

DIE OPTIMALE ERNÄHRUNG BEI EINER TYP-2-DIABETES-ERKRANKUNG

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



HINTERGRUND

Diabetes Typ 2, auch unter dem Namen “Zuckerkrankheit” bekannt, ist eine chronische Stoffwechselerkrankung, die mit einem dauerhaft erhöhten Blutzuckerspiegel einhergeht. Die häufigste Ursache ist eine ungesunde Ernährung in Kombination mit Bewegungsmangel und Adipositas. Durch den dauerhaft hohen Blutzuckerspiegel werden die Zellen allmählich resistent gegen das Insulin - ein Hormon, das wie ein Schlüssel die Glukoseaufnahme steuert. Dadurch ist die Glukoseaufnahme in die Muskel- und Fettzellen nur erschwert möglich und der Blutzuckerspiegel bleibt erhöht. In einem Anfangsstadium produziert die Bauchspeicheldrüse noch mehr Insulin, im Verhältnis zur benötigten Menge jedoch zu wenig. Mit der Zeit erschöpft sie sich und reduziert allmählich die Insulinproduktion. Bei der Manifestation der Krankheit sind auch erbliche Faktoren involviert. Man kann sie jedoch durch eine ausgewogene Ernährung und regelmässige Bewegung vorbeugen.

INSULINSIGNALWEG

Insulin aktiviert eine Signalkaskade, welche die Glukoseaufnahme in die Zellen steuert. Diese Arbeit konzentriert sich auf vier zentrale Akteure.

AKT wird durch Insulin aktiviert und leitet die Insulinsignale an Effektorproteine weiter, welche GLUT4 an die Zelloberfläche steuern.

GLUT4 ist ein Glukosetransporter, der bei Aktivierung in die Zellmembran eingebaut wird und die Glukoseaufnahme ermöglicht.

PPAR-γ ist ein Gen, das die Transkription von GLUT4 fördert und die Reifung von Vorläuferzellen zu Fettzellen reguliert.

PGC-1α verbindet die einzelnen Insulinsignalwege in Skelettmuskelzellen und hält die mitochondriale Funktion aufrecht.

