkung auf einen Typ 2 Diabetes.

¹³²So könnte sich EGCG beispielsweise auch positiv auf die Krankheit auswirken, indem es die Differenzierung der Vorläuferzellen in Fettzellen hemmt und somit zu einem geringeren Gewicht führt. Man müsste in dem Experiment also mehr Aspekte miteinbeziehen.

Dieses Experiment wurde nicht mit insulinresistenten Zellen durchgeführt. Um explizit auf eine verbesserte Insulinsensitivität bei einer Typ-2-Diabetes-Erkrankung schliessen zu können, müsste man den Versuch nochmals mit insulinresistenten Zellen durchzuführen.

¹³³Bei den C2C12-Zellen lag eine zu geringe Proteinkonzentration vor. Man könnte versuchen, das Maximum an Proteinen aus den Zellen herauszuholen, indem man den Transfer auf die Western-Blot-Membran über Nacht laufen liesse oder allgemein die Inkubationszeiten verlängerte.

In einem nächsten Versuch müsste man die Konzentrationen für einen maximalen Effekt optimieren.

¹³⁴Vor allem bei Resveratrol müsste man basierend auf den Ergebnissen von anderen Studien, die Zellen über einen längeren Zeitraum mit kleineren Dosen behandeln. Auf diese Weise würde man vielleicht einen besseren Effekt erzielen.

Die Zellkulturen wurden in diesem Experiment alle nur über 24 Stunden mit den

Nahrungsbestandteilen behandelt. Eine einmalige Behandlung ist jedoch nicht so aussagekräftig wie eine Langzeitige. Daher sollten die Zellkulturen den Treatments in einem zukünftigen Experiment länger ausgesetzt werden.

Man müsste den Versuch auch mehrere Male wiederholen und ihn anhand der vorherigen Ergebnisse optimieren.

¹³² Lu et al. (2017)

¹³³ Kellenberger, Alexandra (2024): C2C12- und 3T3-L1-Zellen. Persönliche Mitteilung, 23.07.2024

¹³⁴ Lee und Kim (2013)

Um zukünftig fehlende Banden bei Western Blots zu vermeiden und aussagekräftigere Aussagen nach dem qPCR zu erhalten, könnte auf ein noch genaueres Pipettieren, eine noch hygienischere Arbeitsweise, die Sicherstellung von höchster Sterilität während der Zellkultur und eine Verhinderung von Kontaminationen geachtet werden.

5.2.2 Verwendete Materialien

In diesem Experiment wurden für eine Kontrollgruppe jeweils drei gleiche Samples vorbereitet, welche in den Resultaten teilweise sehr hohe Standardabweichungen aufzeigten. Mehr Proben wären repräsentativer gewesen und hätten aussagekräftigere Ergebnisse erlaubt.

¹³⁵Es lag im Vergleich zu den 3T3-L1-Zellen eine sehr geringe C2C12-Proteinkonzentration vor. Dies lag höchstwahrscheinlich an der bereits angesprochenen zu kleinen Plattengrösse. Es wurden für beide Zelltypen jeweils zwei 12-Wellplatten verwendet, um identische Bedingungen zu schaffen und damit jeweils die Proben und die Kontrollen auf der gleichen Platte getestet werden konnten. Da die Muskelzellen Monolayer sind und mit ihrer Länge ein grösseres Volumen einnehmen, lagen sie schliesslich in einer zu geringen Form vor. Fettzellen wachsen hingegen auch übereinander und werden nicht so lange, so gab es viel mehr Fettzellen pro Well. Man müsste den Versuch also nochmals wiederholen und für eine grössere Proteinkonzentration für die C2C12-Zellkultur grössere Wells benutzen.

Bei den 3T3-L1¹³⁶- und C2C12¹³⁷-Zellkulturen handelt es sich um Zellen von Mausembryonen. Um eine richtige Aussage über eine Verbesserung der Insulinsensitivität bei einer Diabetes-Typ-2-Erkrankung machen zu können, müsste man eine Studie mit Betroffenen oder mit menschlichen Zellkulturen durchführen.

5.3 Weiterführende Hypothesen und mögliche Ernährungstherapien für Diabetiker

In den folgenden Unterkapitel werden reine Hypothesen diskutiert, welche weder geprüft noch klinisch getestet sind. Sie stellen somit mögliche zukünftige Therapiemöglichkeiten dar, müssten aber vor einer Anwendung aus Sicherheitsgründen gründlich getestet werden.

5.3.1 EGCG als Diabetestherapie

Eine weiterführende Hypothese zu EGCG ist, dass es sich in den 3T3-L1-Fettzellen nicht positiv auf die Insulinsensitivität auswirkt.

¹³⁸Dafür hemmt es die Expression von PPAR- γ und verhindert somit sowohl die Entwicklung von Vorläuferzellen in reife Fettzellen als auch die Fettansammlung.

¹³⁹Es hemmt auch die Translokation von GLUT4 und führt zu einer geringeren Glukoseaufnahme. So könnte es in Zukunft eine Therapiemöglichkeit in Form von Grüntee, Matcha oder Kapseln bei einer Typ-2-Diabetes-Erkrankung sein, indem es hilft das Gewicht zu reduzieren und den hohen Blutzucker zu bekämpfen.

Um die Hypothese zu überprüfen, müsste man folgenden Fragestellungen nachgehen:

1. Reduziert EGCG in 3T3-L1- und in menschlichen Fettzellen die Expression von PPAR- γ ?
2. Hemmt EGCG in 3T3-L1- und in menschlichen Fettzellen die Translokation von GLUT4?

¹³⁵ Kellenberger (2024)

¹³⁶ ATCC (2024): CL-173 Product Sheet – 3T3-L1. ATCC, Manassas

¹³⁷ ATCC (2024): CRL-1772 Product Sheet – C2C12. ATCC, Manassas

¹³⁸ Lu et al. (2017)

¹³⁹ Ueda et al. (2010)

3. Welche Menge an EGCG müssen Typ-2-Diabetiker täglich zu sich nehmen, um die optimalen Ergebnisse zu erzielen?

In C2C12-Muskelzellen fördert EGCG jedoch die Insulinsensitivität. Es führt zu einer höheren AKT- und GLUT4-Proteinexpression. Dies bekräftigt die Hypothese, dass es sich bei EGCG um ein mögliches Diabetes-Typ-2-Therapeutikum handeln könnte, indem es die Glukoseaufnahme in die Muskelzellen fördert. Dies könnte vor allem bei einer Typ-2-Diabetes-Erkrankung von Vorteil sein. Es könnte den insulinresistenten Zellen dabei helfen, wieder sensitiver auf das Insulin zu reagieren und zu einer besseren Glukoseaufnahme führen. Um diese Hypothese zu bewähren, müsste jedoch folgenden Fragestellungen nachgegangen werden:

1. Erhöht EGCG in C2C12- und in menschlichen Muskelzellen die phosphorylierte AKT-Konzentration?
2. Verbessert EGCG in C2C12- und in menschlichen Muskelzellen die Translokation von GLUT-4?
3. Kann bei regelmässiger Einnahme von EGCG die Glukoseaufnahme in insulinresistenten Muskelzellen erhöht werden?

5.3.2 DHA als Diabetestherapie

¹⁴⁰DHA begünstigt in 3T3-L1-Fettzellen den Zelltod, führt zu einem niedrigeren Lipidgehalt und verringert somit deren Lebensfähigkeit. Somit könnte es sich positiv auf eine Diabetes-Typ-2-Erkrankung auswirken, indem es Fettgewebe reduziert und somit zu einem geringeren Gewicht führt. Auf diese Weise könnten Betroffene ihren hohen Blutzuckerspiegel in den Griff bekommen. Um diese Hypothese zu bestätigen, müsste man sich jedoch mit den folgenden Fragestellungen auseinandersetzen:

1. Begünstigt DHA in 3T3-L1- und in menschlichen Fettzellen den Zelltod?
2. Führt DHA in 3T3-L1- und in menschlichen Fettzellen zu einem tieferen Lipidgehalt?
3. Wie hoch muss die DHA-Konzentration auf Tagesbasis für die optimalen Ergebnisse sein?

Eine andere Hypothese wäre, dass DHA in 3T3-L1-Zellen zu einer höheren GLUT4-Translokation führt und somit die Insulinsensitivität verbessert. Somit könnte es sich in Form von nahrungsergänzenden Kapseln oder in natürlichen Lebensmitteln wie Lachs, Thunfisch oder Makrelen positiv auf eine Typ-2-Diabetes-Erkrankung auswirken. Um diese Hypothese zu überprüfen, müsste jedoch folgenden Fragestellungen nachgegangen werden:

1. Erhöht DHA in insulinresistenten 3T3-L1- und menschlichen Fettzellen die GLUT4-Translokation?
2. Wie hoch müsste die tägliche DHA-Dosis für optimale Ergebnisse sein?

¹⁴⁰ Wang et al. (2016)

5.3.3 Resveratrol als Diabetestherapie

¹⁴¹Resveratrol blockiert in 3T3-L1-Fettzellen die AKT- und MAPK-Signale und stoppt die Zellteilung. Somit stört es die Entwicklung von Fettzellen und führt bei einer Diabetes-Typ-2-Erkrankung zu einem geringeren Gewicht, welches automatisch auch bessere Blutzuckerwerte mit sich bringt.

Bei einer langzeitigen Behandlung mit geringen Resveratrol-Dosen kommt es zu einer verbesserten Insulinsensitivität durch eine erhöhte Konzentration an phosphoryliertem AKT¹⁴² und eine bessere GLUT4-Translokation.¹⁴³ Somit könnte Resveratrol bei Diabetikern die Glukoseaufnahme in die Zellen erhöhen, indem es die insulinresistenten Fettzellen wieder sensibler auf das Insulin macht. Um diese Hypothesen zu bestätigen, müsste man jedoch folgende Fragestellungen untersuchen:

1. Blockiert Resveratrol in 3T3-L1- und in menschlichen Fettzellen die AKT- und MAPK-Signale und stoppt es somit die Zellteilung?
2. Erhöht eine langzeitige Behandlung mit geringen Resveratrol-Dosen die Konzentration an phosphoryliertem AKT in insulinresistenten 3T3-L1- und menschlichen Fettzellen?
3. Verbessert eine langzeitige Behandlung mit geringen Resveratrol-Dosen die Translokation in insulinresistenten 3T3-L1- und menschlichen Fettzellen?

¹⁴⁴Eine weitere Hypothese wäre, dass Resveratrol in Muskelzellen AKT aktiviert und über den AKT-Signalweg zu einer höheren GLUT4-Translokation führt. Somit kann die Zelle unabhängig von Insulin vermehrt Glukose aufnehmen und einen zu hohen Blutzucker abbauen. Auf diese Weise könnte Resveratrol in Form von Nahrungsergänzungsmitteln oder natürlichen Lebensmitteln wie Trauben, Erdnüssen oder Resveratrol-haltigen Beeren eine mögliche Therapie für Typ-2- und 1-Diabetiker sein. Um diese Hypothese zu überprüfen, müsste man jedoch zuerst folgende Fragestellungen überprüfen:

1. Aktiviert Resveratrol in insulinresistenten Muskelzellen AKT?
2. Führt Resveratrol in insulinresistenten Muskelzellen zu einer höheren GLUT4-Translokation?
3. Wie hoch muss die tägliche Dosis an Resveratrol für eine ideale Wirkung sein?

¹⁴¹ Mitterberger und Zwerschke (2013)

¹⁴² Lee und Kim (2013)

¹⁴³ Lee und Kim (2013)

¹⁴⁴ Penumathsa (2008)

6 Zusammenfassung

¹⁴⁵Diabetes Typ 2 ist auch unter dem Namen «Zuckerkrankheit» bekannt. Es handelt sich hierbei um eine chronische Stoffwechselerkrankung, die einen erhöhten Blutzuckerspiegel mit sich bringt. Der Zucker wird über das Essen aufgenommen, setzt seinen Weg im Blutkreislauf fort und gelangt schliesslich mithilfe von Insulin in die Körperzellen, wo er als Brennstoff dient. Das Insulin wird von den Betazellen in der Bauchspeicheldrüse produziert und dient bei der Glukoseaufnahme wie eine Art Schlüssel, das den Insulinsignalweg aktiviert und somit der Glucose ins Innere der Zelle verhilft. Es aktiviert das Protein AKT. Dieses verbindet die Insulinsignale mit den Effektorproteinen, welche daraufhin GLUT4 an die Zelloberfläche steuern.¹⁴⁶ GLUT4 ist der Glukosetransporter, welcher somit die Glukoseaufnahme in die Zelle steuert.¹⁴⁷ Die Aktivatoren des Gens PPAR- γ fördern die Transkription von GLUT4. PPAR- γ induziert auch Gene, welche die Entwicklung von Vorläuferzellen zu reifen Fettzellen regulieren.¹⁴⁸ Das Gen PGC-1 α verbindet die einzelne Insulinsignalwege in Skelettmuskelzellen und hält die mitochondriale Funktion aufrecht.¹⁴⁹

Auf diese Weise hilft Insulin den Blutzuckerspiegel konstant zu halten.

Eine langfristige ungesunde Ernährung in Kombination mit Bewegungsmangel und Adipositas können zu einer sogenannten Insulinresistenz führen und damit eine Typ-2-Diabetes-Erkrankung manifestieren. Bei einer Insulinresistenz ist die Glukoseaufnahme in die Muskel- und Fettzellen nur erschwert möglich, weil die Zellen durch den langfristig hohen Blutzuckerspiegel resistent gegen das Insulin geworden sind. Somit wird ein höherer Insulinspiegel für die Glukoseverwertung in den Zellen benötigt. Typ-2-Diabetiker produzieren anfangs zwar noch immer Insulin, im Verhältnis zur benötigten Menge jedoch zu wenig. Bei einer Insulinresistenz können die Zellen den Zucker nicht mehr richtig aufnehmen.

Bei der Manifestation der Krankheit sind auch erbliche Faktoren involviert. Man kann sie jedoch durch eine ausgewogene Ernährung und aktiver Bewegung vorbeugen.

Diese Arbeit wurde im Rahmen einer Maturitätsarbeit in der Fachschaft Biologie durchgeführt und beschäftigt sich mit folgender Fragestellung:

Erhöhen die verschiedenen Nahrungsbestandteile Epigallocatechingallat (EGCG, ein Grünteeextrakt), Docosahexaensäure (DHA, eine Omega-3-Fettsäure) und Resveratrol (ein Polyphenol) die Proteinexpression von AKT und GLUT4 und die Genexpression von GLUT4, PPAR- γ und PGC-1 α in Fett-(3T3-L1) und Muskelzellen (C2C12)?

