

Deutsches Institut für
Ernährungsforschung
Potsdam-Rehbrücke
German Institute
of Human Nutrition

DIFE

Jahresbericht
Annual Report
2003–2004

Impressum/Imprint:**Herausgeber/Publisher:**

Deutsches Institut für
Ernährungsforschung
Potsdam-Rehbrücke
Institut der Leibniz-Gemeinschaft (WGL)
Arthur-Scheunert-Allee 114-116
14558 Nuthetal
<http://www.dife.de>

Redaktion/Editors:

Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Dr. Gisela Olias
Dr. Lynne Rogers

Redaktionsassistentz/Editorial assistant:

Monika Lammersmann

Gesamtherstellung:

Schröders Agentur
für Design · Druck · Verlag
Vopeliuspfad 6
14169 Berlin
Tel.: +(49)-30-80581400
Fax: +(49)-30-80581401
kontakt@schroeders-agentur.de
www.schroeders-agentur.de

Bildnachweis/Photocredits:

Cover: DIFE
Innenteil: DIFE; S.67, Foto: 08.06.04
Forschungszentrum Rossendorf



Deutsches Institut für Ernährungsforschung
Potsdam-Rehbrücke
Jahresbericht 2003–2004

German Institute of Human Nutrition
Annual Report 2003–2004

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 zurzeit wichtigsten Erkrankungen, an deren Entstehung ernährungsbedingte Faktoren beteiligt sein können: Adipositas, Diabetes und Krebs.

Das DIfE wurde 1992 von der Bundesrepublik Deutschland und dem Land Brandenburg als selbstständige Stiftung des öffentlichen Rechts gegründet und ist Mitglied der Leibniz-Gemeinschaft. Hervorgegangen ist das DIfE aus dem Zentralinstitut für Ernährung der Akademie der Wissenschaften der DDR, das seinen Ursprung in dem 1946 in Rehbrücke gegründeten Institut für Ernährungs- und Verpflegungswissenschaften hat. 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 carry out experimental and clinical research in the field of nutrition and health. Its aim is to understand the molecular basis of nutrition-dependent diseases, and to develop new strategies for prevention, treatment, and nutritional recommendations. Scientists at 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.

DIfE was established in 1992 by the Federal Republic of Germany and the State of Brandenburg as an independent foundation. It is a member of the *Leibniz-Gemeinschaft*, an alliance of scientific institutions. DIfE originated from the *Zentralinstitut für Ernährung der Akademie der Wissenschaften* of the German Democratic Republic, which was derived from the *Institut für Ernährungs- und Verpflegungswissenschaften*, where nutrition research had started in 1946.

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

In 2003, DIfE entered its second decade after having its establishment in 1992. Within this twelve-year period, the institute has gained a reputation as a national center of competence in the field of nutrition research. Our scientists investigate the relationship between nutrition and health by a combination of molecular, clinical, and epidemiological research which is unique in Germany.

During 2003 and 2004, DIfE has substantially focused its research profile. It now concentrates on the most important diseases in which nutrition plays a preventive role: the metabolic syndrome as well as cancer. DIfE members published several important papers in these research areas (see page 4). In addition, DIfE will strengthen its expertise by establishing a professorship and a department "Human Nutrigenomics", in cooperation with the Potsdam University.

Many questions in the field of nutritional research cannot be answered by a single institute. In order to meet the challenging demands in this field, DIfE has joined forces with other European research institutes, and has initiated two networks of excellence that are sponsored by the European Union (NUGONET and EUGENE2). DIfE also carries out two projects within the national network on genome research (NGFN2) sponsored by BMBF (national ministry of education and research). Unfortunately, our scientific work is affected by the poor financial situation in the public sector. Expenditures for personnel and consumables are rising to an extent that exceeds our budget. With external funding, we have been able to compensate this deficit in part, but not entirely. Thus, for the first time the institute had to reduce its staff.

The board of directors wishes to thank all members of the institute for their committed work. We also thank all friends and sponsors from science, politics and industry. We need your continuous support for the future development of the institute!

Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Scientific Director

Dr. Hartmut Schulz
Administrative Director

Mit dem Jahr 2003 begann das DIfE das zweite Jahrzehnt seines Bestehens nach der Neugründung im Jahre 1992. In zwölf Jahren ist es dem DIfE gelungen, sich als nationales Kompetenzzentrum auf dem Gebiet der Ernährungsforschung zu etablieren. Die Wissenschaftler des DIfE untersuchen die Zusammenhänge zwischen Ernährung und Krankheitsentstehung in einer für Deutschland einzigartigen Kombination von molekularer, klinischer und epidemiologischer Ernährungsforschung. Damit legen sie die Grundlagen für wissenschaftlich basierte Ernährungsempfehlungen.

Im Berichtszeitraum hat das DIfE sein Forschungsprofil deutlich fokussiert. Es konzentriert sich nun auf die zurzeit wichtigsten ernährungsassoziierten Krankheiten, insbesondere das Metabolische Syndrom sowie die Rolle der Ernährung in der Krebsentstehung. Mitarbeiter des DIfE veröffentlichten 2003 und 2004 mehrere wegweisende Publikationen auf diesen Gebieten (s. Bericht auf S. 4). Das DIfE wird sich zudem durch Einrichtung einer Abteilung Humane Nutrigenomik verstärken, die Leitungsposition ist als gemeinsame Berufung mit der Universität Potsdam ausgeschrieben. Viele der heutigen Fragestellungen auf dem Gebiet der Ernährungsforschung können nicht mehr von einem einzelnen Institut allein bearbeitet werden. Um den gestiegenen Anforderungen gewachsen zu sein, hat das DIfE deshalb seine Aktivitäten mit denen anderer europäischer Forschungsinstitute vernetzt und sich zwei von der Europäischen Union geförderten Kompetenz-Netzwerken angeschlossen (NUGONET und EUGENE2). Es ist zudem mit zwei Projekten Mitglied des



Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost























vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten nationalen Genomforschungs-Netzwerks (NGFN2). Leider wirken sich die finanziellen Probleme von Bund und Land auch auf die Arbeit des DIfE aus. Die Personal- und Sachmittelkosten steigen stärker als unser Etat. Durch Drittmittel-Einwerbung konnte dies bislang zum Teil, aber nicht völlig kompensiert werden, so dass das Institut erstmals nicht alle Stellen besetzen kann.

Der Vorstand möchte allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des DIfE herzlich für ihre Arbeit danken. Ebenso gilt unser herzlicher Dank allen Freunden und Förderern aus Wissenschaft, Politik und Wirtschaft. Wir brauchen Ihre Unterstützung auch bei der zukünftigen Entwicklung des Instituts!

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

Dr. Hartmut Schulz
Administrativer Direktor

Content

 Vorwort	2	Preface
 Ernährungsforschung am DIfE 2003–2004	4	Nutritional Research at DIfE 2003–2004
Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost		
 Abteilung Molekulare Genetik (MOGE)	8	Department of Molecular Genetics
Leitung: Prof. Dr. Wolfgang Meyerhof		
 Abteilung Pharmakologie (PHA)	13	Department of Pharmacology
Leitung: Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost		
 Arbeitsgruppe Physiologie des Energiestoffwechsels (EST)	18	Laboratory of Physiology of Energy Metabolism
Leitung: Prof. Dr. Susanne Klaus		
 Abteilung Klinische Ernährung (KLE)	22	Department of Clinical Nutrition
Leitung: Prof. Dr. Andreas F. H. Pfeiffer		
 Abteilung Interventionsstudien (IVS)	27	Department of Intervention Studies
Leitung: Prof. Dr. Hans-Joachim F. Zunft		
 Abteilung Epidemiologie (EPI)	32	Department of Epidemiology
Leitung: Prof. Dr. Heiner Boeing		
 Abteilung Ernährungstoxikologie (ETOX)	37	Department of Nutritional Toxicology
Leitung: Prof. Dr. Hans-Rudolf Glatt		
 Abteilung Gastrointestinale Mikrobiologie (GAMI)	42	Department of Gastrointestinal Microbiology
Leitung: Prof. Dr. Michael Blaut		
 Abteilung Biochemie der Mikronährstoffe (BIM)	47	Department of Biochemistry of Micronutrients
Leitung: Prof. Dr. Regina Brigelius-Flohé		
 Arbeitsgruppe Präventiv-Medizinische Lebensmittelforschung (PML)	52	Laboratory of Food Chemistry and Preventive Nutrition
Leitung: PD Dr. Ralf Stohwasser		
 Ernährungsberatungszentrum (EBZ)	56	Nutritional Counseling Center
Leitung: Dr. Christiana Einig		
 Max-Rubner-Laboratorium (MRL)	57	Max Rubner Laboratory
Leitung: Dr. Reinhart Kluge		
 Ehrungen, Forschungspreise und Dissertationen	58	Honours, Awards and Dissertations
 Veranstaltungen	59	Lectures and Conferences
 Presse- und Öffentlichkeitsarbeit 2003–2004	62	Press and Public Relations 2003–2004
 Gäste und Begegnungen	66	Guests and Meetings
 Mitarbeiter 2003–2004	68	Staff 2003–2004
 Organigramm	70	Organisation structure
 Organe des DIfE	72	Boards of DIfE
 Anfahrt	73	How to get to DIfE

Nutritional Research at DIfE 2003–2004

Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost

Nutritional research should have two general aims: to enhance our knowledge on the function of nutrients and non-nutritive food components through basic research, and to contribute to the understanding and prevention of nutrition-associated diseases through applied science. These goals can only be reached by combining experimental research, which uses state-of-the-art molecular and cellular methods, with clinical and epidemiological research. This combination has been established at DIfE, in accordance with its founding concept. Nutritional research at DIfE targets two priority areas:

- cause and consequences of the metabolic syndrome
- the role of nutrition in the development of cancer

and thus concentrates on the two nutrition-associated diseases that are most prevalent nowadays and in the foreseeable future.

The metabolic syndrome is a complex of symptoms including obesity, hypertension, insulin resistance, and dyslipoproteinemia. The syndrome has a genetic basis, but its development is caused by the “adipogenic” lifestyle, which is prevalent in industrialized countries: high caloric intake combined with low physical activity. Incidence and severity of the syndrome as well as its most important complication, type 2 diabetes, are increasing dramatically in all Western countries. This trend can also be observed in the EPIC-Potsdam Study (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*). The public health-insurance system in Germany has to pay nearly 6 billion euros annually for drugs to treat the metabolic syndrome and its secondary complications. Despite treatment, these complications reduce life expectancy by approximately eight years; conservative estimates expect the incidence to double within the next four to six years. This development will result in a decrease in average life expectancy and a disastrous rise in expenditures for pharmaceuticals, if the trend cannot be reversed or at least brought to a halt. In order to accomplish this, a basic knowledge of the pathogenesis of the syndrome is required as well as effective strategies for treatment of obesity.

Significant progress in elucidating the genetic basis of the metabolic syndrome has been made in the Department of Pharmacology (PHA) and the Department of Clinical Nutrition (KLE). Genes responsible

Ernährungsforschung sollte sich an zwei allgemeinen Zielen orientieren: als Grundlagenforschung sollte sie Erkenntnisse zur Funktion von Nährstoffen und Nahrungsinhaltsstoffen liefern und als angewandte Wissenschaft sollte sie zum Verständnis und zur Prävention ernährungsbedingter Erkrankungen beitragen. Diese Ziele lassen sich nur in der Kombination von experimenteller Grundlagenforschung, die modernste molekular- und zellbiologische Methoden nutzt, mit klinischer und epidemiologischer Forschung erreichen, wie sie am DIfE entsprechend seinem Gründungskonzept vorhanden ist. Die Ernährungsforschung am DIfE bearbeitet vorrangig die beiden Schwerpunkte:

- Ursachen und Folgen des Metabolischen Syndroms
 - die Rolle der Ernährung in der Krebsentstehung
- und konzentriert sich damit auf die beiden zahlenmäßig wichtigsten ernährungsbedingten Krankheitskomplexe.

Als Metabolisches Syndrom bezeichnet man den Symptomenkomplex Adipositas, Hypertonie, Insulinresistenz und Cholesterinstoffwechselstörung. Das Syndrom hat eine genetische Grundlage, wird aber erst durch die in Ländern mit „westlichem Lebensstil“ häufige positive Energiebilanz (hohe Kalorienaufnahme bei geringer körperlicher Aktivität) ausgelöst. Häufigkeit und Schweregrad des Syndroms nehmen ebenso wie seine wich-

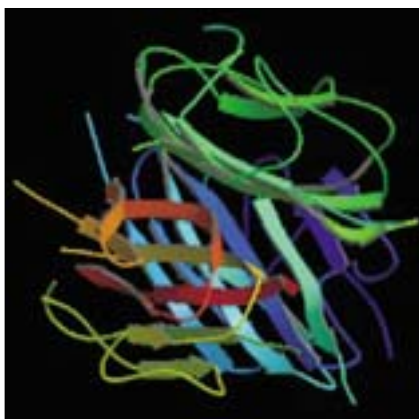
tigste Folgekomplikation, der Typ-2-Diabetes, in allen westlichen Ländern dramatisch zu. Dieser Trend lässt sich auch in der von der Abteilung Epidemiologie (EPI) des DIfE durchgeführten EPIC-Potsdam-Studie (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*) beobachten. Die gesetzlichen Krankenkassen müssen bereits jetzt für die Pharmakotherapie des Metabolischen Syndroms und seiner Folgen etwa 6 Milliarden Euro pro Jahr aufwenden. Trotz Behandlung verkürzen die Folgekomplikationen die Lebenserwartung um ungefähr acht Jahre; konservative Schätzungen erwarten eine Verdoppelung der Häufigkeit dieser Erkrankung in den nächsten vier bis sechs Jahren. Es wird deshalb zur Senkung der durchschnittlichen Lebenserwartung und zu einer katastrophalen Entwicklung der Arzneimittelausgabe kommen, wenn es nicht gelingt, diesen Trend umzukehren oder wenigstens zu stoppen. Hierzu sind grundlegende Erkenntnisse zu den Entstehungsmechanismen der Erkrankung ebenso wie wirksame Strategien zur Behandlung der Adipositas erforderlich.

Wichtige Fortschritte in der Aufklärung der genetischen Ursachen des Metabolischen Syndroms wurden in den Abteilungen Pharmakologie (PHA) und Klinische Ernährung (KLE) gemacht. Mit Mausmodellen wurden Gene lokalisiert, die für Übergewicht oder Diabetes verantwortlich sind. Die Wirkung dieser Gene wird durch die Ernährungsweise,



1 Mouse strain with polygenic obesity. The strain is a model for the human metabolic syndrome and its complications.

1 Mausstamm mit polygener Adipositas, der ein Modell für das menschliche Metabolische Syndrom und dessen Komplikationen darstellt.



2 Mit Röntgenstrukturanalyse ermittelte Proteinstruktur eines Homotrimer-Fragmentes von Adiponectin. Adiponectin ist ein Serumprotein, das von Fettzellen sezerniert wird. Niedrige Serumkonzentrationen dieses Proteins sind ein Risikofaktor für die spätere Entstehung des Diabetes mellitus. Quelle: PDB (Protein Datenbank), www.rcsb.org, PDB ID: 1c28, Shapiro, L., Scherer, P.E.: The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor. *Curr. Biol.* 8, 335-340 (1998).

z.B. durch fettreiche Ernährung, verstärkt. Übergewicht führte erst dann zum Diabetes mellitus, wenn Diabetesgene vorhanden sind; umgekehrt sind die Diabetesgene nur in Kombination mit Übergewicht wirksam. Dies bedeutet, dass Gewichtskontrollen und möglicherweise auch die Ernährungsweise (z.B. fettarme Ernährung) einen Diabetes mellitus verhindern kann. Mit einem transgenen Mausmodell zeigten Mitarbeiter des DiFE zudem, dass eine Störung der zellulären Energiegewinnung zum Funktionsverlust insulinbildender Zellen und damit zum Diabetes mellitus führt (KLE, Arbeitsgruppe Ristow). In einer Kooperation der Abteilungen Epidemiologie (EPI) und Klinische Ernährung (KLE) ließen sich durch Untersuchung der Potsdamer EPIC-Probanden zwei sogenannte Zytokine – Serumproteine mit biologischer Wirkung – als Risikofaktoren für die Entstehung des Typ-2-Diabetes identifizieren: Interleukin-6, ein Entzündungsmediator, und Adiponectin, ein vom Fettgewebe produziertes und sezerniertes Protein. Erhöhte Interleukin-6-Serumkonzentrationen sind ein Risikofaktor für das spätere Auftreten des Diabetes mellitus. Daraus lässt sich ableiten, dass das Immunsystem und entzündliche Vorgänge an der Degeneration der insulinproduzierenden Zellen in der Bauchspeicheldrüse beteiligt sind. Adiponectin scheint ein vor Diabetes mellitus schützender Faktor zu sein, da niedrige Serumkonzentrationen ein höheres Risiko anzeigen. Die aktuelle Forschung konzentriert sich deshalb auf die Rolle des Fettgewebes, in der Regulation der Insulinwirkung und in der Entstehung des Inselzellversagens.

Den Abteilungen Epidemiologie (EPI) und Klinische Ernährung (KLE) gelang es zudem, einen Zusammenhang zwischen Varianten der Gene sowohl des Interleukin-6 als auch des Adiponectin und der Diabetesentstehung herzustellen. Hiermit ist ein Anfang gemacht, die komplexe genetische Grundlage, an der sehr wahrscheinlich eine große Zahl von verschiedenen Genvarianten beteiligt ist, aufzuklären.

Die Forschung am DiFE hat gezeigt, dass Übergewicht durch Störungen in den biologischen Mechanismen der Energiebilanz bedingt ist, vor allem in Störungen des Hungergefühls und des Energiestoffwechsels. Damit wirkt unsere Forschung dem Vorurteil entgegen, dass Übergewicht eine Verhaltensstörung ist oder Willensschwäche anzeigt; ein Vorurteil, das in unserer Gesellschaft häufig ist und die Betroffenen stigmatisiert. Es ist vielmehr so, dass Personen mit Übergewicht mehr essen, als zum Erhalt des normalen Körpergewichts nötig ist, weil sie ein inadäquat zu hohes Hungergefühl und zudem einen zu niedrigen Energieverbrauch als Normalgewichtige haben.

In großen Teilen der Gesellschaft ist bekannt, wie eine gesunde Ernährung aussehen sollte. Paradoxerweise hat dieses Wissen in der täglichen Praxis die tatsächliche Ernährungsweise aber kaum beeinflusst: bevorzugt wird häufig eine wenig sättigende, kalorienreiche Kost, die das Entstehen von Übergewicht begünstigt. Die Forschung des Instituts konzentriert sich deshalb auch auf die biologischen Mechanismen, die eine Präferenz für bestimmte Nährstoffe bewirken. Hierzu werden Peptidhormone untersucht, die das Hungergefühl kontrollieren, sowie die molekularen Mechanismen von Geruchs- und Geschmackserkennung. Von der Abteilung Molekulare Genetik (MOGE) werden die



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

2 Three-dimensional protein structure deduced from X-ray analysis of a homotrimeric fragment of adiponectin, a serum protein secreted from fat cells. Low serum concentrations are a risk factor for later development of diabetes mellitus.

for overweight or diabetes have been localized in mouse models. The effects of these genes is modified by the type of nutrition, e.g., enhanced by a high-fat diet. Overweight only led to diabetes mellitus when diabetes genes were present and, vice versa, genes for diabetes only became effective in combination with overweight. This means that body-weight control and possibly the type of nutrition (e.g., low-fat diet) can prevent diabetes mellitus. DiFE research staff were able to demonstrate in a transgenic mouse model that an impairment of cellular energy metabolism led to a deterioration of function in insulin-producing cells, thus leading to diabetes mellitus (Department of Clinical Nutrition [KLE]). The Departments of Epidemiology (EPI) and Clinical Nutrition (KLE) cooperated in identifying two cytokines – serum proteins with a biological function – as risk factors in the development of type 2 diabetes in subjects of the Potsdam-EPIC Study: interleukin-6, an inflammatory-response mediator, and adiponectin, a protein produced and secreted by adipose tissue. Elevated concentrations of interleukin-6 in serum are a risk factor for the later onset of diabetes mellitus. This leads to the conclusion that the immune system and inflammatory processes are involved in the degeneration of the insulin-producing cells of the pancreas. Adiponectin apparently is a protective factor, since low serum concentrations are associated with a higher risk of diabetes mellitus. Therefore, present research is focussed on the role of adipose tissue, the regulation of insulin action, and the development of islet-cell degeneration.

The Departments of Epidemiology (EPI) and Clinical Nutrition (KLE) also demonstrated an association between variants of genes of both interleukin-6 as well as adiponectin and the development of diabetes. This is a starting point of research on the complex genetic basis, which seems to comprise a large number of gene variants.

Research at DiFE has demonstrated that overweight is caused by abnormalities in biological mechanisms of energy equilibrium, especially in those involving hunger perception and energy metabolism. Our research thus serves to counteract prejudice against the overweight, who are falsely believed to

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

4 Upregulation of glutathione peroxidase 2 in human colon cancer. It is localized in distinct structures at the apical side of colon epithelial cells (brown color). Its expression is low in "normal" areas (I, inconspicuous), it is upregulated in early stages of cancer (E) and released from the characteristic structures in advanced stages of cancer (A).

have a behavioural disorder or a lack of willpower. Those affected are stigmatized by this view, which is common in our society. On the contrary, overweight individuals eat more than is required to maintain normal body weight because they have an enhanced perception of hunger and, in addition, a lower energy consumption than normal-weight individuals.

Most people know what a healthy diet should include. Strangely enough, this knowledge hardly affects the actual eating habits: often, food is preferred that is less filling but high in calories, and this furthers the development of overweight. Therefore, research at the institute concentrates on the biological mechanisms that cause a preference for certain foods. In this connection, peptide hormones that control the sensation of hunger are being investigated as well as the molecular mechanisms of smell and taste recognition. In the Department of Molecular Genetics (MOGE), receptor proteins responsible for different tastes are being identified and characterized as to their function. Recently, the department was able to identify variants of these receptors differing in function. At present, there are investigations to find out if the presence of these variants is associated with distinct food preferences and eating habits.

Similar to the metabolic syndrome, the interaction of genetic and extrinsic factors can lead to the development of cancer. Reactive chemical substances – natural as well as synthetic – can cause damage to the DNA, which at the worst leads to uncontrolled cell growth. The metabolism of these foreign substances (xenobiotics) by the body plays an important role, because it can activate or inactivate cancerogenic substances. The Department of Nutritional Toxicology (ETOX) has developed a cell system in which the effects of foreign substances on DNA *in vivo* can be evaluated. In addition, variants of enzymes that metabolize xenobiotics and the effect of these variants on the risk of developing various types of cancer are being studied.

Much epidemiological data support the assumption that nutrition plays a significant role in cancer development. DIfE has contributed to this conclusion by taking



4 Erhöhte Expression der Glutathionperoxidase-2 in humanen Darmtumoren. Sie ist auf der apikalen Seite des Zellkerns von Colonepithelzellen lokalisiert (Braunfärbung). Ihre Expression ist niedrig in „normalen“ Zellen (I, unauffälliges Gebiet); sie ist hochreguliert in frühen Stadien der Tumorgenese (E); und sie wird in fortgeschrittenem Stadium aus den charakteristischen Strukturen freigesetzt (A).

Rezeptorproteine für die unterschiedlichen Geschmacksqualitäten identifiziert und funktionell charakterisiert. Es gelang der Abteilung kürzlich, Varianten dieser Rezeptoren zu finden, deren Funktion verändert ist. Zurzeit wird geprüft, ob das Auftreten dieser Varianten mit unterschiedlicher Nahrungspräferenz und Ernährungsverhalten assoziiert ist.

Ähnlich wie das metabolische Syndrom entsteht auch Krebs durch das Zusammenwirken einer genetischen Anlage mit äußeren Faktoren. Reaktive chemische Substanzen – Naturstoffe ebenso wie synthetisierte Verbindungen – können Veränderungen der DNS bewirken, die im ungünstigsten Falle die Kontrolle des Zellwachstums unterbinden. Eine wesentliche Rolle spielt hierbei die Umwandlung der Fremdstoffe durch den körpereigenen Stoffwechsel. Dieser kann die krebs erzeugenden Stoffe sowohl inaktivieren als auch erst aktivieren. Die Abteilung Ernährungstoxikologie (ETOX) hat ein Zellsystem entwickelt, mit dem die Wirkung von Fremdstoffen auf die DNS *in vivo* quantifiziert werden kann. Sie untersucht zudem die beim Menschen vorkommenden Varianten der Fremdstoff-metabolisierenden Enzyme und deren Beziehung zum Risiko, an bestimmten Krebsformen zu erkranken.

Viele epidemiologische Daten haben die Annahme belegt, dass die Ernährung eine wesentliche Rolle in der Krebsentstehung spielt. Das DIfE hat zu dieser Erkenntnis durch seine Teilnahme an der multizentrischen europaweiten EPIC-Studie beigetragen. Die ersten Ergebnisse dieser Studie zeigen,

dass eine an Ballaststoffen arme Ernährung mit häufigerem Auftreten von Dickdarmkrebs assoziiert ist. Es wird zurzeit geprüft, ob noch andere Faktoren wie z.B. der Fleischverzehr für die Karzinomentstehung im Verdauungstrakt verantwortlich sein können. Die Studie hat zudem gezeigt, dass Übergewicht ein wesentlicher Risikofaktor für die Entstehung von Brustkrebs ist. Co-Faktor dieser Assoziation ist die Hormonbehandlung der Frauen in der Post-Menopause, durch die besonders bei schlanken Frauen das Brustkrebsrisiko erhöht wird. Das DIfE hat schließlich den Einfluß des Verzehrs von Obst und Gemüse auf verschiedene Krebsformen untersucht und Hinweise für eine das Risiko senkende Wirkung gefunden.

Aus den Daten unserer und anderer Arbeitsgruppen lassen sich bereits jetzt allgemeine Empfehlungen ableiten: Durch die Normalisierung des Körpergewichts – in Verbindung mit einer ballaststoffreichen Ernährung, die fettarm und reich an Obst und Gemüse ist – lässt sich nicht nur das Diabetes-Risiko, sondern auch das Risiko für mehrere Krebsarten senken.

Ausgewählte Veröffentlichungen

Selected Publications

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* 361, 1496-1501 (2003).

Giesen, K., Plum, L., Kluge, R., Ortlepp, J., Joost, H.G.: Diet-dependent obesity and hypercholesterolemia in the New Zealand obese mouse: Identification of a quantitative trait locus for elevated serum cholesterol on the distal mouse chromosome 5. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 304, 812-817 (2003).

Kuhn, C., Bufe, B., Winnig, M., Hofmann, T., Frank, O., Behrens, M., Lewtschenko, T., Slack, J.P., Ward, C.D., Meyerhof W.: Bitter receptors for saccharin and acesulfame K. *J. Neurosci.* 24, 10260-10265 (2004).

Lahmann, P. H., Lissner, L., Gullberg, B., Olsson H., Berglund, G.: A prospective study of adiposity and postmenopausal breast cancer risk: The Malmö Diet and Cancer Study. *Int. J. Cancer* 103, 246-252 (2003).

Ristow, M., Mulder, H., Pomplun, D., Schulz, T.J., Müller-Schmehl, K., Krause, A., Fex, M., Puccio, H., Müller, J., Isken, F., Spranger, J., Müller-Wieland, D., Magnuson, M. A., Möhlig, M., Koenig, M., Pfeiffer, A.F.H.: Frataxin deficiency in pancreatic islets causes diabetes due to loss of beta-cell mass. *J. Clin. Invest.* 112, 527-534 (2003).

Spranger, J., Kroke, A., Möhlig, M., Bergmann, M.M., Ristow, M., Boeing, H., Pfeiffer, A.F.H.: Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 361, 226-228 (2003) (Erratum: *Lancet* 361, 1060).

Tschöp, M., Castañeda, T.R., Joost, H.G., Thöne-Reineke, C., Ortman, S., Klaus, S., Hagan, M.M., Chandler, P.C., Oswald, K.D., Benoit, S.C. et al.: Physiology: does gut hormone PYY3-36 decrease food intake in rodents? *Nature* 430, 165-166 (2004).

part in the multiple-center, European-wide EPIC Study. The first results of this study reveal that a low-fiber diet is associated with a higher incidence of colon cancer. At present, other factors (e.g., meat consumption) are being evaluated to see if they are responsible for cancer development in the digestive tract. The study also showed that overweight is an important factor in the incidence of breast cancer. A cofactor of this association is hormone treatment of post-menopausal women, which increases the breast-cancer risk especially in slim women. Finally, DiFe found indications of the risk-lowering effect of fruit and vegetable consumption on different forms of cancer.

On the basis of our own data and that of other research groups, a general recommendation already can be made: normalization of body weight — along with a diet high in fiber, low in fat, and with lots of fruit and vegetables — lowers the risk of developing diabetes and also of several types of cancer.

Department of Molecular Genetics

Head: Prof. Dr. Wolfgang Meyerhof

Summary Healthy diets could reduce the risk of nutrition-related diseases. However, we often consume palatable but high-caloric, unhealthy diets. Therapeutic options are limited. Intervention and education programs to reduce food intake or to alter diets usually fail. Therefore, the Department of Molecular Genetics (MOGE) aims at elucidating the importance of our senses of taste and smell for eating behavior. We have identified receptors for tastants and odorants, and characterized the functions of nerve cells in the brain that are involved in the regulation of hunger and satiety.

Molecular mechanisms of taste and smell perception

Gustatory perception

The human genome contains ~25 putative bitter-taste receptor genes (Fig. 1). In this reporting period we addressed two questions important for the understanding of human bitter taste. First, in view of the largely uncharacterized receptor repertoire, are all TAS2Rs bitter taste receptors? Second, can broad tuning explain how humans equipped with a fairly small number of TAS2R genes are able to perceive thousands of bitter compounds?

