



Deutsches Institut für  
Ernährungsforschung  
Potsdam-Rehbrücke

Jahresbericht 2001 - 2002

German Institute of  
Human Nutrition

Annual Report 2001 - 2002



## **Impressum / Imprint**

Herausgeber / Publisher:  
Deutsches Institut für Ernährungsforschung  
Potsdam-Rehbrücke  
Mitglied der Wissenschaftsgemeinschaft  
Gottfried Wilhelm Leibniz (WGL)  
Arthur-Scheunert-Allee 114-116  
14558 Bergholz-Rehbrücke  
<http://www.dife.de>

Redaktion / Editors:  
Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost  
Dr. Susanne Schelosky  
Dr. Gunda Backes  
Dr. Lynne Rogers

Gesamtherstellung / Production:  
MildeMarketing  
Medienhaus/ZFF  
August-Bebel-Str. 26-53  
14482 Potsdam  
Tel.: + (49) - 331 - 72 15 370  
Fax: + (49) - 331 - 72 15 380  
[milde@mildemarketing.de](mailto:milde@mildemarketing.de)  
[www.mildemarketing.de](http://www.mildemarketing.de)

Grafik / Graphic:  
focus werbeagentur  
[www.focuspotsdam.de](http://www.focuspotsdam.de)

Druck:  
Brandenburgische Universitätsdruckerei  
und Verlagsgesellschaft Potsdam mbH

Bildnachweis / Photocredits  
Cover: DIfE, Bernd Lammel,  
Informationszentrale  
Deutsche Mineralwasserwirtschaft.  
Innenteil: S. 2, 18, 21, 31, 33, 41, 58, 59, 67 DIfE,  
S. 5, 6, 7, 8, 43 Bernd Lammel



## Deutsches Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke

Jahresbericht 2001 - 2002

German Institute of Human Nutrition

Annual Report 2001 - 2002

### **DIfE kurzgefasst**

Das Deutsche Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke (DIfE) hat die Aufgabe, experimentelle und angewandte Forschung auf dem Gebiet Ernährung und Gesundheit zu betreiben. Das Ziel ist, die molekularen Ursachen ernährungsbedingter Erkrankungen zu erforschen und neue Strategien für Prävention, Therapie und Ernährungsempfehlungen zu entwickeln. Die Grundlagen dafür werden von den am DIfE tätigen Wissenschaftlern in interdisziplinärer Zusammenarbeit mit einem breiten naturwissenschaftlichen, medizinischen und epidemiologischen Methodenspektrum erarbeitet. Dabei konzentriert sich das Institut besonders auf die zur Zeit wichtigsten Erkrankungen, an deren Entstehung ernährungsbedingte Faktoren beteiligt sein können: Adipositas, Diabetes und Krebs.

Die Ernährungsforschung in Rehbrücke begann 1946 mit dem Institut für Ernährungs- und Verpflegungswissenschaften und wurde von 1969 bis 1991 im Zentralinstitut für Ernährung der Akademie der Wissenschaften der DDR fortgesetzt. Das Deutsche Institut für Ernährungsforschung wurde 1992 von der Bundesrepublik Deutschland und dem Land Brandenburg als selbstständige Stiftung des öffentlichen Rechts gegründet. Es ist Mitglied der Wissenschaftsgemeinschaft Gottfried Wilhelm Leibniz. Mitarbeiter des DIfE übernehmen Lehrverpflichtungen im Studiengang Ernährungswissenschaften an der Universität Potsdam und im Studiengang Medizin an der Freien Universität Berlin.

### **DIfE in brief**

The mission of the German Institute of Human Nutrition (DIfE) is to conduct experimental and clinical research in the field of nutrition and health, with the aim of understanding the molecular basis of nutrition-dependent diseases, and of developing new strategies for prevention, treatment, and nutritional recommendations.

Scientists at the DIfE pursue these scientific goals by interdisciplinary cooperation comprising a broad spectrum of experimental and epidemiological methods. A particular focus of the institute is research on the most important diseases at present, i.e., obesity, diabetes, and cancer, whose development may involve nutrition-dependent factors.

Nutritional research in Rehbrücke began in 1946 at the Institute of Nutritional Sciences and Food Provision and continued at the Central Institute of Nutrition of the Academy of Science of the German Democratic Republic from 1969 until 1991. The German Institute of Human Nutrition (DIfE) was founded in 1992 by the Federal Republic of Germany and the State of Brandenburg as an independent foundation. It is a member of the Wissenschaftsgemeinschaft Gottfried Wilhelm Leibniz, an alliance of scientific institutions. The academic members of the DIfE have teaching obligations in nutritional sciences at the Universität Potsdam and in medicine at the Freie Universität Berlin.

## Preface

The German Institute of Human Nutrition (DIfE) commemorated in 2002 the tenth anniversary of its reestablishment. Although ten years is a short time in the life of a research institute, the DIfE already has gained national and international attention within this period of time.

The departments of the institute are involved in numerous joint projects with regional partners (Bioregio Nutrigenomik) and with those in Germany (DFG) and in Europe (European Union projects). As member of an alliance of scientific institutions (Wissenschaftsgemeinschaft Gottfried Wilhelm Leibniz), the DIfE makes an important contribution to nutritional research in Germany, especially by its unique combination of molecular research, clinical research, and epidemiology. This position is to be maintained and broadened in the coming years.

In January of 2002, Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost became scientific director of the DIfE following the retirement of Prof. Dr. Christian Barth. Prof. Barth, who had taken over the DIfE in 1992 when it was reestablished, successfully implemented the recommendations of the Wissenschaftsrat to organize the institute along the lines of "nutrition and health," for which we wish to sincerely thank him again at this point. This change in directorship of the institute ensures continuity in DIfE's scientific alignment. Important areas of competence - such as causes and effects of the metabolic syndrome and the relation of nutrition to cancer - were strengthened and will be worked upon more intensively in the future.

In January of 2001, the reconstruction of the buildings of the institute was completed. Renovation of not yet refurbished buildings, nearly half of the institute, was made possible by 50% financing by the European Union. Thus, the infrastructure of the institute has been completely modernized following a construction period of eight years in all. We wish to thank all of those - within and outside of the institute - who made this important improvement in the working conditions possible.

We would like to sincerely thank the DIfE personnel for their work in 2001 - 2002. In addition we would like to thank all of those in science, politics, and industry who have supported the work of the institute. We hope to have their continuous sympathy and support for the future development of the DIfE.

Prof. Dr. Dr. H.-G. Joost  
Scientific Director

Dr. H. Schulz  
Administrative Director

Im Jahr 2002 beging das Deutsche Institut für Ernährungsforschung den 10. Jahrestag seiner Neugründung. Zwar sind zehn Jahre eine kurze Zeit im Leben eines Forschungsinstitutes, doch hat das DIfE bereits jetzt eine hohe nationale und internationale Sichtbarkeit erlangt.

Die Abteilungen des Institutes sind an zahlreichen Verbundprojekten mit Partnern aus der Region (Bioregio Nutrigenomik), aus Deutschland (DFG) und aus Europa (EU-Projekte) beteiligt. Als Mitglied der Wissenschaftsgemeinschaft Gottfried Wilhelm Leibniz liefert das Institut einen wichtigen Beitrag zur deutschen Ernährungsforschung – insbesondere durch die Kombination von molekularer Forschung, klinischer Forschung und Epidemiologie. Diese Stellung gilt es in den nächsten Jahren zu bewahren und auszubauen.



Prof. Dr. Dr. H.-G. Joost  
Prof. Dr. Johanna Wanka  
Ministerin für Wissenschaft, Forschung und Kultur  
Dr. H. Schulz

Im Januar 2002 löste Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost den in den Ruhestand eintretenden Prof. Dr. Christian Barth als Wissenschaftlicher Direktor des DIfE ab. Prof. Barth hatte das DIfE 1992 nach seiner Neugründung übernommen und die Empfehlungen des Wissenschaftsrates zur Ausrichtung des Institutes auf das Gebiet "Ernährung und Gesundheit" erfolgreich umgesetzt. Dafür sei ihm auch an dieser Stelle nochmals herzlich gedankt. Der Wechsel in der Institutsleitung sichert die Kontinuität in der wissenschaftlichen Ausrichtung des DIfE. Wichtige Kompetenzfelder des DIfE – wie die Ursachen und Folgen des Metabolischen Syndroms und der Zusammenhang von Ernährung und Krebs – wurden verstärkt und werden in Zukunft noch konzentrierter bearbeitet werden.



Verabschiedung von  
Prof. Dr. C. Barth (r.)

Im Jahr 2001 ist die letzte, größte Bauaktivität des DIfE erfolgreich abgeschlossen worden. Mit 50%iger Kofinanzierung durch die Europäische Union konnte der bis dahin noch nicht sanierte Teil (ca. 50 %) der Baulichkeiten des DIfE erneuert werden. Nach insgesamt acht Jahren Bauzeit ist nun die Infrastruktur des Institutes vollständig modernisiert. Wir danken allen – innerhalb und außerhalb des Institutes – die diese wichtige Verbesserung der Arbeitsbedingungen ermöglicht haben.



Letzte Bauaktivitäten

Für die bisher geleistete Arbeit möchten wir allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des DIfE herzlich danken. Unser Dank gilt ebenso allen Förderern des DIfE aus Wissenschaft, Politik und Wirtschaft. Wir hoffen sehr auf Ihre weitere Unterstützung bei der zukünftigen Entwicklung des Institutes.

Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost  
Wissenschaftlicher Direktor

Dr. Hartmut Schulz  
Administrativer Direktor

# Inhaltsverzeichnis

	Vorwort	2
	Ernährungsforschung am DIfE 2001-2002 <i>Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost</i>	4
	Abteilung Molekulare Genetik <i>Prof. Dr. Wolfgang Meyerhof</i>	8
	Abteilung Pharmakologie <i>Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost</i>	13
	Arbeitsgruppe Physiologie des Energiestoffwechsels <i>Prof. Dr. Susanne Klaus</i>	18
	Abteilung Klinische Ernährung <i>Prof. Dr. Andreas F. H. Pfeiffer</i>	23
	Abteilung Interventionsstudien <i>Prof. Dr. Hans-Joachim Franz Zunft</i>	28
	Abteilung Epidemiologie <i>PD Dr. Heiner Boeing</i>	33
	Abteilung Ernährungstoxikologie <i>Prof. Dr. Hans-Rudolf Glatt</i>	38
	Abteilung Gastrointestinale Mikrobiologie <i>Prof. Dr. Michael Blaut</i>	43
	Abteilung Vitamine und Atherosklerose <i>Prof. Dr. Regina Brigelius-Flohé</i>	48
	Arbeitsgruppe Präventiv-Medizinische Lebensmittelforschung <i>PD Dr. Ralf Stohwasser</i>	53
	Ernährungsberatungszentrum <i>Dr. Christiana Einig</i>	58
	Max-Rubner-Laboratorium <i>Dr. Christa Thöne-Reineke</i>	59
	Forschungspreise und Ehrungen	60
	Veranstaltungen	61
	Gäste und Begegnungen	64
	Presse und Öffentlichkeitsarbeit	66
	Mitarbeiter	69
	Organigramm	70
	Organe des DIfE / Kuratorium	72
	Anfahrt	73

## Content

Preface
Nutritional Research at the German Institute of Human Nutrition, 2001-2002
Department of Molecular Genetics
Department of Pharmacology
Laboratory of Physiology of the Energy Metabolism
Department of Clinical Nutrition
Department of Intervention Studies
Department of Epidemiology
Department of Nutritional Toxicology
Department of Gastrointestinal Microbiology
Department of Vitamines and Atherosclerosis
Laboratory of Food Chemistry and Preventive Nutrition
Center of Nutritional Counseling
Max Rubner Laboratory
Awards and Honours
Lectures and Conferences
Guests and Meetings
Press and Public Relations
Staff
Board of DIfE / Board of trustees
Organisation structure
How to get to DIfE

Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost

## Nutritional Research at the German Institute of Human Nutrition, 2001-2002 Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost

Throughout life, humans ingest a variety of quite different substances with their diet. The nutrients, vitamins, minerals, and chemical compounds, in addition to supplying and catalyzing the metabolic pathways, have numerous other biological effects. Our diet has thus many desirable as well as undesirable effects on the organism and is equivalent to a lifelong pharmacotherapy. It is difficult to gain an accurate understanding of individual effects because of the complex mixture of substances involved and because results may become apparent only after years or even decades. Nevertheless, nutritional research is of utmost importance because of its significant potential in preventive medicine.

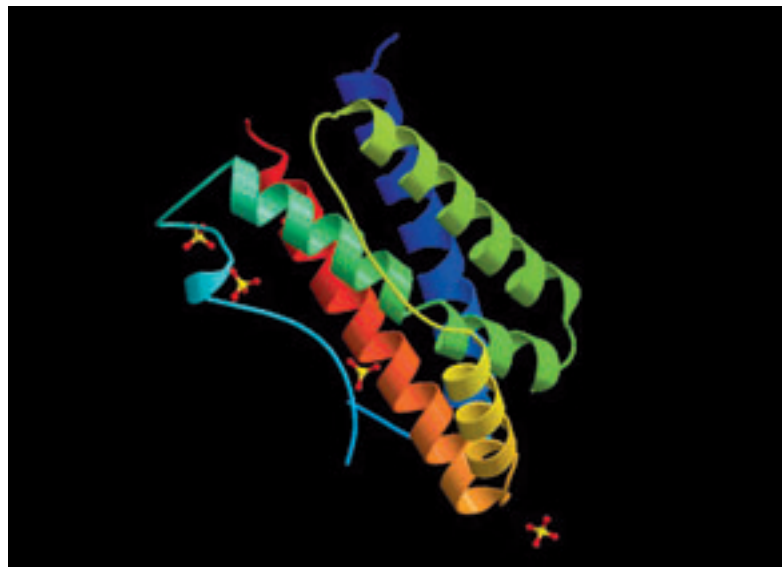
The mission of the German Institute of Human Nutrition is to improve human health through experimental and clinical research on the effects of nutrition, and through the nutritional recommendations resulting from research. Within this goal, the institute has focused on two diseases in which nutrition may play a preventive role: the metabolic syndrome and cancerous diseases.

At present, the metabolic syndrome, including obesity, hypertension, dyslipoproteinemia, and insulin resistance, is the most important nutrition-related disease. The incidence and severity of the metabolic syndrome have increased in all countries with a "Western" lifestyle and its corresponding nutrition. This development is paralleled by the increased incidence of type-2 diabetes, the major secondary complication of the metabolic syndrome. This trend has also been observed in the EPIC-Potsdam Study carried out by the Department of Epidemiology of the DIfE. Public health insurance in Germany has paid approximately four billion Euros for the pharmacotherapy of the metabolic syndrome and of its secondary complications. Conservative estimates assume that this figure will double within the next five years. If this trend cannot be reversed or at least brought to a halt, it will result in a lower average life expectancy and in the financial collapse of the public health-insurance system.

During the past two years, the Departments of Clinical Nutrition and Epidemiology have cooperated in identifying two important serum proteins, so-called cytokines, as risk factors in the development of type-2 diabetes, interleukin-6 (IL-6, Fig.1) and adiponectin. IL-6 is a mediator of the normal inflammatory response; increased IL-6 levels in serum are associated with the later appearance of diabetes. These findings suggest an involvement

Der menschliche Organismus nimmt durch die Ernährung Zeit seines Lebens eine Vielfalt sehr unterschiedlicher Stoffe auf. Die Nährstoffe, Vitamine, Mineralien und chemischen Verbindungen dienen der Energiezufuhr und haben darüber hinaus zahlreiche biologische Wirkungen. Durch unsere Ernährung erzielen wir viele erwünschte, aber auch unerwünschte Wirkungen auf den Organismus, sie entspricht somit einer lebenslangen Pharmakotherapie. Exakte Kenntnisse über die einzelnen Effekte sind schwer zu erlangen – zum einen, weil sie durch ein komplexes Wirkstoffgemisch bewirkt werden, zum anderen, weil sich die Folgen oft erst nach Jahren bis Jahrzehnten zeigen. Dennoch ist dieser Forschungsgegenstand von größter Bedeutung, da der Ernährung eine überragende präventivmedizinische Bedeutung zukommt.

Das Metabolische Syndrom mit Adipositas, Hypertonie, Cholesterin-Stoffwechselstörung und Insulinresistenz ist die wichtigste ernährungsbedingte Erkrankung. In allen Ländern mit ‚westlichem‘ Lebensstil und entsprechender Ernährung nimmt die Häufigkeit und der Schweregrad des Metabolischen Syndroms zu. Auch die wichtigste Folge-Komplikation des Syndroms, der Typ-2-Diabetes, tritt parallel zu dieser Entwicklung häufiger auf. Dieser Trend lässt sich in der von der Abteilung Epidemiologie des DIfE durchgeführten EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition)-Potsdam-Studie beobachten. Für die Pharmakotherapie des gesamten Metabolischen Syndroms und seiner Folge-Komplikationen werden von den gesetzlichen Krankenkassen etwa 6 Milliarden Euro aufgewendet.



**Abbildung 1**

Mit Röntgenstrukturanalyse ermittelte Proteinstruktur von Interleukin 6, einem Entzündungsmediator. Erhöhte IL-6-Serumkonzentrationen sind mit dem späteren Auftreten des Typ-2-Diabetes assoziiert. Quelle: PDB (Protein datenbank), [www.rscb.org](http://www.rscb.org)

Aufgabe des Deutschen Instituts für Ernährungsforschung ist es, durch experimentelle und klinische Forschung zur Wirkung der Ernährung und durch daraus abgeleitete Empfehlungen die Gesundheit des Menschen zu verbessern. Innerhalb dieses Ziels konzentriert sich das Institut besonders auf die beiden zur Zeit wichtigsten Erkrankungen, für die eine präventive Wirkung der Ernährung vermutet wird:

- das Metabolische Syndrom
- und die Krebserkrankungen.

Konservative Schätzungen gehen von einer Verdopplung dieses Betrags in den nächsten 5 Jahren aus. Wenn es nicht gelingt, diesen Trend umzukehren oder wenigstens zu stoppen, wird es deshalb zur Senkung der durchschnittlichen Lebenserwartung und zur finanziellen Dekompensation der Arzneimittelausgaben kommen. In den beiden letzten Jahren wurden in einer Zusammenarbeit der Abteilungen Klinische Ernährung und Epidemiologie des DIfE zwei wichtige Serumproteine, sogenannte Zytokine, als Risikofaktoren für die Entstehung des Typ-2-Diabetes identifiziert, das Interleukin 6 (IL-6) und das Adiponectin.

**Figure 1**  
Deduced from x-ray analysis, the three-dimensional protein structure of interleukin-6, an inflammatory-response mediator. Increased IL-6 concentrations in serum are associated with the later onset of type-2 diabetes.

- IL-6 ist ein Entzündungsmediator (Abb. 1); erhöhte IL-6-Serumkonzentrationen sind mit dem späterem Auftreten des Diabetes mellitus assoziiert. Dieser Befund spricht für eine Beteiligung des Immunsystems und entzündlicher Vorgänge an der Degeneration der insulinproduzierenden Zellen der Bauchspeicheldrüse.
- Adiponectin ist ein vom Fettgewebe produziertes Protein; niedrige Serumkonzentrationen sind ein Risikofaktor für die spätere Entstehung des Diabetes mellitus. Hierin zeigt sich die wichtige Rolle des Fettgewebes bei der Diabetesentstehung. Zukünftige präventive Maßnahmen können daran gemessen werden, inwieweit sie die Reduktion der Adiponectinspiegel normalisieren können.

Diabetesgenen zum Diabetes mellitus führt, und dass die Wirkung der Diabetesgene durch Gewichtskontrolle verhindert werden kann. Zudem ist nicht nur das absolute Körpergewicht, sondern auch die Ernährungsweise, die zu dem Gewicht geführt hat, bestimmend für die Entwicklung des Diabetes.

Übergewicht wird in unserer Gesellschaft häufig als Ausdruck einer Verhaltensstörung oder sogar als Willensschwäche stigmatisiert. Diesem Vorurteil wirkt die Forschung am DIfE entgegen: Sie zeigt, dass Übergewicht auch durch Störungen in den Mechanismen von Hungergefühl und Energiestoffwechsel bedingt sein kann. Personen mit Übergewicht essen mehr, als zum Erhalt des normalen Körpergewichtes nötig ist, weil sie ein inadäquates Hungergefühl und zudem einen niedrigeren Energieverbrauch als Normalgewichtige haben.



**Abbildung 2**  
Laboralltag: Biologische Proben für biochemische und molekulargenetische Untersuchungen

Wichtige Fortschritte auf dem Gebiet des Metabolischen Syndroms wurden auch in experimentellen Untersuchungen der Abteilung Pharmakologie gemacht. In einem Mausmodell wurden Gene lokalisiert, die für Übergewicht oder Diabetes verantwortlich sind. Die Diabetesgene sind nicht für Übergewicht verantwortlich, werden aber erst durch Übergewicht wirksam. Interessanterweise wird zudem die Wirkung der Diabetesgene besonders durch fettreiche Ernährung verstärkt. Auf den Menschen übertragen bedeuten diese Daten, dass Übergewicht erst zusammen mit

Die gegenwärtige Forschung konzentriert sich daher auf die neuroendokrinologische Kontrolle des Hungergefühls (z.B. durch das im Magen gebildete Hormon Ghrelin) und die lange unterschätzte Rolle der Thermogenese (Arbeitsgruppe Energiestoffwechsel). Die Ergebnisse der Grundlagenforschung und der klinischen Forschung müssen unverzüglich in die Praxis umgesetzt werden. Aus den Forschungsergebnissen müssen wirksame Strategien zur Diabetesprävention durch Gewichtsabnahme entwickelt werden; die Erkenntnisse zu den Effekten der einzelnen

of the immune system and of inflammatory processes in the degeneration of insulin-producing cells of the pancreas.

Adiponectin is a protein produced in adipose tissue; lowered concentrations in serum are a risk factor for the later development of diabetes.

These data demonstrate the importance of adipose tissue for glucose metabolism and the development of diabetes. Furthermore, future preventive measures could be assessed as to which extent they are able to normalize adiponectin levels.

Experimental research in the Department of Pharmacology has led to significant progress in the area of the metabolic syndrome. In a mouse model, genes that are responsible for overweight or diabetes were localized. The diabetes genes are not responsible for overweight, but they are rendered effective by overweight. It is interesting that the malignancy of diabetes genes is increased by a high-fat diet. Applying these data to humans would mean that obesity produces diabetes mellitus only when diabetes genes are present, and that the effects of diabetes genes can be prevented by weight control. In addition, not only the absolute body weight but also the composition of the diet is decisive for the onset of diabetes.

In our society, overweight is often considered to indicate a behavioral disorder or is even stigmatized as a lack of willpower. Research at the DIfE aims to disprove this assumption by showing that overweight can also be caused by disorders involving the mechanisms of hunger perception and of energy metabolism. Individuals with overweight appear to have an enhanced perception of hunger and, in addition, a lower energy expenditure than normal-weight individuals. Present research thus focuses on the neuroendocrinological control of hunger perception (for example, by the hormone ghrelin produced in the stomach) and the long-underestimated area of regulation of thermogenesis (Laboratory of Energy Metabolism).

The results of basic and clinical research have to be put into practice without delay. Based on the results of research, effective strategies to prevent diabetes by weight reduction must be developed; findings on the effects of individual dietary components must be applied accordingly. The DIfE does this at its Center of Nutritional Counseling, which offers practical courses in weight reduction.

**Figure 2**  
Day-to-day business in laboratory: biological samples for biochemical and molecular genetic study

as well as individual consultations. It is very difficult to change eating habits; it is possible that, in some cases, overweight individuals can only be helped by pharmacotherapy. The DiFE contributes to this area by searching for new target molecules for anti-obesity drugs.

One of the particularly successful areas of research at the DiFE in the years 2000-2002 involves the mechanisms of smell and taste perception (Fig.3). A number of receptors for qualities of sour and bitter taste have been identified and characterized. Thus, our knowledge about the sensory mechanisms with which we assess our food has been broadened considerably. After all, an important question is why certain foods and taste qualities are preferred and why an unhealthy diet often tastes so good. Moreover, why do tastes vary, and why is it so difficult to change the eating habits of some individuals? It has been known for a long time that the good taste but not the health-promoting effects are decisive for the food choice. How can these preferences be changed?

Like type-2 diabetes, cancer develops as the result of interaction of a genetic susceptibility with extrinsic factors. Reactive substances, natural as well as chemically synthesized compounds, cause mutations of the DNA, which may interfere with the control of cell growth. Numerous data support the assumption that nutrition plays a key role in the development of cancer. Especially in the case of carcinomas of the digestive tract, e.g., stomach and colon carcinomas, it has to be assumed that nutrition contributes to these by yet unknown agents or that other agents in nutrients have a protective effect. At present it is assumed that the risk of carcinomas of the digestive tract is increased by consumption of a high-fat, high-protein, and low-fiber diet, and that fruits, vegetables, and fiber have a protective effect (Fig.4).

The DiFE is involved in answering these questions by participation in the multi-center, European-wide EPIC Study. This study will identify eating habits that are associated with an increased risk of cancer, and quantify the role of nutrition in this risk. Because of the long latency period for development of cancer, it will take years before the study is able to provide final results. However, the preliminary results up to now support the assumption that a low consumption of fruits and vegetables is associated with a high cancer risk, whereas a high consumption of fiber is associated with a low cancer risk.

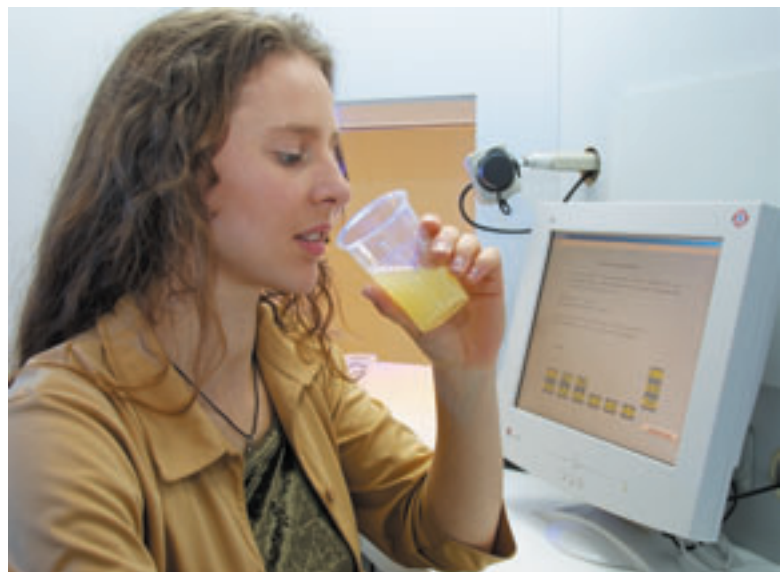
**Figure 3**  
*The senses of smell and taste determine if and why something tastes good.*

Nahrungsbestandteile müssen entsprechend umgesetzt werden. Das DiFE tut dies in seinem Zentrum für Ernährungsberatung, das praktische Kurse zur Gewichtsabnahme, aber auch individuelle Beratung anbietet. Die Änderung von Ernährungsgewohnheiten ist sehr schwer und manchem Übergewichtigen ist möglicherweise nur mit medikamentöser Unterstützung zu helfen. Hierzu leistet das DiFE einen Beitrag, indem es an der Identifikation neuer Zielmoleküle für Arzneimittel arbeitet.

Ein in den Jahren 2000-2002 besonders erfolgreich bearbeitetes Forschungsfeld des DiFE sind die Mechanismen von Geruchs- und Geschmackserkennung (Abb.3). Von der Abteilung Molekulare Genetik wurden mehrere Rezeptoren für saure und bittere Geschmacksqualitäten identifiziert und charakterisiert.

Geschmack, nicht eine gesundheitsfördernde Wirkung entscheidend ist. Wie kann man diese Präferenzen ändern?

Auch Krebs entsteht durch das Zusammenwirken einer genetischen Anlage mit exogenen Faktoren. Reaktive Substanzen – Naturstoffe ebenso wie chemisch synthetisierte Stoffe – bewirken Mutationen der DNS, die im ungünstigen Fall die Kontrolle des Zellwachstums verhindern. Die genetische Anlage modifiziert die Krebsentstehung über den Metabolismus der Fremdstoffe, die DNS-Reparatur, oder den programmierten Zelltod (Apoptose). Eine Fülle von Daten belegt die Annahme, dass die Ernährung eine wesentliche Rolle in der Krebsentstehung spielt. Vor allem für Karzinome des Verdauungstrakts wie Magen- und Kolonkarzinom muss angenommen werden, dass sie durch noch unbekannte Faktoren in der Ernährung



**Abbildung 3**  
Geruchs- und Geschmackssinn entscheiden, warum und wie gut etwas schmeckt.

Damit wurde unser Wissen über die sensorischen Mechanismen, mit denen wir Nahrung beurteilen, erheblich erweitert. Eine wichtige Frage ist ja, warum bestimmte Nahrungsmittel und Geschmacksqualitäten bevorzugt werden und warum oft eine ungesunde Nahrung so gut schmeckt. Und: warum sind die Geschmäcker verschieden, und warum lassen sich Ernährungsgewohnheiten bei manchen Menschen so schwer umstellen? Es ist seit langem bekannt, dass für den Kauf von Nahrungsmitteln in erster Linie der gute

entstehen können – oder dass andere Faktoren schützend wirken. Diese Faktoren sind bislang nicht sicher identifiziert. Begründete Annahmen sind, dass Karzinome des Verdauungstrakts mit dem Fleischverzehr assoziiert sind, und dass Obst, Gemüse und Ballaststoffe einen schützenden Effekt ausüben (Abb.4).

Das DiFE trägt zur Klärung dieser Fragen durch Teilnahme an der multizentrischen, europäischen EPIC-Studie bei. Diese Studie wird Ernährungsgewohnheiten identifizieren,



die mit einem erhöhten Krebsrisiko einhergehen, und den Beitrag der Ernährung zum Krebsrisiko quantifizieren. Wegen der langen Latenz der Krebsentstehung wird es noch Jahre dauern, bis die Studie endgültige Ergebnisse liefern kann.

Die bisherigen, vorläufigen Daten sprechen jedoch dafür, dass ein geringer Verzehr von Obst und Gemüse mit einem höheren, ein hoher Verzehr von Ballaststoffen dagegen mit einem geringeren Krebsrisiko assoziiert ist.

Stevens DR, Seifert R, Bufe B, Müller F, Kremmer E, Gauss R, Meyerhof W, Kaupp UB, Lindemann B. Hyperpolarization-activated channels HCN1 and HCN4 mediate responses to sour stimuli. *Nature* 413:631-5 (2001).

Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, Pfeiffer AF. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 361:226-8 (2003).

Plum, L., Giesen, K., Kluge, R., Junger, E., Linnartz, K., Schürmann, A., Becker, W., Joost, H.-G.: Characterization of the diabetes susceptibility locus Nidd/SJL in the New Zealand obese (NZO) mouse: Islet cell destruction, interaction with the obesity QTL Nob1, and effect of dietary fat. *Diabetologia* 45: 823-830 (2002).



**Abbildung 4**  
Probenvorbereitung für eine Testreihe über die Verstoffwechslung von Ballaststoffen im Darm.

#### **Ausgewählte Veröffentlichungen**

##### **Selected Publications**

Bufe B, Hofmann T, Krautwurst D, Raguse JD, Meyerhof W. The human TAS2R16 receptor mediates bitter taste in response to beta-glucopyranosides. *Nature Genetics* 32:397-401 (2002).

Schulz M, Kroke A, Liese AD, Hoffmann K, Bergmann MM, Boeing H. Food groups as predictors for short-term weight changes in men and women of the EPIC-Potsdam cohort. *J. Nutr.* 132:1335-40 (2002).

Bingham S A, Day N E, Luben R, Ferrari P, Slimani N, Norat T, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Nieters A, Boeing H, Tjønneland A, Overvad K, Martinez C, Dorronsoro M, Gonzalez C A, Key T J, Trichopoulos A, Naska A, Vineis P, Tumino R, Krogh V, Bueno-de-Mesquita H B, Peeters P H M, Berglund G, Hallmans G, Lund E, Skeie G, Kaaks R, Riboli E.

Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study. *Lancet* 361: 1496-1501 (2003).


**Figure 4**  
*Preparation of samples for a series of tests on the digestion of fiber in the intestine*

## Department of Molecular Genetics Head: Prof. Dr. Wolfgang Meyerhof

What actually happens when something is tasted in the mouth and on the tongue? How is the brain informed? How is food consumption controlled, appetite regulated, and body weight maintained? Which extrinsic and intrinsic signals affect the orectic network? The Department of Molecular Genetics is looking for answers to these questions.

### Molecular biology of taste

Increasing the content of chemoprotective compounds in food of plant origin is a potent dietary option for the prevention of diseases. However, consumers reject food rich in these bitter-tasting phytonutrients, thereby promoting their removal during food processing (Fig.1). Bitter-masking agents could circumvent this problem, but require a detailed understanding of the interaction of bitter compounds with their receptors on the human tongue. To identify human bitter-taste receptors, we inserted the coding sequences of all candidate TAS2R genes into an expression cassette that enabled immunocytochemical detection and facilitated cell surface expression of the recombinant receptors in transfected cells (Fig.2). The cell line, which expressed the construct encoding TAS2R16, selectively responded to bitter-tasting  $\beta$ -glucopyranosides by increase in  $[Ca^{2+}]_i$ . The concentration-response relations of TAS2R16 for all of these chemicals closely resembled those obtained in human taste studies, suggesting that TAS2R16 represents a cognate human receptor for  $\beta$ -glucopyranosides (Fig. 3). The well-known compounds amygdalin, the cyanogenic and bitter main component of almonds, and salicin of willow bark, with a 3500-year-old history of proven antipyretic and analgesic action, belong to this class of chemicals. Adaptation frequently occurs in sensory systems upon prolonged or repeated presentation of a stimulus. Repeated stimulation of TAS2R16-expressing cells with phenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside caused diminished responses to this compound and to all other tested  $\beta$ -pyranosides as well. Homologous desensitization of agonist-occupied G protein-coupled receptors likely accounts for this result. We made similar observations in human subjects. Shortly after the test solutions were taken up in the mouth, the panel members perceived the various  $\beta$ -D-glucopyranosides equally bitter. During prolonged exposure to one TAS2R16-agonist the subjects showed adapted bitter perception not only to that stimulus, but also to the other  $\beta$ -D-glucopyranosides. This cross-adaptation occurred among all tested  $\beta$ -D-glucopyranosides, but was not seen in the case of the unrelated bitter substance denatonium benzoate.

 **Figure 1**  
In the modernly equipped Olfactory and Gustatory Laboratory of the Dife, up to ten probands can undergo computer-aided examinations simultaneously

Was geschieht eigentlich beim Schmecken im Mund und auf der Zunge und wie erfährt das Gehirn davon?  
Wie wird die Nahrungsaufnahme kontrolliert, der Appetit reguliert, das Körpergewicht gehalten?  
Welche externen und internen Signale beeinflussen das orexische Netzwerk?  
Die Abteilung Molekulare Genetik sucht Antworten auf diese Fragen.

### Molekularbiologie der Geschmackswahrnehmung

Maik Behrens, Bernd Bufe, Stephanie Demgensky\*, Ulrike Lerner\*, Ellen Schöley-Pohl

Wegen ihres bitteren Geschmacks wird ein hoher Gehalt an gesundheitsfördernden pflanzlichen Inhaltsstoffen in Nahrungsmitteln vom Verbraucher nicht akzeptiert (Abb.1).

charakterisieren. Das erste Problem haben wir gelöst, indem wir durch Analyse des humanen Genomprojektes die TAS2R-Genfamilie für menschliche Bitterrezeptoren vollständig isolieren konnten. Die kodierenden Abschnitte aller TAS2R-Gene dienen anschließend zur Herstellung von DNA-Konstrukten, die die Expression der rekombinanten Proteine an der Zelloberfläche ermöglichen und ihren zytochemischen Nachweis erlauben (Abb. 2).

Unsere weiteren Arbeiten lösten weitgehend das zweite Problem, denn sie zeigten, dass transfizierte Zellen, die das humane TAS2R16-Gen exprimierten, selektiv durch bittere  $\beta$ -Glucopyranoside stimulierbar waren und mit einer Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration reagierten. Diese Substanzklasse schließt Verbindungen wie Salicin und Amygdalin ein. Beide sind seit langer Zeit sehr gut bekannt.



 **Abbildung 1**

Im modern ausgestatteten Geruchs- und Geschmackslabor des Dife können bis zu 10 Probanden gleichzeitig computerunterstützt untersucht werden

Die Nahrungsmittelindustrie ist daher bemüht, den Gehalt dieser Stoffe in unseren Nahrungsmitteln zu verringern. Der Einsatz sogenannter Bitterblocker wäre ein Ausweg aus diesem Dilemma, erforderte jedoch die genaue Kenntnis der Wechselwirkung solcher Stoffe mit den Geschmacksrezeptoren auf der menschlichen Zunge. Unerlässliche erste Schritte dafür wären die Isolierung aller humanen Bitterrezeptoren und der Aufbau einer Messmethode, um sie funktionell zu

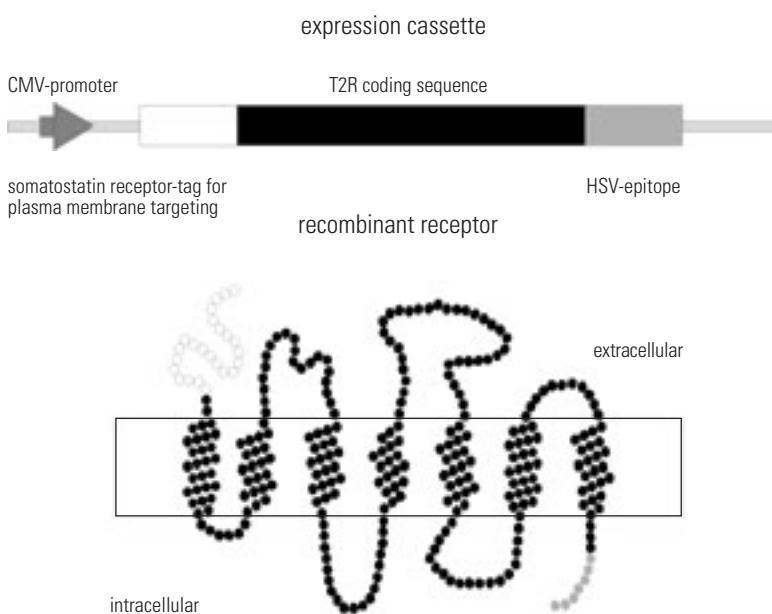
Salicin wird aus der Rinde von Weiden extrahiert und findet in der Heilkunde durch seine schmerzlindernde und fiebersenkende Wirkung Verwendung. Aus dem Zyangiftstoff Amygdalin der Bittermandel wird das in der Küche gebräuchliche Bittermandelaroma freigesetzt. Alle Daten unserer verschiedenen In-vitro-Versuche entsprachen genau denen, die wir an Versuchspersonen erheben konnten (Abb. 3). Aus dieser Übereinstimmung geht hervor, dass der TAS2R16-Rezeptor ein

menschlicher Bittergeschmacksrezeptor für  $\beta$ -Glucopyranoside ist. Diese Schlussfolgerung wird weiter unterstützt durch den Befund, dass die TAS2R16-mRNA nur in Geschmacksknospen auf der menschlichen Zunge nachweisbar war (Abb. 4).

Unsere Versuche erlaubten auch Vorhersagen darüber, welche strukturellen Eigenschaften Stoffe aufweisen müssen, um TAS2R16 zu aktivieren und um als bitter wahrgenommen zu werden. Unerlässlich ist die  $\beta$ -Konfiguration der glykosidischen Bindung und die äquatoriale Position der Hydroxylgruppe an dem C4-Atom des Pyranoserings. Größere hydrophobe Aglykons ergeben bessere Agonisteneigenschaften als kleinere. Das kleinste Aglykon, ein Wasserstoffatom, kommt in der süß schmeckenden Glucose vor, die den hT2R16 nicht aktiviert.

Pyranoserings mit dem Rezeptor, die daraufhin die an sich geschmacklosen Aglykons in die Bindungstasche ziehen. TAS2R16 koppelt die Erkennung einer spezifischen chemischen Struktur an die bewusste Wahrnehmung bitteren Geschmacks. Der Rezeptor ist in der Lage, eine ganze Klasse von Verbindungen zu erkennen. Würde dieses Verhalten von den anderen TAS2R-Rezeptoren geteilt, dann könnten wir leichter erklären, wie wir die zahlreichen Bitterstoffe mit einem begrenzten Satz von Rezeptoren wahrnehmen können. Die funktionelle Expression von Bittergeschmacksrezeptoren ist eine wichtige Voraussetzung für die Isolierung oder Entwicklung von Bitterblockern, die zur besseren Akzeptanz mancher Lebensmittel und Medikamente führen.

Consistent with its role as a bitter taste receptor, we detected mRNA for TAS2R16 in human taste buds of the vallate papillae, which are specialized morphologic structures for taste reception of the tongue (Fig. 4). Our data also disclosed some structural requirements of the compounds that activate TAS2R16. The  $\beta$ -configuration of the glycosidic bond and the equatorial position of the hydroxyl group at C4 of the pyranose are equally crucial for TAS2R16 activation in vitro and human bitter taste. Moreover, large hydrophobic aglycons mediate better agonist properties than the small ones. The hydrogen atom in this position, which occurs in the sweet-tasting molecule glucose, prevents agonist activity at hTAS2R16. Hydrophilic ring substitutions correlate inversely to agonist potency. The glycosidic oxygen atom does not seem to be of particular importance because it can be replaced by sulfur. The steric orientation of the hydroxyl group in C2 is of little importance, since mannosides act as receptor agonists as well. Substitutions at C6 had only little effect on agonist properties. The moderate potency of amygdalin is likely due to the hydrophilic nitrile group of its aglycon and not to the  $\alpha$ -1,6-glycosidic addition of another glucose molecule. Recent data on the bitter unit of glucopyranosides support our conclusions. This work showed that the aglycons are tasteless and that a hydrogen acceptor and donor site set up by two of the hydroxyl groups of the glucose moiety forms the bitter unit. TAS2R16 links the recognition of a specific chemical structure to the conscious perception of bitter taste. TAS2R16 is tuned to numerous  $\beta$ -glycopyranosides. If this broad tuning is replicated by the other TAS2Rs, it helps explain how humans endowed with a small number of bitter receptors can perceive the multitude of bitter compounds. Functional expression of TAS2Rs will be of value for the design and isolation of bitter-masking substances that could block the bitterness of chemoprotective phytonutrients or medicine.



**Abbildung 2**  
Schematische Darstellung der Expressionskassette sowie der rekombinanten Rezeptorproteine zum Nachweis menschlicher Bitterrezeptoren

Hydrophile Substitutionen im Aglykon verschlechtern die Aktivierbarkeit des Rezeptors, während die Stellung der Hydroxylgruppe an C2, Substitutionen an C6 oder das Ersetzen des Sauerstoffs der glykosidischen Bindung durch Schwefel keinen nennenswerten Einfluss aufweisen. Unsere Beobachtungen werden durch ein kürzlich vorgeschlagenes Modell gestützt. Das erklärt die Bitterkeit von  $\beta$ -Glucopyranosiden durch die Wechselwirkung von zwei der Hydroxylgruppen des

### Molekularbiologie des Geruchsinns

Dietmar Krautwurst, Kristin Schmiedeberg, Elena Chirokova, Monika Silkeit

Olfaktorische Rezeptoren (OR) ermöglichen es Wirbeltieren, tausende Geruchsstoffe zu unterscheiden. Wir identifizierten Schlüsselaromastoffe(SAS)-erkennende OR in funktionellen Expressionsstudien mit einer OR-cDNA-Bibliothek, exprimiert in HEK293/15-Zellen. Der SAS 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin aus

### Molecular biology of olfaction

Olfactory receptors (OR) enable vertebrates to discriminate thousands of odorants. We identified cognate ligand/OR pairs in functional expression screenings using a mouse OR cDNA library and selected key food odorants (KFO) in HEK293/15 cells. The KFO 2,3-diethyl-5-methylpyrazine from raw and heated food was used to screen 96 mouse OR chimeras expressed in HEK293/15 cells for intracellular  $Ca^{2+}$  signals, employing a FLIPR system. By functional and in-silico homology analysis, we identified 3 responding mouse and 2 human OR with different efficacies to induce intracellular

**Figure 2**  
Schematic representation of the expression cassette and recombinant receptor

Ca<sup>2+</sup> signals upon application of 2 differently smelling alkyl- and methoxypyrazines. We employed the KFO (-)-citronellal and have identified 4 cognate (-)-citronellal/OR pairs by FLIPR screening of our 170 mouse OR chimeras. In silico homology analysis revealed another 10 and 7 homologous genes in mouse and human, respectively, that could be allocated to 3 families. These genes have been cloned, their expression in situ was confirmed by RNA hybridization and RT-PCR, and their expression in human cell lines was confirmed by immunocytochemistry. For 7 of 14 mouse OR and 5 of 7 human OR an activation by (-)-citronellal could be confirmed, and for 2 mouse OR and 3 human OR stable cell lines were established. EC<sub>50</sub>-based odor profiles and mutation studies will clarify structure-function relations of OR. Since the majority of OR triggers odorant-induced Ca<sup>2+</sup> signals via a cAMP/cyclic nucleotide-gated channel (CNGC) signalling pathway in olfactory sensory neurons, we established a human HeLa cell line stably expressing the olfactory CNGA2 channel. By conducting Ca<sup>2+</sup>, CNGCA2 serves as a reporter for a variety of stimuli that increases the intracellular concentration of cyclic nucleotides, such as isoproterenol, atrionatriuretic peptide, and (-)-citronellal. This cell line will facilitate the functional identification and characterization of OR, and thus will increase an understanding of odorant coding.

### Central regulation of feeding behavior

A major contribution to the regulation of feeding behavior is made by the adipose tissue hormone leptin that signals to the hypothalamus. In recent work we have functionally identified, in the rat model, the hypothalamic neurons that respond to leptin through immunohistochemical detection of the nuclear translocation of the signaling molecule STAT3. The identified neurons are largely located in the mediobasal hypothalamus and form part of an orexigenic-anorectic network. In the reporting period we have analyzed the relation of the leptinoceptive neurons to the somatostatin signaling system by double-label immunohistochemistry. We observed almost complete lack of somatostatin expression in leptin-responsive hypothalamic neurons, suggesting that, in the rat, leptin does not directly regulate somatostatinergic neurons. However, somatostatin-containing fibers and termini were frequently opposed to STAT3-positive neurons. In marked contrast, widespread expression of somatostatin receptor subtypes occurred in the leptin-responsive neurons of various hypothalamic nuclei, including those of the



**Figure 3**  
Dose-response relation of the  $\beta$ -glucopyranoside helicin and intracellular calcium concentrations in TAS2R16 expressing cells and the intensity of bitter taste in test persons

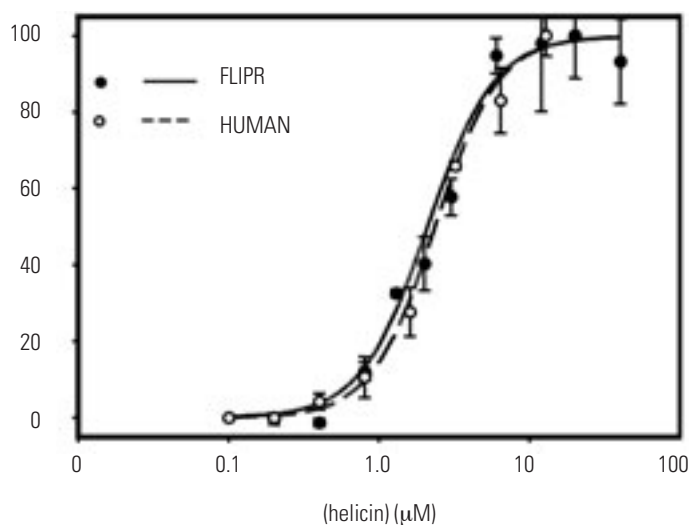
rohen und erhitzten Lebensmitteln wurde auf 96 Maus-OR-Chimären für das Auftreten intrazellulärer Ca<sup>2+</sup>-Signale in HEK293/15-Zellen mit dem Fluorescence-Imaging-Plate-Reader (FLIPR) getestet. Durch funktionelle und In-silico-Homologieanalysen identifizierten wir 3 Maus- und 2 menschliche OR. Diese induzierten in transienten Expressionsstudien nach Gabe von Alkyl- oder Methoxypyrazinen verschiedener Geruchsqualitäten intrazelluläre Ca<sup>2+</sup>-Signale mit unterschiedlichem Wirkungsgrad. Wir benutzten den SAS (-)-Citronellal und identifizierten 4 funktionelle (-)-Citronellal/OR-Paare durch FLIPR-Screening gegen 170 Maus-OR-Chimären. Eine In-silico-Homologieanalyse ergab weitere 10 bzw. 7 homologe Gene in Maus und Mensch. Diese Gene wurden molekular kloniert, die Expression im Gewebe durch In-situ-Hybridisierung und RT-PCR, und in menschlichen Zelllinien durch Immunocytochemie bestätigt.

zyklische Nucleotide gesteuerten Kanal, CNGA2, exprimieren. Dieser dient als Reporter für eine Vielzahl von Stimuli, die die intrazelluläre Konzentration zyklischer Nucleotide erhöhen, z. B. Isoproterenol, atrionatriuretisches Peptid und (-)-Citronellal. Diese Zelllinie wird die funktionelle Identifizierung von OR erleichtern, und dadurch das Verständnis der Geruchsstoffkodierung ermöglichen.

### Zentrale Regulationsmechanismen der Nahrungsaufnahme

Anne-Sophie Carlo\*, Martina Pyrski\*, Zara Stepanyan\*

Das Adipozytenhormon Leptin leistet wichtige Beiträge zur Kontrolle der Nahrungsaufnahme durch seine Wirkungen auf den Hypothalamus. Im Modell Ratte haben wir vor einiger Zeit eine Nachweismethode für die Nervenzellen entwickelt, die auf Leptin



**Abbildung 3**

Konzentrations-Wirkungsbeziehung des  $\beta$ -Glucopyranosids Helicin und der intrazellulären Calciumkonzentrationen in TAS2R16-exprimierenden Zellen bzw. der Intensität des Bittergeschmacks von Testpersonen

Für 7 von 14 Maus-OR und 5 von 7 menschlichen OR wurden (-)-Citronellalabhängige Ca<sup>2+</sup>-Signale gemessen. Für 2 Maus- und 3 menschliche OR wurden stabile Zelllinien etabliert. EC<sub>50</sub>-basierende Geruchsstoffprofile und Mutationsstudien werden zur Aufklärung von Struktur-Funktionsbeziehungen der OR führen. Da OR Ca<sup>2+</sup>-Signale in olfaktorischen Neuronen mehrheitlich durch den cAMP-Signalweg auslösen, etablierten wir eine menschliche HeLa-Zelllinie, die den durch

reagieren und die daher als Bestandteil orexigener Netzwerke identifiziert werden konnten. Im Berichtszeitraum haben wir eine mögliche Beziehung dieser leptinsensitiven Nervenzellen zu Somatostatin untersucht. Eine Wechselwirkung dieses Neuropeptids mit Leptin könnte eine wichtige Rolle bei den veränderten Wachstumshormonspiegeln spielen, die im Zusammenhang mit Adipositas und Kachexie beobachtet werden. Auf anatomischer Ebene konnten wir keine

Somatostatinexpression in den leptin-sensitiven Neuronen beobachten. Jedoch stellten wir fest, dass im mediobasalen Hypothalamus verschiedene Somatostatinrezeptortypen auf den leptinsensitiven Zellen lokalisiert sind und dass sie von somatostatinhaltigen Fasern und Termini umgeben sind. Das könnte auf einen modulierenden Einfluss von Somatostatin auf den anorektischen Effekt von Leptin hindeuten.

### Regulation von Somatostatinrezeptoren

Nicole Brune, Ara Kocharyan

Zwar wirken Peptidhormone vorwiegend durch Aktivierung von zelloberflächenständigen Rezeptoren, doch ist weitgehend unbekannt, wie diese im Verlauf der Biosynthese dorthin gelangen. Wir haben festgestellt,

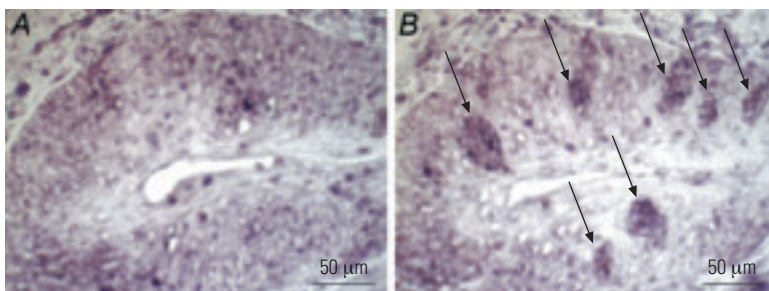
dass der Somatostatin-Typ-3-Rezeptor (sst3) in transfizierten Zellen vorwiegend auf der Plasmamembran lokalisiert ist, wohingegen der Typ-1-Rezeptor (sst1) besonders auf intrazellulären Membrankompartimenten zu finden ist. Die Analyse entsprechender Rezeptorchimären führte zur Identifizierung des aminoterminalen Bereichs des sst3, der für die Zielsteuerung zur Zelloberfläche verantwortlich ist.

