

Cand. scient. Hervor Lykke Olsen:

Modulering af exocytose fra Langerhanske øer

Denne ph.d.-afhandling er skrevet ud fra interessen for at klarlægge nogle af de basale mekanismer, som ligger til grund for insulinsekretion i insulinsecernerende β -celler fra pankreas. Forståelsen af disse signaleringsveje er vigtige for videreudvikling af nye lægemidler til patienter med diabetes. Eksperimenterne er udført på Novo Nordisk.

I forsøg på at kortlægge dele af de mekanismer, der ligger til grund for exocytose, er aktiviteten af PI 4-kinasens indflydelse på insulinfrigivelse i β -celler blevet undersøgt. PI 4-K fungerer som en metabolisk regulator ved frigivelse af insulin. Vores resultater har vist, at den aktive PI 4-K gør granula mere fusionskompetente. Derudover er effekten af sekretorisk og cytoplasmisk phospholipase A₂ på insulinfrigivelse blevet undersøgt. Når β -celler stimuleres, frigives sPLA₂, som hydrolyserer fosfolipider i plasmamembranen, hvorved der blandt andet dannes lysofosfatidylcholine (lyso-PC). Lyso-PC stimulerer frigivelse af insulin ved at blokere K_{ATP}-kanalerne i plasmamembranen. sPLA₂ virker dermed som en autokrin regulator af insulinfrigivelse. En intracellulær variant af PLA₂ findes i β -cellers cytoplasma. cPLA₂ stimulerer frigivelse af insulin, når den injiceres direkte ind i β -celler. Insulinfrigivelsen kan også påvirkes farmakologisk. To nye imidazolin-forbindelser har en potent virkning på frigivelse af insulin fra β -celler. Disse stoffer stimulerer kun frigivelse af insulin, når blodsukkerkoncentrationen er høj. Det er blevet foreslået at Rhés (Ras homologue expressed in striatum) er involveret i imidazolin-stimuleret insulin frigivelse. Disse resultater kan bidrage til forståelsen af de mekanismer, der ligger til grund for diabetes.

Forf.s adresse: Soldraget 27, DK-3460 Birkerød.
E-mail: amphiphilic@hotmail.com
Forsvaret finder sted den 5. november 2004, kl. 12.00, Haderup auditoriet, Panum Institutet, Blegdamsvej 3B, København N.
Bedømmere: Prof. Lena Eliasson (S), Scientific Director Richard Carr, Prof. Dan Klærke.

Cand.scient. Sif Groth Rønn:

Effects of SOCS-3 on cytokine signalling in pancreatic beta cells

Denne ph.d.-arbejde er udført på Steno Diabetes Center og Novo Nordisk A/S.

Betacellepopulationen er en dynamisk struktur, der ændrer sig i takt med kroppens varierende insulinbehov. Den reguleres via: 1) nydannelse af betaceller, 2) deling af eksisterende betaceller og 3) betacelledød. Forskellige cytokiner kan influere disse processer. Væksthormon kan inducere betacelle-

deling, hvorimod de inflammatoriske cytokiner interleukin 1 beta (IL-1 β) og interferon gamma (IFN- γ) er involveret i den cytotoxiske proces, der fører til betacelledød og diabetes.

Suppressors of cytokine signalling (SOCS) er en gruppe af proteiner der nedregulerer cytokinsignaler. Formålet med det foreliggende ph.d.-arbejde har været at undersøge effekten af SOCS-3 på cytokinsignaler i betaceller. Ved at bruge betacellelinjer med inducerbar SOCS-3-ekspression samt et adenoviruskonstrukt der udtrykker SOCS-3, blev effekten af SOCS-3 på væksthormon, IFN- γ og IL-1 β -signaler i betaceller undersøgt. Det blev vist, at SOCS-3 kunne hæmme væksthormoninduceret STAT-aktivering, insulinproduktion samt proliferation i betaceller, hvilket indikerer, at SOCS-3 spiller en vigtig rolle for sensitiviteten af betaceller over for væksthormon. Desuden blev det vist, at SOCS-3 kunne hæmme IFN- γ og IL-1 β -induceret signaler i en betacellelinje samt i primære betaceller, og at denne hæmning medførte en beskyttelse af betacellerne over for de cytotoxiske cytokiner.

Denne afhandling viser, at SOCS-3 spiller en vigtig rolle i reguleringen af cytokinsignaler i betaceller. En bedre forståelse af de forskellige mekanismer der styrer betacellemassen, er meget vigtig i arbejdet på at finde nye metoder, hvorved man kan øge eller beskytte betacellemassen - for i sidste ende at udvikle nye behandlingsmåder af diabetes.

Forf.s adresse: Niels Steensens Vej 8, NSP1.06, DK-2820 Gentofte.
E-mail: SifL@Steno.dk
Forsvaret finder sted den 5. november 2004, kl. 13.00, Hagedorn Auditoriet, Niels Steensens Vej 6, Gentofte.
Bedømmere: Professor Gunnar Norstedt, Sverige, professor Just Justesen og Carsten Röpke.
Vejledere: Mogens Holst Nissen og lic.scient. Nils Billestrup.

Overlæge Bente Lombolt Langdahl:

The genetics of bone mass and risk of osteoporotic fractures



Disputatsen, der består af en oversigt og otte originalartikler, udgår fra Medicinsk-endokrinologisk Afdeling C, Århus Sygehus. Formålet var at undersøge kandidatgener for genetiske varianter og disses mulige betydning for udvikling af lavt knoglemineralindhold (BMD) og osteoporotiske frakturer. I afhandlingen indgår associationsundersøgelser af følgende kandidatgener: *Transforming growth factor* (TGF)- β 1, kollagen type I, vitamin D-receptor (VDR), interleukin-1-receptor-antagonist (IL-1ra), østrogenreceptor (ER)- α , osteoprotegerin (OPG) og androgenreceptor (AR).