Auf diese Weise kann ermittelt werden, ob sich die Insulinsensitivität in den zwei Zelltypen durch die Einnahme dieser Nahrungsmittelbestandteile verbessert.

Die Insulinsensitivität gibt an, wie gut die Zellen auf das Peptidhormon Insulin reagieren.¹⁵⁰ Je mehr der genannten Proteine und Gene aufzufinden sind, desto besser ist die Insulinsensitivität und desto mehr Zucker kann aus dem Blut aufgenommen werden. Wenn sich die Nahrungsmittelbestandteile positiv auf die Sensitivität auswirken, können sie vorteilhaft in der Diät eines Typ-2-Diabetikers sein, da sie die Wirkung des Insulins verbessern.

Die Hypothesen waren, dass sich sowohl EGCG als auch Resveratrol durch eine erhöhte Proteinexpression von AKT und GLUT4 und eine erhöhte Genexpression von GLUT4 und PGC-1 α

¹⁴⁵ BAG (2024): Diabetes. <https://www.bag.admin.ch/bag/de/home/krankheiten/krankheiten-im-ueberblick/diabetes.html> (18.10.2024)

¹⁴⁶ Le et al. (2023)

¹⁴⁷ Antwerpes et al. (2023)

¹⁴⁸ Antwerpes et al. (2024)

¹⁴⁹ Pagel-Langenickel et al. (2008)

¹⁵⁰ Nolte (2024)

positiv auf die Insulinsensitivität auswirken würden. Es wurde bei diesen zwei Substanzen jedoch eine geringere Genexpression von PPAR- γ erwartet. Auf diese Weise würde es zu einer reduzierten Differenzierung von Vorläuferzellen in Adipozyten kommen, womit die Fettbildung gehemmt und der Fettabbau gefördert werden würde. So könnte es sich indirekt positiv auf die Insulinresistenz auswirken. Bei DHA wurde eine erhöhte Expression von allen getesteten Proteinen und Genen erwartet.

Das Experimentdesign und die angewandten Methoden wurden von Alexandra Kellenberger in der Abteilung von Professor Christian Wolfrum im Laboratory of Translational Nutrition Biology in der ETH Zürich entwickelt.

Zur Überprüfung der Hypothesen wurden zuerst die entsprechenden Zellkulturen aus Mausembryonen gezüchtet.

Danach wurden die Zellkulturen mit den Compounds EGCG, DHA, Resveratrol und Dimethylsulfoxid (als Kontrolle) über 24 Stunden behandelt.

Nach der Behandlung erfolgte das zweistündige Fasten in einem KRH-Puffer. Während dieser Zeit erhielten die Zellen weder Nährstoffe noch ein Serum oder Zucker. Das Fasten brachte die Zellen in einen metabolischen Basalzustand. Somit wurde eine noch sensitivere Insulinantwort erhofft.

Anschliessend wurde jeweils die Hälfte der Zellen eine Stunde lang mit Insulin stimuliert, um den Insulinsignalweg zu aktivieren. Auf diese Weise würde man später beobachten können, welchen Effekt die vorhergegangenen Behandlungen mit den verschiedenen Substanzen auf die Insulinantwort hatten. In den Zellen, welche der Insulinstimulation nicht unterzogen wurden, sollte der Insulinsignalweg gar nicht oder nur sehr gering aktiviert werden. Somit sollte man später ohne eine Einwirkung des Insulins die Effekte der verschiedenen Nahrungsbestandteilen auf die Zellen beobachten können.

Nach der Insulinstimulation wurden die Zellen für das weitere Vorgehen geerntet. Die resultierende Insulinsensitivität wurde anhand von den entsprechenden Proteinen und RNA-Abschnitten getestet, welche im Insulinsignalweg beteiligt sind.

Für die Proteinanalyse wurde zuerst eine Totalmengenbestimmung an Proteinen in Form eines BCA-Assays durchgeführt. Daraufhin wurde in der Gesamtzahl der Proteine mit Western Blots nach den spezifischen Proteinen gesucht.

Für die RNA-Analyse wurde das qPCR-Verfahren angewendet.

In den C2C12-Muskelzellen führte EGCG mit Insulinstimulation zu einer signifikant ($p < 0.05$) höheren AKT-Expression im Vergleich zur Kontrollgruppe, was die Hypothese bekräftigt.

Bei der GLUT4-Expression in den Muskelzellen zeigten sich ähnliche Ergebnisse. Auch hier war die GLUT4-Expression mit EGCG signifikant ($p < 0.05$) höher.

Somit fördert EGCG in den Muskelzellen die Insulinsensitivität und könnte sich positiv auf eine Diabetes-Typ-2-Krankheit auswirken, indem es den insulinresistenten Zellen dabei hilft, wieder sensibler auf das Insulin zu reagieren und die Glukose besser aufzunehmen.

Auf diese Weise liefert diese Arbeit wertvolle Erkenntnisse über das Potenzial von EGCG. Der Grünteeextrakt fördert die Insulinsensitivität in Muskelzellen und könnte dadurch Typ-2-Diabetikern helfen, ihre Blutzuckerwerte auf eine natürliche Art und Weise zu verbessern. Somit stellt EGCG nicht nur eine mögliche gesunde Alternative für einen besseren Lebensstil dar, sondern bietet auch wertvolle Ansatzpunkte für weitere Forschungen.

7 Literatur- und Quellenverzeichnis

7.1 Printliteratur

ATCC (2024): CL-173 Product Sheet – 3T3-L1. ATCC, Manassas
ATCC (2024): CRL-1772 Product Sheet – C2C12. ATCC, Manassas
Riedl, Matthias (2023): HEILEN SIE IHREN DIABETES. 3. Auflage, GRÄFE UND UNZER, München
Schmeisl, Gerhard W. (2019): Schulungsbuch Diabetes. 9. Auflage, ELSEVIER, München
Schmiedel, Volker (2022): TYP-2-DIABETES Heilung ist möglich. 4. Auflage, TRIAS, Stuttgart
Schweizerische Gesellschaft für Ernährung (2015): Ernährung und Diabetes mellitus Typ 2, Wissen, was essen. Bern
Willms, Berend (2013): Was ein Diabetiker alles wissen muss. 9. Auflage, © Verlag Kirchheim + Co GmbH, Bad Lauterberg im Harz

7.2 Mündliche Überlieferungen

Flüeler, Clarissa (2024): Die optimale Ernährung bei einer Typ-2-Diabetes-Erkrankung. Persönliche Mitteilung, 22.09.2024,
Kellenberger, Alexandra (2024): C2C12- und 3T3-L1-Zellen. Persönliche Mitteilung, 22.07.2024
Kellenberger, Alexandra (2024): C2C12- und 3T3-L1-Zellen. Persönliche Mitteilung, 23.07.2024

7.3 Internetseiten

(Spritze des Titelbilds von hood.de: SFM ® Insulinspritzen (o.J.): 1ml U-100 30G 8mm Einmalspritzen (100).
<https://www.hood.de/i/sfm-insulinspritzen-1ml-u-100-30g-8mm-einmalspritzen-100--80516946.htm> (02.11.2024))
AAT Bioquest (2022): What are the common transcription primers? <https://www.aatbio.com/resources/faq-frequently-asked-questions/What-are-the-common-reverse-transcription-primers> (14.09.2024)
Abels, Benjamin et al. (2024): Zytokin. <https://flexikon.doccheck.com/de/Zytokin> (02.11.2024)
Aertsen, Ad et al. (2000): Adaptorproteine. <https://www.spektrum.de/lexikon/neurowissenschaft/adaptorproteine/14388> (02.11.2024)
Antwerpes, Frank et al. (2022): Proteinkinase B. https://flexikon.doccheck.com/de/Proteinkinase_B (22.09.2024)
Antwerpes, Frank et al. (2023): GLUT4.
<https://flexikon.doccheck.com/de/GLUT4#:~:text=GLUT4%20ist%20ein%20Glukosetransporter%2C%20der,Skelettmuskelin%2C%20Herzmuskelzellen%20und%20Fettzellen%20reguliert.> (22.09.2024)
Antwerpes, Frank et al. (2024a): Intensivierte konventionelle Insulintherapie.
[https://flexikon.doccheck.com/de/Intensivierte_konventionelle_Insulintherapie#:~:text=Die%20intensivierte%20konventionelle%20Insulintherapie%20\(ICT,Insulin%20vor%20den%20Mahlzeiten%20verabreicht.](https://flexikon.doccheck.com/de/Intensivierte_konventionelle_Insulintherapie#:~:text=Die%20intensivierte%20konventionelle%20Insulintherapie%20(ICT,Insulin%20vor%20den%20Mahlzeiten%20verabreicht.) (14.10.2024)
Antwerpes, Frank et al. (2024b): Mitochondriale Biogenese. https://flexikon.doccheck.com/de/Mitochondriale_Biogenese (02.11.2024)
Antwerpes, Frank et al. (2024c): Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor. https://flexikon.doccheck.com/de/Peroxisom-Proliferator-aktivierter_Rezeptor#cite_note-dual-2 (22.09.2024)
Antwerpes, Frank et al. (2024d): PGC-1 α . [https://flexikon.doccheck.com/de/PGC-1 \$\alpha\$](https://flexikon.doccheck.com/de/PGC-1%20alpha) (22.09.2024)
Apostolova, Nadezda et al. (2020): Mechanisms of action of metformin in type 2 diabetes: Effects on mitochondria and leukocyte-endothelium interactions. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32535544/> (26.09.2024)
Applied Biosystems (2010): Fast SYBR® Green Master Mix Protocol. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/cms_046776.pdf (14.09.2024)
BAG (2024): Diabetes. <https://www.bag.admin.ch/bag/de/home/krankheiten/krankheiten-im-ueberblick/diabetes.html> (18.10.2024)
Bajaj, Mandeep (2012): Nicotine and insulin resistance: when the smoke clears. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23172960/> (21.09.2024)
Bakhtiyari, Salar et al. (2019): The Phosphorylation of IRS1^{S307} and Akt^{S473} Molecules in Insulin-Resistant C2C12 Cells Induced with Palmitate Is Influenced by Epigallocatechin Gallate from Green Tea. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30891789/> (16.10.2024)
Barber, Robert D et al. (2005): GAPDH as a housekeeping gene: analysis of GAPDH mRNA expression in a panel of 72 human tissues. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15769908/> (01.11.2024)
BARTELT (2024): Zentrifugationswerte. <https://bartelt.io/weblabxtools-centrifugation-values/#> (01.11.2024)
Bensaccount (2009): Western blot transfer.
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/93/Western_blot_transfer.png?20100913092654 (10.02.2025). Lizenz: CC-BY-3.0
Bio-Rad Laboratories (2024): Normalization of Real-Time PCR Fluorescence Data with ROX Passive Reference Dye. <https://www.bio-rad.com/en-ch/applications-technologies/normalization-real-time-pcr-fluorescence-data-with-rox-passive->

reference-

- [dye?ID=MW472W15#:~:text=ROX%20\(carboxy%2DX%2Drhodamine,optical%20path%20variations%20among%20wells](#) . (14.09.2024)
- Bio-Rad Laboratories (2024): StarBright™ Blue 520 Goat Anti-Rabbit IgG, 400 µl #12005869. <https://www.bio-rad.com/en-ch/sku/12005869-starbright-blue-520-goat-anti-rabbit-igg-400-ul?ID=12005869> (14.09.2024)
- Blättler, Martin (2024): Führt Zucker zu Übergewicht? <https://gymperformance.ch/wp-content/uploads/2018/11/Auswirkung-von-Zucker-auf-Blutzuckerspiegel.png> (21.09.2024)
- BLV (2024): Die Schweizer Lebensmittelpyramide. <https://www.blv.admin.ch/blv/de/home/lebensmittel-und-ernaehrung/ernaehrung/empfehlungen-informationen/schweizer-ernaehrungsempfehlungen.html#> (08.02.2025)
- Brasný, Pál et al. (2011): Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21385509/> (25.09.2024)
- Breuss, Johannes M et al. (2019): <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30934670/> (21.09.2024)
- BruceBlaus (2015): Insulin Delivery Devices (bearbeitet: zugeschnitten auf Insulinpumpe). https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/33/Insulin_Delivery_Devices.png?20151105201824 (10.02.2025). Lizenz: CC-BY-SA-4.0
- Bundesamt für Statistik (2023): Diabetes. <https://www.bfs.admin.ch/bfs/de/home/statistiken/gesundheitszustand/krankheiten/diabetes.html> (19.09.2024)
- Cahn, Avivit und Raz, Itamar (2013): Emerging gliptins for type 2 diabetes. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23725569/> (26.09.2024)
- Capel, Frédéric et al. (2015): DHA at nutritional doses restores insulin sensitivity in skeletal muscle by preventing lipotoxicity and inflammation. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26007287/> (25.09.2024)
- Capricorn Scientific (2024): Penicillin/Streptomycin (Pen/Strep), 100x. [https://www.capricorn-scientific.com/de/shop/penicillin-streptomycin-pen-strep-100x~p1205#:~:text=Penicillin%2FStreptomycin%20\(Pen%2FStrep\)%20ist%20eine%20ready%2D,mit%20grammpositiven%20und%20gramnegativen%20Bakterien](https://www.capricorn-scientific.com/de/shop/penicillin-streptomycin-pen-strep-100x~p1205#:~:text=Penicillin%2FStreptomycin%20(Pen%2FStrep)%20ist%20eine%20ready%2D,mit%20grammpositiven%20und%20gramnegativen%20Bakterien). (01.11.2024)
- Carnagarin, Revathy et al. (2015): Molecular aspects of glucose homeostasis in skeletal muscle – A focus on the molecular mechanisms of insulin resistance. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720715300708> (02.11.2024)
- Chan, Cheuk Ying et al. (2011): (-)-Epigallocatechin-3-gallate blocks 3T3-L1 adipose conversion by inhibition of cell proliferation and suppression of adipose phenotype expression. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21978785/> (16.10.2024)
- Chen, Cai et al. (2017): Association between omega-3 fatty acids consumption and the risk of type 2 diabetes: A meta-analysis of cohort studies. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5497038/> (21.09.2024)
- Colberg, Sheri R. et al. (2010): Exercise and Type 2 Diabetes. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2992225/> (25.09.2024)
- Comerford, Kevin B und Pasin, Gonca (2016): Emerging Evidence for the Importance of Dietary Protein Source on Glucoregulatory Markers and Type 2 Diabetes: Different Effects of Dairy, Meat, Fish, Egg, and Plant Protein Foods. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27455320/> (22.09.2024)
- Cox, Rafael A. und García-Palmieri, Mario R. (1990): Chapter 31 Cholesterol, Triglycerides, and Associated Lipoproteins. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK351/> (02.11.2024)
- Devang, Nayana et al. (2021): Chapter Five - Pseudokinasen: Prospects for expanding the therapeutic targets armamentarium. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1876162320300651> (02.11.2024)
- Diabinfo (o.J.): Metabolisches Syndrom: Vorbeugen, erkennen, gegensteuern. <https://www.diabinfo.de/vorbeugen/was-kann-ich-tun/metabolisches-syndrom.html#:~:text=Es%20bezeichnet%20vielmehr%20das%20gemeinsame,Blutzucker%2C%20erhöhte%20Blutfette%20und%20Bluthochdruck>. (01.11.2024)
- Dodegge, Miriam (2024): Haushaltsgen. <https://flexikon.doccheck.com/de/Haushaltsgen> (28.08.2024)
- Dondi, Elisabetta et al. (2020): The adaptor protein APS modulates BCR signalling in mature B cells. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0898656820301509> (02.11.2024)
- Fisch1917 (2004): Haut2pur. <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/da/Haut2pur.png?20150509151229> (09.02.2025). Lizenz: CC-BY-SA-3.0-migrated
- Flores-Riveros, JR et al. (1993): Insulin down-regulates expression of the insulin-responsive glucose transporter (GLUT4) gene: effects on transcription and mRNA turnover. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC45693/> (16.10.2024)
- Forester, Sarah C. et al. (2012): Inhibition of starch digestion by the green tea polyphenol, (-)-epigallocatechin-3-gallate. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mnfr.201200206> (21.09.2024)
- Franchetti, Léo et al. (2024): Docosahexaensäure. <https://flexikon.doccheck.com/de/Docosahexaensäure> (21.09.2024)
- Freyer, Timo et al. (2024): Bovines Serumalbumin. https://flexikon.doccheck.com/de/Bovines_Serumalbumin (01.11.2024)
- Fullerton, Morgan D. und Steinberg, Gregory R. (2010): SIRT1 Takes a Backseat to AMPK in the Regulation of Insulin Sensitivity by Resveratrol. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2828657/> (25.09.2024)
- Galdón Sanz-Pastor, Alba et al. (2024): Current barriers to initiating insulin therapy in individuals with type 2 diabetes. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38559691/> (26.09.2024)