Eine andere Sequenz im Aminoterminus des sst1 bedingt dagegen die Zielsteuerung in die intrazellulären Kompartimente. Die Universalität der Plasmamembranzielsteuerungssequenz des sst3 zeigte sich dadurch, dass sie auch die völlig un verwandten Bittergeschmacksrezeptoren an die Zelloberfläche leitet. Ohne diese Sequenz gelangen die Bittergeschmacksrezeptoren nicht an die Zelloberfläche und entziehen sich ihrer funktionellen Identifizierung.

mediobasal hypothalamus that are known to be involved in the regulation of feeding behavior. These anatomical data suggest somatostatin to be a modulator of leptin's anorectic action.

### Regulation of somatostatin receptors

Although peptide hormone receptors commonly exert their actions at the plasma membrane, the cellular mechanisms that route the receptor proteins to the cell surface are not well characterized. In transfected cells, sst3 somatostatin receptors are present almost exclusively at the cell surface, while sst1 receptors localize largely at intracellular vesicular compartments. Various chimeric receptors were constructed between rat sst3 and sst1, and analyzed by immunocytochemical methods following transfection in two different cell lines. The results demonstrate that the amino-terminal domain of sst3 suffices to guide the chimeric receptors to the cell surface. Quite in contrast, chimeras that lack this sequence but contain instead the amino-terminus of sst1 localize in intracellular vesicular compartments. Based on these results we used the sst3 targeting sequences to direct human bitter taste receptors to the cell surface (see above) that otherwise fail to reach this compartment and evade functional identification.



#### Abbildung 4

Nachweis von TAS2R16 mRNA in humanen Geschmackspapillen durch In-situ-Hybridisierung. (A) Kontrolle, sense Probe. (B) antisense Probe. Balken, 50 µm



#### Figure 4

Detection of TAS2R16 mRNA by in situ hybridization in human taste buds. (A) control, sense cRNA probe; (B) antisense probe. Scale bar, 50 µm

## Drittmittelprojekte External Funding

Titel: Isolierung von Genen, die an zentralen Hunger- und Sättigungsmechanismen beteiligt sind  
Finanzierung: Institut Danone für Ernährung  
Laufzeit: 07/00-12/02

Titel: Combinatorial high-throughput screening of odorants versus an expression library of olfactory receptors by means of functional reconstitution of olfactory signal transduction molecules in mammalian cell lines  
Finanzierung: Internationale Stiftung für Ernährungsforschung und Ernährungsaufklärung  
Laufzeit: 11/00-10/02

Titel: Aufklärung der Geruchsstoffspezifität olfaktorischer Rezeptoren und Rezeptorsubfamilien durch funktionelle Expression einer Rezeptorbibliothek im Säugerzellsystem  
Finanzierung: DFG  
Laufzeit: 07/00-06/02

Titel: Somatostatin and its receptors in brain function and dysfunction  
Finanzierung: EU  
Laufzeit: 01/00-12/03

Titel: Molekulare Klonierung, Charakterisierung und Struktur-Funktions-Beziehungen von olfaktorischen Rezeptoren für den Schlüsselaromastoff `Weinlacton`  
Finanzierung: BMBF  
Laufzeit: 05/02-04/04

Titel: Functional expression of members of a mouse olfactory receptor library  
Finanzierung: Daimler-Benz-Stiftung  
Laufzeit: 05/00-05/02

## Ausgewählte Publikationen Selected Publications

### Originalarbeiten/Original Papers

Ammon, C., Schäfer, J., Kreuzer, O. J., Meyerhof, W.: Presence of a plasma membrane targeting sequence in the amino-terminal region of the rat somatostatin receptor 3. *Arch. Physiol. Biochem.* 110, 137-45 (2002).

Baumeister, H., Schärfke, M., Haebel, S., Meyerhof, W.: A two-dimensional map and database of soluble nuclear proteins from HepG2 cells as reference for identification of nutrient-regulated transcription factors. *Eur. J. Nutr.* 40, 168-177 (2001).

Bufe, B., Hofmann, T., Krautwurst, D., Raguse, J.-D., Meyerhof, W.: The human TAS2R16 receptor mediates bitter taste in response to beta-glucopyranosides. *Nature Genetics* 32, 397-401 (2002).

Florian, S., Winkler, K., Schmehl, K., Jacobasch, G., Kreuzer, O. J., Meyerhof, W., Brigelius-Flohé, R.: Cellular and subcellular localization of gastrointestinal glutathione peroxidase in normal and malignant human intestinal tissue. *Free Radic. Res.* 35, 655-663(2001).

Hübschle, T., Harré, E. M., Meyerhof, W., Pehl, U., Roth, J., Gerstberger, R.: The central pyrogenic action of interleukin-6 is related to nuclear translocation of STAT3 in the anteroventral preoptic area of the rat brain. *J. Therm. Biol.* 26, 299-305 (2001).

Hübschle, T., Thom, E., Watson, A., Roth, J., Klaus, S., Meyerhof, W.: Leptin-induced nuclear translocation of STAT3 immunoreactivity in hypothalamic nuclei involved in body weight regulation. *J. Neurosci.* 21, 2413-2424 (2001).

Kreuzer, O. J., Krisch, B., Dery, O., Bunnett, N. W., Meyerhof, W.: Agonist-mediated endocytosis of rat somatostatin receptor subtype 3 involves beta-arrestin and clathrin Coated Vesicles. *J. Neuroendocrinol.* 13, 279-287 (2001).

Schärfke, M., Baumeister, H., Meyerhof, W.: Method for the immunological detection of silver-stained proteins on nitrocellulose membranes. *Biotechniques* 30, 266-268, 270, 272 (2001).

Stevens, D. R., Seifert, R., Bufe, B., Müller, F., Kremmer, E., Gauss, R., Meyerhof, W., Kaupp, U. B., Lindemann, B.: Hyperpolarization-activated channels HCN1 and HCN4 mediate responses to sour stimuli. *Nature* 413, 631-635 (2001).

### Übersichtsarbeiten/Reviews

Klaus, S., Meyerhof, W.: Hunger entsteht im Gehirn - Die Neurobiologie des Essverhaltens. Teil 1. *Ernährung im Fokus* 1, 142-147 (2001).  
Klaus, S., Meyerhof, W.: Hunger entsteht im Gehirn - Die Neurobiologie des Essverhaltens. Teil 2. *Ernährung im Fokus* 1, 176-180 (2001).

### Buchbeiträge/Articles in Books

Krautwurst, D., Chirokova, E.: The olfactory receptor expression library as a tool for structure-function studies. In: Rothe, M. (ed.) *Flavour 2000: Perception, release, evaluation, formation, acceptance, nutrition, health. Proceedings of the 6th Wartburg Aroma Symposium*, Wartburg-Stiftung, Eigenverlag Bergholz-Rehbrücke, 13-24 (2001).

Adipositas (krankhaftes Übergewicht) ist wegen der dramatischen Zunahme von Häufigkeit und Schweregrad die wichtigste ernährungsbedingte Erkrankung. Adipositas verursacht das sog. Metabolische Syndrom mit Hypertonie, Cholesterin-Stoffwechselstörung und Insulinresistenz, und kann im weiteren Verlauf zu lebensverkürzendem Typ-2-Diabetes führen. Wirksame therapeutische Methoden (Arzneimittel, nicht-medikamentöse Therapien) lassen sich leichter entwickeln, wenn molekulare Ursachen und Pathophysiologie einer Erkrankung bekannt sind.

Die Arbeit der Abteilung hat deshalb zum Ziel, die Genetik, Pathobiochemie und Pathophysiologie der Adipositas aufzuklären. Wir wollen neue Zielsysteme (Proteine, Signaltransduktionswege) zu ihrer Behandlung identifizieren.

## Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes: Identifikation von Suszeptibilitäts-genen in einem Mausmodell

Reinhart Kluge, Leona Plum, Katja Schmolz, Mandy Grothe, Annette Schürmann

Entstehung und Verlauf der Adipositas sind ernährungsbedingt und werden zudem durch andere Lebensbedingungen (z.B. die körperliche Aktivität) beeinflusst, basieren aber vor allem auf einer komplexen genetischen Prädisposition. Diese Prädisposition besteht aus einem Netzwerk varianter Gene (polygene Erkrankung), dessen einzelne Komponenten unbekannt und beim Menschen sehr schwer identifizierbar sind. Am DIFE wird daher ein Mausmodell (die New-Zealand obese (NZO) Maus) genutzt, das das polygene Metabolische Syndrom des Menschen sehr exakt abbildet.

Department of Pharmacology  
Head: Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost

Because of the dramatic increase in incidence and severity, obesity is the most important nutritional disease. Obesity is the main cause of the metabolic syndrome with hypertension, hypercholesterolemia, and insulin resistance, and may lead to life-shortening type-2 diabetes. At present, the German public health insurances spend about 6 billion euro (a third of their budget for prescription drugs) for the pharmacotherapy of the entire syndrome; conservative estimates project a doubling of this amount within the next 5 years. This trend will, if it continues, decrease the average life expectancy, and will cause a severe financial crisis of the public health system.

The development of a novel therapy (drugs or others) is largely facilitated by knowledge as to the molecular mechanism and the pathophysiology of a disease. Therefore, it is the aim of the department to study the genetic basis, the pathobiochemistry, and the pathophysiology of obesity in order to identify new targets (proteins, signal transduction pathways) for its treatment. Specifically, it is intended to (1) identify susceptibility genes for insulin resistance and type-2 diabetes in a mouse model, (2) investigate the role of gastrointestinal hormones in body-weight regulation, and (3) study the molecular basis of nutrient transport and its regulation by insulin.

## Insulin resistance and type-2 diabetes: Identification of susceptibility genes in a mouse model

Obesity is dependent on nutritional conditions and on other life-style parameters, e.g., physical activity. However, its main basis is the complex, polygenic predisposition. This predisposition consists of a network of variant genes which are unknown and very difficult to identify in humans. Therefore, a mouse model (New Zealand obese mice, NZO) that closely resembles the human metabolic syndrome is used at the DIFE.

### Identification of susceptibility loci for obesity and diabetes

Disease genes can be located by crossing the affected mouse strain with a healthy strain, thereby 'mixing' their genomes. Subsequently, the phenotypic characteristics ('traits') of the backcross population are correlated with the genotype as determined with polymorphic markers spread over the whole genome (Fig. 1). With this procedure, chromosomal regions are found (QTL, quantitative trait loci), which are in 'linkage disequilibrium', meaning that a certain genotype (e.g., homozygosity for the NZO allele) is significantly associated with

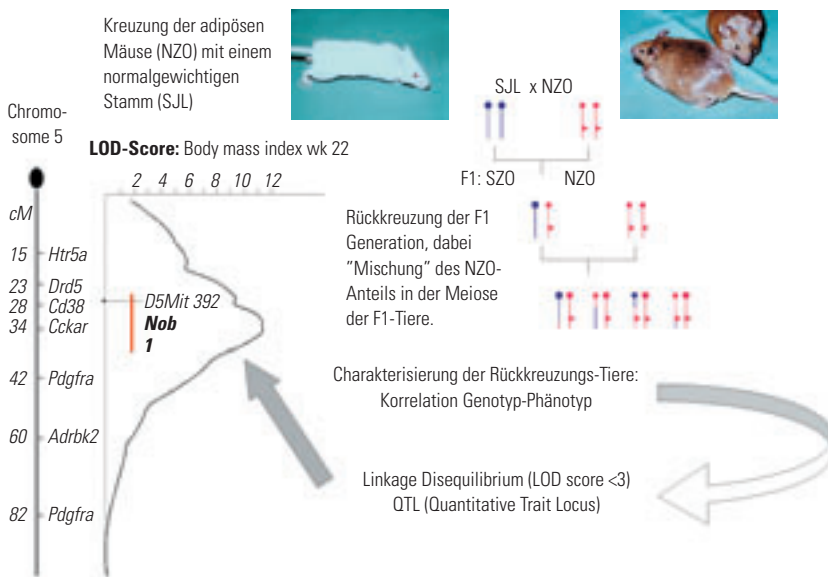


Abbildung 1

Methodik zur Lokalisation von Adipositasgenen. Durch Kreuzung von adipösen NZO-Mäusen mit einem normalgewichtigen Stamm und anschließende Rückkreuzung der F1-Generation wird eine Population mit vollständig gemischten Genomen generiert. Durch Vergleich der Körpergewichte von Tieren mit verschiedenen Genotypen (bestimmt mit über das gesamte Genom verteilten Mikrosatelliten-Markern) lassen sich chromosomale Abschnitte identifizieren, die mit Übergewicht assoziiert sind (sog. Kopplungsungleichgewicht; QTL = Quantitative Trait Loci).

Dies soll geschehen durch:

1. Identifikation von Suszeptibilitätsgenen für Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes in einem Mausmodell,
2. durch Untersuchung der Rolle gastrointestinaler Hormone für die Gewichtsregulation sowie
3. durch Aufklärung der molekularen Grundlagen von Nährstofftransport und Insulinwirkung.

### Identifikation von Suszeptibilitäts-Loci für Adipositas und Diabetes:

Krankheitsauslösende Gene lassen sich lokalisieren, indem man das Genom des erkrankenden Mausstamms durch Kreuzung mit dem eines gesunden Stamms mischt. In der Kreuzungspopulation vergleicht man die Eigenschaften der Tiere („traits“) mit dem Genotyp für sog. polymorphe Marker (s. Abb. 1).

Figure 1: Methodology for the localization of obesity genes. Crossing of obese NZO mice with a lean control strain and the subsequent backcross of F1 results in a population with 'mixed' genomes. By comparison of body weights of animals with different genotypes (as determined with microsatellite markers), chromosomal regions (QTL) are identified that are associated with higher body weight (linkage disequilibrium; QTL = quantitative trait locus).

a phenotypic characteristic (e.g., higher body weight). Recently, we identified several QTL for obesity (e.g., Nob1 on chromosome 5, LOD Score > 4 for statistical significance) in the backcross of NZO with the lean Swiss/Jim-Lambert mouse strain (SJL, Fig. 1). In addition, we identified a QTL for diabetes (Nidd/SJL on chromosome 4, LOD Score > 4) which is responsible for the destruction of the insulin-producing cells in the islets of Langerhans (Fig. 2).

#### Interaction of obesity and diabetes genes -

Data from the backcross of NZO and SJL contributed to our understanding of the interaction of obesity and diabetes genes. In a 'dose dependent' manner, the prevalence of diabetes in the backcross population was dependent on the early obesity of the animals (Fig. 2). Diabetes genes in the Nidd/SJL locus sensitized the mice to the effect of early obesity: Control animals (non gene-carriers) became diabetic only if their body weight at 12 weeks was >50 g, whereas carriers of the Nidd/SJL allele developed hyperglycaemia at lower body weights. With a 12-week body weight exceeding 55 g, 90% the Nidd/SJL carriers but only 50% of the controls exhibited a decompensation of the blood glucose regulation. Below a threshold of 40g (12 weeks body weight), Nidd/SJL was not diabetogenic.

#### The effect of dietary fat on the prevalence of diabetes -

The fat content of the diet markedly accelerated the development of diabetes and aggravated the effect of Nidd/SJL. Under a high-fat diet, carriers of the diabetogenic allele developed diabetes earlier than comparable animals fed a standard diet. This result is paradigmatic for the interaction of the genetic basis with nutritional parameters.

The aim of the ongoing project is to identify the genes responsible for the effects of the susceptibility loci. At present, congenic mouse lines are generated which harbor portions of the QTLs on a different genetic background (transfer of Nob1 to NZB, transfer of Nidd/SJL to C57BL) in order to further narrow down the chromosomal regions which contain the responsible genes. Information as to the function of the genes located in the critical regions is obtained by analysis of their expression (tissue distribution, differences between NZO and SJL). In addition, we are trying to identify variants by sequencing candidate genes located in the QTL.

So lassen sich chromosomale Abschnitte finden (QTL, quantitative trait loci), die sich im 'Kopplungsungleichgewicht' befinden, d.h. ein bestimmter Genotyp (z.B. beide Allele des Abschnitts von NZO) ist signifikant mit einem phänotypischen Merkmal (z.B. höheres Körpergewicht) assoziiert. Auf diese Weise gelang es, im Kreuzungsmodell aus dem adipösen NZO- und dem normalgewichtigen Swiss/Jim-Lambert-Stamm (SJL) mehrere QTL für Adipositas (z.B. Nob1 auf Chromosom 5, LOD-Score > 4 als Maß für die statistische Signifikanz) zu identifizieren (s. Abb. 1). Wir fanden zudem einen QTL für Diabetes (Nidd/SJL auf Chromosom 4, LOD-Score > 4), der für die progrediente Zerstörung der insulinproduzierenden Zellen in den Langerhans'schen Inseln verantwortlich ist (s. Abb. 2)

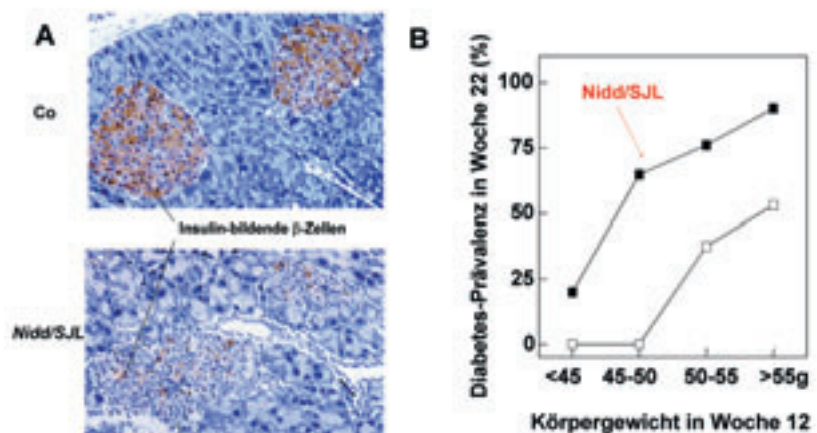
#### Interaktion von Adipositas- und Diabetes-Genen:

Die Charakterisierung des Rückkreuzungsmodells lieferte außerdem einen wichtigen

Genträgern von Nidd/SJL bereits mit niedrigeren Körpergewichten eine Dekompensation der Blutzuckerregulation auftritt. Ist das 12-Wochen-Gewicht größer als 55 g, dekompensiert die Blutzuckerregulation bei 90% der Nidd/SJL-Träger und nur bei 50% der Kontrollen. Unterhalb einer Schwelle von 40 g (Gewicht nach 12 Wochen) wirkte Nidd/SJL nicht diabetogen.

#### Wirkung des Fettgehalts der Nahrung:

Der Fettanteil der Nahrung hatte einen erheblichen Einfluss auf den Zeitpunkt der Diabetesentstehung und verstärkte die Wirkung von Nidd/SJL. Unter einer fettreichen Diät entwickelte sich der Diabetes in Trägern des diabetogenen Allels viel früher und war schwerer als in vergleichbaren Tieren unter einer Standarddiät. Dieser Befund zeigt exemplarisch die Interaktion der genetischen Grundlage mit der Ernährung. Ziel der gegenwärtigen Arbeit ist es, die für die Effekte der Suszeptibilitätsloci



**Abbildung 2**

Charakterisierung des diabetogenen QTL (Nidd/SJL). A) Einfluss des diabetogenen Allels Nidd/SJL auf die Inselmorphologie von NZO x F1 (SJL x NZO)-Rückkreuzungstieren. Die Insulin-produzierenden  $\beta$ -Zellen des Pankreas (braune Färbung) normoglykämischer (Co) und diabetischer (Nidd/SJL)-Mäuse wurden mit Hilfe eines Antikörpers gegen Insulin nachgewiesen. B) Interaktion des diabetogenen Allels Nidd/SJL mit früher Adipositas. Rückkreuzungstiere (NZO x F1 (SJL x NZO)), die das Nidd/SJL-Allel tragen, zeigen bei einem 12-Wochen Gewicht > 45 g eine höhere Diabetesprävalenz als Nicht-Genträger.

Beitrag zum Verständnis der Interaktion von Adipositas- und Diabetes-Genen. Die Daten zeigten, dass die Diabetes-Prävalenz der Rückkreuzungstiere von der frühen Adipositas der Tiere abhängig ist (Abb. 2); es besteht also eine "Dosisabhängigkeit" zwischen Adipositas und Diabetes-Prävalenz. Diese Abhängigkeit wird nun von den im Locus Nidd/SJL befindlichen Diabetes-Genen verändert: Kontrolltiere (nicht-Genträger) entwickeln erst ab einem 12-Wochen-Körpergewicht von 50 g einen Typ-2-Diabetes (Prävalenz ca. 50 %), während bei den

verantwortlichen Gene zu identifizieren. Zur Zeit werden hierzu die Loci durch die Zucht kongener Linien (Übertragung von Nob1 auf NZB sowie von Nidd/SJL auf C57BL) weiter eingegrenzt. Informationen zur Funktion der varianten Gene sollen durch Untersuchung der Expression (Gewebsverteilung, Unterschiede zwischen NZO und SJL) der in den kritischen Regionen liegenden Gene gewonnen werden. Zudem versuchen wir, die Varianten durch Sequenzierung von Kandidatengenomen zu identifizieren.

**Figure 2:** Characterization of the diabetes QTL (Nidd/SJL). A) Effect of the diabetogenic allele Nidd/SJL on islet morphology in NZO x F1 (SJL x NZO) backcross animals. The insulin-producing pancreatic  $\beta$ -cells (brown staining) of normoglycaemic (Co) and diabetic (Nidd/SJL) mice were visualized by staining with an antibody against insulin. B) The Nidd/SJL allele enhances the effect of early obesity on the prevalence of diabetes.



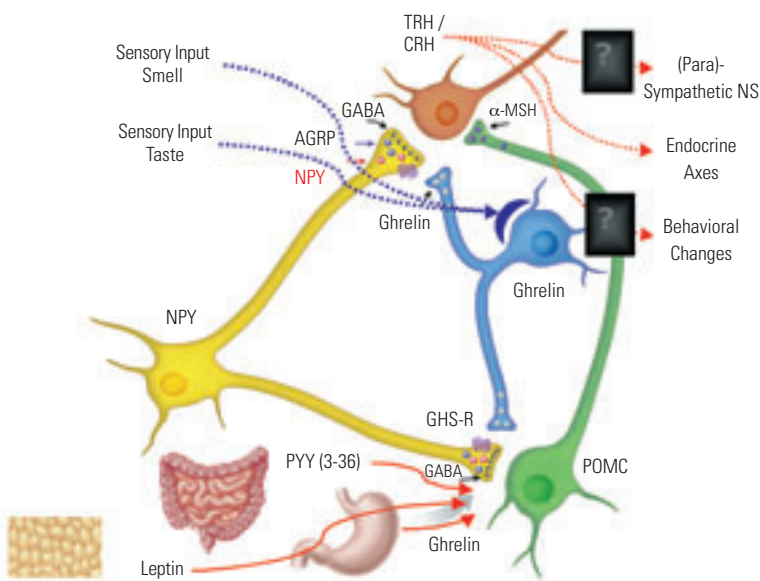
## Die Rolle gastrointestinaler Botenstoffe bei der Regulation des Körpergewichts: Neue Modellansätze zur Behandlung der Adipositas

Matthias Tschöp, Tamara Castañeda, Hella Jürgens, Waltraud Haas

Hauptprojektziel der Arbeitsgruppe ist es, durch Modifikation der Wirkung bekannter (GLP-1, GIP, Amylin) und neu entdeckter Botenstoffe (Ghrelin und PYY(3-36)) neue therapeutische Optionen zur Behandlung der Adipositas und ihrer Folgeerkrankungen zu erschließen. Zunächst sollen die Mechanismen der Wirkung dieser im Magen und/oder Darm gebildeten Botenstoffe auf die Energiebilanz am Tiermodell aufgeklärt werden, bevor über eine Blockierung oder Verstärkung dieser Wirkung die neuroendokrine Steuerung von Appetit, Energieverbrauch und Körperzusammensetzung modifiziert werden könnte.

Adipositas. PYY(3-36) ist ein ebenfalls erst kürzlich entdecktes gastrointestinales Hormon, das über eine hypothalamische Wirkung die Nahrungsaufnahme hemmt und das Körpergewicht verringert.

Zur Zeit untersuchen wir, welche neuronalen Netzwerke vor allem im Hypothalamus durch die erwähnten Hormone moduliert werden. Wir prüfen zudem, ob eine Blockade der Ghrelinwirkung mittels spezifischer Antikörper oder Rezeptorantagonisten - ebenso wie die Erhöhung der zirkulierenden PYY(3-36) - Spiegel einen effektiven Ansatz für die Therapie der Adipositas und somit auch ein Mittel zur Prävention ihrer Folgeerkrankungen darstellen kann. Zusätzlich wird geprüft, ob eine auf Appetitstimulation und Fettaufbau zielende Therapie, z.B. mit Ghrelin oder PYY-Antagonisten, für die Behandlung von Tumorkachexie oder Magersucht eingesetzt werden kann.



## The role of gastrointestinal peptides for the regulation of the body weight: New targets for the treatment of the obesity

The aim of this project is to modify the effects of known (GLP-1, GIP, amylin) and recently discovered hormones (ghrelin, PYY(3-36)) in order to identify new therapeutic options for the treatment of obesity and its co-morbidity. The effects of the hormones on the energy balance are analyzed in animal models, and agonists or antagonists of their receptors are employed in order to modify the neuroendocrine control of appetite, energy consumption and body composition. The recently discovered gastrointestinal peptide hormone ghrelin is a crucial regulator of energy homeostasis. Expression and secretion of ghrelin mirror the energy demand of the organism. Chronic treatment with ghrelin increases food intake, decreases fat oxidation and leads to obesity. PYY(3-36) is a second recently discovered gastrointestinal hormone which reduces food intake and body fat mass through hypothalamic effects. At present, we investigate the neuronal networks of the hypothalamus that are modulated by the indicated hormones. In addition, we are trying to inhibit the effects of ghrelin with specific antibodies or receptor antagonists - and also by application of PYY(3-36) - as an option for the therapy of obesity. In addition, we will test whether a therapy with ghrelin or antagonists of PYY can stimulate appetite and increase body fat in patients with tumor cachexia or anorexia nervosa.

## Transport of nutrients: Molecular basis and hormonal regulation

After absorption, all nutrients have to permeate several cell membrane barriers between different compartments within the body in order to be utilized in target tissues. This process requires specific membrane proteins that catalyze vectorial transport of substrates across membranes.

### Abbildung 3

Ein besseres Verständnis der Signalwege, die Appetit, Energieverbrauch und -reserven (Körperfettmasse) regulieren, könnte, so hofft man, die Basis für die Entwicklung neuer Therapeutika z.B. gegen Adipositas und Diabetes Typ 2 sein. Kerngebiete im Hypothalamus und Hirnstamm erhalten aus der Peripherie Informationen zur Körperfettmasse, um den Organismus an sich ändernde Umweltbedingungen anzupassen. Die Energiehomöostase soll erhalten und letztlich auch ein einmal erreichter Körperfettmassen-"Stellwert" gehalten werden. Dabei scheint im Magen produziertes, im Blutkreislauf zirkulierendes Ghrelin gemeinsam mit den Sättigungsfaktoren Peptid YY (PYY) und Leptin dem Gehirn mitzuteilen, wann akute oder chronische Energiereserven notwendig werden oder verbraucht werden können. Im Zentralnervensystem produziertes Ghrelin hingegen scheint für die Feinmodulation der Wirkung von Hunger induzierenden Neuropeptiden (wie z.B. Agouti-Related Protein (AGRP), oder Neuropeptid Y (NPY)) und sättigungsfördernden Neuropeptiden (wie z.B. Cocain-Amphetamin regulated Transcript (CART) oder Proopiomelanocortin (POMC)) verantwortlich zu sein.

Ghrelin ist ein kürzlich entdecktes gastrointestinales Peptidhormon, das hypothalamische Steuerungssysteme über den akuten Status der Energieaufnahme informiert. Die Ghrelinexpression und -sekretion werden proportional zum Energiebedarf reguliert. Die chronische exogene Zufuhr von Ghrelin führt über eine erhöhte Nahrungsaufnahme und eine verminderte Fettoxidation zur

### Transport von Nährstoffen: Molekulare Grundlagen und hormonelle Regulation

Annette Schürmann, Hadi Al-Hasani, Andrea Scheepers, Jörg Mascher

Nährstoffe müssen nach Aufnahme in den Organismus mehrere jeweils von Zellmembranen abgetrennte Kompartimente durch-

### Figure 3:

It is hoped that a better understanding of the signaling networks that regulate appetite, energy expenditure, and energy reserves (body fat) could be the basis for development of new therapeutics to deal with obesity and type-2 diabetes, for example. From the periphery, core areas of the hypothalamus and brain stem receive information on body fat status, thus enabling the organism to adapt to changing environmental conditions. Energy homeostasis should be maintained and also, in the end, a given body-fat "setting," once it has been reached. Apparently the ghrelin that is secreted gastrically and circulates in the blood-stream, together with the satiety factors peptide YY (PYY) and leptin, informs the brain whenever acute or chronic energy reserves are required or can be used. On the other hand, the ghrelin produced in the central nervous system apparently is responsible for the fine modulation of hunger-inducing neuropeptides (e.g., agouti-related protein, AGRP) or neuropeptide Y (NPY) and satiety neuropeptides (e.g., cocain-amphetamine regulated transcript, CART, or pro-opiomelanocortin, POMC).

Glucose is an important nutrient whose supply, distribution and metabolism is crucial for whole-body energy balance. Glucose is generated mainly by cleavage of di- and polysaccharides within the small intestine. It is subsequently transported into the mucosa cell by sodium-dependent glucose transporters (SGLT). Export of glucose into the serum and uptake by liver and peripheral tissues are catalyzed by glucose transporters of the GLUT-family. The uptake of glucose into adipose tissue and muscle is controlled by insulin. Insulin induces the translocation of GLUT4 glucose transporters from intracellular compartments to the plasma membrane, resulting in an increased rate of cellular glucose uptake. Because obesity-associated insulin resistance impairs the insulin mediated glucose uptake, the Department of Pharmacology investigates the proteins that are involved in the mechanism of GLUT4 translocation.

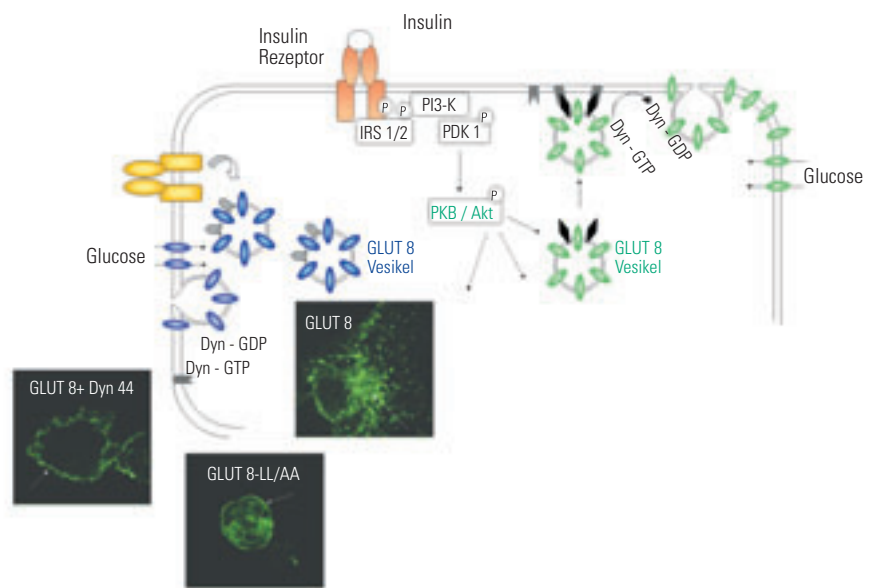
Recently, we have cloned several novel members of the GLUT family that are currently under investigation of their specific biological functions. GLUT8, a high-affinity glucose transporter ( $K_m = 2 \text{ mM}$ ) is expressed in spermatozoa as well as in insulin-sensitive tissues (differentiation-dependent in fat cells). The transporter contains an N-terminal di-leucine motif, which is responsible for retention of the protein in an intracellular compartment. Mutation of this motif to di-alanine or co-expression of a dominant-negative dynamin mutant leads to constitutive expression of GLUT8 on the cell surface. However, the physiological stimulus that induces translocation of GLUT8 is at present unknown.

GLUT11, a low-affinity glucose transporter, is expressed in heart, skeletal muscle, pancreas, kidney, and placenta. Alternative splicing of its gene (*SLC2A11*) generates three isoforms that differ in their N-terminal sequences and may have tissue-specific functions. Our objective is to study the role of GLUT8 and GLUT11 in glucose homeostasis in vivo. Therefore, we will generate mice with targeted disruption of the genes in fat and muscle, and will analyze the phenotype of these so-called knockout mutants.

**Figure 4:** Model of glucose transporter trafficking in insulin-sensitive cells. Binding of insulin to its receptor induces a signaling cascade, which finally leads to the translocation of GLUT4 vesicles to the plasma membrane. In a dynamin-dependent step, GLUT4 vesicles fuse with the membrane, thereby increasing glucose uptake. The di-leucine motif in the N-terminus of GLUT8 retains this transporter in intracellular compartments. Mutation of this motif (GLUT8-LL/AA), or co-expression (Dyn-K44A), translocates GLUT8 to the plasma membrane. The endogenous stimulus which induces translocation of GLUT8 is still not known. (IR = insulin receptor substrate; PI 3-Kinase = phospho-inositide 3-kinase; PDK1 = phospho-inositide dependent kinase; PKB/Akt = protein kinase B).

queren, um in den verschiedenen Geweben genutzt werden zu können. Hierzu ist ein gerichteter Transport durch die Membranen erforderlich, der von spezifischen Membranproteinen katalysiert wird. Ein wichtiger Nährstoff, dessen Zufuhr, Verteilung und Metabolismus die Energiebilanz des Organismus maßgeblich bestimmt, ist Glucose. Glucose entsteht hauptsächlich durch Spaltung von Di- und Polysacchariden im Dünndarm, wird durch den Natriumabhängigen Glucosetransporter (SGLT = sodium dependent glucose transporter) in die Mukozelle, anschließend durch Mitglieder der GLUT-Familie in das Serum und vom Serum in die Zellen der verschiedenen Gewebe transportiert. Die Aufnahme von Glucose in Fettgewebe und Muskel steht unter der Kontrolle von Insulin. Insulin bewirkt eine Erhöhung der Zahl von Glucosetransportern GLUT4

Mitglieder der GLUT-Familie zu klonieren; die genaue Funktion dieser Glucosetransporter wird zur Zeit weiter aufgeklärt. GLUT8 transportiert Glucose mit hoher Affinität ( $k_m = 2 \text{ mM}$ ) und wird in Spermatozoen, aber auch in insulinempfindlichen Geweben (differenzierungsabhängig in Fettzellen) exprimiert. Das Protein besitzt ein Di-Leucin-Motiv im N-Terminus, das für eine intrazelluläre Retention des Proteins verantwortlich ist. Wird dieses Motiv gegen Di-Alanin ausgetauscht oder GLUT8 mit einer dominant negativen Dynamin-Mutante coexprimiert, lässt sich GLUT8 an der Zelloberfläche nachweisen. Bislang ist allerdings der physiologische Stimulus, der eine Translokation von GLUT8 induziert, nicht bekannt. GLUT11 besitzt nur eine geringe Affinität zu Glucose und wird im Herzen und Skelettmuskel sowie in Pankreas, Niere und Plazenta



**Abbildung 4**

Modell der Bewegung von Glucosetransportern in insulinempfindlichen Zellen. Die Bindung von Insulin an den Insulinrezeptor induziert eine Signalkaskade, die schließlich u. a. die Translokation von GLUT4-Vesikeln zur Plasmamembran induziert. In einem Dynamin-abhängigen Schritt verschmelzen die GLUT4-Vesikel mit der Membran, so dass die Glucoseaufnahme ansteigt. Das Di-Leucin-Motiv im N-Terminus des GLUT8 hält diesen Transporter in intrazellulären Kompartimenten. Wird dieses Motiv mutiert (GLUT8-LL/AA), oder GLUT8 mit einer inhibitorischen Dynamin-Mutante (Dyn-K44A) co-exprimiert, lässt sich GLUT8 in der Plasmamembran nachweisen. Der endogene Stimulus, der die Translokation von GLUT8 induziert, ist noch unbekannt. (IRS = insulin receptor substrate; PI3-Kinase = phospho-inositide-3-kinase; PDK1 = phospho-inositide dependent kinase; PKB/Akt = protein kinase B).

in der Plasmamembran durch Translokation intrazellulär gespeicherter Transporterproteine; dadurch steigt die Geschwindigkeit, mit der Glucose in das Zellinnere transportiert wird, an. Bei der zusammen mit Adipositas auftretenden Insulinresistenz sind diese Mechanismen gestört. In der Abteilung Pharmakologie wird deshalb untersucht, welche Proteine die Translokation des GLUT4 katalysieren, und über welche Strukturmerkmale sie den Glucosetransporter erkennen. Kürzlich gelang es uns zudem, mehrere neue

exprimiert. Durch alternatives Spleißen des GLUT11-Gens (*SLC2A11*) entstehen drei Isoformen, die sich nur in ihrem N-Terminus unterscheiden und möglicherweise eine gewebsspezifische Rolle spielen. Ziel unserer Arbeitsgruppe ist es nun, die Rolle von GLUT8 und GLUT11 für die Glucose-Homöostase in vivo zu untersuchen. Dazu sollen die Gene der Transporter spezifisch im Muskel und im Fettgewebe der Maus ausgeschaltet und der Phänotyp dieser sog. knockout-Mutanten analysiert werden.

## Ausgewählte Publikationen Selected Publications

### Originalarbeiten

Al-Hasani, A., Kunamneni, R. K., Dawson, K., Hinck, C. S., Müller-Wieland, D., Cushman, S. W.: Roles of the N- and C-termini of GLUT4 in endocytosis. *J. Cell Sci.* 115, 131-140 (2002).

Bahrenberg, G., Behrmann, I., Barthel, A., Hekerman, P., Heinrich, P. C., Joost, H.-G., Becker, W.: Identification of the critical sequence elements in the cytoplasmic domain of leptin receptor isoforms required for janus kinase/signal transducer and activator of transcription activation by receptor heterodimers. *Mol. Endocrinol.* 16, 859-872 (2002).

Barthel, A., Kruger, K. D., Roth, R. A., Joost, H.-G.: Concentration-dependent stimulatory and inhibitory effect of troglitazone on insulin-induced fatty acid synthase expression and protein kinase B activity in 3T3-L1 adipocytes. *N-S Arch. Pharmacol.* 365, 290-295 (2002).

Barthel, A., Schmolli, D., Kruger, K. D., Roth, R. A., Joost, H.-G.: Regulation of the forkhead transcription factor FKHR (FOXO1a) by glucose starvation and AICAR, an activator of AMP-activated protein kinase. *Endocrinology* 143, 3183-3186 (2002).

Mueller, A. G., Moser, M., Kluge, R., Leder, S., Blum, M., Büttner, R., Joost, H.-G., Schürmann, A.: Embryonic lethality caused by apoptosis during gastrulation in mice lacking the gene of ARF-related protein 1 (ARFRP1). *Mol. Cell. Biol.* 22, 1488-1494 (2002).

Ortlepp, J. R., Breuer, J., Eitner, F., Kluge, K., Kluge, R., Floege, J., Hollweg, G., Hanrath, P., Joost, H.-G.: Inhibition of the renin-angiotensin system ameliorates genetically determined hyperinsulinemia. *Eur. J. Pharmacol.* 436, 145-150 (2002).

Pass, G. J., Becker, W., Kluge, R., Linnartz, K., Plum, L., Giesen, K., Joost, H.-G.: Effect of hyperinsulinemia and type 2 diabetes-like hyperglycemia on expression of hepatic cytochrome p450 and glutathione S-transferase isoforms in a New Zealand obese-derived mouse backcross population. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 302, 442-450 (2002).

Plum, L., Giesen, K., Kluge, R., Junger, E., Linnartz, K., Schürmann, A., Becker, W., Joost, H.-G.: Characterisation of the mouse diabetes susceptibility locus Nidd/SJL: islet cell destruction, interaction with the obesity QTL Nob1, and effect of dietary fat. *Diabetologia* 45, 823-830 (2002).

Schürmann, A., Axer, H., Scheepers, A., Doege, H., Joost, H.-G.: The glucose transport facilitator GLUT8 is predominantly associated with the acrosomal region of mature spermatozoa. *Cell Tissue Res.* 307, 237-242 (2002).

Schürmann, A., Koling, S., Jacobs, S., Saftig, P., Krauß, S., Wennemuth, G., Kluge, R., Joost, H.-G.: Reduced sperm count and normal fertility in male mice with targeted disruption of the ADP-ribosylation factor like (Arl4) gene. *Mol. Cell. Biol.* 22, 2761-2768 (2002).

Tschöp, M., Flora, D. B., Mayer, J. P., Heiman, M. L.: Hypophysectomy prevents ghrelin-induced adiposity and increases gastric ghrelin secretion in rats. *Obes. Res.* 10, 991-999 (2002).

Tschöp, M., Morrison, K.: Weight loss at high altitude. *Adv. Exp. Med. Biol.* 502, 237-49 (2002).

Tschöp, M., Statnick, M., Suter, T., Heiman, M. L.: Growth hormone-releasing peptide-2 (GHRP-2) increases fat mass in mice lacking neuropeptide Y (NPY): Indication for a crucial mediating role of hypothalamic Agouti-related protein (AGRP). *Endocrinology* 143, 558-568 (2002).

### Übersichtsarbeiten

Joost, H.-G., Bell, G. I., Best, J. D., Birnbaum, M. J., Charron, M. J., Chen, Y. T., Doege, H., James, D. E., Lodish, H. F., Moley, K. H., Moley, J. F., Mueckler, M., Rogers, S., Schürmann, A., Seino, S., Thorens, B.: Nomenclature of the GLUT/SLC2A family of sugar/polyol transport facilitators. *Am. J. Physiol.: Endocrinol. Metab.* 282, E974-E976 (2002).

### Buchbeiträge

Joost, H.-G.: Metabolisches Syndrom und Typ-2-Diabetes: Interaktion von Genen und Lebensbedingungen. In: Einfluss von Genomprojekt und Pharmacogenetics auf die medizinische Entwicklung. Eds. A. Rosenthal, U. Wahn, und H. Wolf. Schattauer Verlag (Stuttgart, New York), pp. 69-87 (2002).

## Drittmittelprojekte External Funding

DFG-Forschergruppe 441  
Mechanismen der normalen und gestörten Insulinwirkung  
(Sprecher: Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost)  
Teilprojekt 1: Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes: Identifikation von Suszeptibilitätsgenen in einem Mausmodell  
Laufzeit: 07/01-06/04  
Teilprojekt 2: Rolle der Glucosetransporter GLUT8 und GLUT1 im normalen und gestörten Glucosestoffwechsel  
Finanzierung: DFG  
Laufzeit: 07/01-06/04

Longterm effects of ghrelin and its receptor agonists on energy balance  
Finanzierung: Eli Lilly International Foundation  
Laufzeit: 07/02-06/03

Rolle der Ras-ähnlichen GTPase ARF-related protein 1 (ARFRP1) in Differenzierung und Morphogenese  
Finanzierung: DFG  
Laufzeit: 01/03-12/04

Spiegelmers and obesity  
Finanzierung: NOXXON Pharma AG  
Laufzeit: 11/02-10/03

*Die Abteilung Pharmakologie wurde mit Dienstantritt des wissenschaftlichen Direktors im Januar 2002 zunächst als Arbeitsgruppe eingerichtet. Die hier dargestellten Forschungsergebnisse stammen deshalb z.T. noch aus der Arbeit der Gruppe am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der RWTH Aachen. M. Tschöp schloss sich der Abteilung im Mai 2002 an; die von ihm beschriebenen Ergebnisse sind deshalb z.T. am Forschungszentrum der Fa. Eli Lilly in Indianapolis, USA, entstanden.*

*The Department of Pharmacology was established with the inauguration of Prof. Joost as scientific director in January 2002. Therefore, parts of the results presented here were obtained at the previous affiliation of the group (Institute of Pharmacology and Toxicology, RWTH Aachen). M. Tschöp joined the department in May 2002; the results described by him were in part obtained at the research center of Eli Lilly, Indianapolis, USA.*

## Laboratory of Physiology of Energy Metabolism

Head: Prof. Dr. Susanne Klaus

The macronutrients in food, i.e., proteins, carbohydrates, and fats, serve as fuel and as organic building material for humans. The energy metabolism of humans, i.e., the integration of energy provision and energy expenditure, is of great importance for body composition. In adipose tissue, the adipocytes store energy and, moreover, play a regulative role. In the Laboratory of Physiology of Energy Metabolism, research centers around the mechanisms for regulation of body weight and body composition. The etiopathogenesis of obesity within the framework of the metabolic syndrome is to be unveiled at molecular, cellular, and biochemical levels, including the role played by macronutrients. Basic research into the development of obesity will be carried out by investigations into the development and function of adipose tissue.

### Impact of perinatal nutrition on energy metabolism and body composition in later life

Nutrition during critical phases of early development influences the development of different organ systems and can therefore lead to permanent metabolic changes in later life. There is some evidence that this so-called "nutritional programming" during fetal development might be involved in the increasing prevalence of obesity in all industrial countries. Interestingly, both malnutrition of the mother during the last trimester of pregnancy, and increased nutrient intake of the offspring during nursing can increase the risk of obesity. There is evidence that, in particular, a large and rapid increase in body weight during the early postnatal period is a risk factor for developing obesity. In order to elucidate possible physiological mechanisms, we studied the impact of perinatal nutrition on development of energy metabolism and body composition in two different rat models. As outlined below, our data provide evidence that the maternal diet in the prenatal period, specifically a high-protein diet during gestation, rather than the postnatal diet of the offspring while being nursed, leads to development of obesity in later life.

In the rat model, it has been shown that nutritional programming by low maternal protein intake during gestation results in intra-uterine growth restriction followed by metabolic disturbances, which in turn can lead to hypertension and insulin resistance. Although there is some epidemiological evidence that high protein intake during early development might also influence the later development of adiposity, direct experimental evidence is still lacking. Therefore, we examined whether high dietary-protein exposure in utero and/or during postnatal life affects adiposity (Fig. 1).

Figure 1: Measurement of energy expenditure in mice using indirect calorimetry

Proteine, Kohlenhydrate und Fette, die Makronährstoffe aus der Nahrung, sind für den Menschen Brennstoff und organischer Baustoff. Der Energiestoffwechsel des Menschen, d. h. die Integration von Energiezufuhr und Energieverbrauch, ist für die Körperzusammensetzung von größter Bedeutung. Adipozyten im Fettgewebe dienen als Energiespeicher, haben darüber hinaus aber auch regulierende Funktionen.

In der Arbeitsgruppe Physiologie des Energiestoffwechsels liegt der Forschungsschwerpunkt auf Regulationsmechanismen für das Körpergewicht und die Körperzusammensetzung. Auf molekularer, zellulärer und biochemischer Ebene soll die Ätiopathogenese von Adipositas im Rahmen des Metabolischen Syndroms aufgeklärt werden und die Rolle der Makronährstoffe dabei. Durch Untersuchungen zur Entwicklung und Funktion von Fettgewebe und Fettzellen wird Grundlagenforschung zur Entstehung von Adipositas betrieben.

beeinflussen. Man nimmt an, dass dieser "Programmierungs-Effekt" auch eine Rolle bei der weltweit zunehmenden Adipositas spielt. So kann z.B. sowohl eine Mangelernährung der Mutter während des letzten Schwangerschafts-Drittels als auch eine erhöhte Nahrungszufuhr während der Stillperiode das Adipositas-Risiko der Nachkommen erhöhen. Vieles deutet darauf hin, dass insbesondere eine sehr schnelle und große Gewichtszunahme in den ersten Monaten nach der Geburt kritisch ist. Um die zugrunde liegenden physiologischen Regulationsmechanismen zu entschlüsseln, haben wir an zwei verschiedenen Rattenmodellen den Einfluss der perinatalen Ernährung auf die Entwicklung des Energiestoffwechsels im späteren Leben untersucht. Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass die pränatale Ernährung eine größere Rolle spielt als die postnatale Ernährung, und dass speziell eine Hochprotein-Diät während der Gestation das Adipositas-Risiko erhöhen kann.



Abbildung 1  
Messung des Energieumsatzes von Mäusen in vivo durch indirekte Kalorimetrie.

### Einfluss perinataler Ernährung auf Adipositas und Energiestoffwechsel

Maren Daenzer, Cornelia C. Metges, Sylvia Ortman, Klaus-Jürgen Petzke, Petra Wiedmer

Die Ernährung während kritischer Entwicklungsphasen z. B. der Fötalentwicklung oder auch der frühen postnatalen Entwicklung hat einen Einfluss auf die Entwicklung verschiedener Organsysteme und kann so dauerhaft den Stoffwechsel im späteren Leben

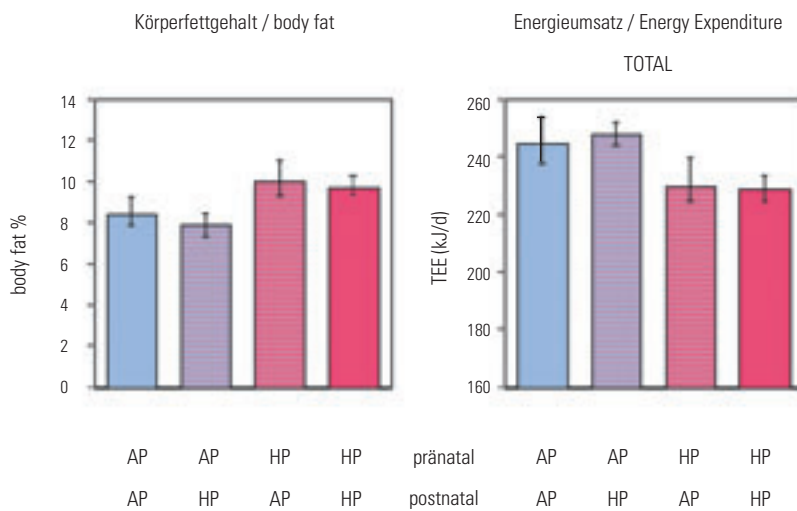
Ein etabliertes Tiermodell des "Nutritional Programming" ist eine maternale Proteinrestriktion während der Gestation, die in einer intrauterinen Wachstumsretardierung resultiert. Nachfolgend entwickeln sich im erwachsenen Tier metabolische Störungen wie Bluthochdruck und Insulinresistenz. Obwohl es epidemiologische Hinweise darauf gibt, dass auch die erhöhte Zufuhr von Protein im frühen Leben spätere Auswirkung auf z.B. Fettakkumulation hat, gibt es kaum experimentelle

Befunde dazu. Wir haben daher am Rattenmodell untersucht, welche metabolischen Auswirkungen eine erhöhte Proteinzufuhr prä- und/oder postnatal hat. (Abb.1) Weibliche Ratten wurden verpaart und entweder mit Hochprotein-Diät (HP = 40 % Protein) oder Normalprotein (AP = 20 % Protein) gefüttert. Die männlichen Nachkommen wurden nach der Geburt von Müttern gesäugt, die entweder HP- oder AP-Diät erhielten. Daraus resultierten 4 Gruppen mit unterschiedlicher Diät prä- und postnatal (AP-AP, AP-HP, HP-AP, HP-HP). Die postnatalen Diäten wurden bis zur 9. Woche beibehalten. Überraschenderweise hatten die Jungen von HP-Müttern ein reduziertes Geburtsgewicht. HP-AP-Ratten zeigten von der 3. bis 6. Woche ein erhöhtes Körpergewicht, im Gegensatz zu HP-HP-Tieren. Die pränatale HP-Exposition resultierte zudem in einem erhöhten Körperfettgehalt und erniedrigtem Energieumsatz (Abb.2).

sein könnte. Männliche neugeborene Ratten wurden dazu in Würfeln von 2 (SL) oder 12 (NL) Tieren aufgezogen. Nach dem Absetzen wurde im Alter von 5, 8 und 12 Wochen die Körperzusammensetzung und der Energieumsatz (TEE) gemessen. SL-Ratten hatten ein erhöhtes Gewicht von Woche 2-5 und wiederum von Woche 10-12. Fettfreie Körpermasse und Körperfett, sowie TEE waren höher bei den SL-Tieren im Alter von 5 Wochen. TEE wurde in allen Altersgruppen bei SL und NL durch dieselbe lineare Korrelation beschrieben. Im Alter von 12 Wochen waren bis auf einen leicht erhöhten Fettgehalt bei SL keine Unterschiede zwischen SL- und NL-Tieren mehr zu finden. Daraus schließen wir, dass die postnatale Überernährung keinen langfristigen Einfluss auf den Energiestoffwechsel im späteren Leben hat, während pränatale Ernährungseinflüsse offensichtlich längerfristige Auswirkungen haben können.

