

## &gt; Akademiske afhandlinger

*Lars Hansen:***Candidate Genes and Late-onset Type 2 Diabetes Mellitus: Susceptibility Genes or Common Polymorphisms?**

Doktordisputatsen beskriver kandidatgenstrategien anvendt på type 2-diabetes mellitus og består af en række publicerede artikler samt en sammenfattende redegørelse. Undersøgelserne er udført på Steno Diabetes Center, Gentofte, samt ved Fridrich Miescher-Institut, Basel, Schweiz, i perioden 1993-2000. Vores mutationsanalyser af 12 potentielle insulinresistensgener fra insulinsignaleringskaskaden viste at kodende mutationer (som ændrer proteinets primærstruktur) heri er sjældne med undtagelsen af den glykogen-associerede regulatoriske del af protein fosfatase-1 (*PPP1R3*), hvori en Asp905Tyr variant så ud til at forårsage nedsat insulin stimuleret glykogensyntese (non-oxidativ glukosemetabolisme) samt en deletionspolymorfi (PP1ARE) i den ikke-kodende del af *PPP1R3* mRNA at korrelere med nedsat insulinstimuleret glukoseoptagelse hos raske personer in vivo. Alligevel var disse mutationer i *PPP1R3* ikke associeret med type 2-diabetes.

Inden for gruppen af potentielle insulinmangelgener undersøgte vi specielt udviklingsgener for den embryonale endokrine pancreas (transkriptionsfaktorer) og transskription af insulingenet i den pankreatiske  $\beta$ -celle.

Vi fandt, at naturligt forekommende kodende mutationer i  $\beta$ -celletranskriptionsfaktorer er hyppigere forekommende end i de undersøgte insulinsignaleringsproteiner, og at ingen af mutationerne var associeret med type 2-diabetes. Undersøgelse af danske familier med type 1-diabetes viste dog, at en hyppig mutation (Ala45Thr) i *NeuroD1/BETA2*-genet muligvis er en genetisk risikomarkør for type 1-diabetes mellitus.

Vores undersøgelser af den  $\beta$ -cellespecifikke ATP-følsomme  $K^+$ -kanal Kir6.2 (*KCNJ11*) som regulerer den glukose-inducerede insulinsekretion viste tre kodende mutationer: Glu23Lys, Leu279Val og Ile337Val. Studier fra andre populationer antyder, at den homozygot variant Lys23Lys er associeret med type 2-diabetes, og yderligere undersøgelser må afgøre om Lys23-allelet virkelig er et risiko-gen per se eller blot et markør-gen for type 2-diabetes.

Konklusionen på vores studier er, at kandidatgenstrategien er en direkte metode til både at identificere potentielle type 2-diabetesrisikogener og til at ekskludere (*mapping by exclusion*) vigtige kandidatgener for type 2-diabetes mellitus (eksempelvis insulinsignaleringsproteiner).

Da vores specifikke viden om generne og deres lokalisering i det humane genom er ekspanderet kolossalt i de seneste år, må vi forvente en tilsvarende ekspansion med stu-

dier af kandidatgener for type 2-diabetes mellitus, og i en del af disse vil der forventeligt også indgå data fra koblingsundersøgelser (positionelle kandidatgener) i type 2-diabetesfamilier.

Forf.s adresse: Gl. Kongevej 152A, 1. tv., DK-1850 Frederiksberg. C.  
E-mail: LarH@novonordisk.com

Forsvaret finder sted den 23. maj 2003, kl. 13.00, auditoriet, Hagedorn Research Institute, Niels Steensens Vej 6, DK-Gentofte.

Opponent: Stephen Patrick O'Rahilly, UK, Ole Schmitz, og Jens Juul Holst.

*Jan Maxwell Nørgaard:***Cell biology of chemotherapy resistance in acute myeloid leukemia**

Doktordisputatsen er baseret på syv internationalt publicerede artikler og en sammenfattende oversigt. De grundlæggende studier er udført gennem årene 1992-1996 under min ansættelse som forskningsstipendiat ved Onkologisk Afdeling og Hæmatologisk Afdeling, Århus Universitetshospital.

