

Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere Dummerstorf (FBN)

eingereicht über den  
Fachbereich Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Die Rolle von ATP-sensitiven Kaliumkanälen  
in der Regulation des oxidativen Stoffwechsels und der  
zirkulativen Aktivität beim Rind**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades  
eines Doktors der Veterinärmedizin  
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
*Jörg Melcher*  
Tierarzt aus Rostock

Berlin 2003

Journal-Nr. 2701

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Dekan:** Prof. Dr. Leo Brunnberg

**Erster Gutachter:** Prof. Dr. Holger Martens

**Zweiter Gutachter:** Dr. sc Berthold Lührke

**Dritter Prüfer:** Prof. Dr. Klaus Männer

**Deskriptoren (nach CAB- Thesaurus):** cattle; energy metabolism; ATP; potassium;  
blood flow

**Tag der Promotion:** 04. 07. 2003

Bibliografische Information Der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen  
Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet  
über <<http://dnb.ddb.de>> abrufbar.

D188

Dissertation, Freie Universität Berlin, 2003

ISBN 3-89820-683-1

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder  
Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages  
in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet,  
vervielfältigt oder verbreitet werden.

This document is protected by **copyright**.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written  
authorization of Mensch & Buch Verlag.

© **MENSCH & BUCH VERLAG**, Berlin 2004

Nordendstr. 75, 13156 Berlin • ☎ 030 - 45 49 48 66

<http://www.menschundbuch.de> • [info@menschundbuch.de](mailto:info@menschundbuch.de)

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A	Arterie
A1	Adenosinrezeptor 1
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
CCK	Cholecystokinin
CoA	Coenzym A
G- Proteine	GTP- bindende Proteine
K <sub>ATP</sub> Kanäle	ATP-sensitive Kaliumkanäle
K <sub>D</sub>	Dissoziationskonstante
K <sub>ir</sub>	inward rectifying K <sup>+</sup> current
ME <sub>m</sub>	metabolizable energy for maintenance
MR	metabolic rate
NDP	Nukleosiddiphosphate
PKA	cAMP- abhängige Proteinkinase
PKC	Ca <sup>2+</sup> - abhängige Proteinkinase
PKG	G- Protein- stimulierte Proteinkinase
RQ	Respirationsquotient
RT-PCR	Reverse Transkription- DNA-Polymerase- Kettenreaktion
SUR	Sulfonylharnstoffrezeptoren
V	Vene
V <sup>o</sup>	Volumenänderung
WP	Wärmeproduktion

## TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Tabelle1	Kir- Typen in nativ auftretender SUR- Kombination	17
Tabelle2	Expression und Funktion von SUR- Formen	19
Tabelle3	Eigenschaften von $K_{ATP}$ - Kanalformen	20
Tabelle4	Pharmakologische Eigenschaften von $K_{ATP}$ - Kanälen	23
Tabelle5	Physiologische Regulatoren der $K_{ATP}$ - Kanal- Aktivität in ventrikulären Myocyten	27
Tabelle6	Verabreichte tägliche Futtermenge	36
Tabelle7	Herstellung der Verdünnungsreihe für Glibenclamid- Bodipy zur Analyse der Bindungseigenschaften von Sulfonylharnstoff-rezeptoren auf der Zelloberfläche intakter Zellen	43
Tabelle8	Übersicht der Reaktionen der Herzfrequenz und des Blutflusses auf die Nahrungsaufnahme und durch pharmakologische Beeinflussung	67
Abbildung1	Apparatur, die zur Blutflussmessung verwendet wurde	38
Abbildung2	Basaler und futteraufnahmeinduzierter Sauerstoffverbrauch	50
Abbildung3	Basale und futteraufnahmeinduzierte Kohlendioxidproduktion	51
Abbildung4	Basale und futteraufnahmeinduzierter Methanproduktion	53
Abbildung5	Basale und futteraufnahmeinduzierte Thermogenese	55
Abbildung6	Basaler und futteraufnahmeinduzierter Respirationsquotient	57
Abbildung7	Basale und futteraufnahmeinduzierte Herzfrequenz	58
Abbildung8	Dosisabhängige Erhöhung der Herzfrequenz durch den $K_{ATP}$ -Kanal-Öffner (KCO) Levromakalim und Reduktion der Wirkung durch den $K_{ATP}$ -Kanal-Inhibitor (KCI) Glibenclamid nach einer Nüchternphase über Nacht	60
Abbildung9	Die futteraufnahmeinduzierte Herzfrequenz wird durch Levromacalim (Lev) in Abhängigkeit von der Zeit und von der Diät entweder reduziert oder potenziert	62

Abbildung10	Der Saphenablutfluß in Abhängigkeit von der Futteraufnahme, der Aktivierung von $K_{ATP}$ -Kanälen durch Levromakalim (KCO) und der Diät	64
Abbildung11	Glibenclamidbindung durch Monozyten	70
Abbildung12	Glibenclamidbindung durch Herz- und Saphenamyozyten	71
Abbildung13	Analyse von Transkripten, die $K_{ATP}$ - Kanal- Proteine kodieren, In RNA aus Ventrikelgewebe	73