Two groups of female rats were mated and pair-fed isocaloric high-protein (40% protein; HP) or adequate-protein (20% protein; AP) diets throughout pregnancy. The male offspring were suckled by foster mothers pair-fed HP or AP diets, resulting in four prenatal/postnatal groups (AP-AP, AP-HP, HP-AP, HP-HP). Subsequently, they were pair-fed the same diets their nurses had received during lactation, until 9 weeks of age. Surprisingly, HP offspring had a reduced birth weight. HP-AP rats had a higher body weight than AP-AP controls in weeks 3 to 6, in contrast to HP-HP. Prenatal HP exposure resulted in an increased total and relative fat mass and decreased energy expenditure in week 9 (Fig.2). Postnatal HP alone had no significant effect on body composition or metabolic rate. Therefore, prenatal exposure to a high protein level seems to reprogram body weight and energy homeostasis.

Early postnatal over-nutrition (PNO) induced by restricting litter size in rats leads to increased body weight and body fat in later life. PNO rats are used as an animal model of moderate obesity and early hyperinsulinemia. We investigated if the increased adiposity could be due to decreased energy expenditure. Male new-born rats were raised in litters of two (SL) or twelve pups (NL), weaned at 4 weeks of age and subsequently fed ad libitum. Body weight (BW) was recorded continuously until 12 weeks of age. Daily energy intake, total daily energy expenditure (TEE), and body composition were measured at 5, 8, and 12 weeks of age. SL rats displayed increased BW compared to NL rats from week 2 to 5 and again from week 10 to 12. Lean body mass, body fat and protein content, and TEE were increased in SL rats at week 5. The same linear correlation described the relationship between BW and TEE in NL and SL rats. At week 8 and 12 no differences in energy metabolism could be found, but total fat content was higher in SL rats at week 12. Energy balance, i. e., assimilated energy minus energy expenditure, did not differ in SL and NL at any time measured. We conclude that although PNO rats display increased adiposity in early life, energy metabolism in later life does not seem to be affected significantly.



**Abbildung 2** Körperfettgehalt und Energieumsatz von 8 Wochen alten Ratten, die prä- und postnatal Hochprotein (HP) oder Normalprotein (AP) erhielten. Eine pränatale Hochproteinzufuhr führt zu einem erhöhten Körperfettanteil und erniedrigtem Energieverbrauch im Alter von 8 Wochen.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine pränatale Hochprotein-Zufuhr lang andauernde Auswirkungen auf das Körpergewicht und die Energiehomöostase hat. Postnatale Überernährung (PNO), verursacht durch Reduktion der Wurfgröße während der Laktation, führt zu erhöhtem Gewicht und Körperfett. PNO-Ratten dienen als Modell für moderates Übergewicht und Hyperinsulinämie. Wir untersuchten, ob ein verringerter Energieumsatz Ursache des Übergewichts

### Fettgewebe als thermogenes und endokrines Organ: Analyse von Genexpression und Fettgewebe-Stoffwechsel in vivo

Frauke Adams, Stéphane Boeuf, Michael Boschmann

In den letzten Jahren hat sich herausgestellt, dass Fettgewebe nicht nur ein passiver Energiespeicher ist, sondern ein Organ, das eine aktive Rolle im Energiestoffwechsel spielt,

### Adipose tissue as thermogenic and endocrine organ: analysis of gene expression and adipose tissue metabolism in vivo

White adipose tissue (WAT) is not only a passive energy-storing organ, but it contributes actively to regulation of energy metabolism by secreting numerous hormones and signal molecules. In addition to the well-known WAT, there is a second

**Figure 2:** Body fat and energy expenditure in 8-week-old rats exposed to different levels of dietary protein prenatally or postnatally. Data are means ( SEM) Prenatal high-protein (HP) exposure resulted in increased proportion of body fat and decreased energy expenditure at 8 weeks of age. AP, normal protein level

type of adipose tissue, i.e., brown adipose tissue (BAT), which is the source of thermogenesis in small and in newborn mammals. Its function is therefore the opposite of WAT, i.e., energy expenditure instead of energy storage. Using different methodological approaches, we examined the impact of age on gene expression and tried to identify genes involved in the differentiation of brown preadipocytes.

The adipose tissue renin-angiotensin system has been implicated in the regulation of adipocyte growth and differentiation. We studied the influence of age, body weight, body fat and its anatomical localization, and diet on the expression of angiotensinogen (AGT) and angiotensin II type-1 (AT1) receptor genes in epididymal WAT and liver of control and PNO-rats (see above). Gene expression was measured at the age of 4, 8, and 12 weeks by real-time RT-PCR. At the age of 12 weeks, AGT expression was significantly decreased in both tissues. Furthermore, expression of the AT1-receptor gene was significantly decreased in liver but not in WAT at 12 weeks of age. Postnatal overfeeding had no effect. At the age of 24 weeks, AGT expression was significantly greater in epididymal than in subcutaneous adipose tissue, whereas no site-specific differences could be found for the AT1-receptor. We conclude that age and depot-specific mechanisms are of more importance for the expression of AGT and AT1-receptor genes during the first 12 weeks of age than a short period of overfeeding.

BAT thermogenesis can prevent the development of obesity in certain rodent models; however, the adult human has only very little BAT. The recruitment of BAT precursor cells could therefore be envisaged as a means of fighting human obesity. So far, not much is known about the genetic control of the differentiation and determination of brown preadipocytes (pAds). We therefore tried to identify differentially expressed genes involved in brown and white pAd development. This study was performed in collaboration with the groups of Dr. Martin Klingenspor (Marburg) and Dr. Jaap Keijer (Wageningen, Holland). Using representational difference analysis and cDNA microarray screening, we identified a total of twelve genes showing differential expression in white and brown pAds (Table 1). The expression profile of these genes was analyzed during preadipocyte differentiation, and in vivo in comparison to reference genes. The expression pattern in vivo proved somewhat different from the expression pattern during cell culture. We conclude that brown and white pAds can be distinguished by expression levels of several genes, confirming their differential determination. A possible role of these genes in functional differentiation of brown and white adipocytes needs to be established (Tab.1)

**Table 1:** Differently expressed genes in white and brown preadipocytes. The differences are only in the expression of a few genes with structural, metabolic, or unknown functions

z.B. durch die Bildung von einer Reihe von Hormonen und Signalstoffen. Zudem existiert neben dem bekannten weißen Fettgewebe (WAT) auch das braune Fettgewebe (BAT), das bei Kleinsäufern und Neugeborenen Ort der Wärmebildung ist, d.h. im Gegensatz zum WAT nicht Energie speichert, sondern Energie verbraucht. Mit verschiedenen methodischen Ansätzen untersuchten wir die altersabhängige Genexpression im WAT und versuchten Gene zu identifizieren, die bei der Differenzierung von braunen Adipocyten eine Rolle spielen. Das Renin-Angiotensin-System im WAT ist involviert in Adipocyten-Wachstum und Differenzierung. Wir haben den Einfluss von Alter, Gewicht, Körperfett, und Diät auf die Genexpression von Angiotensinogen (AGT) und Angiotensin-II-type-1-Rezeptor (AT1-R) im epididymalen WAT und der Leber von normalen und PNO-Ratten (s. o.) im Alter von 4, 8 und 12 Wochen untersucht.

Thermogenese im braunen Fettgewebe kann die Entwicklung von Übergewicht bei verschiedenen Tiermodellen verhindern. Der erwachsene Mensch hat nur wenig BAT übrig, eine mögliche Neurekrutierung könnte jedoch ein Weg sein, um Übergewicht zu bekämpfen. Bisher ist wenig bekannt über die genetische Kontrolle der Differenzierung und Determinierung von braunen Fettzellen. Wir hatten daher zum Ziel, Gene zu identifizieren, die dabei relevant sind. Dieses Projekt wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Martin Klingenspor (Marburg) und Dr. Jaap Keijer (Wageningen, Holland) durchgeführt. Durch die Anwendung der Methode der "representational difference analysis" kombiniert mit einem Screening auf cDNA-Microarrays konnten wir insgesamt 12 Gene identifizieren, die unterschiedlich in weißen und braunen Präadipocyten exprimiert werden (Tab. 1).

Function	expression W/B	gene
complement	8.9	complement factor B
	3.5	complement component C3
	3.9	complement component C2
metabolism	3.9	delta-6-fatty-acid desaturase (FADS6)
Function	expression B/W	gene
structure	2.9	fibronectin
	2.3	alpha actinin 4 (Actn4)
	2.1	metagridin (MDC15 gene)
transcription	2.4	Necdin
	2.2	Vigilin
	2.1	small nuclear ribonucleoprotein polypeptide A (Snrpa)
unknown	2.2	hepatocellular carcinoma associated protein (HCAP)
	2.0	new (B26)

Genes with a higher expression in white (expression W/B) and brown preadipocytes (expression B/W), respectively.

**Tabelle 1** Unterschiedliche Genexpression in weissen und braunen Präadipozyten: Sie unterscheiden sich nur in der Expression von wenigen Genen, die strukturelle, metabolische oder noch weitgehend unbekannte Funktion haben.

Mit 12 Wochen war die AGT-Expression in beiden Geweben verringert. Die AT1-R-Expression mit 12 Wochen war nur in der Leber verringert. Postnatale Überernährung hatte keinerlei Einfluss. Im Alter von 24 Wochen war die AGT-Expression größer im epididymalen als im subkutanen WAT. Wir schließen daraus, dass Alter und Lokalisation des Fettgewebes eine größere Rolle für die Genexpression von AGT und AT1-R spielen als eine kurze Periode der Überernährung.

Zusätzlich analysierten wir die Expressionsprofile dieser Gene während der Adipocyten-Differenzierung im Vergleich zur Expression im weißen und braunen Fettgewebe in vivo. Die Expressionsmuster in Zellkulturen waren leicht verschieden von denen in vivo. Es zeigte sich, dass weiße und braune Preadipocyten durch die Expression bestimmter Gene unterschieden werden können, wobei die exakte Rolle dieser Gene im Fettgewebe noch etabliert werden muss (Tab.1).

### Norepinephrin-Transporter-Funktion und autonome Stoffwechselkontrolle

Genetische Variabilität und zahlreiche Medikamente beeinflussen die Funktion des Noradrenalin-Transporters (NET), wobei die Konsequenzen einer NET-Inhibierung für den Metabolismus noch weitgehend unverstanden sind. Wir haben einen Versuch an 15 Gesunden durchgeführt, die entweder 8 mg des selektiven NET-Inhibitors Reboxetin oder Placebo erhielten. Energieumsatz (EE) und Substratoxidation (SO) wurden vor und während intravenöser Isoproterenol(Iso)-Infusion mittels indirekter Kalorimetrie bestimmt. Der WAT-Metabolismus wurde durch eine Microdialyse vor und während lokaler Isoproterenol-Perfusion untersucht. Basaler EE und SO unter Reboxetin und Placebo unterschieden sich nicht.

Bei 1  $\mu\text{g}/\text{min}$  Iso war der EE in Männern und Frauen sowohl unter Reboxetin als auch mit Placebo erhöht. Die Kohlenhydratoxidation war unter Reboxetin erhöht. Basaler und Iso-stimulierter Blutfluss im Fettgewebe war unter Reboxetin etwa 2fach erhöht. Zudem war der Iso-stimulierte Glucosestoffwechsel und die Lipidmobilisation unter Reboxetin konsistent erhöht.

Wir schließen daraus, dass eine akute NET-Inhibierung die Glucoseaufnahme und -oxidation im Fettgewebe erhöht. Während die Fettmobilisation erhöht wird, ist die  $\beta$ -adrenerg stimulierte Lipid-oxidation erniedrigt. Dieser Effekt kann nicht durch erhöhte systemische oder lokale Noradrenalin-Konzentrationen erklärt werden, sondern wahrscheinlich durch eine Sensitivierung des Fettgewebes gegenüber  $\beta$ -adrenerger Stimulation.



### Norepinephrine transporter function and autonomic control of metabolism

Genetic variability, numerous medications, and some illicit drugs influence norepinephrine transporter (NET) function; however, the metabolic consequences of NET inhibition are poorly understood. We performed a randomized, double-blind, cross-over trial in 15 healthy subjects who ingested 8 mg of the selective NET inhibitor reboxetine or placebo (Fig.3). Energy expenditure (EE) and substrate oxidation rates (SO) were determined by indirect calorimetry before and during intravenous infusion of isoproterenol (iso). Adipose tissue metabolism was studied by microdialysis before and during local isoperfusion. At rest, EE and SO did not differ between reboxetine and placebo treatment. At 1  $\mu\text{g}/\text{min}$  iso, EE was significantly increased in men (+15%) and women (+20%) with both reboxetine and placebo treatment. However, carbohydrate oxidation rate was significantly higher with reboxetine only. Baseline and iso-stimulated adipose tissue blood flow was increased approximately 2-fold with reboxetine. Furthermore, glucose supply and metabolism as well as lipid mobilization were consistently stimulated in adipose tissue under reboxetine compared to placebo. We conclude that acute NET inhibition increases glucose uptake and metabolism in adipose tissue. While lipid mobilization is increased, overall lipid oxidation is decreased during beta-adrenergic stimulation. This effect cannot be explained by increased systemic or adipose tissue norepinephrine concentrations. Instead, NET inhibition may sensitize adipose tissue to beta-adrenergic stimulation.

**Abbildung 3**  
Energieumsatzmessung am Menschen

**Figure 3:**  
Measurement of energy expenditure in humans.

## Drittmittelprojekte External Funding

**Titel:** Einfluss einer Hochproteindiät unterschiedlicher Proteinqualität während der Schwangerschaft auf die Entwicklung der Föten - Untersuchungen am Rattenmodell  
**Finanzierung:** Institut Danone für Ernährung  
**Laufzeit:** 2/02-1/04

**Titel:** Analytische Bearbeitung von Mikrodialyse-Proben  
**Finanzierung:** Mediport Biotechnik  
**Laufzeit:** 2002

**Titel:** Pharmakogenetik und Physiologie des beta-2 Rezeptors beim Menschen  
**Finanzierung:** DFG  
**Laufzeit:** 01/01-12/02

**Titel:** Mikrobielle Lysinsynthese und -absorption im monogastrischen Tiermodell (Schwein)  
**Finanzierung:** DFG  
**Laufzeit:** 8/98-10/01

**Titel:** Stabilisotopenmessungen - Aminosäurekatabolismus und Fibrinogensynthese bei Insulinresistenz der Leber - Effekte nichtveresterter Fettsäuren"  
**Finanzierung:** DFG  
**Laufzeit:** 01/01-12/01

**Titel:** Molekulare Grundlagen zur funktionellen Differenzierung brauner und weißer Adipocyten  
**Finanzierung:** DFG  
**Laufzeit:** 04/00-06/02

**Titel:** Short-term Bedrest Study, Integrative Physiology  
**Finanzierung:** BMBF  
**Laufzeit:** 01/00-06/03

**Titel:** Bestimmung von Proteinverdaulichkeit und Proteinanteil energiereicher Diät-Nahrung  
**Finanzierung:** Almased  
**Laufzeit:** 09/00-05/01

**Titel:** Wirkung potentieller Anorektika auf Parameter des Energiehaushaltes bei der Ratte  
**Finanzierung:** Aventis  
**Laufzeit:** 06/99-08/01

## Ausgewählte Publikationen Selected Publications

### Originalarbeiten/Original Papers

Adams, F., Wiedmer, P., Gorzelniak K., Engeli, S., Klaus S., Boschmann M.: Age-related changes of renin-angiotensin system genes in white adipose tissue of rats. *Horm. Metab. Res.* 34, 716-720 (2002).

Backes, G., Hennig, U., Petzke, K. J., Elsner, A., Junghans, P., Nürnberg, G., Metges, C. C.: Contribution of intestinal microbial lysine to lysine homeostasis is reduced in minipigs fed a wheat gluten-based diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 1317-1325 (2002).

Boeuf, S., Keijer, J., Franssen-van Hal, N. L. W., Klaus, S.: Individual variation of adipose gene expression and identification of covariated genes by cDNA microarrays. *Physiol. Genomics* 11, 31-36 (2002).

Boeuf, S., Klingenspor, M., van Hal, N. L. W., Schneider, T., Keijer, J., Klaus, S.: Differential gene expression in white and brown preadipocytes. *Physiol. Genomics* 7, 15-25 (2001).

Boschmann, M., Adams, F., Klaus, S.: In situ metabolic and hemodynamic response to dexfenfluramine in white adipose tissue of rats. *Ann. Nutr. Metab.* 45, 24-29 (2001).

Boschmann, M., Jordan, J., Schmidt, S., Adams, F., Luft, F. C., Klaus, S.: Gender-specific response to interstitial angiotensin II in human white adipose tissue. *Horm. Metab. Res.* 34, 726-730 (2002).

Boschmann, M., Krupp, G., Luft, F. C., Klaus, S., Jordan, J.: In vivo response to alpha-1 adrenoreceptor stimulation in human white adipose tissue. *Obes. Res.* 10, 555-558 (2002).

Boschmann, M., Schroeder, C., Christensen, N. J., Tank, J., Krupp, G., Biaggioni, I., Klaus, S., Sharma, A. M., Luft, F. C., Jordan, J.: Norepinephrine transporter function and autonomic control of metabolism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 5130-5137 (2002).

Daenzer, M., Ortmann, S., Klaus, S., Metges, C. C.: Prenatal high protein exposure decreases energy expenditure and increases adiposity in young rats. *J. Nutr.* 132, 142-144 (2002).

Daenzer, M., Petzke, K. J., Bequette, B. J., Metges, C. C.: Whole-body nitrogen and splanchnic amino acid metabolism differ in rats fed mixed diets containing casein or its corresponding amino acid mixture. *J. Nutr.* 131, 1965-1972 (2001).

Gaudichon, C., Bos, C., Morens, C., Petzke, K. J., Mariotti, F., Everwand, J., Benamouzig, R., Daré, S., Tomé, D., Metges, C. C.: Ileal losses of nitrogen and amino acids in humans and their importance to the assessment of amino acid requirements. *Gastroenterology* 123, 50-59 (2002).

Klaus, S., Seivert, A., Boeuf, S.: Effect of the beta-3-adrenergic agonist CI316,243 on functional differentiation of white and brown adipocytes in primary cell culture. *Biochim. Biophys. Acta* 1539, 85-92 (2001).

Kunz, I., Schorr, U., Rommeling, K., Klaus, S., Sharma, A. M.: Habitual fat intake and basal fat oxidation in obese and non-obese Caucasians. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 26, 150-156 (2002).

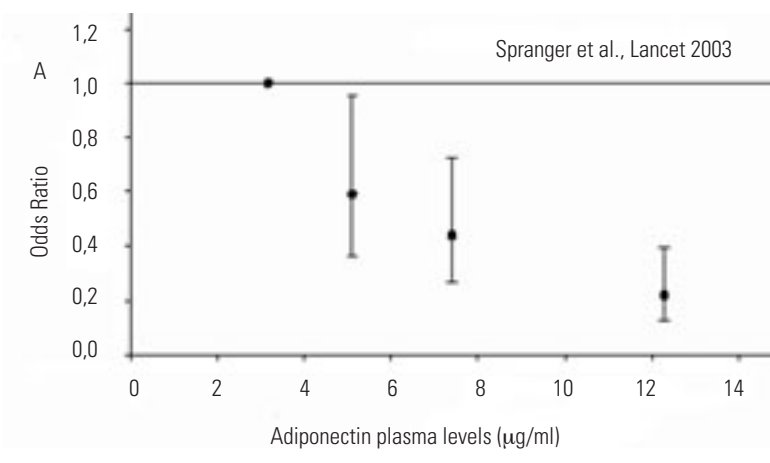
Metges, C. C., Daenzer, M., Petzke, K. J., Elsner, A.: Low abundance plasma and urinary <sup>15</sup>N urea enrichments analyzed by gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry. *J. Mass. Spectrom.* 37, 489-494 (2002).

Wiedmer, P., Ortmann, S., Klaus, S.: Energy metabolism of young rats after early postnatal overnutrition. *Br. J. Nutr.* 88, 301-306 (2002).



Die Abteilung Klinische Ernährung (KLE) befasst sich mit der Rolle nahrungsabhängiger Komponenten in der Pathogenese der häufigsten Zivilisationskrankheiten. Genetisch programmiert scheint z.B. Übergewicht die Konstellation des Metabolischen Syndroms (MESY) zu erzeugen. Dessen Komponenten beschreiben einen häufigen Cluster von Risikokomponenten, die die Grundlage für Atherosklerose, Typ-2-Diabetes und zumindest einige Krebsformen bilden. Nach der WHO-Definition zählen dazu: gestörter Zuckerstoffwechsel, zentrale Adipositas, Dyslipidämie mit niedrigem HDL-Cholesterin und erhöhten Triglyceriden, Hypertonie, Mikroalbuminurie und Fibrinolysestörung. Die Aufklärung der Mechanismen des Metabolischen Syndroms bietet den Schlüssel für gezielte Präventionsstrategien und steht deshalb im Fokus unserer Studien.

auch antiatherogene Eigenschaften zu besitzen. In Kooperation mit der Abteilung Epidemiologie wurde die Bedeutung des Adiponectins prospektiv in der EPIC-Studie als Vorhersageparameter für das Neuaufreten eines Diabetes mellitus untersucht. Es zeigte sich, dass Adiponectin ein starker Schutzfaktor gegen den Typ-2-Diabetes ist. Wir suchen nach Strategien, Adiponectin zu erhöhen und verwenden es als Biomarker. Tatsächlich zeigt sich, dass Adiponectin durch Insulin gesenkt wird. Dies konnten wir durch Insulininfusionen bei konstantem Blutzucker direkt nachweisen. Dagegen hatten Fettinfusionen, die einen starken Anstieg freier Fettsäuren bedingen, keinen Einfluss. Bei Menschen mit hohen Insulinspiegeln infolge einer Insulinresistenz sinken die Adiponectinspiegel, wie dies auch bei Typ-2-Diabetes beobachtet wird.



nach Adjustierung für Alter und Geschlecht

## Abbildung 1

Adiponectin schützt vor Typ-2-Diabetes: je höher die Adiponectinspiegel sind, desto geringer ist das Risiko für die Entwicklung eines Typ-2-Diabetes - Daten aus der prospektiven EPIC-Potsdam-Studie

## Bio- und Genmarker für das Metabolische Syndrom

Matthias Möhlig, Joachim Spranger, Martin Osterhoff

Fettgewebe reguliert über Produkte wie freie Fettsäuren und Botenstoffe den Stoffwechsel. Ein neu beschriebener Botenstoff, der ausschließlich aus weißem Fett stammt, ist das Adiponectin. Es scheint die Insulinwirkung in der Leber und im Muskel zu regulieren und

Eine Gewichtsabnahme führt dagegen zu einem Anstieg des Adiponectins, was wir auch bei massiv übergewichtigen Patienten, die durch Einsatz eines Magenbandes erheblich an Gewicht abnahmen, sehen konnten (in Kooperation mit Prof. Scherthaner, Wien). Gegenwärtig untersuchen wir die genauere Wirkung von nahrungsinduziertem Insulinanstieg auf die Adiponectinspiegel bei 30 Patienten mit frühem Typ-2-Diabetes. Nahrung, die einen geringeren Insulinanstieg

## Department of Clinical Nutrition

Head: Prof. Dr. Andreas F. H. Pfeiffer

The Department of Clinical Nutrition investigates the role of nutrient-dependent factors in the pathogenesis of major diseases of industrialized countries. Obesity appears to be a central constellation inducing the components of the metabolic syndrome, which includes important genetic effects. The metabolic syndrome describes the frequent clustering of the risk components which provide the common soil for atherosclerosis, type-2 diabetes and at least several types of cancer. The metabolic syndrome, as defined by the WHO (Zimmet & Alberti, 1998), includes the following components: disturbed glucose metabolism, central obesity, dyslipidemia with low HDL-cholesterol and raised triglycerides, hypertension, microalbuminuria, and disturbed fibrinolysis. A better understanding of the mechanisms eliciting the metabolic syndrome will offer a key for targeted strategies of prevention. The focus of our studies is therefore an understanding of these mechanisms.

## Genetic and biological markers of the metabolic syndrome

Adipose tissue appears to regulate metabolism by releasing free fatty acids and certain signaling molecules. Adiponectin represents such a signal, which is exclusively produced by white fat. It appears to regulate insulin action in liver and muscle and, additionally, it has antiatherogenic properties. In cooperation with the Department of Epidemiology, we performed a prospective nested case-control study within the EPIC-Study investigating the predictive value of adiponectin for the risk of type-2 diabetes. Indeed, adiponectin turned out to be a strong protective factor against type-2 diabetes. We are currently searching for strategies to increase adiponectin, which is used as a biomarker. These investigations showed that adiponectin is lowered by insulin but not by fatty acids. This was demonstrated by hyperinsulinaemic euglycemic clamps in the presence or absence of additional infusion of fat. This implies that elevated levels of insulin as observed in the metabolic syndrome will lower the levels of adiponectin, which is indeed observed in type-2 diabetes. Loss of weight led to a marked increase in adiponectin in morbidly obese patients that were treated by gastric banding to lower their body mass index by approximately 15 points starting with a BMI of 50 (a study in cooperation with Prof. Scherthaner, Vienna). Currently we are investigating the effects of postprandial rises in insulin on adiponectin in patients with early type-2 diabetes. Foods with a lower glycemic index might be favorable by avoiding extensive suppression of adiponectin due to a reduced release of insulin.

Figure 1 Adiponectin protects from type-2 diabetes: the higher the level of adiponectin, the lower the risk of developing type-2 diabetes -- Data from the prospective EPIC-Potsdam Study

The role of genetic variants as represented by single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in predicting the risk of obesity, type-2 diabetes, and other diseases represents another focus of our interests. Preliminary results show that a specific haplotype within the adiponectin promoter affects circulating levels of adiponectin and may thereby have a strong effect on the risk of diabetes as modified by obesity.

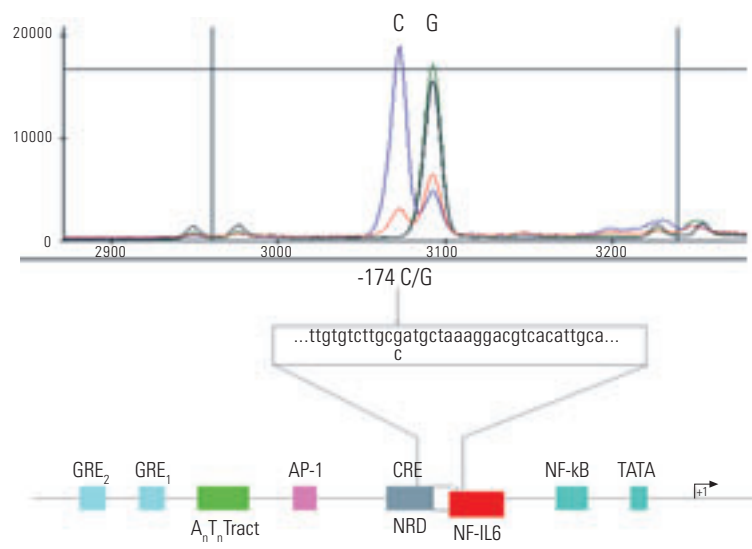
Fat cells also secrete substances which increase the risk of type-2 diabetes. A hypothesis arousing intensive interest is that a subclinical inflammation increases the risk of type-2 diabetes. Markers of inflammation such as C-reactive protein (CRP) are known to be elevated prior to development of type-2 diabetes. This may be triggered by an increased expression of pro-inflammatory cytokines and by reduced expression of anti-inflammatory cytokines. In the EPIC study, we observed that the combined elevation of interleukins IL-1 $\beta$  and IL-6 were most valid in predicting the risk of type-2 diabetes. This risk is also linked to genetic variants, which we are currently investigating (Fig.1). As described by others, we also observed that TNF- $\alpha$  (tumor-necrosis factor- $\alpha$ ) is elevated in obese subjects and may provide a link between obesity and insulin resistance. However, in contrast to IL-1 $\beta$  and IL-6, TNF- $\alpha$  did not exert an independent effect on the risk of type-2 diabetes.

Ghrelin is a novel neuroendocrine appetite-regulating factor that is primarily secreted by gastric cells. Together with M. Tschöp, Department of Pharmacology, we investigated the role of macronutrients in modulating ghrelin levels. In our first investigations, the postprandial decrease in ghrelin was primarily influenced by the increase in insulin rather than by free fatty acids. The connection between glucose absorption and insulin increase is the subject of current investigations.

Molecules within the vascular wall that are regulated by nutrients appear to represent a link between nutrition and atherosclerosis. It is known that proteolytic systems (plasminogen activator system) and adhesion molecules play a role in this regard. The interaction of urokinase and vitronectin with the classical glycolipid-anchored receptor of urokinase (uPAR) regulates migration of vascular smooth muscle cells and probably influences the development of atherosclerosis. The team headed by J. Spranger observed that uPAR is differentially regulated by insulin, glucose, and various free fatty acids. Further details of its metabolic regulation are currently being investigated *in vivo* in humans. Glucose toxicity refers to the phenomenon that

durch einen niedrigen "glykämischen Index" aufweist, könnte auf diesem Wege vorteilhaft sein. Weiterhin wird von der Arbeitsgruppe der Zusammenhang zwischen Adipositas, Typ-2-Diabetes und genetischen Veränderungen untersucht. So zeigen vorläufige Ergebnisse der Projektgruppe, dass ein bestimmter Haplotyp von Adiponectin-Promotor-SNPs die zirkulierenden Adiponectin-Spiegel beeinflusst und dadurch einen massiven Einfluss auf das BMI-abhängige Diabetesrisiko hat. Fettgewebe sezerniert auch Substanzen, die in erhöhten Konzentrationen vermutlich zu einem erhöhten Diabetesrisiko führen. Derzeit besonders intensiv diskutiert wird die Theorie, dass eine chronische Entzündungsreaktion an der Entstehung des Typ-2-Diabetes beteiligt ist. Entzündungsmarker wie z.B. CRP sind auch vor Auftreten eines Typ-2-Diabetes erhöht.

erhöhten Diabetesrisiko assoziiert. Dies wird auch durch individuelle Genvarianten modifiziert, die wir aktuell untersuchen (Abb.2). Weiterhin konnte von uns gezeigt werden, dass TNF-alpha insbesondere bei adipösen Patienten erhöht ist und so eine Verbindung zwischen Adipositas und Insulinresistenz darstellen könnte. Im Gegensatz zu IL-1 $\beta$  und IL-6 zeigt sich allerdings in unseren Untersuchungen kein unabhängiger Effekt auf das Diabetesrisiko. Ghrelin ist ein neu entdeckter, appetitregulierender neuroendokriner Faktor, der vorwiegend im Magen gebildet wird. In Zusammenarbeit mit der Abteilung Pharmakologie (M. Tschöp) untersuchten wir Makronährstoffe auf mögliche Effekte auf Ghrelin. Der Abfall von Ghrelin nach der Nahrungsaufnahme erscheint weniger durch Änderung der freien Fettsäuren beeinflusst als vielmehr durch den Insulinanstieg als Folge der Glucoseresorption.



**Abbildung 2** Ein Erhöhung von Interleukin 6 ist in der untersuchten EPIC-Kohorte mit einem erhöhten Diabetesrisiko assoziiert. Mögliche Effekte des dargestellten Interleukin-6-Promotor Polymorphismus auf das Diabetesrisiko werden derzeit untersucht.

Diskutiert werden die gesteigerte Expression von pro-inflammatorischen Zytokinen und eine verminderte Freisetzung antiinflammatorischer Zytokine wie Interleukin-6 (IL-6), Tumor-Nekrose-Faktor-(TNF)-alpha und IL-1 $\beta$ . In einer Zusammenarbeit mit der Abteilung Epidemiologie untersuchten wir Laborparameter des von dieser Abteilung gesammelten und charakterisierten EPIC-Kollektivs und fanden insbesondere eine kombinierte Steigerung von IL-1 $\beta$  und IL-6 mit einem

Bestimmte Moleküle in der Gefäßwand stellen Bindeglieder zwischen Ernährung und Atheroskleroseentstehung dar, sie werden durch Nahrungskomponenten reguliert. Proteolytische Systeme (Plasminogen-Aktivierungssystem) und bestimmte Adhäsionsproteine sind hierbei beteiligt. Die Interaktion von Urokinase und Vitronectin mit dem klassischen Glykolipid-verankerten Urokinase-Rezeptor (uPAR) führt zur Migration von vaskulären glatten Muskelzellen und stellt

**Figure 2** In the EPIC cohort examined, a rise in interleukin-6 is associated with a higher risk of diabetes. The interleukin-6 promoter polymorphism shown and its possible effects on the risk of diabetes are under study.

vermutlich ein wichtiges Bindeglied bei der Entstehung der Atherosklerose dar. So konnte in Makrophagen durch die Arbeitsgruppe von Joachim Spranger gezeigt werden, dass uPAR durch Insulin, Glucose sowie gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren differentiell reguliert wird; weitere metabolische Parameter werden in vivo am Menschen untersucht. Glucosetoxizität beschreibt das Phänomen, dass bei persistierender Hyperglykämie eine progrediente Abnahme der Insulinsekretion zu beobachten ist. In der Arbeitsgruppe Osterhoff/Möhlig konnte gezeigt werden, dass eine Reduktion der Calcium/Calmodulin-abhängigen Protein-Kinase-II (CaMK II)-Expression in Insulinomzellen der Ratte zu einer erheblichen Verringerung des Insulingehalts und der Insulinsekretion führt. Der geringere Insulingehalt der Zellen begründet sich in einer verminderten Aktivierung des Insulin-Promotors und folglich einer verminderten Insulin-Genexpression.

Zeit erhöhte  $Ca^{2+}$ -Konzentrationen, wie sie z.B. durch chronisch erhöhten Blutzucker ausgelöst werden, zu einer Abnahme der CaMK-II-Aktivität, der PDX-1 Aktivität und schließlich zu einer Verringerung der Insulin-Genexpression führen.

### Mechanismen der Krankheitsentstehung durch Alterationen der Redox-Balance

Michael Ristow, Frank Isken

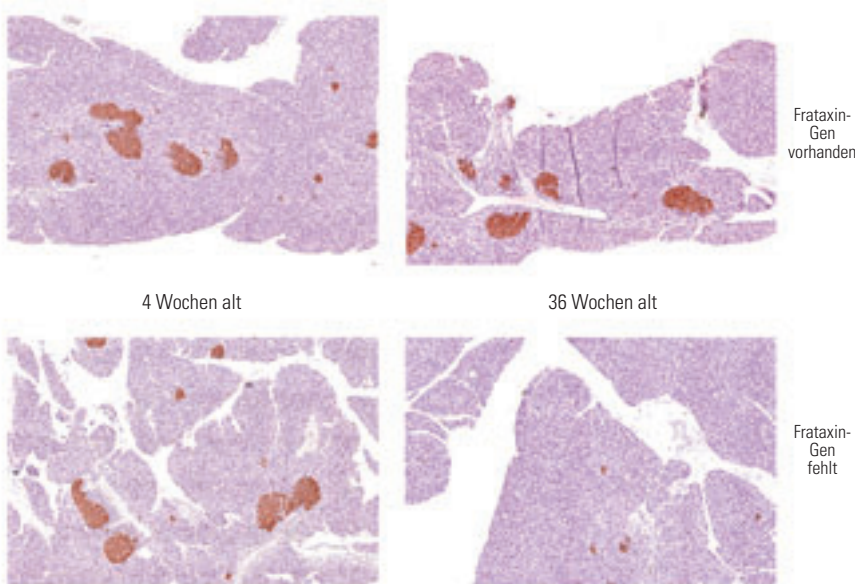
Oxidation und Reduktion sind grundlegende Prozesse im Zellstoffwechsel. Sie dienen der intrazellulären Signaltransduktion sowie der Detoxifizierung von metabolischen Nebenprodukten, sogenannten freien Radikalen oder *reactive oxygen species* (ROS). Die Bildung von ROS ist bei der Entstehung von Krebsformen, Diabetes mellitus, Arteriosklerose, Bluthochdruck und Neurodegeneration beteiligt.

persistent hyperglycemia induces a progressive decline of insulin secretion. The group of Osterhoff/Möhlig demonstrated that a reduction of the expression of calcium/calmodulin-dependent protein kinase-II (CaMK-II) in rat insulinoma cells causes a dramatic reduction of the insulin content. The reduction of cellular insulin levels was due to a reduced activation of the insulin promoter and a reduced insulin gene expression. This was associated with an altered regulation of the transcription factor PDX-1, which binds to the insulin promoter and thereby increases insulin gene expression within the cell. The CaMK-II-system appears to activate the backup production of insulin needed for prolonged insulin secretion. Since downregulation of CaMK-II is caused by persistent increases in cellular calcium, as induced by chronically elevated blood sugar, this mechanism provides another hypothesis to explain glucose toxicity.

### Pathogenesis of diseases related to alterations of redox metabolism

Oxidation and reduction are essential mechanisms in cellular metabolism. They are involved in intracellular signal transduction as well as in the elimination of free radicals or reactive oxygen species (ROS) generated as side products in metabolism. It is currently believed that ROS are involved in the pathogenesis of diabetes mellitus, atherosclerosis, hypertension, neurodegenerative diseases, as well as certain types of cancer. The group of M. Ristow develops mouse models to investigate these complex associations. To this end, genes involved in the regulation of redox systems were inactivated (vitamin E transport protein, TTP), some of them in conditional knockouts only in specific tissues such as the Friedreich ataxia protein, frataxin. The pathogenesis of redox related diseases can be investigated in these physiological models. The deletion of the frataxin gene exclusively in pancreatic beta cells of the mouse is associated with markedly increased production of ROS in beta cells and leads to a steadily progressive loss of beta cells, resulting in diabetes mellitus (Fig.3). In contrast to other animal models, this closely mimics the development of type-2 diabetes (Fig.4). It is quite possible that this model is pathogenetically closely related to human type-2 diabetes.

The role of oxidative stress in man is investigated in parallel studies which are performed in the "Siegfried Thannhauser" Metabolic Ward in our associated Department of Endocrinology, Diabetes, and Nutrition at the Benjamin Franklin Medical Center in Berlin.



**Abbildung 3**  
Pankreatische Betazellen der Maus: wird das Gen für das Friedreich-Ataxie-Protein Frataxin ausgeschaltet, so entwickeln die Tiere einen Verlust an Insulinsekretionskapazität und dadurch einen stetig progredienten Diabetes mellitus.

Wahrscheinlich führt die Aktivierung von CaMK II in  $\beta$ -Zellen direkt oder indirekt zu einer Aktivierung des  $\beta$ -zell-spezifischen Transkriptionsfaktors PDX-1, welcher an den Insulin-Promotor bindet, und so die Insulin-Genexpression und Insulin-Verfügbarkeit in der Zelle erhöht. Die Aktivierung von CaMK II könnte also einen "Nachschubmechanismus" anstoßen, der eine Insulin-Sekretion über längere Zeit ermöglicht. Für diesen Mechanismus spricht die Erkenntnis, dass über lange

Die Mitarbeiter der Projektgruppe Ristow beschäftigen sich mit der Entwicklung von Mausmodellen für diese komplexen Zusammenhänge. Gene der Maus, denen eine Funktion in der Regulation des Redox-Systems zugeschrieben wurde (Vitamin E-Transporter Protein TTP, Friedreich-Ataxie-Protein Frataxin), wurden, zum Teil auch gewebs-spezifisch, inaktiviert. Pathogenese und präventive Therapie einer Redox-Imbalance kann an diesem physiologischen Modell

**Figure 3**  
Pancreatic beta cells of the mouse: when the gene for the Friedreich ataxia protein, frataxin, is deleted, the animals lose the capacity to secrete insulin and thus develop a steadily progressive diabetes mellitus.

These studies focus on the formation of free radicals associated with rapid changes in blood sugar and free fatty acids as occurs postprandially. Hyperglycemia and hyperlipidemia induce a rapid formation of reactive oxygen species that are generated in metabolism. The modulation of ROS formation is of great interest in the pathogenesis of nutrition-related diseases because they can be influenced by the choice of nutrients consumed. In particular, fruit and vegetables are known to contain antioxidants. The consumption of foods with a low glycemic index represents a promising strategy to prevent these diseases. Signaling induced by oxidative stress appears to involve changes in intracellular calcium and, particularly, the activation of CaMK-II and prolonged oxidative stress due to hyperglycemia reduce insulin secretion. The research group Osterhoff/Möhlig is currently developing a mouse knockout model with a tissue-specific knockout of CaMK-II to investigate these mechanisms in more detail.

#### Metabolomics - strategies to identify health-promoting metabolites

Fat, carbohydrates, and protein induce hormonal responses and are metabolized to products which exert further actions in the organism. For example, the postprandial rise of blood sugar and lipids induces specific hormonal and metabolic responses. Those are known to affect the risk of cardiovascular disease, particularly in the context of impaired glucose tolerance and dyslipidemia. Thus, the metabolic phenotype interacts strongly with the effects of nutrients on the health of the organism.

Apart from those macronutrient aspects, nutritional components of fruit, vegetables, and spices are known to exert direct effects on specific molecules within the biochemistry of the organism and thereby alter their function, comparable to the action of pharmaceuticals. Examples are antioxidants, flavonoids, phytoestrogens, phytosterols, and carbohydrates such as acarbose. Very little is known about the bioavailability of such molecules after ingestion of food of plant origin. In cooperation with the Max Planck Institute for Plant Genetics in Golm, we are currently establishing a technique to analyze a large number of metabolites in blood. These techniques have been established in Golm to analyze plant metabolites and have now been adapted to the human situation. This will help to identify biologically available plant metabolites to allow their definition and further investigation with regard to metabolic targets and metabolic processes affected.

Figure 4  
Possible regulatory scheme for development of diabetes mellitus

untersucht werden. Beispielsweise erzeugt die Unterbrechung des Frataxin-Gens ausschließlich in pankreatischen Betazellen der Maus einen stetig progredienten Diabetes mellitus durch Verlust der Inselzellen (Abb.3), der sich im Gegensatz zu den bisherigen Tiermodellen als neuer physiologischer Mechanismus herausstellt (Abb.4). Pathogenetische Parallelen zum Typ-2-Diabetes des Menschen sind wahrscheinlich. Parallel zu diesen Forschungen im Tiermodell werden in der klinischen Ambulanz der KLE im DIfE, sowie auf der Stoffwechselstation "Siegfried Thannhauser" am Universitätsklinikum Benjamin Franklin in Berlin Untersuchungen zur Entstehung von oxidativem Stress im Menschen durchgeführt. Uns interessiert die Bildung freier Radikale durch kurzfristige Veränderungen des Blutzuckerspiegels sowie der Konzentration freier Fettsäuren im Stoffwechsel.

#### Metabolomics - Strategien zur Identifikation gesundheitsbeeinflussender Stoffwechselprodukte

Joachim Spranger

Fette, Kohlenhydrate und Eiweiße lösen eine hormonelle Antwort aus und werden in Metaboliten umgewandelt, die auch eigene Wirkungen haben. Beispiele sind der Anstieg von Blutzucker und Blutfetten nach Mahlzeiten, die eine Hormon- und Stoffwechselantwort auslösen.

Diese beeinflussen das Risiko von Gefäß-erkrankungen besonders dann, wenn ein gestörter Zuckerstoffwechsel und/oder eine Fettstoffwechselstörung besteht. Nahrungskomponenten besonders von Obst, Gemüse und Kräutern haben direkte Wirkungen auf bestimmte Moleküle im Organismus und verändern deren Funktion, ähnlich der Wirkung von Medikamenten.

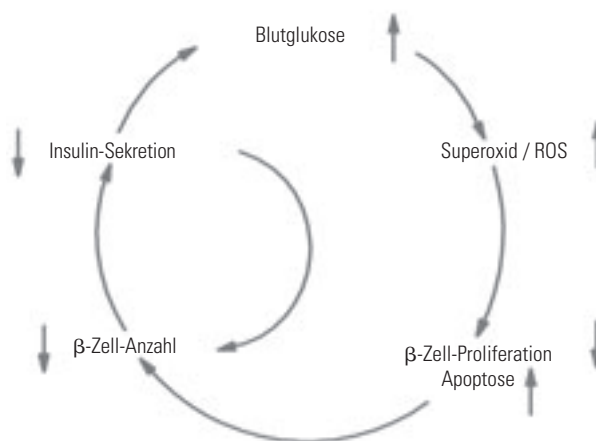


Abbildung 4  
Möglicher Regelkreis für die Entstehung des Diabetes mellitus.

Bei Hyperglykämie und Hyperlipidämie fallen durch Aktivierung des metabolischen Umsatzes vermehrt an. Angesichts der möglicherweise zentralen Stellung von Radikalen in der Pathogenese ernährungsabhängiger Erkrankungen ist deren Beeinflussung durch Nahrungskomponenten von großem Interesse und unmittelbar mit den beiden anderen Abteilungsschwerpunkten verbunden. Auch CaMK II ist in die Vermittlung von Signalen, die durch oxidativen Stress ausgelöst werden, involviert und oxidativer Stress vermindert die Insulin-Sekretion. Anhand eines CaMK-II-K.O.-Mausmodells soll in der Arbeitsgruppe Osterhoff/Möhlig untersucht werden, welche Effekte eine Reduktion der CaMK-II-Expression in einem lebenden Tier, besonders bei unterschiedlichen Ernährungsformen, hat.

Beispiele hierfür sind Antioxidanzien, Flavonoide, Phytoöstrogene, Phytosterole. Aufbauend auf neuen massenspektrometrischen Screeningtechniken aus dem Max-Planck-Institut für Pflanzenphysiologie in Golm (Direktor Prof. Willmitzer) arbeiten wir kooperativ an der Analyse von Metaboliten im Blut. Die neuen Verfahren erlauben das Erfassen einer Vielzahl von niedermolekularen Verbindungen, und zwar auch von solchen, deren genaue Zusammensetzung noch nicht bekannt ist. Die Struktur kann dann aber in einem zweiten Schritt angegangen werden. Die aktuellen Arbeiten etablieren zunächst diese Technik. In naher Zukunft soll sie dann zur Identifikation von tatsächlich resorbierten Pflanzeninhaltsstoffen und deren Metaboliten verwendet werden.

Ausgewählte Publikationen  
Selected Publications

**Originalarbeiten/Original Papers**

Assert, R., Kotter, R., Schieman, U., Goretzki, P., Pfeiffer, A. F.: Effects of the putatively oncogenic protein kinase Calpha D294G mutation on enzymatic activity and cell growth and its occurrence in human thyroid neoplasias. *Horm. Metab. Res.* 34, 311-317 (2002).

Assert, R., Scherk, G., Bumbure, A., Pirags, V., Schatz, H., Pfeiffer, A. F.: Regulation of protein kinase C by short term hyperglycaemia in human platelets in vivo and in vitro. *Diabetologia* 44, 188-195 (2001).

Hering, S., Isken, E., Knabbe, C., Janott, J., Jost, C., Pommer, A., Muhr, G., Schatz, H., Pfeiffer, A. F.: TGFbeta1 and TGFbeta2 mRNA and protein expression in human bone samples. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 109, 217-226 (2001).

Kopp, R., Ruge, M., Rothbauer, E., Cramer, C., Kraemling, H. J., Wiebeck, B., Schildberg, F. W., Pfeiffer, A.: Impact of epidermal growth factor (EGF) radioreceptor analysis on long-term survival of gastric cancer patients. *Anticancer Res.* 22, 1161-1167 (2002).

Möhlig, M., Spranger, J., Otto, B., Ristow, M., Tschöp, M., Pfeiffer, A. F.: Euglycemic hyperinsulinemia, but not lipid infusion, decreases circulating ghrelin levels in humans. *J. Endocrinol. Invest.* 25, RC36-38 (2002).

Roudovitch, N., Nauck, M. A., Schatz, H., Pfeiffer, A. F.: Modified hyperinsulinaemic, eu- and hypoglycaemic clamp technique using lispro-insulin for insulinoma diagnostic. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 109, 397-401 (2001).

Schieman, U., Konturek, J. W., Osterhoff, M., Assert, R., Rembiasz, K., Pfeiffer, D., Schatz, H., Domschke, W., Pfeiffer, A.: Decreased expression of epidermal growth factor receptor and mRNA of its ligands in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *Scand. J. Gastroenterol.* 36, 23-31 (2001).

Shoichet, S. A., Baumer, A. T., Stamenkovic, D., Sauer, H., Pfeiffer, A. F., Kahn, C. R., Müller-Wieland, D., Richter, C., Ristow, M.: Frataxin promotes antioxidant defense in a thiol-dependent manner resulting in diminished malignant transformation in vitro. *Hum. Mol. Genet.* 11, 815-821 (2002).

Spranger, J., Möhlig, M., Osterhoff, M., Buhnen, J., Blum, W. F., Pfeiffer, A. F.: Retinal photocoagulation does not influence intraocular levels of IGF-I, IGF-II and IGF-BP3 in proliferative diabetic retinopathy-evidence for combined treatment of PDR with somatostatin analogues and retinal photocoagulation? *Horm. Metab. Res.* 33, 312-316 (2001).

Spranger, J., Osterhoff, M., Reimann, M., Möhlig, M., Ristow, M., Francis, M. K., Cristofalo, V., Hammes, H. P., Smith, G., Boulton, M., Pfeiffer, A. F.: Loss of the antiangiogenic pigment epithelium-derived factor in patients with angiogenic eye disease. *Diabetes* 50, 2641-2645 (2001).

Spranger, J., Kroke, A., Möhlig, M., Bergmann, M.M., Ristow, M., Boeing, H., Pfeiffer, A.F. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 361:226-8 (2003).

Ziemssen, F., Schnepf, R., Pfeiffer, A. F.: [Die SSCP-(Single Strand Conformation Polymorphism-)Analyse zum Nachweis von Punktmutationen. Eine Technik und ihre Grenzen am Beispiel der Diagnostik dominant vererbter diabetesformen (MODY).] *Med. Klin.* 96, 515-520 (2001).

**Übersichtsarbeiten/Reviews**

Pfeiffer, A. F., Einig, Ch.: Prävention mit Vitaminen und Spurenelementen. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 127, 2251-2252 (2002).

**Buchbeiträge/Articles in Books**

Spranger, J., Pfeiffer, A.: Diabetic microvascular complications. In: Mogensen, C. (ed.) *Hypertension & Diabetes. Volume 1.* London, Lippincott Williams & Wilkins, pp 57-68 (2002).

**Sonstige/Others**

Bähr, V., Diederich, S., Pfeiffer, A. F. H.: The metabolic syndrome X and peripheral cortisol synthesis. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 110, 313-318 (2002).

Ziemssen, F., Bellanne-Chantelot, C., Osterhoff, M., Schatz, H., Pfeiffer, A. F.: To: Lindner, T., Cockburn, B. N., Bell, G. I. (1999) Molecular genetics of MODY in Germany. *Diabetologia* 42, 121-123, *Diabetologia* 45, 286-287, discussion 287-288 (2002).