Der forekommer i Danmark årligt ca. 200 nye tilfælde af akut myeloid leukæmi (AML). Sygdommen har en meget alvorlig prognose. Den behandles med kombinationskemoterapi, og langtidsoverlevelsen hos yngre patienter (<60 år) er aktuelt op mod ca. 40%. En række kliniske og cellebiologiske faktorer vides med sikkerhed at påvirke prognosen hos den enkelte patient. Disse faktorer omfatter bl.a. alder, leukocyt-tal og cytogenetiske forandringer. Der kendes i dag på celle-niveau et større antal kemoterapieresistensmekanismer, men ingen af disse vides med sikkerhed selvstændigt at være af betydning for prognosen ved AML. Ved hjælp af MTT-metoden til måling af cellers cytotatikaresistens har vi undersøgt en række aspekter af mulig betydning for effektiviteten af kemoterapi ved AML bl.a. omfattende myeloide vækstfaktoreres indflydelse, leukæmicellers spontane og vækstfaktorstimulerede overlevelse in vitro, leukæmicellers krydsresistensmønstre, MDR1/P-gp ekspressionsniveau og MTT-metodens evne til at forudsige effekten af en given kemoterapi.

Blandt vore resultater bør det fremhæves, at disse ikke pegede på forbedret effekt af kemoterapi ved kombination med myeloide vækstfaktorer, endvidere at leukæmicellers spontane overlevelse in vitro antagelig er af betydning for kort- og langtidsprognozen. Krydsresistensmønstre mellem kemoterapeutika kan anvendes til design af mere effektive kombinationsbehandlinger. MDR1/P-gp ekspressionsniveau er af betydning for resistens mod en række kemoterapeutika, men bl.a. ikke mod anthracyclinlet aclarubicin. I vore begrænsede undersøgelser synes der at være en vis prædiktiv værdi af MTT-testmetoden, hvad angår evnen til at forudsige kort- og

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | AKADEMISKE AFHANDLINGER

langtidseffekten af en given kemoterapi ved AML. Det vil dog være nødvendigt med en betydeligt større undersøgelse i en mere homogen patientgruppe for definitivt at kunne fastslå dette. Ultrakorte cytotostatikaresistenstest er under udvikling og fortjener videnskabens bevågenhed.

Forf.s adresse: Hæmatologisk Afdeling, Århus Amtssygehus, Tage-Hansens Gade 2, DK-8000 Århus C.

E-mail: janmaxgaard@dadlnet.dk

Forsvaret finder sted den 23. maj 2003, kl. 14.00 i Auditorium 424, Anatomisk Institut, Aarhus Universitet.

Opponent: *Keld Danø og Bengt Simonsson, Sverige.*

*Ole Gredal:*

### Amyotrophic lateral sclerosis – biochemical, stereological and clinical aspects

Disputatsafhandlingen er baseret på undersøgelser udført under mine ansættelser på Institut for Biologisk Psykiatri, H:S Sct. Hans Hospital, Neurologisk Afdeling, og Forskningslaboratorium for Stereologi og Neurovidenskab, H:S Bispebjerg Hospital.

Amyotrofisk lateral sklerose (ALS) er en motorisk nervesygdom, hvor de motoriske nerveceller i hjernestammen og medulla spinalis degenererer med udbredte lammelser af svælg- og ekstremitetsmuskulaturen til følge. Ætiologien til den sporadiske ALS er ukendt.

I hvilken grad motorisk cortex er omfattet af de degenerative processer har jeg undersøgt i studier omfattende receptorbinding, stereologisk celletælling og in vivo-proton-magnetisk resonans-spektroskopi (<sup>1</sup>H-MRS). I undersøgelsen af neurotransmitterreceptorforholdene påvistes uændret benzodiazepin- og muscarinreceptorbinding, men signifikant øget binding af en NMDA-receptor-ligand i flere cortexområder. I konventionelle neuropatologiske ALS-studier beskrives tab af neuroner i motorisk cortex, hvorimod vores resultater viste et normalt antal neuroner i alle kortikale områder hos ALS, når stereologiske celletællingsmetoder blev anvendt. I <sup>1</sup>H-MRS-undersøgelsen påviste vi en reduktion af NAA-koncentrationen i motorisk cortex hos ALS-patienter, der kan tolkes enten som en neuronal dysfunktion i NAA-metabolismen, et tab af neuroner eller et nedsat neuronalt cellevolumen.