As an obligatory criterion, a bitter-taste receptor must respond to bitter chemicals but not to compounds that lack the bitter taste. To test this property we recently established a functional expression system that allowed us, so far, to identify the bitter agonists for eleven hTAS2R receptors. The results suggest that they differ with respect to their agonist selectivity. hTAS2R16, activated by β -glucopyranosides, and hTAS2R38, a receptor for compounds containing a $-N=C=S$ group, detect specific molecular motifs in a variety of chemical compounds and thus appear to be tuned to chemically related substances (Fig. 2). hTAS2R10 and hTAS2R14, on the other hand, show an even broader tuning, as there appears to be no obvious common structural motif shared by its agonists (Fig. 3). hTAS2R14, for instance, was activated by picrotoxinin, a toxin from fishberries used for poisoning fish to be caught for consumption, sodium benzoate, a common food preservative, and α -thujone, the psychotropic component of absinthe, a liqueur

1 Dendrogram of the family of human TAS2Rs. The lengths of the bars reflect the sequence divergence among the receptors. The single TAS2R gene on chromosome 5 is indicated by a dotted line, TAS2R genes on chromosome 7 by dashed lines, and the TAS2R genes on chromosome 12 by solid lines. The chemical structures of selected compounds that activate some TAS2Rs are indicated.

Zusammenfassung Eine gesunde Kost kann das Risiko für das Auftreten ernährungsabhängiger Erkrankungen senken. Leider konsumiert die Bevölkerung der Industrienationen jedoch häufig sehr schmackhafte, aber kalorienreiche und ungesunde Speisen. Die therapeutischen Möglichkeiten, diesem Trend zu begegnen, sind begrenzt. Erziehungsprogramme zur Reduktion der Kalorienaufnahme und zum Wechsel zu einer gesunden Ernährung sind häufig unwirksam. Das Ziel der Abteilung Molekulare Genetik (MOGE) ist es daher, die Bedeutung des Geruchs- und Geschmackssinns für das Essverhalten zu verstehen. Wir haben Rezeptoren für Geschmacks- und Geruchsstoffe identifiziert und die Funktion von Nervenzellen im Gehirn charakterisiert, die an der Regulation von Hunger und Sättigung beteiligt sind.

Molekulare Mechanismen der Geschmacks- und Geruchswahrnehmung

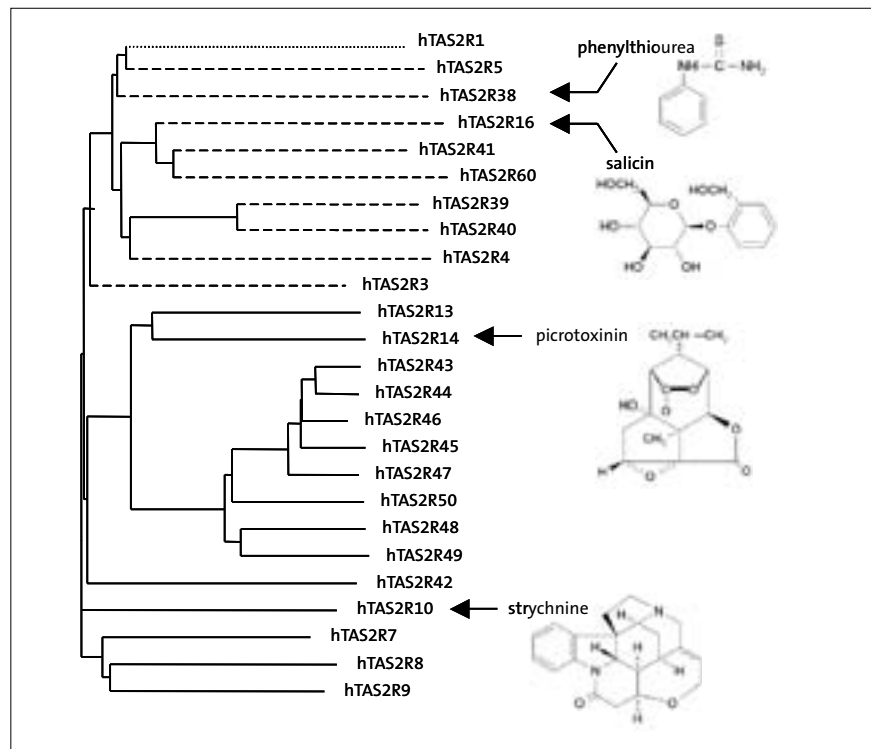
Maik Behrens, Anne Brockhoff, Bernd Bufer, Dietmar Krautwurst, Christina Kuhn, Wolfgang Meyerhof, Barbara Raab, Kristin Schmiedeberg, Elena Shirokova, Frauke Stähler, Marcel Winnig

Geschmackswahrnehmung

Das menschliche Genom enthält etwa 25 sogenannte TAS2R Gene, von denen man annimmt, dass sie Bittergeschmacksrezeptoren kodieren (Abb. 1). Im Berichtszeitraum

haben wir uns mit zwei Fragen befasst, die für das Verständnis des Bittergeschmacks wesentlich sind: Erstens, sind angesichts des größtenteils unbeschriebenen Rezeptorrepertoires alle TAS2Rs wirklich Bitterrezeptoren, und zweitens, wie können wir erklären, dass wir mit einer Ausstattung von nur ~25 Rezeptoren Tausende von Substanzen als bitter wahrnehmen können?

Ein unerlässliches Kriterium eines echten Bitterrezeptors ist seine Aktivierbarkeit durch Bitterstoffe und seine Unempfindlichkeit gegenüber Substanzen, die nicht bitter schmecken. Um diese Eigenschaft zu testen, haben wir ein Expressionssystem für die TAS2Rs aufgebaut, mit dem wir Bitterstoffe für bislang elf TAS2Rs identifizieren konnten. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die TAS2Rs sich hinsichtlich ihrer Ligandenselektivität unterscheiden. hTAS2R16, der durch β -Glucopyranoside aktiviert wird, und hTAS2R38, ein Rezeptor für Stoffe, die eine $-N=C=S$ Gruppe enthalten, erkennen spezifische molekulare Gruppierungen in unterschiedlichen chemischen Verbindungen. Sie sind offenbar auf die Erkennung chemisch verwandter Substanzen abgestimmt. Rezeptoren, wie hTAS2R10 und hTAS2R14 sind sehr viel breiter auf ihre Bitterstoffe abgestimmt, denn es ist kein gemeinsames Strukturmotiv in ihren jeweiligen Bitterstoffen erkennbar. hTAS2R14, beispielsweise, ist durch Picrotoxinin, einen



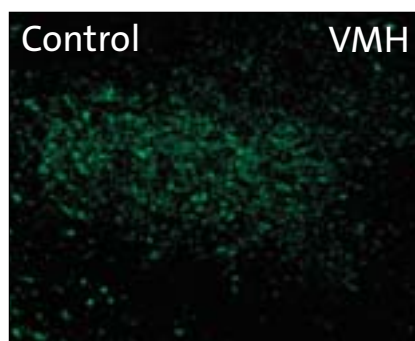
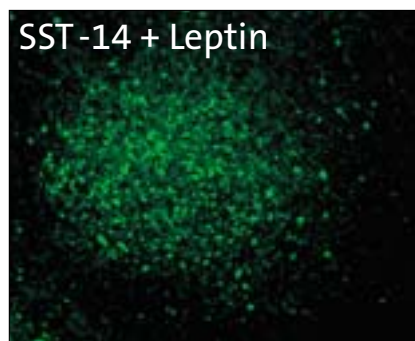
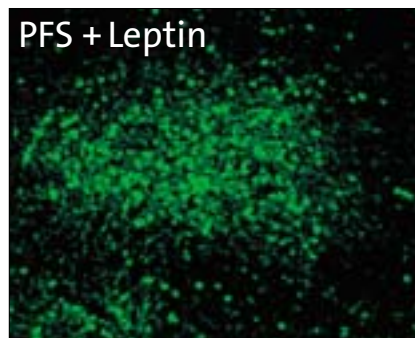
1 Stammbaum der Familie der 25 humanen TAS2Rs. Die Längen der Linien sind proportional zur Sequenzdivergenz der TAS2Rs. Das einzige TAS2R Gen auf Chromosom 5 wird durch eine gepunktete Linie markiert, TAS2R Gene auf Chromosom 7 durch gestrichelte Linien und TAS2R Gene auf Chromosom 12 durch durchgezogene Linien. Die Strukturformeln ausgewählter Bitterstoffe für einige TAS2Rs sind neben dem Dendrogramm dargestellt.

pflanzlichen Giftstoff, mit dem Fische gejagt werden, den Konservierungsstoff Natriumbenzoat und die psychotrope Droge α -Thujon aus dem Kultgetränk Absinth aktivierbar (Abb. 11). Alle diese Stoffe weisen zwar mindestens ein Ringsystem und eine elektro-negative Gruppe auf, doch teilen viele Stoffe ebenfalls diese Eigenschaften, die den hTAS2R14 nicht aktivieren. Diese sehr breite Abstimmung der TAS2Rs kann partiell erklären, wie wir mit einer begrenzten Rezeptorausstattung die zahlreichen Bitterstoffe wahrnehmen können. Es ist durchaus möglich, dass die Evolution TAS2Rs hervorgebracht hat, wie hTAS2R16 und hTAS2R38, die eine große Selektivität gegenüber manchen Bitterstoffen aufweisen, zu denen die vielleicht wichtigsten oder häufigsten Pflanzengifte im Lebensraum einer Art gehören. Die Familienmitglieder mit breiter Abstimmung hingegen, wie hTAS2R10 und hTAS2R14, würden es einer Art hingegen ermöglichen, alle in der Natur vorkommenden potentiell gesundheitsschädlichen Stoffe zu erkennen.

Für diese Annahme spricht die Beobachtung, dass die Gene der TAS2Rs mit breiter Abstimmung auf Chromosom 5 oder 12 liegen, wohingegen die Gene für die mehr selektiven Rezeptoren auf Chromosom 7 zu finden sind. Unsere Arbeiten zeigen also, dass alle Substanzen, die TAS2Rs aktivieren, bitter sind. Folglich besteht wenig Zweifel, dass TAS2Rs Bittergeschmack vermitteln. Ob hingegen der Bittergeschmack ausschließlich durch TAS2Rs vermittelt wird, ist eine offene Frage.

Geruchswahrnehmung

Die funktionelle Expression von Geruchsstoff-Rezeptoren (OR) war uns kürzlich unter Verwendung der G Proteinuntereinheiten $\alpha 15$ in HEK293 Zellen gelungen. Es stellte sich jedoch heraus, dass einige ORs in diesem Modellsystem eine andere Geruchsstoffspezifität aufwiesen als in Geruchsneuronen. Daraus ergab sich die Notwendigkeit, ein Expressionssystem zu entwickeln, das über alle erforderlichen, an der Signaltransduktion von Geruchsneuronen beteiligten Moleküle, verfügt. Mit dem HeLa/Olf-Zellsystem ist es uns jetzt erstmals gelungen, die physiologische olfaktorische Signaltransduktion vom G-Protein α_{olf} über die Adenylzyklase III bis zum olfaktorischen CNGA2-Ionenkanal stabil nachzustellen. Ein durch die Aktivierung der ORs ausgelöster Anstieg des intrazellulären cAMP-Spiegels bewirkt einen Einstrom von extrazellulärem Ca^{2+} durch den CNGA2-Kanal. Die intrazelluläre Erhöhung der Ca^{2+} -Konzentration wird durch Beladung der Zellen mit Ca^{2+} -sensitiven Fluoreszenzfarbstoffen messbar. So ist es möglich, in HeLa/Olf-Zellen transient transfizierte Geruchsrezeptor-



2 Hemmung der Leptin-vermittelten Aktivierung von STAT3 durch Somatostatin. Ratten erhielten zwei Injektionen von pyrogenfreier Kochsalzlösung (PFS), von PFS und Leptin oder von Somatostatin (SST) und Leptin in den linken Seitenventrikel im Abstand von 30 min. Von den präparierten Gehirnen wurden 40 μ m dicke Gewebeschnitte hergestellt. Diese wurden unter Verwendung eines spezifischen Anti-STAT3 Antiserums und eines sekundären Fluoreszein-gekoppelten Anti-Kaninchen IgG Antikörpers zur immunologischen Detektion von STAT3 prozessiert. Die Bilder wurden mit einem Leica TSC SP2 konfokalen Mikroskop aufgenommen. Sie zeigen den ventromedialen hypothalamischen Kern (VMH), eine Region, die bekanntermaßen an der Steuerung des Fress/Essverhaltens beteiligt ist. Beachtenswert ist die starke Aktivierung von STAT3 durch Leptin sowie die deutliche Hemmung dieser Aktivierung durch Somatostatin.

2 Inhibition of leptin-induced activation of STAT3. Rats received two injections of pyrogen-free saline (PFS, control), PFS and leptin, or somatostatin (SST) and leptin into the left lateral ventricle at 30 min intervals. Brains were dissected out of the animals and cut into 40 μ m cross-sections. Free-floating sections were processed for STAT3 immunoreactivity using a specific anti-STAT3 antibody and a secondary antibody coupled to fluorescein. Images were taken using a Leica TSC SP2 confocal microscope. The images show the ventromedial hypothalamic nucleus (VMH), a structure involved in the regulation of feeding behavior. The strong activation of STAT3 by leptin and the inhibition of this response by somatostatin is clearly seen.

made from extracts of wormwood. Although these chemicals have one or more ring systems and at least one electronegative side chain in common, many compounds that did not activate hTAS2R14 also share these parameters. This broad tuning might explain how the limited number of bitter taste receptors enables humans to recognize thousands of different bitter compounds. It is tempting to speculate that evolution brought forth TAS2Rs with selectivity towards a limited number of bitter compounds, perhaps the most important or abundant toxic plant metabolites present in a given habitat, whereas other members, like hTAS2R14, with a broad tuning facilitate detection of all potentially harmful bitter substances encountered in nature. This conjecture is supported by the observation that the genes for the broadly tuned TAS2Rs are present on chromosomes 5 or 12, while the genes for the more selective TAS2Rs are found on chromosome 7. Thus, the data suggest that TAS2Rs may be equated to bitter taste receptors.

Olfactory perception

The functional expression of some recombinant olfactory receptors (OR) in HEK-293 cells has been achieved previously by forced coupling to the phosphoinositol/ Ca^{2+} pathway via the G protein subunit $\alpha 15$. However, in some cases the recombinant receptors differed in their ligand specificity from their natural counterparts present in isolated olfactory sensory neurons. We therefore established stable co-expression of ORs and canonical olfactory signal transduction molecules in the human HeLa/Olf cell line. In this cell line, odorant-activated ORs signal through $G_{\alpha_{olf}}$, adenylyl cyclase III and cAMP. The elevated levels of cAMP induce Ca^{2+} -influx through cyclic nucleotide-gated CNGA2 channels. The elevated Ca^{2+} levels can be monitored using Ca^{2+} -imaging methods. By now, we have cloned and functionally tested 40 human OR, and identified odorants for 7 of them

using the novel HeLa/Olf expression system. Moreover, our structure-function analysis of ORs identified 2 amino acids that are involved in the activation of a human OR by the key food odorant citronellol. Beyond olfaction, the HeLa/Olf expression system also proved suitable for the functional characterization of other receptors coupled to the cyclic nucleotide coupled pathway, including the pheromone receptor V1rb2, the membrane guanylyl cyclase GC-B, and the β -adrenergic hormone receptors.

Central control of food intake

Networks of neurons in a brain region called hypothalamus regulate feeding behavior. They are sensitive to the adipocyte hormone leptin, which signals the state of peripheral fat stores. The leptin-responsive neurons comprise a heterogeneous population expressing a vast array of different neuropeptides and neurotransmitters, some of which participate in the regulation of hunger and satiety. In contrast, no neuromodulators have been identified that in turn regulate the central action of leptin. Previously, we found that leptin-responsive neurons express various receptor subtypes for somatostatin, a widespread neuropeptide with many functions. During this reporting period we analyzed the interaction of the somatostatin and leptin signaling pathways. Intracerebroventricular application of somatostatin to rats inhibited the leptin-mediated phosphorylation of the signaling molecule STAT3 and the nuclear translocation of phosphorylated STAT3 in those hypothalamic regions known to be involved in the regulation of feeding behavior (Fig. 2). Furthermore, application of selective agonists strongly suggests that the reduction of the leptin response is predominantly mediated by the somatostatin receptor subtype sst3 and to a lesser extent through sst1 and sst2. The behavioral consequence of the reduced hypothalamic leptin signaling is a relief of the leptin-mediated suppression of food intake. Thus, these results

3 Different subcellular localization of sst1 and sst3 in the rat central nervous system. Brain sections of 30 μm thickness were incubated with specific anti-sst1 (A) or anti-sst3 antisera (B) and a secondary antiserum coupled to rhodamine. Fluorescence images were taken with a Zeiss Axioplan microscope and deblurred. Note that sst1 is found on cell bodies (arrows point to selected cell bodies in panel A) and axons (arrowheads label selected axons in panel A), while sst3 is present on cilia (solid arrows indicate selected cilia in panel B). Note the different scales.

bibliotheken funktionell gegen Geruchsstoffbibliotheken zu testen. Bisher haben wir 40 menschliche ORs untersucht. Davon wurden für sieben Rezeptoren Geruchsstoffe identifiziert und Geruchsstoffprofile erstellt. Darüber hinaus konnten wir für eine Subfamilie von 4 ORs aus Maus und Mensch zwei Aminosäurepositionen identifizieren, die an der Aktivierung eines menschlichen ORs durch Citronellal, einem Schlüsselaromastoff für Lebensmittel, beteiligt sind. Über die Analyse von Geruchsstoff-Rezeptoren hinausgehend ermöglichen die HeLa/Olf-Zellen auch die funktionelle Charakterisierung aller anderen Rezeptoren, die eine cAMP/cGMP-Signalgebung aktivieren oder inhibieren.

Zentrale Kontrolle der Nahrungsaufnahme

Maik Behrens, Anne-Sophie Carlo, Ara Kocharyan, Wolfgang Meyerhof, Martina Pyrski, Zaruhi Stepanyan

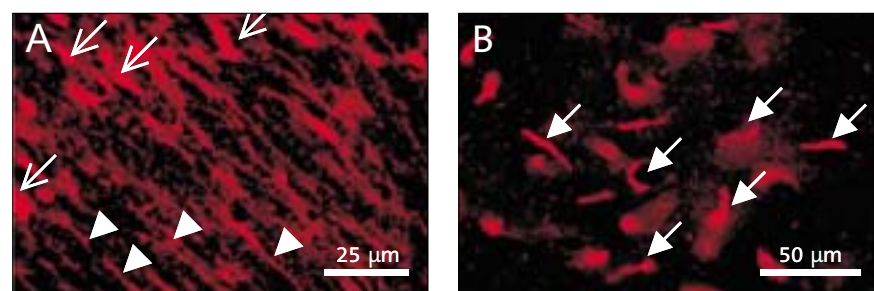
Bestimmte Netzwerke von Nervenzellen in einer als Hypothalamus bezeichneten Gehirnregion steuern das Ess/Fressverhalten. Sie sind empfindlich gegenüber dem Fettzellhormon Leptin, das den Zustand der Fettspeicher des Organismus anzeigt. Die leptinsensitiven Neurone stellen eine heterogene Zellpopulation dar, die eine große Zahl verschiedener Neurotransmitter und Neuropeptide exprimieren, von denen einige wichtige Funktionen bei der Kontrolle von Hunger und Sättigung erfüllen. Es ist jedoch kein Neuropeptid bekannt, das seinerseits die Leptinwirkung im Hypothalamus reguliert. Wir haben kürzlich festgestellt, dass leptin-sensitive Neurone verschiedene Rezeptorsubtypen für das Neuropeptid Somatostatin exprimieren. Das weist darauf hin, dass Somatostatin, welches viele Funktionen innehat, auch ein Regulator der Leptinwirkung sein könnte. Im Berichtszeitraum haben wir daher die Wechselwirkung der Somatostatin- und Leptinsignalwege untersucht. Die Injek-

tion von Somatostatin in den linken Seitenventrikel von Ratten führte zur Inhibition der leptinvermittelten Phosphorylierung. Ferner verhinderte sie in hypothalamischen Gebieten, die an der Regulation der Nahrungsaufnahme beteiligt sind, den Zellkernimport des Signalmoleküls STAT3 (Abb. 2). Diese Inhibition ließ sich besonders auf die Aktivierung des Somatostatin-Rezeptorsubtyps sst3 zurückführen. Die Aktivierung von sst1 und sst2 war weniger effektiv, und die von sst4 unwirksam. Die Inhibition der Leptinwirkung durch Somatostatin wirkte sich auch auf das Fressverhalten der Tiere aus. In Ratten, denen Somatostatin vor Leptin verabreicht wurde, war die Unterdrückung der Nahrungsaufnahme deutlich abgeschwächt. Diese Befunde identifizieren das Neuropeptid Somatostatin als den ersten Regulator der zentralen Leptinwirkung und weisen auf eine Rolle dieses Neuropeptids bei der Steuerung der Energiehomöostase hin.

Funktion und Regulation von G Protein-gekoppelten Rezeptoren

Maik Behrens, Nicole Brune, Wolfgang Meyerhof

G Protein-gekoppelte Rezeptoren sind bedeutende Regulatoren vieler biologischer Prozesse. Es liegt auf der Hand, dass ihr subzellulärer Aufenthaltsort ihre Funktion wesentlich beeinflussen kann. Somatostatin-Rezeptoren (sst1-sst5) sind typische G Protein-gekoppelte Rezeptoren, die in der Zelle unterschiedlich lokalisiert und als Regulatoren der Leptinwirkung für uns wichtig sind. Wir haben daher an ihrem Beispiel ein grundlegendes Problem der Biologie untersucht, wie Proteine ihren Bestimmungsort erreichen. Im zentralen Nervensystem findet sich der sst1 vorwiegend auf Nervenfortsätzen und Zellkörpern, während der sst3 spezifisch auf neuronalen Zilien anwesend ist (Abb. 3). Auch als rekombinante Rezeptoren in Zelllinien sind sie unterschiedlich lokalisiert; der



3 Unterschiedliche Lokalisation der Somatostatin-Rezeptorsubtypen sst1 und sst3 im zentralen Nervensystem der Ratte. 30 μm Gewebeschnitte wurden mit spezifischen Anti-sst1- (A) oder Anti-sst3-Antisera (B) und einem Rhodamin-gekoppelten sekundären Antiserum inkubiert. Die Schnitte wurden an einem Zeiss Axioplan Mikroskop aufgenommen und das Streulicht durch „Deblurring“-Software entfernt. Es ist erkennbar, dass sst1 auf Zellkörpern (Pfeilstriche markieren ausgewählte Zellkörper in A) und Axonen (Pfeilköpfe markieren ausgewählte Axone in A) lokalisiert ist, während sst3 auf Zilien (Pfeile markieren ausgewählte Zilien in B) zu beobachten ist. Beachten Sie bitte die unterschiedlichen Maßstäbe.



4 Wissenschaftler der Abteilung bei der Durchführung mikroskopischer Untersuchungen.

sst1 findet sich vorwiegend in intrazellulären Vesikeln, der sst3 hingegen an der Zelloberfläche. Unsere älteren Arbeiten zeigten, dass die aminoterminalen Bereiche beider Rezeptoren für die unterschiedliche Lokalisation in transfizierten Zellen verantwortlich sind. Zur genauen Identifizierung der zuständigen Motive haben wir im Berichtszeitraum eine genaue Mutationsanalyse durchgeführt, bei der wir Sequenzabschnitte beider Rezeptoren vertauschten oder entfernten. Alle Mutanten waren responsiv gegenüber Somatostatin-agonisten, was klar darauf hinweist, dass sie funktionelle Somatostatin-Rezeptoren darstellen. Weiter zeigte sich die Existenz eines zweigeteilten Elements von 22 Aminosäuren im Aminoterminus des sst1, dessen Deletion zur Zelloberflächenlokalisation des rekombinanten Rezeptors führte. Die Transplantation

dieses Elementes auf den Aminoterminus des sst3 führte dagegen zur Zielsteuerung des rekombinanten Rezeptors zu intrazellulären Vesikeln. Das Motiv ist offenbar von allgemeiner Bedeutung, da es auch in anderen G Protein-gekoppelten Rezeptoren wirksam ist, wie unsere Experimente mit dem D1-Dopaminrezeptor zeigten. Wir nehmen an, dass wir ein wichtiges Sequenzmotiv identifiziert haben, das durch Wechselwirkung mit anderen Proteinen für die Zielsteuerung von Rezeptoren wichtig ist und daher ihre Funktion beeinflusst.

Technische Mitarbeiterinnen

Elke Chudoba
Ines Jäger
Ulrike Lerner
Ellen Schöley-Pohl

4 Research scientist of the department at work.

clearly identify somatostatin as the first neuropeptide to regulate the efficacy of the leptin-signaling pathway and suggest a role for somatostatin in the central regulation of energy homeostasis.

Function and regulation of G protein-coupled receptors

G protein-coupled receptors (GPCRs) are important biological regulators. It is obvious that their subcellular localization largely influences their function. Thus, the fundamental question arises how proteins reach their point of destination. We investigated this problem using somatostatin receptor subtypes (sst) as a model of typical G protein-coupled receptors, which are also involved in the regulation of feeding behavior. In the rat brain, sst1 is detected in axons and dendrites, while sst3 is specifically localized on neuronal cilia (Fig. 3). A differential subcellular localization is also observed in transfected cell lines, in which sst3 is found almost exclusively at the cell surface, whereas sst1 is mostly located in intracellular vesicular compartments. Our previous work demonstrated that the amino-terminal domains of sst1 and sst3 suffice to guide the receptor proteins to their respective destination in transfected cell lines. To identify the responsible sequence motifs in the receptors' N-termini, we then analyzed mutant receptors in which we replaced parts of sst1 by the corresponding amino acids of the sst3 and *vice versa* or deleted or inserted amino acids in the N-terminal domains. All receptor mutants responded to somatostatin agonists indicating that they are fully functional somatostatin receptors. Further analysis revealed the presence of a bipartite sequence motif of 22 amino acids in the sst1 N-terminus. Deletion of this element resulted in cell-surface targeting of the mutant receptor, whereas its transplantation to the sst3 N-terminus targeted the mutant to the intracellular vesicular compartment. This motif worked also in the context of an entirely different GPCR. When the motif was added to the dopamine D1 receptor, which is normally found at the cell surface, the mutant receptor migrated to the intracellular vesicular compartment. We conclude that we have identified an important sequence motif that interacts with other cellular proteins. This interaction determines the subcellular localization of the somatostatin receptors and thereby exerts a strong impact on its function.

Drittmittelprojekte

External Funding

Funktionelle Identifizierung und Charakterisierung der humanen TAS2R
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.06.2003–31.05.2005

Aufklärung der Geruchsstoffspezifität olfaktorischer Rezeptorsubfamilien durch funktionelle Expression einer Rezeptorbibliothek im Säugerzellsystem
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.10.2002–30.09.2003

Molekulare Klonierung, Charakterisierung und Struktur-Funktions-Beziehungen von olfaktorischen Rezeptoren für den Schlüsselaromastoff ‚Weinlacton‘ (Viadrina-Doktorandenstipendium)
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.05.2002–30.04.2003

Somatostatin and its receptors in brain function and dysfunction (Koordination)
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.01.2000–31.12.2003

Deorphanization of bitter receptors that modulate the bitter response in humans
Finanzierung: Givaudan USA
Laufzeit: 01.09.2003–31.08.2007

Cloning, expression and deorphanizing olfactory receptors and study of their ligand selectivity and specificity
Finanzierung: Givaudan Schweiz
Laufzeit: 01.12.2004–30.11.2006

Structure-activity relationship of Human Bitter Taste (VIGONI-Programm 2004: Projektbezogener Personenaustausch mit Italien)
Finanzierung: DAAD
Laufzeit: 01.01.2004–31.12.2005

Ausgewählte Publikationen

Selected Publications

Originalarbeiten/Original Papers

Behrens, M., Brockhoff, A., Kuhn, C., Bufe, B., Winnig, M., Meyerhof, W.: The human taste receptor hTAS2R14 responds to a variety of different bitter compounds. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 319, 479-485 (2004).

Behrens, M., Bufe, B., Schmale, H., Meyerhof, W.: Molecular cloning and characterisation of DESC4, a new transmembrane serine protease. *Cell. Mol. Life Sci.*, 61, 2866-2877 (2004).

Bufe, B., Breslin, P.A.S., Kuhn, C., Reed, D.R., Tharp, C.D., Slack, J.P., Kim, U.K., Meyerhof, W.: The molecular basis of individual differences in phenylthiocarbamide and propylthiouracil bitterness perception. *Curr. Biol.* in press.

Kuhn, C., Bufe, B., Winnig, M., Hofmann, T., Frank, O., Behrens, M., Lewtschenko, T., Slack, J.P., Ward, C.D., Meyerhof, W.: Bitter receptors for saccharin and acesulfame K. *J. Neurosci.* 24, 10260-10265 (2004).

Shirokova, E., Schmiedeberg, K., Bedner, P., Niessen, H., Willecke, K., Raguse, J.D., Meyerhof, W., Krautwurst, D.: De-orphaning of olfactory receptors via cAMP/CNGA2 signaling in HeLa/Olf cells – G protein-dependent agonism and antagonism of odorants. *J. Biol. Chem.* (Epub ahead of print) (2004).

Stepanyan, Z., Kocharyan, A., Pyrski, M., Hübschle, T., Watson, A.M., Schulz, S., Meyerhof, W.: Leptin-target neurons of rat hypothalamus express somatostatin receptors. *J. Neuroendocrinol.* 15, 822-830 (2003).

Übersichtsarbeiten/Reviews

Meyerhof, W.: Geschmacksfragen - Neues aus der Ernährungsforschung. Mechanismen der Geschmackswahrnehmung und ihre Auswirkung auf das Essverhalten. *Moderne Ernährung Heute* Nr. 1, 1-5 (2003).

Meyerhof, W., Behrens, M., Brockhoff, A., Bufe, B., Kuhn, C.: Human bitter taste perception. *Chem. Senses*, 29 (S1) in press.

Olias, G., Violett, C., Kusserow, H., Epelbaum, J., Meyerhof, W.: Regulation and function of somatostatin receptors. *J. Neurochem.* 89, 1057-1091 (2004).

Buchbeiträge/Book Articles

Bufe, B., Schöley-Pohl, E., Krautwurst, D., Hofmann, T., Meyerhof, W.: Identification of human taste receptors. In: Hofmann, T., Ho, C.-H., Pickenhagen, W. (eds.) *Challenges in taste chemistry and biology*, ACS Symposium Series 867, 45-59 (2003).