Drittmittelprojekte  
External Funding

Titel: Investigation of PKC-dependent regulation of Pigment-Epithelium-Derived Factor (PEDF)  
Finanzierung: Eli Lilly Foundation  
Laufzeit: 06/01-11/02

Titel: Ist durch eine fettsäuregesteuerte Abnahme von UCP-2 in humanen Beta-Zellen eine Reduktion der Hyperinsulinämie bei Adipositas erzielbar?/Can a fatty-acid-regulated decrease in UCP-2 in human (beta-cells) serve to reduce hyperinsulinemia in obesity?  
Finanzierung: Institut Danone für Ernährung  
Laufzeit: 10/00-12/02

Titel: Identifizierung von Polymorphismen im PPAR-gamma-coactivator 1 Gen: Gibt es eine Assoziation mit Adipositas oder Diabetes mellitus Typ 2?  
Finanzierung: Deutsche Diabetes Gesellschaft  
Laufzeit: 02/01-06/02

Titel: Mögliche Glucoseintoleranz durch (beta-spezifische Expression der cre-Rekombinase und ihre Konsequenzen für die Bewertung pankreaspezifischer Gen-Inaktivierungen  
Finanzierung: Deutsche Diabetes Gesellschaft  
Laufzeit: 07/02-06/03

Titel: Beeinflussung der oszillierenden Insulinsekretion des Menschen durch Störungen des mitochondrialen Energiestoffwechsels bei Friedreich-Ataxie  
Finanzierung: Deutsche Diabetes Gesellschaft  
Laufzeit: 02/01-06/02

Titel: Dominant-negative Inaktivierung eines Regulators des nicht-oxidativen Glukosestoffwechsels im transgenen Tiermodell im Schwerpunkt: Mono- und polygene Krankheiten des Menschen: Definition und molekulare Pathogenese  
Finanzierung: Fritz-Thyssen-Stiftung  
Laufzeit: 01/02-12/03

Titel: Untersuchungen der insulinsekretionsstimulierenden Wirkung von neuen beta-zytotropen Substanzen  
Finanzierung: Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Freie Universität Berlin

Titel: Gewebsspezifische Inaktivierung von Frataxin, einem mitochondrialen Regulator des oxidativen Energiestoffwechsels/Tissue-specific inactivation of frataxin, a mitochondrial regulator of energy metabolism  
Finanzierung: DFG  
Laufzeit: 11/00-06/03

Titel: Etablierung eines Mausmodells mit Überexpression der Kalzium/Calmodulin-abhängigen Proteinkinase II delta-2 in den beta-Zellen des Pankreasinselorgans  
Finanzierung: Deutsche Diabetes Gesellschaft  
Laufzeit: 04/01-12/03

## Department of Intervention Studies

Head: Prof. Dr. Hans-Joachim Franz Zunft

The research of the department is focused on the role of food products, food ingredients, and food choice in preventing nutrition-dependent chronic diseases, i.e., overweight, obesity, hypertension and hyperlipoproteinemia, as well as cardiovascular and gastrointestinal disorders. Based on its methodology, the department can be characterized as an experimental epidemiological group using intervention studies, particularly with volunteers who maintain their habitual way of life. We especially investigate

- markers of disease risk
  - anthropometric variables (body composition),
  - clinical variables in blood, urine, feces,
  - physiological parameters (energy expenditure, endothelial function),
- physical condition
  - physical activity,
  - sensory sensitivity,
  - state of health and well-being,
- nutritional behavior
  - sensory preferences/acceptance,
  - consumer attitudes.

In our research, we cooperate with partners both within and outside of the DfE, (1) to integrate a broad spectrum of competence and (2) to acquire the necessary statistical validity by increasing the number of volunteers. Therefore, the department is involved in several international projects, most of them funded by the framework programs of the European Union.

### Age-dependent changes in sensory physiology and food choice

The EU-funded project, HealthSense, has set a target for delivering results to increase the acceptance of a healthy diet by elderly people. Therefore, the sensory determinants of food choice will be investigated in different work packages. These include studies on taste and smell sensitivity, preferences for selected food products, and the dependency of these variables on age and cultural background. With the results obtained, it is planned to increase the acceptance of specified foods by the elderly. Our department is involved in three different work packages of this project: Representative samples of elderly people in all member states of the EU were questioned about their attitudes towards health and nutrition. The majority of senior citizens rank health highest among the motives for food selection. On the other hand, 80 % are convinced that they already follow a healthy diet. This is clearly in contrast to the real nutritional situation in all these countries. Our results demonstrate an incorrect selfreflection of personal nutritional behavior.

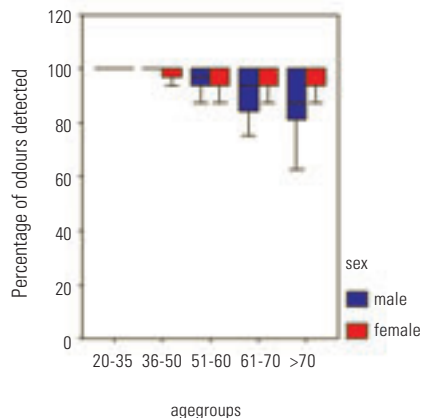


**Figure 1**  
Age-dependent decrease in sense of smell  
Test: Detection and identification of 16 different odors by 313 German subjects  
Conclusion: The ability to detect and identify odors diminishes with increasing age.

Die experimentell-epidemiologische Forschungsarbeit der Abteilung richtet sich darauf, die Bedeutung von Lebensmitteln, ihren Inhaltsstoffen sowie ihrer Zusammensetzung zu bestimmten Kostformen für die Prävention ernährungsabhängiger chronischer Erkrankungen zu erkennen und zu bewerten. Als Zielgrößen werden vorrangig Erkrankungen des Metabolischen Syndroms (Übergewicht, Adipositas, Hypertonie, Fettstoffwechselstörungen), kardiovaskuläre sowie gastrointestinale Faktoren betrachtet.

Bevorzugte Studienform sind Interventionsstudien mit Personen, die ihre habituelle Lebensweise grundsätzlich beibehalten. Die speziellen Untersuchungen richten sich auf

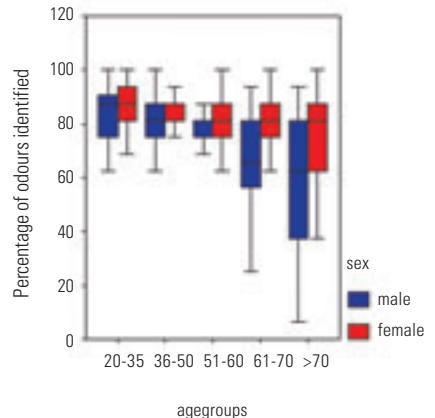
- Marker des Erkrankungsrisikos:
  - anthropometrische Variablen (Körperzusammensetzung),
  - Messgrößen in Körperflüssigkeiten,
  - physiologische Größen (Energieumsatz, Endothelfunktion),



### Sensorische Physiologie und Nahrungsauswahl im höheren Lebensalter

Stephan Hoyer, Ulrike Simchen, Hans-Joachim Franz Zunft

Das von der EU geförderte Projekt *HealthSense* will mit seinen Erkenntnissen die Akzeptanz einer gesundheitsfördernden Ernährung bei älteren Menschen erhöhen. Dazu wird in verschiedenen Arbeitspaketen untersucht, wie sich die sensorischen Determinanten der Kostwahl (Geruch, Geschmack, Präferenz zu Lebensmitteln) mit dem Alter verändern und ob und wie diese Beziehungen innereuropäisch differieren. Im ersten Vorhaben sind ältere Menschen in allen EU-Ländern repräsentativ nach ihrer Einstellung gegenüber dem gesundheitlichen Wert ihrer Ernährung befragt worden. Die Mehrzahl der Befragten gab an, sich bei der Lebensmittelauswahl hauptsächlich vom Gesundheitsaspekt leiten zu lassen und diesen auch zu berücksichtigen. Dies widerspricht jedoch den tatsächlichen Verzehrdaten



**Abbildung 1**  
Altersabhängige Leistungsabnahme des Geruchsinn Test: Wahrnehmung und Erkennung von 16 verschiedenen Gerüchen durch 313 deutsche Probanden  
Schlußfolgerung: Die Fähigkeit zur Wahrnehmung und Identifikation von Gerüchen sinkt mit zunehmendem Lebensalter.

- den Körperzustand:
    - körperliche Aktivität,
    - sensorische Sensibilität,
    - Gesundheitsstatus und Wohlbefinden,
  - das Ernährungsverhalten:
    - sensorische Akzeptanz,
    - Verbrauchereinstellungen.
- Bei der Verfolgung ihrer Forschungsziele arbeitet die Abteilung mit zahlreichen Partnern zusammen, die meisten Projekte sind in Rahmenprogramme der EU eingebunden.

und zeugt von einer verzerrten Wahrnehmung des eigenen Verhaltens. Im zweiten Teilprojekt sind Erwachsene im Alter von 20 bis über 70 Jahren auf sensorische Sensitivität (Abb.1) und Präferenz gegenüber Lebensmitteln innerhalb einer Mahlzeit (Suppe, Reis, Keks) geprüft worden. Die landestypische Esskultur erwies sich auch bei älteren Menschen als vorrangige Bestimmungsgröße für Bevorzugung und Ablehnung von Zubereitungen, Speisen und Kostformen.

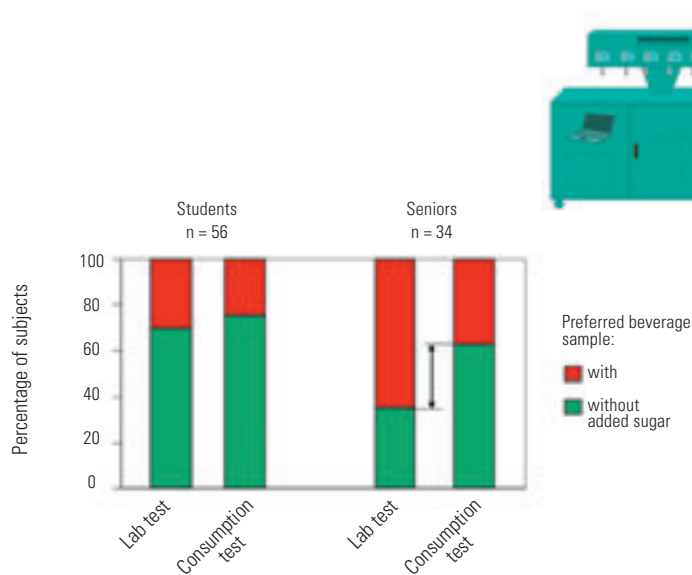
Im dritten Teilvorhaben wird untersucht, welchen prädiktiven Wert Beliebtheitsprüfungen im Labor für das Verzehrverhalten im täglichen Leben besitzen. Dazu wurde ein mobiler Getränkeautomat (Abb.2) entwickelt und in Einrichtungen der Gemeinschaftsverpflegung für jüngere bzw. ältere Menschen eingesetzt. Dabei zeigte sich, dass Senioren Getränke mit höherer Süße bevorzugen. Vor allem aber präferieren sie - im Gegensatz zu jüngeren Erwachsenen - im Labor andere Getränke als im Langzeitexperiment unter Alltagsbedingungen. Der sensorische Labortest ist demnach ungeeignet, um für ältere Menschen die dauerhafte Akzeptanz gegenüber einem Lebensmittel vorauszubestimmen.

### Gesundheitsfördernder Effekt von Synbiotika bei älteren Menschen

Christiana Hanisch, Hans-Joachim Franz Zunft, Michael Blaut<sup>1</sup>, Susanne Müller

Dazu sind in den Studienzentren in Stockholm, Potsdam-Rehbrücke, Paris und Camerino (Italien) von Personen im Alter von 25 bis 45 bzw. über 65 Jahren der Lebensmittelverzehr erhoben sowie Stuhlproben untersucht worden.

Dieser Ausgangsuntersuchung folgt in 2 Zentren (Paris, Potsdam-Rehbrücke) eine doppelblind angelegte, randomisierte Crossover-Studie an älteren Personen (> 65 Jahre). Die Probanden verzehren täglich über je 8 Wochen entweder ein Synbiotikum (Oligofruktose mit Laktobazillen) oder ein Placebo. Derzeit werden die in beiden Studienabschnitten gewonnenen Stuhlproben auf ihre mikrobielle und biochemische Zusammensetzung geprüft. Die Ergebnisse lassen fundierte Aussagen über mögliche günstige Effekte von Prä- und Probiotika für die Darmgesundheit und darüber hinaus für das Wohlbefinden älterer Menschen erwarten.



**Abbildung 2**  
Präferenz zum Süßgeschmack von Fruchtsaftgetränken unter Labor- und Alltagsbedingungen  
Substrat: Fruchtsaftgetränke mit oder ohne zugesetzten Zucker  
Labortest: Rangfolgetest  
Konsumtest: Vierwöchige Registrierung der individuellen Saftauswahl und der jeweils konsumierten Menge über eine Chipkarte an einem Getränkeautomaten  
Auswertung: Klassifikation der Versuchspersonen gemäß ihrer Präferenz zu den Varianten mit oder ohne Zuckerzusatz  
Schlussfolgerung: 65 % der Senioren bevorzugten im Labor die süßeren Getränke, aber nur 38 % tranken diese am Automaten.

Das von der EU geförderte multizentrische Projekt *Crownalife* fragt nach dem potentiellen Nutzen von Prä- und Probiotika für die Darmgesundheit älterer Menschen in Zusammenarbeit mit der Abteilung Gastrointestinale Mikrobiologie. Geprüft wird zunächst, ob und wie sich Ernährungsgewohnheiten, Lebensalter sowie kulturelle Zugehörigkeit auf die Zusammensetzung der Darmflora auswirken.

### Unlösliche Ballaststoffe aus Johannisbrot senken den Cholesterinspiegel

Corinna Koebnick, Hans-Joachim Franz Zunft

Von löslichen Ballaststoffen ist eine cholesterinsenkende Wirkung bekannt. Wir konnten diesen Effekt erstmalig auch für die unlöslichen Bestandteile des Johannisbrot zeigen. Eine 6wöchige Applikation von 15 g/d einer an Lignin, Polyphenolen und Pinitol

Five centers recruited volunteers, 20 to over 70 years of age, and estimated their sensory sensitivities (Fig.1) and preferences for products within a meal (soup, rice, biscuit). The results revealed which sensory properties are preferred by elderly people. The hedonic ratings differed between age groups and genders. To a higher degree, however, they differed between countries. Thus, the cultural background has been revealed to be of major importance for sensory preferences in the elderly.

In the third subproject, the predictive value of sensory tests in the laboratory for food consumption in real-life situations was investigated. A mobile vending machine has been developed to measure the quality and quantity of consumed beverages whose hedonic estimates had been determined previously in the laboratory. The results showed that senior citizens preferred higher sugar concentrations than students. Moreover, the lab tests with the elderly but not with students failed to reflect the long-term preference for beverages in the real-life setting (Fig.2). These results force a reconsideration of how products specifically for the elderly will be designed and evaluated.

### Health-promoting effect of synbiotics in the elderly

The EU-funded project *Crownalife* is targeted to give information about the potential health benefits of pro- and prebiotics for elderly people. In the first work package, the relation between dietary habits, age, and cultural background on the one hand and fecal composition on the other hand was investigated with subjects (25 - 45 and over 65 years of age) in the study centers in Stockholm, Paris, Potsdam, and Camerino (Italy). This baseline study was followed by a randomized, double-blind, crossover intervention study in the Paris and Potsdam centers. During two 8-week periods, elderly people consumed daily either a synbiotic (oligofruktose with lactobacilli) or a placebo.

**Figure 2**  
Preference for sweetness of fruit beverages, in the laboratory and in real-life situations  
Substrate: Fruit beverages with natural sweetness or with added sugar  
Lab test: Hedonic ranking test  
Consumption test: 4-week registration of individual beverage choice (quality and quantity) via chip card and computerized vending machine  
Evaluation: Classification of subjects according to their preference for samples either with or without added sugar  
Conclusion: 65 % of the senior citizens prefer the sweeter samples in the laboratory, but only 38 % during the 4-week consumption test.

Fecal samples were collected and their microbial (by FISH, i.e., fluorescence in-situ hybridization) and biochemical composition analyzed. The results are expected to deliver new insights into the potential benefits of synbiotics for health and well-being in the elderly.

### Cholesterol-lowering effect of insoluble carob fiber

Soluble but not insoluble dietary fiber has been reported to lower serum cholesterol levels. Recently, cholesterol reduction could also be shown for a carob pulp preparation containing high amounts of water-insoluble fiber and polyphenols in animal experiments. To show whether an analogous effect can be found in humans, a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel intervention trial with hypercholesterolemic subjects was run together with industrial partners. Carob-fiber consumption (15 g/d) over 6 weeks reduced the serum level of LDL cholesterol in both genders by 10.5 ( $\pm$  2.2 %) and serum triglycerides in females by 11.3 ( $\pm$  4.5 %) (Fig.3). No effects on HDL levels could be observed. Generally, in females the lipid-lowering effects were more pronounced than in males. The results suggest a potential benefit of carob fiber for prevention and treatment of hypercholesterolemia.

### Role of nutrition information for consumer behavior and dietary intake

The relation between nutritional information, consumer behavior and health-related dietary quality has been investigated. Preferred sources of nutrition information were experiences of friends, marketing campaigns in supermarkets, and newspaper articles. The highest confidence was placed in information from consumer tests (Stiftung Warentest), in product labeling prescribed by law, and in scientific publications. Subjects using information from these sources were characterized by a more health-oriented choice of foods. Although the importance of fruit and vegetable intake is well known, only 15 % of the consumers ate these foods five times a day or more.

### Fat consumption in Germany

Data on food consumption in Germany was evaluated to describe the changes in fat consumption in the past decade. According to agricultural statistics and family-budget surveys, the consumption of vegetable oil clearly increased after 1995. The pattern of fatty acids, however, marginally shifted to a slightly higher level of polyunsaturated fatty acids. The ratio between poly-, monounsaturated, and saturated fatty acids is averages 16:38:46. This is far from the recommendation of the German Nutrition Society (DGE), which will not be reached within the next years on the basis of recent consumption trends.

**Figure 3**  
Reduction of LDL cholesterol level during the 6-week consumption of 15 g/d of insoluble dietary fiber from carob pulp (carob fiber)

reichen Fraktion (Carob Fiber) führten in einer randomisierten, doppelblind angelegten kontrollierten Studie (gemeinsam mit Partnern aus der Industrie durchgeführt) bei Hypercholesterinämikern zu einer Senkung des LDL-Spiegels im Serum von 10,5  $\pm$  2,2 % (Abb.3). Bei den teilnehmenden Frauen reduzierte sich der Triglyceridspiegel um 11,3  $\pm$  4,5 %. Der HDL-Spiegel veränderte sich nicht. Die Effekte waren bei den Frauen ausgeprägter als bei den Männern. Damit besitzen Carobprodukte ein hohes Potential in Prävention und Behandlung von ernährungsabhängigen Erkrankungen, insbesondere bei Hypercholesterinämie.

### Ernährungsinformation, Ernährungsverhalten und Lebensmittelverzehr

Gottfried Ulbricht

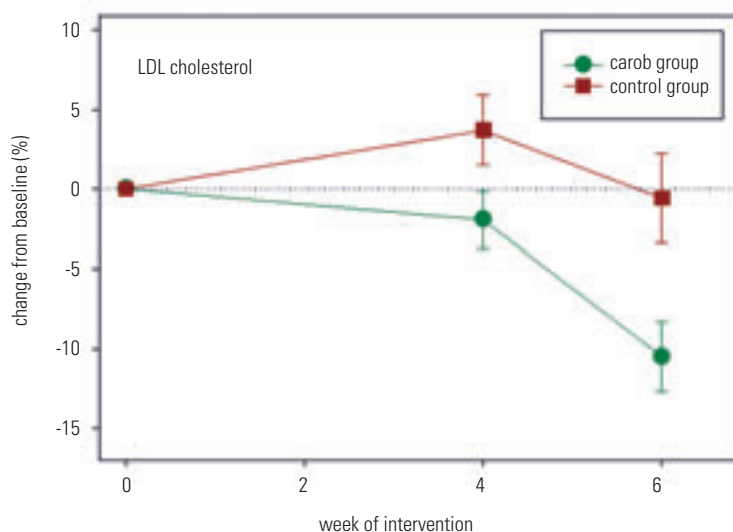
Um die Frage zu beantworten, woher Verbraucher ernährungsbezogene Informationen beziehen und wie sich diese auf die gewählte Ernährung auswirken, führten wir im Raum Berlin-Brandenburg eine Befragung durch. Als bevorzugte Informationsquellen erwiesen sich Hinweise von Freunden und Bekannten,

stärker gesundheitsorientierte Kostwahl aus. Die Bedeutung des Obst- und Gemüseverzehr für eine gesunde Ernährung ist weithin bekannt, bei Frauen mehr als bei Männern. Dennoch wurde der gewünschte Verzehr von 5 mal täglich Gemüse und Obst nur von 15 % erreicht.

### Entwicklungstendenz des Fettverzehr in Deutschland

Gottfried Ulbricht

Zwischen 1990 und 2000 fand gemäß Agrar- und Haushaltstatistik in Deutschland eine deutliche Verbrauchsverlagerung weg von Margarine und tierischen Fetten hin zu pflanzlichen Ölen statt. Dennoch hat sich das Fettsäuremuster nur geringfügig zugunsten mehrfach ungesättigter Fettsäuren verschoben. Das Verhältnis der mehrfach ungesättigten zu einfach ungesättigten zu gesättigten Fettsäuren liegt im Mittel bei 16 : 38 : 46. Die Fettverzehrsempfehlungen der DGE werden trotz Ernährungsaufklärung immer noch deutlich verfehlt und sind auch bei Beibehaltung der Verbrauchstrends der 90er Jahre mittelfristig nicht erreichbar.



**Abbildung 3**  
Absenkung des LDL-Cholesterinspiegels bei 6-wöchigem Verzehr von 15 g/d eines unlöslichen Ballaststoffs aus Johannisbrot (Carob Fiber)

Angebotspräsentationen in Supermärkten sowie Berichte in Tageszeitungen und Zeitschriften. Ein größeres Vertrauen genießen jedoch Berichte der Stiftung Warentest, die gesetzlich vorgeschriebenen Verpackungsaufschriften sowie wissenschaftliche Publikationen. Personen, die ihre Ernährungsinformationen aus diesen vertrauenswürdigen Quellen beziehen, zeichnen sich durch eine

### Neue Methode zur Bestimmung der Körperzusammensetzung

Ulrike Trippo, Karen Wagner

Das von der EU geförderte Projekt *BodyLife* zielt auf die Entwicklung und Validierung eines neuen nicht-invasiven Gerätes zur Bestimmung der Körperzusammensetzung ab. Das neue Gerät, von französischen und



britischen Projekt-Partnern entwickelt, kombiniert 2 Messprinzipien: Leitfähigkeits- und Ultraschall-Untersuchung. Die Validierung nutzt die in der Abteilung etablierten Labor-Methoden, wie Hydromensitometrie (Abb.4), Air Displacement Plethysmographie (BodPod) und DEXA.

Als Probanden dienen übergewichtige und normalgewichtige Erwachsene unterschiedlichen Alters.

Um auch intraindividuelle Änderungen der Körperzusammensetzung zu verfolgen, wird ein Teil der Probanden in einer Interventionsstudie mit erhöhter sportlicher Aktivität und Umstellung der Ernährungsgewohnheiten zur Gewichtsreduktion angeleitet. Die Ergebnisse führen zu Regressionsgleichungen für spätere bevölkerungsweite Anwendungen der neuen Methode.

Isoflavonen, ihren möglichen protektiven Wirkungen und der Verbraucherakzeptanz dieser Produkte in Europa. In einer doppelblind angelegten, randomisierten Crossover-Studie werden an postmenopausalen Frauen die Effekte von Isoflavonen auf die Endothelfunktion und andere kardiovaskuläre Zielgrößen untersucht (z.B. mittels Ultraschall, Volumen-oszillometrie, Impedanzkardiographie). Dazu werden auch genomische und proteomische Marker genutzt.

*Eurolive* richtet sich auf die antioxidativen Eigenschaften von phenolischen Komponenten in nativem Olivenöl. Wesentliche Arbeitsaufgabe ist eine randomisierte, doppelblind angelegte Crossover-Studie an gesunden Nichtrauchern im Alter von 20 bis 60 Jahren. Geprüft wird die protektive Rolle der phenolischen Substanzen auf die



**Abbildung 4**  
Unterwasserwägung (Hydrodensitometrie) – Messmethode zur Erfassung des Körpervolumens zur Bestimmung der Körperzusammensetzung

### Protektive Rolle phenolischer Pflanzenmetabolite in der Genese von Herz-Kreislauf-Erkrankungen

Anja Machowetz, Manja Reimann, Corinna Koebnick

Mit der vorbeugenden Wirkung von sekundären Pflanzenmetaboliten gegenüber Herz-Kreislauf-Erkrankungen befassen sich zwei EU-geförderte Projekte: *Isoheart* widmet sich den vor allem in Soja-Produkten enthaltenen

Zusammensetzung der Blutlipide, die Lipidperoxidation und degenerative DNA-Veränderungen (oxydiertes LDL; Oxydationsauffälligkeit der LDL-Subklassen)

Beide Projekte haben 2002 mit Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit der eingesetzten Substanzen begonnen. Im Jahre 2003 werden die geplanten Interventionsstudien laufen.

### New method to estimate body composition

The main objective of the EU-funded project *BodyLife* is to develop and validate a new device for measuring body composition. Compared to established methods, the new device is intended to be simpler, more accurate, non-invasive, and transportable.

The French and British partners are responsible for the technical development of the device, which combines electromagnetic and innovative ultrasonic techniques. The department will carry out an intervention study with obese and normal-weight adults to validate the new device in comparison with established laboratory methods, e.g., hydrodensitometry (Fig. 3), air displacement plethysmography and DEXA. In order to study intraindividual changes in body composition, some of the obese subjects will be shown how to reduce weight and body fat mass by increasing physical activity and changing nutritional habits. The results will deliver regression equations for applications within the general public.

### Phenolics and their benefit in cardiovascular diseases

Two other EU-funded projects center around the protective role of secondary plant metabolites (nutraceuticals) in cardiovascular diseases (CVD). *Isoheart* centers around isoflavone intake and risk reduction regarding coronary heart disease. The physiological effects of phytoestrogens and their consumer acceptability will be elucidated. In a double-blind randomized cross-over intervention study for a total of 16 weeks among postmenopausal women, isoflavone effects on endothelial function and other cardiovascular parameters will be investigated by using genomic or proteomic markers.

The aim of *Eurolive* is to demonstrate the antioxidative properties of phenolic compounds in virgin olive oil. Therefore, a randomized double-blind crossover study will be run for 15 weeks using healthy non-smoking men, aged 20-60 years. The results will answer the question whether olive oil phenolics have beneficial effects on disorders associated with oxidative damage, i. e., blood lipids, lipid peroxidation (oxydiertes LDL; susceptibility to oxidation of LDL-subclasses and degenerative DNA alterations). Thus, the project may help to explain the health-related benefits of the Mediterranean diet.

Both projects started in 2002. After estimating bioavailability, a suitable selection of foods has been established for use within the intervention trials. Recruiting has been completed and the trials will start in early 2003.

**Figure 4**  
Underwater weighing (hydrodensitometry) – a method for measuring body volume in order to estimate body composition

## Drittmittelprojekte External Funding

Titel: Erstellung eines Compartmentmodells des Süßrezeptors zur Vorhersage der Süßintensität beliebiger Mischungen ausgewählter süßer Verbindungen in wässriger Lösung/Establishment of a compartment model of the receptor for sweetness to predict the sweetness intensity of mixtures of selected sweet compounds dissolved in water

Finanzierung: AiF  
Laufzeit: 06/99-05/01

Titel: Bewertung des ernährungsphysiologischen Effekts sowie der Akzeptanz neuartiger Getreideprodukte ohne Zöliakietoxizität

Finanzierung: BMBF  
Laufzeit: 01/00-02/03

Titel: Herstellung eines neuartigen, gesundheitsförderlichen Kohlenhydratkonzentrats aus Abfallstoffen der Weizenstärkegewinnung durch integrierten Einsatz biotechnologischer Verfahren

Finanzierung: Deutsche Bundesstiftung Umwelt  
Laufzeit: 05/00-04/03

Titel: Präventionsprogramm gegen ernährungsbedingte Risiken und Krankheiten in einem sozial belasteten Stadtteil

Finanzierung: MWFK Brandenburg  
Laufzeit: 01/00-12/01

Titel: CROWNALIFE: Functional Food, Gut Microflora and Healthy Ageing (QLRT-2000-00067), gemeinsam mit GAMI

Finanzierung: EU  
Laufzeit: 01/01-12/03

Titel: BODY LIFE Intelligent System Monitoring the Body Composition for better Healthy Life Style and Illness Prevention (IST-2000-25410)

Finanzierung: EU  
Laufzeit: 01/01-12/03

Titel: ISOHEART: Isoflavones for reducing risk of coronary heart diseases among postmenopausal women

Finanzierung: EU  
Laufzeit: 01/02-12/04

Titel: EUROLIVE: The effect of olive oil consumption on oxidative damage in European population

Finanzierung: EU  
Laufzeit: 01/02-12/04

Titel: *HealthSense*: Healthy ageing: how changes in sensory physiology, sensory psychology and socio-cognitive factors influence food choice

Finanzierung: EU  
Laufzeit: 02/00-01/03

Titel: Absenkung der Fettresorption beim Menschen durch den wasserlöslichen Ballaststoff Konjakmannan (Zweckbetrieb)

Finanzierung: Meistermarken  
Laufzeit: 10/00-02/01

## Ausgewählte Publikationen Selected Publications

### Originalarbeiten/Original Papers

Koebnick, C., Heins, U. A., Wickramasinghe, S. N., Ratnayaka, I. D., Hothorn, T., Pfahlberg, A. B., Hoffmann, I., Dagnelie, P. C., Lindemans, J., Leitzmann, C.: Longitudinal levels of vitamin B12 and vitamin B12 binding proteins during normal pregnancy. *Clin. Chem.* 48, 928-933 (2002).

Kromeyer-Hauschild, K., Wabitsch, M., Kunze, D., Geller, F., Geiß, H. C., Hesse, V., von Hippel, A., Jaeger, U., Johnsen, D., Korte, W., Menner, K., Müller, G., Müller, J. M., Niemann-Pielatus, A., Remer, T., Schaefer, F., Wittchen, H.-U., Zabransky, S., Zellner, K., Ziegler, A., Hebebrand, J.: Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschr. Kinderheilkd.* 1849, 807-818 (2001).

Raben, A., Astrup, A., Vasilaras, T. H., Prentice, A. M., Zunft, H.-J. F., Formiguera, X., Verboeket-van de Venne, W. P., Poppitt, S. D., Seppelt, B., Johnston, S., Keogh, G. F., Saris, W. H.: [The CARMEN trial: increased intake of carbohydrates--simple or complex- and unchanged blood lipids in overweight subjects]. *Ugeskr. Laeger.* 164, 627-631 (Danish) (2002).

Ulbricht, G.: Einstellungen zum Obst- und Gemüseverzehr und ihr Einfluß auf die Ernährungsbilanz. *Ern. Umschau* 49, 305-308 (2002).

Ulbricht, G.: Nutritional information and consumer behaviour - their relationship to nutritional balance. A study conducted in Berlin. *Food Service Technol.* 2, 5-11 (2002).

Zunft, H.-J. F., Lüder, W., Harde, A., Haber, B., Graubaus, H. J., Gruenwald, J.: Carob pulp preparation for treatment of hypercholesterolemia. *Adv. Ther.* 18, 230-236 (2001).

### Übersichtsarbeiten/Reviews

Koebnick, C., Heins, U., Hoffmann, I., Leitzmann, C.: Die Bedeutung von Vitamin B12 in der Schwangerschaft und daraus resultierende Empfehlungen für die Schwangerschaftsvorsorge. *Geburtshilfe Frauenheilk.* 62, 227-33 (2002).

Zunft, H.-J. F., Seppelt, B.: Einfache oder komplexe Kohlenhydrate: Welche sollen bevorzugt werden? *Gordian Int. J. Food Technol.* 100, 183-185 (2001).

### Buchbeiträge/Articles in Books

Ulbricht, G., Zunft, H.-J. F.: Stichworte zu Ernährungspolitik, -ökonomie und -epidemiologie. In: *Lexikon der Ernährung, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg Berlin*, (2001).

Zunft, H.-J. F.: Functional Food in der Prävention und Therapie der Adipositas. In: Erbersdobler, H. F., Meyer, A. H. (eds.) *Praxishandbuch Functional Food*, Behr's Verlag, Hamburg, Abschnitt 10.2, S. 1-28 (2001).

Zunft, H.-J. F. (Übersetzung und Bearbeitung): Nährstoffbedarf und Ernährungsbewertung; Mangelernährung und Beurteilung des Ernährungszustandes; Vitamine und Spurenelemente - Mangel und Überschuss; Adipositas; Essstörungen. In: *Harrisons Innere Medizin, ABW Wissenschaftsverlag*, 15. Auflage, Band 1, Teil 5: Kap. 73-75, 77, 78, S. 499-522, 533-545 (2002).

### Sonstige/Others

Moeseneder, J. M., Seppelt, B., Zunft, H.-J. F.: Ad libitum consumption of a low-fat diet rich in dairy products, fruits and vegetables fails to reduce blood pressure in German adults. *FASEB J.* 15, A275 (2001).

Seppelt, B., Zunft, H.-J. F.: Body weight development 6 years after a dietary intervention with low-fat products. *Int. J. Obes.* 25, Suppl. 2, S51 (2001).

Ulbricht, G.: Relationships between nutritional behaviour and nutrient intake - results of a study, Berlin 1997. In: Edwards, J. S. A., Hewedi, M. M. (eds.) *Culinary Arts and Sciences III. Global and Nutritional Perspectives*. Bournemouth University (2002).

Ulbricht, G.: Werden regionale Produkte vom Verbraucher bevorzugt? Ergebnisse einer Konsumentenbefragung in Berlin. *Berichte der Bundesforschungsanstalt für Ernährung Karlsruhe*, 157-166 (2002).

Das wissenschaftliche Forschungsfeld der Abteilung Epidemiologie ist die Beziehung zwischen Lebensstilfaktoren, biologischen Parametern und Erkrankungsrisiko.

Der besondere Schwerpunkt liegt dabei auf Krebserkrankungen, Herz-Kreislauf-erkrankungen, Metabolischem Syndrom und Diabetes mellitus.

Ein weiteres Forschungsgebiet ist die Rolle der Veränderung von Ernährungsgewohnheiten und anderer Lebensstilfaktoren für die Entstehung von chronischen Erkrankungen. Methodische Fragestellungen prägen einen Teil des wissenschaftlichen Profils; es gilt, die Qualität der Aussagen zu Ätiologie und Prävention der untersuchten Erkrankungen zu verbessern.

teilnehmern. Ziel ist, den Einfluss der Ernährung auf die Entstehung von Krebs und andere chronische Erkrankungen zu erforschen.

### Nachbeobachtung

Die 1994 begonnene EPIC-Potsdam-Studie ist als Langzeitstudie mit einer Nachbeobachtungszeit von 20 Jahren konzipiert worden. Im Studienzeitraum werden sowohl Daten über das Auftreten von neuen Erkrankungen als auch über den weiteren Verlauf der einmal gemessenen Faktoren (Rauchen, Ernährung, körperliche Aktivität, Medikamenten- und Hormoneinnahme usw.) gesammelt; das Spektrum der erfragten Erkrankungen umfasst 24 chronische Erkrankungen. Der Kontakt zu den Studienteilnehmern erfolgt mit Fragebögen,



### Abbildung 1

Die zu Beginn der EPIC-Studie entnommenen Blutproben wurden in Flüssigstickstoff eingelagert und stehen für biochemische und molekulargenetische Untersuchungen zur Verfügung.

### EPIC-Potsdam-Studie

Manuela Bergmann, Wolfgang Fleischhauer, Eva Fischer

Die European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam-Studie, eine prospektive Kohortenstudie mit 27 548 Teilnehmern (Frauen im Alter von 35 bis 64 Jahren und Männer im Alter von 40 bis 64 Jahren), ist Teil einer europäischen Kohortenstudie mit insgesamt ca. 521 000 Studien-

die maschinell eingelesen und bei Bedarf telefonisch ergänzt werden. In den ersten beiden Runden der Nachbeobachtung (2-Jahresabstand) haben jeweils 96 % der Teilnehmer geantwortet. Gegenwärtig wird der dritte Fragebogen versendet, der einen überarbeiteten Ernährungsfragebogen enthält. Zur Erhebung medizinisch korrekter Erkrankungsdiagnosen arbeitet die Studie mit Gesundheitsämtern, Ärzten, Kliniken und anderen Organisationen eng zusammen.

## Department of Epidemiology

Head: PD Dr. Heiner Boeing

The field of research of the Department of Epidemiology is the relation between lifestyle factors, biological parameters, and the risk of chronic diseases. The focus will be mainly on various cancer sites, cardiovascular heart disease, diabetes, and the metabolic syndrome. Another area of interest is the change of dietary habits and other lifestyle factors over time in relation to chronic diseases. Methodological issues are part of the scientific profile of the department with the overall aim to improve the quality of results concerning the etiology and prevention of diseases.

### The EPIC-Potsdam Study

The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study, a prospective cohort study with 27 548 participants (women, age 35-64 years, and men, age 40-64 years), is part of a European cohort study with around 521 000 subjects. The aim of the study is to investigate the effect of nutrition on the development of cancer and other chronic diseases.

### Follow-up

The EPIC-Potsdam Study started in 1994 and is a long-term study with a follow-up period of about 20 years. During this time period, data on the incidence of diseases as well as changes in factors assessed during baseline examination (smoking status, diet, physical activity, medication and hormone use) are generated. Occurrence data are collected for 24 chronic diseases from study participants. Contact with the study participants is maintained with mailed follow-up questionnaires, which are scanned when returned and complemented with information obtained via telephone contact. The response rate of the first two follow-up questionnaires (sent every other year) was 96%. Currently, the third follow-up questionnaire, which includes a revised food-frequency questionnaire, is being mailed. The EPIC-Potsdam Study collaborates with a number of local health-related institutions to determine if diseases reported have been diagnosed correctly.

### Biological samples

During the baseline examination, 1994-1998, blood samples (30 ml) were fractionated and divided into portions, and frozen in  $-196^{\circ}\text{C}$  liquid nitrogen. A portion of the remaining material was also stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  (Fig. 1). The assessment of the genetic factors affecting the development of diseases requires the exact isolation of DNA material. Up until now, DNA has been extracted from approximately 5000 blood samples from incident cases of chronic diseases. The variability of the genetic information and its association with both intermediate biomarkers and disease risk will be examined.



Figure 1  
Blood samples collected during the baseline examination samples were frozen in liquid nitrogen and may be used for biochemical and molecular-genetical research

## International EPIC Study

Scientists from the 23 administrative EPIC centers in 10 countries analyze the data on an European level. Preliminary results are available for the most frequent cancer sites such as colorectal, breast, lung, prostate, stomach, kidney, and cervical cancer. In addition, the exposure factors such as anthropometric data, physical activity, hormone use, and reproductive behavior are assessed.

## Results

### Methodological research

The comparability of dietary assessments obtained by use of country-specific food-frequency questionnaires remains an important issue in dietary assessment studies. Therefore, standardized 24-hour dietary recalls were collected in a representative sample of around 8% of the EPIC-study participants. These short-term recalls serve as a reference standard for calibration of the food-frequency questionnaire data. We developed a new non-linear calibration method to ensure that center-specific data are mixed correctly.

Another methodological problem is the assessment of dietary patterns reflecting specific dietary habits. Within a given population, dietary patterns integrate food items which are highly correlated with each other. The use of dietary patterns, instead of individual food items, may improve the statistical models when investigating diet-disease relations. In a project funded by the DFG, different analytical procedures in identifying unique dietary patterns were empirically compared.

## Cancer

International research findings indicate that a healthy lifestyle (physical activity, weight control, diet rich in fruit and vegetables, no smoking and alcohol consumption) reduces the risk of cancer. For instance, weight gain is an important factor within the framework of cancer prevention. Recent descriptive analyses of the EPIC data (on a European level) were presented during an international conference on "Nutrition and Cancer" in Lyon, France, in 2001 (IARC Scientific Publications No. 156, 2002) and published in 15 additional articles (Public Health Nutrition, 2002;5(6B): 1147-1162) in December, 2002.

## Biologische Proben

Bei der Erstuntersuchung zwischen 1994 und 1998 wurden 30 ml Blut fraktioniert und in mehreren Portionen bei -196°C in Flüssigstickstoff eingefroren; ein Restblutanteil wurde zusätzlich bei -80°C eingelagert (Abb.1). Die Erfassung der Bedeutung genetischer Faktoren bei der Krankheitsentstehung setzt eine gezielte Aufarbeitung der Proben zur DNA-Gewinnung voraus. Eine Extraktion der DNA wurde inzwischen bei etwa 5000 Blutproben von Neuerkrankungsfällen vorgenommen, die Variabilität der genetischen Information und ihr Bezug zu intermediären Biomarkern und dem Krankheitsrisiko wird erforscht.

## EPIC-Studie International

Die Daten werden auf europäischer Ebene von den Wissenschaftlern der 23 administrativen EPIC-Studienzentren der 10 beteiligten Länder ausgewertet.

## Forschungsergebnisse

### Methodische Fragestellungen

Kurt Hoffmann, Matthias Schulze, Ute Nöthlings, Dietmar Walter

Ein zentrales methodisches Problem bei Verzehrstudien ist die Vergleichbarkeit von Verzehrsmengen, die aus unterschiedlichen länderspezifischen Ernährungsfragebögen ermittelt werden. Um die Vergleichbarkeit der Daten herzustellen, haben ca. 8 % aller EPIC-Studienteilnehmer standardisierte 24-Stunden-Erinnerungsprotokolle ausgefüllt. Diese Kurzzeitmessungen dienen als Referenzstandard bei einer Kalibrierung der Fragebogendaten. Wir entwickelten ein neues nichtlineares Kalibrierungsverfahren, das nun ein korrektes Durchmischen der Daten verschiedener Zentren sicher stellt. Ein zweites methodisches Problem ist die Bestimmung von Ernährungsmustern, die typische Ernährungsweisen widerspiegeln.

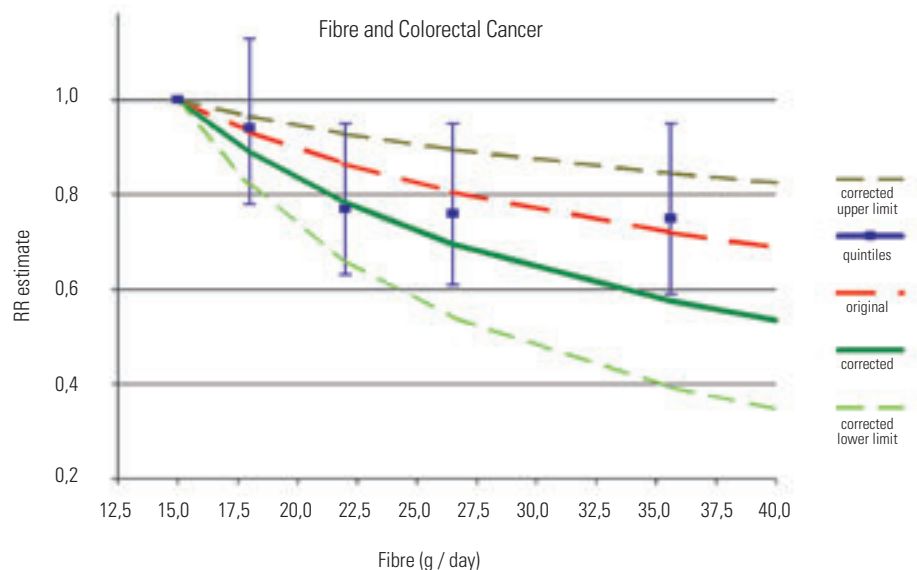


Abbildung 2

Relatives Risiko (RR) des kolorektalen Karzinoms in Zusammenhang mit der Ballaststoffzufuhr. Das relative Risiko wurde anhand von drei verschiedenen statistischen Modellen berechnet:

1. Ballaststoffzufuhr berechnet als kategorische Größe sog. Quintile
2. Ballaststoffzufuhr berechnet als stetige Größe
3. Ballaststoffzufuhr berechnet als stetige Größe und korrigiert für Messfehler.

Nach: Lancet 2003, 361:1496-501

Für häufig auftretende Krebslokalisationen wie Darm, Brust, Lunge, Prostata, Magen, Niere, Gebärmutterhals liegen erste Ergebnisse vor. Außerdem werden Expositionsfaktoren wie Anthropometrie, körperliche Aktivität, Hormoneinnahme und reproduktives Verhalten erfasst.

Sie fassen Lebensmittel zusammen, deren durchschnittliche Verzehrsmengen in der Population hoch korreliert sind. Die Verwendung von Ernährungsmustern anstelle einzelner Lebensmittel bei der Modellierung des Zusammenhanges von Ernährung und chronischen Erkrankungen kann zu einer Verbesserung der Modelle führen. Im Rahmen eines DFG-Projekts wurden die verschiedenen Methoden zur Herleitung von Ernährungsmustern miteinander empirisch verglichen.

## Figure 2

Relative risk of colorectal cancer associated with fibre intake. The relative risk was estimated using three different statistical models:

- 1-quintile values of fibre
- 2-fibre intake as a continuous variable
- 3-fibre intake as a continuous variable from the dietary questionnaires corrected for measurement errors

Source: Lancet 2003, 361:1496-501

## Krebserkrankungen

Petra Lahmann, Heiner Boeing,  
Anja Kroke, Marjorie Haftenberger

Mittlerweile zeigen weltweit gewonnene Forschungsergebnisse, dass ein gesunder Lebensstil (körperliche Bewegung, Gewichtskontrolle, obst- und gemüsereiche Ernährung, Nikotinverzicht, kein Alkohol) das Krebsrisiko senkt. So ist z.B. die Gewichtszunahme in der Bevölkerung auch im Rahmen der Krebsprävention ein wichtiger Faktor. Erste beschreibende Auswertungen der EPIC-Daten auf europäischer Ebene wurden auf einer internationalen Tagung über das Thema "Ernährung und Krebs" in Lyon, Frankreich, im Jahr 2001 präsentiert (IARC Scientific Publications No. 156, 2002) und in weiteren 15 Artikeln zusammengefasst, die in der Zeitschrift *Public Health Nutrition* im Dezember 2002 veröffentlicht wurden.

zufuhr von durchschnittlich 13,0 g/Tag auf mehr als 36,0 g/Tag mit einem bis zu 40 % erniedrigten Darmkrebsrisiko assoziiert ist (Abb.2). Die Herkunft des Ballaststoffes spielt hierbei keine besondere Rolle. Abhängig von der Krebslokalisierung sind die Ergebnisse der EPIC-Studie hinsichtlich des Obst- und Gemüseverzehrs unterschiedlich. Beim Lungenkarzinom lag eine Risikosenkung von 39 % durch erhöhten Obstverzehr (69,0 g versus >490,0 g/Tag) vor. Für Gemüseverzehr hingegen war keine Wirkung erkennbar. Bei Karzinomen des oberen Verdauungstraktes wurde eine risikosenkende Wirkung der Obst- und Gemüsezufuhr (287 g versus >456 g/Tag) von 45 % beobachtet, während eine Obst- und Gemüseassoziation beim Prostata- und Brustkrebs nicht festgestellt werden konnte. Ergebnisse zum Zusammenhang zwischen Adipositas und Brustkrebs zeigen, dass bei postmenopausalen Frauen,

Within the two German EPIC cohorts, 1482 incident cancer cases were identified until the end of 2002, including 773 cases in the Potsdam cohort. The first EPIC analyses focused primarily on investigating the impact of fiber or of fruit and vegetable intake. The findings, corrected for measurement error, indicate that an increase in fiber intake from 13.0 g/day on the average to more than 36.0 g/day is associated with an up to 40% reduced risk of colorectal cancer in both European men and women (Fig.1), irrespective of fiber source. The EPIC findings on fruit and vegetable intake show different relations, depending on the cancer site. A protective effect of 39% risk reduction by increased fruit consumption, (69.0 g versus >490.0 g/day) but not of vegetables was observed for lung cancer. Fruit and vegetables reduced the risk for carcinoma of the upper gastro-intestinal tract by 45% (287 g versus >456g/day); this effect was not observed for prostate or breast cancer.

The investigation of body weight and breast cancer risk showed that among postmenopausal women who are not using hormonal replacement therapy, obesity is a significant and independent risk factor for breast cancer. In a few studies it has been reported that physical activity reduces the risk of breast cancer. This aspect will be studied in more depth within the EPIC cohort. The range of leisure physical activity varies substantially among the countries involved in the EPIC Study (Fig. 2).

Left over samples from the VERA Study (biological samples from 2000 subjects) were used for a project on breast cancer. In collaboration with Dr. T. Stürmer and co-workers from the research group headed by Prof. H. Brenner, Zentrum für Altersforschung (Center for Gerontology) in Heidelberg, we were able to identify a genetically determined alloenzyme of the alcohol dehydrogenase that modifies the relation between alcohol consumption and breast cancer risk. In a case-control study of colorectal cancer, which was done in collaboration with the Department of Toxicology (DIF) and a research group from Barcelona, an interaction between the effect of alcohol consumption and alloenzymes of sulfotransferases was documented.

## Cardiovascular disease

Cardiovascular diseases - specifically coronary heart disease (CHD) and stroke - are the major causes of death in Germany. Nutrition and lifestyle are affecting the main risk factors for CHD. In the EPIC-Potsdam Study we investigated the relation between dietary patterns and risk of hypertension in 172 incident cases of hypertension. This study was funded by the DFG. A dietary pattern with a high intake of fruit, vegetables, and milk products appears to be associated with a lower risk of hypertension.

Another project based on data of the EPIC-Potsdam

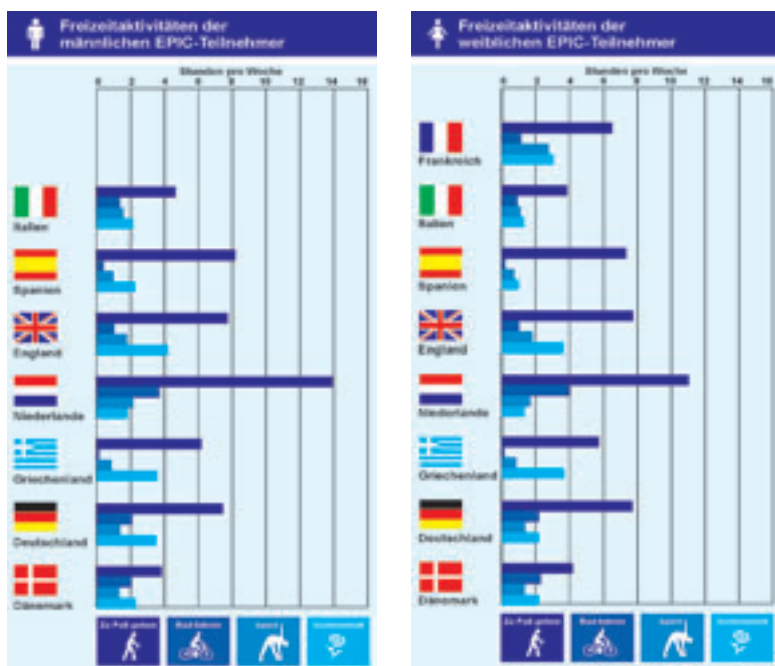


Abbildung 3  
Freizeitaktivitäten in den Ländern der EPIC-Studie

In der gesamtdeutschen Kohorte sind bis Ende 2002 insgesamt 1482 Krebserkrankungen aufgetreten, davon 773 in der Potsdamer Kohorte. Für die ersten prospektiven Analysen der EPIC-Daten standen die Bedeutung der Ballaststoffzufuhr und des Obst- und Gemüseverzehrs im Mittelpunkt verschiedener Auswertungen. Die Ergebnisse der für die Messfehler bereinigten EPIC-Auswertung zeigen, dass sowohl bei Männern als auch Frauen eine erhöhte Ballaststoff-

die sich keiner Hormonersatztherapie unterziehen, Übergewicht ein signifikanter und unabhängiger Risikofaktor für Brustkrebs ist. In einigen wenigen Studien konnte gezeigt werden, dass körperliche Aktivität einen protektiven Effekt auf die Brustkrebsentstehung hat. Dies soll gezielt in der EPIC-Kohorte weiter untersucht werden. Unterschiede im Umfang der Freizeitaktivität werden innerhalb der beteiligten Länder der EPIC-Studie sehr deutlich sichtbar (Abb.3).

Figure 3  
Leisure physical activity in the countries involved in the EPIC-study

cohort is conducted within the BMBF-network project "Molecular nutrition research" in collaboration with the University of Magdeburg. Genetic determinants of the homocysteine and folic acid metabolism are used to examine the relation between nutritional and lifestyle factors and the risk of myocardial infarction or stroke.

A population-based case-control study (Coronare Risikofaktoren für Arteriosklerose bei Frauen) in women from the city of Hamburg was conducted in collaboration with Prof. E. Windler, University Hospital Hamburg-Eppendorf. Two hundred cases of cardiovascular heart disease and 255 control women were interviewed in 1999 and 2000. The findings can be translated into a number of preventive measures concerning coronary heart disease in women: a diet low in meat, meat products, and other calorically dense foods but high in fruits and vegetables, regular physical activity, and no smoking are beneficial.

#### **Diabetes and the metabolic syndrome**

Important results regarding the pathogenesis of type-2 diabetes were generated in collaboration with the Department of Clinical Nutrition (DiF). Type-2 diabetes is characterized by a marked insulin resistance due to impaired insulin secretion and decreased plasma insulin concentrations. The research hypothesis under investigation was that type-2 diabetes is a manifestation of an ongoing inflammatory acute-phase response that is characterized by alterations in so-called acute-phase proteins.

Findings of a case-control study embedded in the EPIC-Potsdam Study indicate that an increase of inflammatory markers in the blood, such as interleukin IL-6 and IL-1 $\beta$ , is associated with an elevated risk of type-2 diabetes. In contrast, adiponectin, an adipocyte-derived peptide, reduces the risk. Furthermore, the significance of genetically induced enzyme variants will be studied.