Galliardt, Wladimir et al. (2024): Fetales Kälberserum. https://flexikon.doccheck.com/de/Fetales_Kälberserum (01.11.2024)

Graf von Westphalen, Georg et al. (21.03.2024): https://flexikon.doccheck.com/de/Reverse_Transkriptase (14.09.2024)

Haffner, SM et al. (1996): Increased insulin resistance and insulin secretion in nondiabetic African-Americans and Hispanics compared with non-Hispanic whites. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8635647/> (20.09.2024)

Harrison, Mark A.A. et al. (2022): Establishing the adipose stem cell identity: Characterization assays and functional properties. <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/ibmx#:~:text=3%2Disobutyl%2D1%2Dmethylxanthine,the%20transcription%20of%20C%2FEBPδ>. (01.11.2024)

Higashida, Kazuhiko et al. (2013): Effects of Resveratrol and SIRT1 on PGC-1 α Activity and Mitochondrial Biogenesis: A Reevaluation. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3706311/> (25.09.2024)

HIMEDIA® (2023): Krebs-Ringer Phosphate HEPES Buffer w/ 20mM HEPES buffer, Calcium and Magnesium w/o Phenol red. <https://www.himedialabs.com/us/ts1152-krebs-ringer-phosphate-hepes-buffer-w-20mm-hepes-buffer-calcium-and-magnesium-w-o-phenol-red.html> (01.11.2024)

Hintzpeter, Jan et al. (2014): Green Tea and One of Its Constituents, Epigallocatechin-3-gallate, Are Potent Inhibitors of Human 11 β -hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3880318/> (21.09.2024)

Hircin, Emrah et al. (2024): Gluconeogenese. <https://flexikon.doccheck.com/de/Gluconeogenese> (02.11.2024)

Holschbach, Martin (2024): Western Blot: Gelelektrophorese für Proteine. <https://www.antikoerper-online.de/resources/17/1224/western-blot-gelelektrophorese-fuer-proteine/> (28.09.2024)

Hopewell (2023): Milli-Q Water: What It Is and Why It's Important in Laboratories. <https://purehydrosphere.com/milli-q-water-what-it-is-and-why-its-important-in-laboratories.html> (01.11.2024)

Horrocks, LA und Yeo, YK (1999): Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10479465/> (21.09.2024)

Imamura, Fumiaki et al. (2016): Effects of Saturated Fat, Polyunsaturated Fat, Monounsaturated Fat, and Carbohydrate on Glucose-Insulin Homeostasis: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomised Controlled Feeding Trials. <https://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1002087> (21.09.2024)

Ismail, Leila et al. (2021): Association of risk factors with type 2 diabetes: A systematic review. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8050730/> (20.11.2024)

Kearney, Alison L. et al. (2021): Akt phosphorylates insulin receptor substrate to limit PI3K-mediated PIP3 synthesis. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34253290/> (16.10.2024)

Kim, Hyo-Sup et al. (2008): Rosiglitazone stimulates the release and synthesis of insulin by enhancing GLUT-2, glucokinase and BETA2/NeuroD expression. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18191635/> (02.11.2024)

Kim, Hyo-Sup et al. (2013): PPAR- γ activation increases insulin secretion through the up-regulation of the free fatty acid receptor GPR40 in pancreatic beta-cells. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23372643/> (22.09.2024)

Kunz, Vivien (2024a): Titelbild: Süsse Versuchung. <https://procreate.com> (27.11.2024)

Kunz, Vivien (2024b): Insulinsignalweg. <https://BioRender.com> (22.11.2024)

Kunz, Vivien (2024c): Insulinsignalweg. <https://BioRender.com> (22.11.2024)

Le, Thi Kim Chung et al. (2023): Insulin signaling and ist application. <https://www.frontiersin.org/journals/endocrinology/articles/10.3389/fendo.2023.1226655/full> (22.09.2024)

Lee, Haemi und Kim, Jae-woo (2013): High-dose Resveratrol Inhibits Insulin Signaling Pathway in 3T3-L1 Adipocytes. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4390751/> (16.10.2024)

Lee, Mak-Soon et al. (2016a): Effects of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid on Mitochondrial DNA Replication and PGC-1 α Gene Expression in C2C12 Muscle Cells. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5216882/> (25.09.2024)

Lee, Mak-Soon et al. (2016b): Green Tea (-)-Epigallocatechin-3-Gallate Induces PGC-1 α Gene Expression in HepG2 Cells and 3T3-L1 Adipocytes. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4827637/> (25.09.2024)

Li, Haoyu et al. (2021): DHA/EPA Improves GLUT4 Translocation, Glycogen Synthesis and Aerobic Glycolysis in Skeletal Muscle of db/db Mice. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8181834/> (25.09.2024)

Lilly_M (2011): Western blot wet transfer system Criterion. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/df/Western_blot_wet_transfer_system_Criterion-02.jpg/1599px-Western_blot_wet_transfer_system_Criterion-02.jpg?20110207200455 (12.02.2025). Lizenz: CC-BY-SA-3.0 / GFDL-1.2.

Lipp, Peter (o.J.): EGCG. https://www.uniklinikum-saarland.de/de/einrichtungen/fachrichtungen/zellbiologie/seminar_zellbiologie_20192020/kaffee_tee_mehr_ist_besser/inhaltsstoffe/egcg#:~:text=Was%20ist%20EGCG%3F,Stoffe%20verlangsamt%20oder%20komplett%20verhindert. (21.09.2024)

Lu, Yi et al. (2017): Epigallocatechin-3-gallate suppresses differentiation of adipocytes via regulating the phosphorylation of FOXO1 mediated by PI3K-AKT signaling in 3T3-L1 cells. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29484120/> (16.10.2024)

Ma, Nan und Zhang, Youzhi (2022): Effects of resveratrol therapy on glucose metabolism, insulin resistance, inflammation, and renal function in the elderly patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled clinical trial protocol. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9371579/> (21.09.2024)

Maki, Giovanni und NHLBI (2009): Pancreasactiononbloodsugars.gif. <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8d/Pancreasactiononbloodsugars.gif?20091106131138> (29.03.2025). Lizenz: CC-BY-SA-3.0

Manning, Brendan D (2013): Insulin Signaling: Inositol Phosphates Get Into the Akt. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3693466/#R2> (02.11.2024)

MEDICOVER DIAGNOSTICS (o.J.): Methoden & Technologien, Polymerasekettenreaktion, PCR. <https://www.medicover-diagnostics.de/unternehmen/methoden-technologien/polymerasekettenreaktion-pcr#> (14.09.2024)

Merck (2024): Nukleasen (DNasen und RNasen): <https://www.sigmaaldrich.com/CH/de/products/protein-biology/proteins-and-enzymes/nucleases?srsId=AfmBOor7ddYACLZ76ZQnzFOYSGP12GoI7jpeWo0b8zcrhEL0IHw5bso> (14.09.2024)

Merz, Sebastian et al. (2023): Proteinkinase. <https://flexikon.doccheck.com/de/Proteinkinase> (02.11.2024)

Mitterberger, Maria C und Zwerschke, Werner (2013): Mechanisms of resveratrol-induced inhibition of clonal expansion and terminal adipogenic differentiation in 3T3-L1 preadipocytes. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23525482/> (16.10.2024)

Naeini, Zeinab (2020): Effects of DHA-enriched fish oil on gene expression levels of p53 and NF- κ B and PPAR- γ activity in PBMCs of patients with T2DM: A randomized, double-blind, clinical trial. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0939475319304119> (25.09.2024)

Nauck, Michael A et al. (2020): GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes – state-of-the-art. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33068776/> (26.09.2024)

Nicolay, Nils et al. (2024): G-Protein. <https://flexikon.doccheck.com/de/G-Protein#:~:text=1.-,Definition,GDP%20und%20GTP%20zu%20binden.> (02.11.2024)

Nolte, Janica (2024): Insulinsensitivität. <https://flexikon.doccheck.com/de/Insulinsensitivität> (25.09.2024)

Nolte, Janica et al. (2022): Insulinresistenz. <https://flexikon.doccheck.com/de/Insulinresistenz> (20.11.2024)

Ord, Tiit und Ord, Tonis (2017): Mammalian Pseudokinase TRIB3 in Normal Physiology and Disease: Charting the Progress in Old and New Avenues. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28393700/> (02.11.2024)

Pagel-Langenickel, Ines et al. (2008): PGC-1 α Integrates Insulin Signaling, Mitochondrial Regulation, and Bioenergetic Function in Skeletal Muscle. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2504883/> (22.09.2024)

Paldus, Barbora et al. (2018): Insulin pumps in general practice. <https://australianprescriber.tg.org.au/articles/insulin-pumps-in-general-practice.html> (14.10.2024)

Pan, Xinyan et al. (2023): Resveratrol improves palmitic acid-induced insulin resistance via the DDIT4/mTOR pathway in C2C12 cells. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10463219/> (17.10.2024)

Pastor, Raúl Francisco et al. (2017): Resveratrol, human health and winemaking perspectives. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29206058/> (21.09.2024)

Pearlman, Michelle et al. (2017): The Association Between Artificial Sweeteners and Obesity. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29159583/> (22.09.2024)

Penumathsa, S Varma (2008): Resveratrol enhances GLUT-4 translocation to the caveolar lipid raft fractions through AMPK/Akt/eNOS signalling pathway in diabetic myocardium. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4514113/> (25.09.2024)

Peterson, Mark D. et al. (2015): <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4506315/> (20.09.2024)

Pflanzenforschung.de (o.J.): Heterodimer. <https://www.pflanzenforschung.de/de/pflanzenwissen/lexikon-a-z/heterodimer-1479#:~:text=Ein%20Heterodimer%20ist%20ein%20Molek%20Monomeren%20C%20besteht.> (02.11.2024)

Philips, JC und Paquot, N (2021): [Ultra-rapid lispro (Lyumjev®)] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33443332/> (26.09.2024)

Pitzschke, Andrea (2021): Aufgemöbelter Klassiker. https://www.laborjournal.de/editorials/m_2325.php (28.08.2024)

Prakash, Vidhya et al. (2024): Resveratrol as a Promising Nutraceutical: Implications in Gut Microbiota Modulation, Inflammatory Disorders, and Colorectal Cancer. <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/6/3370> (21.09.2024)

Rauch-Kröhnert, Ursula und Landmesser, Ulf (2021): Gliflozine – in Zukunft Kardioprotektiva? <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8260408/> (26.09.2024)

RESILIENT HUMAN (2022): Types off at, and the role it plays in our health. <https://www.resilienthuman.co.uk/post/types-of-fat-and-the-role-it-plays-in-our-health> (20.09.2024)

Rodríguez-Moran, Martha et al. (2010): Obesity and family history of diabetes as risk factors of impaired fasting glucose: implications for the early detection of prediabetes. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19895410/> (20.09.2024)

Römer, Gunnar et al. (2024): Pioglitazon. <https://flexikon.doccheck.com/de/Pioglitazon> (02.11.2024)

Sarkar, Devanand (2004): Human polynucleotide phosphorylase (hPNPaseold-35): a potential link between aging and inflammation. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15492272/> (20.09.2024)

Shai, Iris et al. (2006): Ethnicity, obesity, and risk of type 2 diabetes in women: a 20-year follow-up study. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16801583/> (20.09.2024)

Share Biology (2024): Laemmli buffer: Preparation (1x, 2x & 4x) and principle. <https://sharebiology.com/laemmli-buffer-preparation/> (28.08.2024)

Sharma, Vivek Kumar und Singh, Thakur Gurjeet (2020): Chronic Stress and Diabetes Mellitus: Interwoven Pathologies. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31713487/> (27.09.2024)

Shaw, Leslie M (2011): The insulin receptor substrate (IRS) proteins. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3142458/> (02.11.2024)

Sigma-Aldrich (2024a): Dulbeccos Modified Eagle Medium (DMEM). <https://www.sigmaaldrich.com/CH/de/products/cell-culture-and-analysis/cell-culture-media-and-buffers/classical-media-and-buffers/dulbeccos-modified-eagle-medium> (28.08.2024)

Sigma-Aldrich (2024b): Probenpuffer nach Lämmli 2x Konzentrat. <https://www.sigmaaldrich.com/CH/de/product/sigma/s3401> (01.11.2024)

SinoBiological (o.J.): No Bands Troubleshooting in Western Blots. <https://www.sinobiological.com/category/wb-troubleshooting-no-bands> (16.10.2024)