Olias, G., Meyerhof, W.: Somatostatin. In: Offermans, S., Rosenthal, W. (eds.) *Encyclopedic Reference of Molecular Pharmacology*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 876-883 (2004).

Zusammenfassung In den meisten Industriestaaten haben Häufigkeit und Schweregrad der Adipositas (krankhaftes Übergewicht) und ihrer lebensverkürzenden Komplikationen (Bluthochdruck, kardiovaskuläre Komplikationen, Typ-2-Diabetes) dramatisch zugenommen und stellen damit ein zentrales Gesundheitsproblem dar. Übergewicht ist durch eine Erhöhung der Körperfettmasse gekennzeichnet und entsteht durch eine über längere Zeit bestehende positive Energiebilanz. Die Ursachen und modulierenden Größen, die zu dem komplexen und multifaktoriellen Krankheitsbild der Adipositas beitragen, sind erbliche Veranlagung (Genetik) und Lebensstil (Ernährungsgewohnheiten, körperliche Aktivität), die miteinander in Wechselwirkung stehen. Die Abteilung hat zum Ziel, die molekularen Ursachen und die Pathophysiologie der Adipositas und ihrer Komplikationen aufzuklären. Sie hat in einem adipösen Mausmodell genomische Regionen identifiziert, die Krankheitsgene enthalten, und arbeitet an deren Aufklärung. Um Strategien für eine wirksame Adipositas-Therapie zu entwickeln, untersucht sie die Rolle von Neuropeptiden in der Kontrolle des Sättigungsgefühls. Zudem analysiert sie die molekularen Grundlagen des Nährstofftransports und seiner Beziehung zu Adipositas und Typ-2-Diabetes.

Adipositas, Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes: Identifikation von Suszeptibilitätsgenen in einem Mausmodell

Reinhart Kluge, Leona Plum, Katja Schmolz, Stephan Scherneck, Hella Jürgens, Mandy Grothe, Heike Vogel

Entstehung und Verlauf der Adipositas sind bedingt durch Ernährungsgewohnheiten und einen bewegungsarmen Lebensstil, basieren aber vor allem auf einer komplexen genetischen Prädisposition. Diese Prädisposition besteht aus einem Netzwerk varianten Gene (polygene Erkrankung), dessen einzelne Komponenten weitgehend unbekannt und beim Menschen sehr schwer identifizierbar sind. Die Gruppe sucht daher zunächst nach Adipositasgenen der Maus, um die Ergebnisse dann auf den Menschen zu übertragen. Das für diesen Zweck am DfE verwendete Mausmodell ist die *New Zealand obese* (NZO) Maus. Sie bildet das polygene metabolische Syndrom des Menschen sehr exakt ab und erlaubt die Analyse von Gen-Gen- sowie Gen-Umwelt-Interaktionen.

Charakterisierung und nähere Eingrenzung der mit Adipositas und Diabetes assoziierten chromosomalen Abschnitte

Die genetische Homogenität von Inzucht-Mausstämmen wie der NZO-Maus erlaubt die Identifikation chromosomaler Regionen (*quantitative trait loci, QTL*), die mit dem adipösen Erscheinungsbild der Tiere (Phänotyp) assoziiert sind, indem Auskreuzungspopulationen generiert und analysiert werden. So wurde durch Kreuzung der adipösen NZO-Maus mit einem normalgewichtigen Stamm

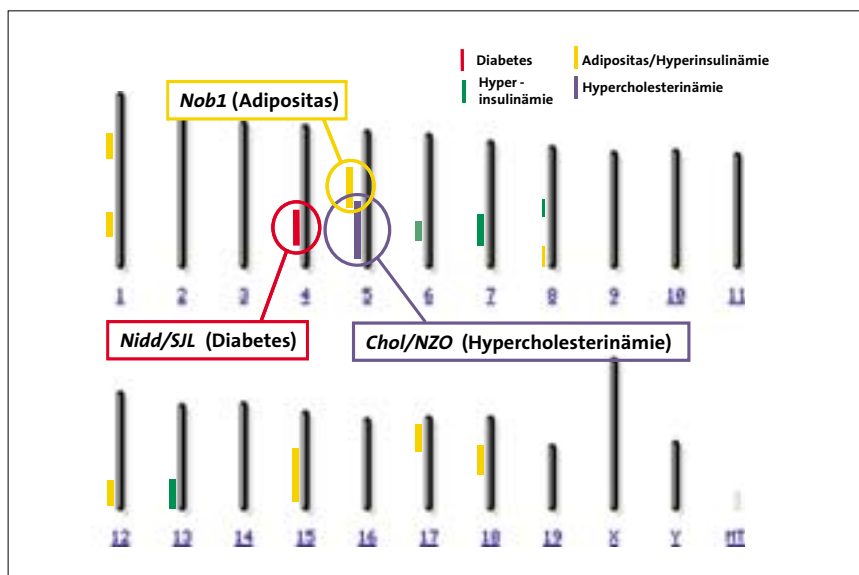
Summary In most industrialized countries, the prevalence of obesity and its life-shortening complications (hypertension, cardiovascular complications, type 2 diabetes) have increased markedly during the last 20 years. Thus, obesity has become one of the most important contemporary health problems. Obesity is characterized by an increase in body fat mass as a result of a chronic positive energy balance. It is caused by a predisposing (genetic) basis in combination with an adipogenic lifestyle (hypercaloric diet, low physical activity). The aim of the department is to elucidate the molecular basis and the pathophysiology of obesity and its complications. In a mouse model of this syndrome, we identified genomic regions carrying gene variants responsible for the disease, and are currently working on their identification. The department also investigates the role of neuropeptides for the control of satiety, in order to develop strategies for the effective treatment of obesity. In addition, the group analyzes the molecular basis of nutrient transport and its relation to obesity and type 2 diabetes.

Obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes: Identification of susceptibility genes in a mouse model

Development and course of obesity are dependent on nutritional conditions and on other lifestyle parameters (e.g., physical activity). However, its main basis is the complex, polygenic predisposition consisting of a network of variant genes that are widely unknown and difficult to identify in humans. Therefore, the group initially searches for obesity genes in the mouse and will finally transfer the results to humans. The mouse model used for this aim is the *New Zealand obese* (NZO) mouse, which closely resembles the human polygenic metabolic syndrome, and which can also be used to analyze gene-gene and gene-environment interactions.

Characterization and dissection of chromosomal regions associated with obesity and diabetes

The genetic homogeneity of inbred mouse strains such as NZO mice allows the identification of chromosomal regions (*quantitative trait loci, QTL*) associated with the obese phenotype by generation and analysis of outcross populations. Crossing of



1 Lokalisation von Suszeptibilitätsloci für Adipositas, Diabetes und Hypercholesterinämie im Genom der Maus. In der Rückkreuzungspopulation der normalgewichtigen SJL- und der adipösen NZO-Maus wurden durch Vergleich von Phänotyp (z.B. Körpergewicht) und Genotyp (ermittelt mit Hilfe von Mikrosatellitenmarkern) Chromosomenabschnitte identifiziert, die mit Übergewicht, erhöhten Blutglucose- oder Cholesterinwerten assoziiert waren.

1 Localization of susceptibility loci for obesity, diabetes, and hypercholesterolemia in the mouse genome. In the backcross population of the lean SJL and the obese NZO mice, several chromosomal regions associated with obesity, increased blood glucose levels or increased cholesterol levels were identified by analysis of phenotypes (e.g. body weight) and genotypes (determined with microsatellite markers).

obese NZO mice with a lean control strain and the subsequent backcross of F1 results in a population with mixed genomes. By comparison of the phenotypes (e.g., body weight) with different genotypes, chromosomal regions (QTL) were identified that were associated with obesity (e.g. *Nob1* on chromosome 5, LOD Score >4, a measure for statistical significance) and hypercholesterolemia (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 insulin-producing cells in the islets of Langerhans (Fig. 2).

Interaction of obesity, diabetes genes, and dietary fat

The characterization of the backcross model contributed to our understanding of the interaction of obesity and diabetes genes. The diabetes prevalence was dependent on the early obesity of the backcross animals in a dose-dependent manner. Diabetes genes in the *Nidd/SJL* locus sensitized the mice to the effect of early obesity: Control mice (non-gene-carriers) became diabetic only if their body weight at week 12 was >50 g, whereas *Nidd/SJL*-carriers developed hyperglycemia at lower body weights. With a 12-week body weight exceeding 55 g, 90% of the *Nidd/SJL* carriers but only 50% of the controls exhibited a decompensation of the blood glucose regulation. Below a threshold of 40 g (at week 12), *Nidd/SJL* was not diabetogenic. In addition, we could show that the fat content of the diet markedly accelerated the development of diabetes and aggravated the effect of *Nidd/SJL*.

Strategies for the identification of obesity and diabetes genes

The identification of gene variants located in susceptibility loci – which normally span 10–20 cM (centi-Morgan), equivalent to 20–40 Mbp (million base pairs), and 200–500 genes – critically depends on strategies to narrow down these segments. One strategy for dissecting complex susceptibilities is the generation of recombinant congenic strains in which a selected chromosomal region is transferred to a control strain via successive backcrossing. The phenotypic and genotypic analyses allow the dissection of critical regions to 1–2 cM, which will finally lead to the identification of gene variants responsible for the disease. In addition to the NZO mouse, two different breeding partners have been used, the *New Zealand black* (NZB) mouse, the next

2 Interaction of adipogenic and diabetogenic genes during the development of diabetes. Susceptibility loci for obesity such as *Nob1* induce an increase in body weight which leads to the development of insulin resistance and an impaired glucose tolerance. Simultaneous presence of a diabetes QTL such as *Nidd/SJL* induces the failure of insulin-producing β -cells and, finally, type 2 diabetes. The effects of the QTL are accelerated by a high-fat diet.

und einer anschließenden Verpaarung der Nachkommen mit dem NZO-Stamm (Rückkreuzung) eine Population mit vollständig gemischten Genomen generiert. Der Vergleich des Phänotyps mit dem Genotyp lieferte mehrere chromosomale Abschnitte, die mit Adipositas (z.B. *Nob1* auf Chromosom 5, LOD-Score >4 als Maß für die statistische Signifikanz) und Hypercholesterinämie assoziiert sind (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 (Abb. 2).

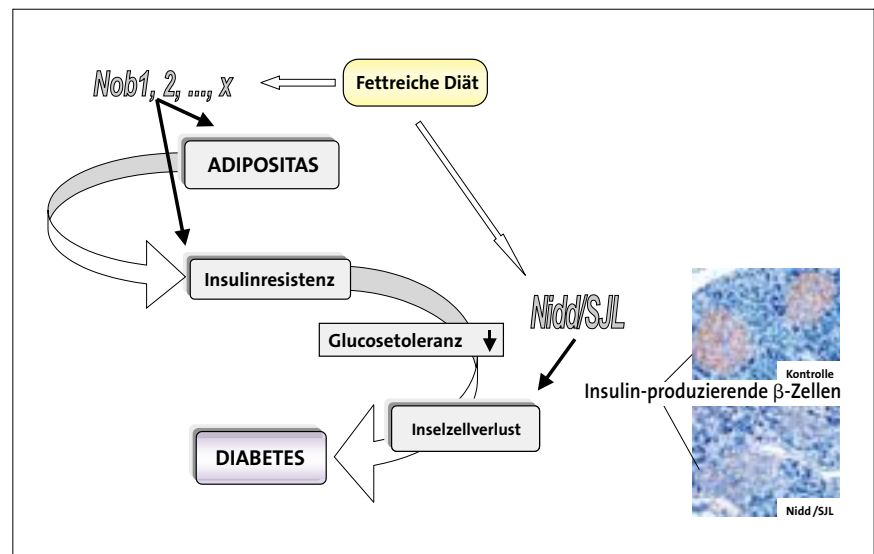
Interaktion von Adipositas und Diabetes-Genen und ihre Wechselwirkung mit einer fettreichen Diät

Die Charakterisierung des Rückkreuzungsmodells lieferte außerdem Kenntnis über die Interaktion von Adipositas und Diabetes-Genen. Die Diabetes-Prävalenz der Rückkreuzungstiere hing von der frühen Adipositas der Tiere ab (Abb. 2), es besteht also eine ‚Dosisabhängigkeit‘ zwischen Adipositas und Diabetes-Prävalenz. Diese Abhängigkeit wird 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 Genträgern von *Nidd/SJL* bereits ab einem 12-Wochen-Gewicht von 40 g 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. Wir konnten

zudem zeigen, dass der Fettanteil der Nahrung einen erheblichen Einfluss auf den Zeitpunkt der Diabetesentstehung nimmt.

Strategien zur Identifizierung von Adipositas und Diabetes-Genen

Ein Suszeptibilitätslocus erstreckt sich über einen Bereich von 10–20 cM (Centimorgan), also 20–40 Mbp (Millionen Basenpaaren) mit etwa 200–500 Genen. Daher sind geeignete Strategien erforderlich, mit denen die für Adipositas und Diabetes relevanten Bereiche näher eingegrenzt und schließlich die krankheitsauslösenden Genvarianten identifiziert werden. Für eine solche Eingrenzung werden sogenannte rekombinant kongene Mauslinien gezüchtet, in denen ein definierter Chromosomenabschnitt durch sukzessive Rückkreuzung in einem Kontrollstamm isoliert wird. Die phänotypische Analyse und Ermittlung der Genotypen ermöglicht im Idealfall eine feinere Kartierung des krankheitsassoziierten Bereichs bis zu einer Größe von 1–2 cM, die dann eine erfolgreiche Isolierung des Krankheitsgens in Aussicht stellt. Es wurden bisher neben der NZO-Maus zwei weitere Kreuzungspartner verwendet: die *New Zealand black* (NZB) Maus, ein zur NZO verwandter, nicht adipöser Stamm, und C57BL6 als weit verbreiteter und gut charakterisierter Kontrollstamm (Abb. 3). Die Kreuzungen sind noch nicht abgeschlossen und werden noch etwa ein bis zwei Jahre in Anspruch nehmen. Erste Analysen zeigen bereits, dass nach Übertragung des Diabetes-QTL *Nidd/SJL* auf den C57BL6-Stamm dieser QTL immer noch diabetogen wirkt. Damit ist der Beweis geführt, dass dieser Locus tat-



2 Interaktion von Adipositas- und Diabetes-Genen im Verlauf der Diabetesentstehung. Suszeptibilitätsloci für Adipositas wie *Nob1* induzieren ein erhöhtes Körpergewicht, das zur Insulinresistenz und einer verschlechterten Glucosetoleranz führt. Gleichzeitiges Vorliegen eines Diabetes-QTL wie *Nidd/SJL* führt schließlich zum Verlust von Insulin-produzierenden β -Zellen und damit zum Typ-2-Diabetes. Die Effekte der QTL werden durch eine fettreiche Diät verstärkt.



■ Mausstamm mit polygener Adipositas (NZO-Maus) und verwendeter C57BL6 Kontrollstamm.

sächlich ein diabetogenes Gen enthält. Ziel der gegenwärtigen Arbeit ist es, die für die Effekte der Suszeptibilitätsloci verantwortlichen Gene zu identifizieren. Zurzeit werden hierzu die Loci durch die Zucht kongener Linien und die Erstellung von Haplotypenkarten weiter eingegrenzt. Informationen zur Funktion der varianten Gene werden durch Untersuchung der Expression der in den kritischen Regionen liegenden Gene gewonnen. Zudem versuchen wir, die Varianten durch Sequenzierung von Kandidatengen zu identifizieren.

Gastrointestinale Botenstoffe als Regulatoren des Körpergewichts

Matthias Tschöp, Tamara Castañeda, Hella Jürgens

Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit Botenstoffen, die in der Peripherie, z.B. von Magen und/oder Darm gebildet werden und Einfluss auf die Energiebilanz nehmen. Für die Aufrechterhaltung der Energiehomöostase sind Kerngebiete im Hypothalamus und Hirnstamm beteiligt, die auch aus der Peripherie Signale erhalten und verarbeiten. Sie ermöglichen so dem Organismus, sich ändernden äußeren Bedingungen anzupassen. Das Peptidhormon Ghrelin z.B. wird vom Magen sezerniert und induziert über hypothalamische Steuerungssysteme die Nahrungsaufnahme. Ghrelin wird außerdem vom Zentralnervensystem produziert und spielt hier für die Feinmodulation anderer Hunger-induzierender Peptide, wie Neuropeptid Y (NPY), und sättigungsfördernder Peptide, wie Proopiomelanocortin (POMC), eine Rolle.

Eine wichtige Rolle in der Regulation des Sättigungsgefühls spielt das gastrointestinale Peptidhormon PYY(3–36), das kürzlich als Sättigungsfaktor beschrieben wurde. Ziel der Arbeitsgruppe war es, die Wirkungsmechanismen und neuronalen Netzwerke von PYY(3–36) zu analysieren, um Strategien zur Adipositas therapie mit PYY(3–36) zu entwickeln. Anders als erwartet wirkte PYY(3–36) in den Untersuchungen nicht hemmend auf die Nahrungsaufnahme, sondern – insbesondere nach Injektion in den Liquorraum des Gehirns – meistens stimulierend. Zur Therapie der Adipositas ist daher PYY(3–36) nicht geeignet, allenfalls Antagonisten des Neuropeptids könnten die gewünschte Appetithemmung bewirken.

Transport von Nährstoffen: Molekulare Grundlagen und hormonelle Regulation

Annette Schürmann, Hadi Al-Hasani, Andrea Scheepers, Ulrike Schmidt, Stefan Schmidt

In allen Zellen, Zellsystemen und Organen ist Glucose der wichtigste Nährstoff für die Erzeugung von Energie. Daher sind eine ausgewogene Zufuhr, Verteilung und Metabolisierung von Glucose essentiell für die Aufrechterhaltung der Energiehomöostase. Außerdem spielt Glucose bei der Regulation der Nahrungsaufnahme und Energiebilanz eine wichtige Rolle, da spezifische Sensoren auf unterschiedliche Glucosekonzentrationen reagieren. Glucose entsteht hauptsächlich durch Spaltung von Di- und Polysacchariden im Dünndarm. Von dort wird sie mit Hilfe Natrium-abhängiger Glucosetransporter

■ NZO mouse and C57BL6 mouse (reference strain).

non-obese relative of NZO, and C57BL6, the most widely distributed reference strain (Fig. 1). The crosses have not been finished yet and will take approximately two years. First results indicate that after transfer of the diabetes QTL *Nidd/SJL* to the C57BL6 strain, this QTL still induces diabetes. Thus, these results provide strong evidence for a diabetogenic gene in this locus.

The aim of the ongoing project is to identify the genes responsible for the effects of the susceptibility loci. At present, the loci are dissected by generation of recombinant congenic lines and the creation of haplotype maps. Information as to the function of the genes located in the critical regions is obtained by analysis of their expression. In addition, we are trying to identify variants by sequencing candidates located in the QTL.

Gastrointestinal peptides for the regulation of body weight

Our group is working on gastrointestinal hormones involved in the regulation of the energy balance. Core areas of the hypothalamus and the brain stem are involved in the maintenance of the energy homeostasis: they also receive and transfer signals from the periphery in order to adapt the organism to changing environmental conditions. The peptide hormone ghrelin, for example, is secreted by gastric cells and induces hunger through hypothalamic receptors. In addition, ghrelin produced in the central nervous system is apparently responsible for the effects of modulation of neuropeptides such as neuropeptide Y (NPY) and proopiomelanocortin (POMC), mediating hunger and satiety, respectively. The gastrointestinal peptide hormone PYY(3–36), recently described as satiety factor, plays an important role in the regulation of satiety. Our aim was to investigate the neuronal networks of the hypothalamus that are modulated by PYY(3–36) in order to develop strategies for the obesity treatment with this peptide. However, in contrast to expected results, PYY(3–36) did not inhibit but rather stimulated food intake, in particular after icv-injection. Therefore, the peptide PYY(3–36) itself is not a useful anti-obesity agent, whereas antagonists of the neuropeptide might induce the desired inhibition of appetite.

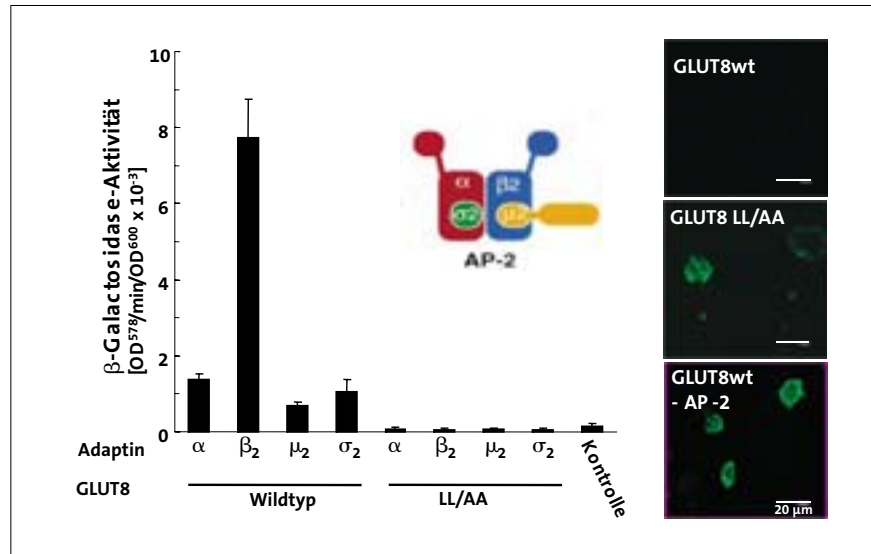
Transport of nutrients: Molecular basis and hormonal regulation

In all cells and organs, glucose is the main nutrient for the generation of energy. Therefore, a balanced supply, distribution, and metabolism of glucose is essential for the maintenance of energy homeostasis. In addition, glucose is involved in the regula-

4 Binding of the β -subunit of the adapter protein complex AP-2 to the di-leucine motif of the N-terminus of GLUT8 triggers its internalization. The interaction of the AP-2 β -subunit with GLUT8 was established by the yeast two-hybrid system (indirectly via detection of β -galactosidase activity). After mutation of the di-leucine motif for two alanines (LL/AA), no binding was detected. GLUT8 is located at the cell surface when the di-leucine motif is mutated. The same distribution can be observed after depletion of the AP-2 complex (- AP-2).

tion of food intake and energy balance because its availability is monitored by specific sensors. Glucose is mainly generated by cleavage of di- and polysaccharides within the small intestine. It is subsequently transported into the mucosa cells 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 family of GLUT-proteins consists of 14 members which differ in their tissue distribution and also in their substrate specificity. GLUT8 transports glucose with high affinity and is expressed in spermatozoa as well as in insulin-sensitive tissues (differentiation-dependent in fat cells). In fat cells, GLUT8 cycles between intracellular membranes and the plasma membrane, similar to the insulin-regulated transporter GLUT4. Under basal conditions, both transporters are mainly located in intracellular compartments, but only GLUT4 is translocated to the plasma membrane after treatment with insulin. GLUT8 can be detected at the cell surface of different cells when the endocytosis is blocked by co-expression of a dominant-negative dynamin mutant or after mutation of the N-terminal di-leucine motif. Since the di-leucine motif appears to be responsible for the retention of GLUT8 and several endocytotic processes require the interaction with clathrin-associated adapter-protein complexes (AP), we investigated the interaction between the N-terminus of GLUT8 and AP. Actually, we could demonstrate that GLUT8 binds to the β 2-adaptin subunit of the heterotetrameric AP-2 complex via its N-terminus. In addition, the deletion of β 2-adaptin induced a translocation of GLUT8 to the cell surface (Fig. 4). The recruitment of GLUT8 from the cell surface to an intracellular compartment occurs via direct binding of β 2-adaptin to the di-leucine motif. However, the physiological stimulus that induces a translocation of GLUT8 is presently unknown.

Our objective is to study the role of GLUT8 for glucose homeostasis *in vivo*. Therefore, we are generating mice with targeted disruption of GLUT8 in fat and in glucose-sensitive neurons and will analyze the phenotype of these knockout mutants.



4 Die Bindung der β 2-Untereinheit des Adapterproteinkomplexes AP-2 an das Di-Leucin-Motiv im N-Terminus des GLUT8 vermittelt seine Internalisierung. Die Interaktion der AP-2 β -Untereinheit mit GLUT8 wurde mit Hilfe des *Two-Hybrid*-Systems nachgewiesen (indirekt durch Bestimmung der β -Galactosidase-Aktivität). Nach Austausch des Di-Leucin-Motivs gegen zwei Alanine (LL/AA) ist dagegen keine Bindung mehr nachweisbar. GLUT8 ist nach Mutation des Di-Leucin-Motivs an der Zelloberfläche lokalisiert. Diese Verteilung wird auch durch das Ausschalten des AP-2-Komplexes (- AP-2) beobachtet.

(sodium dependent glucose transporters, SGLT) in die Mukosazellen aufgenommen und anschließend durch Mitglieder der GLUT-Familie ins Serum und vom Serum in die Zellen der verschiedenen Gewebe transportiert. Die Familie der GLUT-Proteine zählt 14 Mitglieder, die sich in ihrer Gewebsverteilung und z.T. auch in ihren Substratspezifitäten unterscheiden. GLUT8 transportiert Glucose mit hoher Affinität und wird in Spermatozoen, aber auch in insulinempfindlichen Geweben, vor allem differenzierungsabhängig in Fettzellen, exprimiert. In Fettzellen zirkuliert GLUT8 ähnlich dem durch Insulin regulierten Glucosetransporter GLUT4 zwischen intrazellulären Membranen und der Plasmamembran. Beide Transporter sind in unstimulierten Zellen fast ausschließlich im Zellinnern lokalisiert, allerdings wird nur GLUT4 nach Insulinbehandlung zur Plasmamembran transloziert. GLUT8 ist in verschiedenen Zellen nur dann an der Zelloberfläche nachweisbar, wenn die Endozytose durch Expression einer dominant negativen Dynamin-Mutante gehemmt oder ein Di-Leucin-Motiv im N-Terminus ausgetauscht wird. Da offensichtlich das Di-Leucin-Motiv für die intrazelluläre Retention des GLUT8-Proteins verantwortlich und für viele endozytische Prozesse eine Interaktion mit Clathrin-assoziierten Adapter-Protein-

komplexen (AP) notwendig ist, haben wir die Interaktion zwischen dem N-Terminus von GLUT8 und AP untersucht. Tatsächlich konnten wir zeigen, dass GLUT8 über das Di-Leucin-Motiv an die β 2-Adaptin-Untereinheit des heterotetrameren AP-2-Komplexes bindet und dass das Ausschalten von β 2-Adaptin eine Umverteilung von GLUT8 an die Zelloberfläche zur Folge hat (Abb. 4). Die Rekrutierung von GLUT8 in ein intrazelluläres Kompartiment erfolgt also durch eine direkte Bindung des β 2-Adaptins an das Di-Leucin-Motiv; allerdings ist der physiologische Stimulus, der eine Translokation von GLUT8 induziert, noch nicht bekannt. Ziel unserer Arbeitsgruppe ist es nun, die Rolle von GLUT8 für die Glucose-Homöostase *in vivo* zu untersuchen. Dazu sollen der Transporter spezifisch im Fettgewebe und in Glucose-sensitiven Neuronen der Maus ausgeschaltet und der Phänotyp dieser sog. *knockout*-Mutanten analysiert werden.

Technische Mitarbeiterinnen

Anne Karasinsky
Susanne Neubert
Monika Niehaus
Carola Plaue
Brigitte Rischke
Kathrin Warnke

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Originalarbeiten/Original Papers

Becker, W., Kluge, R., Kantner, T., Linnartz, K., Korn, M., Tschank, G., Plum, L., Giesen, K., Joost, H.G.: Differential hepatic gene expression in a polygenic mouse model with insulin resistance and hyperglycemia: evidence for a combined transcriptional dysregulation of gluconeogenesis and fatty acid synthesis. *J. Mol. Endocrinol.* 32, 195-208 (2004).

Bosch, R.R., Bazuine, M., Wake, M.M., Span, P.N., Olthaar, A.J., Schürmann, A., Maasen, J.A., Hermus, A.R., Willems, P.H., Sweep, C.G.: Inhibition of protein kinase C-beta-II increases glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes through elevated expression of glucose transporter 1 at the plasma membrane. *Mol. Endocrinol.* 17, 1230-1239 (2003).

Chen, X.L., Al-Hasani, H., Olausson, T., Wentzel, A.M., Smith, U., Cushman, S.W.: Activity, phosphorylation state and subcellular distribution of GLUT4-targeted Akt2 in rat adipose cells. *J. Cell Sci.* 116, 3511-3518 (2003).

Gaster, M., Handberg, A., Schürmann, A., Joost, H.G., Beck-Nielsen, H., Schroder, H.D.: GLUT11, but not GLUT8 or GLUT12, is expressed in human skeletal muscle in a fibre type-specific pattern. *Pflugers Arch.* 448, 105-113 (2004).

Giesen, K., Plum, L., Kluge, R., Ortlepp, J., Joost, H.G.: Diet-dependent obesity and hypercholesterolemia in the New Zealand obese mouse: Identification of a quantitative trait locus for elevated serum cholesterol on the distal mouse chromosome 5. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 304, 812-817 (2003).

Kortylewski, M., Feld, F., Krüger, K.D., Bahrenberg, G., Roth, R.A., Joost, H.G., Heinrich, P.C., Behrmann, I., Barthel, A.: Akt modulates STAT3-mediated gene expression through a FKHR (FOXO1a)-dependent mechanism. *J. Biol. Chem.* 278, 5242-5249 (2003).

Tang-Christensen, M., Vrang, N., Ortmann, S., Bidlingmaier, M., Horvath, T.L., Tschöp, M.: Central administration of ghrelin and agouti-related Protein (83-132) increases food intake and decreases spontaneous locomotor activity in rats. *Endocrinology* 145, 4645-4652 (2004).

Tschöp, M., Castañeda, T.R., Joost, H.G., Thöne-Reineke, C., Ortmann, S., Klaus, S., Hagan, M.M., Chandler, P.C., Oswald, K.D., Benoit, S.C. et al.: Physiology: does gut hormone PYY3-36 decrease food intake in rodents? *Nature.* 430, 165-166 (2004).

von Groote-Bidlingmaier, F., Schmoll, D., Orth, H.M., Joost, H.G., Becker, W., Barthel, A.: DYRK1 is a co-activator of FKHR (FOXO1a)-dependent glucose-6-phosphatase gene expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 300, 764-769 (2003).

