

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | AKADEMISKE AFHANDLINGER

vere glutentilbud i den danske kost manifesterer sig på ikke-klassisk vis.

Fremover bør man overveje at screene for CD ved IDDM, autoimmune thyroidealidelser, IgA-mangel, Downs syndrom, leddegigt, Turners syndrom samt hos førstegradsslægtninge til CD-patienter.

Forf.s adresse: Fragariavej 13, DK-2900 Hellerup.

E-mail: weille@dadlnet.dk

Forsvaret finder sted mandag den 17. november 2003, kl. 13.30, Auditoriet, Medicinsk-historisk Museum, Bredgade 62, København.

Opponentter: *Olle Hernell*, Sverige, *Steffen Husby* og *Hans Sjöström*.

*Lars Nannestad Jørgensen:*

### Collagen in the subcutaneous tissue during wound healing in humans: a model evaluation

Disputatsen består af otte publicerede artikler og en oversigt. Arbejdet er udført i perioden 1992-2002 under mine kliniske ansættelser på kirurgiske afdelinger i H:S samt som klinisk assistent på Københavns Sårhelingscenter på H:S Bispebjerg Hospital.

Sårheling udføres af flere faser, hvoraf kan nævnes koagulation, inflammation, angiogenese, fibroplasi, kontraktion, epitelisering og modning. Styrken af et incisionssår udføres tidligt i helingsfasen af aflejret kollagen.

Materiale af ePTFE kan anvendes til sårhelingsstudier hos mennesket, idet det implanteres i overarmens subkutane væv. Der aflejres i ePTFE-materialet et granulationsvæv, hvis arkitektur og modning svarer til forholdene i et almindeligt kirurgisk sår. På granulationsvævet kan udføres histologiske og immunhistokemiske undersøgelser samt bestemmelse af kollagenaflejringen i granulationsvævet udtrykt ved mængden af hydroxyprolin per længdeenhed af ePTFE.

Vi inkluderede 85 frivillige raske forsøgspersoner og 158 kirurgiske patienter i studierne.

Mængden af aflejret kollagen i modellen steg trods en vis inter- og intrapersonvariation signifikant fra dag 5 til dag 10. I sammenligning med en anden implanterbar sårhelingsmodel (PVA) gav ePTFE-modellen signifikant højere reproducerbarhed af kollagenbestemmelserne.

Proteinaflejring i ePTFE-testsåret på overarmen fandtes at korrelere med proteinaflejringen i et ukompliceret kirurgisk sår hos samme patient. Aflejring af kollagen i testmodellen viste ingen forskel mellem ikkeopererede forsøgspersoner og patienter, der gennemgik mindre ukompliceret kirurgi (inguinaherniotomi). Efter større almen kirurgi akkumulerede patienterne derimod signifikant mindre kollagen postoperativt end præoperativt. Dette fund var særligt udtalt for patienter med infektiøse komplikationer.

Ikkerygende forsøgspersoner akkumulerede mediant 82%

mere kollagen end rygere. Hos kvindelige forsøgspersoner aflejredes mere kollagen end hos mænd uafhængigt af rygestatus.

Koncentrationen af matrixmetalloproteinaser 9 i et kirurgisk sår efter 24 timer udgør formentlig en tidlig prædikator for den efterfølgende heling, idet den fandtes at korrelere negativt til kollagenakkumuleringen i såret efter ti dage.

Endelig påvist, at lokal applikation af GM-CSF til ePTFE-modellen på implantationstidspunktet specifikt og dosisafhængigt reducerede aflejringen af kollagen. Der var i de anvendte doser både en lokal og en systemisk effekt af præparatet.

Det konkluderes, at ePTFE-modellen tillader vurdering af sårhelingspotentialer hos både forsøgspersoner og kirurgiske patienter. Den findes velegnet til at vurdere betydningen af demografiske karakteristika, farmaka og eksterne faktorer på sårhelingsprocessen.

Forf.s adresse: Kirurgisk Gastroenterologisk Afdeling K, H:S Bispebjerg Hospital, DK-2400 København NV. E-mail: LNJ@dadlnet.dk

Forsvaret finder sted den 28. november, kl. 14.00, Auditorium A, Tejlumbygningen, Frederik V's Vej 11, København.

Opponentter: *Michael Kjær*, *Hans Oxlund* og *Bengt Gerdin*, Sverige.

Vejleder: *Finn Gottrup*.

*Cand.scient. Mads Toustrup Jensen:*

### Structure-function relationship of the A-M3 sector of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase studied by site-directed mutagenesis



Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-pumpen (Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase) er et membranbundet enzym, der er vigtigt for en lang række celle- og organfunktioner. Ph.d.-afhandlingen, der er baseret på eksperimentelt arbejde udført på Fysiologisk Institut, Aarhus Universitet, omhandler selve den molekylære mekanisme, hvorved Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-pumpen udnytter energien i ATP til aktiv transport af Na<sup>+</sup> og K<sup>+</sup> over cellemembranen. Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-pumpen er opbygget af et membrandomæne, der binder ionerne, samt tre intracellulære domæner (»nukleotidbindingsdomæne«, »fosforyleringsdomæne«, samt »domæne A« med hidtil ukendt funktion). Ved anvendelse af molekylærbiologiske metoder har vi fremstillet muterede Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-pumper med ændrede aminosyresidekæder i det transmembrane segment M3 og dets intracellulære forlængelse op i domæne A (»A-M3-sektor«). Ved at undersøge de enkelte deltrin i pumpeprocessen i de muterede Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-pumper har vi opnået holdepunkter for, at aminosyresidekæder i A-M3-sektoren er vigtige for kontrol af Na<sup>+</sup>- og K<sup>+</sup>-ionernes adgang til og fra ionbindingsstederne i membranregionen

samt for de konformationsomlejninger i proteinet, der fører til transport af  $\text{Na}^+$  og  $\text{K}^+$  over cellemembranen. Endvidere har vi opnået holdepunkter for, at en aminosyresidekæde i domæne A i forbindelse med transporten af  $\text{Na}^+$ , men før transporten af  $\text{K}^+$ , bevæges ind i den katalytiske region og derved deltager i aktivering af ATP-hydrolysen.