Suez, Jotham et al. (2022): Personalized microbiome-driven effects of non-nutritive sweeteners on human glucose tolerance. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35987213/> (20.11.2024)

Tadayon, Mitra et al. (2018): Impact of green tea extract on serum lipid of postmenopausal women: A randomized controlled trial. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2225411017300925#:~:text=Women%20in%20the%20GTE%20group,c ompared%20with%20the%20control%20group.> (21.09.2024)

Thermo Fisher (2024a): Pierce™ BCA Protein Assay Kit. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets%2FSLG%2Fmanuals%2FMAN0011430_Pierce_BCA_Protein_Asy_UG.pdf (28.08.2024)

ThermoFisher (2024b): Überblick über die Proteinelektrophorese. <https://www-thermofisher-com.translate.goog/ch/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-electrophoresis.html? x tr sl=en& x tr tl=de& x tr hl=de& x tr pto=rq#:~:text=The%20running%20buffer%20contains%20ions,sieving%20properties%20of%20the%20gel.> (28.09.2024)

ThermoFisher (2024c): Overview of Protein Electrophoresis. <https://www.thermofisher.com/ch/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-electrophoresis.html#:~:text=Protein%20electrophoresis%20is%20a%20standard,rapid%2C%20and%20sensitive%20analytical%20tool>

Torréns, Javier I et al. (2004): Ethnic differences in insulin sensitivity and beta-cell function in premenopausal or early perimenopausal women without diabetes: the Study of Women's Health Across the Nation (SWAN). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14747213/> (20.09.2024)

U.S. Department of Health & Human Services (2023): Smoking and Diabetes. <https://www.cdc.gov/tobacco/campaign/tips/diseases/diabetes.html> (21.09.2024)

Ueda, Manabu et al (2010): Tea catechins modulate the glucose transport system in 3T3-L1 adipocytes. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21776468/> (16.10.2024)

Ueda, Manabu et al. (2008): Epigallocatechin gallate promotes GLUT4 translocation in skeletal muscle. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X0801930X> (16.10.2024)

Verch, Marco (2018): OMEGA 3 geschrieben mit Fischöl-Kapseln die gesunde Fettsäuren enthalten. https://img.ccnul.de/1030000/preview/1030695_d142d845f1d54aaf2a18b513033d51cb.jpg (08.02.2025)

Verch, Marco (2019): Powder green tea and green tea leaf on white background. https://img.ccnul.de/1035000/preview/1037791_93406e8b75eabf2093771bee66e5f074.jpg (08.02.2025)

Walensi, Mikolaj und Antwerpes, Frank (2020): Interleukin-1β. <https://flexikon.doccheck.com/de/Interleukin-1β> (02.11.2024)

Wang, An-Shi et al. (2016): DHA induces mitochondria-mediated 3T3-L1 adipocyte apoptosis by down-regulation of Akt and ERK. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464616000025> (16.10.2024)

WHO (2023): Diabetes. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> (19.09.2024)

Wikipedia (2023a): Interleukin-6. <https://de.wikipedia.org/wiki/Interleukin-6> (02.11.2024)

Wikipedia (2023b): Natriumlaurylsulfat. <https://de.wikipedia.org/wiki/Natriumlaurylsulfat#:~:text=Natriumlaurylsulfat%20oder%20Natriumdodecylsulfat%2C%20auch%20SLS.in%20Reinigungsmitteln%20und%20Zahnpasta.> (01.11.2024)

Wikipedia (2023c): Phosphatgepufferte Salzlösung. https://de.wikipedia.org/wiki/Phosphatgepufferte_Salzlösung (01.11.2024)

Wikipedia (2023d): Phosphoinositid-3-Kinasen. <https://de.wikipedia.org/wiki/Phosphoinositid-3-Kinasen> (02.11.2024)

Wikipedia (2023e): Trypsinization. <https://en.wikipedia.org/wiki/Trypsinization> (25.08.2024)

Wikipedia (2023f): Primerdesign. <https://de.wikipedia.org/wiki/Primerdesign> (14.09.2024)

Wikipedia (2024a): Radioimmunoprecipitation assay buffer. https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Radioimmunoprecipitation_assay_buffer&oldid=1224554011 (28.08.2024)

Wikipedia (2024b): Cholesterin. <https://de.wikipedia.org/wiki/Cholesterin> (02.11.2024)

Wikipedia (2024c): Dexamethason. <https://de.wikipedia.org/wiki/Dexamethason> (01.11.2024)

Wikipedia (2024d): Dimethylsulfoxid. <https://de.wikipedia.org/wiki/Dimethylsulfoxid> (01.11.2024)

Wikipedia (2024e): Epigallocatechingallat. <https://de.m.wikipedia.org/wiki/Epigallocatechingallat> (21.09.2024)

Wikipedia (2024f): Fettverbrennung. <https://de.wikipedia.org/wiki/Fettverbrennung> (02.11.2024)

Wikipedia (2024g): Glucagon. <https://de.wikipedia.org/wiki/Glucagon> (01.11.2024)

Wikipedia (2024h): Lipid profile. https://en.wikipedia.org/wiki/Lipid_profile (02.11.2024)

Wikipedia (2024i): Meerrettichperoxidase. <https://de.wikipedia.org/wiki/Meerrettichperoxidase> (01.11.2024)

Wikipedia (2024j): Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate. [https://en.wikipedia.org/wiki/Phosphatidylinositol_\(3,4,5\)-trisphosphate](https://en.wikipedia.org/wiki/Phosphatidylinositol_(3,4,5)-trisphosphate) (02.11.2024)

Wikipedia (2024k): Phytoalexine. <https://de.wikipedia.org/wiki/Phytoalexine> (02.11.2024)

Wikipedia (2024l): Polyphenole. <https://de.wikipedia.org/wiki/Polyphenole> (02.11.2024)

Wikipedia (2024m): PTEN. <https://de.wikipedia.org/wiki/PTEN> (02.11.2024)

Wikipedia (2024n): Radioimmunoprecipitation assay buffer. https://en.wikipedia.org/wiki/Radioimmunoprecipitation_assay_buffer (01.11.2024)

Wikipedia (2024o): Resveratrol. https://de.wikipedia.org/wiki/Resveratrol#cite_note-Sales2014rev-7 (21.09.2024)

Wikipedia (2024p): SDS-PAGE. <https://de.wikipedia.org/wiki/SDS-PAGE> (01.11.2024)

Wikipedia (2024q): TBST. <https://en.wikipedia.org/wiki/TBST> (01.11.2024)

Wikipedia (2024r): Trypsine. <https://de.wikipedia.org/wiki/Trypsine#:~:text=Trypsin%20gehört%20zu%20den%20Endopeptidasen,und%20auch%20nach%20modifiziertem%20Cystein>. (01.11.2024)

Wikipedia (2024s): Tumornekrosefaktor. <https://de.wikipedia.org/wiki/Tumornekrosefaktor> (02.11.2024)

Wikipedia (2024t): Protease. <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Protease&oldid=1231840142> (28.08.2024)

Wu, Haijiang et al. (2016): PGC-1 α , glucose metabolism and type 2 diabetes mellitus. <https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/229/3/R99.xml> (22.09.2024)

Younes, Maged et al. (2018): Scientific opinion on the safety of green tea catechins. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7009618/> (13.10.2024)

Yu, Min et al. (2015): Depression and Risk for Diabetes: A Meta-Analysis. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25773933/> (20.09.2024)

Zhang, Jing et al. (2019): EPA and DHA Inhibit Myogenesis and Downregulate the Expression of Muscle-related Genes in C2C12 Myoblasts. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6356802/> (16.10.2024)

Zhang, Yu et al. (2022): Omega-3 polyunsaturated fatty acids promote SNAREs mediated GLUT4 vesicle docking and fusion. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0955286321003326> (16.10.2024)

Zhang, Z. F. et al. (2010): Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG) protects the insulin sensitivity in rat L6 muscle cells exposed to dexamethasone condition. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0944711309002360> (25.09.2024)

Zheng, Tianpeng (2012): Relationship between blood lipid profiles and pancreatic β cell function in Chinese men and women with normal glucose tolerance: a cross-sectional study. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22876749/> (20.09.2024)

Zierle-Gosh, Asia und Jan, Arif (2023): Physiology, Body Mass Index. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30571077/> (02.11.2024)

ZYMO RESEARCH (2024): Quick-DNA/RNATM Miniprep Kit. https://files.zymoresearch.com/protocols/_d7001_quick-dna-rna_miniprep_kit.pdf (28.08.2024)

8 Glossar

Abkürzung	Begriff	Definition
z.B. 100X einer Lösung		Verdünnung: 1/100 des Totalvolumens.
IBMX	3-Isobutyl-1-methylxanthin	Ein Inhibitor der Phosphodiesterase von zyklischem Adenosinmonophosphat. Es erhöht die cAMP-Konzentration und führt zu einer besseren Differenzierung von Zellen in Zellkulturen. ¹⁵¹
PDK1	3-Phosphoinositid-abhängige Proteinkinase-1	Serin/Threonin-Kinase mit einer PH-Domäne am Carboxylende, welche an PIP3-reiche Bereiche der Zellmembran bindet. ¹⁵²
	3T3-L1-Zellen	Fettzellen
	Adaptorproteine	Proteine, welche an der Bildung der Hülle für Transportvesikel beteiligt sind. Sie spielen auch bei der Auswahl der entsprechenden Proteine, welche transportiert werden sollen, eine Rolle. ¹⁵³
	Adipositas	Fettleibigkeit
	Adipozyten	Zellen des Fettgewebes
	AKT	¹⁵⁴ AKT und Proteinkinase B (PKB) bezeichnen dieselbe Kinase. Es gibt 3 verschiedene Isoformen, AKT 1 (PKB α), 2 (PKB β) und 3 (PKB γ). Diese übertragen Phosphatgruppen auf Proteine. ¹⁵⁵ Im Insulinsignalweg ist AKT ein Vermittlungsprotein, das die Insulinsignale mit den Effektorproteinen

¹⁵¹ Harrison, Mark A.A. et al. (2022): Establishing the adipose stem cell identity: Characterization assays and functional properties. <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/ibmx#:~:text=3%2Disobutyl%2D1%2Dmethylxanthine,the%20transcription%20of%20C%2FEFBP%20.> (01.11.2024)

¹⁵² Carnagarin, Revathy et al. (2015): Molecular aspects of glucose homeostasis in skeletal muscle – A focus on the molecular mechanisms of insulin resistance. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720715300708> (02.11.2024)

¹⁵³ Aertsen, Ad et al. (200): Adaptorproteine. <https://www.spektrum.de/lexikon/neurowissenschaft/adaptorproteine/14388> (02.11.2024)

¹⁵⁴ Antwerpes et al. (2022)

¹⁵⁵ Le et al. (2023)

		verbindet, welche daraufhin GLUT4 an die Zelloberfläche steuern.
APS/SH2B2	Ammoniumpersulfat/ SH2B adaptor protein 2	APS ist ein SH2B-Adapterprotein, welches bei der BCR-vermittelten Signalübertragung in reifen B-Zellen beteiligt ist. ¹⁵⁶
BMI	Body-Mass-Index	¹⁵⁷ Berechnet das Verhältnis von Körpergewicht zur Körpergröße. Formel: $BMI = kg/m^2$
BSA	Bovines Serumalbumin/ Rinderserumalbumin	Einzelnes Protein aus Blutserum von Hausrindern. Wird bei Western Blots dazu verwendet, unspezifische Antikörperbindungen an der Membran zu verhindern. ¹⁵⁸
	C2C12-Zellen	Muskelzellen
	Cholesterin/ Cholesterol	Fetthaltiger Naturstoff in eukaryotischen Zellen, welcher ein wichtiger Bestandteil der tierischen Zellmembranen ist. ¹⁵⁹
	Cortisol	Stresshormon
Dexa	Dexamethason	Künstliches Glucocorticoid, welches Entzündungen hemmt und eine beruhigende Wirkung auf das Immunsystem hat. ¹⁶⁰
DMSO	Dimethylsulfoxid	Wird bei Zellkulturen in Gefriermedien beim Einfrieren von eukaryotischen Zellen verwendet. ¹⁶¹

¹⁵⁶ Dondi, Elisabetta et al. (2020): The adaptor protein APS modulates BCR signalling in mature B cells. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0898656820301509> (02.11.2024)

¹⁵⁷ Zierle-Gosh, Asia und Jan, Arif (2023): Physiology, Body Mass Index. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30571077/> (02.11.2024)

¹⁵⁸ Freyer, Timo et al. (2024): Bovines Serumalbumin. https://flexikon.doccheck.com/de/Bovines_Serumalbumin (01.11.2024)

¹⁵⁹ Wikipedia (2024b): Cholesterin. <https://de.wikipedia.org/wiki/Cholesterin> (02.11.2024)

¹⁶⁰ Wikipedia (2024c): Dexamethason. <https://de.wikipedia.org/wiki/Dexamethason> (01.11.2024)

¹⁶¹ Wikipedia (2024d): Dimethylsulfoxid. <https://de.wikipedia.org/wiki/Dimethylsulfoxid> (01.11.2024)

IP7	Diphosphoinositol-Pentakisphosphat	Enzym, welches als Reaktion auf Insulin gebildet wird und die AKT-Kinase hemmt. ¹⁶²
DHA	Docosahexaensäure	Omega-3-Fettsäure
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium	Zellkulturmedium
EGCG	Epigallocatechingallat	Grünteeextrakt
FBS	Fetales Kälberserum	Blutserum von Kälberembryo. In Nährmedien von Zellkulturen. ¹⁶³
	Fettsäureoxidation	Fettverbrennung/ Chemische Reaktionen in welchen eine Fettsäure Elektronen an einen Elektronenrezeptor abgibt. ¹⁶⁴
	Gluconeogenese	Stoffwechselweg zur Neubildung von Glukose in der Leber und in den Nieren. ¹⁶⁵
GLUT4	Glucosetransporter Typ 4	Glucosetransporter, welcher die insulinabhängige Glukoseaufnahme reguliert.
	Glukagon	Peptidhormon, das den Blutzucker erhöht, indem es die Leber dazu anregt Glukose aus Glykogen zu bilden. ¹⁶⁶
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase	Ein Enzym der Glykolyse. Es wird häufig als «Housekeeping»-Gen im Vergleich von Genexpressionsdaten genutzt, da seine Expression in verschiedenen Geweben konstant bleibt. ¹⁶⁷

¹⁶² Manning, Brendan D (2013): Insulin Signaling: Inositol Phosphates Get Into the Akt.