Another complementary study on diabetes is being done in collaboration with Prof. Schrezenmeir and the research group in the network "Molecular nutrition research" in Kiel. The project includes participants in the EPIC-Potsdam Study who have been type-2 diabetes patients for several years. The research objective is to examine proteins responsible for transport and binding of fatty acids and their genetic polymorphisms. We study lifestyle factors in relation to the metabolic syndrome, taking into account biochemical and molecular characteristics.

Overweight is an established risk factor for the metabolic syndrome. However, there is lack of prospective data on weight development and the associated manifestations of the metabolic syndrome. Preliminary results of the EPIC-Potsdam Study indicate that weight gain in early adulthood (age 25-40 years) has a greater effect with regard to the risk of diabetes than does weight gain after the age of 40 years (38% and 21% increased risk, respectively).

Durch Nutzung der Restseren der VERA-Studie (Biologische Materialien und biochemische Messgrößen von 2000 Probanden liegen vor) als Referenz wurde von T. Stürmer und Mitarbeitern aus der Arbeitsgruppe von Prof. H. Brenner, Zentrum für Altersforschung Heidelberg, und uns der Nachweis erbracht, dass ein genetisch bedingtes Alloenzym der Alkoholdehydrogenase das Erkrankungsrisiko für Brustkrebs in Verbindung mit der Alkoholaufnahme modifiziert. Mit der Abteilung Toxikologie des DiF und einer Gruppe aus Barcelona konnte im Rahmen einer Fall-Kontrollstudie mit Dickdarmkarzinomkranken eine Interaktion zwischen der Alkoholwirkung und Alloenzymen der Sulfotransferasen entdeckt werden.

#### **Herz-Kreislaufkrankungen**

*Kerstin Klipstein-Grobusch,  
Dagmar Drogan, Manuela Bergmann*

Arteriosklerotische Herz-Kreislauf-Erkrankungen – insbesondere die koronare Herzkrankheit (KHK) und der Schlaganfall – zählen in Deutschland zu den führenden Todesursachen. Ernährung und Lebensstil spielen hinsichtlich der Beeinflussung klassischer Risikofaktoren für die KHK eine zentrale Rolle. In einer von der DFG geförderten Studie wurde die Beziehung von Ernährungsmustern zum Hypertonierisiko prospektiv an 172 inzidenten Hypertonikern in der EPIC-Potsdam-Studie untersucht. Insbesondere ein Ernährungsmuster, das durch hohe Aufnahmen von Obst, Gemüse und Milchprodukten gekennzeichnet ist, scheint mit einem verminderten Hypertonierisiko assoziiert zu sein.

Im Rahmen eines BMBF-Netzwerkprojektes zur "Molekularen Ernährungsforschung" mit der Universität Magdeburg werden genetische Determinanten des Homocystein- und Folsäuremetabolismus in der EPIC-Potsdam-Studie für Untersuchungen zur Beziehung von Ernährungs- und Lebensstilfaktoren und dem Myokard- bzw. Schlaganfallrisiko herangezogen. Gemeinsam mit Prof. E. Windler vom Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf wurde eine populationsbezogene Fall-Kontroll-Studie (Coronare Risikofaktoren für Arteriosklerose bei Frauen) in Hamburg durchgeführt. 200 an Herz-Kreislaufkrankungen erkrankte Frauen und 255 Kontrollpersonen wurden 1999 und 2000 befragt. Die Ergebnisse zeigen eine Reihe realisierbarer Maßnahmen zur Prävention von Herz-Kreislauf-Erkrankungen bei Frauen auf: eine Ernährung mit weniger Fleisch, Wurst und anderen kaloriendichten Lebensmitteln zugunsten von mehr Obst und Gemüse, begleitet von regelmäßiger körperlicher Aktivität und Verzicht auf Nikotin ist von Vorteil.

#### **Diabetes mellitus und Metabolisches Syndrom**

*Heiner Boeing, Anja Kroke, Anja Schienkiewitz*

Wichtige Ergebnisse zur Pathophysiologie des Diabetes-mellitus-Typ-2 konnten in Zusammenarbeit mit der Abteilung Klinische Ernährung des DiF gefunden werden. Gekennzeichnet durch einen relativen Insulinmangel aufgrund einer Störung der Insulinsekretion, geht der Typ-2-Diabetes gewöhnlich mit einer – mehr oder weniger – ausgeprägten Insulinresistenz einher. Der Vermutung, dass der Typ-2-Diabetes Folge einer andauernden entzündlichen Akut-Phase-Reaktion ist, deren Veränderungen in den Akut-Phase-Proteinen sichtbar wird, wurde zuerst nachgegangen.

In einer in die EPIC-Potsdam-Studie eingebetteten Fall-Kontroll-Studie konnte gezeigt werden, dass erhöhte Entzündungsparameter im Blut, wie Interleukin IL-6, IL-1 $\beta$  mit einem größeren Erkrankungsrisiko für Typ-2-Diabetes assoziiert sind. Ebenso konnte gezeigt werden, dass z.B. andere Stoffwechselprodukte der Fettzelle wie das Adiponectin risikosenkend wirken. Von wissenschaftlichem Interesse ist auch die Bedeutung genetisch bedingter Enzymvarianten. Ergänzt wird die epidemiologische Erforschung des Krankheitsbildes Typ-2-Diabetes durch die Zusammenarbeit mit Prof. Schrezenmeir und der Forschergruppe im Netzwerk "Molekulare Ernährungsforschung Kiel".

Die gemeinsamen Untersuchungen erstrecken sich auf die Studienteilnehmer der EPIC-Potsdam-Studie, die schon länger an Typ-2-Diabetes erkrankt sind. Erforscht werden Transport- und Bindungsproteine der Fettsäuren und deren genetische Varianten. Für das Metabolische Syndrom untersuchen wir Lebensstilfaktoren unter Berücksichtigung der biochemischen und molekulargenetischen Befunde. Während die Bedeutung des Übergewichts als Risikofaktor unumstritten ist, gibt es z. B. kaum prospektive Daten zu Gewichtsentwicklung und Diabetesrisiko. Die bisherigen Auswertungen der EPIC-Potsdam-Kohorte dazu ergaben, dass ein Gewichtsanstieg im frühen Erwachsenenalter zwischen 25 und 40 Jahren einen größeren Einfluss auf das Erkrankungsrisiko besitzt, einen Typ-2-Diabetes zu entwickeln, als der Gewichtsanstieg nach dem 40. Lebensjahr (38 % bzw. 21 % erhöhtes Risiko).

Ausgewählte Publikationen  
Selected Publications

**Originalarbeiten/Original Papers**

Berg, G., Bode, G., Blettner, M., Boeing, H., Brenner, H.: Helicobacter pylori infection and serum ferritin: A population-based study among 1806 adults in Germany. *Am. J. Gastroenterol.* 96, 1014-1018 (2001).

Bianchini, F., Jeckel, A., Vineis, P., Martinez-Garcia, C., Elmstahl, S., van Kappel, A. L., Boeing, H., Ohshima, H., Riboli, E., Kaaks R.: Inverse correlation between alcohol consumption and lymphocyte levels of 8-hydroxydeoxyguanosine in humans. *Carcinogenesis* 22, 885-890 (2001).

Bingham, S. A., Day, N. E., Luben, R., Ferrari, P., Slimani, N., Norat, T., Clavel-Chapelon, F., Kesse, E., Nieters, A., Boeing, H., Tjønneland, A., Overvad, K., Martinez, C., Dorronsoro, M., Gonzalez, C. A., Key, T. J., Trichopoulou, A., Naska, A., Vineis, P., Tumino, R., Krogh, V., Bueno-de-Mesquita, H. B., Peeters, P.H.M., Berglund, G., Hallmans, G., Lund, E. Skeie, G., Kaaks, R., Riboli, E.  
Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study  
*Lancet* Vol 361, 1496-1501 (2003).

Dierkes, J., Jeckel, A., Ambrosch, A., Westphal, S., Luley, C., Boeing, H.: Factors explaining the difference of total homocysteine between men and women in the European Investigation Into Cancer and Nutrition Potsdam Study. *Metabolism* 50, 640-645 (2001).

Hoffmann, K., Kroke, A., Klipstein-Grobusch, K., Boeing, H.: Standardization of dietary intake measurements by nonlinear calibration using short-term reference data. *Am. J. Epidemiol.* 156, 862-870 (2002).

Hoffmann, K., Boeing, H., Dufour, A., Volatier, J. L., Telman, J., Virtanen, M., Becker, W., De Henauw S.: Estimating the distribution of usual dietary intake by short-term measurements. *Eur. J. Clin. Nutr.* 56, Suppl 2, S53-S62 (2002).

Imhof, A., Froehlich, M., Brenner, H., Boeing, H., Pepys, M. B., Koenig, W.: Effect of alcohol consumption on systemic markers of inflammation. *Lancet* 357 (9258), 763-767 (2001).

Klipstein-Grobusch, K., den Breeijen, J. H., Grobbee, D. E., Boeing, H., Hofman, A., Witteman, J. C.: Dietary antioxidants and peripheral arterial disease: The Rotterdam Study. *Am. J. Epidemiol.* 154, 145-149 (2001).

Kroke, A., Klipstein-Grobusch, K., Hoffmann, K., Terbeck, I., Boeing, H., Helander, A.: Comparison of self-reported alcohol intake with the urinary excretion of 5-hydroxytryptophol: 5-hydroxyindole-3-acetic acid, a biomarker of recent alcohol intake. *Br. J. Nutr.* 85, 621-627 (2001).

Kroke, A., Liese, A. D., Schulz, M., Bergmann, M. M., Klipstein-Grobusch, K., Hoffmann, K., Boeing, H.: Recent weight changes and weight cycling as predictors of subsequent two years weight change in a middle-aged cohort. *Int. J. Obes.* 26, 403-409 (2002).

Ovesen, L., Boeing, H.: The use of biomarkers in multicentric studies with particular consideration of iodine, sodium, iron, folate, and vitamin D. *Eur. J. Clin. Nutr.* 56, Suppl. 2, S12-S17 (2002).

Riboli, E.; Hunt KJ; Slimani, N.; Ferrari, P.; Norat, T.; Fahey, M.; Charrondiere, U.R.; Hemon B.; Casagrande, C.; Vignat, J.; Overvad, K.; Tjønneland, A.; Clavel-Chapelon, F.; Thiebaut, A.; Wahrendorf, J.; Boeing, H.; Trichopoulos, D.; Trichopoulou, A.; Vineis, P.; Palli, D.; Bueno-De-Mesquita, H.B.; Peeters, P.H.; Lund, E.; Engeset, D.; Gonzalez, C.A.; Barricarte, A.; Berglund, G.; Hallmans, G.; Day, N.E.; Key, T.J.; Kaaks, R.; Saracci, R., EPIC: study populations and data collection. *Public Health Nutr.* 1113-1124 (2002).

Schulz, M., Kroke, A., Liese, A. D., Hoffmann, K., Bergmann, M. M., Boeing, H.: Food groups as predictors for short-term weight changes in men and women of the EPIC-Potsdam cohort. *J. Nutr.* 132, 1335-1340 (2002).

Schulze, M. B., Hoffmann, K., Kroke, A., Boeing, H.: Dietary patterns and their association with food and nutrient intake in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam study. *Br. J. Nutr.* 85, 363-373 (Erratum: *Br. J. Nutr.* 87 (2002), 279) (2001).

Stürmer, T., Wang-Gohrke, S., Arndt, V., Boeing, H., Kong, X., Kreienberg, R., Brenner, H.: Interaction between alcohol dehydrogenase II gene, alcohol consumption, and risk for breast cancer. *Br. J. Cancer* 87, 519-523 (2002).

van den Brandt, P., Voorrips, L., Hertz-Picciotto, I., Shuker, D., Boeing, H., Speijers, G., Guittard, C., Kleiner, J., Knowles, M., Wolk, A., Goldbohm, A.: The contribution of epidemiology. *Food Chem. Toxicol.* 40, 387-424 (2002).

Drittmittelprojekte  
External Funding

Titel: Langzeitstudie zum Einfluss der Ernährung auf die Entstehung von Krebserkrankungen - European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition EPIC  
Finanzierung: Deutsche Krebshilfe  
Laufzeit: 01/00-09/06

Titel: The role of diet in the aetiology of Crohn's disease and ulcerative colitis - a pilot study in a European prospective cohort study.  
Finanzierung: Kooperation mit Norwich Health Care NHS Trust, Großbritannien  
Laufzeit: 07/00-12/01

Titel: Ernährungsmuster als neuer Ansatz zum Verständnis der Rolle der Ernährung in der Ätiologie der essentiellen arteriellen Hypertonie/Nutritional pattern as a new approach to understanding the role of nutrition in the etiology of essential arterial hypertension  
Finanzierung: DFG  
Laufzeit: 06/00-05/02

Titel: EPIC-Studie: European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition  
Finanzierung: EU  
Laufzeit: 04/99-08/03

Titel: EPIC-ELDERLY: concerted action: The role of diet on the longevity of elderly Europeans - A study in the context of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition  
Finanzierung: EU  
Laufzeit: 01/02-12/04

Titel: Prospektive epidemiologische Untersuchungen zum Einfluss von Ernährungsfaktoren auf das osteoporotische Frakturrisiko  
Finanzierung: Institut Danone für Ernährung  
Laufzeit: 2001

Titel: Genetische Determinanten des Homocystein- und Folsäuremetabolismus, Netzwerk Molekulare Ernährungsforschung: Koordinator Magdeburg  
Finanzierung: BMBF  
Laufzeit: 02/01-01/05

Titel: Nahrungsfette und Stoffwechsel - Genvariabilität, -regulation, -funktion und funktionelle Lebensmittelinhaltsstoffe, Netzwerk Molekulare Ernährungsforschung: Koordinator Kiel  
Finanzierung: BMBF  
Laufzeit: 04/02-03/05

Titel: Untersuchung der Lebensqualität von Patienten mit rheumatischer Arthritis und Spondylarthritis  
Finanzierung: Industrie über Universität Erlangen  
Laufzeit: 08/01-01/03

Titel: Tumorentstehung - hemmende und fördernde Ernährungsfaktoren (Beitrag zum Ernährungsbericht 2004)  
Finanzierung: Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung  
Laufzeit: 12/02-05/03

## Department of Nutritional Toxicology Head: Prof. Dr. Hans-Rudolf Glatt

Food not only consists of nutrients, but also contains natural and anthropogenic *non-nutritive* components (*xenobiotics*). Xenobiotics are major factors which determine smell, taste and look of foods. Many may be absorbed and interfere with functions of the organism. Independent of whether these effects are favorable or harmful in the individual case, an accumulation of xenobiotics has to be avoided. The elimination of xenobiotics usually involves their structural transformation. Although this *biotransformation* means a detoxification in principle, it can lead to highly toxic metabolites in some cases. Biotransformation is therefore a central aspect for understanding toxicological effects, in particular as it is extremely variable.

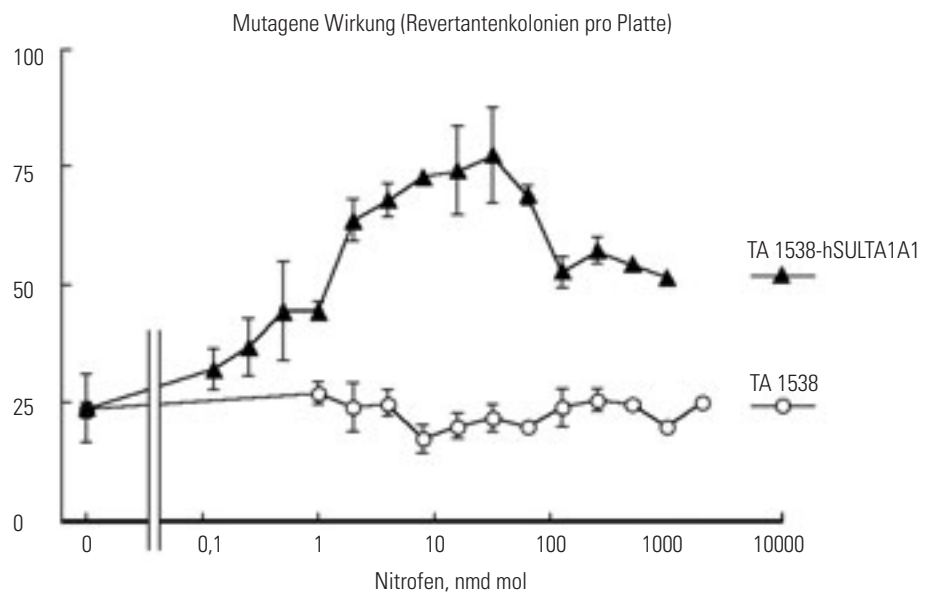
The studies in this department are aimed at the determination of natural and anthropogenic toxic substances in food, the elucidation of their mechanism of action, and the assessment of the type and extent of the resulting health risks. In addition, individual genetic factors and nutritional effects which enhance or reduce the risks should be recognized. Toxicological effects mediated by chemically reactive metabolites are of special interest because, even at low exposure, they may lead to irreversible and cumulating damage. The pathophysiological consequences of this damage - such as cancer, degenerative changes, allergy and malformation or inherited damage in descendants - are only manifested after a latency period, which can be several years or decades or sometimes even generations. Therefore, it is almost impossible to elucidate the causal relationships only by using epidemiological methods. Mechanism-based biomarkers for disposition, exposure, internal load and early pathophysiological changes are devised and integrated, in cooperation with the Department of Epidemiology, in studies on relationships between diet and health.

### Recombinant test systems for toxicological investigations

Biotransformation is determined primarily by the xenobiotic-metabolizing enzymes, whose levels and characteristics may extremely vary between species and tissues, and are also influenced by the individual genetic constitution, diet and other environmental factors. Due to the decisive role of biotransformation, these variations have to be taken into account in experimental and epidemiological investigations. Moreover, an appropriate biotransformation is a fundamental prerequisite for the usage of bacteria and cells in culture for toxicological investigations. Genetic engineering allows the expression of defined enzymes from human directly in cells used for toxicological studies.

Lebensmittel enthalten nicht nur *Nährstoffe*, sondern auch *nicht-nutritive Komponenten (Fremdstoffe)*. Diese können natürlichen oder anthropogenen Ursprungs sein und unter anderem Geruch, Geschmack und Aussehen von Nahrungsmitteln bestimmen. Viele Fremdstoffe werden absorbiert und wirken auf den Organismus ein. Unabhängig davon, ob die Wirkung im Einzelfall günstig oder ungünstig ist, muss eine Akkumulation vermieden werden. Die Elimination von Fremdstoffen ist oft mit einer stofflichen Umwandlung verbunden. Diese *Biotransformation* bedeutet in der Regel eine Entgiftung, kann aber im Einzelfall zur Bildung von stark toxischen Produkten führen. Sie ist ein zentraler Aspekt für das Verständnis vieler toxikologischer Wirkungen, zumal sie hoch variabel ist.

bei niedriger Exposition zu irreversiblen und kumulierenden Schäden führen können. Die pathophysiologischen Folgen – wie Krebs, degenerative Veränderungen, Allergien und Missbildungen oder Erbschäden in Nachkommen – manifestieren sich dabei typischerweise erst nach einer Latenzzeit, die Jahre, Jahrzehnte oder sogar mehrere Generationen betragen kann. Dies erschwert das Erfassen von ätiologischen Zusammenhängen mit epidemiologischen Methoden. Auf Mechanismen basierende Biomarker für Disposition, Exposition, interne Belastung und frühe pathophysiologische Wirkungen werden in Zusammenarbeit mit der Abteilung Epidemiologie in Untersuchungen über Zusammenhänge von Ernährung und Gesundheit integriert.



**Abbildung 1** Mutagenität von Nitrofen im konventionellen Stamm *Salmonella typhimurium* TA1538 (Kreise) und einem davon abgeleiteten Stamm, der die humane Sulfotransferase 1A1 exprimiert (Dreiecke). Die Abnahme der Zahl der Mutanten im Stamm TA1538-hSULT1A1 bei hohen Dosen beruht auf Toxizität.

Die Arbeit der Abteilung hat das Ziel, natürliche und anthropogene Schadstoffe in der Nahrung zu erfassen, deren Wirkungsmechanismen aufzuklären und Art und Höhe der sich ergebenden Gesundheitsrisiken abzuschätzen. Zudem sollen individuelle genetische Faktoren und Nahrungseinflüsse erkannt werden, die Risiken verstärken oder vermindern. Von besonderem Interesse sind Wirkungen, die durch chemisch reaktive Metaboliten vermittelt sind, da diese bereits

### Rekombinante Testsysteme für toxikologische Untersuchungen

Eva Muckel, Yungang Liu, Walter Meinel, Susanne Schlichter, Yasmin Sommer, Ulrike Pabel

Die Biotransformation wird in erster Linie durch *fremdstoffmetabolisierende Enzyme* bestimmt. Je nach Spezies, Gewebe, individuellen genetischen Faktoren, Ernährungsweise und anderen Umwelteinflüssen kann

**Figure 1** Mutagenicity of nitrofen to *Salmonella typhimurium* TA1538 (circles) and a TA1538-derived strain expressing human sulfotransferase 1A1 (triangles). The decrease in the number of revertant colonies at high dose levels is due to toxicity.



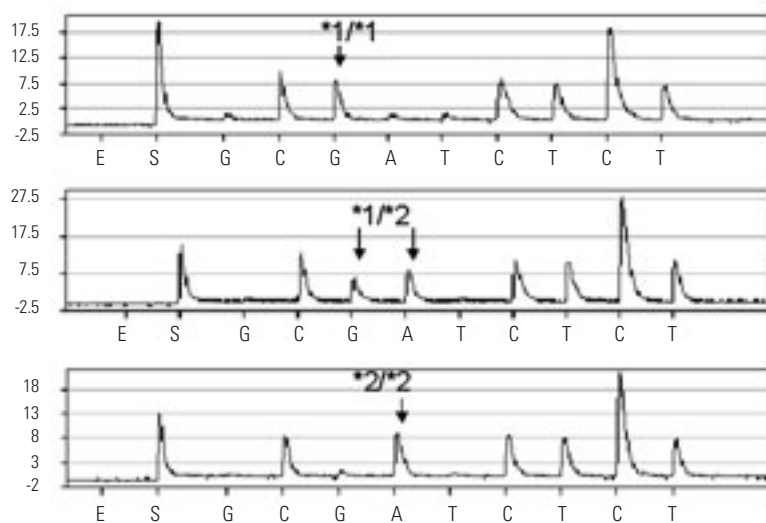
die Ausstattung mit diesen Enzymen und damit die Empfindlichkeit gegenüber Schadstoffen extrem unterschiedlich sein. Die Berücksichtigung der Biotransformation ist außerdem für die In-vitro-Toxikologie unentbehrlich. Hierzu exprimieren wir mit gentechnischen Methoden definierte Enzyme des Menschen in Zellen, die sich für toxikologische Studien eignen. Zur Zeit untersuchen wir vor allem die Sulfotransferasen (SULT), daneben auch Acetyltransferasen und Cytochrome P450. Die SULT zeichnen sich sowohl durch ein hohes Detoxifizierungs- wie auch ein hohes Toxifizierungspotenzial aus (in Abhängigkeit vom Wirkstoff). Wir haben bereits 18 SULT des Menschen und 17 SULT von Versuchstieren in In-vitro-Systemen exprimiert; eine humane Form haben wir überdies als Transgen in die Maus eingeschleust. Diese SULT waren in der Lage, allein oder in

tests), doch war es bereits in niedrigen Dosierungen mutagen, wenn die SULT1A1 des Menschen im Teststamm exprimiert wurde. Eine wesentlich geringere Mutagenität wurde bei Expression von SULT der Maus oder der Ratte gefunden. Es ist deshalb zu befürchten, dass Nitrofen im Menschen eine stärkere Wirkung entfaltet als in den Tiermodellen, in denen seine kanzerogene und teratogene Wirkung entdeckt wurde.

### Polymorphismen von SULT

Walter Meinel, Ronny Kollock, Heiko Schneider

Für mehrere SULT des Menschen sind genetische Polymorphismen nachgewiesen. SULT1A1 und 1A2 sind in der Lage, nahrungsrelevante Kanzerogene zu aktivieren und inaktivieren, wobei wir markante Unterschiede zwischen Alloenzymen entdeckten.



**Abbildung 2**

Genotypisierung der humanen Sulfotransferase 1A1 durch Pyrosequenzieren des Genschnittes  $C^{638}GCTCCCT$  (kodiert Arg<sup>213</sup>, hohe Enzymaktivität und -stabilität) bei Allel \*1 und  $C^{638}ACTCCCT$  (kodiert His<sup>213</sup>, reduzierte Aktivität/Stabilität) bei Allel \*2. Gezeigt sind die Ergebnisse für die drei möglichen Genotypen (homozygot für eine der beiden Formen oder heterozygot). E, S: negative und positive Kontrolle; A, C, G, T: Zugabe des betreffenden Desoxyribonucleotids (Lichtsignal bei Übereinstimmung mit der Sequenz).

Kombination mit Cytochromen P450, über 100 Stoffe (wovon viele in Nahrungsmitteln vorkommen) zu Mutagenen zu aktivieren. Häufig erfolgte die Aktivierung eines bestimmten Stoffes durch eine einzige oder wenige SULT, z. B. nur durch ein humanes Enzym, aber nicht durch Rattenenzyme. So erwies sich das in die Schlagzeilen geratene Nitrofen als inaktiv in konventionellen *Salmonella typhimurium* Stämmen (den Zielzellen des am häufigsten eingesetzten Mutagenitäts-

Zur Genotypisierung setzen wir die Restriktionsanalyse und das Pyrosequenzieren ein. Wir untersuchen, ob sich die Häufigkeit verschiedener SULT-Genotypen zwischen Tumorpatienten und Kontrollprobanden unterscheidet, wobei Ernährungsgewohnheiten mitberücksichtigt werden. In Zusammenarbeit mit der Gruppe von Ellen Kampman (Wageningen) fanden wir, dass Dickdarm-Adenome bei Rauchern mit dem schnellen SULT1A1-Genotyp assoziiert sind.

At present, we focus our research activities in this area on the sulfotransferases (SULT); in addition we are investigating acetyltransferases and cytochromes P450. The class of SULT is characterized by a high detoxification as well as a high toxification potential (depending on the chemical studied). We have expressed 18 human SULT and 17 SULT from laboratory animals in in vitro test systems. Furthermore we have introduced one SULT as a transgene into a mouse. SULT were capable of activating more than 100 chemicals, including many food-borne compounds, to mutagens. The activation of various chemicals occurred by only one or a few SULT, for instance by a human SULT but not by any rat enzyme. An example is nitrofen, which recently was in the headlines in Germany due to a massive contamination in animal feeds and organically grown chicken. Nitrofen was inactive in the conventional *Salmonella typhimurium* strains (the target cells of the most widely used mutagenicity assay) but was mutagenic even at very low dose levels in corresponding strains expressing human SULT1A1. Expression of any of the available rat and mouse SULT led to much weaker activation. Thus, human may be more susceptible towards nitrofen than the rodent species in which its carcinogenic and teratogenic activity had been detected.

### Polymorphisms of SULT

Genetic polymorphisms have been detected for several human SULT. We demonstrated that SULT1A1 and 1A2 are capable of activating various diet-borne carcinogens, and we detected large differences in the activation potential between alloenzymes. For the determination of polymorphisms we use restriction analyses and pyrosequencing. We are studying whether the frequency of different SULT genotypes varies between tumor patients and control subjects; dietary habits are also taken into account in these studies. In cooperation with the group of Ellen Kampman (Wageningen) we detected an association between the occurrence of colon adenomas in smokers and the fast SULT1A1 genotype, suggesting a causal role of smoke-borne aromatic amines and/or alkylated polyarenes. Together with the Department of Epidemiology, we observed an association between adipositas and the slow SULT1A1 genotype; this influence may be mediated by central neurotransmitters or iodothyronines, which both are substrates of SULT1A1.

**Figure 2**  
Determination of a genetic polymorphism of human sulfotransferase 1A1 via pyrosequencing of the gene segment  $C^{638}GCTCCCT$  with allele \*1 (high enzyme activity/stability) and  $C^{638}ACTCCCT$  with allele \*2 (reduced activity/stability). E, S: negative and positive controls; A, C, G, T: addition of the corresponding deoxyribonucleotide (emitting light signals if matching the sequence).

### Synergisms in chemical mutagenesis/carcinogenesis

Food contains a plethora of components, evoking the question on interaction in noxious effects. Using our *in vitro* test systems we demonstrated that many benzylic and allylic alcohols are activated to mutagens by *SULT*. After the administration of a representative of this class, 1-hydroxymethylpyrene (HMP), to rats we observed strong DNA damage (adducts) in various tissues. However, the analysis of urinary metabolites and metabolism studies in tissue samples indicated that the major part of HMP is metabolized in a harmless way to carboxylic acids. Inhibition of this pathway in the rat by concurrent administration of ethanol or 4-methylpyrazole (an antidote in methanol and glycol poisoning) led to dramatic - up to 200-fold - increases in the levels of HMP-induced DNA adducts. Although ethanol is not carcinogenic in animal models, alcohol consumption is a clear risk factor for various tumors in humans (especially in smokers). Therefore, indirect mechanisms may be pivotal, such as the synergism of ethanol with HMP (a metabolite of a smoke-borne carcinogen). It is probable that this synergism is not limited to HMP, as the human is exposed to numerous compounds that can be inactivated by dehydrogenases and toxified by *SULT*.

### Insight from biomarkers on the nature and fate of reactive metabolites formed in the organism

Nowadays, acutely toxic chemicals reach relevant levels in foods only in exceptional cases in Western countries. However, the organism is still exposed to numerous natural and anthropogenic chemicals which have a potential to cause cancer in principle. Since the complete avoidance of these compounds is impossible, it is important to assess the risks resulting from individual exposures and to learn which are substantial. We seek to use certain classes of chemicals present in urine (and other biological samples) to characterize the chemical structure, the level and the further processing of the reactive metabolites formed in the organism: reactive metabolites are either detoxified or react in an uncontrolled manner with cellular components. For the detoxification, the conjugation with glutathione represents a major mechanism. The conjugates are usually processed to, and then excreted as mercapturic acids. Important targets for toxicological effects of reactive intermediates are the base residues of the DNA. Modified bases or their nucleosides are released when the DNA is repaired or the cell dies.

**Figure 3**  
Influence of co-treatment with ethanol or 4-methylpyrazole, an inhibitor of alcohol dehydrogenase, on DNA damage (adducts) by 1-hydroxymethylpyrene (HMP) in kidney of rats *in vivo* (5 animals per group).  
From left to right: control; ethanol concentrations; methylpyrazol

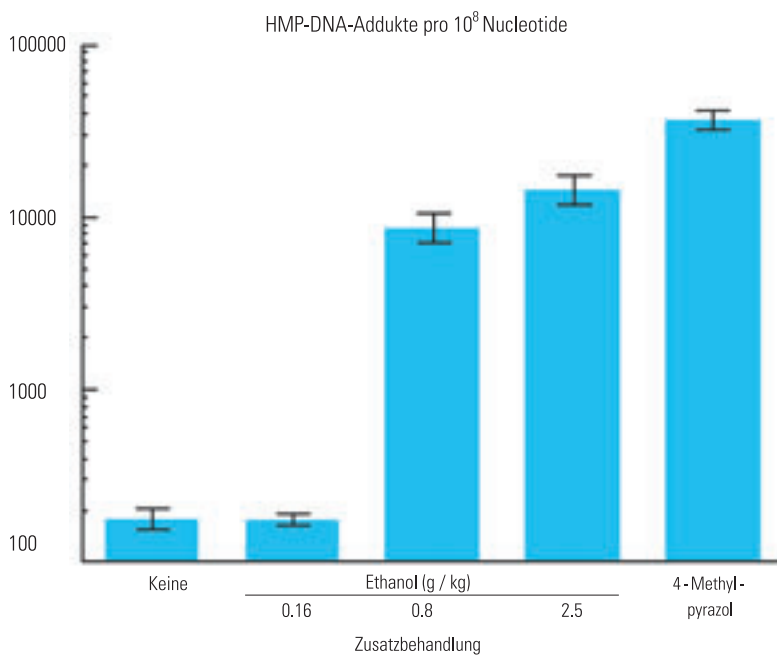
Dies legt nahe, dass aromatische Amine und alkylierte Polyzyklen aus dem Zigarettenrauch einen Kausalfaktor dieser Entartung darstellen. Zusammen mit der Abteilung Epidemiologie beobachteten wir eine Assoziation zwischen dem langsamen *SULT1A1*-Genotyp und dem Auftreten von Adipositas; dieser Einfluss könnte durch zentrale Neurotransmitter oder Schilddrüsenhormone vermittelt sein, die beide Substrate für die *SULT1A1* sind.

### Synergismen bei der chemischen Kanzerogenese / Mutagenese

Lan Ma, Heli Hollnagel

Lebensmittel enthalten eine Vielzahl von Inhaltsstoffen, über die Interaktionen bei schädigender Wirkung ist noch wenig bekannt. Mit unseren *In-vitro*-Systemen konnten wir zeigen,

zu Carbonsäuren. Hemmung dieses Weges durch Gabe des konkurrierenden Substrates Ethanol oder des Alkoholdehydrogenase-Hemmstoffes 4-Methylpyrazol (Antidot bei Methanol- und Glycol-Vergiftungen) führte zu einer dramatischen - bis 200fachen Zunahme - von DNA-Addukten durch HMP in Rattengeweben. Obwohl Ethanol im Tierversuch nicht kanzerogen ist, stellt Alkoholkonsum beim Menschen einen Risikofaktor für bestimmte Tumoren dar (besonders bei Rauchern). Es liegt deshalb nahe, indirekte Wirkmechanismen zu postulieren, wie der von uns entdeckte, starke Synergismus von Ethanol mit HMP (einem Metaboliten eines Inhaltsstoffes des Tabakrauches). Dieser Synergismus dürfte nicht auf HMP beschränkt sein, zumal der Mensch vielen Stoffen ausgesetzt ist, die durch Dehydrogenasen inaktiviert und durch *SULT* toxifiziert werden können.



**Abbildung 3**  
Einfluss einer gleichzeitigen Gabe von Ethanol und 4-Methylpyrazol, einem klinisch genutzten Alkoholdehydrogenase-Hemmstoff, auf die DNA-schädigende Wirkung (kovalente Bildung) von 1-Hydroxymethylpyren (HMP) in der Niere der Ratte *in vivo* (5 Tiere pro Gruppe).

dass zahlreiche allylische und benzyllische Alkohole durch *SULT* zu Mutagenen umgesetzt werden. Nach Verabreichung eines Vertreters dieser Substanzklasse, 1-Hydroxymethylpyren (HMP), an Ratten stellten wir eine starke DNA-Schädigung (Addukte) in Geweben fest. Eine Analyse der im Harn ausgeschiedenen Metaboliten und Untersuchungen mit Gewebeproben zeigten aber, dass HMP vor allem über einen unproblematischen Weg metabolisiert wurde, nämlich durch Dehydrogenasen

### Biomarker für die Bildung und Inaktivierung reaktiver Metaboliten

Heiko Schneider, Wolfram Engst, Lan Ma

Akut toxische Stoffe kommen in den industrialisierten Ländern nur noch selten in relevanter Konzentration in Nahrungsmitteln vor. Dagegen ist der Organismus mit vielen natürlichen und anthropogenen Stoffen konfrontiert, die ein Potenzial haben, Krebs zu verursachen.

Da eine völlige Vermeidung dieser Stoffe unmöglich ist, muss abgeschätzt werden, welche Belastungen ein reales Risiko beinhalten. Wir versuchen, aus bestimmten Klassen von ausgeschiedenen Substanzen auf die Art, Menge und Prozessierung der gebildeten reaktiven Metabolite und auf die Wirksamkeit von Schutzmaßnahmen zu schließen: Reaktive Metaboliten können entweder metabolisch detoxifiziert werden oder unkontrolliert mit Zellstrukturen reagieren. Von herausragender Bedeutung für die Detoxifizierung ist die Konjugation mit Glutathion. Die Konjugate werden vorwiegend zu Mercaptursäuren prozessiert und als solche ausgeschieden. Wichtige Zielstrukturen für toxikologische Wirkungen sind die Basen der DNA.

Geschädigte Basen werden bei der DNA-Reparatur oder beim Zelltod als Basen- oder Nucleosid-Addukte freigesetzt. Aus der Struktur der ausgeschiedenen Mercaptursäuren und Basen/Nucleosid-Addukte kann auf die Struktur des reaktiven Metaboliten geschlossen werden. Das Verhältnis der Mengen an Mercaptursäuren zu Basen/Nucleosid-Addukten aus einem reaktiven Metaboliten in einem Individuum stellt ein Maß für seine aktuelle Detoxifizierungskapazität dar. Die erwähnte Interaktion von Ethanol und 4-Methylpyrazol mit der Aktivierung von HMP in der Ratte manifestierte sich nicht nur in den DNA-Addukten, sondern auch an einem nicht-invasiven Biomarker, der Ausscheidung einer aus dem aktiven HMP-Metaboliten gebildeten Mercaptursäure.

The mercapturic acids and base/nucleoside adducts contain much structural information from which the nature of the reactive species may be inferred. Furthermore the ratio of the levels of mercapturic acids versus base/nucleoside adducts from a specific reactive metabolite in a subject represents a measure of its actual detoxification capacity.

The above-mentioned interaction of ethanol and 4-methylpyrazole with the activation of HMP in the rat was manifested not only in the levels of DNA adducts, but also in a non-invasive biomarker, the urinary excretion of a HMP-derived mercapturic acid.



**Abbildung 4**  
LC-MS-MS (Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie) zur Bestimmung von Mercaptursäuren und Basen-/Nucleosid-Addukten.

**Figure 4**  
LC-MS-MS (liquid chromatography and tandem mass spectrometry) for the determination of mercapturic acids and base/nucleoside adducts.

## Drittmittelprojekte External Funding

Titel: HC-Amine: Heterozyklische aromatische Amine in gekochten Lebensmitteln - Rolle in der menschlichen Gesundheit/HC Amines: Heterocyclic amines in cooked food -role in human health  
Finanzierung: EU  
Laufzeit: 02/00-01/02

Titel: Untersuchung des Einflusses von Östrogen-Sulfamaten auf die Konjugation von Östradiol durch die verschiedenen Formen der humanen Sulfotransferasen  
Finanzierung: Jenapharm  
Laufzeit: 05/02-06/03

Titel: Die Nutzung hepatischer Funktionen für in-vitro-Verfahren zur Prüfung von Stoffen mit dem Ziel der Einsparung von Tierversuchen  
Finanzierung: BMBF  
Laufzeit 01/99-02/01

## Ausgewählte Publikationen Selected Publications

### Originalarbeiten/Original Papers

Arlt, V. M., Glatt, H., Muckel, E., Pabel, U., Sorg, B. L., Schmeiser, H. H., Phillips, D. H.: Metabolic activation of the environmental contaminant 3-nitrobenzanthrone by human acetyltransferases and sulfotransferases. *Carcinogenesis* 23, 1937-1945 (2002).

Engst, W., Pabel, U., Glatt, H.: Conjugation of 4-nitrophenol and 4-hydroxylonazolac in V79-derived cells expressing individual forms of human sulphotransferases. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 11, 243-250 (2002).

Glatt, H., Boeing, H., Engelke, C. E., Ma, L., Kuhlow, A., Pabel, U., Pomplun, D., Teubner, W., Meinel, W.: Human cytosolic sulphotransferases: genetics, characteristics, toxicological aspects. *Mutat. Res.* 482, 27-40 (2001).

Glatt, H., Pabel, U., Muckel, E., Meinel, W.: Activation of polycyclic aromatic compounds by cDNA-expressed phase I and phase II enzymes. *Polycyclic Aromat. Comp.* 22, 955-967 (2002).

Henschler, R., Appel, K. E., Heyworth, C. M., Glatt, H.: Proliferation and differentiation of murine haemopoietic progenitor cells in stroma-free culture in the presence of metabolites of chlorinated pesticides. *Toxicol. in Vitro* 15, 31-37 (2001).

Kester, M. H. A., Bulduk, S., van Toor, H., Tibboel, D., Meinel, W., Glatt, H., Falany, C. N., Coughtrie, M. W. H., Schuur, A. G., Brouwer, A., Visser, T. J.: Potent inhibition of estrogen sulfotransferase by hydroxylated metabolites of polyhalogenated aromatic hydrocarbons reveals alternative mechanism for estrogenic activity of endocrine disrupters. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 1142-1150 (2002).

Luch, A., Greim, H., Buters, J. T. M., Mahadevan, B., Baird, W. M., Doehmer, J., Seidel, A., Glatt, H.: The role of cytochrome P450 1B1 in dibenzo[*a,h*]pyrene-induced carcinogenesis. *Polycyclic Aromat. Comp.* 22, 781-789 (2002).

Ma, L., Kuhlow, A., Glatt, H.: Ethanol enhances the activation of 1-hydroxymethylpyrene to DNA adduct-forming species in the rat. *Polycyclic Aromat. Comp.* 22, 933-946 (2002).

Meinel, W., Glatt, H.: Structure and localization of the human SULT1B1 gene: neighborhood to SULT1E1 and a SULT1D pseudogene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 288, 855-862 (2001).

Meinel, W., Meerman, J. H., Glatt, H.: Differential activation of promutagens by alloenzymes of human sulfotransferase 1A2 expressed in *Salmonella typhimurium*. *Pharmacogenetics* 12, 677-689 (2002).

Muckel, E., Frandsen, H., Glatt, H.: Heterologous expression of human *N*-acetyltransferases 1 and 2 and sulfotransferase 1A1 in *Salmonella typhimurium* for mutagenicity testing of heterocyclic amines. *Food Chem. Toxicol.* 40, 1063-1068 (2002).

Teubner, W., Meinel, W., Glatt, H.: Stable expression of rat sulfotransferase 1B1 in V79 cells: activation of benzylic alcohols to mutagens. *Carcinogenesis* 23, 1877-1884 (2002).

Williams, J. A., Stone, E. M., Fakis, G., Johnson, N., Cordell, J. A., Meinel, W., Glatt, H., Sim, E., Phillips, D. H.: *N*-Acetyltransferases, sulfotransferases and heterocyclic amine activation in the breast. *Pharmacogenetics* 11, 373-388 (2001).

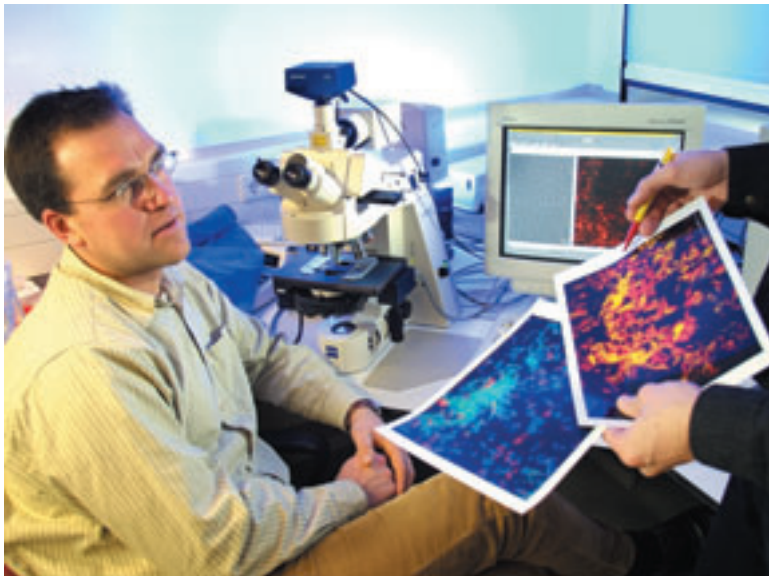
### Buchbeiträge/Book Articles

Glatt, H.: Genetische Polymorphismen von Sulfotransferasen als Suszeptibilitätsparameter. In: *Biological Monitoring*, Angerer, J. (Hrsg.), DFG, Wiley-VCH, Weinheim, pp 86-97 (2001).

Glatt, H.: Sulphotransferases. In: Ioannides, C. (ed.) *Enzyme systems that metabolise drugs and other xenobiotics*. John Wiley & Sons Ltd., pp 353-439 (2002).

Die Abteilung Gastrointestinale Mikrobiologie hat das Ziel, die im Darm lebenden Mikroorganismen zu charakterisieren und deren physiologische und pathophysiologische Bedeutung aufzuzeigen. Zu den Erkrankungen, die mit Störungen in der Zusammensetzung und Aktivität der Darmflora in Verbindung gebracht werden, gehören unter anderem Kolonkrebs und entzündliche Darmerkrankungen. Ein erheblicher Anteil der dominanten bakteriellen Spezies im Darm des Menschen ist noch unbekannt. Durch Erweiterung des Spektrums verfügbarer Oligonukleotid-Sonden, mit deren Hilfe Bakterienzellen kultivierungsunabhängig mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung nachgewiesen werden können, sind die im humanen Darm vorkommenden Bakterien mit größerer Präzision und geringerem Zeitaufwand als jemals zuvor erfassbar. Untersucht wird auch der Einfluss und der Abbau von Inhaltsstoffen von Nahrungsmitteln, zum Beispiel Flavonoiden, auf die Darmbakterien und die direkten und indirekten Auswirkungen auf den Wirtsorganismus Mensch.

Anreicherungsmedien ausgewählte Oligo- und Polysaccharide und sekundäre Pflanzenstoffe, die in Lebensmitteln vorkommen, als Substrate eingesetzt. Obwohl die meisten Isolate bekannten Taxa zugeordnet werden konnten, gelang es, eine Reihe neuer Bakterien zu isolieren wie z. B. *Dorea longicatena*, *Anaerostipes caccae*, und *Ruminococcus luti*. Andere Isolate werden noch charakterisiert. Die Analyse der 16S-ribosomalen RNA-Sequenz von Darmbakterien ermöglicht nicht nur die phylogenetische Zuordnung von Isolaten, sondern auch die Konstruktion von Oligonukleotid-Sonden, mit deren Hilfe Bakterienzellen kultivierungsunabhängig mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung nachgewiesen werden können. Acht neue Oligonukleotid-Sonden wurden konstruiert und ihre Spezifität bezüglich der Zielorganismen verifiziert (Validierung). Um die Validierung der Sonden zu beschleunigen, wurde eine Methode entwickelt, die es ermöglicht, die Spezifität einer Sonde mit bis zu 768 Referenz-Stämmen zu überprüfen.



**Abbildung 1**  
Automatisierte Erfassung fluoreszenzmarkierter Bakterienzellen

## Diversität der Darmbakterien und ihre automatisierte Erfassung

Andreas Schwiertz, Ralph Thiel, Pawel Namsolleck

Aus humanen Stuhlproben wurden strikt und fakultativ anaerobe Bakterien angereichert mit dem Ziel, unbekannte Bakterien mit Relevanz für die Physiologie des humanen Darms zu identifizieren. Dazu wurden in den

Verbessert wurde auch die Geschwindigkeit, Präzision und der Bedienungskomfort der automatisierten mikroskopischen Erkennung und quantitativen Erfassung Fluoreszenzmarkierter Bakterienzellen in Proben (Abb.1). Die automatische Steuerung des Analyseprozesses sowie die Algorithmen für die Bakterienerkennung wurden weiter optimiert.

## Department of Gastrointestinal Microbiology

Head: Prof. Dr. Michael Blaut

It is the goal of the Department of Gastrointestinal Microbiology to characterize microorganisms of the gastrointestinal tract and to demonstrate their physiological and pathophysiological roles. Diseases that have been associated with disorders in relation to composition and activity of intestinal flora include e.g. cancer of the colon and inflammatory bowel diseases. A considerable portion of the dominant bacterial species in the human gut have yet to be identified. A broadening of the spectrum of available oligonucleotide probes, with which bacterial cells can be detected via fluorescence in-situ hybridization and without cultivation, has made possible the more precise and time-saving identification of bacteria located in the human intestine than ever before. Food ingredients, for example flavonoids, are being studied in relation to their influence on and degradation by intestinal bacteria as well as their direct and indirect effects on the human host.

### Diversity of gut microorganisms and their automated detection

Recent culture-independent studies have shown that approximately 70 % of the dominant human gut microorganisms have not yet been isolated and described. Therefore, efforts have been made to isolate and characterize previously undetected gut bacteria. Strictly anaerobic and facultative anaerobic bacteria exhibiting catalytic activities relevant to human physiology have been enriched and isolated from human feces. Food ingredients such as dietary oligo- and polysaccharides as well as dietary secondary plant metabolites were used as substrates for bacterial enrichments. Although the majority of the isolates obtained by these enrichments turned out to be known species, several new organisms could be isolated, some of which have been characterized and validly described, and included *Dorea longicatena*, *Anaerostipes caccae*, and *Ruminococcus luti*. Other isolates are still under characterization.

Analysis of the 16S rRNA sequence of human gut microorganisms facilitates the recognition of unknown bacterial species and has been used to design 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes for their culture-independent detection. Eight new 16S rRNA targeting oligonucleotide probes have been designed and validated for use in conjunction with fluorescence in-situ hybridization. The designed probes target several hitherto unknown or newly described bacterial species. Five of the eight probes are species-specific while three are group-specific probes. To speed up specificity testing of newly designed probes an array-based method was developed. This method can afford the simultaneous testing of up to 768 reference strains.

**Figure 1**  
Automated detection of fluorescently labeled bacterial cells

To improve the speed, accuracy, and ease of use of the automated microscopic detection and enumeration of fluorescence-labeled bacterial cells in fecal samples, the automatic control of the analysis and the algorithms for cell recognition have been optimized and the total throughput and the reproducibility has thereby been highly improved.

### Metabolism of dietary flavonoids by intestinal microorganisms

In recent years, there has been a growing scientific interest in isoflavonoids such as genistein and daidzein because of their possible role in the prevention of hormone-related cancers, atherosclerosis, and osteoporosis as well as alleviation of menopausal symptoms and the reduction in serum cholesterol levels.

Previous work had indicated that *Eubacterium ramulus*, a strictly anaerobic bacterium found to be present in the gastrointestinal tract of essentially every human subject tested, cleaves the ring system of several flavonols and flavones, giving rise to the corresponding hydroxyphenylacetic and hydroxyphenylpropionic acids, respectively, as well as acetate and butyrate. More detailed analyses in resting cells and cell-free extracts of *E. ramulus* showed that the degradation of quercetin was accompanied by the formation of two transient intermediates, one of which was identified as taxifolin. The second unknown intermediate was subsequently purified, subjected to  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR analysis and unambiguously identified as alphitonin (2-[3,4-dihydroxybenzyl]-2,4,6-trihydroxybenzofuran-3-one). These results were taken as evidence that the breakdown of quercetin by *E. ramulus* to phloroglucinol and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid follows the pathway depicted in Fig. 1.

The conversion of the flavone luteolin by *E. ramulus* was studied in more detail. Resting cells of *E. ramulus* catalyzed the reduction of luteolin to eriodictyol, a reaction that is analogous to the reduction of quercetin to taxifolin. However, a structure analogous to alphitonin could not be detected in the luteolin-degradation experiments. It was therefore postulated that the C-ring cleavage of eriodictyol involves the intracellular formation of a chalcone which is subsequently reduced to the corresponding dihydrochalcone (Fig. 2).

To further corroborate the proposed flavone-degradation pathway, phloretin was used as a model substance because it only differs from the dihydrochalcone postulated to be an intermediate in the pathway of eriodictyol breakdown by the absence of the 3'-hydroxyl group in the B-ring (Fig. 2).

### Umsetzung von Nahrungsflavonoiden durch Darmbakterien

Annett Braune, Lilian Schoefer, Claudia Herles, Ruchika Mohan

Seit einigen Jahren gibt es ein zunehmendes wissenschaftliches Interesse an Isoflavonen wie Genistein und Daidzein, da Berichten zufolge diese Verbindungen gegenüber hormonabhängigen Krebsarten, Atherosklerose und Osteoporose präventiv wirksam sein und eine Linderung menopausaler Symptome sowie eine Reduktion des Serum-Cholesterinspiegels bewirken könnten. Frühere Untersuchungen hatten darauf hingewiesen, dass *Eubacterium ramulus*, ein strikt anaerobes Bakterium, das im Gastrointestinaltrakt nahezu aller bislang darauf hin untersuchten Menschen gefunden wurde, das Ringsystem verschiedener Flavonole und Flavone spaltet und daraus die

Auch die Umsetzung des Flavons Luteolin durch *E. ramulus* wurde näher charakterisiert. Ruhende Zellen von *E. ramulus* katalysieren die Reduktion von Luteolin zu Eriodictyol. Diese Reaktion erfolgt analog zu der Reduktion von Quercetin zu Taxifolin. Allerdings wurde in den Experimenten mit Luteolin kein Produkt gefunden, das dem beim Quercetinabbau auftretenden Alphitonin analog ist. Daher wurde postuliert, dass die Spaltung des C-Ringes von Eriodictyol zur intrazellulären Bildung eines Chalkons führt, das anschließend zu dem entsprechenden Dihydrochalcon reduziert wird (Abb.2). Um den vorgeschlagenen Abbauweg für Flavone weiter zu erhärten, wurde Phloretin als Modellsubstanz eingesetzt, da es sich von dem postulierten Dihydrochalcon-Intermediat des Eriodictyol-Abbauweges lediglich durch das Fehlen der 3'-Hydroxyl-Gruppe im B-Ring unterscheidet (Abb.2).