Übersichtsarbeiten/Reviews

Al-Hasani, H., Tschöp, M.H., Cushman, S.W.: Two birds with one stone: novel glucokinase activator stimulates glucose-induced pancreatic insulin secretion and augments hepatic glucose metabolism. *Mol. Interv.* 3, 367-370 (2003).

Horvath, T.L., Diano, S., Tschöp, M.: Brain circuits regulating energy homeostasis. *Neuroscientist.* 10, 235-246 (2004).

Scheepers, A., Joost, H.G., Schürmann, A.: The glucose transporter families SGLT and GLUT: Molecular basis of normal and aberrant function. *JPEN J. Parenter. Enteral Nutr.* 28, 364-371 (2004).

Buchbeiträge/Book Articles

Al-Hasani, H.: Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. In: Boles, E., Krämer, R. (eds.) *Topics in Current Genetics, Vol 9: Molecular Mechanisms Controlling Transmembrane Transport*, 325-352 (2004).

Schürmann, A., Joost, H.G.: ARF-like proteins. In: Kahn, R.A. (eds.) *ARF Family GTPases*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 325-350 (2003).

Drittmittelprojekte External Funding

DFG-Forschergruppe Mechanismen der normalen und gestörten Insulinwirkung: Teilprojekt 1: Insulinresistenz und Typ 2 Diabetes: Identifikation von Suszeptibilitätsgenen in einem Mausmodell, Teilprojekt 2: Rolle der Glucosetransporter GLUT8 und GLUT11 im normalen und gestörten Glucosestoffwechsel
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.11.2000–31.05.2006

Sortierung des insulinregulierten Glucosetransporters GLUT4 durch Adapterproteine
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.07.2004–30.06.2006

Rolle der Ras-ähnlichen GTPase ARF-related protein 1 (ARFRP1) in Differenzierung und Morphogenese
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.01.2003–31.12.2004

NGFN2: Teilprojekt 9: Identification of candidate genes for human obesity in a mouse model of morbid, polygenic obesity
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.09.2004–31.08.2007

BioProfil Nutrigenomik: Analyse neuer Targets für die Behandlung der Adipositas
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.11.2004–31.10.2007

BioProfil Nutrigenomik: Spiegelmer als neuer therapeutischer Ansatz zur Behandlung der Adipositas
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 06.07.2004–30.06.2005

BioProfil Nutrigenomik: Teilprojekt 2: Einfluss von Diäten auf die Entstehung und Ausprägung des Metabolischen Syndroms in Abhängigkeit von individuellen genetischen Risikoprofilen
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.08.2003–31.07.2006

DIABESITY: Novel Molecular Drug Targets for Obesity and Type 2 Diabetes (Integrated Project)
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.01.2004–31.12.2008

Longterm effects of ghrelin and its receptor agonists on energy balance
Finanzierung: Eli Lilly International Foundation
Laufzeit: 01.07.2002–30.06.2003

in vivo characterization of anti-ghrelin-spiegelmers in rodents
Finanzierung: NOXXON Pharma AG
Laufzeit: 01.11.2002–30.10.2003

Identifikation von Diabetesgenen in der NZO-Maus
Finanzierung: DDG
Laufzeit: 10.02.2003–31.12.2004

Hypothalamisches Ghrelin und seine Mechanismen
Finanzierung: National Institute of Health, USA
Laufzeit: 01.11.2002–31.12.2003

Laboratory of Physiology of Energy Metabolism

Head: Prof. Dr. Susanne Klaus

Summary Our group investigates the role of energy metabolism in the development of obesity with special focus on macronutrients but also on other food compounds and their function in energy balance. We use different rodent models (rats, mice including transgenic mice) but also conduct human studies. Central questions we want to answer are: What are the mechanisms that regulate body weight and energy balance? How do food compounds affect the physiological and molecular mechanisms of body weight regulation? Finding answers to these questions should help to develop efficient approaches to obesity prevention and therapy. Here we present two selected projects. The first project demonstrates gender differences in body-weight regulation in normal mice. In the second project, we investigated the effect of macronutrient choice diets on energy metabolism in obese mice.

Gender dimorphism of body mass perception and regulation in mice

According to the set-point hypothesis of body mass regulation, changes in body mass are perceived by the body, leading to activation of compensatory feedback mechanisms which in turn restore the set-point body mass. However, this theory is still under debate. To test if weight *per se* might be sensed and regulated, we implanted weights corresponding to 10% (HI) or 2% (LO, control) of body mass into mice; in addition, sham operations were done (SO). We recorded body mass, food intake, energy expenditure, and body composition over 14 weeks. Both male and female mice showed an initial stress-induced loss of body mass which was more pronounced in males. Subsequently, male HI mice displayed a decreased biological body mass (BBM, body mass exclusive of the implant mass) equivalent to approximately half of the implant mass (Fig. 1), due to a decrease in fat mass compared to SO males. In contrast, female HI mice rapidly recovered and maintained their initial BBM and body composition following weight implantation. Initial lean body mass was maintained in all male and female groups, and energy intake was similar in all male and female groups. Body mass changes could not be explained by measurable

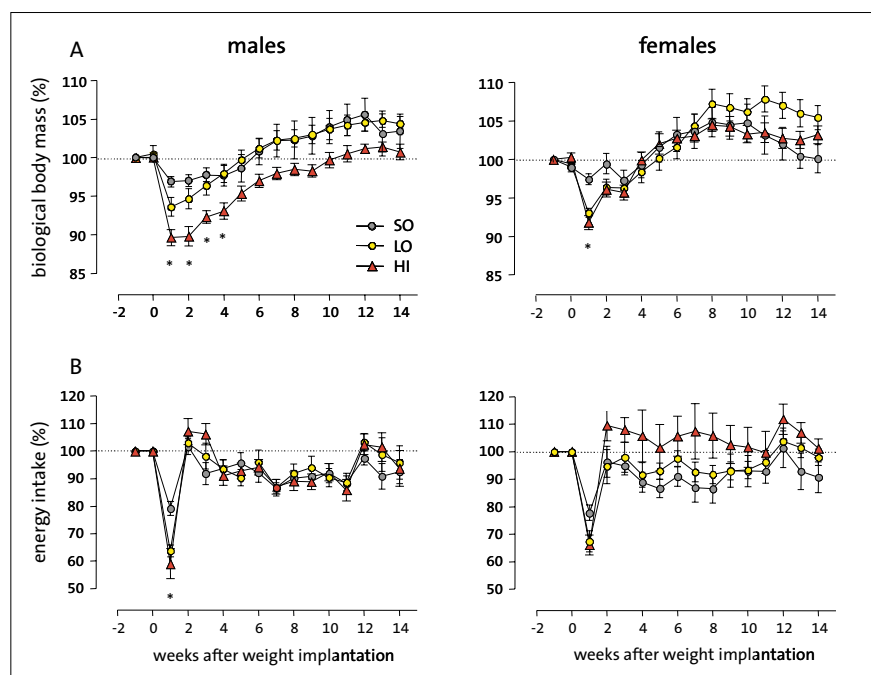
1 Changes in biological body mass (A), and energy intake (B) after implantation of weights into male and female mice. SO: sham operated mice; LO: implants corresponding to 2% of body weight; HI: implants corresponding to 10% of body weight.

Zusammenfassung Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der Rolle des Energiestoffwechsels bei der Entwicklung von Adipositas (krankhaftes Übergewicht) mit besonderem Schwerpunkt auf die Funktion der Makronährstoffe (Protein, Kohlenhydrat, Fett), aber auch bestimmter Nahrungsinhaltsstoffe im Energiehaushalt. Dies wird hauptsächlich an verschiedenen Nagern (Ratte, Maus), aber auch in humanexperimentellen Studien untersucht. Die zentralen Fragen, die wir beantworten wollen, sind folgende: Welche Mechanismen regulieren das Körpergewicht und die Energiebilanz? Wie beeinflussen die Makronährstoffe und andere Nahrungskomponenten die physiologischen und molekularen Mechanismen der Körpergewichtsregulation? Die Beantwortung dieser Fragen soll es ermöglichen, effiziente Ansätze zur Therapie und Prävention von Adipositas zu entwickeln. Im Folgenden werden zwei ausgewählte Projekte vorgestellt, die an Tiermodellen Geschlechtsunterschiede bei der Körpergewichtsregulation zeigen und die Auswirkung verschiedener Diäten auf den Energiestoffwechsel untersuchen.

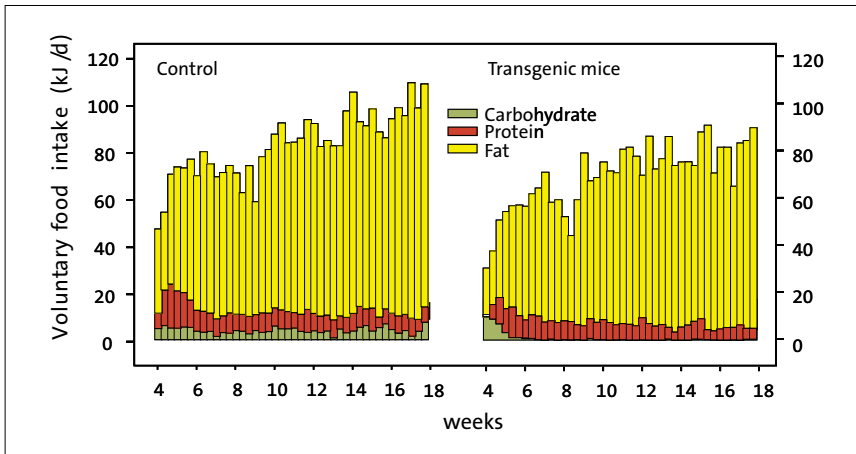
Geschlechtsunterschiede bei der Körpergewichtsregulation

Petra Wiedmer, Michael Boschmann, Susanne Klaus

Die „Set-point“-Hypothese der Körpergewichtsregulation nimmt an, dass jeder Organismus eine individuell festgelegte Körpermasse hat, die bei geringfügiger Abweichung wieder bis zum ursprünglichen Betrag ausgeglichen wird. Die stetige Zunahme von Übergewicht und Adipositas vor allem in den industrialisierten Ländern zeigt jedoch, dass dieses einfache Prinzip bei vielen Menschen nicht zu funktionieren scheint. Um die „Set-Point“-Hypothese zu testen, haben wir daher in einem tierexperimentellen Ansatz das Körpergewicht von Mäusen künstlich erhöht. Dazu wurden männlichen und weiblichen Mäusen Gewichte identischen Volumens in die Bauchhöhle implantiert. Die Gewichte betragen 2% (LO) oder 10% (HI) der Körpermasse; zusätzlich wurde eine Schein-OP durchgeführt (SO). Über einen Zeitraum von 14 Wochen wurden die Körpergewichtsentwicklung und die Nahrungsaufnahme aufgezeichnet. Zusätzlich wurde jeweils 2 Wochen vor sowie 2 und 12 Wochen nach der Implantation der Energieumsatz über 24h gemessen und die Körperzusammensetzung vor Implantation und 14 Wochen nach Implantation bestimmt. Wir gingen dabei von der Hypothese aus, dass, falls das Körpergewicht an sich reguliert wird, nach Gewichtsimplantation die biologische Körpermasse kompensatorisch reduziert werden müsste.



1 Änderungen in der biologischen Körpermasse (A) und Futteraufnahme (B) nach Implantation von Gewichten zur künstlichen Erhöhung der Körpermasse. SO: Schein-operierte Mäuse; LO: Implantate von 2% des Körpergewichts; HI: Implantate von 10% des Körpergewichts.



▣ Auswahl und Verzehr der Makronährstoffe von Kontrollmäusen und transgenen Mäusen bei einer Makronährstoff-Wahldiät.

Es zeigte sich, dass bedingt durch den Operations-Stress alle Gruppen innerhalb der ersten Woche an Masse abgenommen haben, wobei bei den Männchen die Abnahme proportional zum Gewicht des Implantates war, während HI-Weibchen keine höhere Gewichtsabnahme zeigten als LO. Nach etwa 2 Wochen erholte sich das Körpergewicht und nach etwa 4 Wochen hatten die männlichen LO das Gewicht der SO wieder erreicht. Anders war es bei den HI-Männchen, die konstant eine niedrigere biologische Körpermasse bewahrten, die im Schnitt 4% unter der SO-Gruppe lag, d.h. etwa die Hälfte des implantierten Gewichts ausmachte (Abb. 11). Diese Körpermassenreduktion geschah auf Kosten des Körperfettgehalts, während die fettfreie Masse nach 14 Wochen nicht verändert war. Bei den Weibchen zeigten sich andere Ergebnisse: zu keinem Zeitpunkt kam es zu einer Kompensation des implantierten Gewichtes und auch die Regeneration des Körpergewichts nach dem anfänglichen Operations-Stress erfolgte deutlich schneller als bei den Männchen. Auch die Körperzusammensetzung war nicht verändert. Bei der Nahrungsaufnahme zeigten sich ebenfalls geschlechtsspezifische Unterschiede. Obwohl beide Geschlechter die Nahrungsaufnahme in der ersten Woche nach der Operation reduzierten, war diese Reduktion bei den männlichen LO und HI Mäusen deutlicher ausgeprägt als bei den Weibchen. Dagegen zeigten die HI Weibchen nach der ersten Woche tendenziell eine Erhöhung der Nahrungsaufnahme. Der Energieumsatz war bei beiden, Männchen und Weibchen, 2 Wochen nach Implantation tendenziell erhöht, nach 14 Wochen jedoch war diese Erhöhung nur noch bei den Weibchen sichtbar. Die bisherigen Ergebnisse sprechen eher gegen die „Set-Point“-Hypothese, zumindest für weibliche Tiere. Es scheint vielmehr, dass die verschiedenen Kompartimente der Kör-

permasse (Fettmasse und fettfreie Masse) unterschiedlich wahrgenommen und reguliert werden, wobei sich zudem deutliche Geschlechtsunterschiede zeigen.

Eine Makronährstoff-Wahldiät beeinflusst den Energie- und Glukosestoffwechsel von adipösen transgenen Mäusen

Sylvia Ortmann, Julia Prinzler, Susanne Klaus

Hier untersuchten wir transgene Mäuse, die ein weitgehend ausgeschaltetes braunes Fettgewebe haben und die Adipositas und Diabetes entwickeln, insbesondere bei Fütterung einer fettreichen Diät. Daher werden sie als Tiermodell für humane Adipositas und Insulinresistenz genutzt. Es ist bisher nicht klar, ob die Adipositasentwicklung dieser Mäuse auf einer Hyperphagie (übermäßige Nahrungszufuhr) beruht. In der Regel erhalten Mäuse im Labor eine definierte Diät und die Futteraufnahme kann durch die Präferenz für bzw. Abneigung gegen spezifische Inhaltsstoffe beeinflusst werden. Verschiedene Makronährstoff-Präferenzen können so das Fressverhalten beeinflussen. Es gibt auch Hinweise darauf, dass Mäuse und Ratten in der Lage sind, eine Diät auszuwählen, die vorteilhaft für sie ist. Es ist daher möglich, dass die transgenen Mäuse bei freier Auswahl der verschiedenen Makronährstoffe eine Nahrungszusammenstellung wählen, die für sie vorteilhaft ist im Hinblick auf die Entwicklung von Adipositas und Diabetes.

Ziel dieser Studie war daher, die Nahrungsauswahl bei einer Makronährstoff-Wahldiät zu charakterisieren und den Effekt dieser Nahrungswahl auf den Energiestoffwechsel und die Diabetesentwicklung zu untersuchen. Dazu erhielten transgene Mäuse und Kontrollmäuse eine semisynthetische Makronährstoff-Wahldiät bis zum Alter von 18 Wochen. Analysiert wurden die Energiehomö-

▣ Voluntary macronutrient intake by wild-type (left plot) and transgenic mice (right plot) as a function of time.

changes in energy intake or energy expenditure. We conclude that changes in body mass are perceived and partially compensated in male but not in female mice, suggesting that mass-specific regulation of body mass might not play a major role in overall body mass regulation. Different compartments of the body are possibly regulated by different signals and stimuli. Our results suggest that lean body mass rather than body mass *per se* seems to be tightly regulated. Higher efficiency of energy utilization in females compared to males could explain gender-specific changes in energy balance.

Self-selected macronutrient diet affects energy and glucose metabolism in obese transgenic mice

Here we investigated transgenic mice with a largely ablated brown adipose tissue (BAT) that develop obesity and diabetes, especially on a high fat diet. They are therefore used as an animal model for human obesity and insulin resistance. It is not yet clear if the development of obesity in these mice is due to hyperphagia. In normal animal maintenance, mice are provided with just one defined diet. Total food intake might therefore be influenced by preference for and/or dislike of one or several food components within this diet. Different macronutrient preferences for example might influence ingestive behavior in mice. There is also evidence that mice and rats are able to select a diet that is beneficial to their health. Thus, it is conceivable that transgenic mice given a choice of macronutrients might select a diet that is beneficial with respect to the development of obesity and/or diabetes.

The aim of the present study was therefore to analyze macronutrient self-selection of transgenic mice from weaning to adulthood, and to investigate the effect of a chronic choice diet regime on energy metabolism and the development of obesity and diabetes in this animal model. Transgenic and wild-type (WT) littermates were fed a semisynthetic macronutrient choice diet (CD) *ad libitum* from weaning until 18 weeks of age. Energy homeostasis was assessed by measurement of food intake, food digestibility, body composition, and energy expenditure. Diabetes was assessed by blood glucose measurements and insulin-tolerance tests.

WT and transgenic mice showed a high fat

Ph.D. student preparing RNA from tissue samples.

preference and increased energy digestion on CD compared to a low-fat standard diet (SD). On CD, WT mice accumulated less body fat (17%) than transgenic mice (33%) although they had a higher overall energy intake. Compared to WT mice, resting metabolic rate was reduced in transgenic mice irrespective of diet. Transgenic mice progressively decreased their carbohydrate intake, resulting in an almost complete avoidance of carbohydrates (Fig. 2). Transgenic mice developed severe insulin resistance but showed decreased fed and fasted blood glucose on CD. In contrast to WT mice, transgenic mice were not able to reduce their weight gain efficiency on CD. This suggests that due to the high fat preference of the background strain and the increased metabolic efficiency, BAT-deficient mice still develop obesity and insulin resistance on a macronutrient-choice diet even when decreasing overall energy intake. By avoiding carbohydrates, however, they were able to maintain normoglycemia despite their insulin resistance.



Doktorandin bei der Extraktion von RNA aus Gewebeproben.

ostase und die Körperzusammensetzung, sowie Blutglucose und Insulinsensitivität (Insulin-Toleranz-Test).

Kontrollmäuse und transgene Mäuse zeigten eine hohe Fettpräferenz und hatten eine erhöhte Energieaufnahme bei der Wahldiät im Vergleich zu einer fettarmen Standarddiät. Kontrollmäuse hatten weniger Körperfett (17%) als transgene Mäuse (33%), obwohl sie mehr fraßen. Dies zeigt deutlich, dass die Adipositasentwicklung der transgenen Mäuse nicht auf einer Hyperphagie beruht. Die transgenen Mäuse hatten im Vergleich zu den Kontrolltieren einen verminderten Ruheumsatz unabhängig von der Diät. Zudem verringerten sie sukzessiv die Aufnahme von Kohlenhydraten bis zu einer

fast kompletten Vermeidung von Kohlenhydraten (Abb. 2). Sie entwickelten eine ausgeprägte Insulinresistenz, zeigten aber reduzierte Blutglucosespiegel. Im Unterschied zu den Kontrollen waren transgene Mäuse offensichtlich nicht fähig, die Energieeffizienz bei der Wahldiät zu verringern. Durch die Vermeidung von Kohlenhydraten waren sie jedoch in der Lage, normale Blutglucosespiegel aufrecht zu erhalten trotz einer Insulinresistenz.

Technische Mitarbeiterinnen

Petra Albrecht
Carola Plaue
Karin Schaller
Antje Sylvester

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Originalarbeiten/Original Papers

Bos, C., Metges, C.C., Gaudichon, C., Petzke, K.J., Pueyo, M.E., Morens, C., Everwand, J., Benamouzig, R., Tome, D.: Postprandial kinetics of dietary amino acids are the main determinants of their metabolism after soy or milk protein ingestion in humans. *J. Nutr.* 133, 1308-1315 (2003).

Boschmann, M., Jordan, J., Adams, F., Christensen, N.J., Tank, J., Franke, G., Stoffels, M., Sharma, A.M., Luft, F.C., Klaus, S.: Tissue specific responses to interstitial angiotensin II in humans. *Hypertension* 41, 37-41 (2003).

Boschmann, M., Steiniger, J., Hille, U., Tank, J., Adams, F., Sharma, A.M., Klaus, S., Luft, F.C., Jordan, J. Water-induced thermogenesis.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 6015-6019 (2003).

Cota, D., Marsicano, G., Tschöp, M., Grübler, Y., Flachskamm, C., Schubert, M., Auer, D., Yassouridis, A., Thöne-Reineke, C., Ortman, S., Tomassoni, F., Cervino, C., Nisoli, E., Linthorst, A.C.E., Pasquali, R., Lutz, B., Stalla, G.K., Pagotto, U.: The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J. Clin. Invest.* 112, 423-431 (2003).

Freyse, E.J., Giessmann, T., Petzke, K.J., Knospe, S., Engel, G., Heinke, P., Metges, C.C., Siegmund, W.: Effects of fatty acids on hepatic amino acid catabolism and fibrinogen synthesis in young healthy volunteers. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 285, E54-E62 (2003).

Metges, C.C., Lehmann, L., Boeuf, S., Petzke, K.J., Müller, A., Rickert, R., Franke, W., Steinhart, H., Nürnberg, G., Klaus, S.: Cis-9,trans-11 and trans-10,cis-12 CLA affect lipid metabolism differently in primary white and brown adipocytes. *Lipids* 38, 1133-1142 (2003).

Müller, M.J., Bösby-Westphal, A., Klaus, S., Kreyman, G., Lührmann, P.M., Neuhäuser-Berthold, M., Noack, R., Pirke, K.M., Platte, P., Selberg, O., Steiniger, J.: World Health Organization equations have shortcomings for predicting resting energy expenditure in persons from a modern, affluent population: generation of a new reference standard from a retrospective analysis of a German database of resting energy expenditure. *Am. J. Clin. Nutr.* 80, 1379-1390 (2004).

Ortmann, S., Kampe, J., Gossel, M., Bickel, M., Geisen, K., Jähne, G., Lang, H.J., Klaus, S.: The novel anti-obesic HMR1426 reduces food intake without affecting energy expenditure in rats. *Obes. Res.* 12, 1290-1297 (2004).

Ortmann, S., Prinzler, J., Klaus, S.: Self-selected macronutrient diet affects energy and glucose metabolism in brown fat-ablated mice. *Obes. Res.* 11(12), 1536-1544 (2003).

Tang-Christensen, M., Vrang, N., Ortmann, S., Bidlingmaier, M., Horvath, T., Tschöp, M.: Central administration of Ghrelin and agouti-related Protein (AGRP (83-132) increases food intake and decreases spontaneous locomotor activity in rats. *Endocrinology* 145, 4645-4652 (2004).

Tschöp, M., Castañeda, T.R., Joost, H.G., Thöne-Reineke, C., Ortmann, S., Klaus, S., Hagan, M.M., Chandler, P.C., Oswald, K.D., Benoit, S.C., Seeley, R.J., Kinzig, K.P., Moran, T.H., Beck-Sickinger, A.G., Koglin, N., Rodgers, R.J., Blundell, J.E., Ishii, Y., Beattie, A.H., Holch, P., Allison, D.B., Raun, K., Madsen, K., Wulff, B.S., Stidsen, C.E., Birringer, M., Kreuzer, O.J., Schindler, M., Arndt, K., Rudolf, K., Mark, M., Deng, X.Y., Withcomb, D.C., Halem, H., Taylor, J., Dong, J., Datta, R., Culler, M., Craney, S., Flora, D., Smiley, D., Heiman, M.L.: Physiology: does gut hormone PYY3-36 decrease food intake in rodents? *Nature* 430, 165 (2004).

Wiedmer, P., Boschmann, M., Klaus, S.: Gender dimorphism of body weight perception and regulation in mice. *J. Exp. Biol.* 207, 2859-2866 (2004).

Übersichtsarbeiten/Reviews

Klaus, S., Keijer, J.: Gene expression profiling of adipose tissue: individual, depot-dependent, and sex-dependent variabilities. *Nutrition* 20, 115-120 (2004).

Klaus, S.: Adipose tissue as a regulator of energy balance. *Curr. Drug Targets* 5, 241-250 (2004).

Buchbeiträge/Book Articles

Boeuf, S., Klingenspor, M., van Hal, N., Schneider, T., Keijer, J., Klaus, S.: Identification of genes which are differentially expressed in white and brown preadipocytes and analysis of their expression pattern during adipocyte differentiation. In: Medeiros-Neto, G., Halpern, A., Bouchard, C. (eds.) *Progress in Obesity Research* 9. John Libbey Eurotext LTD, United Kingdom, 127-130 (2003).

Drittmittelprojekte External Funding

Pharmakogenetik und Physiologie des beta-2-Adrenozeptors beim Menschen
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.01.2001–31.12.2003

BioProfil Nutrigenomik: Innovationen in Therapiekonzepten des Metabolischen Syndroms, Teilprojekt 2: Einfluss von Diäten auf die Entstehung und Ausprägung des Metabolischen Syndroms in Abhängigkeit von individuellen genetischen Risikoprofilen
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.08.2003–31.07.2006

Einfluss einer Hochprotein-diät unterschiedlicher Proteinqualität während der Schwangerschaft auf die Entwicklung der Föten – Untersuchungen am Rattenmodell
Finanzierung: Danone
Laufzeit: 01.02.2002–01.01.2004

Einfluss von Teecatechin auf die Körperzusammensetzung und Thermogenese am Mausmodell
Finanzierung: Roche Vitamins AG
Laufzeit: 01.06.2003–01.09.2003

Body weight and energy expenditure: functional food and nutrition technology (COST Action 918)
Finanzierung: EU
Laufzeit: 16.07.1998–15.07.2003

Department of Clinical Nutrition

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

Summary The metabolic syndrome describes the coincidence of obesity, hypertension, and disturbances of fat and carbohydrate metabolism. Although the syndrome has a genetic basis, its occurrence predominates in populations with a "western" lifestyle. It is triggered by a positive energy balance, the result of increased energy (caloric) intake associated with reduced energy expenditure. Its major importance with respect to public health-care lies in its being a fundamental risk factor in the development of cardiovascular diseases, certain types of cancer, and type 2 diabetes. In particular the increased number and the severity of the cases appear to be utterly threatening. The department aims to elucidate the mechanisms that play a role in the pathogenesis of these diseases. Focal points of our research are identification of biomarkers and genomic markers for the metabolic syndrome, characterization of the effects of metabolic products, e.g., redox-active compounds, and setting up of metabolomic profiles. These should allow new insights into disease development and, in the future, the early implementation of preventive measures.

Biomarkers and genomic markers for the metabolic syndrome

The major focus of our group concerns a better understanding of behavioral, environmental, nutritional, and genetic causes of the metabolic syndrome. To this end we carry out various studies with volunteers. One of those, Metabolic Syndrome Berlin-Potsdam (MESY-BePo), has nearly 1,000 participants since 2003 and aims to include 5,000 individuals (Fig. 1). Participants are investigated with regard to genetic factors, hormones, cytokines, serum chemistry including a wide range of metabolites, insulin sensitivity, thickness of the intima media of the carotid artery as a marker of atherosclerosis risk, as well as detailed body composition (Fig. 2). Participants receive detailed information on their current health status.

In previous investigations performed in cooperation with Dife's Department of Epidemiology (EPI) in the EPIC-Potsdam Study (27,548 participants), the cytokines interleukin-6 (IL-6) and IL-1 β were identified as predictive parameters for the risk of type 2 diabetes mellitus. Inflammatory markers such as C-reactive protein (CRP) or tumor necrosis factor α (TNF α) were secondary. We subsequently investigated

Zusammenfassung Das Metabolische Syndrom beschreibt das gemeinsame Vorkommen von Übergewicht, Bluthochdruck, Fettstoffwechsel- und Zuckerstoffwechselstörungen. Obwohl es eine genetische Grundlage besitzt, tritt es in Ländern mit „westlichem“ Lebensstil gehäuft auf. Ausgelöst wird das Metabolische Syndrom durch eine positive Energiebilanz, die auf eine erhöhte Kalorienaufnahme und einen gleichzeitig reduzierten Energieverbrauch zurückzuführen ist. Die große gesundheitspolitische Bedeutung dieses Syndroms liegt darin, dass es einen wesentlichen Risikofaktor für die Entstehung, von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, von bestimmten Krebsformen sowie von Typ-2-Diabetes darstellt. Bedrohlich erscheinen in diesem Zusammenhang sowohl die steigende Anzahl als auch die Schwere der Erkrankungsfälle.

Die Abteilung hat sich zum Ziel gesetzt, Mechanismen aufzuklären, die bei der Pathogenese dieser Erkrankungen eine Rolle spielen. Im Fokus unserer Studien stehen die Identifizierung von Bio- und Genmarkern für das Metabolische Syndrom, eine Charakterisierung der Effekte von Stoffwechselprodukten, wie z.B. von redox-aktiven Substanzen, sowie die Erstellung von Stoffwechselprofilen. Diese sollen neue Einblicke in die Krankheitsentstehung gewähren und in Zukunft ein frühzeitiges Einleiten präventiver Strategien ermöglichen.

Bio- und Genmarker für das Metabolische Syndrom

Matthias Möhlig, Natalja Rudovich, Joachim Spranger, Martin Osterhoff, Martin Weickert, Simone Kaiser, Susanne Richter

Die Arbeitsgruppe untersucht Risikokonstellationen für die Entstehung des Metabolischen Syndroms. Die Untersuchungen erfolgen an freiwilligen Probanden, die an verschiedenen Studien teilnehmen. Die Studie „Metabolisches Syndrom Berlin-Potsdam“, abgekürzt MESY-BePo, hat seit 2003 etwa 1.000 Teilnehmer eingeschlossen (Abb. 1). Untersucht werden sowohl genetische Faktoren als auch Hormone, Zytokine, andere Botenstoffe, Eiweißmoleküle, Blutfette und Stoffwechselprodukte (Metaboliten), die Intima-Media-Dicke der Halsschlagader als Maß für das Atheroskleroserisiko, z.T. der Grundumsatz sowie die Körpermaße und der Zuckerstoffwechsel (oraler Glukosetoleranz-Test, oGTT) (Abb. 2). Die Teilnehmer erhalten dadurch selbst auch wertvolle Informationen über ihren Gesundheitszustand.