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3693466/#R2> (02.11.2024)

¹⁶³ Galliardt, Wladimir et al. (2024): Fetales Kälberserum. https://flexikon.doccheck.com/de/Fetales_Kälberserum (01.11.2024)

¹⁶⁴ Wikipedia (2024f): Fettverbrennung. <https://de.wikipedia.org/wiki/Fettverbrennung> (02.11.2024)

¹⁶⁵ Hircin, Emrah et al. (2024): Gluconeogenese. <https://flexikon.doccheck.com/de/Gluconeogenese> (02.11.2024)

¹⁶⁶ Wikipedia (2024g): Glucagon. <https://de.wikipedia.org/wiki/Glucagon> (01.11.2024)

¹⁶⁷ Barber, Robert D et al. (2005): GAPDH as a housekeeping gene: analysis of GAPDH mRNA expression in a panel of 72 human tissues. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15769908/> (01.11.2024)

	GTPasen	Intrazelluläre Proteine, welche guaninbasierte Nukleotide GTP binden können. ¹⁶⁸
	Heterodimere	Molekül oder Molekülverbund aus zwei verschiedenen Untereinheiten (Monomeren) ¹⁶⁹
	Insulinresistenz	Eine reduzierte oder fehlende Wirkung des Hormons Insulin in den Zellen. ¹⁷⁰
IRS	Insulinrezeptorsubstrat-Protein	Protein, welches ein wichtiges Signalzwischenprodukt in der insulinabhängigen Glukosebalance ist. Es fördert unter anderem die Glukoseaufnahme. ¹⁷¹
	Insulinsensitivität	Gibt an, wie gut Körperzellen auf Insulin reagieren. ¹⁷²
IL-1 β	Interleukin-1 β	Proinflammatorisches Zytokin, welches an der Vermittlung bei der Entzündungsreaktion durch Interleukin-1 beteiligt ist. ¹⁷³
IL-6	Interleukin-6	Zytokin, welches die Entzündungsreaktion eines Organismus reguliert. ¹⁷⁴
	konfluent	Wenn die Zellkultur 100% der Platte bedeckt.
KRH	Krebs-Ringer-Hepes Puffer	Pufferlösung, welche den anfänglichen pH-Anstieg in Zellkulturen verhindert

¹⁶⁸ Nicolay, Nils et al. (2024): G-Protein. <https://flexikon.doccheck.com/de/G-Protein#:~:text=1.-Definition,GDP%20und%20GTP%20zu%20binden.> (02.11.2024)

¹⁶⁹ Pflanzenforschung.de (o.J.): Heterodimer. <https://www.pflanzenforschung.de/de/pflanzenwissen/lexikon-a-z/heterodimer-1479#:~:text=Ein%20Heterodimer%20ist%20ein%20Molekül,Monomeren%2C%20besteht.> (02.11.2024)

¹⁷⁰ Nolte, Janica et al. (2022): Insulinresistenz. <https://flexikon.doccheck.com/de/Insulinresistenz> (20.11.2024)

¹⁷¹ Shaw, Leslie M (2011): The insulin receptor substrate (IRS) proteins. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3142458/> (02.11.2024)

¹⁷² Nolte (2024)

¹⁷³ Walensi, Mikolaj und Antwerpes, Frank (2020): Interleukin-1 β . [https://flexikon.doccheck.com/de/Interleukin-1 \$\beta\$](https://flexikon.doccheck.com/de/Interleukin-1β) (02.11.2024)

¹⁷⁴ Wikipedia (2023a): Interleukin-6. <https://de.wikipedia.org/wiki/Interleukin-6> (02.11.2024)

		und somit die Pufferkapazität des Mediums erhöht. ¹⁷⁵
	Lipidprofil	Mehrere Blutuntersuchungen mit welchen Anomalien in den Blutfettkonzentrationen diagnostiziert werden. ¹⁷⁶
HRP	Meerrettichperoxidase	Ein Enzym aus Meerrettich. Es wird bei Western Blots dazu verwendet, spezifische Proteine nachzuweisen. Es bindet an die Antikörper des Zielproteins. Bei Zugabe von Wasserstoffperoxid erzeugt es eine Farbreaktion. Somit wird das gesuchte Protein sichtbar. ¹⁷⁷
	Metabolisch-vaskuläres Syndrom	Auftreten von mehreren Risikofaktoren oder Krankheitsbildern, welche das Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Typ-2-Diabetes erhöhen. Zu diesen Risikofaktoren gehören starkes Übergewicht, erhöhter Nüchternblutzucker, erhöhte Blutfettwerte und Bluthochdruck. ¹⁷⁸
MQ-H ₂ O	Milli-Q Wasser	Art von gereinigtem Wasser, welches mit dem Millipore Milli-Q-Laborwassersystem produziert wird und für diverse Laboranwendungen geeignet ist. ¹⁷⁹
	Mitochondriale Biogenese	Prozess in dem in der Zelle neue Mitochondrien gebildet werden. ¹⁸⁰

¹⁷⁵ HIMEDIA® (2023): Krebs-Ringer Phosphate HEPES Buffer w/ 20mM HEPES buffer, Calcium and Magnesium w/o Phenol red. <https://www.himedialabs.com/us/ts1152-krebs-ringer-phosphate-hepes-buffer-w-20mm-hepes-buffer-calcium-and-magnesium-w-o-phenol-red.html> (01.11.2024)

¹⁷⁶ Wikipedia (2024h): Lipid profile. https://en.wikipedia.org/wiki/Lipid_profile (02.11.2024)

¹⁷⁷ Wikipedia (2024i): Meerrettichperoxidase. <https://de.wikipedia.org/wiki/Meerrettichperoxidase> (01.11.2024)

¹⁷⁸ Diabinfo (o.J.): Metabolisches Syndrom: Vorbeugen, erkennen, gegensteuern. <https://www.diabinfo.de/vorbeugen/was-kann-ich-tun/metabolisches-syndrom.html#:~:text=Es%20bezeichnet%20vielmehr%20das%20gemeinsame,Blutzucker%2C%20erhöhte%20Blutfette%20und%20Bluthochdruck.> (01.11.2024)

¹⁷⁹ Hopewell (2023): Milli-Q Water: What It Is and Why It's Important in Laboratories. <https://purehydrosphere.com/milli-q-water-what-it-is-and-why-its-important-in-laboratories.html> (01.11.2024)

¹⁸⁰ Antwerpes, Frank et al. (2024b): Mitochondriale Biogenese. https://flexikon.doccheck.com/de/Mitochondriale_Biogenese (02.11.2024)

SDS	Natriumdodecylsulfat	Ein anionisches Tensid, welches unter anderem als Denaturierungsmittel für Proteine verwendet wird. ¹⁸¹
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese <i>Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis</i>	Analytische Methode in der Biochemie zur Trennung von Gemischen nach ihrer Molekülmasse in einem elektrischen Feld ¹⁸²
SDS-PAGE gel	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese-Gel	Gel bestehend aus 10% Trenngel und 4% Stapelgel, welches die Proteine nach ihrem Masse-Ladungs-Verhältnis trennt. ¹⁸³
	P10-Platte	Plattenformat mit 10 Wells (Vertiefungen)
Pen/Strep	Penicillin/Streptomycin	Antibiotikamischung aus Penicillin und Streptomycin. In Zellkulturen eingesetzt, um Kontaminationen zu vermeiden. ¹⁸⁴
PPAR- γ	Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor Gamma	¹⁸⁵ Gen, welches die Transkription von GLUT4 fördert und dadurch zu einer erhöhten Zuckeraufnahme in Muskel- und Fettzellen führt.
PGC-1 α	Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor-Gamma-Koaktivator 1-alpha	¹⁸⁶ Gen, welches Insulinsignalwege verbindet und die mitochondriale Funktion aufrechterhält. Durch Förderung der GLUT4-Expression trägt es zu einer erhöhten Zuckeraufnahme in Muskel- und Fettzellen bei.

¹⁸¹ Wikipedia (2023b): Natriumlaurylsulfat.

<https://de.wikipedia.org/wiki/Natriumlaurylsulfat#:~:text=Natriumlaurylsulfat%20oder%20Natriumdodecylsulfat%2C%20auch%20SLS,in%20Reinigungsmitteln%20und%20Zahnpasta.> (01.11.2024)

¹⁸² Wikipedia (2024p): SDS-PAGE. <https://de.wikipedia.org/wiki/SDS-PAGE> (01.11.2024)

¹⁸³ ThermoFisher SCIENTIFIC (2024c): Overview of Protein Electrophoresis.

<https://www.thermofisher.com/ch/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-electrophoresis.html#:~:text=Protein%20electrophoresis%20is%20a%20standard,rapid%2C%20and%20sensitive%20analytical%20tool.> (01.11.2024)

¹⁸⁴ Capricorn Scientific (2024): Penicillin/Streptomycin (Pen/Strep), 100x. [https://www.capricorn-scientific.com/de/shop/penicillin-streptomycin-pen-strep-100x~p1205#:~:text=Penicillin%2FStreptomycin%20\(Pen%2FStrep\)%20ist%20eine%20ready%2D,mit%20grampositiven%20und%20gramnegativen%20Bakterien.](https://www.capricorn-scientific.com/de/shop/penicillin-streptomycin-pen-strep-100x~p1205#:~:text=Penicillin%2FStreptomycin%20(Pen%2FStrep)%20ist%20eine%20ready%2D,mit%20grampositiven%20und%20gramnegativen%20Bakterien.) (01.11.2024)

¹⁸⁵ Antwerpes et al. (2024c)

¹⁸⁶ Pagel-Langenickel et al. (2008)

PTEN	Phosphatase PTEN <i>Phosphatase and Tensin homolog</i>	Multifunktionelles Enzym, welches die Spaltung von verschiedenen Phosphorsäureestern durch eine Reaktion mit Wasser katalysiert. ¹⁸⁷
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung	Eine Pufferlösung die Natriumchlorid, Kaliumchlorid und Gesamt-Phosphat enthält. Sie sorgt für einen konstanten pH-Wert und wird unter anderem dazu verwendet, Zellkulturen zu reinigen. ¹⁸⁸
PIP3	Phosphatidylinositol(3,4,5)-trisphosphat	Ein Lipid mit einer Phosphatgruppe auf der Plasmamembran, welches wichtige Signalproteine (z.B. AKT) aktiviert. ¹⁸⁹
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinase	Enzyme, welche in der Signalübertragung, Zellwachstum, Zellproliferation, Migration, Differenzierung, Überleben und Zelladhäsion (Kontakte zwischen Zellen mit einer extrazellulären Matrix) beteiligt sind. ¹⁹⁰
	Phytoalexine	Niedermolekulare, antimikrobielle und antioxidativ wirkende organische Verbindungen, welche von Pflanzen nach einer Infektion durch Mikroorganismen gebildet werden. ¹⁹¹
	Pioglitazon	Arzneistoff, welcher als orales Antidiabetikum Verwendung findet, und die Insulinsensitivität des Gewebes erhöht. ¹⁹²

¹⁸⁷ Wikipedia (2024m): PTEN. <https://de.wikipedia.org/wiki/PTEN> (02.11.2024)

¹⁸⁸ Wikipedia (2023c): Phosphatgepufferte Salzlösung. https://de.wikipedia.org/wiki/Phosphatgepufferte_Salzlösung (01.11.2024)

¹⁸⁹ Wikipedia (2024j): Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate.

[https://en.wikipedia.org/wiki/Phosphatidylinositol_\(3,4,5\)-trisphosphate](https://en.wikipedia.org/wiki/Phosphatidylinositol_(3,4,5)-trisphosphate) (02.11.2024)

¹⁹⁰ Wikipedia (2023d): Phosphoinositid-3-Kinasen. <https://de.wikipedia.org/wiki/Phosphoinositid-3-Kinasen> (02.11.2024)

¹⁹¹ Wikipedia (2024k): Phytoalexine. <https://de.wikipedia.org/wiki/Phytoalexine> (02.11.2024)

¹⁹² Römer, Gunnar et al. (2024): Pioglitazon. <https://flexikon.doccheck.com/de/Pioglitazon> (02.11.2024)

	Polyphenole	Chemische Verbindungen, welche in ihrer natürlichen Form in Pflanzen als sekundäre Pflanzenstoffe vorkommen. ¹⁹³
	Prädiabetes	Zustand, bei dem erhöhte Blutzuckerwerte vorliegen, aber noch nicht von einem Typ-2-Diabetes gesprochen wird. ¹⁹⁴
	Proteinkinase	Enzyme, welche bestimmte Proteine phosphorylieren. Unter ATP-Nutzung hängen sie einen Phosphatrest an ein Protein mit einer OH-Gruppe. ¹⁹⁵
	Pseudokinase	Pseudoenzymvarianten, welche vor allem durch nichtkatalytische Mechanismen Signale aussenden. ¹⁹⁶
RIPA	Radioimmunoprecipitation Assay Buffer	Lysepuffer für den Aufschluss von Zellen und die Denaturierung von Proteinen. ¹⁹⁷
rcf	relative centrifugal force relative Zentrifugalkraft	Repräsentiert die Zentrifugationskraft als Vielfaches der Erdbeschleunigung. ¹⁹⁸
	Resveratrol	Ein Polyphenol
rpm	revolutions per minute Umdrehungsgeschwindigkeit	Umdrehung pro Minute oder Drehzahl ¹⁹⁹
RGZ	Rosiglitazon	Ein Antidiabetikum, welches unter anderem die Expression von GLUT-2 und Glucokinase reguliert. Es stimuliert möglicherweise die Freisetzung und Synthese von Insulin. ²⁰⁰

¹⁹³ Wikipedia (2024): Polyphenole. <https://de.wikipedia.org/wiki/Polyphenole> (02.11.2024)

¹⁹⁵ Merz, Sebastian et al. (2023): Proteinkinase. <https://flexikon.doccheck.com/de/Proteinkinase> (02.11.2024)

¹⁹⁶ Devang, Nayana et al. (2021): Chapter Five - Pseudokinases: Prospects for expanding the therapeutic targets armamentarium. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1876162320300651> (02.11.2024)

¹⁹⁷ Wikipedia (2024a): Radioimmunoprecipitation assay buffer.

https://en.wikipedia.org/wiki/Radioimmunoprecipitation_assay_buffer (01.11.2024)

¹⁹⁸ BARTELT (2024): Zentrifugationswerte. <https://bartelt.io/weblabxtools-centrifugation-values/#> (01.11.2024)

¹⁹⁹ BARTELT (2024)

²⁰⁰ Kim, Hyo-Sup et al. (2008): Rosiglitazone stimulates the release and synthesis of insulin by enhancing GLUT-2, glucokinase and BETA2/NeuroD expression. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18191635/> (02.11.2024)