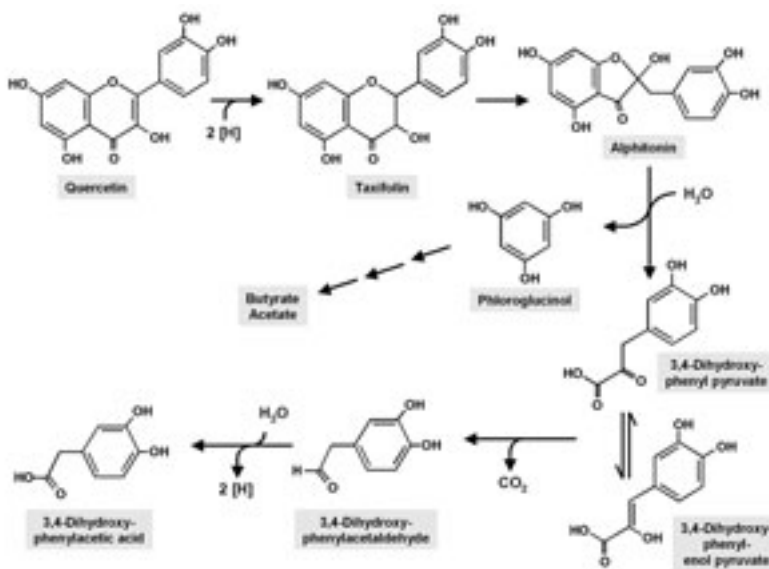


Abbildung 2 Weg des Quercetin-Abbaus durch *Eubacterium ramulus*

entsprechenden Hydroxyphenyllessigsäuren bzw. Hydroxyphenylpropionsäuren sowie Acetat und Butyrat bildet. Detailliertere Untersuchungen an ruhenden Zellen und Zellextrakten von *E. ramulus* zeigten, dass der Abbau des Flavonols Quercetin mit der Bildung von zwei Intermediaten einhergeht: Taxifolin und ein von uns mittels  $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$  NMR Analyse als Alphitonin (2-[3,4-Dihydroxybenzyl]-2,4,6-trihydroxybenzofuran-3-on) identifiziertes Intermediat (Abb.1).

Mit Hilfe eines neu entwickelten Testsystems zum Aktivitätsscreening gelang es, das Phloretin-Hydrolase-Gen (*phy*) in *Escherichia coli* zu klonieren und zu überexprimieren. Das rekombinante Protein wurde gereinigt und charakterisiert. Das gereinigte Enzym katalysierte die Hydrolyse von Phloretin zu Phloroglucin und 3-(4-Hydroxyphenyl)-propionsäure. Einige bakteriell gebildete Derivate pflanzlicher Isoflavone wie z. B. Equol üben stärkere Effekte aus als die ursprünglich

Figure 2 Pathway of quercetin degradation as catalyzed by *Eubacterium ramulus*

verzehren Isoflavone. Daher wurde untersucht, ob *E. ramulus* in der Lage ist, Genistein und Daidzein umzusetzen. *E. ramulus* setzt Genistein zu 2-(4-Hydroxy-phenyl)-propionsäure um, wobei im Zuge dieser Reaktion 6'-Hydroxy-O-desmethylangolensin als Intermediat gebildet wird. Im Gegensatz dazu wird Daidzein zu O-Desmethylangolensin als einzigem Produkt umgesetzt (Abb.4). Diese Ergebnisse zeigen, dass *E. ramulus* nicht in der Lage ist, aus den eingesetzten Isoflavonen Equol zu bilden und dass die Bakterien, die im humanen Darm Equol bilden, noch identifiziert werden müssen.

### Interaktion von Darmbakterien und Wirt

Brigitta Kleefßen, Andreas Schwirtz

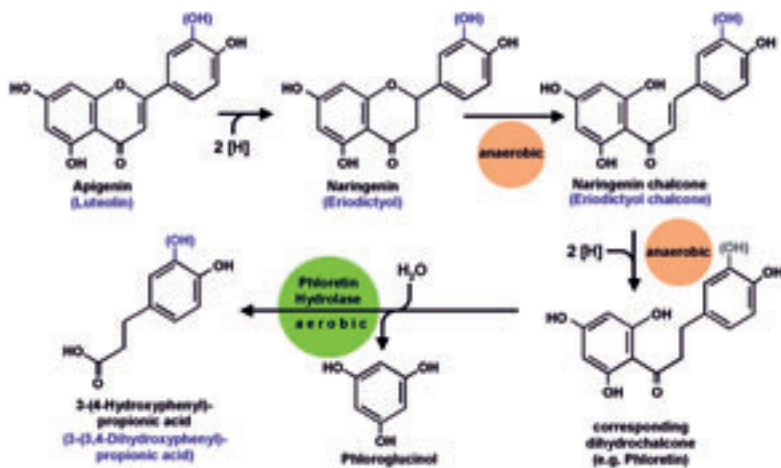
Es gibt Hinweise darauf, dass Darmbakterien bei der Entstehung und beim Verlauf entzündlicher Darmerkrankungen (IBD) wie Colitis ulcerosa (UC) und Morbus Crohn (CD) eine wichtige Rolle spielen.

erkrankungen verglichen. Die Studie wurde in Kooperation mit J. Kroesen und H. J. Buhr vom Universitätsklinikum Benjamin Franklin in Berlin durchgeführt. Auf der Mukosa-Oberfläche von Gewebe, das von Kontrollpersonen stammte, waren generell weniger Bakterien nachweisbar als in den IBD-Patienten ( $p < 0,05$ ). Ein Eindringen von Bakterien in die Mukosa wurde bei UC-Patienten in 83 % der Kolon-Gewebeproben, sowie bei CD-Patienten in 55,6 % der Gewebeproben aus dem Ileum und in 25 % der Kolon-Gewebeproben gefunden. In Gewebeproben aus der Kontrollgruppe konnten keine eingedrungenen Bakterien beobachtet werden. Das Kolon-Gewebe der UC-Patienten war mit Bakterien besiedelt, die zur Gamma-Gruppe der *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae*, des *Bacteroides-Prevotella*-Clusters, der *Clostridium histolyticum-Clostridium lituseburense*-Gruppe, des *Clostridium coccoides-Eubacterium rectale* Clusters und zu den Sulfat-Reduzierern gehören.

Using a newly developed activity test, the phloretin hydrolase gene (*phy*) was cloned and overexpressed in *Escherichia coli*, the recombinant enzyme purified to homogeneity and biochemically characterized. The purified enzyme catalyzed the hydrolysis of phloretin to phloroglucinol and 3-(4-hydroxyphenyl) propionic acid. Since some derivatives of dietary isoflavones such as equol, which are formed by unidentified intestinal bacteria, exhibit stronger physiological effects than the mother compound, *E. ramulus* was tested for its ability to convert genistein and daidzein. The organism catalyzed the cleavage of genistein to 6'-hydroxy-O-desmethylangolensin as an intermediate. While the latter was degraded further to 2-(4-hydroxyphenyl)-propionic acid, the only product of daidzein breakdown, O-desmethylangolensin, was not degraded any further (Fig. 3). These results clearly indicate that *E. ramulus* is not capable of forming equol from daidzein and that the bacteria responsible for the formation of equol in the human intestinal tract still need to be identified.

### Bacteria-host interactions

Intestinal bacteria have been implicated in playing a role in the onset and perpetuation of inflammatory bowel diseases (IBD) such as ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD). To identify possible differences in dominant bacterial population groups present on the mucosal surface or invading the mucosa, tissue sections from surgical resections from the terminal ileum and/or the colon from 12 patients with active UC and from 12 patients with active CD were studied by culture-independent methods and compared to tissues from 14 patients not suffering from IBD. The study was done in cooperation with J. Kroesen and H.J. Buhr, Benjamin Franklin Medical Center in Berlin. The mucosal surface of tissue from control subjects harbored less bacteria than that of tissue from IBD patients ( $p < 0.05$ ). Bacterial invasion of the mucosa was evident in 83% of colonic specimens from the UC patients, and, in CD patients, in 55.6% of the ileal and in 25% of colonic specimens, while the corresponding tissues of the control subjects were devoid of bacteria. Colonic UC specimens were colonized by bacteria belonging to the gamma subdivision of *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae*, the *Bacteroides-Prevotella* cluster, the *Clostridium histolyticum-Clostridium lituseburense* group, the *Clostridium coccoides-Eubacterium rectale* cluster or sulfate-reducing bacteria. In contrast, samples from CD patients harbored mainly bacteria of the former three groups. These results led to the conclusion that the pathogenic events in IBD may result in alterations in the mucosal microbial communities of the ileum and cecum that differ in CD and UC.



**Abbildung 3**  
Vorgeschlagerter Abbauweg für die Flavone Apigenin und Luteolin. Die Abbildung zeigt auch, welche Reaktionsschritte unter aeroben Bedingungen nachweisbar sind und welche sauerstoffempfindlich sind. Das Dihydrochalcon, dem die 3-Hydroxylgruppe im B-Ring fehlt, wird Phloretin genannt.

Um mögliche Unterschiede im Auftreten dominanter bakterieller Populationsgruppen auf der Mukosa-Oberfläche oder in der Mukosa zu finden, wurden aus Resektionspräparaten (12 Patienten mit aktiver UC, 12 Patienten mit aktiver CD) Gewebeschnitte des terminalen Ileums und des Kolons untersucht. Die Bakterienbesiedlung wurde mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung quantitativ untersucht und mit Gewebeproben von Kontrollpatienten ohne entzündliche Darm-

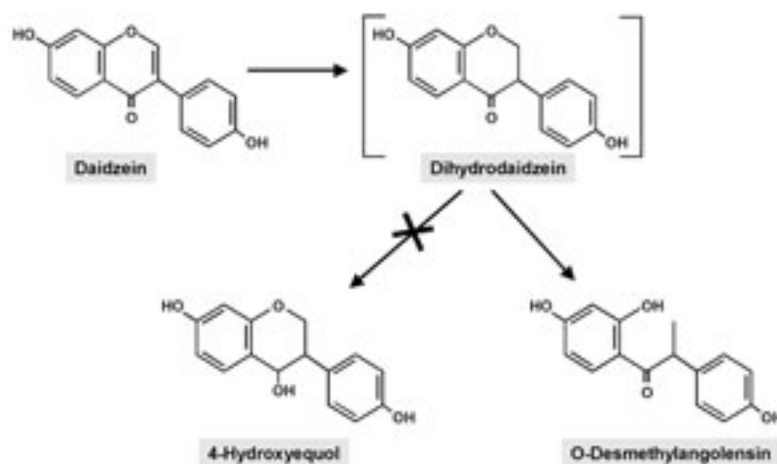
Im Gegensatz dazu wiesen entsprechende Gewebeproben von CD-Patienten hauptsächlich Bakterien aus den ersten drei Gruppen auf. Diese Beobachtungen legten den Schluss nahe, dass sich die durch CD ausgelösten Veränderungen in der Zusammensetzung der mit der Mukosa assoziierten mikrobiellen Lebensgemeinschaften im Kolon und Caecum von denen unterscheiden, die durch UC ausgelöst werden.

**Figure 3**  
Proposed pathway of flavone degradation using apigenin and luteolin as examples. The figure also indicates which steps in this pathway can be detected under aerobic conditions and which ones are oxygen-sensitive. The dihydrochalcone devoid of the 3'-hydroxyl group in the B-ring is called phloretin.

Colonization of the human intestinal tract starts during birth and continues thereafter. It has been hypothesized that an inappropriate colonization of the intestine of preterm infants may play a role in the development of neonatal necrotizing enterocolitis (NEC). To obtain information on the fecal bacterial community of premature infants in comparison to breast-fed full-term infants, the succession of the neonatal microbiota in the first weeks of life was characterized by analyzing the 16S rRNA-gene variety in fecal samples with PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE). Fecal samples from 29 preterm infants hospitalized in a neonatal intensive care unit were subjected to PCR-DGGE analysis. DGGE profiles from all preterm infants obtained daily during the first four weeks of life were compared with the DGGE profiles of 15 full-term breast-fed infants and, in addition, a variety of clinical bacteria isolated from the intensive care unit. During the first days of life, the DGGE profiles were rather simple, but increased in complexity over time. Similarity values ( $C_s$ ) increased in each preterm infant from 0 to 80%, while inter-individual  $C_s$  increased from 18.1 to 57.4%, revealing the acquisition of a highly similar bacterial community in these infants. In contrast,  $C_s$ -values obtained for full-term breast-fed infants were rather low (11.2%). *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., and *Klebsiella pneumoniae* were the bacteria most commonly found in all preterm infants. The inter-individual bacterial composition in hospitalized preterm infants is more similar in comparison to full-term breast-fed infants.

Eine Fehlbesiedlung des unreifen Darmes Frühgeborener wird mit der Entstehung der neonatalen nekrotisierenden Enterocolitis (NEC) in ursächlichem Zusammenhang gesehen. Die Zusammensetzung der bakteriellen Populationsgemeinschaften im Darm Frühgeborener wurde mit der von gestillten reifen Säuglingen verglichen. Die Bakterienbesiedlung in den ersten Lebenswochen wurde durch Analyse der Variabilität des 16S-rRNA-Gene-Pods in Stuhlproben mittels PCR und nachfolgender denaturierender Gradienten-Gel-Elektrophorese (PCR-DGGE) verfolgt. Insgesamt wurden 29 Frühgeborene einer Intensivstation sowie 15 reife Säuglinge in die Studie eingeschlossen. Über einen Zeitraum von 4 Wochen nach der Geburt wurden täglich Analysen durchgeführt. Zusätzlich zu den Stuhlproben wurden bakterielle Isolate von der Intensivstation in die Untersuchungen einbezogen.

durch einen ähnlichen Satz von Bakterien besiedelt wurden. Im Gegensatz dazu wiesen die Kinder in der Kontrollgruppe untereinander nur wenig Ähnlichkeit in der Bakterienzusammensetzung auf. *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. und *Klebsiella pneumoniae* wurden in den Frühgeborenen am häufigsten nachgewiesen. Demnach weisen Frühgeborene auf einer Intensivstation geringere interindividuelle Unterschiede in der Bakterienzusammensetzung auf als reife gestillte Säuglinge.



**Abbildung 4**  
Postulierter Weg für die Transformation von Daidzein durch *Eubacterium ramulus*

Während der ersten Lebenstage waren die DGGE-Profile der Frühgeborenen relativ einfach, wurden aber mit zunehmenden Alter komplexer. Bei allen Frühgeborenen stieg der Ähnlichkeitskoeffizient ( $C_s$ ) in dieser Zeit von 0 auf 80 % an, d. h. die mikrobielle Lebensgemeinschaft stabilisierte sich. Im selben Zeitraum verringerten sich die anfänglich zwischen den Säuglingen bestehenden großen Unterschiede in der Bakterienzusammensetzung, was dafür spricht, dass diese

**Figure 4**  
Postulated transformation pathway for daidzein as catalyzed by *Eubacterium ramulus*



## Ausgewählte Publikationen Selected Publications

### Originalarbeiten/Original Papers

Braune, A., Gütschow, M., Engst, W., Blaut, M.: Degradation of quercetin and luteolin by *Eubacterium ramulus*. Appl. Environ. Microbiol. 67, 5558-5567 (2001).

Herles, C., Braune, A., Blaut, M.: Purification and characterization of an NADH oxidase from *Eubacterium ramulus*. Arch. Microbiol. 178, 71-74 (2002).

Kleessen, B., Hartmann, L., Blaut, M.: Oligofructose and long-chain inulin: influence on the gut microbial ecology of rats associated with a human faecal flora. Br. J. Nutr. 86, 291-300 (2001).

Kleessen, B., Kroesen, A. J., Buhr, H. J., Blaut, M.: Mucosal and invading bacteria in patients with inflammatory bowel disease compared with controls. Scand. J. Gastroenterol. 37, 1034-1041 (2002).

Scharek, L., Hartmann, L., Heinevetter, L., Blaut, M.: *Bifidobacterium adolescentis* modulates the specific immune response to another human gut bacterium, *Bacteroides thetaiotaomicron*, in gnotobiotic rats. Immunobiology 202, 429-441 (2001).

Schoefer, L., Braune, A., Blaut, M.: A fluorescence quenching test for the detection of flavonoid transformation. FEMS Microbiol. Lett. 204, 277-280 (2001).

Schoefer, L., Mohan, R., Braune, A., Birringer, M., Blaut, M.: Anaerobic C-ring cleavage of genistein and daidzein by *Eubacterium ramulus*. FEMS Microbiol Lett. 208, 197-202 (2002).

Schwartz, A., Hold, G. L., Duncan, S. H., Gruhl, B., Collins, M. D., Lawson, P. A., Flint, H. J., Blaut, M.: *Anaerostipes caccae* gen. nov., sp. nov., a new saccharolytic, acetate-utilising, butyrate-producing bacterium from human faeces. System. Appl. Microbiol. 25, 46-51 (2002).

Schwartz, A., Lehmann, U., Jacobasch, G., Blaut, M.: Influence of resistant starch on the SCFA production and cell counts of butyrate-producing *Eubacterium* spp. in the human intestine. J. Appl. Microbiol. 93, 157-162 (2002).

Simmering, R., Pforte, H., Jacobasch, G., Blaut, M.: The growth of the flavonoid-degrading intestinal bacterium, *Eubacterium ramulus*, is stimulated by dietary flavonoids in vivo. FEMS Microbiol. Ecol. 40, 243-248 (2002).

Simmering, R., Taras, D., Schwartz, A., Le Blay, G., Gruhl, B., Lawson, P.A., Collins, M. D., Blaut, M.: *Ruminococcus luti* sp. nov., isolated from a human faecal sample. System. Appl. Microbiol. 25, 189-193 (2002).

Taras, D., Simmering, R., Collins, M. D., Lawson, P. A., Blaut, M.: Reclassification of *Eubacterium formicigenerans* Holdeman and Moore 1974 as *Dorea formicigenerans* gen. nov., comb. nov., and description of *Dorea longicatena* sp. nov., isolated from human faeces. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 52, 423-428 (2002).

### Übersichtsarbeiten/Reviews

Blaut, M., Collins, M. D., Welling, G. W., Doré, J., van Loo, J., de Vos, W.: Molecular biological methods for studying the gut microbiota: the EU human gut flora project. Br. J. Nutr. 87 (Suppl. 2), S203-S211 (2002).

Mattila-Sandholm, T., Blaut, M., Daly, C., De Vuyst, L., Doré, J., Gibson, G., Goossens, H., Knorr, D., Lucas, J., Lähteenmaki, L., Mercenier, A., Saarela, M., Shanahan, F., de Vos, W. M.: Food, GI-tract functionality and human health cluster: PROEUHEALTH. Microbiol Ecol. Health Dis. 14, 65-74, (2002).

Simmering, R., Blaut, M.: Pro- and prebiotics - the tasty guardian angels? Appl. Microbiol. Biotechnol. 55, 19-28 (2001).

## Drittmittelprojekte External Funding

Titel: Untersuchung der gesundheitlichen Aspekte der intestinalen Isomaltfermentation bei gesunden Probanden

Finanzierung: Südzucker

Laufzeit: 03/01-02/02

Titel: MICROBE DIAGNOSTICS: Development and application of high throughput molecular methods for studying the human gut microbiota in relation to diet and health (QLRT-2000-00108), Projektkoordinator

Finanzierung: EU

Laufzeit: 02/01-01/05

Titel: CROWNALIFE: Functional Food, Gut Microflora and Healthy Ageing (QLRT-2000-00067)

Finanzierung: EU

Laufzeit: 01/01-12/03

Titel: Untersuchung der Beeinflussung der intestinalen Mikroflora durch definierte Diät

Finanzierung: Zuckerinstitut e.V.

Laufzeit: 01/01-04/01

## Department of Vitamines and Atherosclerosis

Head: Prof. Dr. Regina Brigelius-Flohé

How important vitamins and trace elements are for the human organism can only be understood when we have an exact knowledge of their biological functions. In this connection, our attention is focused on the antioxidative effect of vitamin E and on the essential trace element selenium.

An involvement of reactive oxygen species in the development of diseases, e.g., atherosclerosis, (auto)immune diseases, cancer, or accelerated ageing processes, has been under discussion for a long time. Clinical studies investigating whether these diseases can be prevented by antioxidants have delivered mostly negative or at least contradictory results. In addition, there is mounting evidence for physiological functions of reactive oxygen species, e.g., in signal transduction and in the regulation of cell growth and differentiation. For a long time, vitamin E was considered to be only an antioxidant, but this fact cannot explain why it is essential. New investigations point to important functions of vitamin E in cellular signal transduction and in the regulation of gene activities; these are more in line with its essential function. Selenium is a component of many proteins, of which the glutathione peroxidases (GPx) certainly belong to the antioxidative arsenal of the cell but also have functions that go beyond the mere defense against oxidative stress.

The aim of the research of the Department of Vitamins and Atherosclerosis is thus to understand the roles of selenium and vitamin E beyond their postulated antioxidative functions in physiological and pathophysiological processes.

In the *Selenium* Project, the tissue-specific expression of the glutathione peroxidases and their role in the cellular signal-transduction pathways is investigated, with interleukin-1 (IL-1) signaling as an example. In the *Atherosclerosis* Project, IL-1- and oxidation-mediated events in atherogenesis are main topics. Thus, both projects complement each other. The metabolism and novel functions of vitamin E are studied in the *Vitamin E* Project.

### The Selenium Project

#### Glutathione peroxidases

The four selenium-dependent glutathione peroxidases (GPx), cytosolic GPx (cGPx, GPx-1), phospholipid hydroperoxide GPx (PHGPx, GPx-4), plasma GPx (pGPx, GPx-3), and the gastrointestinal GPx (GI-GPx, GPx-2) are expressed in a tissue-specific manner. Whereas cGPx is found ubiquitously, PHGPx prevails in brain and testes, pGPx in the plasma, and GI-GPx in the gastrointestinal system. Diversified tissue and substrate specificities reveal that these enzymes have different functions that are not restricted to hydroperoxide-detoxification. Even the subcellular distribution is different.

**Figure 1:** Localization of GI-GPx in the endoplasmic reticulum. Colon tissue of a patient with colorectal adenocarcinoma was stained with primary antibodies against GI-GPx- and calnexin (as a marker for endoplasmic reticulum). The secondary antibody was Cy3- (red, GI-GPx) or Cy2 (green, calnexin)-labeled. The mixed colour (yellow) in the overlay reveals perfect colocalization.

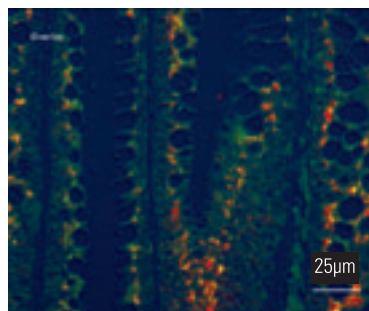
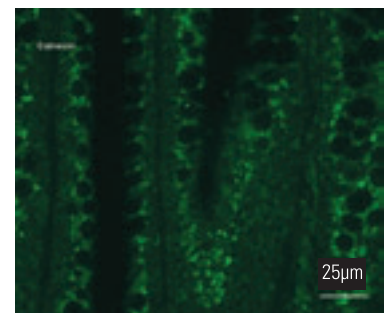
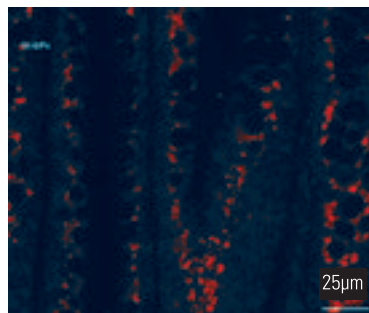
Wie wichtig Vitamine und Spurenelemente für den menschlichen Organismus sind, ist nur über eine genaue Kenntnis ihrer biologischen Funktion zu erfassen. In diesem Zusammenhang gilt unsere Aufmerksamkeit dem antioxidativ wirkenden Vitamin E und dem essentiellen Spurenelement Selen.

Eine Beteiligung von reaktiven Sauerstoffspezies an der Entstehung von Krankheiten wie Atherosklerose, (Auto)Immunkrankheiten, Krebs oder beschleunigten Alterungsprozessen wird seit langem diskutiert. Klinische Studien, die zeigen sollten, dass diese Krankheiten durch Antioxidantien zu verhindern sind, erbrachten meist negative, zumindest widersprüchliche Resultate. Auch mehrten sich die Hinweise auf physiologische Funktionen von reaktiven Sauerstoffspezies, z.B. im Signaltransfer und bei der Regulierung von Zellwachstum und -differenzierung.

auch Funktionen haben, die über eine bloße Abwehr des oxidativen Stresses hinausgehen. Das Forschungsziel der Abteilung ist deshalb die Aufklärung der Rolle von Selen und Vitamin E jenseits ihrer postulierten antioxidativen Funktionen in physiologischen und pathophysiologischen Prozessen.

Im *Selen*-Projekt wird die gewebsspezifische Expression von Glutathionperoxidasen und deren Bedeutung für die Regulation zellulärer Signalwege am Beispiel der Signaltransduktion von Interleukin-1 (IL-1) untersucht.

Im *Atherosklerose*-Projekt stehen IL-1- bzw. oxidationsvermittelte Atheroskleroserelevante Ereignisse und ihre Beeinflussung durch selenabhängige Glutathionperoxidasen im Vordergrund, sodass beide Projekte einander ergänzen. Das Vitamin E-Projekt behandelt den Metabolismus und neue Funktionen von Vitamin E und setzt somit die langjährige Tradition des DIFE in der Vitamingorschung fort.



**Abbildung 1**

Lokalisation von GI-GPx im endoplasmatischen Retikulum (ER) von Kolonkarzinomzellen. Gewebe eines Patienten mit Rektumkarzinom wurde mit Erstantikörpern gegen GI-GPx und Calnexin (als einem ER-Marker) markiert und mit einem Cy3 (rot, GI-GPx) oder Cy2 (grün, Calnexin)-gekoppelten Zweitantikörper gefärbt. Die gemischte Farbe (gelb) im Overlay zeigt die perfekte Kollokalisierung beider Proteine.

### Das Selen-Projekt

Gaby-Fleur Böhl, Cordula Müller, Dagmar Kupper, Nadine Jürmann

#### Glutathionperoxidasen

Die 4 selenabhängigen Glutathionperoxidasen (GPx), die cytosolische GPx (cGPx, GPx-1), die Phospholipidhydroperoxid GPx (PHGPx, GPx-4), die Plasma GPx (pGPx, GPx-3) und die gastrointestinale GPx (GI-GPx, GPx-2) werden gewebsspezifisch exprimiert. Während die

Vitamin E wurde lange lediglich als Antioxidans betrachtet, was aber seine Essentialität nicht allein erklären kann. Neue Untersuchungen weisen auf wichtige Funktionen von Vitamin E im zellulären Signaltransfer und bei der Regulation von Genaktivitäten hin, die eher mit seiner vitalen Funktion in Einklang zu bringen sind. Selen ist Bestandteil verschiedener Proteine, von denen die Glutathionperoxidasen (GPx) zwar zum antioxidativen Arsenal von Zellen gehören, aber

cGPx ubiquitär vorkommt, überwiegt PHGPx in Gehirn und Testes, pGPx im Plasma und GI-GPx im Gastrointestinaltrakt. Unterschiedliche Gewebs- und Substratspezifitäten legen unterschiedliche Funktionen nahe, die nicht auf Hydroperoxid-Entgiftung beschränkt sind. Auch ihre subzelluläre Verteilung ist unterschiedlich. Die cGPx findet man in fast allen zellulären Kompartimenten, die PHGPx in Cytosol, Mitochondrien und Kern. Die GI-GPx findet man je nach Darmabschnitt in Panethzellen (Ileum), oder in kernnahen Strukturen auf der luminalen Seite (Kolon), die als endoplasmatisches Retikulum identifiziert werden konnten (Abb. 1).

Bei Selenmangel ändern sich die Spiegel der GPxs entsprechend ihrer Stellung in der Hierarchie der Selenoproteine. Während GI-GPx und PHGPx relativ stabil bleiben, verlieren pGPx und cGPx schnell an Aktivität durch Abbau ihrer mRNA. Die RNA von Selenoproteinen enthält in der 3'-nicht-translatierten Region (3'-UTR) eine charakteristische Sekundärstruktur, die sog. SECIS, für Selenocysteine-inserting sequence.

codierender Sequenz von cGPx, PHGPx und GI-GPx als Beispiele unterschiedlich stabiler Selenoproteine wurde diese Hypothese überprüft. Die 3'UTRs von GI-GPx und PHGPx konnten ohne Verlust der mRNA-Stabilität im Selenmangel ausgetauscht werden. Die GI-GPx und PHGPx 3'UTRs konnten aber nicht die mRNA der cGPx im Selenmangel stabilisieren. Fusion der cGPx 3'UTR an die codierende Sequenz von PHGPx oder GI-GPx machte beide mRNAs instabil. Somit ist die 3'UTR nötig aber nicht ausreichend für die Stabilisierung der mRNA von PHGPx und GI-GPx. Es bleibt die Möglichkeit, dass zusätzliche Sequenzen in der codierenden Region zur Stabilisierung erforderlich sind.

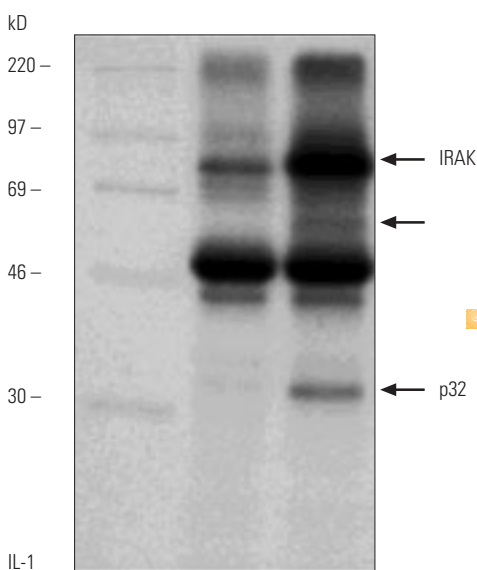
BHK-Zellen, die keine endogene GI-GPx bilden, exprimierten GI-GPx unter der Kontrolle des CMV-Promoters und hielten die zugehörige mRNA im Selenmangel stabil. Somit ist die gewebsspezifische Expression der GI-GPx eher über spezifische Transkriptionsfaktoren, die im Promoter binden, als über 3'UTR-bindende Proteine reguliert.

cGPx occurs in almost all cellular compartments; PHGPx is found in cytosol, mitochondria, and nuclei. Depending on the intestinal area, GI-GPx is expressed in Paneth cells (ileum) or concentrated in structures capping the nucleus at the luminal side of colonic cells. These structures were identified as endoplasmic reticulum (Fig. 1). In selenium deficiency, levels of GPxs vary according to their ranking in the hierarchy of selenoproteins. Whereas GI-GPx and PHGPx remain relatively stable, pGPx and cGPx rapidly lose activity due to the degradation of the respective mRNA.

The mRNA of selenoproteins contains a characteristic secondary structure in the 3'-non-translated region (3'UTR), called SECIS for selenocysteine-inserting sequence, which is indispensable to recognize TGA as selenocysteine codon. During translation, a SECIS-binding protein (SBP-2) binds to the SECIS and interacts with mSelB, which is associated with the selenocysteyl-loaded tRNA, thus stabilizing the translation complex typical for selenoproteins. The 3'UTRs may have additional functions, e.g., stabilizing mRNA by binding either SBPs or alternative proteins. This hypothesis was tested by mutually exchanging 3'UTRs and coding regions of cGPx, PHGPx and GI-GPx as examples for differently stable selenoproteins. The 3'UTRs of GI-GPx and PHGPx could be mutually exchanged without loss of mRNA stability in selenium deficiency. They could, however, not confer stability to cGPx. Fusion of the cGPx 3'UTR to the coding regions of PHGPx or GI-GPx made both mRNAs instable. Thus, 3'UTR is necessary but not sufficient for the stabilization of PHGPx and GI-GPx mRNAs, leaving the possibility that additional sequences most probably within the coding region are required. BHK cells, which do not express endogenous GI-GPx, expressed GI-GPx under the control of the CMV promoter. Also, GI-GPx mRNA produced this way remained stable in selenium deficiency. Expression of GI-GPx, therefore, depends on tissue-specific transcription factors targeting the 5'UTR, while factors binding to and stabilizing RNA appear to be less tissue-specific.

### IL-1 signaling

IL-1 is a pro-inflammatory cytokine which exerts its signals via the IL-1-receptor (IL-1R). Its signaling cascade is redox-regulated. Upon binding of IL-1, various proteins are recruited to the receptor, among them the IL-1R-associated kinase-1 (IRAK-1). At least 3 of these proteins contain free SH-groups (Fig. 2).



**Abbildung 2**  
Rekrutierung von Proteinen mit freien Thiolgruppen an den IL-1R durch IL-1. IL-1R Immunpräzipitate von EL4 Zellen mit (+) und ohne (-) IL-1 Stimulierung wurden mit  $^{125}\text{I}$ -IAIT (Iodo-Acetyl-[ $^{125}\text{I}$ ]-Iodotyrosine) markiert. Die kopräzipitierten Proteine wurden auf SDS-PAGE getrennt und autoradiographiert. Die ca. 80 kDa Bande wurde als IL-1R-assoziierte Kinase (IRAK) identifiziert.

Diese ist unerlässlich für die Erkennung des Selenocystein-Codons TGA. Ein SECIS-bindendes Protein (SBP-2) bindet während der Translation an die SECIS, interagiert mit an die mit Selenocystein beladene tRNA assoziiertem SelB und stabilisiert den für Selenoproteine typischen Translationskomplex. Andererseits könnten 3'-UTR-bindende Proteine auch die Stabilität der mRNA von Selenoproteinen bestimmen. Durch wechselseitigen Austausch von 3'UTR und

### IL-1-Signaltransfer

Interleukin-1 ist ein pro-inflammatorisches Cytokin, das seine Funktion über einen membranständigen Rezeptor ausübt und dessen Signaltransduktion redox-reguliert ist.

Nach Bindung von IL-1 werden verschiedene Proteine an den IL-1-Rezeptor (IL-1R) rekrutiert, zu denen u. a. die IL-1R-assoziierte Kinase (IRAK) gehört. Mindestens 3 dieser Proteine enthalten freie SH-Gruppen (Abb.2).

**Figure 2:**  
IL-1 initiates recruitment of proteins with free thiols to the IL-1 receptor. IL-1R immunoprecipitates from EL4 cells with (+) or without (-) IL-1 stimulation were labelled with  $^{125}\text{I}$ -IAIT (Iodo-acetyl-[ $^{125}\text{I}$ ]-iodotyrosine). Coprecipitated proteins were separated by SDS-PAGE and visualized by autoradiography. The approx. 80 kDa band was identified as IRAK.

Thiol-modifizierende Agenzien wie Diamid, Menadione, und Phenylarsinoxid (PAO) inhibierten die IL-1-mediierte Phosphorylierung eines endogenen Substrats innerhalb des IL-1R-Komplexes und auch die Rekrutierung von IRAK zum Rezeptor. Die Rekrutierung korrelierte mit der Verfügbarkeit von Thiolgruppen in IRAK für den Thiolmarker <sup>125</sup>J-IAIT. Eines der 3 Proteine wurde somit als IRAK identifiziert. Zu den am IL-1-Signaltransfer beteiligten Mediatoren gehören auch reaktive Sauerstoffspezies. Diese können entweder selbst als Signale fungieren oder Proteine, die an der Signaltransduktion beteiligt sind, modifizieren. Die letzteren sollten durch Enzymregulation für die Spezifität der Assoziation von IRAK zum Rezeptor durch Menadione, aber nicht durch PAO, in Übereinstimmung mit dem Reaktionsmechanismus dieser Verbindungen reguliert werden. Es wird geschlossen, dass die Bildung des IL-1R-Komplexes durch das Glutathionensystem reguliert wird, wobei ein reduzierter Status eine Voraussetzung für eine angemessene IL-1-Reaktion ist.

### The Atherosclerosis Project

Viele Ereignisse in der Atherogenese werden durch oxidativen Stress initiiert oder sind redox-reguliert, z.B. die Expression von Zelladhäsionsmolekülen (CAM). Kaninchenaortale glatte Muskelzellen (SMC), die entweder PHGPx oder 15-Lipoxygenase (15-LOX) stabil überexprimieren, stellen ein Modell zur Verfügung, mit dem die Rolle von Hydroperoxid-abbauenden (PHGPx) und Hydroperoxid-bildenden Systemen (15-LOX) in atherosklerose-relevanten Prozessen überprüft werden kann. Um die Expression von VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) zu untersuchen, wurde zunächst die cDNA für Kaninchen VCAM-1 aus SMC isoliert und sequenziert. Im Vergleich zu nicht transfizierten SMC war die basale VCAM-1-Expression in SMC<sup>PHGPx</sup> um ca. 50%, in SMC<sup>LOX</sup> fast vollständig gehemmt.

Die Induzierbarkeit von VCAM-1 durch IL-1 blieb in SMC<sup>PHGPx</sup> erhalten. In SMC<sup>LOX</sup> ließ sich VCAM-1 nicht durch IL-1 induzieren (Abb. 3). Alle RNA-Daten wurden durch Immunocytochemie bestätigt. Die PHGPx-Effekte unterstützen die Annahme, dass ein moderat oxidierter Status den IL-1-Signaltransfer und damit die VCAM-1-Expression erleichtert. Eine Überoxidation durch 15-LOX scheint dagegen Zellen gegen eine IL-1-Stimulation refraktär zu machen.

### The Vitamin-E Project

Die langjährige DiE-Tradition in der Vitamin-E-Forschung hat sich fortgesetzt. Die postulierte Kettendegradation von Tocopherolen und Tocotrienolen über den β-Oxidationsweg wurde durch die Identifizierung fast aller möglichen Intermediate durch GC/MS (Abb. 4 A/B) bestätigt.

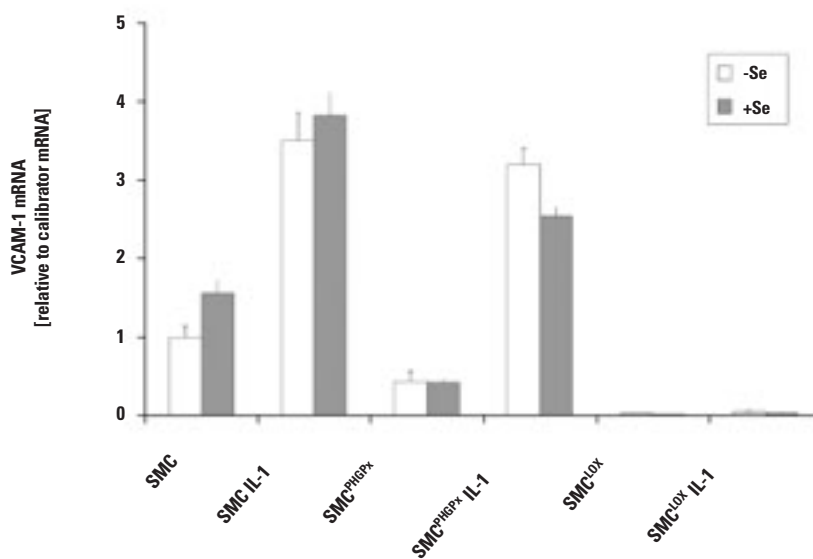
**Figure 3:** Inhibition of VCAM-1 expression by PHGPx and 15-LOX. SMC, SMC<sup>PHGPx</sup> or SMC<sup>LOX</sup> were grown with or without selenite and stimulated with IL-1. GAPDH-normalized VCAM-1 mRNA was quantified by real time PCR by the comparative method with VCAM-1 mRNA from selenium-deficient SMC as calibrator.

Thiolmodifizierende Agenzien wie Diamid, Menadion und Phenylarsinoxid (PAO), hemmten die Phosphorylierung im IL-1R-Komplex enthaltener endogener Substrate sowie die Rekrutierung von IRAK. Die Rekrutierung der IRAK korrelierte mit ihrer Zugänglichkeit für den SH-Gruppen-Marker <sup>125</sup>J-IAIT. Eines der 3 Proteine wurde somit als IRAK identifiziert. Zu den am IL-1-Signaltransfer beteiligten Mediatoren gehören auch reaktive Sauerstoffspezies. Diese haben entweder selbst Signalfunktion oder modifizieren an der Signalkaskade beteiligte Proteine, ein Prozess, der, um spezifisch abzulaufer, enzymreguliert sein sollte. Ein Kandidat hierfür ist die PHGPx, da diese als einzige GPx sowohl mit membranständigen Lipidhydroperoxiden als auch mit Proteinthiolen reagieren kann. Die Hemmung der Assoziierung von IRAK an den Rezeptor durch Menadion war durch GSH und durch PHGPx-Überexpression reversibel. Dagegen war der PAO-Effekt irreversibel, was im Einklang mit den Mechanismen der Thiolmodifizierung beider Substanzen steht.

### Das Atherosklerose-Projekt

Kerstin Schnurr, Antje Banning

Eine Vielzahl von Prozessen in der Atherogenese wird durch oxidativen Stress initiiert oder ist redox-reguliert. Hierzu gehören z.B. die Expression von Zelladhäsionsmolekülen (CAM). Mit glatten Muskelzellen (SMC) aus Kaninchenaorten, die entweder PHGPx oder 15-Lipoxygenase (15-LOX) stabil überexprimieren, steht ein Modell zur Verfügung, mit dem die Rolle von Hydroperoxid-abbauenden (PHGPx) und Hydroperoxid-bildenden Systemen (15-LOX) in Atherosklerose-relevanten Prozessen überprüft werden kann. Um die Expression von VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) zu untersuchen, wurde zunächst die cDNA für Kaninchen VCAM-1 aus SMC isoliert und sequenziert. Im Vergleich zu nicht transfizierten SMC war die basale VCAM-1-Expression in SMC<sup>PHGPx</sup> um ca. 50%, in SMC<sup>LOX</sup> fast vollständig gehemmt. Die Induzierbarkeit von VCAM-1 durch IL-1 blieb in SMC<sup>PHGPx</sup> erhalten. In SMC<sup>LOX</sup> ließ sich VCAM-1 nicht durch IL-1 induzieren (Abb. 3).



**Abbildung 3**

Hemmung der VCAM-1-Expression durch PHGPx und 15-Lipoxygenase. SMC, SMC<sup>PHGPx</sup> oder SMC<sup>LOX</sup> wurden mit und ohne Selenit kultiviert und mit IL-1 stimuliert. GAPDH-standardisierte VCAM-1-RNA wurde mit real time PCR über die komparative Methode quantifiziert. VCAM-1 von Selenarmen SMC diente als Kalibrator.

Hieraus ist ersichtlich, dass die Bildung des IL-1R-Komplexes über das Glutathionensystem reguliert wird. Ein reduzierter Status im IL-1R-Komplex enthaltener Proteine ist Voraussetzung für eine adäquate Antwort auf IL-1.

Alle RNA-Daten wurden in immunocytochemischen Untersuchungen bestätigt. Die PHGPx-Effekte unterstützen die Annahme, dass ein moderat oxidierter Status den IL-1-Signaltransfer und damit die VCAM-1-Expression erleichtert. Eine Überoxidation durch 15-LOX scheint dagegen Zellen gegen eine IL-1-Stimulation refraktär zu machen.

## Das Vitamin E-Projekt

Marc Birringer, Nico Landes,  
Paul Pfluger, Dirk Kluth

Der Mechanismus des Vitamin-E-Metabolismus wurde weitgehend aufgeklärt. Die über eine  $\beta$ -Oxidation verlaufende Verkürzung der Seitenketten von Tocopherolen und Tocotrienolen wurde durch Identifizierung fast aller Zwischenprodukte mittels GC/MS bestätigt (Abb. 4 A/B).

Als das die  $\omega$ -Hydroxylierung katalysierende Cytochrom P<sub>450</sub> war nach Hemm- und Induktionsstudien CYP3A4 vorgeschlagen. Wahrscheinlicher ist jetzt eine  $\omega$ -Hydroxylierung durch CYP4F2 (Sontag & Parker, 2002). Auf jeden Fall werden alle Vitamin-E-Formen über ein Enzymsystem metabolisiert, das auch für den Abbau von Arzneimitteln und Fremdstoffen verantwortlich ist.

Viele Fremdstoffe induzieren die sie metabolisierenden CYPs über die Aktivierung des Pregnan-X-Rezeptors (PXR). In HepG2-Zellen, die mit dem humanen PXR und einem Chloramphenicol Acetyltransferase (CAT) Reporter gen unter Kontrolle von PXR transgenisiert waren, wurde die CAT-Aktivität auch von Vitamin E stimuliert.  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Tocotrienol stimulierten stärker als Rifampicin, während  $\delta$ -,  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Tocopherol weniger effektiv waren.  $\gamma$ -Tocotrienol induzierte endogenes CYP3A4 und CYP3A5 im gleichen Ausmaß wie Rifampicin. Es ist also möglich, dass individuelle Vitamin E Formen (1) genregulatorisch wirken und (2) mit dem Arzneimittelstoffwechsel interferieren. Den einzigartigen essentiellen Funktionen von  $\alpha$ -Tocopherol in der Reproduktion und in der neuromuskulären Koordination könnten daher auch andere als antioxidative Mechanismen zugrunde liegen.

Inhibition and induction studies suggested that CYP3A4 catalyze the initial  $\omega$ -hydroxylation. Recently, CYP4F2 was shown to be the more likely candidate (Sontag & Parker, 2002). In any case, all forms of vitamin E are degraded via an enzymatic system which is responsible for the metabolism of drugs and xenobiotics. Many xenobiotics induce cytochromes catalyzing their metabolism via the activation of the pregnane X receptor (PXR). In HepG2 cells transfected with the human PXR and the chloramphenicol acetyl transferase (CAT) gene linked to PXR responsive elements, CAT activity was most strongly induced by  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocotrienol followed by rifampicin,  $\delta$ -,  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherol.  $\gamma$ -Tocotrienol induced endogenous CYP3A4 and CYP3A5 mRNA as efficiently as rifampicin. It is thus possible that individual forms of vitamin E (1) have gene regulatory functions and (2) interfere with drug metabolism. Other mechanisms than antioxidative ones might also determine the unique and essential functions of  $\alpha$ -tocopherol in reproduction and neuromuscular coordination.

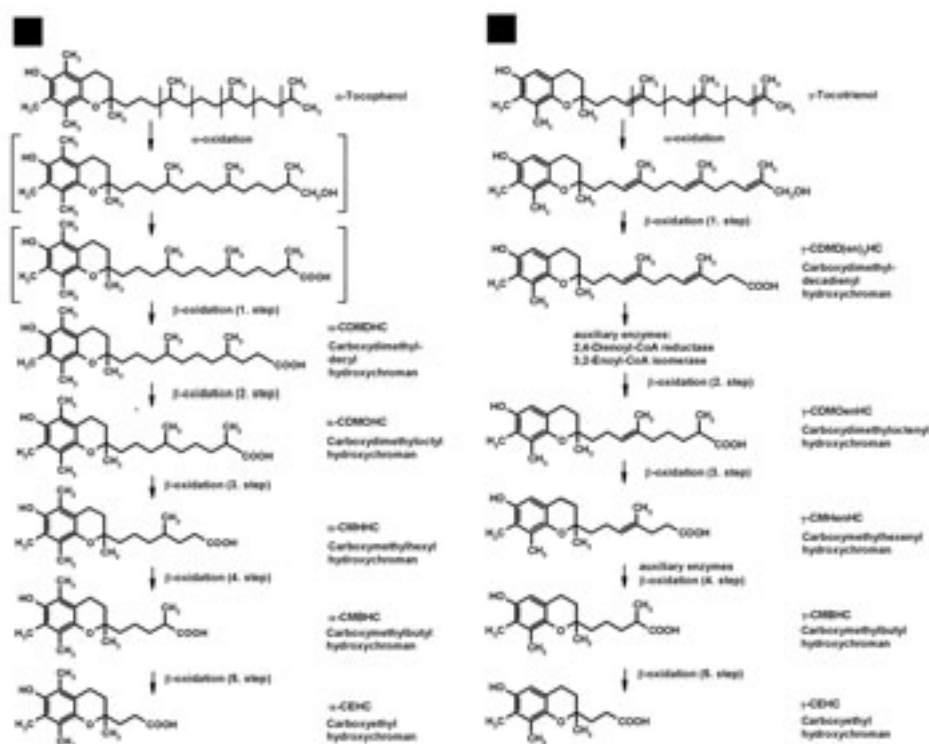


Abbildung 4

A. Seitenkettenabbau von Tocopherolen (Beispiel  $\alpha$ -Tocopherol). Nach initialer  $\omega$ -Hydroxylierung wird die Seitenkette in Analogie zur  $\beta$ -Oxidation verzweigt-kettiger Fettsäuren verkürzt. Der Mechanismus wurde durch Identifizierung der aufgeführten Intermediate durch GC/MS bestätigt. Metabolite in Klammern wurden bisher nur für  $\gamma$ -Tocopherol gezeigt.

B. Seitenkettenabbau von Tocotrienolen (Beispiel  $\gamma$ -Tocotrienol). Nach initialer  $\omega$ -Hydroxylierung wird die Seitenkette in Analogie zur  $\beta$ -Oxidation ungesättigter Fettsäuren verkürzt. Die in Schritt 2 und 4 gebildeten konjugierten Doppelbindungen werden von der Enoyl-Hydratase nicht akzeptiert und müssen durch Hilfsenzyme reduziert und isomerisiert werden. Die Zwischenprodukte  $\gamma$ -CDMOenHC und  $\gamma$ -CMBHC, die nicht die Doppelbindungen der Vorstufen enthalten, bestätigen dies.

Figure 4:  
A. Side chain degradation of tocopherols (e.g.  $\alpha$ -tocopherol). Upon initial  $\omega$ -hydroxylation, the side chain is shortened via  $\beta$ -oxidation in analogy to branched-chain fatty acid. Identification of the indicated intermediates by GC/MS confirmed the mechanism. Metabolites in brackets, have, so far, only been identified from  $\gamma$ -tocopherol.

B. Side chain degradation of tocotrienols (e.g.  $\gamma$ -tocotrienol). Upon initial  $\omega$ -hydroxylation, the side chain is shortened via  $\beta$ -oxidation in analogy to that of unsaturated fatty acids. Conjugated double bonds as formed in step 2 and 4 are not accepted by enoyl-CoA-hydratase and therefore have to be reduced and isomerized by auxiliary enzymes. Identification of  $\gamma$ -CDMOenHC and  $\gamma$ -CMBHC not containing the double-bonds present in their precursors, confirms the pathway.

## Drittmittelprojekte External Funding

Titel: Gewebsspezifische Regulation der Expression individueller Glutathionperoxidasen/Tissue-specific regulation of the expression of individual glutathione peroxidases  
Finanzierung: DFG  
Laufzeit: 01/01-01/02 und 07/02-06/04

Titel: Mechanismus und Funktion der Seitenkettenverkürzung von Tocopherolen  
Finanzierung: DFG  
Laufzeit: 01/01-12/02

Titel: Identifizierung redoxregulierter Proteine bei Interleukin-1 vermittelten Signalen  
Finanzierung: DFG  
Laufzeit: 01/01-12/02

Titel: Redoxprozesse in der Expression von Adhäsionsmolekülen. Rolle der Phospholipidhydroperoxid-Glutathionperoxidase (PHGPx) und der 15-Lipoxygenase  
Finanzierung: DFG  
Laufzeit: 05/01-04/03

Titel: VITAGE: Fat-soluble vitamin status and metabolism during ageing: Functional and nutritional consequences  
Finanzierung: EU  
Laufzeit: 01/00-12/03

## Ausgewählte Publikationen Selected Publications

### Originalarbeiten/Original Papers

Birringer, M., Drohan, D., Brigelius-Flohé, R.: Tocopherols are metabolized in HepG2 cells by side chain omega-oxidation and consecutive beta-oxidation. *Free Radic. Biol. Med.* 31, 226-232 (2001).

Birringer, M., Pfluger, P., Kluth, D., Landes, N., Brigelius-Flohé, R.: Identities and differences in the metabolism of tocotrienols and tocopherols in HepG2 cells. *J. Nutr.* 132, 3113-3118 (2002).