In vorausgegangenen Untersuchungen in der EPIC-Potsdam-Studie (s. Abteilung Epidemiologie (EPI)) hatten sich die Zytokine Interleukin-6 (IL-6) und IL-1 β als eigenständige Vorhersageparameter für das Auftreten eines Diabetes mellitus erwiesen. Andere Entzündungsparameter wie das Akut-Phase-Protein



1 Participant of the MESY-BePo Study (left).

1 Teilnehmerin der MESY-BePo-Studie (links) im Probanden-Informationsgespräch.



2 Vorbereitung zur Messung des HbA1c-Wertes in Blutproben. Anhand dieses Wertes kann der mittlere Blutzuckerwert für die letzten 2–3 Monate abgeschätzt werden.

(C-reaktives Protein, CRP) und der Tumornekrose-Faktor- α waren nachgeordnet. Diese Biomarker steigen mit dem Body Mass Index (BMI) an und werden durch den Stoffwechsel in nicht genau bekannter Weise reguliert. Die aktuelle Studie untersuchte, ob genetische Einflüsse festzustellen sind. Im Steuerbereich des IL-6-Genes (Promotor) in Position -174 findet sich eine Genvariante, die nach unseren Daten erst bei Übergewicht wirksam wird und zu einem erhöhten Diabetesrisiko führt. Frauen mit erhöhten Androgenspiegeln im Blut und Zyklusstörungen (Polyzystisches Ovar Syndrom, PCOS) haben häufig eine ausgeprägte Insulinresistenz und ein stark erhöhtes Diabetesrisiko. Deshalb untersuchten wir bei 70 Frauen, ob erhöhte Zytokinpiegel und der beschriebene Genpolymorphismus hiermit zusammenhängen. Dies war nicht der Fall, allerdings fand sich eine Assoziation des Polymorphismus mit erhöhten Androgenspiegeln. Erhöhte Entzündungsparameter steigern das Risiko für Herzinfarkt und Schlaganfall. Deshalb untersuchten wir in der MESY-BePo-Studie, ob sich eine Korrelation der IL-6-Spiegel mit der Intima-Media-Dicke der Halsschlagader findet. Dies war bei Patienten mit Typ-2-Diabetes nachweisbar. Die Korrelation bei den Diabetikern blieb auch erhalten, wenn für Alter, Geschlecht und BMI adjustiert wurde, was darauf hinweist, dass IL-6 erst bei Hyperglykämie einen Effekt auf die Atherosklerose hat. In Reporterstudien mit Zellkulturen untersuchten wir, ob Fettsäuren die IL-6-

Genexpression regulieren. Gesättigte Fettsäuren aktivierten den IL-6-Promotor deutlich, während ungesättigte Fettsäuren keinen Einfluss hatten. Dieser Zusammenhang passt gut zu den bekannten nachteiligen Effekten gesättigter Fette. Adiponectin ist ein Fettzellbotenstoff, der nur von weißem Fett produziert wird. Adiponectinspiegel sind bei schlanken Menschen hoch und sinken besonders bei abdominell betonter Adipositas. In Kooperation mit der Abteilung Epidemiologie (EPI) beobachteten wir, dass hohe Spiegel dieses Hormons vor Typ-2-Diabetes schützen. In dem PCO-Kollektiv (s.o.) korrelierten die Adiponectinspiegel mit der aufwändig gemessenen Insulinsensitivität und konnten in einer Regressionsanalyse etwa 19 % der Variation der Insulinsensitivität erklären. Die Adiponectinspiegel waren nach unseren Untersuchungen in der EPIC-Potsdam-Kohorte unabhängig von den Entzündungsmarkern, obwohl Adiponectin antiinflammatorische Eigenschaften hat. Zur Erbllichkeit der Adiponectinproduktion identifizierten wir genetische Varianten, die zu einer höheren Adiponectinkonzentration im Blut führen. Adipositas (krankhaftes Übergewicht) hängt eng mit der Regulation des Appetits zusammen, auf den die Nahrungskomposition Einfluss nimmt. Ghrelin ist ein Hormon, das überwiegend im Magen produziert wird und sowohl das Wachstumshormon als auch den Appetit stimuliert. Im Nüchternzustand steigt es an und fällt nach dem Essen ab.

2 Preparation of the measurement of HbA1c values. The HbA1c test reveals average blood glucose over a period of 2–3 months.

whether genetic polymorphisms in the promoter of IL-6 affect the risk of diabetes. Indeed, a single nucleotide polymorphic variant at position -174 of the promoter modified the risk of type 2 diabetes in persons with an elevated body mass index (BMI). The polycystic ovary syndrome (PCOS), characterized by elevated androgen levels and menstrual abnormalities, is frequently associated with a pronounced insulin resistance. We therefore investigated in 70 women whether elevated cytokines and the -174 polymorphism in the IL-6 promoter play a role in the development of the syndrome. Although body weight was closely associated with IL-6-levels and with CRP in women with PCOS, the IL-6 polymorphism did not affect IL-6 levels. However, it was distinctly associated with elevated androgen levels.

We further investigated in the MESY-BePo Cohort whether IL-6 levels correlate with intima-media thickness. This was indeed the case in patients with type 2 diabetes even after correction for age, sex, and BMI, suggesting that IL-6 affects the hyperglycemia-associated risk of atherosclerosis. Since IL-6 levels were associated with obesity, we investigated its regulation by free fatty acids. Indeed, saturated fatty acids activated the IL-6 promoter, whereas unsaturated fatty acids did not exert this effect. This observation provides a further link of saturated fatty acids to the risk of atherosclerosis.

Adiponectin is exclusively produced by white adipocytes. We previously observed that high levels of adiponectin are protective against type 2 diabetes. In patients with PCOS, adiponectin was closely correlated with insulin sensitivity, and explained approximately 19 % of the variation in insulin sensitivity. Although adiponectin has anti-inflammatory properties, its levels are unrelated to the cytokines IL-6 or IL-1 β , indicating an independent regulation. In connection with the inheritance of adiponectin production, we identified genetic variants that correlate with elevated adiponectin levels in blood. Obesity is closely correlated with the regulation of appetite, which is again affected by the composition of food. Ghrelin is a hormone produced primarily in the stomach and stimulates both growth hormone and appetite. It increases under fasting and decreases upon food intake. We observed a decrease in ghrelin during hyperinsulin-aemic euglycaemic clamps in humans.

Ghrelin was also inhibited by food intake in type 1 diabetic patients in the absence of changes in insulin levels. However, there was no decrease of ghrelin in hyperglycemic hyperinsulinemic clamps, indicating a modification of the insulin effects by glucose. This might be important in the regulation of appetite in diabetic patients. Moreover GIP (gastric inhibitory polypeptide) and arginin did not affect ghrelin secretion during these clamps. We currently are performing investigations on the role of various nutrients on ghrelin secretion in order to unravel the amazingly complex pattern of the regulation of ghrelin. At present, we are searching for single nucleotide polymorphisms (SNP) that are associated with the metabolic syndrome, as part of the Nutrigenomics project of BioProfiles in Brandenburg. Polymorphisms in candidate genes (e.g., *PPARGC1*, *SOD2*, and *PRKCB1*) are being investigated in the EPIC Study and the MESY-BePo Study using a high-throughput polymerase chain reaction (PCR)-based analysis allowing over 400 tests in a few hours. We are also attempting to develop a low-density SNP-Chip in cooperation with the Fraunhofer Institute for Biomedical Technology (F. Bier). Further knowledge in this field would allow an early recognition of health risks and probably help to develop individual preventive strategies based on behavioral and nutritional approaches.

Redox balance and disease risk

Cellular systems employ redox-based signaling mechanisms to monitor the energy state of cells and also to carefully regulate the levels of free radicals or reactive oxygen species (ROS) to avoid toxicity. ROS are very likely involved in diseases such as diabetes mellitus, atherosclerosis, hypertension, several types of cancer, and in neurodegenerative disease. We therefore use the mouse model to gain a more detailed understanding, especially as to prevention of these diseases. For example, the vitamin-E-transport protein, α TTP, and the Friedreich ataxia protein, frataxin, were deleted either in the whole mouse or in specific tissues (conditional knock-out) and studied. A disruption of the frataxin gene exclusively in pancreatic beta cells causes oxidative stress and leads to a progressive loss of beta cells, which resembles patho-

Insulin verursachte einen Ghrelinabfall während hyperinsulinämischer, euglykämischer Clamp-Tests bei Menschen. Zur Frage einer Insulin-unabhängigen Komponente wurde die Mahlzeit-abhängige Ghrelinhemmung bei Typ-1-Diabetes untersucht, wobei ebenfalls ein Abfall des Ghrelins zu beobachten war. Wurden jedoch hyperglykämische hyperinsulinämische Clamp-Tests bei Gesunden durchgeführt, erfolgte kein Abfall der Ghrelinkonzentration im Blut trotz hoher Insulinspiegel. Dies könnte bei der Appetitregulation von Diabetespatienten eine Rolle spielen. Wir beobachteten zudem, dass das Inkretinhormon GIP oder die Aminosäure Arginin die Ghrelinsekretion nicht regulieren. Weitere Untersuchungen zum Einfluss verschiedener Nahrungskomponenten auf die Ghrelinsekretion zeigen ein erstaunlich komplexes Muster, das auf weitere Ghrelinfunktionen hinweist.

Im Rahmen des Bioprofile Nutrigenomforschungsprojektes wird nach *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP) in Genen gesucht, die bei der Ausbildung des Metabolischen Syndroms mitwirken. Ob ausgewählte Polymorphisms (z.B. bei Genen wie *PPARGC1*, *SOD2*, *PRKCB1* etc.) mit Diabetes oder Adipositas korrelieren, wurde in der EPIC-Studie und der MESY-BePo-Studie getestet.

Zur Detektion der SNPs wurde ein Analyseverfahren etabliert, das auf einem Polymerase-Kettenreaktion (PCR)-Hochdurchsatzverfahren basiert. Mit diesem können knapp 400 SNP-Untersuchungen innerhalb

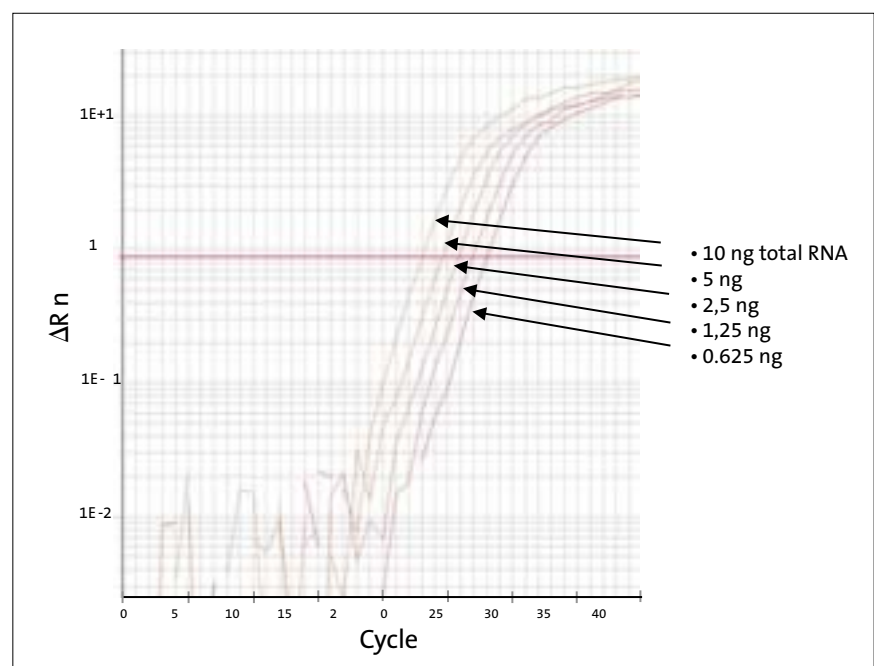
weniger Stunden durchgeführt werden. In Zusammenarbeit mit dem benachbarten Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik (F. Bier) entwickeln wir parallel einen *low density* SNP-Chip, mit dem wir Hunderte von SNPs in einem Schritt analysieren können. Anhand des Polymorphismen-Musters eines Menschen kann in Zukunft voraussichtlich ein Gesundheitsrisiko frühzeitig erkannt werden. Das Wissen um ein solches Risiko könnte man nutzen, um individuelle Präventionsstrategien zu entwickeln.

Mechanismen der Krankheitsentstehung durch Alterationen der Redox – Balance

Michael Ristow, Doreen Pomplun, Tim Schulz

Zelluläre Systeme weisen eine präzise Regulierung von oxidierten und reduzierten Äquivalenten auf, die der intrazellulären Signaltransduktion sowie der Detoxifizierung von metabolischen Nebenprodukten (freien Radikalen oder *reactive oxygen species*, ROS) dienen. ROS sind bei der Entstehung von zahlreichen Krebsformen, Diabetes mellitus, Arteriosklerose, Bluthochdruck und Neurodegeneration beteiligt.

Die Arbeitsgruppe Redox beschäftigt sich mit der Entwicklung von Mausmodellen, die das Studium und insbesondere die Prävention der o.g. Krankheiten ermöglichen soll. Im Einzelnen wurden Gene der Maus, denen eine Funktion in der Regulation des Redox-Systems zugeschrieben wurde (Vitamin E – Transporter Protein *TTP*, Friedreich Ataxie Protein *Frataxin*), zum Teil auch gewebsspezi-



RT-PCR (Reverse Transkription-Polymerase-Kettenreaktion) von ECHS1 (mitochondriale Enoyl-Coenzyme A-Hydratase); es wurden unterschiedliche Gesamt-RNA-Konzentrationen aus humanem Fettgewebe verwendet. ΔR_n (gemessene Fluoreszenzintensität nach Abzug des Hintergrundes)

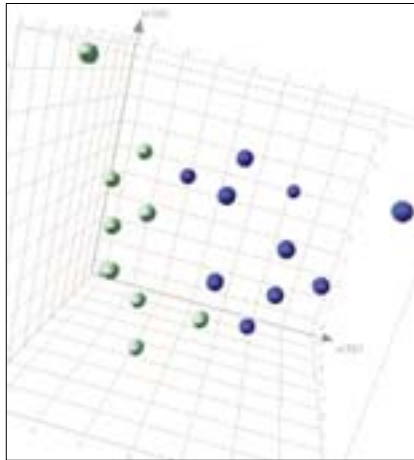
RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) of ECHS1 (mitochondrial enoyl coenzyme A hydratase) of different total RNA-concentrations from human adipose tissue. ΔR_n (fluorescence intensity above the background)

fisch inaktiviert, und dienen so der Evaluierung der Pathogenese und präventiven Therapie einer Redox-Imbalance im physiologischen Modell. So erzeugt beispielsweise die Unterbrechung des Frataxin-Gens ausschließlich in pankreatischen Betazellen der Maus einen stetig progredienten Diabetes mellitus durch Verlust der Inselzellen, der einen pathogenetisch dem Typ-2-Diabetes des Menschen ähnlichen Phänotyp darstellt. Parallel zu diesen Forschungen am Tiermodell werden in der klinischen Ambulanz unserer Abteilung am DIfE sowie auf der Stoffwechselstation „Siegfried Tannhauser“ am Universitätsklinikum, Campus Benjamin Franklin in Berlin-Steglitz, Untersuchungen zur Entstehung von oxidativem Stress im Menschen durchgeführt. Hierbei werden freie Radikale durch kurze Anstiege des Blutzuckers sowie freie Fettsäuren durch Aktivierung des metabolischen Umsatzes gebildet, welche letztlich eine Dekompensation des Stoffwechselsystems im Menschen verursachen.

Metabolomik – Studien

Joachim Spranger, Uta Wegewitz, Thomas Bobbert, Isabel Göhring

Im Stoffwechsel werden viele kleine Metabolite wie Kohlenhydrate, Fettsäuren, Steroide, Aminosäuren, Nukleotide u.a. durch Enzyme gebildet. Sie konnten bisher nur vereinzelt nachgewiesen werden. Mit der Metabolomik wurden massenspektrometrische Techniken entwickelt, die eine umfangreiche Analytik von Hunderten solcher Metabolite im Hochdurchsatzverfahren erlauben. In einem Kooperationsprojekt mit dem Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzen-genetik in Golm/Potsdam und der Firma Metanomics/Berlin passen wir diese aus der Pflanzenanalytik stammenden Techniken auf menschliche Gewebe und Blutplasma an. In ersten Untersuchungen gelang die Identifi-



❏ Prinzipielle Komponenten-Analyse von Metabolitenmustern in Patienten mit Typ-2-Diabetes (blaue Kugeln) und Kontrollen (grüne Kugeln). Die Unterscheidung basiert im Wesentlichen auf 32 Metaboliten, die in einer Diskriminanzanalyse identifiziert wurden. Die Studie wurde in Kooperation mit Metanomics und dem Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie (L. Willmitzer) durchgeführt.

fikation eines spezifischen Metaboliten-musters bei Diabetespatienten (Abb. ❏). Aus diesen Erkenntnissen erwarten wir nicht nur neue Einblicke in die Krankheitsentstehung, sondern auch die Möglichkeit, bereits frühzeitig ungünstige Stoffwechselprofile erkennen und daraus Präventionsstrategien ableiten zu können.

Technische Mitarbeiterinnen

Melanie Hannemann
Sandra Grosch
Susann Richter
Farideh Salami-Shojaie
Kristin Simon
Katrin Sprengel
Andrea Stempel
Andrea Ziegenhorn

❏ Principal component analysis of plasma metabolite patterns of humans with type 2 diabetes (blue balls) and controls (green balls). The separation is based on 32 metabolites identified in a discriminant analysis. The study was performed in cooperation with Metanomics and the Max-Planck Institute of Molecular Plant Physiology (L. Willmitzer).

genetically the phenotype similar to type 2 diabetes in men. Disruption of the same gene in liver tissue induces the formation of tumors which is related to massively increased oxidative stress due to the inactivation of mitochondrial enzymes containing iron-sulfur clusters. Concomitant with research in animal models, further investigations in humans are being performed at the outpatients' department at DIfE and the *Siegfried Tannhauser* metabolic ward of the University Clinic/Benjamin Franklin Campus in Berlin in order to understand the association between elevated blood sugar and free fatty acids and the generation of radicals and their impact on metabolic disturbances.

Metabolomics in human blood

Metabolism involves the enzymatic and hormonal regulation of thousands of metabolites, which are now accessible to investigation by means of high-resolution metabolomic techniques based on mass spectrometry. In a cooperative project together with the Max-Planck Institute for Molecular Genetics of Plants in Golm/Potsdam and Metanomics in Berlin, we are adapting these techniques, initially optimized for use in plant analytics, to human tissues and plasma. After the techniques had been adapted, it was possible to identify a specific metabolite pattern in diabetes patients (Fig. ❏). These studies require an extensive metabolic-network analysis and aim to identify metabolic patterns associated with health and with specific diseases. A more detailed knowledge should allow the early identification of unfavorable metabolic profiles in order to develop preventive strategies.

Drittmittelprojekte

External Funding

Gewebsspezifische Inaktivierung von Frataxin, einem mitochondrialen Regulator des oxidativen Energiestoffwechsels
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.04.2001–30.06.2005

BioProfil Nutrigenomik: Metabolomics in mammalischen Systemen
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.08.2003–31.07.2006

BioProfil Nutrigenomik: Metabolic and Genetic Profiles (MGP) Teilprojekt: Aufbau und Charakterisierung einer Kohorte (gemeinsam mit IVS)
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.09.2003–31.08.2006

Prävention der Tumorinduktion durch das Friedreich Ataxie-Protein Frataxin
Finanzierung: Wilhelm-Sander-Stiftung
Laufzeit: 01.01.2003–28.01.2005

Dominant-negative Inaktivierung eines Regulators des nicht-oxidativen Glukosestoffwechsels im transgenen Tiermodell
Finanzierung: Fritz-Thyssen-Stiftung
Laufzeit: 01.01.2002–01.05.2004

Role of local cortisone-cortisol shuttle in lipid-induced insulin resistance and in PPAR-gamma mediated insulin sensitivity *in vivo* in humans
Finanzierung: Eli Lilly International Foundation
Laufzeit: 01.07.2004–30.06.2006

Investigation of PKC-dependent regulation of Pigment-Epithelium-Derived Factor (PEDF)
Finanzierung: Eli Lilly Foundation
Laufzeit: 01.06.2001–30.06.2003

Mechanismen der Acarbose-Wirkung auf den Stoffwechsel und das kardiovaskuläre Risiko
Finanzierung: Bayer Vital GmbH
Laufzeit: 01.01.2004–31.07.2005

Untersuchung der Wirkung von Hafer- und Apfelfasern auf glykämische und insulinämische Indizes sowie auf Fermentationsprozesse im Dickdarm
Finanzierung: Rettenmaier und Söhne GmbH
Laufzeit: 01.03.2004–30.09.2004

Regulieren Fettsäuren den IL-6 Spiegel abhängig von einem Polymorphismus im IL-6 Promotor?
Finanzierung: DDG
Laufzeit: 01.04.2003–31.12.2005

Ausgewählte Publikationen

Selected Publications

Originalarbeiten/ Original Papers

Engeli, S., Feldpausch, M., Gorzelniak, K., Hartwig, F., Heintze, U., Janke, J., Möhlig, M., Pfeiffer, A.F., Luft, F.C., Sharma, A.M.: Association between adiponectin and mediators of inflammation in obese women. *Diabetes* 52, 942-947 (2003).

Fahrman, M., Kaufhold, M., Pfeiffer, A.F., Seidler, U.: Protein kinase C-alpha attenuates cholinergically stimulated gastric acid secretion of rabbit parietal cells. *Brit. J. Pharmacol.* 139, 545-554 (2003).

Grossmann, C., Scholz, T., Rochel, M., Bumke-Vogt, C., Oelkers, W., Pfeiffer, A.F., Diederich, S., Bähr, V.: Transactivation via the human glucocorticoid and mineralocorticoid receptor by therapeutically used steroids in CV-1 cells: a comparison of their glucocorticoid and mineralocorticoid properties, *Eur. J. Endocrinol.* 151, 397-406 (2004).

Kopp, R., Rothbauer, E., Mueller, E., Schildberg, F.W., Jauch, K.W., Pfeiffer, A.: Reduced survival of rectal cancer patients with increased tumor epidermal growth factor receptor levels. *Dis. Colon Rectum* 46, 1391-1399 (2003).

Möhlig, M., Boeing, H., Spranger, J., Osterhoff, M., Kroke, A., Fisher, E., Bergmann, M.M., Ristow, M., Hoffmann, K., Pfeiffer, A.F.H.: Body mass index and C-174G interleukin-6 promoter polymorphism interact in predicting type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89, 1885-1890 (2004).

Möhlig, M., Spranger, J., Osterhoff, M., Ristow, M., Pfeiffer, A.F., Schill, T., Schlosser, H.W., Brabant, G., Schofl, C.: The polycystic ovary syndrome per se is not associated with increased chronic inflammation. *Eur. J. Endocrinol.* 150, 525-532 (2004).

Norris, A.W., Chen, L., Fisher, S.J., Szanto, I., Ristow, M., Jozsi, A.C., Hirshman, M.F., Rosen, E.D., Goodyear, L.J., Gonzalez, F.J., Spiegelman, B.M., Kahn, C.R.: Muscle-specific PPARgamma-deficient mice develop increased adiposity and insulin resistance but respond to thiazolidinediones. *J. Clin. Invest.* 112, 608-618 (2003).

Osterhoff, M., Möhlig, M., Schwanstecher, M., Seufert, J., Ortman, J., Schatz, H., Pfeiffer, A.F.: Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II delta(2) regulates gene expression of insulin in INS-1 rat insulinoma cells. *Cell Calcium* 33, 175-184 (2003).

Pomplun, D., Möhlig, M., Spranger, J., Pfeiffer, A.F.H., Ristow, M.: Elevation of blood glucose following anaesthetic treatment in C57BL/6 mice. *Horm. Metab. Res.* 36, 67-69 (2004).

Ristow, M., Mulder, H., Pomplun, D., Schulz, T.J., Müller-Schmehl, K., Krause, A., Fex, M., Puccio, H., Müller, J., Isken, F., Spranger, J., Müller-Wieland, D., Magnuson, M.A., Möhlig, M., Koenig, M., Pfeiffer, A.F.H.: Frataxin deficiency in pancreatic islets causes diabetes due to loss of beta-cell mass. *J. Clin. Invest.* 112, 527-534 (2003).

Rudovich, N.N., Leyck Dieken, M.G., Rochlitz, H., Pfeiffer, A.F.: Enhancement of early- and late-phase insulin secretion and insulin sensitivity by the combination of repaglinide and metformin in type 2 diabetes mellitus. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 112, 395-400 (2004).

Rudovich, N.N., Rochlitz, H.J., Pfeiffer, A.F.: Reduced hepatic insulin extraction in response to gastric inhibitory polypeptide (GIP) compensates for reduced insulin secretion in normal weight and normal glucose tolerant first degree relatives of type 2 diabetes mellitus patients, *Diabetes* 53, 2359-2365 (2004).

Spranger, J., Kroke, A., Möhlig, M., Bergmann, M.M., Ristow, M., Boeing, H., Pfeiffer, A.F.H.: Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 361, 226-228 (2003) (Erratum: *Lancet* 361, 1060).

Spranger, J., Kroke, A., Möhlig, M., Hoffmann, K., Bergmann, M.M., Ristow, M., Boeing, H., Pfeiffer, A.F.H.: Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam study. *Diabetes* 52, 812-817 (2003).

Spranger, J., Ristow, M., Otto, B., Heldwein, W., Tschöp, M., Pfeiffer, A.F.H., Möhlig, M.: Postprandial decrease of human plasma ghrelin in the absence of insulin. *J. Endocrinol. Invest.* 26, RC19-RC22 (2003).

Zusammenfassung Um den Einfluss der Ernährung auf die Gesundheit zu untersuchen, sind Studien am Menschen unumgänglich. In experimentellen Studien, sog. Interventionsstudien, werden ausgewählte Personen gebeten, über einen gewissen Zeitraum vorgegebene Kostformen zu verzehren und deren Effekt auf funktionelle, physiologische, biochemische Zielgrößen bestimmen zu lassen. Ziel der Abteilung ist es, den Einfluss bestimmter Nahrungsbestandteile auf das Entstehen ernährungsassoziierter Krankheiten, wie das Metabolische Syndrom, charakterisiert durch Adipositas (extremes Übergewicht), Insulinresistenz und Fettstoffwechselstörungen, sowie Herz-Kreislauf-Erkrankungen zu untersuchen. So wurde die kurzfristige Wirkung von löslichen (Arabinoxylan aus Weizen) und unlöslichen (aus Johannisbrot) Ballaststoffen auf die Regulation des Lipid- und Kohlenhydratstoffwechsels geprüft. Weitere Studien widmeten sich der Frage, welche Bedeutung phenolische Pflanzeninhaltsstoffe für die Senkung des kardiovaskulären Risikos besitzen. Begleitend zu diesen Vorhaben optimierte die Abteilung mehrere Messmethoden wie die Bestimmung des Körperfettgehalts, der Energie- und Nährstoffaufnahme sowie der körperlichen Aktivität.

Effekt von Arabinoxylan auf den postprandialen Kohlenhydratstoffwechsel

Jochen Steiniger, Christiana Hanisch, Corinna Koebnick

Hohe Blutzuckerwerte nach Mahlzeiten gelten als eine mögliche Ursache von Typ-2-Diabetes, Atherosklerose und Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Bestimmte lösliche Ballaststoffe vermögen solche Blutzuckerspitzen zu dämpfen. In Kooperation mit der Abteilung Klinische Ernährung (KLE) des DIfE und dem Institut für Lebensmitteltechnologie der TU Berlin (F. Meuser) untersuchen wir die Wirkung von Arabinoxylan, einem wasserlöslichen Ballaststoff, der bei der Herstellung von Weizenstärke isoliert wird. Ziel ist zu prüfen, ob sich Arabinoxylan in funktionellen Lebensmitteln (functional food) zur Senkung des Diabetes- und Atheroskleroserisikos eignet. An 15 stoffwechselgesunden Probanden wurden isoenergetische Frühstücksmahlzeiten ohne und mit Zusatz von 6 g Arabinoxylan verabreicht. Im Vergleich zu den Kontrollpersonen wiesen Probanden, die das Arabinoxylan-Frühstück verzehrt hatten, nach 1 h einen signifikant niedrigeren Insulinspiegel ($p < 0,05$) und eine tendenziell verminderte Glucosekonzentration im Blut auf (Abb. 1). Der postprandiale Spiegel des hungerauslösenden Hormons Ghrelin fiel nach dem Kontrollfrühstück stärker ab als nach der Arabinoxylan-Mahlzeit ($p < 0,006$). Der Ballaststoff scheint sich also auf die Hunger-Sättigungs-Regulation auszuwirken. Der langfristigen Wirkung von Arabinoxylan gehen wir in einer 18-wöchigen Interventionsstudie (doppelblind, placebokontrolliert, cross-over) an Patienten mit beginnender Störung der Glucoseverwertung nach. Nüchtern bzw. nach einer standardisierten

Summary To get a better insight into the relation between diet and health, human intervention studies are mandatory. For these studies, volunteers – healthy subjects or patients in a pre-clinical state – are asked to consume specified diets and to comply with measurement of functional, physiological, and biochemical parameters. The scientific interest of the department focuses on the effect of food components on the genesis and prevention of the metabolic syndrome, especially obesity, type 2 diabetes, and hyperlipidemia. Thus, the effect of soluble (arabinoxylan from wheat) and insoluble (from locust bean) dietary fiber on the lipid and carbohydrate metabolism has been investigated. Further studies elucidated the importance of plant phenolics for lowering the risk of cardiovascular diseases. Moreover, we further optimized our methodology by improving the assessment of body-fat content, energy and nutrient consumption, and physical activity.