Trb3	Tribbles Homolog 3	Protein, welches unter anderem die AKT- und AKT/mTOR-Phosphorylierung durch Pseudokinase-Aktivität steuert. ²⁰¹
	Triglycerid	Fettsäureester des Glycerins, welche den Hauptlipidbestandteil von Nahrungsfett und Fettdepots ausmachen. ²⁰²
TBS-Tween TBS-T-Puffer	Tris-buffered saline with Tween20, TBST	Puffer, welcher beim Western Blot zum Waschen Nitrocellulosemembranen verwendet wird. ²⁰³
Lämmli Puffer	Tris-Glycin-Puffer	Probenpuffer mit 2-Mercaptoethanol, SDS Detergens und Bromphenolblau, welcher bei der SDS-PAGE-Gelelektrophorese verwendet wird. Er denaturiert die Proteine und Untereinheiten und sorgt für eine negative Ladung. Der enthaltene Farbstoff macht die Probe während des Beladens besser sichtbar. ²⁰⁴
	Trypsin	Gehört zu Endopeptidasen und spaltet Proteine an bestimmten Stellen. ²⁰⁵
TNF- α	Tumornekrosefaktor	Zytokin des Immunsystems, welches bei lokalen und systemischen Entzündungen mitwirkt. ²⁰⁶
	Zytokine	Inhomogene Gruppe von regulatorischen Proteinen und Proteinen. Sie sind bei der Signalübertragung zwischen den Zellen beteiligt und steuern deren Proliferation und Differenzierung. ²⁰⁷

²⁰¹ Ord, Tiit und Ord, Tonis (2017): Mammalian Pseudokinase TRIB3 in Normal Physiology and Disease: Charting the Progress in Old and New Avenues. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28393700/> (02.11.2024)

²⁰² Cox, Rafael A. und García-Palmieri Mario R. (1990): Chapter 31 Cholesterol, Triglycerides, and Associated Lipoproteins. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK351/> (02.11.2024)

²⁰³ Wikipedia (2024q): TBST. <https://en.wikipedia.org/wiki/TBST> (01.11.2024)

²⁰⁴ Sigma-Aldrich (2024b): Probenpuffer nach Lämmli 2x Konzentrat. <https://www.sigmaaldrich.com/CH/de/product/sigma/s3401> (01.11.2024)

²⁰⁵ Wikipedia (2024r): Trypsine. <https://de.wikipedia.org/wiki/Trypsine#:~:text=Trypsin%20gehört%20zu%20den%20Endopeptidasen,und%20auch%20nach%20modifiziertem%20Cystein>. (01.11.2024)

²⁰⁶ Wikipedia (2024s): Tumornekrosefaktor. <https://de.wikipedia.org/wiki/Tumornekrosefaktor> (02.11.2024)

²⁰⁷ Abels, Benjamin et al. (2024): Zytokin. <https://flexikon.doccheck.com/de/Zytokin> (02.11.2024)

9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei allen bedanken, welche mich bei meiner Maturitätsarbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer, Patrick Faller, für seine fachliche Begleitung und seine wertvolle Unterstützung. Seine produktiven Ratschläge haben mir von der Themenfindung bis zur Fertigstellung meiner Arbeit sehr geholfen. Er ermutigte mich auch zu dieser unfassbar lehrreichen und spannenden Erfahrung, ein Experiment in einem professionellen Labor in der ETH durchzuführen.

Ein grosses Dankeschön geht auch an Alexandra Kellenberger, die das ganze Experiment designt und mit mir durchgeführt hat. Sie hat mich mit ihren Protokollen und ihrer Erfahrung sehr unterstützt. Ausserdem hat sie mir durch das Durchlesen der Teile, welche dem Experiment gewidmet waren, sogar beim Erstellen meiner Maturitätsarbeit sehr geholfen. Ohne sie wäre diese lehrreiche und spannende Laborerfahrung niemals möglich gewesen.

Somit möchte ich mich auch herzlich bei Prof. Dr. Christian Wolfrum bedanken, welcher es mir ermöglichte, das Experiment in seiner Forschungsabteilung durchzuführen.

Ein weiterer grosser Dank gilt Clarissa Flüeler, welche mir mit ihrem Interview und dem Material wertvolle und Spannende Informationen gegeben hat, die mein Verständnis und das Theoriekapitel dieser Arbeit sehr geprägt haben. Ihr Interesse und Freude an diesem Themenbereich haben den Funken auch in diese Arbeit überspringen lassen.

Nicht zuletzt danke ich auch meiner Familie und meinen Freunden für ihre Motivation, Unterstützung und ihre Geduld.

10 Anhang

10.1 Experiment

10.1.1 BCA-Assay

Zu Beginn wurden die Standards in einem PCR-Streifen vorbereitet. Dafür wurde als erstes die Standard-Lösung mit 5 mg/ml BSA zubereitet. 15 µl dieser Lösung wurden daraufhin mit 15 µl MQ-H₂O gemischt. Danach wurde die Verdünnungsreihe erstellt. Für Reihe B (2.5mg/ml) wurden 15 µl der Lösung A (5 mg/ml) mit 15 µl MQ-H₂O vermischt. Für Reihe C (1.25 mg/ml) wurden 15 µl der Lösung B (2.5 mg/ml) mit 15 µl MQ-H₂O gemischt. Für Reihe D (0.625 mg/ml) wurden 15 µl der Lösung C (1.25 mg/ml) mit 15 µl MQ-H₂O gemischt. Für Reihe E (0.3125 mg/ml) wurden 15 µl der Lösung D (0.625mg/ml) mit 15 µl MQ-H₂O gemischt. Für Reihe F (0.15625 mg/ml) wurden 15 µl der Lösung E (0.3125 mg/ml) mit 15 µl MQ-H₂O gemischt. Für die letzte Reihe G (0 mg/ml) wurden nur noch 15 µl MQ-H₂O verwendet. Dafür wurden jeweils 15 µl der Lösung des vorangehenden Röhrchens in das nächste Röhrchen gespritzt und mit der Pipette 5-mal durchmischt. Dann wurde die Spitze der Pipette gewechselt und anschliessend ein fünftes Mal 15 µl der Lösung aufgezogen und in das nachfolgende Röhrchen gespritzt. Dieses Vorgehen wurde bis zur Reihe F fortgeführt. Reihe G erhielt als Referenz bloss MQ-H₂O. Tabelle 22 zeigt die Mischungsverhältnisse der Standardkurve.

TABELLE 22: VERDÜNNUNGSREIHE FÜR ANFERTIGUNG DER STANDARDKURVE FÜR BCA-ASSAY

Reihe in Well	Konzentration (mg/ml)	BSA (µl) (ursprüngliche Konzentration 10mg/ml)	MQ-H ₂ O (µl)
A	5	15	15
B	2.5	15 von A	15
C	1.25	15 von B	15
D	0.625	15 von C	15
E	0.3125	15 von D	15
F	0.15625	15 von E	15
G	0	0	15

Nach der Vorbereitung konnte mit der Bearbeitung der Platte fortgefahren werden. Dafür wurden zuerst 5 µl der Standard-Lösung in Duplikaten, in die ersten zwei Wells der A-Reihe, in eine 96-Well Platte pipettiert. Das Vorgehen wurde mit jeder vorbereiteten Standard-Lösung wiederholt. In jede erste zwei Wells der Reihen A-G wurden jeweils 5 µl der entsprechenden Standard-Lösung (nach Tabelle 23) pipettiert. Danach wurden jeweils 5 µl der entsprechenden Zell-Proben in die Wells gegeben. Die Proteine der 3T3-L1-Zellen wurden in der Reihe A in die Wells 4-12, in der Reihe B in die Wells 3-12 und in der Reihe C in die Wells 3-7 eingefüllt. Die Proteine der C2C12-Zellen wurden in den Reihen D und E in die Wells 3-12 und in der Reihe F in die Wells 3-6 pipettiert. Tabelle 23 zeigt das Plattenschema des BCA-Assays. Abbildung 36 zeigt ein Foto der BCA-Platte.

Nach der Plattierung der Proteine wurde der Mix für die Zellen vorbereitet. Dafür wurden pro Platte 20 ml des BCA-Protein-Assay-Reagenz-A und 400 µl des BCA-Protein-Assay-Reagenz-B gemischt. Jeweils 200 µl des Mixes wurden pro Well auf die Platte pipettiert. Danach wurden die Platten 15-30 Minuten lang bei 37° C inkubiert. Das Ergebnis war etwa eine Stunde lang stabil. Die BCA-Lösung A ist die Bicinchoninsäure. Sie reagiert mit Cu⁺¹-Ionen, welche aus der Reduktion von Cu⁺² in Anwesenheit von Peptidbindungen hervorgehen. Aus der Reaktion entsteht ein blauviolettes oder

pinkfarbenes Produkt²⁰⁸, das bei einer Absorption eines Spektrums einer Wellenlänge bei 562nm von einem Colometric Assay BioTek gemessen werden kann. Die Absorptionswerte des Standards wurden verwendet, um die Standardkurve zu berechnen. Somit war eine Quantifizierung der Proteine möglich, indem die Proteinmengen in den Proben durch den Vergleich ihrer Absorption mit der Standardkurve berechnet wurden.

TABELLE 23: PLATTENSCHEMA DES BCA-ASSAYS MIT NUMMERIERUNGSSHEMA (ABB. 20), STANDARDKURVE LINKS, 3T3-L1-PROBEN RECHTS OBEN UND C2C12-PROBEN DARUNTER

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	10	10		2	3	4	5	6	7	8	9	10
B	5	5	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
C	2.5	2.5	21	22	23	24	1					
D	1.25	1.25	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E	0.625	0.625	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
F	0.3125	0.3125	21	22	23	24						
G	0.15625	0.15625										
H	H ₂ O	H ₂ O										

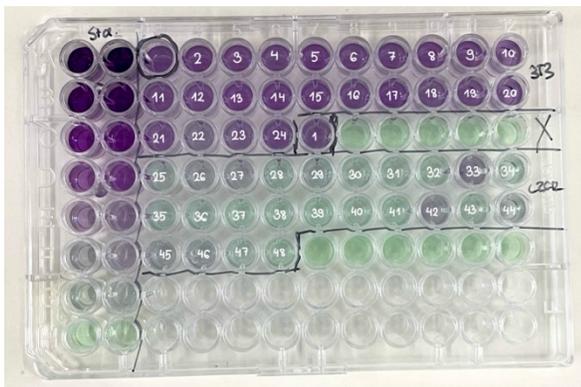


ABBILDUNG 36: FOTO DER PLATTE DES BCA-ASSAYS

²⁰⁸ Pitzschke, Andrea (01.09.2021): Aufgemöbelter Klassiker. https://www.laborjournal.de/editorials/m_2325.php (28.08.2024)

10.1.2 RNA-Extraktion

Im Vorfeld wurde der Puffer vorbereitet. Dafür wurden 96 ml 100% Ethanol zu den 24 ml des DNA/RNA-Waschpuffer-Konzentrats des Kits hinzugefügt. Nach dem Nummerierungsschema (Abb. 20) wurden 48 gelbe Filterröhrchen in jeweils ein Sammelgefäss gestellt und beschriftet. Danach wurde den Anweisungen des Protokolls gefolgt. Als erstes wurden die Proben vorbereitet. Man pipettierte 300 µl des DNA/RNA-Lysepuffer pro Well auf die Platten der Fett- und Muskelzellen. Dieser bricht die Zellen auf, und macht somit die RNA zugänglich. Daraufhin wurden die Zellen von den Platten gekratzt und in den entsprechenden gelben Zentrifugationsfilter in den Auffangröhrchen gegeben. Alle 48 Röhrchen wurden gut verschlossen bei Raumtemperatur für 30 Sekunden bei 10'000-16'000g zentrifugiert. Die RNA floss durch den Filter und befand sich in der Flüssigkeit des Auffangröhrchens, während die DNA im Filter blieb. Dieser konnte mit der gesamten DNA entsorgt werden. Danach konnte mit der RNA-Reinigung fortgefahren werden. Dafür wurden in jedes Auffangröhrchen jeweils 300 µl 100% Ethanol dazugegeben. Diese Lösung wurde dann mit der Pipette etwa 5–10-mal durchmischt, bis die Flüssigkeit wieder klar wurde. Währenddessen wurden 48 neue Sammelröhrchen mit Zymo-Spin IICR Säulen versehen und nummeriert. Die RNA-Mischung wurde dann in die vorbereiteten Zymo-Spin IICR Säulen in den Sammelröhrchen transferiert und bei Raumtemperatur 30 Sekunden lang für 10'000-16'000 g zentrifugiert. Nun blieb die RNA im Filter und die Flüssigkeit konnte entsorgt werden. In die Filter wurden jeweils 400 µl des DNA/RNA-Vorbereitungspuffers gefüllt. Die Röhrchen wurden wieder unter denselben Bedingungen wie zuvor zentrifugiert und auch hier wurde die Flüssigkeit nach dem Zentrifugieren wieder entsorgt. Nun wurden jeweils 700 µl des DNA/RNA-Waschpuffers zur RNA hinzugefügt. Das Ganze wurde nochmals unter denselben Bedingungen zentrifugiert und die Flüssigkeit konnte auch bei diesem Mal wieder entsorgt werden. Danach fügte man jeweils 400 µl des DNA/RNA-Waschpuffers pro Röhrchen hinzu und zentrifugierte die RNA-Lösungen zwei Minuten lang bei 10'000 bis 16'000 g. Daraufhin wurden alle Filterröhrchen in ein neues Eppendorf-Röhrchen gestellt. Direkt in die Säulenmatrix der Fettzellen wurden jeweils 50 µl DNase/RNase-freies Wasser gegeben. Bei den Muskelzellen wurden jeweils bloss 30 µl hinzugefügt, da die Konzentrationen tief ausgefallen waren und man sich so eine höhere Konzentration an RNA erhoffte. Es ist wichtig, dass das Wasser weder DNase noch RNase enthält, da dies beides Enzyme sind, welche für einen enzymatischen Abbau von DNA und RNA sorgen.²⁰⁹ Schliesslich wurden diese Lösungen bei Raumtemperatur 30 Sekunden lang bei 10'000-16'000 g zentrifugiert. Da von nun an die RNA vollständig isoliert war und sich somit in einer zerbrechlichen Form befand, mussten die Lösungen auf einer Kühlbox gelagert werden. Als nächster Schritt folgte das Messen der Konzentrationen. Dies wurde mithilfe des Geräts Nanodrop gemacht. Dafür wurde jeweils ein Tropfen jeder RNA-Probe auf den Sensor gegeben. Dieser spannte den Tropfen und mass mit den verschiedenen Wellenlängen des Lichts, wie viel Konzentration der RNA vorhanden war. Vorneweg wurde jedoch erst eine Probe mit dem DNase/RNase-freien Wasser getestet, um Verfälschungen durch das Wasser zu vermeiden.

