

ABSTRACT

Obesity is an increasing health problem for many western countries, manifested in a heterogeneous group of associated disorders. Obesity itself is defined as a disorder of energy balance, where energy intake exceeds energy expenditure. Understanding the molecular mechanisms and environmental cues which drive a somatic stem cell to a preadipocyte and further to a mature adipocyte may enable us to fight obesity on a molecular level by designing effective drug treatments to reduce adipose tissue mass with small or no side effects for the patients. The microarray technology is a powerful means to generate a gene expression profile, which allows to simultaneously observe the activity of thousands of genes in one experiment.

The objective was to establish a cell culture model system to study the transcriptional mechanisms which are involved in adipogenesis in vitro. A cell line of murine bone marrow stromal (BMS) cells has been proven to be capable of undergoing adipogenesis upon proper induction. A supplementation of growth medium with dexamethasone and indomethacin massively induced adipogenesis. This was evidenced by oil red O staining.

BMS cells are known to have somatic stem cell character, being able to differentiate into osteocytes, chondrocytes, adipocytes, haematopoiesis-supporting cells and even non-mesodermal cells. The established cell line was investigated for its in vivo properties via an in vivo transplantation assay. The results show that these cells are able to form bone, adipocytes and a complete haematopoietic microenvironment.

Further, the reciprocity of the cells was tested, by means of re-differentiating a mature adipocytic culture into a culture showing an osteogenic phenotype.

Finally, microarray assays were performed in order to delineate transcriptional regulatory networks.

Keywords :

adipocyte, microarray, murine bone marrow stromal cells, obesity, stem cells

KURZFASSUNG

Adipositas ist ein immer größer werdendes Gesundheitsproblem in den westlichen Ländern. Dies manifestiert sich in einer heterogenen Gruppe von Krankheiten, welche mit der Fettsucht in Verbindung stehen. Definiert wird Adipositas selbst als eine Krankheit, in der die Aufnahme von Energie dessen Abbau übersteigt. Das Verständnis der molekularen Mechanismen und die Kenntnis der Umwelteinflüsse, welche eine somatische Stammzelle zu Preadipozyten und weiter zu ausgereiften Adipozyten differenzieren, könnte ermöglichen, Adipositas auf der molekularen Ebene zu bekämpfen. Das Design von neuen, effektiveren Medikamenten könnte helfen die Menge an adipösen Gewebe zu verringern und dies mit weniger oder keinen Nebeneffekten für die Patienten. Die Microarray-Technologie ist ein wertvolles Mittel Genexpressionsprofile zu erstellen, welche es erlauben Tausende von Genen gleichzeitig in einem Experiment zu untersuchen.

Ziel dieser Diplomarbeit war es, ein Zellkultur-Modellsystem zum Studium der transkriptioneller Mechanismen der Adipogenese in vitro zu etablieren. Es wurde bewiesen, dass eine Maus-Knochenmark-Stroma Zelllinie unter Zugabe der entsprechenden Agenzien zur Adipogenese fähig ist. Durch Hinzugabe von Dexamethason und Indomethacin zum Wachstumsmedium wurde eine massive Adipogenese eingeleitet, welche mittels oil red O-Färbung bewiesen wurde.

Knochenmark-Stroma Zellen haben Stammzellcharakter. Sie können sich zu Osteozyten, Chondrocyten und Adipozyten entwickeln und zu Zellen, welche die Hämatopoese unterstützen, sowie zu nicht-mesodermalen Zellen. Die verwendete Zelllinie wurde auf ihre in vivo Eigenschaften hin mittels einem in vivo Transplantationsassay untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass diese Zelllinie fähig ist sich zu Knochen, Fettzellen und einer kompletten, blutbildenden Umgebung zu differenzieren.

Weiters wurde die Reziprozität der Zelllinie untersucht. Dazu wurde eine ausgereifte Adipozyten-Kultur zu einer Kultur mit osteogenischem Phenotyp redifferenziert.

Schließlich wurden Microarray-Experimente zur Rekonstruktion transkriptioneller Netzwerke durchgeführt.

Schlüsselwörter:

Adipositas, Adipocyten, Microarray, Maus-Knochenmark-Stroma Zellen, Stammzellen