Effects of arabinoxylan on the postprandial glucose metabolism

High postprandial blood glucose concentrations are considered to be a causative factor of type 2 diabetes, atherosclerosis, and cardiovascular diseases. Soluble dietary fiber is known to attenuate blood-sugar peaks. In cooperation with the Department of Clinical Nutrition (KLE) of DIfE and the Institute of Food Technology of the Technical University of Berlin (F. Meuser), we are investigating the metabolic effect of arabinoxylan, a soluble fiber isolated from wheat-starch process water. The study's objective is to find out whether arabinoxylan may be integrated into functional foods to lower the risk of diabetes and atherosclerosis.

In a first study, 15 healthy subjects consumed isoenergetic breakfast meals with or without 6 g of arabinoxylan. After consumption of the arabinoxylan meal, the rise in the postprandial serum-glucose level was slightly lower than after consumption of the control meal (Fig. 1). Furthermore, the 1 h postprandial insulin level was significantly lower ($p < 0.05$). After the control diet, the decline in the level of the orexigenic hormone ghrelin was higher than after the arabinoxylan meal ($p < 0.006$). Obviously, this type of dietary fiber has an effect on the hunger and satiety regulation. To investigate the long-term effects of arabinoxylan consumption, patients with impaired glucose tolerance participate in a double-blind, placebo-controlled, cross-over



1 Blutentnahme und Probenaufbereitung.



1 Blood sampling and processing.

2 Postprandial changes in serum levels of glucose, insulin, and ghrelin (mean \pm standard error (SE); n = 15); * p < 0.05

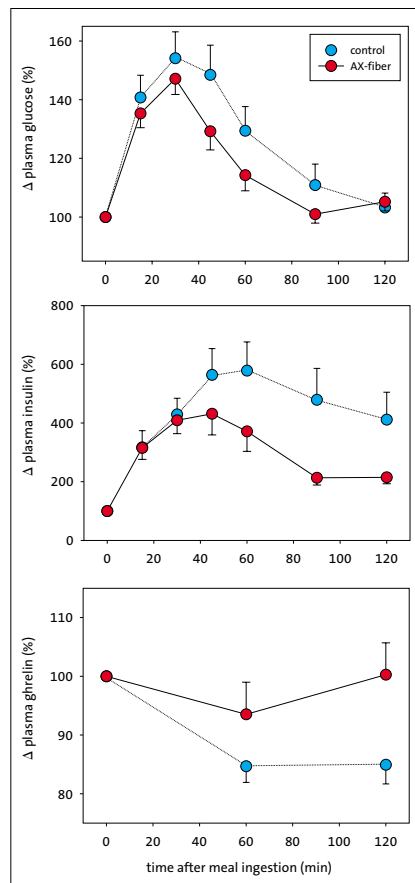
intervention study for 18 weeks.

Biomarkers such as cytokines (IL-6, IL-8), TNF-alpha, inflammation markers (CRP), endothelial markers (ICAM-1, VCAM-1), gastrointestinal (acylated and desacyl ghrelin, GLP) and adipose tissue hormones (leptin, adiponectin, resistin) as well as the physiological response to a standardized liquid meal are measured.

Physiological effects of plant phenolics

High consumption of soy products is associated with a lower risk of cardiovascular disease in Asian countries. Phytoestrogens such as isoflavones are considered to be responsible for the effect. In the European multi-center study ISOHEART, we are investigating the effect of isoflavones on endothelial function and inflammatory markers in postmenopausal women. Preliminary results reveal that isolated isoflavones consumed as a food supplement fail to show the soy effect. From an observed gene-nutrient interaction, we assume that subjects with a certain genotype benefit more from isoflavone consumption than the general population. The randomized double-blind multi-center cross-over study EUROLIVE aimed to investigate the health effects of olive-oil polyphenols. In 6 centers across northern, middle, and southern Europe, 183 male subjects participated in the study (DifE: n = 38). During three-week application periods, each separated by a wash-out period of 2 weeks, they replaced a part of their habitual dietary fat with 25 ml per day of virgin or refined olive oil or a mixture thereof. Samples of blood and 24-hour urine were collected at the beginning and end of each intervention period and markers of phenolics consumption, lipid peroxidation, DNA oxidation, as well as endogenous and exogenous antioxidants were determined.

After consumption of virgin olive oil containing the highest concentration of polyphenols, the DifE subjects had elevated HDL-cholesterol (p = 0.017) levels, reduced concentrations of total and LDL-cholesterol (p = 0.022 and p = 0.006), and reduced formation of oxidized LDL (p = 0.002). These changes could not be observed after consumption of mixed or refined olive oil. Thus, polyphenols apparently contribute to the cardioprotective effect of olive oil.



2 Postprandiale Serumspiegel von Glucose, Insulin und Ghrelin als Differenz (Δ) zum Nüchternwert (Mittelwerte \pm Standardfehler (SE); n = 15); * p < 0,05.

flüssigen Testmahlzeit werden im Serum Biomarker u.a. des kardiovaskulären Risikos gemessen, wie Zytokine (IL-6, IL-8), TNF-alpha, Inflammationsmarker (CRP), Endothelmarker (ICAM-1, VCAM-1), gastrointestinale (acyliertes und nicht-acyliertes Ghrelin, GLP) und Fettgewebshormone (Leptin, Adiponectin, Resistin).

Physiologische Effekte phenolischer Pflanzeninhaltsstoffe

Anja Machowetz, Manja Reimann, Sindy Gründel, Corinna Koebnick

Der in asiatischen Ländern übliche Verzehr von Sojaprodukten ist positiv mit einem verbesserten Profil der Blutlipide und geringerem Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen assoziiert. Hierfür werden die in Soja enthaltenen Phytoöstrogene, sog. Isoflavone, verantwortlich gemacht. In der multizentrischen europäischen Studie ISOHEART prüfen wir an Frauen nach der Menopause, ob Isoflavone eine positive Wirkung auf die Endothelfunktion, den peripheren Gefäßwiderstand und inflammatorische Parameter haben. Bisherige Ergebnisse lassen nicht vermuten,

dass der Verzehr von isolierten Isoflavonen als Nahrungssupplement eine ähnliche Wirkung erbringt wie der Verzehr von Sojaprodukten selbst. Die beobachteten Gen-Nährstoff-Interaktionen sprechen jedoch dafür, dass Personen mit einem bestimmten Genotyp mehr von der Isoflavoneinnahme profitieren als andere.

An der multizentrischen, randomisierten, doppelblinden Cross-over-Studie EUROLIVE nahmen in sechs Zentren Nord-, Mittel- und Südeuropas 183 männliche Probanden (DifE: n = 38) teil. In jeweils dreiwöchigen Applikationsperioden, getrennt durch zweiwöchige Wash-out-Phasen, ersetzten sie einen Teil ihres üblichen Nahrungsfetts durch täglich 25 ml natives, gemischtes oder raffiniertes Olivenöl. Den höchsten Gehalt an phenolischen Verbindungen wies das native Olivenöl auf. In den zu Beginn und am Ende jeder Applikationsperiode gezogenen Blut- und 24-Stunden-Urin-Proben wurden Marker der Polyphenolaufnahme, der Lipidperoxidation und DNA-Oxidation sowie die Konzentration endogener und exogener Antioxidantien bestimmt. Bei den Probanden des DifE stieg nach Verzehr von nativem Olivenöl das HDL-Cholesterin an (p = 0,017), und es verminderten sich das Gesamt- und LDL-Cholesterin (p = 0,022 und p = 0,006) sowie die Bildung von oxidiertem LDL (p = 0,002). Unter gemischtem und raffiniertem Olivenöl traten diese Veränderungen nicht ein. Offenbar wird also der kardioprotektive Effekt von Olivenöl wesentlich durch den Polyphenolgehalt mitbestimmt.

Bestimmung der Körperzusammensetzung

Karen Wagner, Ulrike Trippo, Ada García, Corinna Koebnick

Übergewicht und Adipositas sind durch eine Akkumulation von Fettgewebe über das normale Maß hinaus charakterisiert. Prävention, Diagnose und Therapie der Adipositas erfordern deshalb die Bestimmung der Körperzusammensetzung. Die Vielzahl dazu existierender Methoden kann man nach Labor- und Feldmethoden unterscheiden. Die Labormethoden bestechen durch hohe Genauigkeit, sind aber teuer und standortgebunden. Die Feldmethoden, transportabel und einfach anzuwenden, sind weniger genau. Das EU-Projekt BODYLIFE verfolgte das Ziel, die Vorzüge dieser Methoden in einer Weiterentwicklung des TOBEC-Verfahrens (Ganzkörper-Leitfähigkeitsmessung) zu vereinen. Die Abteilung begleitete die Geräteentwicklung durch eine Validierungsstudie. Als Referenztechnik diente das DXA-Verfahren (Dual X-Ray Absorptiometry). Parallel wurden auch andere gängige anthropometrische Methoden eingesetzt. Dies führte zu

method	number of subjects	r (against nTOBEC)
nTOBEC	79	
DXA	79	0.832 *
HD	69	0.752 *
ADP	79	0.965 **
ID	77	0.652 *
BIA	79	0.968 **
SF	79	0.976 **

* p < 0.01

** p < 0.001

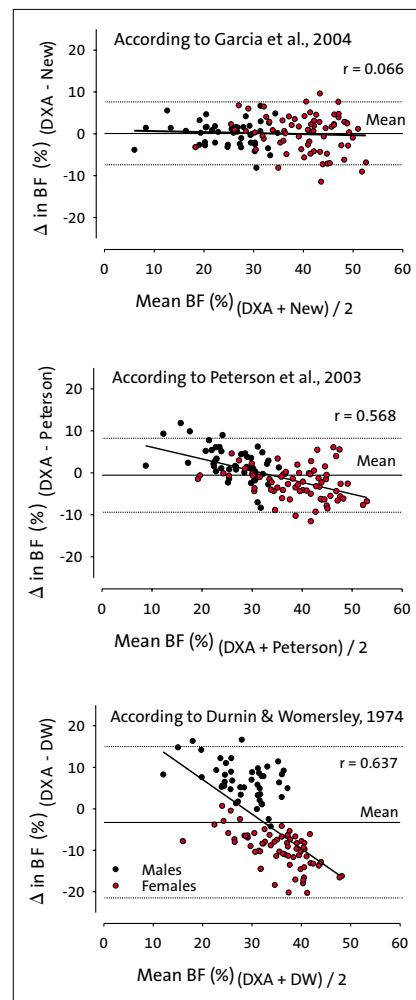
■ Korrelation zwischen Gesamtkörperfett (TBF), gemessen mit der neuen Technik nTOBEC und DXA (Dual Energy X Ray Absorptiometry), HD (Hydrodensitometrie), ADP (Air Displacement Plethysmography), ID (Isotopenverdünnung), BIA (Bioelektrische Impedanz-Analyse) sowie SF (Hautfalten-dicke)

einer Regressionsgleichung, über die sich aus der neuen Technik (nTOBEC) und wenigen anderen, einfach zu messenden Größen wie Körperhöhe, Körpermasse und Hautfalten-dicken das Gesamtkörperfett geschlechtsspezifisch bestimmen lässt. Trotz einer Überschätzung der Körperfettmenge ist die Übereinstimmung mit den Werten aus der Referenztechnik DXA akzeptabel (Tab. 3). Die Reproduzierbarkeit ist hoch (Variationskoeffizient 1,97 %). Gegenüber der herkömmlichen TOBEC-Methode überzeugt die neue Technik durch leichte Anwendbarkeit und Transportabilität. Mängel in der Genauigkeit schwächen diesen Vorzug allerdings ab. Das umfangreiche Messprogramm der Validierungsstudie erlaubte, auch andere Methoden zur Körperfettbestimmung, insbesondere die weltweit in epidemiologischen Studien häufig eingesetzte Hautfaltenmessung, auf ihre Qualität zu prüfen. Wir konnten zeigen, dass sich durch Einbeziehung weniger zusätzlicher Körpermaße (Hüft- bzw. Taillenumfang, Knochenbreite am Knie) die Schätzung des Körperfettanteils erheblich verbessern lässt. Die neuen Regressionsgleichungen nutzen bei Männern und Frauen unterschiedliche Hautfalten und berücksichtigen damit die geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Fettverteilung. Die so ermittelte Gesamtkörperfettmenge korreliert exzellent mit den Werten aus der Referenzmethode DXA ($r = 0,94$ für Männer, $r = 0,95$ für Frauen, $p < 0,001$). Dagegen unterschätzen die bislang verbreiteten Modelle, die auf 2 (Durnin & Womersley) oder 4 Kompartimenten (Peterson) beruhen, die Gesamtkörperfettmenge mehr oder weniger stark (Abb. 4).

Entwicklung epidemiologischer Erhebungsinstrumente

Corinna Koebnick, Karen Wagner, Ulrike Trippo, Ada Garcia

Ernährungsepidemiologische Studien sind auf Instrumente angewiesen, mit denen Probanden ihren Lebensmittelverzehr sowie ihre körperliche Aktivität möglichst genau und dennoch ohne wesentliche Behinderung des Lebensstils erfassen können. Die vorhandenen Erhebungsmethoden müssen stets Abstriche an einem der beiden Kriterien machen. Deshalb entwickelten Mitarbeiter der Abteilung sowohl ein Ernährungs- als auch ein Aktivitätsprotokoll, das sie mit Hilfe von doppelt stabil-markiertem Wasser ($^2\text{H}_2^{18}\text{O}$) validierten. Das semi-quantitative Ernährungsprotokoll besteht aus einer geschlossenen Lebensmittelliste mit vorgegebenen Portionsgrößen (Abb. 5). Im



■ Differenz (Δ) zwischen dem Körperfettanteil (%), gemessen einerseits mit DXA (BF % [DXA]) und andererseits über Hautfalten-dicken, berechnet mit der neu entwickelten Regressionsgleichung, nach Durnin & Womersley, und nach Peterson, aufgetragen gegen den Mittelwert derselben Messwerte ($n = 117$).

■ Correlation between total body fat (TBF) measured by the new technique nTOBEC (new total body electrical conductivity) and DXA (dual energy X ray absorptiometry), HD (hydrodensitometry), ADP (air displacement plethysmography), ID (isotope dilution), BIA (bioelectrical impedance analysis), SF (skinfold thickness measurement).

Determination of body composition

Overweight and obesity are characterized by an excessive accumulation of adipose tissue. The determination of body composition, i.e., body-fat content, is relevant to obesity prevention, diagnosis, and therapy. The existing methods to determine body composition can be differentiated as laboratory methods with high accuracy, high costs, and immobility or as field methods with low accuracy, lower costs, and higher mobility.

The European-funded project BODYLIFE was intended to combine the advantages of the two methodological approaches and to further develop the TOBEC (total body electrical conductivity) technique. Along with contributing to the development of the device, we also validated the procedure. For the validation we used a DXA device (Dual X-Ray Absorptiometry) as a reference method. Moreover, several anthropometric methods were used to compare their results with those from the new device. Finally, we derived a regression equation to calculate sex-specifically total body fat using data from the new technique (nTOBEC) and a few other easily accessible values, i.e., height, weight, and skinfold thickness. The data obtained showed high reliability (coefficient of variation 1.97 %) and correlated relatively well with the values from the reference method (Tab. 3). The special advantage of nTOBEC is its mobility and easy handling. The accuracy, however, is limited, as nTOBEC overestimates the body-fat mass.

Based on the comprehensive data collected in the validation study, we also investigated the validity of other anthropometric methods such as the skinfold thickness measurement, since this easy-to-use method is applied frequently and worldwide in epidemiological studies. We developed a new equation to estimate body fat based on skinfold measurement using DXA as reference method. We demonstrated that our equation greatly

■ Difference (Δ) between relative body fat (%) determined with DXA (BF % [DXA]) and with skinfold measurements, calculated according to the newly developed regression equation, according to Durnin and Womersley, and according to Peterson, and plotted against the mean of the same measured values ($n = 117$).

5 Food record: Examples of food items with specified portion sizes.

improved fat estimates by involving a few additional body measurements such as waist, hips, and knee width. For males and females, the new regression equations included different skinfolds, taking into consideration the gender-specific body-fat distribution. Body-fat values obtained with the new equations highly correlate with values obtained by the reference method ($r = 0.94$ for men, $r = 0.95$ for women, $p < 0.001$), whereas established models, based on two (Durnin and Womersley) or four compartments (Peterson) underestimate body fat to a certain degree (Fig. 14).

Development of new epidemiological instruments

Epidemiological studies into diet and health need information on food consumption and physical activity. To obtain this information, epidemiological instruments are needed. Such instruments have to combine high accuracy with ease of compliance for the subjects to avoid lifestyle changes. To overcome deficiencies in existing instruments, we developed and validated both a food record and a physical activity record. These new instruments have been validated using the doubly labeled water ($^2\text{H}_2^{18}\text{O}$) technique. The semi-quantitative food record consists of a list of food items with specified portion sizes (Fig. 15). In the activity record, the daily activities are grouped according to the following categories: sleep and rest, home and garden, at work, leisure time, and sports. Both instruments support a direct and easy recording of food intake and physical activity, respectively. They are easy to use and the users do not need any previous instruction. Download is available at the website of DIfE. The daily energy and nutrient intake or the energy expenditure can be calculated via data entry masks and calculation software.



5 Beispielportionen im Ernährungsprotokoll.

Aktivitätsprotokoll sind die Aktivitäten in Ruheperioden, Haus- und Gartenarbeiten, Tätigkeiten bei der Arbeit sowie Freizeit- und Sportaktivitäten unterschieden. Beide Erhebungsinstrumente erlauben eine einfache und direkte Aufzeichnung des Lebensmittelverzehrs bzw. der körperlichen Aktivität und können ohne detaillierte Vorkenntnisse oder Schulung der Probanden eingesetzt werden. Sie stehen auf der Website des DIfE zum Download bereit. Über zugehörige Eingabemasken und Berechnungsprogramme lassen sich die tägliche Energie- und Nährstoffaufnahme bzw. die Energieabgabe ermitteln.

Technische Mitarbeiter/innen

Andrea Franke
Silvia Pester
Manja Reimann
Katja Ruttkowski
Renate Schröder
Stefanie Schultz
Dagmar Vulprecht
Andreas Wagner

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Originalarbeiten/Original Papers

García A.L., Wagner, K., Hothorn, T., Koebnick, C., Zunft, H.J.F., Trippo, U.: Improved prediction of body fat by measuring skinfold thickness, circumferences and bone breadth. *Obes. Res.*, in press.

Gericke, B., Koebnick, C., Reimann, M., Forterre, S., Zunft, H.J.F., Schweigert, F.J.: Influence of hormone replacement therapy on proteomic pattern in serum of post-menopausal women. *Maturitas*, in press.

Harsch, I.A., Koebnick, C., Wallaschowski, H., Schahin, S.P., Hahn, E.G., Ficker, J.H., Lohmann, T., Konturek, P.C.: Resistin levels in patients with obstructive sleep apnoea syndrome – the link to subclinical inflammation? *Med. Sci. Monit.* 10, CR510-515 (2004).

Harsch, I.A., Konturek, P.C., Koebnick, C., Kuehnlein, P.P., Fuchs, F.S., Schahin, S.P., Wiest, G. H., Hahn, E. G., Lohmann, T., Ficker, J.H.: Leptin and ghrelin levels in patients with obstructive sleep apnoea: effect of CPAP treatment. *Eur. Respir. J.* 22, 251-257 (2003).

Høie, L.H., Morgenstern, E.C.A., Gruenwald, J., Graubaum, H.J., Busch, R., Lüder, W., Zunft, H.J.F.: A double-blind placebo-controlled clinical trial compares the cholesterol-lowering effects of two different soy protein preparations in hypercholesterolemic subjects. *Eur. J. Nutr.* 43, in press.

Koebnick, C., Plank-Habibi, S., Wirsam, B., Gruendel, S., Hahn, A., Meyer-Kleine, C., Leitzmann, C., Zunft, H.J.F.: Double-blind, randomized feedback control fails to improve the hypocholesterolemic effect of a plant-based low-fat diet in patients with moderately elevated total cholesterol levels. *Eur. J. Clin. Nutr.* 58, 1402-1409 (2004).

Koebnick, C., Reimann, M., Carlsohn, A., Korzen-Bohr, S., Buegel, S., Hallund, J., Rossi, L., Branca, F., Hall, W., Williams, C., Zunft, H.J.F., O'Doherty-Jensen, K.: The acceptability of isoflavones as a treatment of menopausal symptoms: a European survey among post-menopausal women. *Climacteric*, in press.

Koebnick, C., Wagner, K., Thielecke, F., Moeseneder, J., Höhne, A., Franke, A., Meyer, H., Garcia, A.L., Trippo, U., Zunft, H.J.F.: Validation of a simplified real-time physical activity record with the doubly labelled water technique. *Int. J. Obes.*, in press.

Möhlig, M., Koebnick, C., Weickert, M.O., Lueder, W., Otto, B., Steiniger, J., Twilfert, M., Meuser, F., Pfeiffer, A.F.H., Zunft, H.J.F.: Arabinoxylan enriched meal increases serum ghrelin levels in healthy humans. *Horm. Metab. Res.*, in press.

Schweigert, F.J., Klingner, J., Hurtienne, A., Zunft, H.J.F.: Vitamin A, carotenoid and vitamin E plasma concentrations in children from Laos in relation to sex and growth failure. *Nutr. J.* 2, Article 17 (2003). (<http://www.nutritionj.com/content/2/1/17>)

Zunft, H.J.F., Lüder, W., Harde, A., Haber, B., Graubaum, H.J., Koebnick, C., Grünwald, J.: Carob pulp preparation rich in insoluble fibre lowers total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic patients. *Eur. J. Nutr.* 42, 235-242 (2003).

Buchbeiträge/Book Articles

Garcia, A.L., Hoehne, A., Koebnick, C.: Dietary treatment of obesity and the role of physical activity. In Harsch, I.A., (eds.) *The various types and treatments of obesity*. Nova Science Publishers, New York, in press.

Wagner, K., Trippo, U.: Definition and assessment of obesity. In Harsch, I.A., (eds.) *The various types and treatments of obesity*. Nova Science Publishers, New York, in press.

Zunft, H.J.F.: Außenseiterdiäten. In: Schauder, P., Ollenschläger, G., (eds.) *Ernährungsmedizin – Prävention und Therapie*, 2. Auflage Urban & Fischer, München, 175-187 (2003).

Zunft, H.J.F., Koebnick, C., Haber, B.: Cholesterol-lowering activity of insoluble fibre from carob. In: van der Kamp, J. W.; Asp, N. G.; Miller Jones, J., Schaafsma, G., (eds.) *Dietary Fibre: bio-active carbohydrates in food and feed*. Wageningen Academic Publisher, Wageningen, NL, 205-217 (2003).

Drittmittelprojekte External Funding

BioProfil Nutrigenomik: Metabolic and Genetic Profiles (MGP) Teilprojekt: Aufbau und Charakterisierung einer Kohorte (gemeinsam mit KLE)
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.09.2003–31.08.2006

BODY LIFE: Intelligent System Monitoring the Body Composition for better Healthy Life Style and Illness Prevention
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.01.2001–31.12.2003

CROWNALIFE: Functional Food, Gut Microflora and Healthy Ageing
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.02.2001–31.10.2004

HealthSense: Healthy ageing: how changes in sensory physiology, sensory psychology and socio-cognitive factors influence food choice.
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.02.2000 – 31.01.2003

PHYTOHEALTH: Improving health through dietary phytoestrogens: a Pan-European network on consumers issues and opportunities for producers
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.03.2003–28.02.2006

EUROLIVE: The effect of olive oil consumption on oxidative damage in European population
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.01.2002 – 31.12.2004

ISOHEART: Isoflavones for reducing risk of coronary heart diseases among postmenopausal woman
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.01.2002–31.12.2004

NUTRI-SENSEX: Improving the quality of life of elderly people by co-ordinating research into malnutrition of the elderly
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.01.2004–31.12.2006

Herstellung eines neuartigen, gesundheitsförderlichen Kohlenhydratkonzentrats aus Abfallstoffen der Weizenstärkegewinnung durch integrierten Einsatz biotechnologischer Verfahren
Finanzierung: Deutsche Bundesstiftung Umwelt
Laufzeit: 01.05.2000–31.08.2003

Department of Epidemiology

Head: Prof. Dr. Heiner Boeing

Summary The metabolic syndrome, its cardiovascular complications, and cancer have a high incidence in populations with a westernized lifestyle. Research during the last decades indicates that nutrition and body weight play an important role in the increasing prevalence of these diseases. Thus, the potential of nutrition to prevent these diseases is considered very high. According to current estimates, approximately 30 % of cancerous, 60 % of cardiovascular diseases, and 80 % of the cases of type 2 diabetes could be related to nutrition or its associated factors. Investigation of the relationship between single nutritional factors and disease risk, determination of the preventive potential of single factors, and the efficacy of preventive measures are epidemiological questions that are addressed by interdisciplinary research at DIfE. The Department of Epidemiology (EPI) focuses on the impact of dietary patterns, consumption of fruit and vegetables, intake of alcohol, as well as on obesity (Tab. 1). In addition, the department investigates the role of biomarkers associated with nutritional factors, such as interleukin-6 (IL-6) and their associated metabolic pathways, in disease risk. Analysis of genetic variants (polymorphisms) as to their role in the incidence of nutrition-related diseases is also performed by the department. The basis of departmental research is a European-wide cohort study with nearly 520,000 participants (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition: EPIC Study), including 27,548 from Potsdam and surrounding areas (EPIC-Potsdam Study).

Cancer

Within the EPIC Study, the Department of Epidemiology (EPI) has a major role in research on the effect of vegetable and fruit consumption on the incidence of various types of cancer. These investigations contribute to the development of preventive measures by complementing evaluations by an expert panel of the International Agency for Research on Cancer (IARC) of the World Health Organization (WHO) in 2003 (Tab. 2). The consumption of fruit and vegetables is strongly associated with the intake of dietary fiber. An investigation within the EPIC Study revealed that an increase of dietary fiber from 15 g to more than 30 g/day reduces the incidence rate of colorectal cancer by approximately 40 %.

1 Associations studied by the Department of Epidemiology, 2003/2004
Diseases (horizontal): cancer, cardiovascular diseases, hypertension, diabetes mellitus, obesity.
Factors (vertical): nutritional patterns, fruit and vegetables, alcohol, obesity, biomarkers, genetics.

Zusammenfassung Das Metabolische Syndrom sowie Krebs- und Herz-Kreislauf-Erkrankungen treten in Ländern mit „westlichem Lebensstil“ gehäuft auf. Die Forschungsergebnisse der letzten Jahrzehnte deuten darauf hin, dass die vorherrschende Ernährung und das tendenziell steigende Körpergewicht maßgeblich an der Zunahme dieser Erkrankungen beteiligt sind. Dementsprechend wird das Potential der Ernährung zur Verhütung dieser Erkrankungen (Präventionspotential) als sehr hoch angesehen. Nach derzeitigen Schätzungen könnten 30 % der Krebs-, 60 % der Herz-Kreislauf- und 80 % der Typ-2-Diabetes-Erkrankungen auf die Ernährung oder ernährungsassoziierte Faktoren zurückzuführen sein. Die Erforschung der Zusammenhänge zwischen einzelnen Ernährungsfaktoren und dem Erkrankungsrisiko, die Ableitung des Präventionspotentials einzelner Faktoren sowie die Erbringung wissenschaftlicher Hinweise für die Wirksamkeit einzelner Präventionsmaßnahmen sind epidemiologische Fragestellungen, die am DIfE interdisziplinär bearbeitet werden. Die Abteilung Epidemiologie (EPI) konzentriert sich dabei auf die Bedeutung bestimmter Ernährungsmuster, des Gemüse- und Obstverzehrs, des Alkoholkonsums sowie der Adipositas (Fettsucht) (Tab. 1). Ferner untersucht sie den Einfluss der mit diesen Ernährungsfaktoren assoziierten Biomarker, wie z.B. Interleukin 6 (IL-6), auf das Erkrankungsrisiko. Ebenso gehört zu ihrem Aufgabenspektrum, die genetischen Varianten (Polymorphismus) im Hinblick auf ihre Rolle bei der Entstehung ernährungsbedingter Erkrankungen zu analysieren. Die Grundlage für die Forschungsarbeit der Abteilung ist eine europaweit angelegte prospektive Kohortenstudie mit 520.000 Studienteilnehmern (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition: EPIC-Studie), darunter 27.548 Studienteilnehmer aus Potsdam und Umgebung (EPIC-Potsdam-Studie).