## **Inhaltsverzeichnis**

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	3
TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS	4
<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>9</b>
<b>2. LITERATUR</b>	<b>11</b>
2.1 GESAMTSTOFFWECHSEL UND ENERGIEHAUSHALT	11
2.2 ATP-SENSITIVE KALIUM-KANÄLE	16
2.2.1 Vorkommen	16
2.2.2 Struktur von KATP-Kanälen	16
2.2.3 Kir-Proteine	17
2.2.4 SUR-Proteine	18
2.2.5 Kir-SUR-Kombinationen	20
2.2.6 Pharmakologische Eigenschaften von KATP-Kanälen	21
2.2.7 Elektrophysiologische Charakteristik der KATP-Kanäle	23
2.2.8 Regulation der ATP/NDP-sensitiven $K^+$ -Kanäle	25
2.2.9 Physiologische Rolle der ATP/NDP-sensitiven $K^+$ -Kanäle	28
<b>3. ZIELSTELLUNG DER ARBEIT</b>	<b>34</b>
<b>4. METHODEN</b>	<b>35</b>
4.1 EXPERIMENTE IN VIVO	35
4.1.1 Versuchstiere	35
4.1.2 Haltung	35
4.1.3 Adaptationsphase	35
4.1.4 Fütterung	36
4.1.5 Respirationskammer	36
4.1.6 Herzfrequenzmessung	37
4.1.7 Blutflussmessung	37
4.1.8 Infusionen	40
4.1.9 Blutproben	40
4.2 EXPERIMENTE IN VITRO	41
4.2.1 Gewebeproben	41
4.2.2 Zellpräparation	42
4.2.3 Glibenclamidbindungsanalysen	43
4.2.4 Analyse von Transkripten	45
4.2.4.1 Isolierung von Gesamt-RNA	45
4.2.4.2 RT-PCR-Reaktionsbedingungen und Produktanalyse	46

<b>5. VERSUCHSAUSWERTUNG UND STATISTIK</b>	<b>48</b>
<b>6. ERGEBNISSE</b>	<b>49</b>
6.1 NICHTINVASIVE ERHEBUNGEN	49
6.1.1 <i>Reaktion des Gaswechsels auf unterschiedliche Mengen an umsetzbarer Energie im Futter</i>	49
6.1.1.1 O <sub>2</sub> -Verbrauch	49
6.1.1.2 CO <sub>2</sub> -Produktion	49
6.1.1.3 CH <sub>4</sub> -Produktion	52
6.1.1.4 Thermogenese	52
6.1.1.5 Respirationsquotient	56
6.1.2 <i>Herzfrequenz</i>	56
6.1.2.1 Reaktion auf die Futtermaufnahme	56
6.1.2.2 Reaktion auf die Aktivierung von KATP-Kanälen	58
6.2 INVASIVE ERHEBUNGEN	63
6.2.1 <i>Blutflussmessungen an der Saphenavene</i>	63
6.2.2 <i>Blutflussreaktion auf die Futtermaufnahme</i>	63
6.2.3 <i>Blutflussreaktion auf Levcromakalim</i>	64
6.2.4 <i>Zusammenfassender Überblick der Herzfrequenz und Blutflußreaktion auf Behandlungen</i>	67
6.2.5 <i>Glibenclamidbindungsanalysen</i>	68
6.2.5.1 Monozyten	68
6.2.5.2 Herz- und Saphenamyozyten	69
6.2.6 <i>Analyse von Transkripten, die Bestandteile der ATP-Kanäle kodieren</i>	71
<b>7. DISKUSSION</b>	<b>74</b>
<b>8. ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNGEN</b>	<b>80</b>
<b>9. SUMMARY</b>	<b>84</b>
<b>10. LITERATUR</b>	<b>86</b>

## **Danksagung**

Herrn Dr. sc B. Lührke und Herrn Dr. M. Derno möchte ich für die Überlassung des Themas und für die stets gewährte Unterstützung und Diskussionsbereitschaft danken.

Für die finanzielle Förderung des Forschungsvorhaben sei der DFG gedankt.

Herrn Prof. Holger Martens und Frau Dr. Friederike Stumpff von der Freien Universität Berlin FB Veterinärmedizin möchte ich danken für die Unterstützung bei Erstellung der Arbeit .

Für die hilfreiche Unterstützung bei der Versorgung der Versuchstiere sowie bei den Operationen und Auswertungen der Versuchsdaten möchte ich mich herzlich bei Hr. L. Strehlow, Fr. H. Pröhl, Fr. K. Pilz, Fr. I. Brüning sowie bei Hr. H. Scholze und Hr. Dr. W. Jentsch bedanken.

Frau H. Schott, Fr. R. Brose sowie Hr. Dr. T. Viergutz möchte ich mich besonders bedanken für die Hilfe bei der Auswertung der Blut- und Gewebeproben.

Mein besonderer Dank gilt den Mitarbeitern der Werkstatt Hr. H. Elsner, Hr. E. Pätow und Hr. S. Merkel, die durch ihr technisches Wissen oft eine große Hilfe waren.

Bei den Kollegen und Mitarbeitern des Fachbereiches Ernährungsphysiologie des Forschungsinstitutes für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere Dummerstorf bedanke ich mich für die freundliche Aufnahme und große Hilfsbereitschaft.