Brigelius-Flohé, R., Müller, C., Menard, J., Florian, S., Schmehl, K., Wingler, K.: Functions of Gl-GPx: Lessons from selenium-dependent expression and intracellular localization. *BioFactors* 14, 101-106 (2001).

Brigelius-Flohé, R., Wingler, K., Müller, C.: Estimation of individual types of glutathione peroxidases. *Methods Enzymol.* 347, 101-112 (2002).

Florian, S., Wingler, K., Schmehl, K., Jacobasch, G., Kreuzer, O. J., Meyerhof, W., Brigelius-Flohé, R.: Cellular and subcellular localization of gastrointestinal glutathione peroxidase in normal and malignant human intestinal tissue. *Free Radic. Res.* 35, 655-663 (2001).

Lehmann, C., Wollenberger, U., Brigelius-Flohé, R., Scheller, F. W.: Modified gold electrodes for electrochemical studies of the reaction of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase with glutathione and glutathione disulfide. *Electroanalysis* 13, 364-369 (2001).

Lisdat, F., Utepbergenov, D., Haseloff, R. F., Blasig, I. E., Stocklein, W., Scheller, F. W., Brigelius-Flohé, R.: An optical method for the detection of oxidative stress using protein-RNA interaction. *Anal. Chem.* 73, 957-962 (2001).

Müller, C., Friedrichs, B., Wingler, K., Brigelius-Flohé, R.: Perturbation of lipid metabolism by linoleic acid hydroperoxide in CaCo-2 cells. *Biol. Chem.* 383, 637-648 (2002).

Traber, M. G., Winklhofer-Roob, B. M., Roob, J. M., Khoschsorur, G., Aigner, R., Cross, C., Ramakrishnan, R., Brigelius-Flohé, R.: Vitamin E kinetics in smokers and nonsmokers. *Free Radic. Biol. Med.* 31, 1368-1374 (2001).

Wingler, K., Müller, C., Brigelius-Flohé, R.: Stability of gastrointestinal glutathione peroxidase mRNA in selenium deficiency depends on its 3'UTR. *BioFactors* 14, 43-50 (2001).

### Übersichtsarbeiten/Reviews

Birringer, M., Pilawa, S., Flohé, L.: Trends in selenium biochemistry. *Nat. Prod. Rep.* 19, 693-718 (2002).

Brigelius-Flohé, R., Kelly, F. J., Salonen, J. T., Neuzil, J., Zingg, J.-M., Azzi, A.: The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 703-716 (2002).

Brigelius-Flohé, R., Maiorino, M., Ursini, F., Flohé, L.: Selenium: An Antioxidant?. In: Cadenas, E., Packer, L. (eds.) *Handbook of Antioxidants*. Marcel Dekker, New York Basel, pp 633-664 (2001)

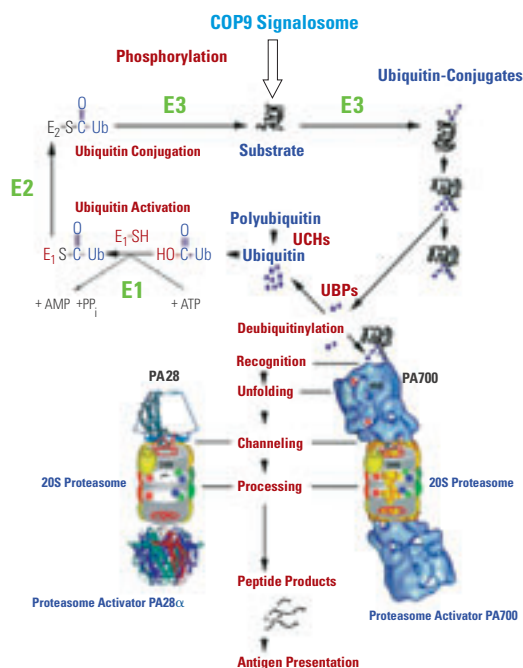
### Buchbeiträge/Articles in books

Böl, G.-F., Brigelius-Flohé, R.: IL-1-induced trafficking of interleukin-1 receptor-associated proteins. In: Heilmeyer, L., Friedrich, P. (eds.) *Protein Modules in Cellular signalling*. NATO ASI A/318, IOS Press, Amsterdam, pp 288-297 (2001).

Brigelius-Flohé, R.: Arteriosklerose. In: Biesalski, H. K., Köhrle, J., Schümann, K. (eds.) *Vitamine, Spurenelemente und Mineralstoffe. Prävention und Therapie mit Mikronährstoffen*. Thieme Verlag, Stuttgart, New York, pp 437-449 (2002).

Wegen der komplexen Zusammensetzung der Nahrung ist es schwierig, für entzündliche und neoplastische Darmerkrankungen die Zusammenhänge zwischen Erkrankungen und Ernährung aufzuzeigen. Der polymorphe genetische Hintergrund und die Stoffwechselfähigkeit des Organismus und seiner Darmbakterien ist bisher nur unzureichend untersucht worden. Durch Flavonoide, kurzkettige Fettsäuren und gastrointestinale Mikrobiota ausgelöste Mechanismen könnten chemopräventiv hinsichtlich neoplastischer Darmerkrankungen sein. Ziel unserer Arbeiten ist es, die physiologischen, zellbiologischen und molekularen Grundlagen protektiver und schädlicher Wirkungen von Nahrungsinhaltsstoffen aufzuklären. Mechanismen des intrazellulären Proteinabbaus stehen im Vordergrund, da wir eine Interferenz von Nahrungsfaktoren mit molekularen Komponenten des Ubiquitin-Proteasom-Weges nachweisen konnten.

Zellen aufgewendet, um ubiquitinmarkierte Proteine über diesen Proteolyseweg abzubauen. Ubiquitin, ein konserviertes Protein aus 76 Aminosäuren, wird enzymatisch unter ATP-Verbrauch aktiviert und über seinen carboxyterminalen Glycinrest mit Lysinresten in Substratproteinen kovalent verknüpft. Das 26S-Proteasom erkennt, bindet, entfaltet und verdaut ubiquitinierte Proteine und generiert dabei MHC-Klasse-I-restringierte Peptide für die Antigenpräsentation. Das 20S-Proteasom, ein Subkomplex des 26S-Proteasoms, ist eine kompartimentierte multikatalytische Threonin-Nucleophil-Protease. Ihre sechs aktiven katalytischen Zentren mit multiplen Schnittpräferenzen (Peptidaseaktivitäten) liegen im Inneren eines 20S-Proteinkomplexes, der aus 14 verschiedenen Untereinheiten besteht. Proteasom-Aktivatoren regulieren den Zugang von Proteinen/Peptiden zum inneren



**Abbildung 1:** Der Signalosom-Ubiquitin-Proteasom-Weg (SUPP): ein Überblick. Die enzymatische Maschinerie zur Ubiquitinierung von Proteinsubstraten (E1-, E2-, E3-Enzyme) sowie die erforderlichen Aktivitäten zur Stabilisierung des monomeren Ubiquitin-Pools (Carboxyterminale Ubiquitinhydrolasen, UCHs und Ubiquitin-spezifische Processing-Proteasen, UBPs) sind im oberen Teil der Abbildung dargestellt. Der untere Abschnitt zeigt das 20S Proteasom und einige seiner assoziierten Modulatoren. Funktionen der Proteasom-aktivatoren PA700 und PA28 wurden spezifiziert. Unterschiedliche Peptidaseaktivitäten der aktiven Zentren der 20S-Protease sind durch rote, grüne und blaue Sternchen symbolisiert.

## Der Ubiquitin-Proteasom-Weg

Basisfunktionen eukaryontischer Zellen wie Proliferation, Differenzierung und Zelltod werden über die Stabilität molekularer Schaltermoleküle reguliert. Der Abbau der meisten dieser Proteine erfolgt über den Ubiquitin-Proteasom-Weg (Abb. 1). Er stellt ein intrazelluläres, cytosolisch/nukleär lokalisiertes Netzwerk aus Proteasen und ubiquitinierenden Enzymen dar. Etwa 20 % des verfügbaren ATPs werden von eukaryontischen

katalytischen Reaktionsraum. Da das 26S-Proteasom fehlerhafte Proteine konstitutiv abbaut und der Abbau regulatorischer Schalterproteine nach Induktion durch kovalente Modifikation (Dephosphorylierung oder Phosphorylierung, Ubiquitinierung) erfolgt, ist ein hoher Grad an Selektivität der Protein-substraterkennung erforderlich. Diese Selektivität wird durch eine spezifische Erkennung der individuellen Substrate durch Hunderte korrespondierender Ubiquitin-Protein-Ligasen,

## Research Group Food Chemistry and Preventive Nutrition

Head: PD Dr. Ralf Stohwasser

Due to the complex composition of food, it is difficult to demonstrate the relation between disease and nutrition for inflammatory and neoplastic diseases of the gut. The polymorphic genetic background and the metabolizing capability of the organism and its gastrointestinal microbiota have been insufficiently unrevealed so far. The protective mechanisms triggered by flavonoids, short-chain fatty acids, and gastrointestinal microbiota could have a chemopreventive effect as to neoplastic diseases of the gut. Our scientific work is aimed at elucidating the physiological, cell-biological, and molecular basis of protective or detrimental effects of food compounds. The intracellular protein degradation is the main focus of our research, since we were able to demonstrate that food factors interfere with molecular targets within the ubiquitin-proteasome pathway.

## The ubiquitin-proteasome pathway

Basic cellular functions of eukaryotes such as proliferation, differentiation, and cell death are regulated via controlling the stability of molecular-switch molecules. The degradation of most of these proteins is performed by the ubiquitin-proteasome pathway (Figure 1), which is an intracellular, cytosolic/nuclear- localized network of proteases and ubiquitinating enzymes. Approximately 20% of the available ATP is used by eukaryotic cells to degrade ubiquitinated proteins via this pathway of proteolysis. Ubiquitin, a conserved protein composed of 76 amino acids, is enzymatically activated with ATP consumption and covalently linked to lysine residues of substrate proteins by its carboxy-terminal glycine residue. The 26S proteasome recognizes, binds, unfolds, and degrades ubiquitinated proteins, thereby generating MHC-class-I-restricted peptides for antigen presentation. The 20S proteasome, a sub-complex of the 26S proteasome, is a compartmentalized multikatalytic threonine-nucleophile protease. Its six active catalytic sites representing multiple cleavage preferences (peptidase activities) are hidden in the internal cavities of the barrel-shaped 20S protein complex, composed of 14 different subunits. Proteasome activators regulate the access of proteins/peptides to the inner catalytic chamber. Since the 26S proteasome degrades defective proteins constitutively and the degradation of regulatory switch proteins occurs in an induced manner after covalent modification (dephosphorylation or phosphorylation, ubiquitinylation), a high degree of selectivity of protein-substrate recognition is necessary.

**Figure 1:** The signalosome-ubiquitin-proteasome pathway (SUPP): an overview. The upper panel summarizes the enzymatic machinery for ubiquitinylation of protein substrates (E1, E2, E3 enzymes) and required activities stabilizing the pool of monomeric ubiquitin (ubiquitin carboxy-terminal hydrolases, UCHs and ubiquitin-specific processing proteases, UBPs). The lower panel depicts the 20S proteasome and some of its associated modulators. Functions of proteasome activators PA700 and PA28 are specified. Distinct peptidase activities of the catalytic 20S core protease are indicated by red, blue, and green asterisks.

This selectivity is ensured by specific recognition of individual substrates by hundreds of corresponding ubiquitin-protein ligases, E2-Ub-conjugating enzymes, and ubiquitin hydrolases. Unlimited proliferation of malignantly transformed cells is partially based on deregulated proteolysis. In aggressively growing colon tumors, proteasome-specific degradation of the p27 tumor suppressor protein is increased and accompanied by significant overexpression of the p27-specific F-box protein, responsible for p27-substrate recognition by the corresponding ubiquitylating E3-ubiquitin protein ligase. This example underlines that basic cellular processes and the detrimental pathological deregulation under disease conditions require regulation/deregulation of intracellular proteolysis via the ubiquitin-proteasome pathway. Chemopreventive food factors on the other hand might interfere with deregulated compounds and therefore be beneficial from a therapeutic or preventive perspective.

#### Modulation of basic cellular functions by non-nutritive food factors

##### Cellular metabolism of flavonoids

Considering the examination of molecular changes that are induced by flavonoids in epithelial cell lines of the gastrointestinal tract, the metabolization capacity of those cells (methylation, glucuronidation, sulfatation) should not be neglected, since modulatory effects of bioactive flavonoids might be extended by effects caused by these metabolites. We could demonstrate that HT-29 cells sulfate, glucuronidate, and methylate quercetin, thereby generating the corresponding metabolites

##### Modulation of gene expression during inflammation and tumorigenesis

Based on our working hypothesis that non-nutritive food factors might modulate the mRNA expression of gene products participating in the ubiquitin-proteasome pathway, and thereby might modulate intracellular protein breakdown, we performed oligonucleotide microarray and Northern hybridization experiments to analyze differential gene expression in HT-29 adenocarcinoma cells (Fig.2). Some of the modulators tested revealed not only inhibition of proliferation and stimulation of apoptosis but also influenced the expression of genes associated with the ubiquitin-proteasome pathway in a time- and concentration-dependent manner.

**Figure 2:** Modulation of gene expression by flavonoids. Oligonucleotide microarray (left panel) and Northern analysis of gene expression in HT-29 cells. Cy3 (green) and Cy5 (red) labeled cDNA probes generated from reverse-transcribed total RNA of modulator-treated or solvent-treated cells were hybridized on glass slides. The custom-made pilot array covers 33 genes related to intracellular proteolysis. Each gene is represented by three individual 50-mer oligonucleotides and spotted in triplicates. The differential expression of SUPP-related genes detected by microarray analysis has been confirmed by Northern analysis (right panel) during time-course experiments as demonstrated here for the modulator-dependent suppression of the PA28 $\gamma$ -mRNA.

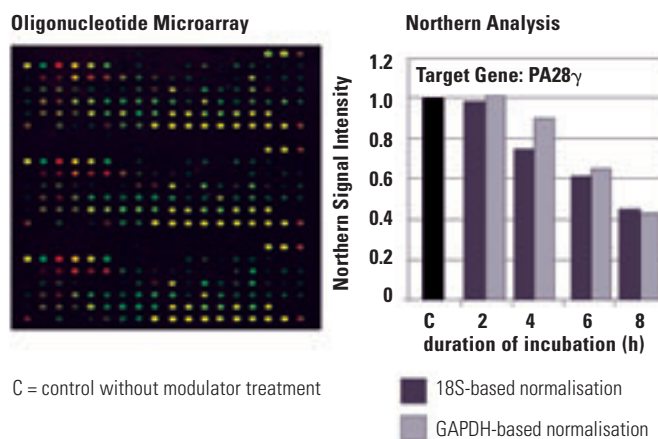
E2-Ub-konjugierende Enzyme und Ubiquitin-Hydrolasen gewährleistet. Eine unbegrenzte Proliferation maligne entarteter Zellen basiert teilweise auf einer deregulierten Proteolyse. In aggressiv wachsenden Kolontumoren ist der proteasomspezifische Abbau des Tumorsuppressorproteins p27 erhöht und von einer signifikanten Überexpression des p27-spezifischen F-box-Proteins begleitet, das für die p27-Substraterkennung durch die entsprechende ubiquitylierende E3-Ubiquitin-Proteinligase verantwortlich ist. Dieses Beispiel unterstreicht, dass zelluläre Basisprozesse und die schädliche pathologische Deregulation unter Krankheitsbedingungen die Regulation/Deregulation der intrazellulären Proteolyse über den Ubiquitin-Proteasom-Weg erfordern. Chemopräventive Nahrungsfaktoren könnten andererseits mit deregulierten Verbindungen interferieren und deshalb aus therapeutischer oder präventiver Perspektive nützlich sein.

dieser Zellen (Methylierung, Glucuronidierung, Sulfatierung) nicht vernachlässigt werden, da modulatorische Effekte bioaktiver Flavonoide möglicherweise durch Wirkungen dieser Metabolite erweitert werden. Wir konnten nachweisen, dass HT-29-Zellen Quercetin sulfatieren, glucuronidieren und methylieren, wobei die entsprechenden Metabolite entstehen.

##### Modulation der Genexpression bei Entzündung und Tumorentstehung

Ausgehend von unserer Arbeitshypothese, dass nicht-nutritive Nahrungsfaktoren die mRNA-Expression von Genprodukten, die am Ubiquitin-Proteasom-Weg beteiligt sind, und somit den intrazellulären Proteinabbau modulieren, wurden Oligonucleotid-microarray- und Northern-Hybridisierungen zur Analyse der differentiellen Genexpression in HT29-Adenokarzinomazellen eingesetzt (Abb.2).

#### Modulation of Gene Expression by Flavonoids



C = control without modulator treatment



#### Abbildung 2:

Modulation der Genexpression durch Flavonoide. Oligonucleotid-Microarray (links) und Northern-Analyse der Genexpression in HT-29 Zellen. Cy3 (grün) und Cy5 (rot) markierte cDNA-Proben wurden durch reverse Transkription von Gesamt-RNA modulator- oder lösungsmittel-behandelter Zellen synthetisiert und auf Glasobjektträger hybridisiert. Der nach unseren Vorgaben spezialangefertigte Pilotarray repräsentiert 33 Gene der intrazellulären Proteolyse. Für jedes Gen wurden drei verschiedene 50-mer-Oligonucleotide als Triplikate auf den Objektträger aufgebracht. Die differentielle Expression von SUPP-relevanten Genen, nachgewiesen durch Microarrayanalyse, wurde durch Northernhybridisierungen in Zeitabhängigkeitsexperimenten, wie hier für die modulatorabhängige Supprimierung der PA28 $\gamma$ -mRNA-Expression gezeigt (rechts), bestätigt.

#### Modulation zellulärer Basisfunktionen durch nicht-nutritive Nahrungsfaktoren

Barbara Raab, Undine Lehmann, Hella Jürgens, Markus Glaubit, Morana Marinovic, Ralf Stohwasser

##### Zelluläre Metabolisierung von Flavonoiden

Bei der Untersuchung molekularer Veränderungen, die durch Flavonoide in epithelialen Zelllinien des Gastrointestinaltraktes induziert werden, darf das Metabolisierungspotential

Einige der getesteten Modulatoren erwiesen sich nicht nur als proliferationshemmend und apoptosefördernd, sondern beeinflussten konzentrations- und zeitabhängig auch die Expression von Genen, die mit Funktionen des Ubiquitin-Proteasomweges assoziiert sind. In Kooperation mit der Universität Tübingen (M. Baus, Abt. Prof. N. Blin; Institut für Anthropologie und Humangenetik) konnten wir zeigen, dass die epitheliale NF $\kappa$ B-Aktivierung während der chronischen



Entzündungsreaktionen der TNBS-Kolitis (eine durch Trinitrobenzolsulfonsäure experimentell erzeugte Kolitis) mit einer Supprimierung der TFF-Expression assoziiert ist. Trefoilfaktorpeptide (TFF1, TFF2, TFF3) werden als protektive, heilende und tumor-suppressive Faktoren von mucinbildenden Becherzellen des Darmepithels sekretiert. Reporterassays mit TFF-Promotorkonstrukten in HT-29-Zellen und Realtime-PCR-Analytik belegen eine TNF- $\alpha$  induzierte, NF $\kappa$ B-vermittelte Silencer-Funktion des TFF-Promotors.

#### Inhibition des Proteasoms durch Flavonoide

Synthetische Proteasominhibitoren werden derzeit in klinischen Studien zur Krebstherapie getestet, da sie selektiv die Proliferation entarteter Zellen inhibieren und die Apoptose stimulieren. Einige natürliche Substanzen,

Im Mittelpunkt dieses Projektes stehen mechanistische Studien, die auf die differentiellen Modulatoreigenschaften von Flavonoiden in Bezug auf verschiedene Proteasom-Subtypen und katalytische Aktivitäten gerichtet sind.

*Gastrointestinale Mikrobiota als Modulatoren der Inflammationsantwort*  
Kommensale gastrointestinale Bakterien wirken als Effektoren der Epithelzellen des Kolons. Nicht-pathogene Bakterien können über proteasomvermittelte Regulationsmechanismen mit der inflammationspezifischen Signaltransduktion in Epithelzellen interferieren. In Kooperation mit der Abteilung Gastrointestinale Mikrobiologie wurde ein experimentelles Konzept entwickelt, welches die Identifizierung anaerober, entzündungsmodulierender Bakterienarten sowie die Aufklärung der entsprechenden

During the course of inflammatory bowel diseases, the transcription of several genes relevant with respect to therapy or prevention is regulated via the TNF $\alpha$ -NF $\kappa$ B signal transduction pathway. The expression of peptides displaying protective functions towards the gut epithelium, so-called trefoil factor peptides, has been examined in collaboration with the University of Tübingen (M. Baus-Loncar, N. Blin) and the Free University of Berlin (M. Kruschewski/H.J. Buhr). Trefoil factor peptides (TFF1, TFF2, TFF3) are considered to be protective, healing and tumor-suppressive factors secreted by mucin-producing goblet cells of the intestinal epithelium. In cooperation with the University of Tübingen (M. Baus, Prof. N. Blin; Institute of Anthropology and Human Genetics), we could show that the epithelial activation of NF $\kappa$ B during chronic inflammation of TNBS colitis is associated with suppression of TFF3 expression (Figure 4). Reporter gene assays performed using TFF promoter constructs transfected into HT-29 cells and real-time RT-PCR analysis revealed a TNF $\alpha$ -induced and NF $\kappa$ B-mediated silencer function of TFF promoter elements.

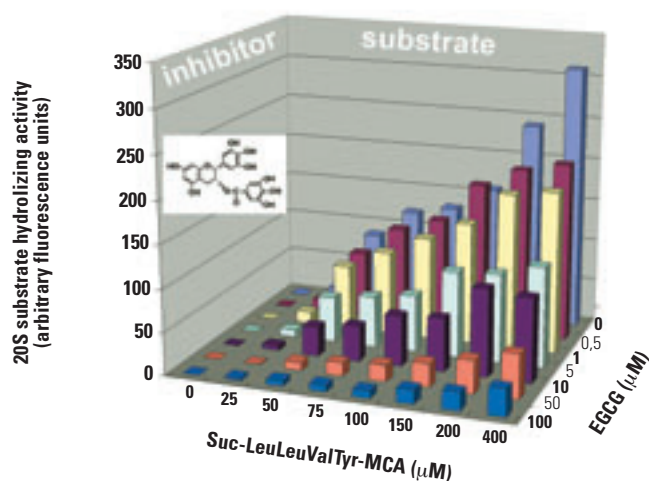
#### Proteasome inhibition by flavonoids

At present, synthetic proteasome inhibitors are under clinical investigation in cancer therapy, since they inhibit proliferation and stimulate apoptosis of transformed cells selectively. Several natural substances isolated from green tea or other plant-derived foods mediate similar effects. During the course of a modulator screening, we identified polyphenolic compounds of tea, which in vitro selectively inhibited the chymotrypsin-like peptidase activity of the 20S proteasome (Figure 3). Additionally, the stabilization of classical proteasome substrates as well as of poly-ubiquitinated substrate conjugates was observed in HT-29 cells. Mechanistic studies addressing the differential modulator qualities of flavonoids with respect to distinct proteasome subtypes and catalytic activities are the main focus of this project.

#### Gastrointestinal microbiota as modulators of inflammatory response

Commensal gastrointestinal bacteria act as effectors of epithelial cells in the colon. Non-pathogenic bacteria can interfere with inflammation-specific signal transduction events via proteasome-mediated mechanisms. Hence, an experimental concept has been established in collaboration with the department GAMI that is aimed at identifying anaerobic bacterial modulators of inflammation and to unravel the corresponding mechanisms.

Epi-Gallocatechin-Gallate inhibits the 20S Proteasome



#### Abbildung 3:

Inhibition von Peptidaseaktivitäten des 20S-Proteasoms durch Teepolyphenole  
Während eines Screenings potentieller Proteasominhibitoren aus der Gruppe der Flavonoide, identifizierten wir Epi-gallocatechingallat als eine effektive Komponente, die ein natürlicher Bestandteil von grünem und schwarzem Tee ist. Das Diagramm zeigt die Abhängigkeit zwischen Substrat-(Suc-LLVY-AMC)- und Inhibitor-(EGCG)-Konzentration und der Chymotrypsin-ähnlichen Aktivität des 20S-Proteasoms, aufgereinigt aus Leber der Maus.

isoliert aus grünem Tee oder aus anderen pflanzlichen Nahrungsmitteln, vermitteln ähnliche Wirkungen. Im Verlauf eines Modulatorscreenings identifizierten wir polyphenolische Verbindungen aus Tee, die in vitro selektiv die chymotrypsinähnliche Aktivität des 20S-Proteasoms inhibieren (Abb. 3). Zusätzlich wurde die Stabilisierung klassischer Proteinsubstrate des Proteasoms und deren polyubiquitinylierten Ubiquitin-konjugaten in HT-29-Zellen beobachtet.

Wirkungsmechanismen zum Ziel hat. In Epithelzelllinien wurden TNF- $\alpha$  abhängige Signaltransduktionswege stimuliert und modulatorische Einflüsse verschiedener anaerober gastrointestinaler Bakterienstämme in Kokultur gemessen.

Figure 3: Inhibition of peptidase activities of the 20S proteasome by tea polyphenoles. During a screening of potential proteasome inhibitors among flavonoids, we identified epi-gallocatechin-gallate as an effective compound, which naturally occurs in green and black teas. The diagram shows the relationship between substrate (Suc-LLVY-AMC) and inhibitor (EGCG) concentrations and the chymotrypsin-like peptidase activity of the 20S proteasome purified from mouse liver.

TNF-dependent signal transduction pathways were stimulated in epithelial cell lines and modulatory influences of various species of anaerobic gastrointestinal bacteria have been studied in co-culture.

### Physiological characterization of fruit juices enriched in dietary fiber and flavonoids and of dietary fiber-rich cereals

Physiological effects of complex fruit juice ingredients were studied in vitro, in rats, and in humans. Fruit and vegetable juices rich in dietary fiber and flavonoids were produced by our cooperative partners (Research Institute Geisenheim) using an enzymatic two-step process. The characterization of juices included the qualitative and quantitative analysis of compounds (flavonoids, dietary fiber) with respect to their functional relevance in vivo, the measurement of physiological parameters influenced by the consumption of such juice products, and research on the metabolism of flavonoids and dietary fiber in animal and human studies. The fermentation activity of intestinal microflora was tested, and butyrate was determined. Produced juice products of high physiological quality showed detectable effects on cholesterol metabolism. Consumption of apple dietary fiber present in apple juices resulted in a significant increase in the excretion of total bile acids.

In an additional project the production as well as the physiological effects of extrudates based on oatmeal and rich in dietary fiber  $\beta$ -glucan and resistant starch) were investigated in vitro. Digested extrudates were able to interact with glyco-conjugated bile acids (BA). This is a prerequisite for the transport of BA into colon and their subsequent excretion. Interactions between BA and extrudates were enhanced at lower pH values and were influenced by the structure of BA and dietary fiber present in extrudates as well. The composition of dietary fiber in extrudates affected the production of short-chain fatty acids (including butyrate) during in vitro fermentation of extrudates with human faecal flora.

### Physiologische Charakterisierung von ballaststoff- und flavonoidhaltigen Fruchtsäften und von ballaststoffreichen Getreideprodukten

Sabine Sembries, Barbora Držíková, Gerhard Dongowski

Die physiologischen Wirkungen komplexer Inhaltsstoffe von Fruchtsäften wurden in vitro, an Ratten und am Menschen untersucht. Unter Verwendung eines enzymatischen Zwei-Stufen-Verfahrens wurden durch unsere Kooperationspartner (Forschungsanstalt Geisenheim) mit Ballaststoffen und Flavonoiden angereicherte Frucht- und Gemüsesäfte (Apfel, Traube, Rote Bete) hergestellt. Die Charakterisierung der Säfte beinhaltete die qualitative und quantitative Analyse der unter funktionellen Aspekten relevanten Verbindungen (Flavonoide, Ballaststoffe),

zeigten nachweisbare Effekte auf den Cholesterolfstoffwechsel. So war durch die Anwesenheit von Apfelballaststoffen im Apfelsaft die Ausscheidung an Gesamtgallensäuren signifikant höher. In einem weiteren Projekt wurden die Herstellung und physiologischen Wirkungen von Extrudaten aus Hafer-Vollkornprodukten in vitro untersucht, die reich an Ballaststoffen (wie  $\beta$ -Glucan und resistenter Stärke) sind. Die verdauten Extrudate waren in der Lage, Wechselwirkungen mit glykokonjugierten Gallensäuren (GS) einzugehen. Das ist eine Voraussetzung für den weiteren Transport der GS in den Dickdarm und damit für ihre Ausscheidung. Die Wechselwirkungen waren größer bei niedrigeren pH-Werten und wurden sowohl von der Struktur der GS als auch der der Ballaststoffe in den Extrudaten beeinflusst.

#### Renal Excretion of Flavonoids & Metabolites

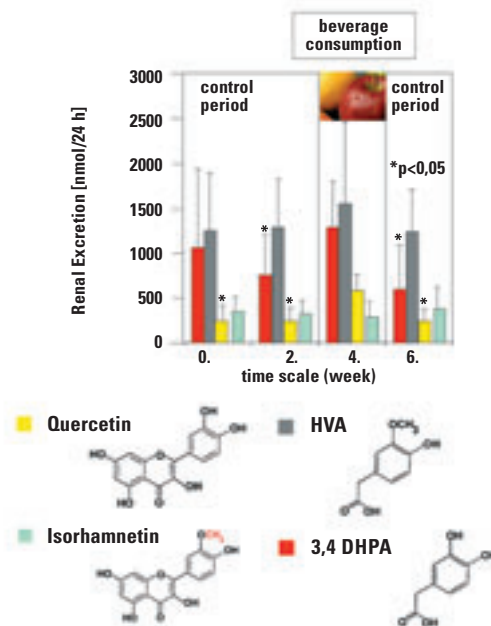


Abbildung 4:

Renale Exkretion von Flavonoiden und Metaboliten  
Die HPLC-Analyse von Flavonoiden und Metaboliten aus dem 24h-Urin wurde als Beispiel einer physiologischen Studie zur Metabolisierung von Flavonoiden ausgewählt. Im Verlauf der Humanstudie konsumierten 10 Probanden täglich 1,4 l eines Flavonoid- und Ballaststoff-angereicherten Apfelsaftes (79  $\mu$ mol Quercetin/-Glykoside). Gleichzeitig wurden physiologische Parameter gemessen, um potentiell chemopräventive Eigenschaften des optimierten Apfelsaftgetränks zu untersuchen.

die Messung physiologischer Parameter (z.B. Körpergewicht, Gallensäureausscheidung, Cholesterolspiegel), die durch den Verzehr der Fruchtsaftprodukte beeinflusst werden, sowie die Untersuchung des Metabolismus von Flavonoiden (Abb.4) und Ballaststoffen in Tier- und Humanstudien. Die Fermentationsaktivität der intestinalen Mikroflora wurde geprüft und der Butyratanteil bestimmt. Die hergestellten physiologisch qualitativ hochwertigen Saftprodukte

Die Zusammensetzung der Ballaststoffe wirkte sich auch auf die Bildung von kurzkettigen Fettsäuren (einschließlich Butyrat) während der Fermentation der Extrudate mit Faecesflora vom Menschen aus.

#### Technische Mitarbeiter:

Elke Chudoba, Bärbel Kunkel, Monika Niehaus, Katrin Warnke, Horst Maischack, Bärbel König, Karin Richter

Figure 4:  
Renal excretion of flavonoids and metabolites  
HPLC analysis of flavonoids and metabolites from 24-h urine has been selected as example of a physiological study of metabolization of flavonoids. During the course of the human study, ten volunteers consumed 1,4 l of flavonoid and dietary fiber-enriched apple juice daily (79  $\mu$ mol quercetin/-glycoside). In parallel, physiological parameters were measured to examine chemopreventive features of the optimized apple beverage.

## Ausgewählte Publikationen Selected Publications

### Originalarbeiten/Original Papers

Aust, L., Dongowski, G., Frenz, U., Täufel, A., Noack, R.: Estimation of available energy of dietary fibres by indirect calorimetry in rats. *Eur. J. Nutr.* 40, 23-29 (2001).

Brigelius-Flohé, R., Müller, C., Menard, J., Florian, S., Schmehl, K., Wingler, K.: Functions of GI-GPx: Lessons from selenium-dependent expression and intracellular localization. *BioFactors* 14, 101-106 (2001).

Dongowski, G., Huth, M., Gebhardt, E., Flamme, W.: Dietary fiber-rich barley products beneficially affect the intestinal tract of rats. *J. Nutr.* 132, 3704-3714 (2002).

Dongowski, G., Lorenz, A., Proll, J.: The degree of methylation influences the degradation of pectin in the intestinal tract of rats and in vitro. *J. Nutr.* 132, 1935-1944 (2002).

Dongowski, G., Sembries, S.: Effects of commercial pectolytic and cellulolytic enzyme preparations on the apple cell wall. *J. Agric. Food Chem.* 49, 4236-4242 (2001).

Dongowski, G., Sembries, S., Bauckhage, K., Will, F., Dietrich, H.: Degradation of apple cell wall material by commercial enzyme preparations. *Nahrung/Food* 46, 105-111 (2002).

Florian\*, S., Wingler, K., Schmehl, K., Jacobasch, G., Kreuzer, O. J., Meyerhof, W., Brigelius-Flohé, R.: Cellular and subcellular localization of gastrointestinal glutathione peroxidase in normal and malignant human intestinal tissue. *Free Radic. Res.* 35, 655-663 (2001).

Förster\*, S., Dongowski, G., Kunzek, H.: Structure, Physicochemical properties and in vitro fermentation of enzymatically degraded cell wall materials from apples. *Nahrung/Food* 46, 158-166 (2002).

Gebhardt, E., Dongowski, G., Huth, M., Rabe, E.: Resistente Stärke - Bestandteil in bifunktionellen ballaststoffreichen Extrudaten. *Ernährung/Nutrition* 25, 202-208 (2001).

Graefe, E. U., Wittig, J., Mueller, S., Riethling, A.-K., Uehleke, B., Drewelow, B., Pforte\*, H., Jacobasch, G., Derendorf, H., Veit, M.: Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans. *J. Clin. Pharmacol.* 41, 492-499 (2001).

Hohl, U., Neubert, B., Pforte\*, H., Schonhof, I., Böhm, H.: Flavonoid concentrations in the inner leaves of head lettuce genotypes. *Eur. Food Res. Technol.* 213, 205-211 (2001).

Lehmann\*, U., Jacobasch, G., Schmiedl, D.: Characterization of resistant starch type III from banana (*Musa acuminata*). *J. Agric. Food Chem.* 50, 5236-5240 (2002).

Mehrländer, K., Dietrich, H., Sembries, S., Dongowski, G., Will, F.: Structural characterization of oligosaccharides and polysaccharides from apple juices produced by enzymatic pomace liquefaction. *J. Agric. Food Chem.* 50, 1230-1236 (2002).

Rössler\*, C., Jacobasch, G., Schmiedl, D., Gebhardt, E.: Resistente Stärke Typ 3 aus Roggenstärke, ein funktionelles Lebensmittel. *Ernährung/Nutrition* 26, 297-305 (2002).

Schwiertz, A., Lehmann\*, U., Jacobasch, G., Blaut, M.: Influence of resistant starch on the SCFA production and cell counts of butyrate-producing *Eubacterium* spp. in the human intestine. *J. Appl. Microbiol.* 93, 157-162 (2002).

Simmering, R., Pforte\*, H., Jacobasch, G., Blaut, M.: The growth of the flavonoid-degrading intestinal bacterium, *Eubacterium ramulus*, is stimulated by dietary flavonoids in vivo. *FEMS Microbiol. Ecol.* 40, 243-248 (2002).

\* Im Berichtszeitraum veröffentlichte Publikationen aus Diplom- und Doktorarbeiten ehemaliger Doktoranden.

## Drittmittelprojekte External Funding

Titel: Wertstoffgewinnung durch zweistufige enzymatische Behandlung von Obst- und Gemüsemais - Analyse und physiologische Charakterisierung der gewonnenen Produkte  
Finanzierung: AiF  
Laufzeit: 03/01-12/03

Titel: Verfahrenstechnische und ernährungsphysiologische Aspekte zur Bildung von resistenter Stärke in Hafer durch Extrusion  
Finanzierung: AiF  
Laufzeit: 12/00-08/03

\* Publications during the reporting period which are from dissertations by former doctoral students

## Center of Nutritional Counseling

Head: Dr. Christiana Einig

The Center of Nutritional Counseling is engaged in the development and evaluation of counseling strategies aimed at initiating and encouraging the long-term realization of scientifically-based dietary recommendations by the general public.

Studies indicate that most obese people are able to lose weight but unable to maintain it. Therefore, new concepts of counseling are required to develop strategies for weight reduction and maintenance. It is important to promote the participants' ability to control their weight and to maintain a healthy lifestyle (good diet, increased physical activity), also after completion of a weight-loss program. A personal focused concept was developed with strategies related to nutrition (diet with a moderate caloric deficit, fat reduction and modification, foods rich in starch and dietary fiber), behavior, and physical activity.

In order to examine the effectiveness of the concept, a pilot study has been started with 85 participants, 21-65 years of age with a mean body mass index of 33.6 kg/m<sup>2</sup>. The program includes a long-term training program for nearly 15 months, with a very intensive counseling phase (10 meetings in 2 1/2 months) followed by a phase with fewer group meetings (8 meetings in 12 months). In order to evaluate the effectiveness of the program, 1, 2, and 3 years after the end of the course, dietary behavior and physical activity, anthropometric data (e.g. weight, waist and hip measurements, body fat), and clinical-biochemical parameters (blood glucose, cholesterol fractions etc.) will be determined.

Criteria of the Institute of Medicine of the National Academy of Science (USA) are in use as indicators of successful weight reduction. Accordingly, 35% of those who started the program were able to achieve and maintain a successful weight loss of at least 5% of initial body weight during the long-term counseling period. 25% of the participants did not fulfill this criterion (intention-to-treat analysis).

Following the pilot study, the concept will be evaluated by a controlled intervention study. Furthermore, the Center of Nutritional Counseling continues to be a well-known scientific contact address for the regional and national public with regard to nutritional questions (Fig.1). In the last 2 years, 365 individuals with nutrition-related diseases were advised. Most questions concerned obesity and associated comorbidities (dyslipidemia, diabetes mellitus etc. ). Also, celiac disease and lactose intolerance were discussed.

More than 1400 inquiries (by telephone or letter) from people of the Potsdam/Berlin area and from the whole Federal Republic of Germany were answered. Also, numerous interviews on current topics of nutrition were given on radio and television and, moreover, in the press.

Das Ernährungsberatungszentrum beschäftigt sich mit der Entwicklung und Evaluation von Beratungsstrategien zur Initiierung und Unterstützung der langfristigen Umsetzung von aktuellen Ernährungsempfehlungen in der Bevölkerung. Studien zeigen, dass nicht die kurzfristige Gewichtsreduktion, sondern deren Stabilisierung für Übergewichtige bzw. Adipöse problematisch ist. Ein Wiederanstieg des Körpergewichts ist nach abgeschlossenen Maßnahmen zur Gewichtsreduktion und der damit wegfallenden Anleitung in aller Regel zu beobachten. Neue Konzepte der Beratung müssen sich darauf richten, diesem Wiederanstieg entgegen zu wirken. Die Selbstkompetenz der Betroffenen gilt es derart zu stärken, dass sie eigenständig die Entwicklung ihres Körpergewichts beurteilen und die optimalen Maßnahmen (günstige Kostwahl, adäquate körperliche Aktivität) flexibel ergreifen können.

Aufgrund dieser Erkenntnis wurde eine personenzentrierte Strategie entwickelt, bei der die Eigenverantwortung und die Selbstkompetenz der Betroffenen im Vordergrund stehen. Zur Effektivitäts- und Effizienzabschätzung der Konzeption läuft derzeit ein Pilotprojekt mit 85 Teilnehmern/innen im Alter von 21-65 Jahren und einem mittleren BMI von 33,6 kg/m<sup>2</sup>.

Das Programm beinhaltet einen Trainingsprozess über annähernd 15 Monate mit einer intensiven Betreuungsphase (10 Kurstreffen in 2,5 Monaten) und einer anschließenden Phase mit nur noch 8 Treffen in 12 Monaten.

Die Beratungsschwerpunkte konzentrieren sich auf:

- Informationsvermittlung zu einer ausgewogenen Mischkost mit mäßigem kalorischen Defizit, Fettreduktion, -modifikation, Bevorzugung stärke- und ballaststoffreicher Lebensmittel, Steigerung der Alltags- und Freizeitbewegung
- Selbstkritische Beobachtung der Lebensmittelauswahl, des Ess- und Bewegungsverhaltens
- Selbstentwicklung und Integration persönlicher situationsgerechter Strategien zur Bewältigung ungünstigen Ess- und Bewegungsverhaltens
- Training des Selbstmanagements und der Eigenverantwortung für einen gesundheitsförderlichen Lebensstil.



**Abbildung 1** Ernährungsberaterin Christine Hofmann am "Tag der Ernährungsforschung" im DIFE 2002

Zur Evaluierung der Konzeption werden 1, 2 und 3 Jahre nach Kursende folgende Zielgrößen erhoben:

- Anthropometrische Messgrößen (Körpergewicht, Taillenumfang, Körperfett usw.)
- Klinisch-biochemische Parameter (z.B. Blutzucker, Cholesterinfraktionen, Triglyceride)
- Protokoll- und Fragebogendaten zum Ess- und Bewegungsverhalten.

Als Indikatoren für eine erfolgreiche Gewichtsreduktion gelten die Kriterien des Institute of Medicine der National Academy of Sciences der USA. Hiernach konnten 35 % der Teilnehmer, die das Programm beendet hatten, eine Gewichtsreduktion von mindestens 5 % ihres Ausgangsgewichts erreichen und über den langen Kurszeitraum stabilisieren. 25 % der Teilnehmer erfüllten dieses Erfolgskriterium nicht (Intention-to-Treat-Analyse). Im Anschluss an das Pilotprojekt soll die Konzeption in einer kontrollierten Interventionsstudie überprüft werden. Des weiteren gilt das Ernährungsberatungszentrum als regionaler und überregionaler wissenschaftlicher Ansprechpartner (Abb.1). In den letzten 2 Jahren wurden 365 Personen mit ernährungsabhängigen Erkrankungen beraten. Der Beratungsanlass war zumeist Übergewicht, verknüpft mit Folgeerkrankungen (Fettstoffwechselstörungen, Diabetes mellitus usw.). Auch Osteoporose, Zöliakie und Lactoseintoleranz zählten u.a. zum Themenkreis. Mehr als 1400 telefonische und schriftliche Anfragen aus der Region Potsdam/Berlin sowie aus der gesamten Bundesrepublik wurden beantwortet und Interviews zu Ernährungsthemen in Presse und Fernsehen gegeben.

**Figure 1**  
Christine Hofmann, staff member of the Center of Nutritional Counseling, "Day of Nutrition Research", DIFE, 2002

# Max-Rubner-Laboratorium (MRL)

Leitung: Dr. Christa Thöne-Reineke

Tierexperimentelle Versuchsvorhaben führen nur dann zu klaren, wissenschaftlich anfechtbaren Ergebnissen, wenn die eingesetzten Tiere gesund und bestens betreut sind. Das Max-Rubner-Laboratorium beherbergt die zentrale Versuchstierhaltung des DfE. Der 1996 in Betrieb genommene Neubau entspricht den modernsten Standards der Versuchstierhaltung. In gut ausgestatteten Tierhaltungs- und Funktionsräumen können Tiere optimal gehalten und physiologisch charakterisiert werden. Das MRL ist mit spezieller technischer Ausrüstung versehen, um die Haltungsbedingungen für die jeweiligen Versuchstiere unter höchstem Standard zu realisieren. Ein streng kontrolliertes Hygieneregime schützt Tiere und Menschen. Die Umsetzung der Ziele der modernen Versuchstierkunde hat im MRL oberste Priorität. So werden Versuche soweit als möglich durch Alternativmethoden ersetzt (**R**eplacement). Die Zahl der Tierversuche wird auf ein für die jeweilige wissenschaftliche Fragestellung unerlässliches Maß reduziert (**R**educement). Die Belastung der Tiere wird durch eine Verfeinerung der Methoden und Messtechniken sowie bei der Auswertung immer weiter verringert. Es gilt, mehr Informationen aus



einem einzelnen Versuch (**R**efinement) zu gewinnen. Diese als Drei-R-Regel bezeichnete Maxime der Engländer *W.M.S. Russel* und *R.L.Burch* ist im MRL maßgebend.

Die Beratung der tierexperimentell tätigen Wissenschaftler in versuchstierkundlichen Fragen sowie die fachkundige Unterstützung in der Antragstellung und im Experiment erfolgt durch die Tierschutzbeauftragten, die Pflege und Betreuung der Tiere durch ein erfahrenes Team aus Fachtierärzten und Fachwissenschaftlern für Versuchstierkunde, Versuchstierpflegern und Biologielaboranten, die mit hohem Engagement und fürsorglicher Zuwendung zum Tier wesentlich zum Gelingen der Versuche beitragen.

Neben den Standardmethoden werden am MRL in Zusammenarbeit mit den wissenschaftlichen Abteilungen die in der Tabelle dargestellten besonderen Untersuchungsmethoden und Techniken verwendet.

## Spezielle Techniken im MRL

- Stoffwechseluntersuchungen in speziellen Stoffwechsellkäfigen für Maus, Ratte, Hamster
- Energieumsatz- und Substratumsatzmessung (indirekte Kalorimetrie) in Maus, Ratte und Hamster mit und ohne Kälteprovokation
- Quantitative und zeitliche Erfassung der Nahrungsaufnahme (Feeding Monitor) und Nährstoffpräferenzen, Herstellung von speziellen Diäten
- Bestimmung der Körperzusammensetzung am lebenden Tier mittels Dexa-Messung und Kernspin (NMR) in der Maus als angewandtes Refinement
- Infusionen, Perfusionen, akute und chronische Katheter, ICV-Implantierung, Mikropumpenimplantation
- Transponderimplantation (kontinuierliche Temperatur- u. Aktivitätsmessungen)
- Blutdruckmessungen blutig und unblutig in Maus und Ratte, Operation zur Stenosierung der Nierenarterie (2K1C) bei der Ratte als Hochdruckmodell
- Zucht und Haltung von keimfreien Ratten und Generierung von gnotobiotischen Ratten
- Zucht und genetische Überwachung von Versuchstierstämmen
- Oozytenpräparation aus *Xenopus laevis*

In addition to the standard methods of laboratory animal science and welfare, special techniques are in use in the MRL in cooperation with the other departments of the DfE

## Table 1: Special techniques

- Examination of metabolism of rats, mice, and hamsters by using metabolic cages
- Indirect calorimetric measurements to calculate energy expenditure and respiratory quotients in rodents under different temperature conditions
- Analysis of body composition by dual-energy X-ray absorptiometry (Dexa) and quantitative nuclear magnetic resonance (NMR) in living mice
- Monitoring of food intake by a feeding monitoring system using choice diets to analyze food preference
- Infusion, perfusion, acute and chronic catheter implantation (i.c.v.- implantation and implantation of osmotic pumps)
- Transponder implantation (continuous measurement of locomotive activity and body temperature).
- Intravascular blood-pressure measurement and non-invasive measurement using a tail cuff. Operative stenosis (two kidneys, one clip; 2K1C) as a model of renal hypertension.
- Processing, breeding, and maintenance of germfree rats
- Breeding and genetic monitoring of different laboratory animal strains
- Preparation of oocytes from *Xenopus laevis*

## Max Rubner Laboratory (MRL)

Head: Dr. Christa Thöne-Reineke

Experimental research with animals can only provide sound, scientifically incontestable results when the animals used are healthy and cared for well. The Max Rubner Laboratory houses DfE's central facilities for experimental animals. The new building, which went into operation in 1996, meets the most modern standards for keeping experimental animals. The animals can be kept under optimal conditions in well-equipped animal-keeping and functional rooms and physiologically characterized.

The MRL is especially equipped technically to realize the highest standards of care for the particular experimental animals. A strictly controlled hygiene regime protects both animals and humans. The realization of the goals of modern experimental-animal science has the highest priority at the MRL: whenever possible, experiments are replaced by alternative methods (Replacement). The number of animal experiments is reduced to an essential level for the scientific question in mind (Reduction). Stress of the animals is even further reduced by using more refined analytical methods and measurement techniques. It is a matter of obtaining more data from every single experiment (Refinement). This so-called 3-R rule of the Englishmen W.M.S. Russel and R.L.Burch is important at the MRL.

An animal-protection official gives the scientists involved in animal experiments advice as to questions of animal science and expert support in filing of applications and during experiments. An experienced team of specialized veterinarians, experimental-animal scientists and keepers, as well as biological-laboratory assistants, who are all highly motivated and considerate, care for and treat the animals. They thus contribute substantially to the success of the experiments.