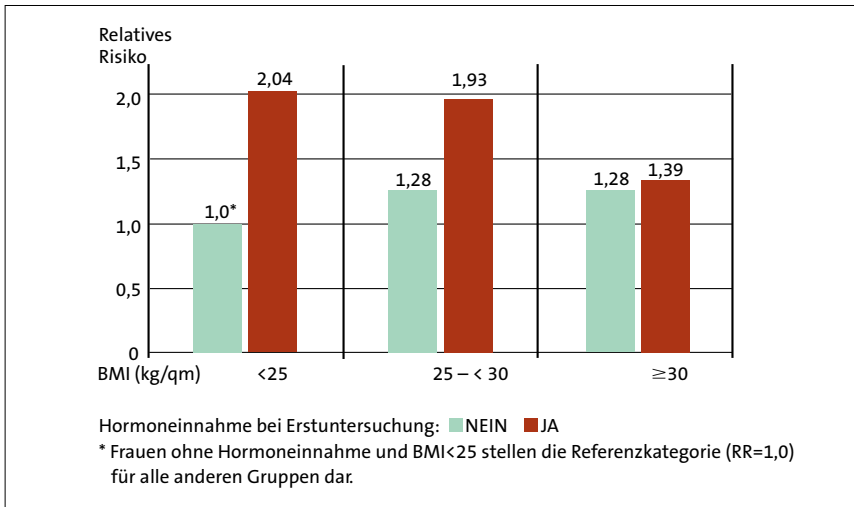
Krebserkrankungen

Petra Lahmann, Heiner Boeing, Sandra Kluge, Manuela Bergmann, Tobias Pischon, Mandy Schulz

Die Abteilung Epidemiologie (EPI) ist maßgeblich an einer Reihe von Forschungsarbeiten innerhalb der gesamten EPIC-Studie beteiligt, die den Einfluss des Gemüse- und Obstverzehrs auf das Risiko der Entstehung verschiedener Krebserkrankungen untersuchen. Diese Untersuchungen sind für die Entwicklung von Präventionsmaßnahmen insofern sehr bedeutsam, als dass sie die Einschätzungen ergänzen, die 2003 von einem Expertengremium des Internationalen Krebsforschungszentrums (IARC) der Weltgesundheitsorganisation abgegeben wurden (Tab. 2). Ein mit dem Verzehr von Gemüse und Obst eng verbundener Ernährungsfaktor ist die Ballaststoffzufuhr. Eine Untersuchung innerhalb der EPIC-Studie ergab, dass eine Erhöhung der Ballaststoffzufuhr von 15 auf über 30 Gramm/Tag mit einer Senkung der Neuerkrankungsrate (Inzidenz) des kolorektalen Karzinoms um 40 % assoziiert ist. Der Einfluss des Alkoholkonsums auf die Entstehung von Karzinomen im oberen Verdauungstrakt ist ebenfalls Gegenstand EPIC-weiter Analysen. Der Nachweis einer positiven Beziehung basierte bisher im Wesentlichen auf Fall-Kontroll-Studien. Unsere Analyse zeigte eine Risikobeziehung für Alkohol auch in einem prospektiven Studiendesign. Damit ist ein weiterer wichtiger Beweis erbracht, dass Alkohol ein wesentlicher unabhängiger Risikofaktor für diese Art der Erkrankung ist. Der Einfluss einzelner Getränkearten (Wein, Bier, Spirituosen) sowie der Einfluss genetischer Faktoren, die den Alkoholabbau im Blut beeinflussen, ist Gegenstand weiterer Analysen. Andere Daten der EPIC-Studie weisen auf einen Zusammenhang zwischen anthropometrischen Charakteristika und dem Auftreten von Brustkrebs hin. Zudem war eine

	Endpunkte				
	Krebs- erkrankungen	Herz-Kreislauf- erkrankungen	Hypertonie	Diabetes Mellitus	Adipositas
Ernährungs- muster		●	●	●	●
Gemüse und Obst	●				
Alkohol	●	●			
Adipositas	●	●	●	●	
Biomarker	●			●	●
Genetik				●	●

1 2003/2004 untersuchte Beziehungen in der Abteilung Epidemiologie



■ Relatives Risiko (RR) für Brustkrebs von postmenopausalen Frauen mit Normalgewicht (Body Mass Index, BMI < 25), Übergewicht (BMI 25 – < 30) und Adipositas (BMI ≥ 30), stratifiziert nach Hormoneinnahme, N = 103.344, (Modell wurde adjustiert für bekannte Risikofaktoren).

deutliche Wechselwirkung zwischen Übergewicht (Body-Mass Index, BMI ≥ 25) und der Einnahme von Hormonersatzpräparaten zu sehen. Übergewichtige Frauen, die keine Hormonpräparate einnahmen, hatten gegenüber normalgewichtigen Frauen (BMI < 25) ohne Hormoneinnahme ein um 30 % erhöhtes Risiko, nach der Menopause Brustkrebs zu bekommen. Postmenopausale Frauen, die Hormonpräparate einnahmen, hatten ein generell erhöhtes Risiko für Brustkrebs, das insbesondere bei schlanken Frauen ausgeprägt war (Abb. 24). Die Fettverteilung am Körper (Anlagerung des Körperfetts im Bereich des Oberbauchs oder im Bereich der Hüften) hatte keinen Einfluss auf das Brustkrebsrisiko. Hingegen war die Körperlänge positiv mit dem Brustkrebsrisiko assoziiert. Die Ursachen hierfür sind noch nicht eindeutig geklärt.

Herz-Kreislauf-Erkrankungen

Kerstin Klipstein-Grobusch, Cornelia Weikert, Dagmar Drogan, Christin Heidemann

Mitte 2004 wurde die medizinische Verifizierung von 162 Myokardinfarkten (Herzinfarkten) und 238 zerebralen Ischämien (Schlaganfällen) abgeschlossen, die nach der Erstuntersuchung bis zum 30.04.2004 in der EPIC-Potsdam Kohorte neu aufgetreten waren. Zur Auswertung der Daten (hinsichtlich der Risikofaktoren unter Nutzung der Fragebogendaten, der Blutproben und der DNA) entwickelte die Abteilung Epidemiologie (EPI) ein umfangreiches Forschungsprogramm, an dem die Abteilung Klinische Ernährung (KLE) des DIfE und die Molekularen Netzwerke der Universitäten Halle/Magdeburg und Kiel beteiligt sind. Erste Ergebnisse zeigen, dass ein Ernährungs-

muster, das mit dem Folsäure- und Homocysteinestoffwechsel assoziiert und durch den Verzehr von Vollkornprodukten, Obst, Olivenöl, Kohlgemüse, Wein und Pilzen charakterisiert ist, das Myokardinfarktrisiko senkt. Selbst bei Berücksichtigung traditioneller kardiovaskulärer Risikofaktoren wie Bluthochdruck, Rauchen und Übergewicht bleibt dieses Ernährungsmuster ein protektiver Faktor. Diesen Zusammenhang zwischen Ernährungsmuster und Erkrankungsrisiko konnten wir an Daten einer klassischen Fall-Kontroll-Studie zu koronaren Herzerkrankungen bei Frauen etablieren und an der EPIC-Potsdam Kohorte reproduzieren. Eine erhöhte Ballaststoffaufnahme und ein moderater Alkoholkonsum sind ebenso Faktoren, die in der EPIC-Potsdam-Studie eine risikosenkende Assoziation zum Myokardinfarkt hatten.

Die Abteilung ging ferner der Frage nach, welche Ernährungsmuster im Zusammenhang mit dem Auftreten von Hypertonie (Bluthochdruck) stehen. Hierzu entwickelten wir zunächst eine spezielle Strategie der Musterfindung und -überprüfung. Die Auswertung der Daten anhand dieses Verfahrens führte zum folgenden Ergebnis: Ein Ernährungsmuster, das durch einen hohen Anteil an Gemüse und fettarmen Milchprodukten charakterisiert ist, vermindert das Bluthochdruckrisiko. Weitere Analysen deuten darauf hin, dass nicht nur Ernährungsfaktoren das Hypertonierisiko beeinflussen, sondern auch kurzfristige Gewichtsveränderungen. Adipöse Personen (BMI > 30), die in einem Zeitraum von 2 Jahren mindestens 5 kg zu- oder abnahmen, besaßen gegenüber gewichtsstabilen adipösen Personen ein erhöhtes Risiko, an Bluthochdruck zu erkranken.

■ Relative risk (RR) of breast cancer in postmenopausal women with normal body weight (body mass index, BMI < 25), overweight (BMI 25 – < 30), and obesity (BMI ≥ 30); either taking (red bars) or not taking (green bars) hormones at initial examination; n = 103,344 (model corrected for known risk factors). * Women with BMI < 25 who were not taking hormones served as a reference for all other groups (RR = 1.0).

The role of alcohol consumption in the onset of cancer of the upper gastrointestinal tract is an objective of EPIC-wide analyses. So far, current evidence of a positive association primarily is based on case-control studies. Our analysis showed an alcohol-associated risk in a prospective study design, thus generating further important evidence that alcohol is a significant and independent risk factor for this type of disease. The role of various types of alcoholic beverages (wine, beer, spirits) as well as that of genetic variance affecting the metabolism of alcohol in the body will be the target of further investigations. Other data of the EPIC Study associates anthropometric parameters and the incidence of breast cancer. In addition, there was a clear connection between obesity (body mass index, BMI ≥ 25) and hormone replacement therapy. In women not subjected to hormone-replacement therapy, overweight women exhibited a 30 % increased risk of breast cancer after menopause compared to normal-weight women (BMI < 25). Postmenopausal women on hormone replacement exhibited in general an increased breast-cancer risk, which was particularly pronounced among lean women (Fig. 24). The distribution of body fat (i.e., fat deposits on the upper abdomen or the hips) had no influence on the risk of breast cancer. In contrast, body height was positively associated with this risk. The underlying causes of this observation have not yet been elucidated.

Cardiovascular diseases

By midyear 2004, 162 cases of myocardial infarction and 238 cases of cerebral ischemia (stroke) occurring after the basic examination in the EPIC-Potsdam cohort were medically verified. In order to analyze data from questionnaires and blood samples (including DNA analysis) with respect to risk factors, the Department of Epidemiology (EPI) developed a comprehensive research program in which the Department of Clinical Nutrition (KLE) of DIfE and the molecular networks of the Universities of Halle/Magdeburg and Kiel participate. First results show that dietary patterns reducing the myocardial-infarction risk are associated with folic acid and homocys-

teine metabolism and characterized by the consumption of whole-grain products, fruit, olive oil, vegetables of the cabbage family, wine, and mushrooms. Even under consideration of traditional cardiovascular risk factors such as hypertension, smoking, and obesity, this dietary pattern had a protective effect. The relation between dietary pattern and disease risk, based on data of a classical case-control study regarding heart disease in women, could be established and reproduced in the EPIC-Potsdam cohort. The analyses in the EPIC-Potsdam Study show that increased intake of dietary fiber and a moderate consumption of alcohol are factors that also lower the risk of myocardial infarction.

The department also investigated which dietary patterns are related to the risk of hypertension. With a specially developed strategy of pattern finding and pattern testing, the following results were obtained: a dietary pattern characterized by a high intake of vegetables and low-fat dairy products reduces the hypertension risk. Other analyses revealed that not only nutritional factors but also short-term weight changes affect this risk. Obese subjects (BMI > 30) that increased or decreased their weight by at least 5 kilograms within two years had a higher risk of developing hypertension than obese subjects who maintained their weight.

Type 2 diabetes and obesity

Obesity is the main risk factor for the development of type 2 diabetes. The Department of Epidemiology (EPI) has addressed a number of research questions in this field using the data basis of a nested case-control study within the EPIC-Potsdam Study. The study included cases of incident diabetes diagnosed during the first follow-up period (n=192) as well as controls (n=384; diabetes-free within the first two years after basic examination).

In cooperation with the Department of Clinical Nutrition (KLE), it was found that a reduced adiponectin and a high interleukin-6 (IL-6) concentration in peripheral blood indicated a higher risk for type 2 diabetes, independent of BMI and body-fat distribution. In addition, we found that certain genetic variations also contribute to an increased risk. Obese subjects bearing the gene variant -174CC in the IL-6 gene exhibit a nearly five-fold higher risk compared to obese subjects with the wild type allele. Other investigations on the role of gene variants in the area of fat metabolism are being conducted in collaboration with the "Molecular Nutrition" network at the University of Kiel.

Typ-2-Diabetes und Adipositas

Heiner Boeing, Eva Fisher, Anja Schienkiewitz

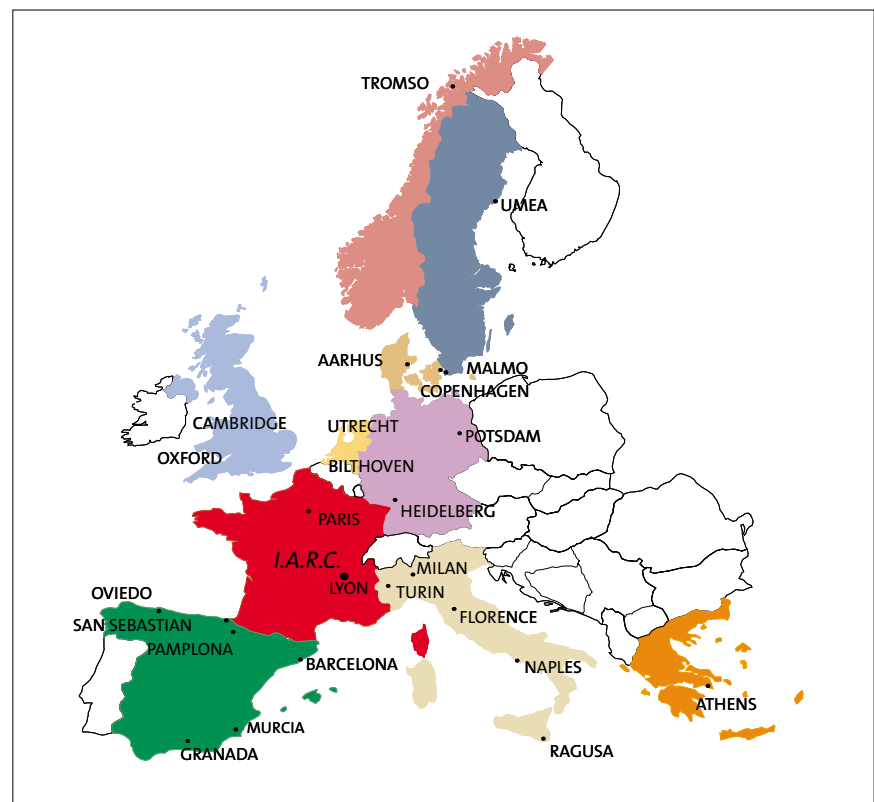
Adipositas ist der wichtigste Risikofaktor für die Entstehung eines Typ-2-Diabetes. Die Abteilung Epidemiologie (EPI) hat sich in den letzten Jahren intensiv mit Forschungsfragen zu diesen Erkrankungen beschäftigt. Als Datengrundlage diente eine in die EPIC-Potsdam-Studie eingebettete Fall-Kontrollstudie. Sie enthält die Daten der in der ersten Nachbeobachtungsrunde erstmalig aufgetretenen Diabeteserkrankungen (N=192) sowie Daten von 384 Kontrollpersonen (ohne eine Diabeteserkrankung bis zum Zeitpunkt der ersten Nachbeobachtung).

In Kooperation mit der Abteilung Klinische Ernährung (KLE) fanden wir heraus, dass bereits eine niedrige Adiponectin- und eine hohe Interleukin 6 (IL-6)-Konzentration im peripheren Blut, unabhängig von BMI und Fettverteilung, das Risiko erhöhen, an Typ-2-Diabetes zu erkranken. Zudem zeigten wir, dass bestimmte genetische Veranlagungen ebenso zu einem erhöhten Erkrankungsrisiko beitragen. Übergewichtige Personen, die Träger der IL-6-Genvariante -174CC sind, haben im Vergleich zu Übergewichtigen mit anderer Genvariante ein 5-fach erhöhtes Typ-2-Diabetes-Risiko. Weitere Untersuchungen zur Bedeutung von Genvarianten im Bereich des Fettsäurestoffwechsels erfolgen derzeit in Zusammenarbeit mit dem Netzwerk

„Molekulare Ernährungsforschung“ der Universität Kiel.

Ferner untersuchten wir die Auswirkungen einer bereits in jungen Jahren auftretenden Adipositas (BMI > 30) auf das Risiko, im späteren Erwachsenenalter an Typ-2-Diabetes zu erkranken. Diese Frage ist von erheblicher gesundheitspolitischer Bedeutung, da die Prävalenz des Übergewichts bei jungen Männern in der Bevölkerung stark zugenommen hat. Unseren Untersuchungsergebnissen zufolge beeinflusst eine im jungen Erwachsenenalter bestehende Adipositas das Diabetesrisiko in ähnlicher Größenordnung wie eine später erworbene. Interessanterweise ist dieser Effekt eines früh erworbenen Übergewichts selbst dann zu sehen, wenn eine erfolgreiche Gewichtskontrolle ab dem 40. Lebensjahr praktiziert wurde.

Hinsichtlich der Diabeteserkrankung identifizierten wir ein Ernährungsmuster, das mit einem abgesenkten Risiko assoziiert ist. Dieses Ernährungsmuster beinhaltet einen hohen Verzehr von frischem Obst und einen geringen Konsum von zuckerhaltigen Limonaden, Bier, Fleisch und Fleischwaren, Hülsenfrüchten und hellen Brotsorten. Daher ist zu vermuten, dass sich das Diabetesrisiko durch eine Ernährungsumstellung unabhängig vom Körpergewicht reduzieren lässt. Zudem identifizierten wir ein Ernährungsmuster, das in einem Zeitrahmen von



Krebs- lokalisierung Cancer site	Bewertung des Experten- gremiums des IARC 2003* hinsichtlich eines krebs- präventiven Effektes Evaluation of IARC expert panel, 2003*, with regard to cancer-preventing effects	Ergebnisse der EPIC-Studie** Results of EPIC Study**		
		Gemüse und Obst insg. Fruit and vegetables combined	Obst Fruit	Gemüse Vegetables
Lunge Lung	Gemüse: möglich Vegetables: possible Obst: wahrscheinlich Fruit: probable	Nicht untersucht Not studied	Inverse Beziehung Inverse association	Keine Beziehung No association
Prostata Prostate	Gemüse: leichte Reduzierung des Risikos im Bereich des Möglichen Vegetables: slight risk reduction possible Obst: wahrscheinlich kein Effekt Fruit: probably no effect	Keine Beziehung No association	Keine Beziehung No association	Keine Beziehung No association

4 Obst- und Gemüseverzehr und Risiko für Krebserkrankungen.

* International Agency of Research on Cancer (IARC), Handbooks of Cancer Prevention Vol. 8: Fruit and vegetables, Lyon, 2003.

** Die Ergebnisse stammen aus: Miller, AB, et al. (2004): Fruits and vegetables and lung cancer. Findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int. J. Cancer* 108, 269-276; Key, TJ, et al. (2004): Fruits and vegetables and prostate cancer: no association among 1104 cases in a prospective study of 130,544 men in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int. J. Cancer* 109, 119-124.

4 Jahren Vorhersagen über Körpergewichtsveränderungen erlaubt. Personen, die bei der Basisuntersuchung einen hohen Verzehr von Vollkornbrot, Getreideflocken, frischem Obst, Obstsaft und rohem Gemüse und einen geringen Verzehr von Fleisch, Fleischwaren, Butter, Margarine und fettreichem Käse aufwiesen, blieben über einen 4-Jahreszeitraum im Mittel gewichtsstabil. Bei dieser Ernährung stammten 32 % der aufgenommenen Energie aus Fett. Personen, deren Ernährung in sehr geringem Maße diesem Muster entsprach, nahmen ca. 40 % ihrer Energie aus Fett auf und im Durchschnitt 150 g pro Jahr an Körpergewicht zu. Das oben beschriebene Ernährungsmuster war jedoch bei Personen, die schon bei der Erstuntersuchung sehr übergewichtig waren (BMI > 30), hinsichtlich einer Gewichtsstabilität unwirksam.

Methoden

Kurt Hoffman, Ulrich Harttig, Matthias Schulze, Jennifer Ray

Mitarbeiter der Abteilung haben statistische und epidemiologische Verfahren verbessert und neu entwickelt. Hierbei handelt es sich

um Methoden zur Identifizierung von Ernährungsmustern, zur Schätzung von statistischen Verteilungen des Lebensmittelverzehrs und der Aufnahme von Inhaltsstoffen sowie Verfahren zur Berechnung von Anteilen an Krankheitsaufkommen (attributable Risiken und verhütbare Anteile). Viele der wissenschaftlichen Beiträge der Abteilung haben von dieser Weiterentwicklung profitiert. Die Verfahren werden zudem nicht nur am DIfE angewendet, sondern finden zunehmend Eingang in die epidemiologische Forschungspraxis.

Technische Mitarbeiter/innen

Kay Behling
Wolfgang Bernigau
Sabine Fallisch
Wilfried Ficht
Andrea Franke
Wolfgang Fleischhauer
Christine Heinrich
Ellen Kohlsdorf
Madleen Konowalzyk
Kathrein Kühn
Herbert Piechot
Elektra Polychronidou

4 Consumption of fruit and vegetables in association with cancer risk

We also investigated the effects of being obese at a young age on the risk of type 2 diabetes at a later age. This question is of major public-health importance since the prevalence of obesity has increased, particularly in young men. Our results show that both obesity acquired as a young adult or later on have similar effects on the diabetes risk. Interestingly, this effect of an early acquired obesity can still be observed, even if weight management has been successful after the age of 40.

We were able to identify a dietary pattern that was associated with a lower type 2 diabetes risk. This dietary pattern includes a high consumption of fresh fruit and a low consumption of sugar-containing beverages, beer, meat and meat products, legumes, and refined white-flour bread. Therefore, we assume that the risk for diabetes can be reduced by changing the diet, independent of body weight.

In addition, we identified a dietary pattern that predicts body-weight changes within a period of four years. Subjects with a high intake of whole-grain bread, cereals, fresh fruits, fruit juices, and raw vegetables and a low consumption of meat and meat products, butter, margarine, and high-fat cheese at baseline managed to maintain their average weight over a four-year period. In this diet, 32 % of the energy intake was from fat. Subjects whose dietary pattern followed this diet only to a low degree had an energy intake of approximately 40 % from fat, and their weight increased by 150 g/year on an average. However, the above-described dietary pattern was ineffective for subjects who were already obese at baseline examination (BMI > 30).

Methods

Scientists of the department have developed and improved statistical and epidemiological methods, especially those used to identify dietary patterns, to estimate the distribution of food consumption and intake of nutrients, and to estimate the proportions of disease occurrence (attributable risks and preventable proportions). Many of the scientific contributions of the department have profited from these methodological developments. These methods are not only used here at DIfE but also more and more in epidemiological research outside the institute.

Drittmittelprojekte

External Funding

Applikation und Weiterentwicklung einer neuen Kalibrierungsmethode zur Standardisierung von Lebensmittel- und Nährstoffaufnahmen in epidemiologischen Studien
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.04.2003–31.03.2005

Genetische Determinanten des Homocystein- und Folsäuremetabolismus (Partner im Netzwerk Molekulare Ernährungsforschung)
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.01.2002–31.01.2005

Nahrungsfette und Stoffwechsel – Genvariabilität, -regulation, -funktion und funktionelle Lebensmittelinhaltsstoffe (Partner im Netzwerk Molekulare Ernährungsforschung)
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.01.2002–31.12.2006

Epidemiologie der Herzinsuffizienz (Partner im Medizinische Kompetenz-Netzwerk Herzinsuffizienz)
Sprecher: Prof. Dietz, Charite, Berlin
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.06.2003–31.05.2006

NGFN2 (TP16) Relative and attributable risk of specific candidate genes with obesity related disorders and association with quantitative traits of the metabolic syndrome
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.07.2004–30.06.2007

Tumorentstehung – hemmende und fördernde Ernährungsfaktoren (Beitrag zum Ernährungsbericht 2004)
Finanzierung: BLE (Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung) und DGE
Laufzeit: 01.07.2002–30.06.2003

EPIC-ELDERLY: 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: 01.01.2002–31.12.2004

EPIC: European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.09.2002–28.02.2004

Langzeitstudie zum Einfluß der Ernährung auf die Entstehung von Krebserkrankungen „European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition EPIC“
Finanzierung: DKH Deutsche Krebshilfe
Laufzeit: 01.01.2000–31.03.2005

The role of diet in the aetiology of Crohn's Disease and ulcerative colitis
Finanzierung: Norwich Hospital
Laufzeit: 01.07.2002–30.06.2003

Ausgewählte Publikationen

Selected Publications

Originalarbeiten/Original Papers

Bingham, S. A., Day, N.E., Luben, R., Ferrari, P., Slimani, N., Norat, T., Clavel-Chapelon, F., Kesse, E., Nieters, A., Boeing, H. et al.: 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).

Drogan, D., Klipstein-Grobusch, K., Wans, S., Luley, C., Boeing, H., Dierkes, J.: Plasma folate as marker of folate status in epidemiological studies: the European Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam study. *Br. J. Nutr.* 92, 489-496 (2004).

Hoffmann, K., Boeing, H., Volatier, J.L., Becker, W.: Evaluating the potential health gain of the World Health Organization's recommendation concerning vegetable and fruit consumption. *Publ. Health Nutr.* 6, 765-772 (2003).

Hoffmann, K., Schulze, M.B., Schienkiewitz, A., Nöthlings, U., Boeing, H.: Application of a new statistical method to derive dietary patterns in nutritional epidemiology. *Am. J. Epidemiol.* 159, 935-944 (2004).

Hoffmann, K., Zyriax, B. C., Boeing, H., Windler, E.A.: Dietary pattern derived to explain biomarker variation is strongly associated with risk of coronary heart disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 80, 633-640 (2004).

Lahmann, P.H., Lissner, L., Gullberg, B., Olsson H., Berglund, G.: A prospective study of adiposity and postmenopausal breast cancer risk: The Malmö Diet and Cancer Study. *Int. J. Cancer* 103, 246-252 (2003).

Lahmann, P. H., Hoffmann, K., Allen, N., van Gils, C.H., Khaw, K.T., Tehard, B., Berrino, F., Tjønneland, A., Bigaard, J., Olsen, A., Overvad, K., Clavel-Chapelon, F., Nagel, G., Boeing, H. et al.: Body size and breast cancer risk: Findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int. J. Cancer* 111, 762-771 (2004).

Möhlhig, M., Boeing, H., Spranger, J., Osterhoff, M., Kroke, A., Fisher, E., Bergmann, M.M., Ristow, M., Hoffmann, K., Pfeiffer, A.F.H.: Body mass index and C-174G interleukin-6 promoter polymorphism interact in predicting type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89, 1885-1890 (2004).

Schulze, M.B., Hoffmann, K., Kroke, A., Boeing, H.: Risk of hypertension among women in the EPIC-Potsdam-Study: Comparison of relative risk estimates of exploratory and hypothesis-oriented dietary patterns. *Am. J. Epidemiol.* 158, 365-373 (2003).

Schulze, M.B., Hoffmann, K., Kroke, A., Boeing, H.: An approach to construct simplified measures of dietary patterns from exploratory factor analysis. *Brit. J. Nutr.* 89, 409-419 (2003).

Schulz, M., Liese, A.D., Boeing, H., Cunningham, J., Moore, C.G., Kroke, A.: Association of short-term weight changes and of weight cycling with the incidence of essential hypertension in the EPIC-Potsdam Study. *J. Hum. Hypertens.* 19, 61-67 (2005).

Spranger, J., Kroke, A., Möhlhig, M., Bergmann, M.M., Ristow, M., Boeing, H., Pfeiffer, A.F.H.: Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 361, 226-228 (2003).

Spranger, J., Kroke, A., Möhlhig, M., Hoffmann, K., Bergmann, M.M., Ristow, M., Boeing, H., Pfeiffer, A.F.H.: Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam study. *Diabetes* 52, 812-817 (2003).

van Gils, C.H., Peeters, P.H.M., Bueno-de-Mesquita, H.B. Boshuizen, H.C., Lahmann, P.H., Clavel-Chapelon, F., Thiébaud, A., Kesse, E., Sieri, S., Palli, D., Tumino, R., Panico, S., Vineis, P., Gonzalez, C.A., Ardanaz, E., Sanchez, M.J., Amiano, P., Navarro, C., Key, T.J., Allen, N., Khaw, K.T., Trichopoulou, A., Nagel, G., Linseisen, J., Boeing, H., Berglund, G., Wirfält, E., Hallmans, G. Lenner, P., Overvad, K., Tjønneland, A., Olsen, A., Lund, E., Engeset, D., Alsaker, E., Kaaks, R., Riboli, E.: Vegetables and breast cancer risk: No evidence for an association in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *JAMA* in press.

Übersichtsarbeiten/Reviews

Kluge, S., Boeing, H.: Beitrag der Ernährung zur Primärprävention in der Onkologie. *Der Onkologe* 10, 139-147 (2004).

Summary Food not only comprises nutrients but also natural and anthropogenic, non-nutritive components of low molecular weight, called *xenobiotics* (Greek *xenos* = foreign). Their biological effects may be favorable in some situations, but an accumulation of xenobiotics should be avoided. The elimination of xenobiotics usually comprises metabolic transformation. Although this *biotransformation* usually results in a deactivation, it can lead to highly toxic metabolites in some cases. The studies in this department are aimed at the determination of natural and anthropogenic toxic substances in food, the elucidation of their mode of action, and the assessment of the resulting health risks. In addition, we want to identify individual genetic factors and nutritional effects that enhance or reduce the risks of a given compound. Toxicological effects mediated by *chemically reactive metabolites* are of special interest because, even at low exposure, they may lead to irreversible and cumulative damage. The pathophysiological consequences of this damage – such as cancer, degenerative changes, or hereditary defects in descendants – are only manifested after a latency period that can amount to several decades or sometimes even generations. It is almost impossible to elucidate the causal relationships by solely using epidemiological methods. Therefore, we have developed toxicological test systems, which are based on specific, human systems of biotransformation. An additional focal point of our research is the search for biomarkers for the formation and inactivation of reactive metabolites.

Humanized test systems for toxicological investigations

Experimental toxicology depends on model systems such as cell cultures and laboratory animals, since experiments on humans are unacceptable in most cases. Mutagenesis is a chief mechanism of carcinogens. To produce this effect, environmental and foodborne carcinogens require activation by *xenobiotic-metabolizing enzymes*. The levels of these enzymes vary extremely between species and tissues, and are also influenced by the individual genetic constitution, diet, and other environmental factors. In order to identify critical enzymes and to improve the relevance of test models, we “*humanize*” test systems for defined enzymes by genetic engineering. At present, we are

■ DNA damage by carbohydrate-pyrolysis products and other food contaminants in a V79-derived cell line that was genetically engineered for expression of two human detoxifying enzymes (CYP2E1 and SULT1A1). Sister chromatid exchange (SCE) was used as a measure of genotoxicity.

Zusammenfassung Zahlreiche Lebensmittel enthalten beträchtliche nicht-nutritive Anteile, wobei die niedermolekularen nicht-nutritiven Substanzen *Fremdstoffe* genannt werden, auch wenn sie natürlichen Ursprungs sind. Viele werden absorbiert und wirken auf den Organismus ein. Selbst wenn eine Wirkung im Einzelfall günstig ist, muss eine Akkumulation vermieden werden. Die Elimination von Fremdstoffen aus dem Körper ist meistens mit einer stofflichen Umwandlung verbunden. Diese *Biotransformation* bedeutet in der Regel eine Entgiftung, kann aber auch zur Bildung von stark toxischen Produkten führen.