VIDENSKAB OG PRAKSIS | AKADEMISKE AFHANDLINGER

I TGF- β 1-genet fandt vi syv polymorfier. To af disse: C⁻¹³⁴⁸-T og T²⁹-C er associeret med nedsat BMD. T⁸⁶¹⁻²⁰-C er associeret med øget BMD og nedsat risiko for osteoporotiske frakturer. IL-1ra er en kompetitiv inhibitor af interleukin-1's effekt. I genet for IL-1ra findes bl.a. en 86 basepar *repeat* polymorfi, som tidligere er vist at være associeret med ændret produktion af IL-1ra. Vi fandt at den genotype, der er associeret med nedsat produktion af IL-1ra (A1A1/A3), forekommer hyppigere hos patienter med osteoporose og er associeret med nedsat BMD i columna lumbalis. Østrogenreceptoren er essentiel for, at østrogen kan udspille sin anabole effekt på knogle. En TA-repeat polymorfi i promoterregionen var associeret til forekomsten af osteoporotiske frakturer og nedsat BMD. Personer, som har færre TA-repeats end gennemsnittet, har en odds-ratio for fraktur på 4,57. I androgenreceptorgenets første exon findes en CAG-repeat polymorfi og det er tidligere vist, at mange CAG-repeats medfører nedsat funktion af AR. Vi fandt, at kvinder med osteoporotiske frakturer havde flere CAG-repeats, og at længere CAG-repeats var associeret med nedsat BMD. Hos mænd fandt vi, at kortere CAG-repeats var associeret med nedsat BMD. Hvis denne polymorfi er funktionel, kunne det derfor tyde på en forskellig feedbackmekanisme hos de to køn. OPG er en kompetitiv inhibitor af både dannelsen og aktiviteten af osteoklaster. Vi fandt 12 polymorfier, hvoraf kun to tidligere har været beskrevet. Tre af disse: A¹⁶³-G, T²⁴⁵-G og G¹¹⁸¹-C fandtes hyppigere hos patienter med osteoporose, og tilstedeværelsen af A¹⁶³-G og G¹¹⁸¹-C-polymorfierne var associeret med nedsat BMD.

De nævnte polymorfier er mulige genetiske markører for osteoporotiske frakturer og vil måske kunne anvendes til identifikation af personer med øget risiko for at pådrage sig osteoporotiske frakturer. Fordelen ved dette frem for måling af BMD, som anvendes i dag, er, at personerne vil kunne identificeres tidligere, og ændring af livsstil og evt. forebyggende behandling vil kunne iværksættes på et tidligere tidspunkt. Før disse genetiske markører vil kunne få en plads i den kliniske hverdag, er det imidlertid nødvendigt at påvise disse polymorfiers funktionelle betydning.

Forf.s adresse: Medicinsk-endokrinologisk Afdeling C, Århus Sygehus, Tage-Hansensgade 2, DK-8000 Århus C.
E-mail: langdahl@dadlnet.dk
Forsvaret fandt sted den 22. oktober 2004.
Opponent: Lars Hyldstrup, Friedrik Wikman og Kjeld Søballe.

Formålet var at optimere undersøgelsen af sentinel node (SN) fra patienter med malignt melanom.

Påvisning af metastaser i SN kræver følsomme metoder, idet tumorvolumen oftest er sparsomt. Rutinemæssigt undersøges SN histologisk til trods for, at denne metode af ressourcemæssige grunde kun undersøger ca. 1% af vævet. Et alternativ/supplement til histologien kunne være kvantitativ *real-time* RT-PCR af mRNA for melanocytære proteiner i SN.

SNs fra 100 patienter blev undersøgt med ekstensiv histologi bestående af serie/trinsnit samt immunhistokemiske farvninger (Melan-A, S-100, HMB-45). Man fandt, at antallet af patienter med metastaser og benigne nævusinklusioner (BNI) var signifikant øget, sammenlignet med andre studier. Melan-A fandtes velegnet som screeningsmarkør for melanocytære celler. Ingen af de immunhistokemiske farvninger kunne sikkert adskille metastaser og BNI, og vurdering af de cytologiske forhold var afgørende for diagnosen.

Kvantitativ *real-time* RT-PCR-analyse af MART-1 og tyrosinase-mRNA i SNs fra 95 patienter viste signifikante forskelle på median mRNA-værdierne mellem SNs med metastaser, SNs med BNI og SNs uden histologisk påviselige melanocytære celler. Metodens kliniske anvendelighed var dog begrænset af et betydeligt overlap i mRNA-værdier mellem grupperne. Baseret på metodens høje sensitivitet og høje negative prædiktive værdi for metastaser kunne *real-time* RT-PCR teoretisk udnyttes som screeningsværktøj i kombination med histologi. Den nøjagtige form af en sådan model vil også afhænge af en mulig klinisk betydning af mRNA-niveauerne.

Forf.s adresse: Ivar Huitfeldt Gade 71, DK-8200 Århus N.
E-mail: abrahamsen@dadlnet.dk
Forsvaret fandt sted den 21. oktober 2004.
Bedømmere: Nina Hastrup, Per Guldborg og Hans von der Maase.
Vejledere: Torben Steiniche, Stephen J. Hamilton-Dutoit og Ebba Nexø.

Forskningsassistent Helene Nortvig Abrahamsen:

Detection of micrometastases in sentinel nodes from patients with malignant melanoma

Ph.d.-afhandlingen udgår fra Patologisk Institut og Klinisk Biokemisk Afdeling, Århus Universitetshospital og består af fire originalartikler og en oversigt.