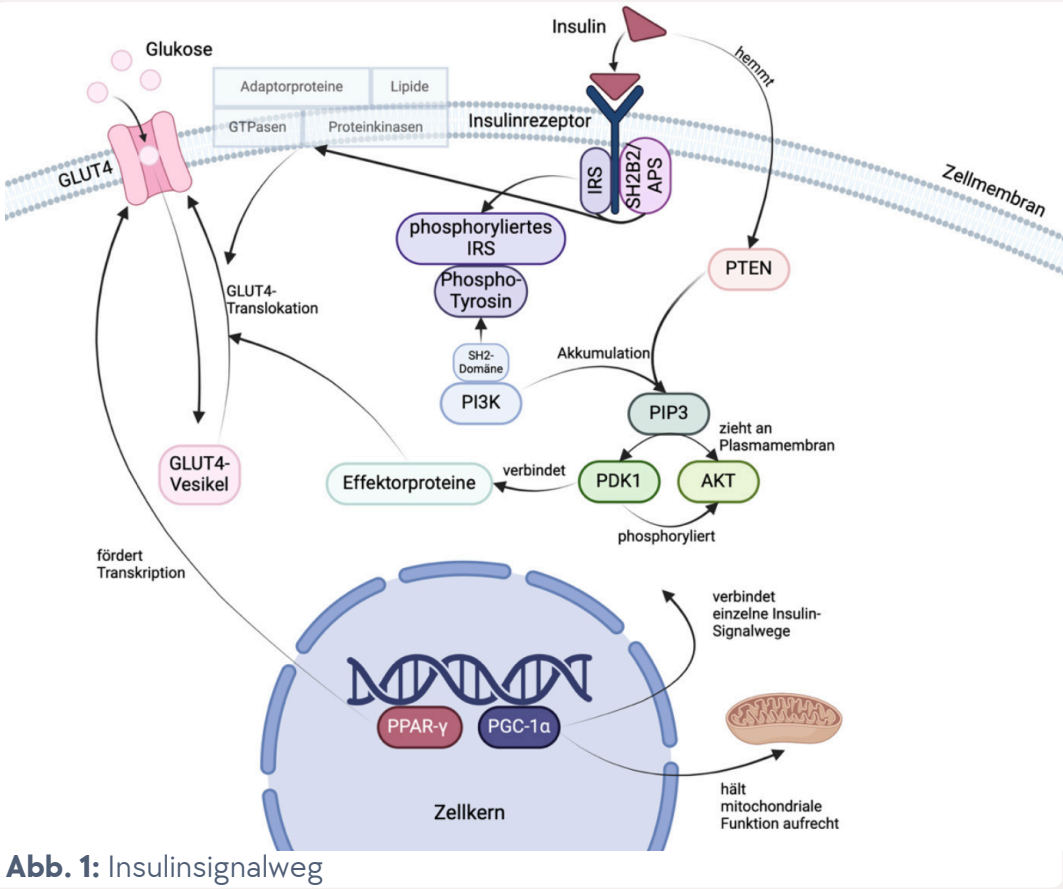


Abb. 1: Insulinsignalweg

FRAGESTELLUNG

Ziel dieser Arbeit war es, herauszufinden, wie sich Diabetiker*innen optimal ernähren sollten. Dabei lag der Schwerpunkt auf den drei Nahrungsbestandteilen EGCG, DHA und Resveratrol, die in verschiedenen Lebensmitteln vorkommen.

Die genaue Fragestellung lautet:

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-1α in Fett-(3T3-L1) und Muskelzellen (C2C12)?

Die Untersuchung zielte darauf ab, herauszufinden, ob diese Substanzen die Insulinsensitivität durch eine veränderte Expression der Akteure des Insulinsignalwegs steigern und somit die Insulinantwort der Zelle verbessern. Auf diese Weise könnten sie vorteilhaft in der Diät eines Typ-2-Diabetikers sein.

HYPOTHESEN

Die Hypothesen besagten, dass EGCG und Resveratrol die Insulinsensitivität durch eine erhöhte Proteinexpression von AKT und GLUT4 sowie eine gesteigerte Genexpression von GLUT4 und PGC-1α verbessern würden, während eine geringere Genexpression von PPAR-γ zu einer reduzierten Differenzierung von Vorläuferzellen in Adipozyten führen und so die Fettbildung hemmen könnte. Bei DHA wurde eine erhöhte Expression aller getesteten Proteine und Gene erwartet.

WICHTIGSTE ERGEBNISSE

EGCG erhöhte in C2C12-Muskelzellen unter Insulinstimulation signifikant ($p < 0.05$) die Expression von AKT und GLUT4, was die Hypothese bestätigt. Dies deutet darauf hin, dass EGCG die Insulinsensitivität fördert. Auf diese Weise könnte der Grünteeextrakt Typ-2-Diabetikern helfen, ihre Blutzuckerwerte auf eine natürliche Art und Weise zu verbessern. EGCG stellt also nicht nur eine mögliche gesunde Alternative für einen besseren Lebensstil dar, sondern bietet auch wertvolle Ansatzpunkte für weitere Forschungen.