10.1.3 RNA Reverse Transkription

Als erstes wurden die RNA-Lösungen vorbereitet. Laut Protokoll wurden 1 µg vollständige RNA pro 10 µl Reaktion benötigt, wobei man bis zu 2 ng pro 10 µl Reaktion oder bis zu 10 µg pro 100 µl Reaktion skalieren konnte. Falls ein tiefes 260/230 Verhältnis vorlag, welches verwendet wird, um die Reinheit von RNA-Proben zu beurteilen, empfahl das Protokoll für die Reverse Transkription 200 ng

²⁰⁹ Merck (2024): Nukleasen (DNasen und RNasen): <https://www.sigmaaldrich.com/CH/de/products/protein-biology/proteins-and-enzymes/nucleases?srsIid=AfmBOor7ddYACLyz76ZQnzFQYSGP12GoI7jpeWo0b8zcrhEL0IHw5bso> (14.09.2024)

RNA in einem Volumen von 5 µl zu verwenden. Es wurde für die Fett- und Muskelzellen jeweils ein Gesamtvolumen von 50 µl verwendet. Von den 3T3-L1-Zellen wurden 500 ng der RNA gelöst und von den C2C12-Zellen wurden jeweils 35 ng der RNA gelöst. Das benötigte Volumen wurde für alle Proben berechnet und dann jeweils mit H₂O auf 5 µl aufgefüllt. Als Negativkontrolle wurde noch eine Probe aus 5 µl des Wassers erstellt, um sicherzustellen, dass es keine RNA-Kontamination durch dieses gegeben hat. Tabelle 24 und 25 beschreiben die Mischverhältnisse und die verwendeten Konzentrationen. Bei den Proben 37, 38 und 42 wurde aufgrund der sehr geringen Konzentration das Wasser weggelassen.

TABELLE 24: RNA-PROBEN DER 3T3-L1-ZELLEN FÜR RNA-TRANSKRIPTION MIT TOTALEN VOLUMEN, KONZENTRATION, BENÖTIGTEM VOLUMEN FÜR 500NG UND VERDÜNNUNG MIT WASSER

Probe ID	Aufgabe	Totales Volumen (µl)	Konzentration (ng/ml)	µl für 500 ng	µl H ₂ O auf 5 µl
NTC	neg control	0	0	0	5
1	3T3-L1	50	150.4	3.3	1.7
2		50	192.9	2.6	2.4
3		50	180.1	2.8	2.2
4		50	182.8	2.7	2.3
5		50	147.7	3.4	1.6
6		50	173.8	2.9	2.1
7		50	173.7	2.9	2.1
8		50	186.4	2.7	2.3
9		50	187.1	2.7	2.3
10		50	179.8	2.8	2.2
11		50	164.6	3.0	2.0
12		50	168	3.0	2.0
13		50	198.7	2.5	2.5
14		50	184.3	2.7	2.3
15		50	179.8	2.8	2.2
16		50	171.6	2.9	2.1
17		50	178.1	2.8	2.2
18		50	158.2	3.2	1.8
19		50	151.3	3.3	1.7
20		50	174.7	2.9	2.1
21		50	160.6	3.1	1.9
22		50	137.2	3.6	1.4
23		50	119	4.2	0.8
24		50	134.6	3.7	1.3

TABELLE 25: RNA-PROBEN DER C2C12-ZELLEN FÜR RNA-TRANSKRIPTION MIT TOTALEN VOLUMEN, KONZENTRATION, BENÖTIGTEM VOLUMEN FÜR 500NG UND VERDÜNNUNG MIT WASSER

Probe ID	Aufgabe	Totales Volumen (µl)	Konzentration (ng/ml)	µl fü 500 ng	µl H ₂ O auf 5 µl
25	C2C12	30	18.8	1.9	3.1
26		30	16.4	2.1	2.9
27		30	17	2.1	2.9
28		30	16	2.2	2.8
29		30	18.2	1.9	3.1
30		30	10.6	3.3	1.7
31		30	17.1	2.0	3.0
32		30	17	2.1	2.9
33		30	17.8	2.0	3.0
34		30	15.6	2.2	2.8
35		30	14.6	2.4	2.6
36		30	13.6	2.6	2.4
37		30	7	5.0	0.0
38		30	7.7	4.5	0.5
39		30	8.8	4.0	1.0
40		30	8.9	3.9	1.1
41		30	19.3	1.8	3.2
42		30	7.1	4.9	0.1
43		30	15.5	2.3	2.7
44		30	20.5	1.7	3.3
45		30	25.5	1.4	3.6
46		30	10	3.5	1.5
47		30	25.7	1.4	3.6
48		30	9.8	3.6	1.4

Im Vorfeld wurde der 2X Reverse Transkription Mastermix vorbereitet. Er wurde für 55 Proben vorbereitet, um auch für die Negativkontrolle ohne Vorlage (No Template Control) genug Vorrat zu haben. Tabelle 26 zeigt die Zusammensetzung in ausführlicher Form. In der linken Spalte sind jeweils die Elemente aufgelistet, in der mittleren Spalte ist die benötigte Menge pro Probe und in der letzten die benutzte Gesamtmenge. Der Mix setzte sich aus folgenden Elementen zusammen: Der Reverse-Transkription-Puffer, welcher für optimale Bedingungen sorgte, einen Desoxyribonukleotid-Triphosphat Mix (dNTP-Mix) und Random Primer für die Reverse Transkription. Diese sind Oligonukleotide mit zufälligen Basensequenzen. Sie initiieren die Umwandlung von RNA in cDNA.²¹⁰ Die Reverse Transkriptase ist ein Enzym, das die RNA in ihre komplementäre cDNA umschreibt.²¹¹ Auch hier wurde wieder RNase-Inhibitor gebraucht, der die RNase hemmt, damit sie die RNA nicht abbauen kann. Als letztes wurde noch molekularbiologisch gereinigtes Wasser (MQ-H₂O) gebraucht.

²¹⁰ AAT Bioquest (04.03.2022): What are the common transcription primers? <https://www.aatbio.com/resources/faq-frequently-asked-questions/What-are-the-common-reverse-transcription-primers> 14.09.2024)

²¹¹ Graf von Westphalen, Georg et al. (2024): https://flexikon.doccheck.com/de/Reverse_Transkriptase (14.09.2024)

TABELLE 26: 2X REVERSE TRANSKRIPTION MASTER MIX: KONZENTRATION DER ELEMENTE PRO PROBE (LINKS) UND INSGESAMT (RECHTS)

	1 Probe	NTC + (n) Proben+2
Probe	1	55
10X RT Puffer (µl)	1	55
25X dNTP Mix 100 nM (µl)	0.4	22
10X RT Random Primers (µl)	1	55
Reverse Transkriptase (µl)	0.5	27.5
RNase Inhibitor (µl)	0	0
MQ-H ₂ O (µl)	2.1	115.5
Totales Volumen (µl)	5	275

Es wurden jeweils 5 µl des 2X Master-Mix mit 5 µl der entsprechenden RNA-Probe gemischt. Danach wurde der Thermocycler nach Tabelle 27 programmiert.

TABELLE 27: PROGRAMMIERUNG DES THERMOCYCLERS FÜR DIE REVERSE TRANSKRIPTION

Schritt	Zeit	Temperatur
1	10 min	25 °C
2	120 min	37 °C
3	5 min	85 °C
4	Halten	4 °C

10.2 Interview

Interview «Die optimale Ernährung bei einer Typ-2-Diabetes-Erkrankung» mit Clarissa Flüeler (22.09.2024, 34:13))

Zuerst zu deinen persönlichen Erfahrungen und deinem persönlichen Umfeld. Was hat dich dazu bewogen Ernährungswissenschaften zu studieren und wie hast du das Studium empfunden?

Ich muss dir zuerst ein bisschen erklären, was ich genau studiert habe. Ich habe in Brasilien Pharmazie und Biochemie studiert und der Schwerpunkt in meinen letzten zwei Jahren war Lebensmittelbiochemie. In der Schweiz habe ich dann das Nachdiplomstudium zu Humanernährung in der ETH gemacht. Mein Vater war Maschinenbauingenieur und hat lebenslang bei Nestle gearbeitet. Von meinem Vater habe ich das Interesse an Ernährung und Lebensmittelbiochemie. Als ich das Nachdiplomstudium gemacht habe, war für mich klar, dass meine Leidenschaft die Ernährung und nicht die Lebensmittelbiochemie ist. Ernährung finde ich sehr spannend.

Hast du dann nach dem Studium auch in einem bestimmten Bereich von den Ernährungswissenschaften gearbeitet?

Ich habe nicht direkt mit Ernährung gearbeitet, aber in Brasilien hatte ich einen Job in der Ernährungsabteilung eines Spitals. Es war ein grosses Spital mit 22 Stockwerken und jedes Stockwerk hatte eine Ernährungsberaterin. Aber ich war verantwortlich für die Lebensmittelsicherheit, nicht die Ernährung. Ich habe nach dem Nachdiplomstudium selbstständig Ernährungsberatungen gemacht. Ausserdem habe ich auch Vorträge zu verschiedenen Themen wie gute Ernährung gehalten und viele Kochkurse für Kinder angeboten. Jedoch alles selbstständig.

Wie hat deine berufliche Tätigkeit im Spital genau ausgesehen? Also, was genau musstest du dort machen?

Ich war für die Lebensmittelsicherheit zuständig. Es gibt viele verschiedene Regeln. Ich war viel in der Küche, wo sie sich an viele Regeln halten mussten. Zum Beispiel richtiges Händewaschen, richtiges Lagern von Lebensmitteln, richtiges Waschen von Lebensmitteln, welche man roh zu sich nimmt, wie zum Beispiel Salat, oder bei welcher Temperatur das Essen gelagert werden muss. Alles, damit das Essen ohne potenzielle Gefahr zu den Patienten gelangen konnte. Ich war überall und musste es immer kontrollieren. Ich gebe dir ein Beispiel. Sie mussten dreimal pro Tag die Temperatur des Kühlschranks kontrollieren und aufschreiben. Wenn der Kühlschrank kaputt ist, ist der Inhalt ebenfalls beschädigt. Ich musste immer schauen, dass sie das wirklich gemacht haben. Ausserdem musste ich ihnen erklären, wie man die Hände richtig wäscht. Im Lager musste ich immer schauen, dass alles richtig gelagert war. Es gibt ein Lebensmittelgesetz, welches man befolgen muss. Das war meine Aufgabe.

Welche Erfahrungen hast du allgemein in deinem Leben gesammelt, die dein Verständnis zu Gesundheit und Ernährung geprägt haben?

Viele Erfahrungen... Ich selbst versuche mein Gewicht zu halten und gesund zu leben. Für mich selbst und für meine Kinder. Seit sie geboren sind, beschäftige ich mich damit, wie ich sie gesund ernähre oder wie ich schaue, dass sie verschiedene Lebensmittel probieren und dass sie Gemüse und Früchte essen. Ja, es ist ein Thema, das jeden betrifft. Jeden Tag mindestens dreimal, wenn du isst oder wenn du einkaufen gehst.

Hat sich Deine Sicht auf die Ernährung und die Gesundheit geändert, seit Du nicht mehr so aktiv in dem Bereich arbeitest?

Nein, weil ich noch immer Podcasts höre und mich sehr für das Thema interessiere. Ich arbeite in der schulergänzenden Betreuung. Dort ist das Essen auch zentral. Die Kinder müssen dort Mittag essen und wir schauen, dass sie einen gesunden Zvierli bekommen. Ich habe mehrmals in der Schule Projekte über gesunde Ernährung mit den Kindern gemacht. Ich habe auch viel Material und backe sehr gerne mit den Kindern in der Schule. Es bleibt ein Thema, auch jetzt mit den Kindern. Man kann die Themengebiete gut kombinieren.

Gibt es etwas, was Dich weiterhin dazu motiviert, dich weiter so intensiv mit dem Bereich zu beschäftigen?

Ja, ich glaube die Ernährung... vor allem für die Kinder. Wenn man es als Kind lernt, bleibt es für das ganze Leben. Ich denke, durch gesunde Ernährung kannst du so viele Krankheiten vorbeugen. Du kannst so viel machen und es muss nicht teuer sein. Du musst keine Medikamente kaufen oder so. Durch Ernährung und Bewegung kannst du viele Sachen bewirken und viele Sachen für deine Gesundheit machen. Es ist nicht schwierig und auch nicht teuer, aber man braucht viel Disziplin.

Hast du im Studium oder sonst in deinem Leben mal etwas mit Typ-2-Diabetes-Erkrankungen zu tun gehabt?

Ja, meine Grossmutter hatte Typ-2-Diabetes. Ich habe eine Tante, die jetzt auch Diabetikerin ist, die Tochter. Und meine Mutter ist jetzt Prädiabetikerin... sie ist in dieser Phase. Und ja, es ist eine Familiengeschichte.

Und hat sich dein Verständnis zu Typ-2-Diabetes-Erkrankungen seit deinem Studium irgendwie verändert oder entwickelt?

Wegen meiner Mutter und meiner Tante nicht. Ich sage meiner Mama, was sie machen sollte... das macht sie aber nicht. Ich glaube, eher das Gegenteil ist der Fall. Durch das Studium habe ich das Wissen: Was ist gefährlich, wenn man Prädiabetiker ist? Was sind die Trigger? Was kann man machen? Es ist wie das Gegenteil.

Was sind Ursachen für eine Typ-2-Diabetes-Erkrankung?

Es hängt mit der Ernährung zusammen. Diabetes-Typ-2 ist oft mit Übergewicht verbunden. Und warum das? Irgendwann kann man das Fett nicht mehr im Körper, bzw. normal in den Fettzellen lagern und man beginnt Fett in den falschen Orten zu lagern. Zum Beispiel in der Bauchspeicheldrüse, der Leber oder in den Muskelzellen. Das ist gefährlich, weil diese Organe dann die Insulinausschüttung nicht mehr richtig kontrollieren können. Der Muskel braucht beispielsweise Zucker, um zu funktionieren. Wenn man Fett in der Muskulatur hat, kann diese den Zucker nicht mehr richtig aufnehmen. Deswegen ist das Fett in den falschen Organen sehr gefährlich. Bei einem Übergewicht hat man ein höheres Risiko für Herzprobleme, es kommt zu einem erhöhten Blutdruck und einem hohen Cholesterinspiegel. Der schlechte Cholesterinspiegel ist normalerweise sehr hoch. Das ist so eine Kombo. Sehr wichtig: Wenn die Diabetiker abnehmen, hilft es schon, dass das Fett von den Organen abgebaut wird. Deswegen ist es für Diabetiker des Typ 2 wichtig, auf eine gesunde Ernährung mit Gewichtsverlust und Bewegung zu achten.