I undersøgelsen af plasmakoncentrationen af glutamat efter glutamatindtag, bekræftes resultaterne om en ændret perifer metabolisering af glutamat. Indtag af forgrenede aminosyrer fandtes ikke at påvirke plasmaglutamatkoncentrationen.

Forstyrrelser i homøostasen af den frie intracellulære calciumionkoncentration ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) er en af de væsentlige effektormekanismer af en excitatorisk stimulering. I to af mine studier er undersøgt betydningen af ændringer i [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> i cellulære modelsystemer for ALS. I et studium med ALS-fibrobla-

ster, kunne vi ikke påvise nogle ændringer i det spatiotemporale [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>-respons ved anvendelse af Ca<sup>2+</sup>-mobiliserende agonister. I et andet studium anvendte vi dyrkede kortikale neuroner til at undersøge om CSF fra ALS-patienter indeholder en neurotoksisk faktor, der medfører en dysregulering af den intracellulære calciumhomøostase, men med et negativt resultat.

I en klinisk kontrolleret undersøgelse med en glutamat-receptorantagonist, dextromethorphan, analyserede vi overlevelsedata, men kunne ikke påvise nogen positiv virkning af dextromethorphan sammenlignet med placebo. I vores undersøgelse indgik et begrænset antal patienter, men sammenholdes resultatet med tilsvarende klinisk kontrollerede undersøgelser, understøtter det vores fund.

Forf.s adresse: Neurologisk Afdeling, H:S Bispebjerg Hospital, Bispebjerg Bakke 23, DK-2400 København NV.

E-mail: gredal@dadlnet.dk

Forsvaret fandt sted den 15. maj 2003.

Opponent: *Sebastian Conradi, Sverige, og dr.scient. Arne Schousboe.*

Forsvarsleder: *Jes Olesen.*

*Kristian Schönning:*

### Antibody Neutralization of HIV-1 (Human Immunodeficiency Virus Type 1)

Doktordisputatsen bygger på eksperimentelt arbejde udført under min ansættelse som klinisk assistent på Infektionsmedicinsk Laboratorium ved Infektionsmedicinsk Afdeling, Hvidovre Hospital, og belyser aspekter af antistofneutralisation af HIV-1 af betydning for vaccineudvikling.

I et kohortestudie undersøgte serumneutralisation hos langtidshiv-inficerede personer for at belyse betydningen af humoral immunitet for forløbet af virusinfektionen og for at vurdere immunogeniciteten af naturlig infektion. Serum fra personer med langsomt forløbende infektion neutraliserede patientens eget virusisolat bedre end serum fra personer med en normalt forløbende infektion. Der fandtes dog ikke holdepunkter for, at denne autologe neutralisation udøvede et tilstrækkeligt selektionstryk til at fremkalde neutralisationsresistent virus, ligesom der ikke fandtes holdepunkter for en stigende autolog neutralisationstiter over tid, hvilket tyder på, at virale neutralisationsepitoper er forholdsvis lavimmunogene.

I en serie forsøg belystes betydningen af glykokomponenten af hiv's overfladeprotein for antigenicitet og antistofneutralisation. En virusklon, der manglede en glykan, viste sig meget neutralisationsfølsom og ved antistofselektion in vitro selekteredes varianter, der havde gendannet glykanstrukturen. Tilstedeværelsen af glykanen ændrede ikke affiniteten af det neutraliserende antistof over for monomert overfladeprotein. Derimod var antistoffets affinitet langt mindre over for virion-associeret, oligomert overfladeprotein i tilstedeværel-