## Forschungspreise und Ehrungen / Awards and Honors

Christian A. Barth  
Ehrenmitgliedschaft der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE)

Matthias Tschöp (Abt. Pharmakologie)  
Young Investigator Award for Clinical Research 2002 of the  
European Neuroendocrine Association

Hans-Georg Joost (Abt. Pharmakologie)  
Jühling-Vorlesung und Jühling-Medaille 2002  
"Molekulare Grundlagen von Adipositas und Typ-2-Diabetes  
in Mausmodellen mit Metabolischem Syndrom"

## Poster- und sonstige Preise / Poster and other Awards

M. Osterhoff, J. Schumacher, M. Möhlig, A. Kutz und A. Pfeiffer  
Forschungspreis 2001 des Fachbereichs Humanmedizin  
am Universitätsklinikum Benjamin Franklin der FU Berlin  
Epinephrine paradoxically stimulates insulin secretion in a Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein  
kinase II  $\delta_2$  deficient rat insulinoma cell line INS ( $\delta$ -) W12

C. Einig, C. Hofmann, K. Hoffmann, D. Johnsen, W. Lüder und C. Barth  
Posterpreis, 17. Jahrestagung der Deutschen Adipositas-Gesellschaft  
Bremen 18.-20.10.2001  
Erste Ergebnisse eines ambulanten langfristigen Gewichtsmanagementkonzepts

Gaby-Fleur Böhl  
Posterpreis, 5th Joint meeting 'Signal Transduction - Receptors, Mediators and Genes'  
Weimar 8.-10.11.2001  
Intracellular transport of PI3 kinase and Interleukin-1-receptor associated kinase, IRAK, into the nucleus

L. Ma, A. Kuhlow und H.-R. Glatt  
Aventis-Preis für den besten Kurzvortrag der Sektion Toxikologie vorgestellt  
auf der Frühjahrstagung der Deutschen Gesellschaft für experimentelle und  
klinische Pharmakologie und Toxikologie, Mainz 12.-14.3. 2002  
Enhancement of the bioactivation of 1-hydroxymethylpyrene in rats treated with ethanol or inhibitors  
of alcohol and aldehyde dehydrogenases. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 365 (2002) R139

Michael Ristow  
Posterpreis, Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft, Dresden 8. - 11.5.2002  
Beta-zell-spezifische Inaktivierung d. Frataxin-Gens der Maus verursacht gestörte Insulinsekretion  
und nachfolgend Diabetes mellitus aufgrund verminderter Superoxid -Detoxifizierung

Joachim Spranger  
Posterpreis, Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft, Dresden 8. - 11.5.2002  
Interleukin-6 ist ein unabhängiger Prädiktor für Typ 2 Diabetes mellitus: Ergebnisse der prospektiven,  
populationsbasierten Kohortenstudie EPIC Potsdam

N. Landes, P. Pfluger und D. Kluth  
Young investigator award, XIth Biennial Meeting of the International Society for  
Free Radical Research (SFRR-I), Paris 16.-20.7.2002  
Vitamin E activates hPXR-mediated gene expression in HepG2 cells

## Patente 2002

Verfahren zur Expressionsveränderung von Polypeptiden  
in rekombinanten Expressionssystemen (Abt. Ernährungstoxikologie)

Bitter taste receptors (Abt. Molekulare Genetik)

## Ausgründung 2001

Peptides & elephants, Systeme zur Peptidsynthese

## 2001

### Rehbrücker Kolloquien / Rehbrücker Lectures

08.01.2001	Walter Iser, Bad Honnef	Wissenschaft im Dialog: 2001 – Das Jahr der Lebenswissenschaften
24.01.2001	Jens Brüning, Köln	Konditionale Mutagenese des Insulin-Rezeptors
02.04.2001	Elio Riboli, Lyon, F	The role of the EPIC study in elucidating the link between diet and cancer
04.04.2001	Michael Stumvoll, Tübingen	Ernährungseinflüsse auf die Insulin-Sekretion und -Resistenz
18.04.2001	Jürgen Kurths, Universität Potsdam	Nonlinear analysis of physiological data
09.05.2001	Angela D. Liese, University of South Carolina, USA	Diabetes surveillance in youth - the Richland-Lexington Country child and adolescent diabetes registry
16.05.2001	Thomas Mothes, Leipzig	Wechselwirkung zwischen Getreideproteinen und dem Darm-assoziierten Lymphgewebe bei Zöliakiepatienten
07.06.2001	Michel Eichelbaum, Stuttgart	Absorption, metabolism and transport of drugs by the gastrointestinal tract
13.06.2001	Pierre Fafournoux, Clermont-Ferrand, F	Amino acid regulation of gene expression
27.06.2001	Pierre Brandtzaeg, Oslo, N	How does the intestinal immune system counterbalance the antigenic impact from food and bacteria?
02.07.2001	Maris Lazdins, Riga, LT	Mikrosatelliten und ihre Verwendung in genetischen Analysen und pränataler Diagnostik
09.07.2001	Lynda Williams, Aberdeen, UK	Body weight regulation and the melatonin signal
16.07.2001	M. D. Breyer, Vanderbilt University, USA	Investigating the role of renal prostanoid receptors in blood pressure control
18.07.2001	V. Bähr, Universitätsklinikum B. Franklin, Berlin	Interaktion des Steroid-Stoffwechsels mit dem Metabolischen Syndrom
27.07.2001	W.G. Bessler, Freiburg	Immunadjuvanzen bakterieller Herkunft
10.10.2001	Markus Brielmeier, Neuherberg	PHGPx-Knockouts: From induction of lymphoma to spermatogenesis
24.10.2001	Ellen Blaak, Maastricht University, NL	Changes in fat metabolism in diabetes and with age
24.10.2001	Patrick Schrauwen, Maastricht University, NL	The Role of UCP in energy and substrate metabolism
01.11.2001	Heike Englert, University of Illinois, USA	Community transformation by lifestyle medicine - challenge and chance?
07.11.2001	Jaap Keijer, Wageningen, NL	Analysis of functional effects of dietary components by DNA microarray technology
20.11.2001	Hindrik Mulder, Lund, S	Lipids and stimulus-secretion coupling in pancreatic beta cells - novel insights from the hormone-sensitive lipase null mouse
28.11.2001	Sigrun Korsching, Universität Köln	Information processing in the olfactory nervous system: Dissecting the network
03.12.2001	Eva Arrigoni, ETH Zürich, CH	In vitro Fermentierbarkeit unverdaulicher Polysaccharide
06.12.2001	Ulrich Hämmerling, New York, USA	Vitamin A: New life for an old molecule, vitamin A meets zinc
12.12.2001	Gerd Hamscher, Hannover	Human- und Tierarzneimittel als neue resistente Umweltkontaminanten

### Symposien, Workshops, andere Veranstaltungen / Symposia, Workshops, other Events

11.01.2001	Ringvorlesung: "Biotechnologie und Ernährung" Hans-Rudolf Glatt, DIfE	Bewertung von gentechnisch veränderten Lebensmitteln aus toxikologischer Sicht
23.01.2001	Ringvorlesung: "Biotechnologie und Ernährung" Michael Blaut, DIfE	Warum bevölkern Bakterien unseren Darm?
25.01.2001	Ringvorlesung: "Biotechnologie und Ernährung" Ernst Heinz, Universität Hamburg, Inst. für Allgemeine Botanik	Bessere Speiseöle aus transgenen Ölsaaten: Realisierung einer Provokation

01.02.2001	Ringvorlesung: "Biotechnologie und Ernährung" Lothar Willmitzer, Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Golm	Biotechnologie bei Pflanzen - Grundlagen und Anwendungen
05.04.2001	DIfE Symposium	Pathogenesis and prevention of overweight - future perspectives
11.07.2001	DIfE-Wissenschaftstag	Ernährung und maligne Entartung
Juli 2001	Summer School, Abt. Epidemiologie	Grundlagen der Ernährungsepidemiologie
25.10.2001	Round table discussion:	The future of nutrition research
15./16.11.2001	Internationaler Workshop	Physical activity (in Verbindung mit der EPIC-Studie), Organisation: Abt. Epidemiologie
14./15.12. 2001	Internationaler Workshop	The future of biotechnology in the food market

## 2002

### Rehbrücker Kolloquien / Rehbrücker Lectures

10.01.2002	Martina Pyrski, Baltimore, USA	The OMP-lacZ transgene minics the unusual expression pattern of OR-Z6, a new odorant receptor gene on mouse chromosome 6: Implication for locus-dependent gene expression
16.01.2002	Arne Astrup, Fredriksberg, DK	The optimal diet composition for body weight regulation - where do we stand in 2002?
30.01.2002	Sheila Bingham, Cambridge, UK	Endogeneous N-nitrosation in the human colon
06.02.2002	Laszlo Nagy, Debrecen, H	Roles for nuclear hormone receptors in myeloid cell differentiation and function
13.02.2002	Harry Flint, Aberdeen, UK	Microbial ecology of the mammalian gut
20.02.2002	Hadi Al-Hasani, Köln	Targeting of the insulin-responsive glucose transporter GLUT4 in adipocytes
04.03.2002	Matthias Tschöp, Eli Lilly, Indianapolis, USA	Ghrelin – ein neues Hormon mit pleiotroper Wirkung
20.03.2002	Walter Becker, Aachen	Signaltransduktion der Leptinrezeptor-Spleiβvarianten (LEPRa und LEPRb)
21.03.2002	Bette Phimister, Nature Genetics, New York, USA	Publication of research articles and peer review
24.04.2002	Andreas Rechner, London, UK	The metabolic fate of dietary polyphenols in humans - The colon as an important metabolic site
15.05.2002	Martin Klingenspor, Marburg	Molecular physiology of energy balance
27.05.2002	Shanta Persaud, London, UK	Pancreatic beta cell interactions and insulin secretion
29.05.2002	Gerd Kobal, Philip Morris, Richmond, USA	Neue Methoden zur Visualisierung olfaktorischer Aktivitäten im ZN
29.05.2002	Helmut Jungermann, Berlin	Risiko: Wahrnehmung und Kommunikation
12.06.2002	Ingrid Boekhoff, Stuttgart	Signaltransduktionsprozesse chemosensorischer Neurone
19.06.2002	Thomas Kietzmann, Göttingen	Sauerstoff und Glucose als Regulatoren der Genexpression. Zwei Signale, ein Ziel?
26.06.2002	Gordon Birch, Reading, GB	The role of water in sweet taste chemo reception
10.07.2002	Ibrahim Elmadfa, Wien, A	β-Carotin: Aktuelles über Bioverfügbarkeit und gesundheitsrelevante Aspekte
21.08.2002	Annick Mercenier, Lausanne, CH	Lactic acid bacteria: a new type of mucosal biotherapeutic agents
18.09.2002	Wolfgang Dubiel, Berlin	The COP9 signalosome and the regulation of ubiquitin-dependent proteolysis
27.09.2002	Gersh Zvi Taicher, Houston, USA	NMR methods for in-vitro and in-vivo analysis of bone tissue and whole body composition
09.10.2002	Ulf B. Göbel, Berlin	Diversity and specificity: Oral microbiota and the initiation of chronic periodontal infections
10.10.2002	Moshe J. Wermann, Haifa, IL	Fructose and glycation: Evidences and consequences in various systems



11.12.2002	Burkhard Viell, Berlin	Funktionelle Lebensmittel und gesundheitliche Aussagen auf Lebensmittel: Möglichkeiten, Perspektiven, Grenzen
11.12.2002	Johannes Hebebrand, Marburg	Molecular-genetic aspects of obesity
19.12.2002	Robert F. Margolskee, New York, USA	Making sense of taste

**Symposien, Workshops, andere Veranstaltungen / Symposia, Workshops, other Events**

09.01.2002	Workshop, Organisation: A. Pfeiffer, Abt. Klinische Ernährung + UKBF	Aktueller Stand der Risikovorhersage häufiger Erkrankungen der Inneren Medizin durch Gendiagnostik: Wer will seine Genetik wissen und wofür?
23.01.2002	Workshop, Organisation: A. Pfeiffer, Abt. Klinische Ernährung + UKBF	Diabetische Retinopathie und Maculopathie – eine interdisziplinäre Herausforderung
28.02.2002	Workshop, Organisation: H. Boeing, Abt. Epidemiologie	Epidemiologisches Langzeitmonitoring des Lebensmittelverzehrs zum Nachweis gesundheitsrelevanter Wirkungen funktioneller Lebensmittel
06.03.2002	Workshop, Organisation: A. Pfeiffer, Abt. Klinische Ernährung + UKBF	UPDATE Endokrinologie
08.03.2002	Arbeitstagung der Gesellschaft für Anthropologie, Organisation: Abt. Interventionsstudien	Traditionelle und moderne Methoden zur Bestimmung der Körperzusammensetzung
16./17.03.2002	Meeting mit EU-Partnern, Organisation: W. Meyerhof, Abt. Molekulare Genetik	Somatostatin and its receptors in brain function and dysfunction
14./15.03.2002	International Workshop, Organisation: H. Boeing, Abt. Epidemiologie	Scientific evidence and public health nutrition: how to derive dietary recommendations
22.07.-02.08.2002	Summer School	Grundlagen der Ernährungsepidemiologie
01.09.2002	Workshop mit EU-Partnern, Organisation: Hans-Joachim Zunft, Abt. Interventionsstudien	Eurolive
06.09.-07.09.2002	Workshop mit EU-Partnern, Organisation: Hans-Joachim Zunft, Abt. Interventionsstudien	Crownalife
19.09.2002	Tag der offenen Tür	
26.09.2002	Workshop mit EU-Partnern, Organisation: Hans-Joachim Zunft, Abt. Interventionsstudien	Body Life
31.10.-02.11.2002	Internationales Dife-Symposium	Frontiers in nutrition research
01.11.-02.11.2002	Workshop mit EU-Partnern, Organisation: Susanne Klaus, AG Energiestoffwechsel	Adipose tissue and its function in obesity (COST)

Mitarbeiter des DIfE sind begehrte Ansprechpartner für die Medien, knapp 200 mal standen die Wissenschaftler und Wissenschaftlerinnen im Berichtszeitraum in Fernsehen und Radio im Mittelpunkt von Beiträgen (Tab.1, S.66). In der Regionalpresse, aber auch überregional wurden DIfE-Mitarbeiter als Gesprächspartner zu zahlreichen Themen rund um die Ernährungsforschung befragt und gaben gerne Auskunft. Angeregt durch die wissenschaftlichen Forschungsergebnisse aus dem DIfE konnten Journalisten z.B. für die Themen Geruch- und Geschmack, Adipositas oder Diabetes über neue Aspekte berichten. Zahlreiche Anfragen von Einrichtungen und auch Bürgern wurden vom Referat Öffentlichkeitsarbeit oder dem Ernährungsberatungszentrum beantwortet.

## 2001

Das Jahr 2001 präsentierte sich als das "Jahr der Lebenswissenschaften"; für das DIfE willkommenen Anlass, sich bei zahlreichen Gelegenheiten zu engagieren und öffentlich in Erscheinung zu treten.

So fand vom 7.-9. Juni das DAAD-BioForum Berlin "Grenzenlos forschen" statt. Bei einer Veranstaltung an der Humboldt-Universität zu Berlin trat das DIfE zusammen mit der Technischen Universität Berlin auf: Anhand eines Modells des Verdauungstraktes konnten die Besucher nach "innen blicken", die angebotenen Informationen reichten von den DIfE-Forschungsprojekten bis zur Zusammensetzung von Lebensmitteln. Auch der Verein zur Förderung der Nutrigenomforschung wurde vorgestellt.

Höhepunkt war ein Forschungsmarkt vom 12.-17. September in den Arkaden des Potsdamer Platzes zum Ausklang des Wissenschaftssommers in Berlin, der von der Technischen Universität Berlin (Wissenstransfer Berlin) organisiert wurde. 46 Aussteller beteiligten sich, das DIfE war mit einem Stand im Rahmen des Gemeinschaftsprojektes "Die lebende Zelle" vertreten. Auf Postern wurde zum Thema "Ballaststoffe in der Ernährung" informiert, ein Mikroskop bot Einblicke in kleinste Welten. Der Stand war jeden Tag durch zwei Betreuer besetzt, im Rahmen der 'Langen Nacht der Wissenschaft' sogar bis 24 Uhr. Dieser Einsatz war nur dadurch möglich, dass zahlreiche DIfE-Abteilungen mithalfen und die Mitarbeiter "Schichtdienst" leisteten.

Das "Jahr der Lebenswissenschaften" nahm eine Gruppe Berliner und Brandenburger Forschungsinstitutionen zum Anlass, eine Einführung in das "Buch des Lebens" zu geben. In der Berliner Urania fanden vom 12.-15. November Informationsveranstaltungen dazu statt. Durch einen Vortrag von Prof. Dr. Susanne Klaus zum Thema Hunger- und Sättigungsregulation wurde das Thema "My Food" wissenschaftlich begleitet.

## 2002

Über 200 mittelständische Unternehmen und Forschungseinrichtungen aus ganz Deutschland präsentierten am 3. Juni auf dem 9. Innovationstag der Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen "Otto von Guericke" (AiF) neue Produkte und Ideen. Das DIfE beteiligte sich mit zwei Projekten, die von Barbora Drzikova und Dr. Gerhard Dongowski betreut wurden: "Herstellung, funktionelle Eigenschaften und ernährungsphysiologische Wirkungen ballaststoffhaltiger Produkte aus Gerste" und "Zusammensetzung und physiologische Wirkungen eines Apfelsaftproduktes, hergestellt durch enzymatische Tresterbehandlung".

Am 27. Juni fand auf dem Potsdamer Telegrafenberg der 4. Tag der Wissenschaft im Land Brandenburg statt. In der Themengruppe: Ernährungswissenschaften, Gesundheit, Sport hielt Ute Nöthlings, Abteilung Epidemiologie, einen Vortrag mit dem Titel "Was können wir mit Fragebögen zur Ernährung erfassen?"

Nach einer baubedingten Pause konnte das DIfE am Tag der offenen Tür am 19. September mehr als 500 interessierte Besucher begrüßen. Die begleitende Ausstellung "55 Jahre Ernährungsforschung in Rehbrücke" schöpfte aus dem Fundus des Instituts, Vergangenheit und Gegenwart der modernen Ernährungsforschung konnten bestaunt werden. Neben den Abteilungen des DIfE war auch das Institut für Ernährungswissenschaft der Universität Potsdam vertreten.

Am 26. Oktober fand im Stern-Center der 8. Gesundheitsmarkt der Stadt Potsdam statt. Das DIfE war durch das Ernährungsberatungszentrum mit Frau Dr. Christiana Einig und Frau Christine Hofmann vertreten. Zahlreiche Fragen zur Ernährung wurden kompetent beantwortet. Mit dem BIA-Gerät (unter Betreuung von Katja Ruttkowski und Christa Scholz aus der Abteilung Interventionsstudien) zur Bestimmung des Körperfettanteils konnten Interessierte ihren kritischen Wert erfahren und gleich besprechen, was zu tun wäre.

Großes Echo in den Medien fand das vom 31. Oktober - 2. November veranstaltete Internationale Symposium "Frontiers in Nutrition Research" mit 200 Teilnehmern. Anlässlich einer Feierstunde zum 10jährigen Bestehen des DIfE sagte Prof. Johanna Wanka, Ministerin für Bildung, Forschung und Kultur des Landes Brandenburg: "Das DIfE hat viel getan, um zur ersten Adresse in der deutschen Ernährungsforschung zu werden." Der wissenschaftliche Direktor des DIfE, Prof. Hans-Georg Joost, eröffnete den wissenschaftlichen Teil der Veranstaltung mit einer Einführung in die Fragestellungen der modernen Ernährungsforschung z.B. auf den Gebieten Krebs und Diabetes. Prof. Hannes Stähelin aus Basel bezog Stellung zu Functional-Food- und Gen-Food-Forschung.

DIfE beim Blind Date: Initiiert durch den Brandenburgischen Kunstverein Potsdam e.V. haben sich fünf Institute des Potsdamer Raums mit je einem Künstler zusammen getan und den Versuch unternommen, den Dialog zwischen Wissenschaft und Kunst aufzunehmen. Das DIfE kooperierte mit dem Künstler Malte Brekenfeld, das gemeinsame Projekt lief im Kutschstall in Potsdam bis zum 1. Dezember 2002.



# Press and public relations in 2001 and 2002

Members of the DIfE staff are very much in demand as contacts for the media – on nearly 200 occasions within these two years, scientists of the institute were the focus of attention on radio and television. Personnel of the DIfE were interviewed on numerous topics centering around nutritional research and they were glad to provide information, not only for the regional press but also at a supraregional level. Stimulated by the results of nutritional research at the DIfE, journalists were able to report on new aspects of topics such as smell and taste, obesity, or diabetes. Many inquiries by institutions or individuals were answered by the Public Relations Department or the Center of Nutritional Counseling

## 2001

Since the year 2001 had been declared "Year of Life Sciences," it was a good reason for DIfE to get involved in the activities and to appear in public. Thus, the DAAD Bioforum "Boundless Research" took place in Berlin. Together with the Berlin Technische Universität, DIfE made its appearance at an event at the Humboldt University of Berlin: A model of the gastrointestinal tract allowed visitors to get an "inside look." The information presented covered a spectrum reaching from DIfE's research projects to the composition of foods. In addition, the Society to Promote Nutrigenome Research was presented.

The research market on September 12-17 was a highlight at the commercial center of Potsdam Plaza (Berlin), to close the "Science Summer," which had been organized by the Technische Universität (Wissenstransfer Berlin). Forty-six exhibitors took part and DIfE was represented at a stand within the framework of a joint project, "The living cell." Posters with information on "Fiber in Foods" were shown, and a microscope gave visitors the opportunity to "take a peek." Two people were in charge of the stand every day, even until midnight on the "Long Night of Science." This was made possible by the many staff members who helped out and worked in shifts.

A group of Berlin and Brandenburg research institutions used the "Year of Life Sciences" as an opportunity to introduce the "Book of Life." At the Urania in Berlin, informational events took place (November 12-15). A lecture by Prof. Dr. Susanne Klaus on the regulation of hunger and satiety accompanied the theme "My Food" from a scientific standpoint.

## 2002

On June 3, more than 200 medium-sized companies and research institutions from all of Germany presented new products and ideas at the 9th Innovation Day of the Working Group of Industrial Research Associations "Otto von Guericke." DIfE participated with two projects, of which Barbora Drzikova and Dr. Gerhard Dongowski were in charge: "Production, functional characteristics, and nutritional-physiological effects of fiber-containing products made from barley" and "Composition and physiological effects of an apple-juice product made by enzymatic treatment of pomace."

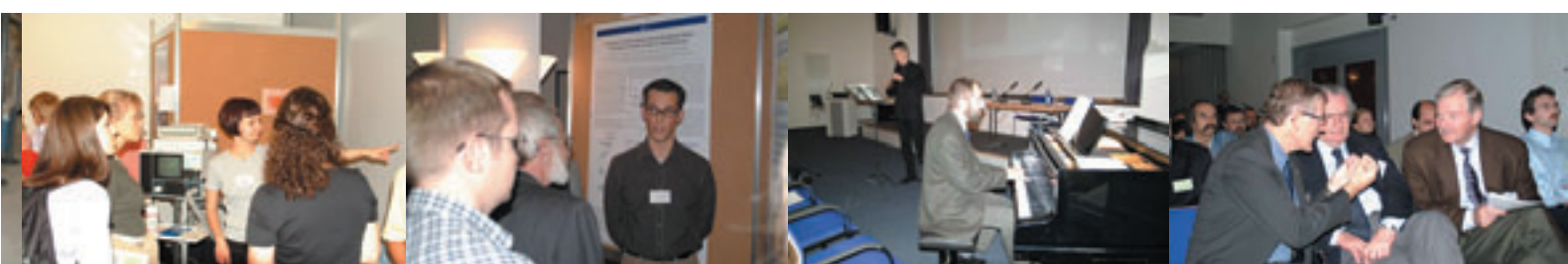
On June 27, the 4th Day of Science took place in Brandenburg at the Potsdam Telegrafenberg. Within the topics "nutritional science, health, and sports", Ute Nöthlings, Department of Epidemiologie, held a talk with the title "What can we find out with questionnaires on nutrition?"

After a break due to construction work, DIfE was able to greet more than 500 interested guests at its "Open House" on September 19. This was accompanied by an exhibit "55 Years of Nutritional Research in Rehbrücke", which included items with relation to nutrition research from the past and from the present to amaze the visitors. The Institute of Nutritional Science of the Universität Potsdam was also represented, in addition to the departments of the DIfE.

On October 26 at the Stern Center, the City of Potsdam had its 8th Health Market. DIfE was represented by Dr. Christiana Einig and Christine Hofmann of the Center of Nutritional Counseling. Interested individuals could have their relative body fat measured using the BIA apparatus (in charge were Katja Ruttkowski and Christa Scholz from the Department of Intervention Studies), find out their personal value, and discuss on the spot what they should do.

The media broadly reported about the international symposium "Frontiers in Nutrition Research" that took place from October 31 until November 2 and which attracted 200 participants. Celebrating Difes 10<sup>th</sup> anniversary Brandenburgs ministry for Education, Science and Culture, Prof. Dr. Johanna Wanka, pointed out: "DIFE has done a lot to become the top address in German nutritional research." The Scientific Director of the institute, Prof. Hans-Georg Joost, opened the scientific program of the event with an introduction to the questions of modern nutrition research, for example, in the areas of cancer and diabetes. Prof. Hannes Stähelin from Basel, Switzerland, gave his views on research into functional foods and genetically altered foods.

DIfE on a blind date: each of five institutes in the Potsdam area worked together with an artist in an attempt to open a dialog between science and art. This was initiated by the Brandenburg Kunstverein (art association) Potsdam e.V.. DIfE cooperated with the artist Malte Brekenfeld and the joint project was at the Kutschstall in Potsdam until December 1, 2002.



# Das DiFE im Hörfunk und TV 2001/2002 – Auswahl aus über 190 Sendungen

DiFE in TV and radio programs – Selection from more than 190 interviews

Titel und Thema der Sendung Subject	Medium	Ansprechpartner aus dem DiFE Contactperson
ARD-Ratgeber Gesundheit BeceI	ARD/SFB	Dr. Christiana Einig
Wissenschaft: Epidemiologie	ARTE	Dr. Manuela Bergmann
Vegetarische Ernährung	n-tv	Prof. Dr. Andreas Pfeiffer
Osterei: BodPod	ORB - Wissenschaftsmagazin	Dr. Dieter Johnsen
Tagung: Krebs und Ernährung	TV Berlin	Prof. Dr. H.-R. Glatt
Logo: BioProfile	NDR 4	Prof. Dr. Christian Barth
Trinken im Sommer	SAT1 - Nachrichten	Dr. Jörg Häseler
"Schlankheitsmittel" BMI 23	SAT1-Frühstücksfernsehen	Dr. Michael Boschmann
Isotonische Getränke	MDR, Radio Sachsen-Anhalt	Dr. Jörg Häseler
Gesundheitssystem Deutschland	RAI (Italien)	Prof. Dr. Wolfgang Meyerhof
Quivive : Diabetes	SFB	Prof. Dr. Andreas Pfeiffer
Geschmackssinne	WDR	Prof. Dr. Wolfgang Meyerhof
Abendjournal: Neuer Direktor	ORB - ORB3	Prof. Dr. Hans-Georg Joost
Expertenrunde	SFB - 88,8	Dr. Dieter Johnsen
Gesund abnehmen	MDR - Radio Sachsen-Anhalt	Prof. Dr. Susanne Klaus
Ernährungsphysiologie Fisch	HR1	Dr. Jörg Häseler
Dick sein macht krank	inoradio	Prof. Dr. Christian Barth
Butterverbrauch	SFB - B1	Dr. Jörg Häseler
Adipositas	infoRadio	Dr. Dieter Johnsen
Quivive: Übergewicht und was kann man dagegen tun	SFB - B1	Dr. Christiana Einig
Hauptsache gesund: Gemüse	MDR3	PD Dr. Ralf Stohwasser
Wildpflanzen	ORB	Christiana Hanisch
Vitamine	Pro7	Dr. Gaby BöI
Vitamine	SAT1 - Nachrichten	Dr. Gaby BöI
Abnehmen	SAT1 - Vera am Mittag	Dr. Christiana Einig
Krebsstudie	Deutschlandfunk	PD Dr. Heiner Boeing
Nitrofen	n-tv Nachrichten	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Wochenmarkt: Lebensmittelskandale	SFB - B1	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Hauptsache gesund: Geschmacksgedächtnis	MDR	Prof. Dr. Hans-Joachim Zunft
Appetitzügelndes Hormon PYY 3-36	MDR - Info	Dr. Matthias Tschöp
Essstörungen	SAT1-Frühstücksfernsehen	Dr. Christiana Einig
Fitness ohne Schwitzen - Hormone lassen die Pfunde auch von Unbeweglichen schwinden	Deutschlandfunk	Dr. Matthias Tschöp
Kochkunst Geruch und Geschmack	Arte	Prof. Dr. Wolfgang Meyerhof
Vegetarier	ORB	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Schwierigkeiten bei Empfehlungen - Ernährungsexperten ringen um allgemeinverständliche Ratschläge	Deutschlandradio	PD Dr. Heiner Boeing
Ghrelin	Deutschlandfunk	Dr. Matthias Tschöp
Westblick: Entstehung von Krebs durch Ernährung	WDR - WDR5	PD Dr. Heiner Boeing
Sprechstunde: Adipositas und Diabetes	Deutschlandfunk	Dr. Matthias Tschöp, Dr. Michael Ristow

# Besucher willkommen! Visitors welcome!

Das DIfE freut sich über Besucher, der Austausch vor Ort wird gewünscht und gesucht. Studentengruppen und Wissenschaftler sind ebenso willkommen wie Senioren oder Schulklassen im Rahmen des Tages der offenen Tür. Auch Politiker nahmen die Gelegenheit wahr, sich an Ort und Stelle über die Aktivitäten des Institutes zu informieren. Beispielhaft einige Ereignisse aus dem Berichtszeitraum, bildlich festgehalten.

The DIfE is pleased to have guests and encourages an on-site exchange of ideas. Scientists and groups of students are just as welcome as are senior citizens and classes of school students within the framework of DIfE's "open house" day. In addition, politicians took the opportunity to be informed on the spot about the activities of the institute. Examples of some of the events during the two-year period of this report, in the following photographs.



7. Juni 2001: Brandenburger SPD-Bundestagsabgeordnete besuchen das DIfE:  
Angelika Krüger-Leißner (SPD), Dr. Peter Wilhelm Danckert (SPD), Ernst Bahr (SPD), Dr. Babette Regierer, Dr. Emil Schnell (SPD) und Prof. Dr. Michael Blaut (v.l.n.r.).

June 7, 2001: Four members of the Bundestag visit the DIfE:  
Angelika Krüger-Leißner (SPD, Social Democratic Party), Dr. Peter Wilhelm Danckert (SPD), Ernst Bahr (SPD), Dr. Babette Regierer, Dr. Emil Schnell (SPD), and Prof. Dr. Michael Blaut, from left to right



13. November 2001:  
Prof. Dr. Hans-Olaf Henkel (2.v.r. im Bild) spricht zum Thema "Forschungsstandort Deutschland: Probleme und Perspektiven unter Berücksichtigung der Umweltwissenschaften". Als weitere Gäste konnten Prof. Dr. Christian Barth, Dr. Wolfgang Seyfarth vom Zentrum für Agrarlandschafts- und Landnutzungsforschung (ZALF) in Müncheberg, Prof. Dr. Jürgen Zaske vom Institut für Agrartechnik (ATB) in Potsdam-Bornim, Dr. Manfred Stock vom Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau (IGZ) in Großbeeren, Dr. Eckhard George vom Institut für Klimafolgenforschung (PIK) und Hr. Henner Koltzus begrüßt werden. (Foto: Piontek).



November 13, 2001:  
Prof. Dr. Hans-Olaf Henkel speaking on the topic "Germany as a research location: problems and perspectives-taking ecology into consideration."

01. November 2002: Rund 200 Besucher sind zu Gast im DIfE, beim Symposium "Frontiers in Nutrition Research", darunter die Brandenburgerische Ministerin für Wissenschaft, Forschung und Kultur Frau Prof. Johanna Wanka.

November 01, 2001: Approximately 400 visitors are guests at the DIfE Symposium "Frontiers in Nutrition Research", including Brandenburg's Minister of Science, Research and Culture Prof. Johanna Wanka



17. Mai 2002  
Workshop  
Epidemiologie

May 17, 2002.  
Epidemiology  
Workshop



8. März 2002 Arbeitstagung der AG "Angewandte Anthropologie" der Gesellschaft für Anthropologie e.V. (GfA). Die Organisation vor Ort hatten Dr. Dieter Johnsen (im Bild mit Frau Prof. Dr. Holle Greil) und Frau Dr. Ulrike Trippo.

March 8, 2002: Conference of the working group "Applied Anthropology" of the Society of Anthropology (GfA). Responsible for the local organization were Dr. Dieter Johnsen (shown with Prof. Dr. Holle Greil) and Dr. Ulrike Trippo.



Jeweils Januar bis April 2001/2002: Kurs Ernährungsmedizin der Ernst-von-Bergmann-Akademie für ärztliche Fortbildung der Ärztekammer Berlin, der Akademie für ärztliche Fortbildung der Landesärztekammer Brandenburg und des DIfE. Intensive Lern-Weekenden für die Kursteilnehmer....

In 2001 and 2002, from January to April, the course "Nutritional Medicine" of the Ernst-von-Bergmann Academy for further training of physicians of the Berlin Medical Association, of the Academy for further training of physicians of the Brandenburg State Medical Association, and of the DIfE. Intensive weekends of learning for the participants...

8. August 2002  
Summer School  
Epidemiologie

8 August 2002:  
Epidemiology  
Summer School



**Vorstand / Board**

Barth, Christian, Prof. Dr.  
(bis 31.12.01)  
Echtermeyer, Brigitte  
Joost, Hans-Georg, Prof. Dr. Dr.  
(ab 01.01.02)  
Kohlmann, Gudrun  
Lammersmann, Monika  
Schäfer, Judith, Dr.  
Schmidt, Anke, Dr.  
Schulz, Hartmut, Dr.

**Abteilung Molekulare Genetik**  
**Department of Molecular Genetics**

Behrens, Maik, Dr.  
Brune, Nicole, Dipl.-Biol.  
Bufe, Bernd, Dipl.-Biol.  
Carlo, Anne-Sophie, Neurobiol.  
Chirokova, Elena, Dipl.-Biophysikerin  
Demgensky, Stefanie  
Kocharyan, Ara, Dr.  
Krautwurst, Dietmar, Dr.  
Kretzschmar, Beate  
Kreuzer, Oliver, Dipl.-Ing.  
Kuhn, Christina, Dipl.-Biol.  
Lerner, Ulrike  
Meyerhof, Wolfgang, Prof. Dr.  
Olias, Gisela, Dr.  
Pyrski, Martina, Dr.  
Robert, Christophe, Dr.  
Rogers-Blaut, Lynne, Dr.  
Schmiedeberg, Kristin, Dipl.-Biol.  
Schöley-Pohl, Ellen  
Silkeit, Monika  
Stepanyan, Zaruhi, Medizinerin

**Abteilung Pharmakologie**  
**Department of Pharmacology**

Al-Hasani, Hadi, Dr.  
Castañeda, Tamara, Dr.  
Kluge, Reinhart, Dr.  
Plum, Leona, Dr.  
Rischke, Brigitte  
Scheepers, Andrea, Dipl.-Biol.  
Schmolz, Katja, Dipl.-Biol.  
Schürmann, Annette, Prof. Dr.  
Tschöp, Matthias, Dr.  
Warnke, Kathrin  
Zahn, Claudia, Dipl.-Biol.

**Arbeitsgruppe Physiologie**  
**des Energiestoffwechsels**  
**Laboratory of Physiology**  
**of the Energy Metabolism**

Adams, Frauke, Dipl.-Ern.-wiss.  
Albrecht, Petra  
Backes, Gunda, Dr.  
Boeuf, Stéphane, Dr.  
Boschmann, Michael, Dr.  
Brüning, Silke

Daenzer, Maren, Dipl.-Ern.-wiss.  
Klaus, Susanne, Prof. Dr.  
Metges, Cornelia C., PD Dr.  
Ortmann, Sylvia, Dr.  
Petzke, Klaus-Jürgen, Dr.  
Plaue, Carola  
Schaller, Karin  
Sylvester, Antje  
Ulbricht, Dorit  
Wiedmer, Petra, Dipl.-Ern.-wiss.

**Abteilung Klinische Ernährung**  
**Department of Clinical Nutrition**

Assert, Roland, Dr.  
Glaubitz, Markus, Dipl.-Oec.troph.  
Hannemann, Melanie  
Jahn, Beate  
Käding, Helga  
Koske, Anke  
Möhlig, Matthias, Dr.  
Osterhoff, Martin, Dr.  
Pfeiffer, Andreas F. H., Prof. Dr.  
Pomplun, Doreen, Dipl.-Ern.-wiss.  
Richter, Susann  
Richter, Susanne, Dipl.-Lebensmittelchem.  
Ristow, Michael, PD Dr.  
Rudovich, Natalia, Dr.  
Salami, Shojaie Farideh  
Simon, Kristin  
Spranger, Joachim, Dr.  
Sprengel, Katrin  
Stemmer, Kerstin, Dipl.-Biol.  
Trölenberg, Heike  
von Kraack, Wiltraut  
Wegewitz, Uta, Dipl.-Ern.-wiss.

**Abteilung Interventionsstudien**  
**Department of Intervention Studies**

Hanisch, Christiana, Dipl.-Oec.troph.  
Höhne, Antje, Dipl.-Ern.-wiss.  
Hoppe, Konrad, Dr.  
Hoyer, Stephan, Dipl.-Ern.-wiss.  
Johnsen, Dieter, Dr.  
Koebnick, Corinna, Dr.  
Lorse, Martina  
Machowetz, Anja, Dipl.-Oec.troph.  
Möseneder, Jutta, Dr.  
Nicolai, Karin, Dipl.-Agraring.  
Pester, Silvia  
Reimann, Manja, Dipl.-Ern.-wiss.  
Ruttkowski, Katja  
Scholz, Christine  
Schröder, Renate  
Schultz, Stefanie  
Seppelt, Brigitte, Dipl.-Math.  
Simchen, Ulrike, Dipl.-Ern.-wiss.  
Trippo, Ulrike, Dr.  
Ulbricht, Gottfried, Dr.  
Vulprecht, Dagmar  
Wagner, Karen, Dipl.-Ern.-wiss.  
Zunft, Hans-Joachim Franz, Prof. Dr.

**Abteilung Epidemiologie**  
**Department of Epidemiology**

Behling, Kay  
Bergmann, Manuela, Dr.  
Bernigau, Wolfgang  
Boeing, Heiner, PD Dr.  
Dahl, Andreas, Dipl.-Ern.-wiss.  
Drogan, Dagmar, Dipl.-Ern.-wiss.  
Fallisch, Sabine  
Ficht, Wilfried  
Fiddicke, Ulrike, Dipl.-Ern.-wiss.  
Fisher, Eva, Dr.  
Fleischhauer, Wolfgang, Mediziner  
Franke, Andrea  
Haftenberger, Marjolein, Dipl.-Ern.-wiss.  
Heidemann, Christin, Dipl.-Ern.-wiss.  
Heinrich, Christine  
Hoffmann, Kurt, Dr.  
Klipstein-Grobusch, Kerstin, Dr.  
Kohlsdorf, Ellen  
Kroke, Anja, Dr.  
Kühn, Kathrein  
Lahmann, Petra, Dr.  
Lebsa, Heiderose  
Nöthlings, Ute, Dipl.-Ern.-wiss.  
Schienkiewitz, Anja, Dipl.-Oec.troph.  
Schulz, Mandy, Dipl.-Ern.-wiss.  
Schulze, Matthias, Dipl.-Ern.-wiss.  
Walter, Dietmar, Dipl.-Oec.troph.  
Weeske, Gabriele

**Abteilung Ernährungstoxikologie**  
**Department of Nutritional Toxicology**

Braune, Sabine  
Brüning, Silke  
Engst, Wolfram, Dr.  
Glatt, Hans-Rudolf, Prof. Dr.  
Gumz, Christine  
Hollnagel, Heli Miriam, Dipl.-  
Lebensmittelchem.  
Katschak, Andrea  
Knuth, Brigitte  
Liu, Yungang, Dr.  
Ma, Lan, Dr.  
Meinl, Walter, Dr.  
Meyer, Elisabeth  
Muckel, Eva, Dr.  
Pabel, Ulrike, Dipl.-Biol.  
Schneider, Heiko, Dr.  
Scholtyssek, Martina  
Schwenk, Jutta  
Sommer, Yasmin, Dipl.-Lebensmittelchem.

**Abteilung**

**Gastrointestinale Mikrobiologie**  
**Department of Gastrointestinal Microbiology**

Blaut, Michael, Prof. Dr.  
 Braune, Annett, Dr.  
 Clavel, Thomas, Dipl.-Biol.  
 Gruhl, Bärbel  
 Herles, Claudia, Dr.  
 Herzog, Renate  
 Hollnagel, Heli Miriam, Dipl.-Lebensmittelchem.  
 Kleeßen, Brigitta, Dr.  
 Lachmann, Kathrin  
 Lehmann, Katrin, Dipl.-Ern.-wiss.  
 Mohan, Ruchika, Mikrobiologin (Master)  
 Müller, Susanne, Dipl.-Ern.-wiss.  
 Namsolleck, Pawel, Dipl.-Meeresbiol.  
 Schindler, Regine  
 Schmidt, Sabine  
 Schoefer, Lilian, Dr.  
 Schwiertz, Andreas, Dr.  
 Sczesny, Silke, Dr.  
 Taras, David, Dr.  
 Thiel, Ralph, Dipl.-Biol.  
 Urbich, Marion  
 Zimmermann, Sabine

**Abteilung Vitamine und Atherosklerose**  
**Department of Vitamins and Atherosclerosis**

Aust, Gerlinde  
 Banning, Antje, Dipl.-Ern.-wiss.  
 Birringer, Marc, Dr.  
 Bittner, Jörg-Uwe  
 Böhl, Gaby-Fleur, Dr.  
 Brigelius-Flohé, Regina, Prof. Dr.  
 Deubel, Stefanie  
 Gühler, Anke  
 Jurrmann, Nadine, Dipl.-Biol.  
 Kluth, Dirk, Dipl.-Biol.  
 Krohn, Elvira  
 Kuka, Daniela, Dipl.-Biol.  
 Kupper, Dagmar, Dr.  
 Landes, Nico, Dipl.-Ern.-wiss.  
 Müller, Cordula, Dr.  
 Müller-Schmehl, Katrin, Dr.  
 Pfluger, Paul, Dipl.-Biol.  
 Schindler, Regine  
 Schnurr, Kerstin, Dr.  
 Wendt, Edith

**Arbeitsgruppe Präventiv-Medizinische  
 Lebensmittelforschung**  
**Laboratory of Food Chemistry and Preventive  
 Nutrition**

Chudoba, Elke  
 Dongowski, Gerhard, Dr.  
 Drzikova, Barbora, Dipl.-Ern.-wiss.  
 Florian, Simone, Dipl.-Oec.troph.  
 Jürgens, Hella, Dipl.-Oec.troph.  
 König, Bärbel  
 Kretschmar, Beate

Kunkel, Bärbel  
 Lehmann, Undine, Dr.  
 Maischack, Horst  
 Marinovic, Morana, Dipl.-Biochem.  
 Niehaus, Monika  
 Pforte, Holger, Dipl.-Lebensmittelchem.  
 Raab, Barbara, Dr.  
 Richter, Karin  
 Rössler, Christine, Dr.  
 Sembries, Sabine, Dr.  
 Stohwasser, Ralf, PD Dr.

**Max-Rubner-Laboratorium**  
**Max Rubner Laboratory**

Bebert, Ines  
 Gaebel, Gerhard  
 Gruener, Ines  
 Güldenpenning, Siegfried  
 Hoffmeister, Katrin  
 König, Svetlana  
 Krause, Janet  
 Lehmann, Ute  
 Steinmeyer, Elvira  
 Thom, Elke  
 Thomas, Irmgard  
 Thöne-Reineke, Christa, Dr.  
 Weinert, Kerstin

**Ernährungsberatungszentrum**  
**Nutrition Consultation Center**

Einig, Christiana, Dr.  
 Hofmann, Christine  
 Lüder, Wolfgang, Dr.

**Presse- und Öffentlichkeitsarbeit**  
**Press and Public Relations**

Backes, Gunda, Dr.  
 Häseler, Jörg, Dr.  
 Johnsen, Dieter, Dr.

**Bibliothek**  
**Library**

Heidmann, Regine  
 Kollhof, Dagmar

**Informationstechnik**  
**Information Technology**

Kozerke, Wolfgang, Dr.  
 Lux, Wolfgang  
 Munzke, Michael  
 Taubert, Dieter

**Pesonal- und Sozialwesen**  
**Personnel Department**

Goetzmann, Thekla  
 Ozierenski, Bärbel  
 Rödel, Heidrun  
 Zimmermann, Karin

**Haushalts- und Rechnungswesen**  
**Bookkeeping Department**

Döring, Ann-Cathrin  
 Draeger, Angelika  
 Friedrich, Helga  
 Hunkeler-Wittleder, Ruth  
 Liebe, Erika  
 Wilke, Michaela

**Technik/Betrieb**  
**Technical and Service Department**

Backers, Hans-Günter  
 Glindemann, Jürgen  
 Götsch, Horst  
 Gutsche, Christian  
 Kirchner, Reiner  
 Luckmann, Andreas  
 Reißmann, Andreas  
 Retusch, Michael  
 Roeder, Ralph-Thomas  
 Wolke, Horst  
 Wuthe, Ralf

**Allgemeine Dienste / Beschaffung**  
**General Administration/  
 Purchasing Department**

Findeisen, Karin  
 Gärtner, Helmut  
 Gräser, Marina  
 Heinrich, Helge  
 Hirsch, Friedhelm  
 Krause, Marion  
 Liebe, Edith  
 Osché, Elke

**Auszubildende**  
**Apprentices**

Fähnrich, Thomas  
 Jäger, Ines  
 Karasinsky, Anne  
 Müller, Jens  
 Schmidt, Korinna  
 Schöttle, Doreen  
 Tragsdorf, Tobias

\*ohne studentische Hilfskräfte und Aushilfen  
 \*\*without students

# Organigramm

Stand: 15.07.2003

## Wissenschaftliches Komitee

Vorsitzender:  
Prof. Dr. Dieter Häussinger, Düsseldorf

## Wissenschaftlicher Rat

Vorsitzender: Prof. Dr. Michael Blaut, App. 470

## Personalrat

Vorsitzender: Dr. Klaus-Jürgen Petzke, App. 429

### Forschende Abteilungen und Arbeitsgruppen

Abteilung  
**MOGE**  
Molekulare  
Genetik  
Prof. Dr.  
Wolfgang Meyerhof  
App. 282

Abteilung  
**PHA**  
Pharmakologie  
Prof. Dr. Dr.  
Hans-Georg Joost  
App. 216

Arbeitsgruppe  
**EST**  
Physiologie des  
Energistoffwechsels  
Prof. Dr.  
Susanne Klaus  
App. 326

Abteilung  
**KLE**  
Klinische  
Ernährung  
Prof. Dr.  
Andreas Pfeiffer  
App. 770

Abteilung  
**IVS**  
Interventions-  
studien  
Prof. Dr.  
Hans-Joachim F. Zunft  
App. 660

### Zentrale Einrichtungen und Administration

Ernährungs-  
beratungszentrum  
Dr. Christiana Einig  
App. 469

Max-Rubner-  
Laboratorium  
Dr. Christa Thöne-Reineke  
App. 615

Bibliothek  
Dagmar Kollhof  
App. 229

Informationstechnik  
Wolfgang Lux  
App. 223





Deutsches Institut für  
Ernährungsforschung  
Potsdam-Rehbrücke

Arthur-Scheunert-Allee 114 - 116  
14558 Bergholz-Rehbrücke

Telefon +49(0)33 200-88 0  
Telefax +49(0)33 200-88 444  
<http://www.dife.de>

### Kuratorium

Vorsitzende: Frau Konstanze Pistor  
Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kultur  
des Landes Brandenburg

Stellvertretender Vorsitzender: MinR Dr. Peter Lange  
Bundesministerium für Bildung und Forschung

Vorstandsreferat

Dr. Anke Schmidt  
App. 213

### Stiftungsvorstand

Wissenschaftliches Mitglied  
Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost  
App. 216

Administratives Mitglied  
Dr. Hartmut Schulz  
App. 221

Presse- und Öffentlichkeitsarbeit

Dr. Susanne Schelosky  
App. 335

Dr. Gunda Backes  
App. 665 / 335

## Forschende Abteilungen und Arbeitsgruppen

Abteilung  
**EPI**  
Epidemiologie  
PD Dr.  
Heiner Boeing  
App. 710

Abteilung  
**ETOX**  
Ernährungs-  
toxikologie  
Prof. Dr.  
Hans-Rudolf Glatt  
App. 321

Abteilung  
**GAMI**  
Gastrointestinale  
Mikrobiologie  
Prof. Dr.  
Michael Blaut  
App. 470

Abteilung  
**AVA**  
Vitamine &  
Atherosklerose  
Prof. Dr.  
Regina Brigelius-Flohé  
App. 353

Arbeitsgruppe  
**PML**  
Präventiv-Medizinische  
Lebensmittelforschung  
PD Dr.  
Ralf Stohwasser  
App. 543

## Zentrale Einrichtungen und Administration

Förderangelegenheiten

Dr. Judith Schäfer  
App. 292

Personal- und  
Sozialwesen

Bärbel Ozierenski  
App. 259

Haushalts- und  
Rechnungswesen

Michaela Wilke  
App. 233

Technik / Betrieb

Jürgen Glindemann  
App. 512

Allgemeine Dienste /  
Beschaffung

Marion Krause  
App. 235

## **Kuratorium / Advisory Board (Stand 15.07.2003)**

### **Vorsitzende:**

Konstanze Pistor, Potsdam

### **Stellvertr. Vorsitzende:**

MinR Dr. Peter Lange, Bonn

### **Mitglieder:**

Prof. Dr. Rudi Balling, Braunschweig  
Prof. Dr. Helmut Erbersdobler, Kiel  
Prof. Dr. Dr. Ulf B. Göbel, Berlin  
Prof. Dr. Dieter Häussinger, Düsseldorf  
Prof. Dr. Heidrun Mühle, Leipzig  
Prof. Dr. Martin Paul, Berlin  
Dr. Astrid Potz, Bonn  
Prof. Dr. Günter Schultz, Berlin  
Prof. Dr. Bernd Walz, Potsdam  
Prof. Dr. Walter Rosenthal, Berlin

## **Wissenschaftliches Komitee des Kuratoriums / Scientific Committee**

### **Vorsitzender:**

Prof. Dr. Dieter Häussinger, Düsseldorf

### **Mitglieder:**

Prof. Dr. Rudi Balling, Braunschweig  
Prof. Dr. Helmut F. Erbersdobler, Kiel  
Prof. Dr. Dr. Ulf B. Göbel, Berlin  
Prof. Dr. Hans-Ulrich Häring, Tübingen  
Prof. Dr. Heidrun Mühle, Leipzig  
Prof. Dr. Peter Morgan, Aberdeen, GB  
Prof. Dr. Walter Rosenthal, Berlin  
Prof. Dr. Hans-Hilger Ropers, Berlin  
Prof. Dr. Günter Schultz, Berlin  
Prof. Dr. Peter van Bladeren, Lausanne, CH

## **Stiftungsvorstand / Board of Directors**

### **Wissenschaftlicher Vorstand / Scientific Director:**

Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost

### **Administrativer Vorstand / Administrative Director:**

Dr. Hartmut Schulz

## **Personalrat / Staff Council**

Dr. Klaus-Jürgen Petzke



Deutsches Institut für Ernährungsforschung  
Potsdam-Rehbrücke

Arthur-Scheunert-Allee 114 - 116  
14558 Bergholz-Rehbrücke

Telefon +49(0)33 200-88 0  
Telefax +49(0)33 200-88 444  
<http://www.dife.de>

## Sie erreichen das DfE

mit dem Auto

**von Potsdam:** Heinrich-Mann-Allee Richtung Bergholz-Rehbrücke zur Arthur-Scheunert-Allee (Entfernung ab Stadtzentrum ca. 7 km)

**von Berlin:**  
A 115 (AVUS) Richtung Hannover bis Ausfahrt Saarmund, dann Richtung Potsdam, das DfE befindet sich nach ca. 2 km auf der rechten Seite.

**aus allen anderen Richtungen**  
über den Berliner Ring, Abzweig Dreieck Nuthetal, die A 115 (AVUS) Richtung Berlin bis Ausfahrt Saarmund, folgen Sie dann dem Wegweiser Potsdam

mit öffentlichen Verkehrsmitteln:

**von Potsdam**  
mit dem Bus 611 ab "Bassinplatz" oder Bahnhof "Potsdam Hauptbahnhof" bis Haltestelle "Ernährungsinstitut" (fährt i.d.R. stündlich), mit den Straßenbahnlinien X91 (fährt nur im Berufsverkehr), 90 oder 93 bis Endhaltestelle "Potsdam-Rehbrücke", dann weiter mit dem Bus 611 bis Haltestelle "Ernährungsinstitut" (fährt i.d.R. stündlich) oder zu Fuß ca. 1300 m auf der Arthur-Scheunert-Allee.

**von Berlin**  
mit der Regionalbahn ab Bahnhof "Alexanderplatz", "Friedrichstraße", "Zoologischer Garten" in Richtung Belgig oder Dessau bis Bahnhof "Potsdam-Rehbrücke", weiter wie von Potsdam

oder mit dem Regionalexpress ab Bahnhof "Alexanderplatz", "Friedrichstraße" oder "Zoologischer Garten" in Richtung Brandenburg oder Magdeburg bis Bahnhof "Potsdam-Hauptbahnhof", dann weiter mit den Straßenbahnlinien X91, weiter s. Potsdam

oder ab "Wannsee" mit dem Regionalexpress in Richtung Belgig oder Dessau oder mit der Regionalbahn in Richtung Jüterbog oder Beelitz bis Bahnhof "Potsdam-Rehbrücke", weiter s. Potsdam

**aus allen anderen Richtungen**  
mit der Bahn bis Bahnhof "Berlin-Wannsee" oder "Potsdam Stadt", mit dem Flugzeug bis Berlin-Tegel, -Schönefeld oder -Tempelhof.

Dann wie oben beschrieben weiter mit öffentlichen Verkehrsmitteln oder einem Mietwagen/Taxi

## How to get to DfE

**by air:**

preferably to Berlin-Tegel airport, from there with bus lines X9 or 109 to train station "Berlin-Zoologischer Garten" and further by train (direction of Belgig or Dessau) to station "Potsdam-Rehbrücke"; continue along Arthur-Scheunert-Allee by bus line 611 (bus stop near the tram platform) to bus stop "Ernährungsinstitut" or on foot in the same direction (about 15 minutes walking time, 1300m).

from "Berlin-Zoologischer Garten" further by train (direction of Brandenburg or Magdeburg) to "Potsdam-Hauptbahnhof". From "Potsdam-Hauptbahnhof" by tram line X91, 90 or 93 in direction of "Bahnhof Rehbrücke" out of town to the end of the line, "Bahnhof Rehbrücke"; continue along Arthur-Scheunert-Allee by bus line 611 (bus stop near the tram platform) to bus stop "Ernährungsinstitut" or on foot in the same direction (about 15 minutes walking time, 1300m)

**by train:**

to "Potsdam-Hauptbahnhof", from there by tram line X91, 90 or 93 direction "Bahnhof Rehbrücke" out of town to the end of the line, "Bahnhof Rehbrücke"; continue along Arthur-Scheunert-Allee by bus line 611 (bus stop near the tram platform) to bus stop "Ernährungsinstitut" or on foot in the same direction (about 15 minutes walking time, 1300m).

to "Berlin-Zoologischer Garten" and further by train (direction of Belgig or Dessau) to station "Potsdam-Rehbrücke"; continue along Arthur-Scheunert-Allee by bus line 611 (bus stop near the tram platform) to bus stop "Ernährungsinstitut" or on foot in the same direction (about 15 minutes walking time, 1300m).

to "Berlin-Wannsee", from there by train to station "Potsdam-Rehbrücke" (direction Belgig, Beelitz, Jüterbog or Dessau); continue along Arthur-Scheunert-Allee by bus line 611 (bus stop near the tram platform) to bus stop "Ernährungsinstitut" or on foot in the same direction (about 15 minutes walking time, 1300m).

**by car:**

via the Berliner Ring (A 10) to the junction "Dreieck Nuthetal", from there in the direction of Berlin to exit "Saarmund", further on to the right and continue for 2 km. DfE will be on the right.