Was sind so die „Biggest Myths“ zu den Typ-2-Diabetes-Erkrankungen?

Ich denke die „Biggest Myth“ ist, dass man sagt: „Wieso habe ich Diabetes? Ich esse wenig Zucker, also wenig Süssigkeiten.“ Das ist das grösste „Myth“ für mich. Oder dass man denkt, man müsste Symptome haben. Die Symptome kommen erst, wenn es schon so weit ist. Ich glaube, viele assoziieren Diabetes Typ 2 auch nicht mit Übergewicht. Sie assoziieren es eher mit Insulin und irgendetwas in der

Schilddrüse. Aber das ist Diabetes Typ 1. Viele Menschen wissen auch nicht, dass es Typ 2 Diabetes gibt. Das ist so meine Meinung dazu.

Welche Nährstoffe und Lebensmittel gelten als besonders vorteilhaft für Typ-2-Diabetiker?

Für Typ-2-Diabetiker, und allgemein für uns alle, ist wichtig, dass der Blutzucker nicht zu schnell steigt. Wenn der Zucker zu schnell ins Blut kommt, dann braucht der Körper mehr Insulin. Wenn man als Diabetiker kohlenhydrathaltige Lebensmittel zu sich nimmt, muss man darauf achten, dass es nicht zu einem zu schnellen Blutzuckerspiegelanstieg kommt. Es ist wichtig, dass man Lebensmittel mit vielen Nahrungsfasern isst. Zum Beispiel Gemüse, Nüsse, Vollkornprodukte haben viele Nahrungsfasern. Man sollte auch eher Vollkornprodukte essen. Und allgemein sagt man „Eat the Rainbow“. Man soll farbig essen, dass man viele Polyphenole zu sich nimmt. Das ist jetzt eher etwas allgemein und nicht spezifisch nur für Typ-2-Diabetiker. Polyphenole sind Pflanzenstoffe, die die Pflanzen gegen Schadstoffe schützen. Diese Inhaltsstoffe schützen auch unseren Körper und geben den Lebensmitteln ihre Farben. Deshalb sagt man: „Eat the Rainbow.“ Nur so als Ergänzung.

Zum Thema „Eat the Rainbow.“ Ich habe gehört, dass Fruktose nicht so gut sein soll für Diabetiker, weil es sich auch um eine Art Zucker handelt. Sollte man als Diabetiker dann weniger Zucker essen und dafür mehr Gemüse?

Alle Kohlenhydrate müssen in Glukosekörper gespalten werden. Fruktose muss auch gespalten werden. Soviel ich weiss, gibt es Früchte, welche den Blutzucker und somit auch den Insulinspiegel schneller in die Höhe steigen lassen, und andere weniger schnell. Für Diabetiker sind Früchte mit einem niedrigeren glykämischen Index besser geeignet, also zum Beispiel Beerenfrüchte. Du hast aber recht, dass Gemüse weniger Kohlenhydrate enthalten und somit einen Vorteil gegenüber Früchten haben. Aber ich würde nicht sagen, dass Diabetiker keine Früchte essen dürfen. Vielleicht eher kombiniert mit etwas, das den Blutzucker nicht so hochsteigen lässt. Zum Beispiel mit ungesüßtem Joghurt...dieser hat viele Proteine. Aber eine Banane wäre wahrscheinlich nicht gerade gut. Saft würde ich Diabetikern jedoch nicht empfehlen, da dieser zu einem sehr schnellen Anstieg des Blutzuckerspiegels führt.

Wie würde so ein perfekter Ernährungsplan für einen Diabetiker aussehen? Gibt es da irgendwelche speziellen Sachen, welche man beachten muss?

Diabetiker sollten sich auch an die Lebensmittelpyramide halten. Es ist allgemein die normale Pyramide mit „Eat the Rainbow“. Aber Diabetiker müssen schauen, wie viel Kohlenhydrate sie essen und nicht übertreiben. Sie sollen Vollkornprodukte bevorzugen, weil diese mehr Nahrungsfasern haben...das ist auch für uns wichtig. Sie helfen auch, dass der Insulinspiegel im Körper nicht so steigt. Ungesüsste Sachen trinken, Kohlenhydrate, Gemüse und Früchte. Und darauf achten, bei beispielsweise dem Konsum von Joghurt auf den Zusatz von Zucker zu verzichten. Ich persönlich bin nicht so Fan von „Light-Produkten“. In diesen Produkten wird der Zucker weggenommen und mit Süsstoffen ersetzt. Ich finde, man sollte vollkommend auf den Zuckersatz verzichten. Das Problem von Typ-2-Diabetikern ist das Übergewicht. Daher ist es wichtig für Diabetiker abzunehmen. Schoki ohne Zucker hat dann vielleicht viel Fett drinnen, was auch viele Kalorien sind. Das ist nicht gesund, auch nicht für Diabetiker.

Noch eine Frage zu den Süsstoffen: Ich habe mehrmals gelesen, dass Diabetiker eher auf Süsstoffe anstatt Zucker setzen sollten, da sie weniger Kalorien haben. Aber stimmt das wirklich, oder haben die Süsstoffe auch Nachteile?

Das kann ich dir leider nicht beantworten. Es ist schon zu lange her, als ich das studiert habe. Damals habe ich über Aspartam gelernt. Man hat zu Aspartam sehr viele Studien gemacht. In der Menge, die wir essen, für einen normalen Menschen, ist es nicht gefährlich. Die Menge, welche wir konsumieren. Aber wie sich das in diesen zwanzig Jahren entwickelt hat, kann ich dir nicht beantworten.

Denkst du, dass es möglich ist durch eine gezielte Diät die Insulininjektionen bei einem fortgeschrittenen Diabetes zu verringern?

Bei einem fortgeschrittenen Diabetes...weiss ich es nicht. Das kann ich nicht beurteilen. Bei einem Prädiabetiker oder Diabetiker kann man es schon durch gezielte Diät und Bewegung senken. Aber bei einem fortgeschrittenen Diabetes weiss ich es nicht. Das ist eine gute Frage...

Glaubst du, dass heute bei einer Typ-2-Diabetes-Behandlung zu schnell zu Medikamenten oder Insulinspritzen gegriffen wird?

Spezifisch zu diesen Medikamenten kann ich es nicht beurteilen, weil ich da nicht so informiert bin. Aber was ich allgemein über Medikamente und über diese Ozempic-Spritzen im Moment sagen kann: Es wird viel verschrieben und sie haben auch nicht genug Ozempic. Meine Meinung ist, dass es eine Industrie ist. Die Pharma ist eine Industrie und es ist viel Geld im Spiel. Aber es gibt viele Sachen, die man machen könnte und die sehr günstig sind. Aber man teilt es nicht mit und sie sind sehr aufwändig. Zum Beispiel spazieren zu gehen. Man braucht kein Geld, um sich aktiv zu bewegen. Man kann Treppen steigen, schlafen, Sonne tanken und sich gesund ernähren. Es muss nicht teuer sein. Gesunde Ernährung ist aufwändiger, das ist so. Aber man kann planen. Ich mache das, indem ich zum Beispiel eine grosse Menge Vollkornreis koche, diese portioniere und dann im Tiefkühler lagere. Aber es ist aufwendig und braucht viel Disziplin. Es ist nicht einfach für einen Menschen. Es muss etwas sein, zu was man lebenslang fähig ist. Denn man kann nicht für ein Jahr abnehmen und dann wieder zurück zu seinen alten Gewohnheiten. Das ist sehr schwierig. Es gibt Patienten, die brauchen diese Medikamente und sie sind auch wichtig. Gott sei Dank hat man die! Aber ich bin sehr der Meinung, dass die Ärzte allgemein sowieso schnell Medikamente verschreiben. Und bei den Diabetikern ist es wahrscheinlich nicht anders. Aber ich will nicht sagen, dass sie nicht wichtig sind. Es gibt Patienten, welche sie brauchen. Aber sie sollten von einem gesunden Lebensstil und Ernährung begleitet werden. Das ist für die meisten Menschen schwierig.

Die nächste Frage hast du schon ein bisschen angesprochen. Würde eine bessere Aufklärung über die ideale Ernährung helfen?

Ja, auf jeden Fall. Aber nicht nur einmal aufklären. Diese Patienten müssen begleitet werden. Patienten, die abnehmen und ihren Lebensstil ändern, müssen begleitet werden. Ich spreche zum Beispiel von meiner Mutter. Sie hat null Disziplin, null. Sie weiss, sie muss abnehmen. Sie weiss, sie ist Prädiabetikerin. Sie weiss es, aber sie hat keine Disziplin. Sie braucht eine Begleitung.

Gibt es Unterschiede zwischen der optimalen Ernährung, um einen Typ-2-Diabetes zu verhindern und der optimalen Ernährung, wenn man schon einen Typ-2-Diabetes hat?

Ich denke für Diabetes Typ 2 ist wichtig, dass man auf die Kalorien schaut und darauf achtet, was man isst, damit man nicht noch zunimmt. Bei Diabetes Typ 2 ist das Übergewicht sehr zentral. Abnehmen ist wichtig, deshalb müssen sie auf die Essensmenge und die Menge an Kohlenhydrate achten. Aber das Risiko für Diabetes und Herzprobleme ist nicht nur das Gewicht, sondern auch, wie man das Gewicht im Körper lagert. Hast du schon von diesem Bauchumfang gehört?

Ja, es gibt die zwei Typen. Den Birnen- und den Apfelpyp.

Genau. Frauen haben beispielsweise weniger Risiko als Männer, denn wir lagern unser Fett auch in unseren Armen, unseren Beinen und in unserem Po. Männer hingegen eher im Bauch, dem Apfel-Format. Es ist erwiesen, dass dieses Format gefährlicher als der Birnentyp ist, welchen eher Frauen, als Männer haben.

Wenn man Diabetes vermeiden möchte...wie sollte man sich dann ernähren, dass man ihn gar nicht erst bekommt?

Eat the Rainbow, viele Vollkornprodukte, viele Nüsse und Hülsenfrüchte, diese sind sehr gesund und haben auch viele Nahrungsfasern. Ich finde es sehr spannend. Ich höre momentan einen Podcast, der sich sehr mit dem Darm beschäftigt. Der Darm ist wie unser zweites Gehirn. Er ist wahrscheinlich wirklich ein Schlüssel für unsere Gesundheit und sogar die psychische Gesundheit. Lebensmittel, die der Darmflora helfen, ungesüsste Sachen trinken und Süßes und Alkohol nur in Massen konsumieren. Ich finde, man darf auch nichts verbieten. Man muss einen mittleren Weg finden. Aber sich gemäss dieser Lebensmittelpyramide ernähren. Was die Lebensmittelpyramide jedoch nicht so viel betont, sind die Nüsse und die Hülsenfrüchte. Ich versuche mich eher vegetarisch zu ernähren, esse jedoch auch ab und zu mal Fleisch...aber nicht jeden Tag. Bewegung ist auch wichtig. Nicht nur Ausdauer, sondern auch Krafttraining, um Muskeln aufzubauen, welche sehr wichtig sind.

In meiner Maturitätsarbeit habe ich ein Experiment durchgeführt. In diesem habe ich Fett- und Muskelzellen mit den Nahrungsmittelinhalten EGCG (ein Grünteeextrakt), DHA (Omega-3-Fettsäure) und Resveratrol behandelt und daraufhin die Insulinsensitivität getestet. In dem Experiment konnte man eine positive Wirkung von EGCG (ein Grünteeextrakt) auf die Insulinsensitivität in Muskelzellen feststellen. Hast du Erfahrung oder Wissen über die spezifische Wirkung von EGCG/Grünteeextrakt auf Diabetes?

Nein, ich musste etwas darüber recherchieren. Es ist etwas, das ich nicht studiert habe. Ich finde es sehr spannend. EGCG hemmt die Spaltung von Kohlenhydraten und so steigt der Zuckerspiegel langsamer. Was ich gelesen habe, ist, dass es verschiedene Hinweise darauf gibt, dass es hilft. Aber, ob das schon wissenschaftlich geprüft ist, weiss ich nicht.

In den letzten Jahren wurde Matcha immer beliebter auf Social Media. Er ist mittlerweile auch sehr für seine gesunden Auswirkungen bekannt. Denkst du, dass Matcha auch einen positiven Effekt auf die Insulinsensitivität, ähnlich wie EGCG, haben könnte, als Bestandteil von Grüntee?

Ich weiss nicht, ob das schon wissenschaftlich belegt ist. Bei den Lebensmitteln ist es gefährlich, dass man sehr schnell Werbung für Sachen macht, die noch gar nicht richtig wissenschaftlich belegt sind. Schaden wird es sicher nicht. Aber wichtig für mich ist die Frage, ob es wissenschaftlich schon geprüft ist. Man kann nämlich viel Geld mit solchen Sachen machen. So viel wie ich gelesen habe noch nicht, aber ich bin mir nicht hundert Prozent sicher, ob es wissenschaftlich geprüft ist oder nicht. Es ist auch wichtig zu wissen, wie viel man davon am Tag nehmen muss, damit es gesund wirkt. Wie viel Matcha muss man pro Tag trinken, damit es gesund wirkt?

Dann wären wir schon am Schluss. Als letzte Frage: Was würdest du einem Typ-2-Diabetiker bezüglich seiner Ernährung mit auf den Weg geben?

Den Lebensstil und die Ernährung ändern, versuchen aktiv zu werden. Es ist nicht so schwierig. Du kannst dreimal am Tag zehn Minuten laufen, das ist schon mal etwas. Eine halbe Stunde laufen zu gehen, ist schon mal ein Anfang. Sich beraten zu lassen, falls nötig und Medikamente zu nehmen. Und dranzubleiben im Wissen, dass es eine lebenslange Veränderung ist. Wenn man in diesem neuen Lebensstil drinnen ist, spürt man, wie es guttut und wie man mehr Energie hat. Wenn man abnimmt und aktiver ist, hilft es der Gesundheit allgemein. Wenn man das spürt, hat man Freude und macht weiter. Aber es ist schwierig und braucht viel Disziplin.

Dann bedanke ich mich ganz herzlich für das Gespräch und die Zeit, die du dir genommen hast.