AKT

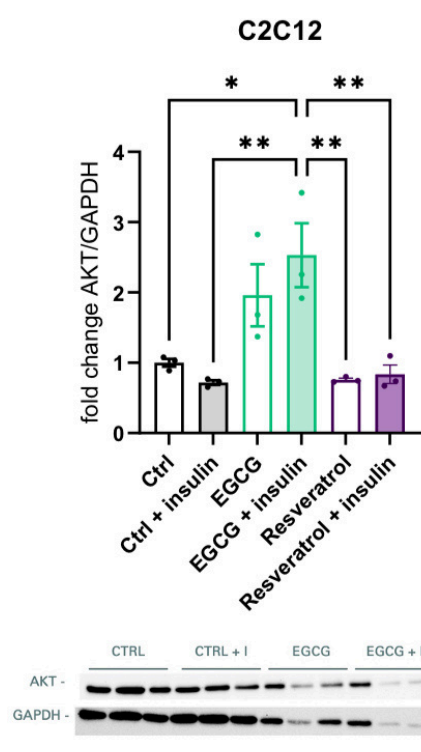


Abb. 6: Ergebnisse AKT

GLUT 4

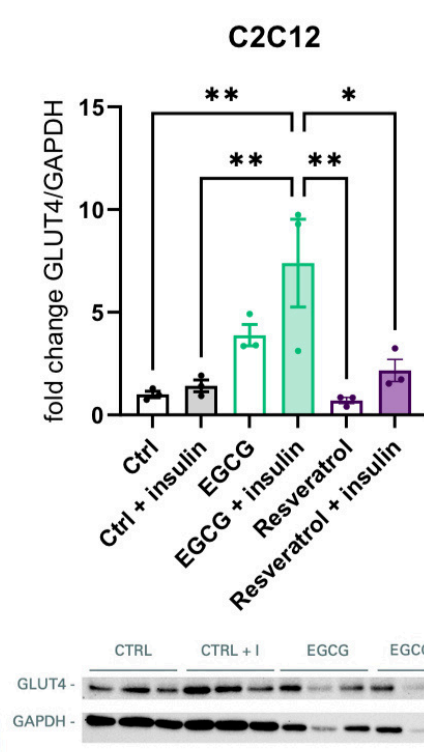


Abb. 7: Ergebnisse GLUT4

VORGEHENSWEISE

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.

1 Zellkulturen

Als erstes wurden die entsprechenden Zellkulturen gezüchtet. Dafür wurden sie zuerst als Vorläuferzellen kultiviert, vermehrt und schliesslich in “erwachsene” Fett- und Muskelzellen differenziert.

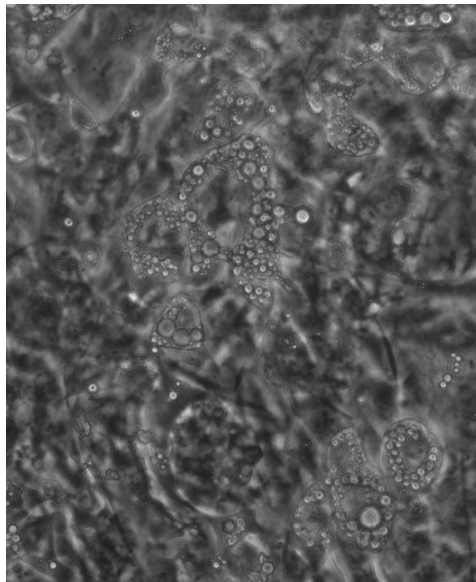


Abb. 2: Fettzellen

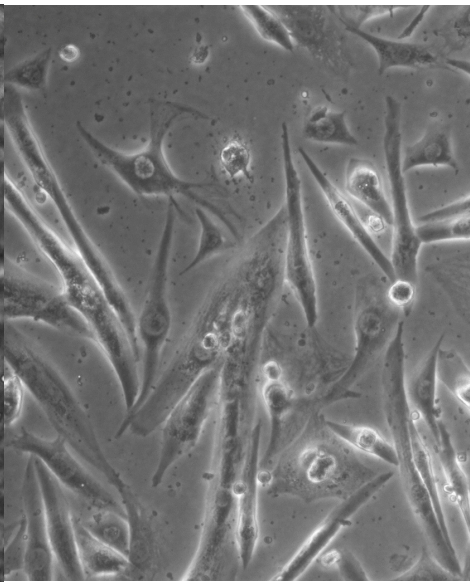
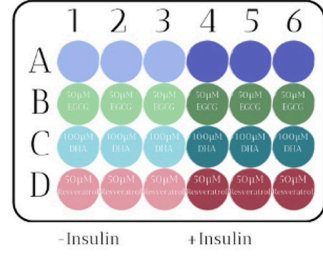


Abb. 3: Muskelzellen

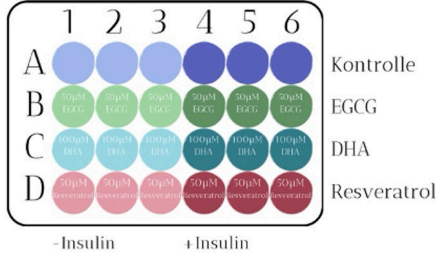
2 Behandlung

Danach wurden die Zellkulturen mit den Compounds EGCG, DHA, Resveratrol und DMSO (als Kontrolle) über 24 Stunden behandelt. Nach der Behandlung erfolgte das zweistündige Fasten. Während dieser Zeit erhielten die Zellen weder Nährstoffe noch ein Serum oder Zucker. Anschliessend wurde jeweils die Hälfte der Zellen eine Stunde lang mit Insulin stimuliert, um den Insulinsignalweg zu aktivieren.