Forf.s adresse: *Mads Toustrup Jensen*, Kaserneboulevarden 21, DK-8000 Århus C.

E-mail: *mtj@fi.au.dk*

Forsvaret finder sted den 13. november, kl. 14.00, Auditorium 424, Anatomisk Institut, Universitetsparken, Bygning 230, Ole Worms Allé 230, 8000 Århus C.

Bedømmere: *Cand.polyt. Per Amstrup Pedersen, cand.scient., Marc le Maire,*

*Frankrig, og Jesper Vuust Møller.*

Vejledere: *Bente Vilsen.*

*Kurt Højlund:*

## Skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes investigated by two approaches

Studies of insulin signaling into glycogen synthase and proteome analysis

Ph.d.-afhandlingen består af en oversigt samt fire artikler og udgår fra Diabetesforskningscentret, Odense Universitetshospital.

En defekt i insulinaktivering af glykogensyntasen (GS), nøgleenzymet i glykogensyntesen, spiller en væsentlig patofysiologisk rolle for udviklingen af insulinresistens i skeletmuskulaturen og dermed type 2-diabetes (T2DM). Formålet med ph.d.-studiet var at belyse de underliggende cellulære mekanismer bag muskulær insulinresistens ved T2DM ved to strategier: 1) At undersøge insulinvirkning på enzymer i insulinsignalkaskaden (IRS-1/PI3K/Akt/GSK-3) og på aktiveringen af GS ved defosforylering af specifikke seriner. Herunder at studere andre enzymer som kunne påvirke GS-aktivitet. 2) At finde ændringer i ekspresion og posttranslationel modifikation af proteiner i skeletmuskulatur hos patienter med T2DM ved proteomanalyse.

Vi fandt at nedsat insulinaktivering af GS ved T2DM ikke skyldes defekter i insulinsignalkaskaden, men en øget fosforylering af seriner i den N-terminale ende af GS. Vi fandt ingen ændringer i AMP-aktiveret proteinkinase, som kunne forklare denne defekt. Insulinmedieret nedregulering af PP2A-proteinmængde var relateret til normal insulineffekt på glukose og fedtmetabolismen, men var ikke til stede hos patienter med T2DM. Ved proteomanalyse fandt vi otte potentielle proteinmarkører for muskulær insulinresistens ved T2DM, som tyder på øget cellulært stress og forstyrrelser i den mitokondrielle funktion, herunder specielt ATP-dannelsen.

Vi konkluderer, at fremtidige studier af de cellulære mekanismer bag defekt insulinaktivering af GS og muskulær insulinresistens også bør fokusere på betydningen af mitokondriel

dysfunktion og øget intracellulær stress for udviklingen af T2DM.

Forf.s adresse: *Christian IX's Vej 28, DK-5230 Odense M.*

E-mail: *k.hojlund@dadlnet.dk*

Forsvaret finder sted den 14. november 2003, kl. 14.00, Aarestrup Auditoriet, Klinikbygningen, Odense Universitetshospital, Odense C.

Bedømmere: *Henrik Vestergård, Flemming Pociot og Ole Skott.*

Vejledere: *Henning Beck-Nielsen, Jørgen F. P. Wojtaszewski, Peter Mose Larsen og Stephen J. Fey.*

*Trine Hyrup Mogensen:*



## Molecular mechanisms of NF- $\kappa$ B activation during viral infections

Ph.d.-afhandlingen er baseret på arbejde udført ved Department of Cancer Biology, The Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, USA, og Institut for Medicinsk Mikrobiologi og Immunologi, Aarhus Universitet. Afhandlingen består af tre originalartikler og to oversigtsartikler publiceret i internationale tidsskrifter.

Under en virusinfektion udløses et proinflammatorisk immunrespons, som har til formål at eliminere virus. Blandt de signalmolekyler, der aktiveres under en virusinfektion, spiller transkriptionsfaktoren NF- $\kappa$ B en afgørende rolle for initiering og regulering af immunresponsen.

Formålet med dette ph.d.-projekt var at undersøge nogle basale NF- $\kappa$ B-aktiveringsmekanismer under virusinfektion. Til det formål har vi dels benyttet et modelsystem med dobbeltstrengt RNA (som produceres i store mængder under virusinfektioner), dels undersøgt infektion af makrofager med herpes simplex virus. Vi har studeret nogle af de molekyler, der indgår i de signalveje, som fører til aktivering af NF- $\kappa$ B under de to eksperimentelle betingelser. Vi fandt, at kinaserne TAK1, NIK, MEKK1 og PKR aktiveres under virusinfektion og signalerer til den centrale NF- $\kappa$ B-regulerende kinase IKK. Desuden viste vi, at oxidativt stress udgør det signal, som initierer calciumfrigivelse fra mitokondrier og udløser signalvejen til NF- $\kappa$ B.

NF- $\kappa$ B har vist sig ikke kun at spille en afgørende rolle i dannelsen af et proinflammatorisk respons mod infektioner, men også at være involveret i akutte og kroniske inflammatoriske sygdomme samt cancer. Viden om denne transkriptionsfaktor er derfor vigtig for at opnå en bedre indsigt i NF- $\kappa$ B's patofysiologiske rolle i udviklingen af en hel række inflammatoriske og maligne sygdomme.