

Zellbiologie

V32 Bestimmung der zellulären Thermogenese mittels direkter Mikrokalorimetrie

Dr.rer.nat. Hartfried Böttcher (✉), P. Fürst
Institut für Biologische Chemie und Ernährungswissenschaft 140, Universität Hohenheim,
70593 Stuttgart

Mikrokalorimetrie ist eine hochempfindliche Methode, mit der die gesamte Wärmeproduktion isolierter Zellen direkt bestimmt werden kann. Dazu werden die Zellen in die Meßeinheit des Kalorimeters (ThermoMetric 2277 ThermalActivityMonitor) eingebracht, die mit einer Genauigkeit von 10^{-4} K auf 37° thermostatisiert ist. Die Wärmeproduktion der Zellen bewirkt eine Temperaturerhöhung, die der Wärmeproduktion proportional ist und einen Wärmefluß in die Umgebung bewirkt. Die Temperaturdifferenz wird mittels thermoelektrischer Meßelemente registriert. Die Nachweisgrenze liegt bei $0,2 \mu\text{W}$; 10^4 Zellen sind für eine Messung ausreichend. Mit Hilfe eines von uns entwickelten Mikrokatheters können während der Messung Testlösungen, wie z.B. Cytostatika- und Hormonlösungen, zugegeben werden.

Wir haben die Thermogenese transformierter Zelllinien und die Effekte cytotostatischer Pharmaka untersucht, ebenso wie den zellulären Energiestoffwechsel isolierter weißer Fettzellen von normal- und übergewichtiger Probanden, wovon im folgenden die Ergebnisse kurz dargestellt werden: Adipocyten von 23 Männern und Frauen (BMI 19–41) wurden in Agarosegel kultiviert. Die Thermogenese (bezogen auf den DNA-Gehalt der Zellen) betrug basal $5,6 \mu\text{W}/\mu\text{g}$ DNA und konnte durch β -adrenerge Stimulation ($1 \mu\text{M}$ Isoproterenol) auf $8,6 \mu\text{W}/\mu\text{g}$ DNA erhöht werden ($p < 0,0001$). Je größer das Übergewicht der Probanden, desto niedriger waren basale ($r = 0,56$; $p < 0,01$) und stimulierte ($r = 0,44$; $p < 0,05$) Wärmeproduktion. Simultan durchgeführte biochemische Messungen ergaben, daß die Verringerung der Fettzell-Thermogenese bei Übergewicht durch eine verminderte Aktivität des Glucose/Lactat-Substratzyklus (basal) bzw. des Triglycerid/FFA-Zyklus (stimuliert) bedingt ist. Als alleinige Ursache für die Entstehung der Adipositas können diese Ergebnisse allerdings nicht angesehen werden, da der Anteil der weißen Fettzellen am Ruhe-Nüchtern-Umsatz $< 10\%$ ist.

V33 Die Rolle des intrazellulären Calciums bei der Signaltransduktion in Colonocyten

Prof.Dr. Gerhard Rechkemmer (✉), S.L. Abrahamse, J. Wever, A. Thum, Karlsruhe, Hannover
Institut für Ernährungsphysiologie, Bundesforschungsanstalt für Ernährung,
Engesserstraße 20, 76131 Karlsruhe

Die intrazelluläre Calciumkonzentration $[\text{Ca}^{2+}]_i$ spielt in tierischen Zellen eine wichtige physiologische Rolle, da Calcium als Second-Messenger bei der neuronalen und hormonellen Signalübertragung fungiert. Im Grundzustand der Zellen beträgt die $[\text{Ca}^{2+}]_i$ etwa 100 nmol/l , wogegen die Calciumkonzentra-

tion in der Extrazellulärflüssigkeit etwa 2 mmol/l beträgt. Nur bei intakter Zellmembran kann dieser hohe Calcium-Gradient aufrechterhalten werden. Eine strukturelle und/oder funktionelle Schädigung der Membran, z.B. durch Peroxidation der Lipide bei oxidativem Streß, könnte die zelluläre Calciumhomöostase und damit die physiologischen Regulationsprozesse wesentlich beeinträchtigen.

Um diese Zusammenhänge zu untersuchen, wurde in primär isolierten Colonocyten von Ratten und Colonkrypten von Menschen sowie in den permanenten, menschlichen Colontumorzelllinien HT29-Clon19A und CaCo2 die $[\text{Ca}^{2+}]_i$ mit dem Fluoreszenzindikator Fura-2 gemessen.

Carbachol bewirkte in Colonocyten dosisabhängig eine zweiphasige Erhöhung der $[\text{Ca}^{2+}]_i$, mit einem raschen initialen Anstieg und nachfolgendem Abfall auf einen gegenüber den Ausgangswerten erhöhten Plateauwert. Atropin hemmte den Carbachol-Effekt. Histamin zeigte ähnliche Effekte wie Carbachol. Die Wirkungen von Histamin und Carbachol auf die $[\text{Ca}^{2+}]_i$ waren additiv. Für einige Peptidhormone (VIP, Bradykinin) und Prostaglandin E_2 wurde nur eine geringe oder keine Erhöhung der $[\text{Ca}^{2+}]_i$ beobachtet.

Oxidativer Streß wurde durch Inkubation von Colonocyten mit H_2O_2 induziert. Unter diesen Bedingungen wurde bei HT29-Clon19A-Zellen keine Veränderung der Calciumregulation bis zu $500 \mu\text{mol/l}$ H_2O_2 beobachtet. Bei CaCo2-Zellen und frisch isolierten Colonocyten von Ratten wurde jedoch dosisabhängig eine rasche Zunahme und nachfolgende stetige Erhöhung der $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ab $100 \mu\text{mol/l}$ H_2O_2 gemessen. Dies kann als eine membranschädigende Wirkung des H_2O_2 bei diesen Zellen interpretiert werden. Aus den Messungen ergab sich eine unterschiedliche Sensitivität von Colonocyten gegen oxidativen Streß.

Die Untersuchungen zeigen, daß die Interaktionen zwischen oxidativem Streß und Antioxidantien und deren Rolle bei der physiologischen Regulation von Zellfunktionen durch Messung der $[\text{Ca}^{2+}]_i$ charakterisiert werden können.

V34 Internalisierung von Somatostatin-Rezeptoren

Adelheid Roth* (✉), Dirk Roosterman, Dietmar Richter*, Wolfgang Meyerhof*
Abteilung für Molekulare Genetik, Deutsches Institut für Ernährungsforschung,
*Universität Potsdam, Potsdam-Rehbrücke
*Institut für Zellbiochemie und klinische Neurobiologie,
Universitäts-Krankenhaus Eppendorf, Hamburg

Das Neuropeptid Somatostatin kommt in zwei biologisch aktiven Formen vor, dem SST-14 und dem N-terminal verlängerten SST-28. Beide Peptide sind von beträchtlicher ernährungsphysiologischer Relevanz durch ihre Rollen als Regulatoren gastrointestinaler Funktionen. SST inhibiert exokrine und endokrine Sekretion, Darm-Motilität und Nährstoffabsorption. Darüber hinaus stimuliert es die Nährstoffaufnahme in hungernden und inhibiert die in gefütterten Tieren. Die Freisetzung des Peptids unterliegt der Kontrolle durch luminale Faktoren, zirkulierende Nährstoffe, Hormone und Neurotransmitter. Somatostatin vermittelt seine Wirkung über wenigstens fünf verschiedene G-Protein-gekoppelte heptahelikale Rezeptoren (SSTR1–5), für die korrespondierende cDNAs isoliert werden konnten.