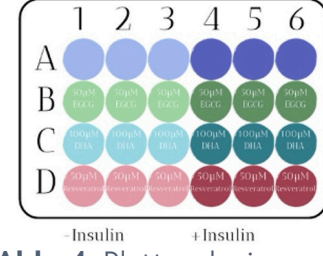
C2C12, Protein



3T3-L1, Protein



C2C12, RNA



3T3-L1, RNA

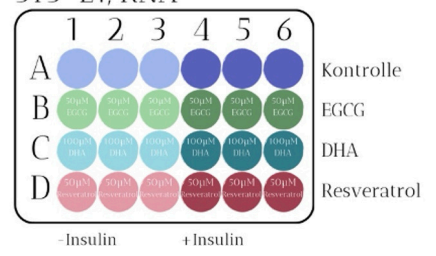


Abb. 4: Plattendesign

3 BCA-Assay

Das BCA-Assay quantifizierte die Gesamtproteinmenge anhand einer violetten Farbentwicklung – je intensiver die Farbe, desto höher die Proteinkonzentration. Die Messung erfolgte relativ zur Standardkurve (links).

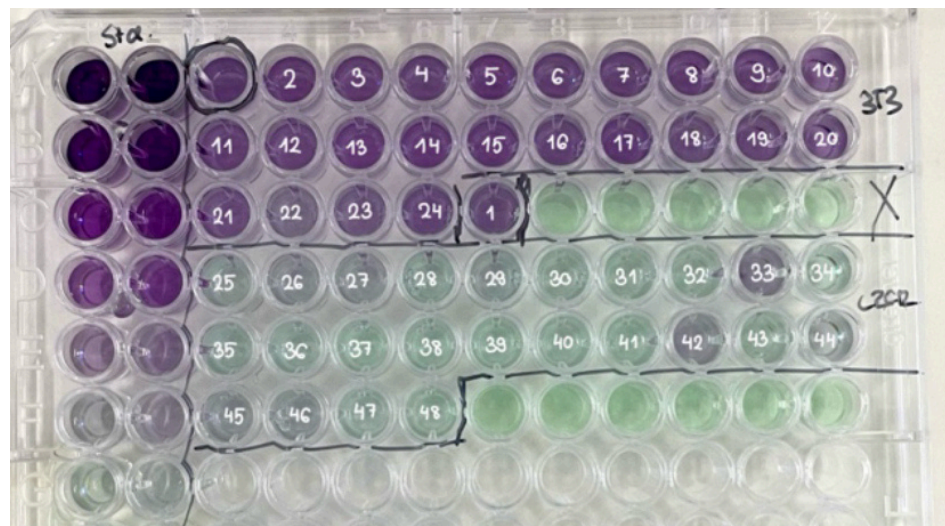


Abb. 5: BCA-Assay (Platte)

4 Western Blot

Daraufhin wurde in der Gesamtzahl der Proteine mit Western Blots nach den spezifischen Proteinen gesucht. Dafür wurden die Proteine aus den Zellen extrahiert, in einem Gel aufgetrennt und anschliessend auf eine Membran übertragen. Mithilfe einer Immundetektion wurden die spezifischen Proteine schliesslich visualisiert.

5 qPCR

Für die Genanalyse wurde das qPCR-Verfahren angewendet. Hierfür wurde zuerst die RNA isoliert und anschliessend in der Reverse Transkription in cDNA umgeschrieben. Diese wurde mit einem fluoreszierenden Marker versehen, dessen Signal die ursprünglichen RNA-Menge und damit die Genexpression widerspiegelt.