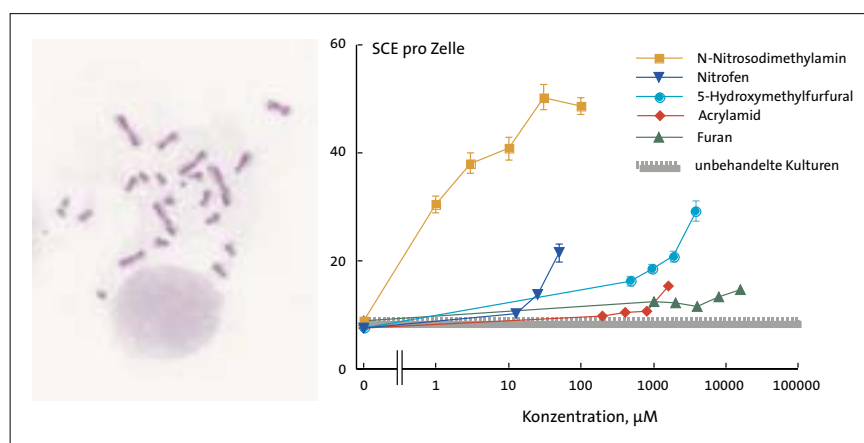
Die Abteilung hat zum Ziel, natürliche und anthropogene Schadstoffe in der Nahrung zu erfassen, ihre Wirkmechanismen aufzuklären und die sich ergebenden Gesundheitsrisiken abzuschätzen. Zudem wollen wir genetische Faktoren und Nahrungseinflüsse identifizieren, die das Risiko, durch eine Substanz zu erkranken, verstärken oder vermindern. Von besonderem Interesse sind Wirkungen, die durch *chemisch reaktive Metaboliten* vermittelt werden, da diese bereits bei niedriger Exposition zu irreversiblen und kumulierenden Schäden führen können. Die pathophysiologischen Folgen – wie Krebs, degenerative Veränderungen oder Erbschäden in Nachkommen – manifestieren sich dabei meistens erst nach einer Latenzzeit von Jahrzehnten oder gar erst in späteren Generationen. Dies erschwert das Erfassen von kausalen Zusammenhängen mit epidemiologischen Methoden. In diesem Zusammenhang haben wir toxikologische Testsysteme entwickelt, in denen humane Wirtsfaktoren spezifisch berücksichtigt werden, sowie funktional bedeutsame genetische Polymorphismen kanzerogen-metabolisierender Enzyme untersucht. Ein weiterer Schwerpunkt unserer Arbeit ist der Suche

nach Biomarkern für die Bildung und Inaktivierung reaktiver Metaboliten gewidmet. In Kooperation mit der Abteilung Epidemiologie (EPI) haben wir Humanstudien in Angriff genommen, in denen diese Biomarker genutzt werden.

Humanisierte Testsysteme für toxikologische Untersuchungen

Gisela Dobbernack, Simone Florian, Claudia Langheinrich, Yungang Liu, Walter Meinel, Mandy Osterloh-Quiroz, Ulrike Pabel

Die Toxikologie ist noch stärker als andere biomedizinische Disziplinen auf *Modellsysteme* wie Zellkulturen und Versuchstiere angewiesen, da sich Versuche am Menschen weitgehend verbieten. Mutagenese ist ein zentraler Wirkmechanismus von Kanzerogenen. Kanzerogene aus der Umwelt und aus Lebensmitteln müssen dazu durch *Fremdstoff-metabolisierende Enzyme* aktiviert werden. Je nach Spezies, Gewebe, individuellen genetischen Faktoren, Ernährungsweise und anderen Umwelteinflüssen kann die Ausstattung mit diesen Enzymen und damit die Empfindlichkeit gegenüber Schadstoffen extrem unterschiedlich sein. Zur Identifizierung kritischer Wirtsfaktoren und zur Verbesserung der Modellsysteme „*humanisieren*“ wir diese für definierte Enzyme mit gentechnischen Methoden. Zurzeit untersuchen wir vor allem die Sulfotransferasen (SULT) und Alkoholdehydrogenasen, daneben auch Cytochrome P450 (CYP), Acetyltransferasen, Glutathiontransferasen und Transmembrantransporter. Die SULT zeichnen sich durch ein hohes Detoxifizierungs- und Toxifizierungspotential aus (abhängig vom Wirkstoff). Wir haben 39 SULT des Menschen und von Versuchstieren in *in vitro*-Systemen exprimiert. Diese waren in der Lage, allein oder zusammen mit CYP, über 100 Stoffe zu



■ DNA-Schädigung durch Pyrolyseprodukte von Kohlenhydraten und durch andere Lebensmittelkontaminanten in einer V79-Zelllinie, die für zwei toxischierende Enzyme (CYP2E1 und SULT1A1) humanisiert wurde. Als Maß für die DNA-Schädigung wurde die Zahl der Schwesterchromatid-Austausche (SCE) pro Zelle (Metaphase) verwendet.

2 Expression of SULT1A proteins (brown) in colon mucosa of humans (left), normal mouse (middle) and SULT1A1/2-humanized mouse (right).

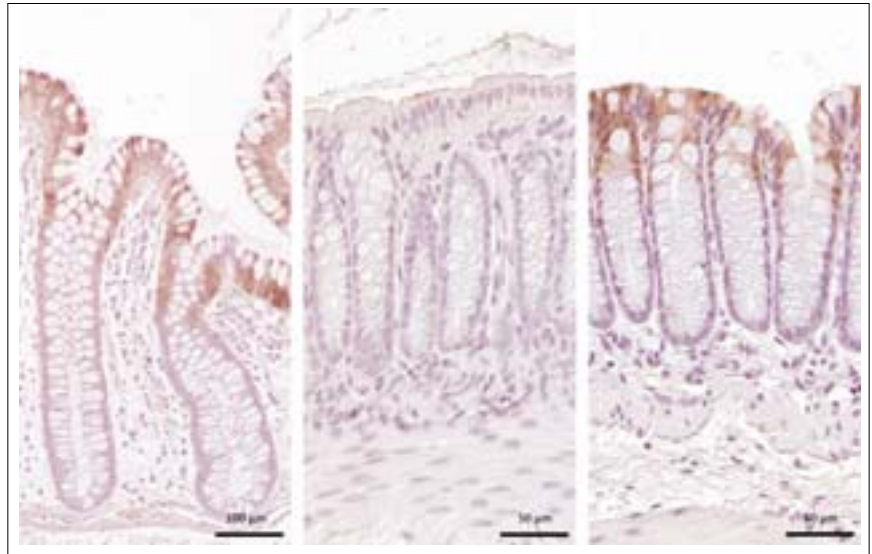
investigating sulfotransferases (SULT), alcohol dehydrogenases, cytochromes P450 (CYP), epoxide hydrolases, acetyltransferases, glutathione transferases, and transmembrane transporters. The class of SULT is characterized by a high detoxification as well as toxification potential (depending on the chemical studied). We have expressed 39 SULT from man and laboratory animals in *in vitro* test systems. SULT, either alone or together with CYP, were capable of activating more than 100 chemicals to mutagens, including many food-borne compounds and carcinogens not detected in standard test systems.

Nitrofen, acrylamide, and furan are pyrolysis products and contaminants in food, which recently were in the headlines. They induce tumors in experimental animals, but mostly give negative results in standard genotoxicity assays. Genotoxicity data are pivotal for risk evaluation of high-dose carcinogens, but are inconclusive in the present cases, since the compounds are metabolized *in vivo* by enzymes that are not taken into account in the standard genotoxicity assays used. Therefore, we constructed a cell line that expresses these enzymes (CYP2E1 and SULT1A1). All three compounds are genotoxic in these cells, but their potency is weaker by many orders of magnitude than that of the classical carcinogen *N*-nitrosodimethylamine, which also requires activation by CYP2E1 (Fig. 1). Moreover, another carbohydrate pyrolysis product, 5-hydroxymethylfurfural, demonstrates a stronger genotoxic activity in this humanized cell line than do acrylamide and furan. Since the intake of 5-hydroxymethylfurfural in food exceeds that of acrylamide by a factor of 1000 and that of furan even more, in-depth investigations of the relevance of the observed effects are urgent.

We also succeeded in integrating two human SULT genes into a mouse line. The expressed enzymes do exhibit not only the human substrate specificity but also a human-like tissue distribution. In particular, they are highly expressed in colon mucosa (Fig. 2). Colorectal cancer is common in man, but is only induced in experimental animals by very few carcinogens. We shall examine whether additional substances, in particular food-borne xenobiotics, induce colorectal cancer in mice after expressing human colonic enzymes.

Genotyping and phenotyping of carcinogen-metabolizing enzymes

Possibly due to their dual role (detoxification of some chemicals, toxification of others), many xenobiotic-metabolizing



2 Expression von SULT1A-Protein (braun) in der Kolonmukosa eines Menschen (links), einer normalen Maus (Mitte) und einer SULT1A1/2-humanisierten Maus (rechts).

Mutagenen zu aktivieren. Darunter befinden sich viele Inhaltsstoffe von Lebensmitteln und Kanzerogene, die mit konventionellen *in vitro*-Systemen nicht erfasst werden können. Nitrofen, Acrylamid und Furan sind Pyrolyseprodukte und Kontaminanten in Lebensmitteln, die kürzlich in die Schlagzeilen kamen. Gemeinsam ist ihnen, dass sie (in hohen Dosen) im Versuchstier Tumoren erzeugen, in Standard-Genotoxizitätstests aber überwiegend negative Ergebnisse zeigen. Diese negativen Ergebnisse sind nicht schlüssig, da diese Substanzen *in vivo* durch Enzyme metabolisiert werden, die den eingesetzten *in vitro*-Systemen fehlen. Wir konstruierten deshalb eine Zelllinie, in der diese Enzyme (CYP2E1 und SULT1A1) exprimiert werden. In diesen Zellen sind alle drei Substanzen genotoxisch, allerdings um viele Größenordnungen schwächer als das klassische Kanzerogen *N*-Nitrosodimethylamin, das ebenfalls durch CYP2E1 aktiviert wird (Abb. 1). Auch ist ein weiteres Pyrolyseprodukt, 5-Hydroxymethylfurfural, in diesem humanisierten System stärker genotoxisch als Acrylamid und Furan. Da wir diese Substanz in tausendfach größerer Menge mit der Nahrung aufnehmen als Acrylamid, sind weitergehende Untersuchungen wichtig. Es ist uns zudem gelungen, zwei humane SULT-Gene, unter der Kontrolle ihrer humanen Regulationssequenzen, in eine Mauslinie einzuschleusen. Die exprimierten Enzyme zeigen nicht nur die humane Substratspezifität, sondern auch eine dem Menschen ähnliche Gewebeverteilung. Insbesondere werden sie in der Kolonmukosa exprimiert (Abb. 2). Dickdarmkrebs gehört zu den häufigsten Neoplasien beim Menschen, lässt sich im Tierversuch aber nur mit ganz wenigen Kanzerogenen induzieren. Wir wollen prüfen,

ob sich nach Ausstattung des Mauskolons mit Humanenzymen nahrungsrelevante Substanzen als Kolonkanzerogene erfassen lassen.

Geno- und Phänotypisierung von Kanzerogen-metabolisierenden Enzymen

Walter Brand, Ronny Kollock, Walter Meinl, Heiko Schneider, Korinna Schulz

Viele Fremdstoff-metabolisierende Enzyme zeigen funktional bedeutsame *genetische Polymorphismen*. Eine Assoziation eines Tumors mit einem bestimmten Genotyp kann Schlüsse auf die Art der beteiligten Kanzerogene erlauben. So fanden wir in Zusammenarbeit mit E. Kampman (Wageningen), dass Dickdarm-Adenome bei Rauchern mit dem schnellen SULT1A1-Genotyp assoziiert sind. Dies legt nahe, dass aromatische Amine und alkylierte Polyzyklen aus dem Zigarettenrauch einen Kausalfaktor dieser Entartung darstellen.

In diesem Zusammenhang wollen wir herausfinden, wie einzelne Genotypen mit der Ausbildung verschiedener Phänotypen assoziiert sind. Einige Aminosäure-Austausche beeinträchtigen die kinetischen Eigenschaften eines Enzyms. Viel häufiger führen sie aber zu Veränderungen der Enzymkonzentration, wobei das Ausmaß der Veränderung gewebeabhängig sein kann. Zudem gibt es in der Regel weitere Faktoren, wie etwa Ernährungsgewohnheiten, welche die Enzymexpression zusätzlich beeinflussen. So konnten wir zeigen, dass der SULT1A1 Genotyp die Ausbildung von vier phänotypischen Charakteristika (SULT1A1 Proteingehalt und Aktivität in Thrombozyten und Lymphozyten) bestimmt, aber die interindividuelle Variation der Sulfo-Konjugation einer

Modellverbindung (Paracetamol) *in vivo* nur zu einem geringen Teil erklären konnte. Um dieses Phänomen weiter zu charakterisieren, haben wir damit begonnen, die Auswirkung von SULT- und anderen Enzym-Genotypen in wichtigen Geweben zu analysieren. Unter anderem hat uns U. Zanger (Stuttgart) hierfür eine Bank, die Lebergewebe von über 100 Probanden enthält, zur Verfügung gestellt. Zudem haben wir weitere Verfahren entwickelt, um *in vivo* den aktuellen Aktivitätsstatus von Enzymen zu erfassen. So fanden wir, dass Ethanol zu einem geringen Teil als Ethylsulfat im Urin ausgeschieden wird und dass sich diese Reaktion gut zum Phänotypisieren von Sulfotransferasen einsetzen lässt.

Synergismen und Chemoprävention bei der chemischen Kanzerogenese/Mutagenese

Nadiya Bakhiya, Heli Hollnagel, Monika Stephani

Zu den charakteristischen Eigenschaften der Fremdstoff-metabolisierenden Enzyme gehören deren breite Substrattoleranz und oft auch deren Induzierbarkeit durch bestimmte Substrate, was zu Interaktionen zwischen verschiedenen Fremdstoffen führen kann. Dies lässt sich leicht in *in vitro*-Systemen zeigen. Mit unseren rekombinanten Systemen lassen sich zudem die beteiligten Mechanismen gut erfassen. So fanden wir, dass sich Human-SULT1A1-vermittelte Toxifizierungen durch Zugabe geringer Mengen von Obst- und Gemüsesäften zum Zellkulturmedium verhindern lassen (Abb. 3). Allerdings ist schwer abzuschätzen, ob diese Prävention auch unter den komplexeren *in vivo*-Bedingungen greift. Wir erwarten, dass

unsere humanisierten Mausmodelle hier weiterhelfen werden. Mit ihnen sollten sich chemopräventive Strategien optimieren wie auch gefährliche Interaktionen (etwa die Hemmung einer Detoxifizierung) erfassen lassen.

Biomarker für die Bildung und Inaktivierung reaktiver Metaboliten

Chimgee Baasanjav, Wolfram Engst, Heiko Schneider, Stephan Solloch, Yasmin Sommer

Im Menschen wie im Versuchstier manifestieren sich Tumoren erst lange nach der Exposition gegenüber einem Kanzerogen (und bei niedriger Belastung nur mit einer geringen Inzidenz). Jedoch lassen sich bereits kurz nach der Exposition Primärschäden in Form von DNA-Addukten (kovalente Modifikationen der DNA) nachweisen. Die chemischen Strukturen dieser Addukte sind charakteristisch für eine vorgegebene reaktive Substanz und unabhängig davon, ob sie in zellfreien Systemen, in biologischen Modellen oder im Menschen gebildet wurden. Wir bestimmen diese Addukte unter anderem *in vitro* zum Erfassen ihres mutagenen Potentials und *in vivo* zum Identifizieren möglicher Zielgewebe. So fanden wir, dass 1-Sulfoxymethylpyren (ein reaktiver Metabolit eines weit verbreiteten polyzyklischen Kohlenwasserstoffes) in der Ratte fast ausschließlich in der Leber gebildet wird, aber die stärksten Primärschäden in der Niere anrichtet. Der Effekt konnte auf einen schnellen, gerichteten Transport zurückgeführt werden.

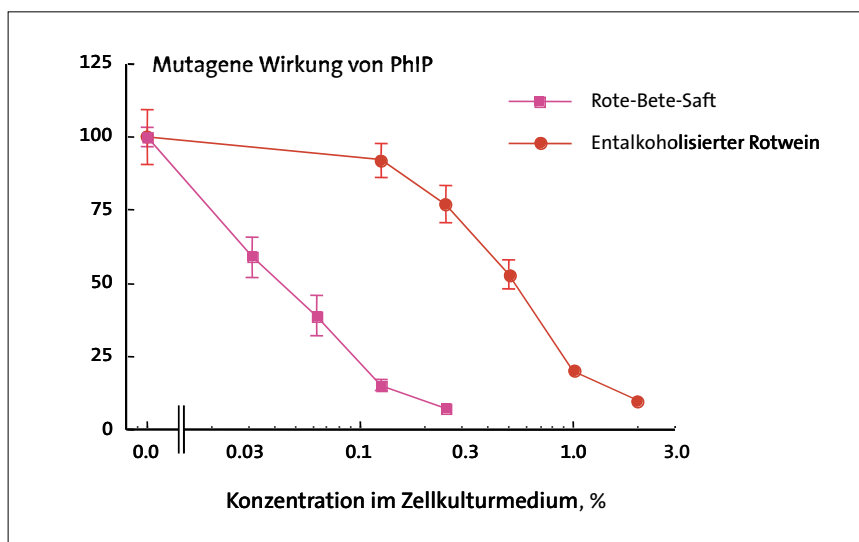
Das Erfassen von Addukten in Geweben erfordert invasive Methoden. Ein Großteil

enzymes show functionally relevant *genetic polymorphisms*. An association of a tumor with a certain genotype may give indication of the chemical classes of carcinogens involved. Thus, in cooperation with E. 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 polycyclic aromatic hydrocarbons.

We therefore wanted to find out how individual genotypes are associated with the formation of various phenotypes. Some amino acid exchanges affect the kinetic properties of an enzyme. However, they more often cause changes in the enzyme concentration. Usually there are other factors, such as dietary habits, that regulate enzyme expression as well. Thus, we observed that the SULT1A1 genotype concordantly affected four phenotypic parameters (SULT1A1-protein and activity levels in platelets and lymphocytes), however, without being able to explain the interindividual variation of sulfo-conjugation of a model compound, paracetamol, in volunteers. In order to examine this phenomenon more closely, we have started to study the phenotypic effects of genetic polymorphisms of SULT and other carcinogen-metabolizing enzymes in individual, important tissues. U. Zanger (Stuttgart) has made available a bank containing liver tissue from more than 100 human subjects for this study. Furthermore, we are working on the expansion and improvement of methods for determining the actual *in vivo* activities of enzymes. For example, we found that ethanol is excreted as ethyl sulfate in urine to a small, but readily measurable, extent and that this reaction is useful in phenotyping of sulfotransferases.

Synergisms and chemoprevention in chemical mutagenesis/carcinogenesis

A characteristic trait of xenobiotic-metabolizing enzymes is their broad substrate tolerance and often their induction by certain substrates. These properties may lead to interactions between different xenobiotics, as can be readily demonstrated in *in vitro* test systems. Our enzymatically well-characterized recombinant test systems are extremely instrumental in elucidating the mechanisms involved. For example, we dis-



3 Schutz vor der mutagenen Wirkung des 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridin (PhIP) durch Rote-Bete-Saft und entalkoholisierten Rotwein. PhIP ist ein heterozyklisches Amin, das beim Braten von Fleisch gebildet wird. Seine mutagene Wirkung wurde in V79-Zellen untersucht, in denen zwei humane Enzyme (CYP1A2 und SULT1A1) durch Gentransfer exprimiert wurden. Erst nach Expression dieser toxisierenden Humanenzyme zeigte PhIP eine mutagene Wirkung.

3 Protection against the mutagenic effects of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) by beetroot juice and dealcoholized red wine. PhIP is formed in meat during frying. Its mutagenicity was studied in V79 cells engineered for expression of two human toxicifying enzymes (CYP1A2 and SULT1A1). Mutagenicity was only observed after expression of both enzymes.

4 Analysis of the integration of a human gene sequence into a vector.

covered that human SULT1A1-mediated activations of promutagens can be prevented by adding small amounts of fruit and vegetable juices to the cell-culture medium (Fig. 13). However, it is difficult to assess whether this prevention would also take place under the more complex conditions found *in vivo*. We expect our humanized mouse model to be useful in answering this question.

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

Tumors are only manifested a long time after carcinogen exposure. However, primary damage in the form of DNA adducts (covalent modification of DNA) is already detectable immediately after exposure and bioactivation. The chemical structures of the adducts are characteristic for a given reactive compound, but independent from the system (e.g., cell-free *in vitro*, a biological model, or human tissue *in vivo*). We have determined DNA adducts for many test compounds, for example, *in vitro* together with the genotoxic effects to determine their mutagenic potential and *in vivo* to identify potential target tissues of carcinogenesis. Thus, we found that 1-sulfoxymethylpyrene (a reactive metabolite of a ubiquitous polycyclic hydrocarbon) is formed in the rat almost exclusively in liver, but causes the highest level of DNA adducts in kidneys. The effect could be attributed to a rapid vectorial transport of the metabolite.

The demonstration of adducts in tissues requires invasive methods. A large proportion of the adducts is eliminated within days by repair. Although the fate of the excised modified DNA structures is not well known, they could prove valuable as markers for early damage if excreted in urine. Indeed, we were able to demonstrate that some of the repaired 1-sulfoxymethylpyrene-DNA adducts in the rat are excreted as nucleoside adducts. Furthermore, the organism not only has repair systems but also is already capable of defending itself against reactive metabolites. A major portion of a reactive intermediate is actively scavenged, quite often detoxified by conjugation with glutathione followed by excretion as a mercapturic acid. Indeed, the amount of urinary methylpyrenyl mercapturic acid correlated with the primary damage in tissues in the rat experiment just mentioned. It is our goal to utilize such urinary biomarkers for exposure to reactive intermediates together with parameters of susceptibility (genotype, *in vivo* enzyme activity) in human studies.



4 Überprüfung der Integration einer humanen Gensequenz in einen bakteriellen Vektor mit Hilfe des Eagle Eyes.

der Addukte wird innerhalb von Tagen durch Reparatur eliminiert. Das Schicksal der exziierten DNA-Bestandteile ist zwar noch nicht hinlänglich bekannt, doch könnten sie im Falle ihrer Ausscheidung als Biomarker für eine interne Belastung mit einem Mutagen/Kanzerogen genutzt werden. Wir konnten zeigen, dass ein Teil der 1-Sulfoxymethylpyren-DNA-Addukte als Nukleosid-Addukte im Harn ausgeschieden wird. Der Organismus ist nicht nur in der Lage, Primärschäden zu reparieren, sondern ist auch bereits gegenüber den reaktiven Substanzen nicht wehrlos. Ein Großteil der Moleküle wird aktiv abgefangen, bevor sie Schaden anrichten können. Besonders häufig ist eine Detoxifizierung durch Konjugation mit Glutathion, gefolgt von einer Ausscheidung als

Mercaptursäure. In der Tat korrelierte im gerade erwähnten Rattenversuch der Grad der Primärschäden mit der Menge der Methylpyrenyl-Mercaptursäure im Harn. Wir wollen die Methodik verfeinern und auf weitere Kanzerogene ausdehnen. Ziel ist es, Harnbiomarker zusammen mit Suszeptibilitätsparametern (Genotyp, *in vivo*-Enzymaktivität) in Humanstudien zu nutzen.

Technische Mitarbeiterinnen

Sabine Braune
Christine Gumz
Andrea Katschak
Brigitte Knuth
Elisabeth Meyer
Martina Scholtyssek
Jutta Schwenk

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Originalarbeiten/Original Papers

Arlt, V.M., Glatt, H.R., Muckel, E., Pabel, U., Sorg, B.L., Seidel, A., Frank, H., Schmeiser, H.H., Phillips, D.H.: Activation of 3-nitrobenzanthrone and its metabolites by human acetyltransferases, sulfotransferases and cytochrome P450 expressed in Chinese hamster V79 cells. *Int. J. Cancer* 105, 583-592 (2003).

Glatt, H., Meinel, W.: Use of genetically manipulated *Salmonella typhimurium* strains to evaluate the role of sulfotransferases and acetyltransferases in nitrofen mutagenicity. *Carcinogenesis* 25, 779-786 (2004).

Glatt, H., Pabel, U., Meinel, W., Frederiksen, H., Frandsen, H., Muckel, E.: Bioactivation of the heterocyclic aromatic amine 2-amino-3-methyl-9H-pyrido [2,3-b]indole (MeAαC) in recombinant test systems expressing human xenobiotic-metabolizing enzymes. *Carcinogenesis* 25, 801-807 (2004).

Glatt, H.R., Schneider, H., Liu, Y.G.: V79-hCYP2E1-hSULT1A1, a cell line for the sensitive detection of genotoxic effects induced by carbohydrate pyrolysis products and other food-borne chemicals. *Mutation Res.* – Special Issue on Acrylamide, in press.

Liu, Y., Muckel, E., Doehmer, J., Glatt, H.R.: Phenol and hydroquinone induce gene mutations in V79-derived cells expressing human xenobiotic-metabolising enzymes. *Nova Acta Leopoldina NF87 329*, 231-237 (2003).

Ma, L., Kuhlow, A., Glatt, H.R.: Albumin strongly prolongs the lifespan of chemically reactive sulphuric acid esters and affects their biological activities in the rat. *Nova Acta Leopoldina NF87 329*, 265-272 (2003).

Moreno, V., Glatt, H.R., Guino, E., Fisher, E., Meinel, W., Navarro, M., Badosa, J.M., Boeing, H.: Polymorphisms in sulfotransferases SULT1A1 and SULT1A2 are not related to colorectal cancer. *Int. J. Cancer*, 113, 683-686 (2005).

Schneider, H., Glatt, H.R.: Sulfo conjugation of ethanol in humans *in vivo* and by individual sulfotransferase forms *in vitro*. *Biochem. J.* 383, 543-549 (2004).

Schneider, H., Ma, L., Glatt, H.R.: Extraction-less method for the determination of urinary caffeine metabolites using high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 789, 227-237 (2003).

Schwonbeck, S., Krause-Griep, A., Gajovic-Eichelmann, N., Ehrentreich-Förster, E., Meinel, W., Glatt, H., Bier, F.F.: Cohort analysis of a single nucleotide polymorphism on DNA chips. *Biosens. Bioelectron.* 20, 956-966 (2004).

Tiemersma, E.W., Bunschoten, A., Kok, F.J., Glatt, H.R., de Boer, S.Y., Kampman, E.: Effect of SULT1A1 and NAT2 genetic polymorphism on the association between cigarette smoking and colorectal adenomas. *Int. J. Cancer* 108, 97-103 (2004).

Tiemersma, E.W., Voskuil, D.W., Bunschoten, A., Hogendoorn, E.A., Witteman, B.J., Nagengast, F.M., Glatt, H.R., Kok, F.J., Kampman, E.: Risk of colorectal adenomas in relation to meat consumption, meat preparation, and genetic susceptibility in a Dutch population. *Cancer Causes Control* 15, 225-236 (2004).

Übersichtsarbeiten/Reviews

Glatt, H.R.: Genetische Polymorphismen und Suszeptibilität gegenüber der kanzerogenen Wirkung polycyclischer aromatischer Verbindungen: Grundlagen. In: Jacob, J., Greim, H. (eds.) *Deutsche Forschungsgemeinschaft: Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe – Forschungsbericht*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 148-182 (2004).

Glatt, H.R., Meinel, W.: Pharmacogenetics of soluble sulfotransferases (SULTs). *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 369, 55-68 (2004).

Buchbeiträge/Book Articles

Meinel, W., Glatt, H.R.: Sulphotransferase 1A1 and 1A2 (genotyping). In: Angerer, J., Müller, M., Weiss, T. (eds.) *DFG – Deutsche Forschungsgemeinschaft: Analyses of Hazardous Substances in Biological Materials, Vol. 9: Special Issue: Marker of Susceptibility*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 241-263 (2004).

Drittmittelprojekte External Funding

BioProfil Nutrigenomik: Humanisierte Mausmodelle für fremdstoffmetabolisierende Enzyme
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.04.2003–31.03.2006

BioProfil Nutrigenomik: DNA Addukte zur Beurteilung der Sicherheit konventioneller und neuartiger Lebensmittel
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.09.2003–31.08.2006

HC Amines: Heterocyclic amines in cooked food – role in human health
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.02.2000–31.05.2003

HEATOX (STREP): Genotoxicity of the Maillard product 5-hydroxymethylfurfural (im Hauptantrag: Health risk from heat treated foods and food products)
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.11.2003–31.10.2006

Sulfotransferase-mediated activation of alkylated and alkanol-bridged polycyclic aromatic hydrocarbons present in tobacco smoke, and its modulation by alcohol and drugs
Finanzierung: Philip Morris External Research Program
Laufzeit: 01.04.2003–31.03.2006

Untersuchung des Einflusses von Östrogen-Sulfamaten auf die Konjugation von Östradiol durch die verschiedenen Formen der humanen Sulfotransferasen
Finanzierung: Jenapharm
Laufzeit: 01.05.2002–30.06.2003

Department of Gastrointestinal Microbiology

Head: Prof. Dr. Michael Blaut

Summary In addition to nutrients, our food contains non-nutritive secondary plant metabolites and dietary fiber. We lack the enzymatic ability to degrade many of these compounds; thus they are only partly broken down and cannot be fully reabsorbed. Most of these substances are then metabolized by bacteria in the colon. This leads to the formation of products that may benefit the host. However, in some cases, the metabolites may have unfavorable effects on cellular processes. This means that the emergence or progress of certain diseases could be suppressed or favored. Both colon cancer and inflammatory bowel disease are illnesses thought to be closely associated with the intestinal microbiota. Our department aims to elucidate the effect of diet on the development, composition, and activity of the intestinal microbiota and, furthermore, to define in detail the role of intestinal bacteria in the pathogenesis and prevention of colon cancer. Therefore, the department has developed different methods for the culture-independent detection of intestinal bacteria and, in addition, has studied the bacterial conversion of non-nutritive food components, e.g., arbutin, into in part mutagenic compounds *in vitro* and in the animal model.

Cultivation-independent methods to assess the intestinal microbiota and influences on its composition

Improved knowledge on the diversity of the intestinal microbiota and the possibility to use cultivation-independent methods for its characterization is a prerequisite to further elucidate its role in physiological and pathophysiological processes. In cooperation with European partners, the spectrum of 16S rRNA sequence-based oligonucleotide probes, which can be used to identify intestinal bacteria by means of fluorescent *in situ* hybridization, was extended considerably. In order to simplify the use of this method, a computer-based microscopy system that can identify and enumerate bacteria automatically was developed at DIfE. Apart from the initial focusing of the microscope prior to the analysis, no further input is required from the operator. The

1 Automated identification and enumeration of fluorescently labeled bacteria in stool samples. The diagram shows the sequence of the programmed analysis steps and the decision points in the program.

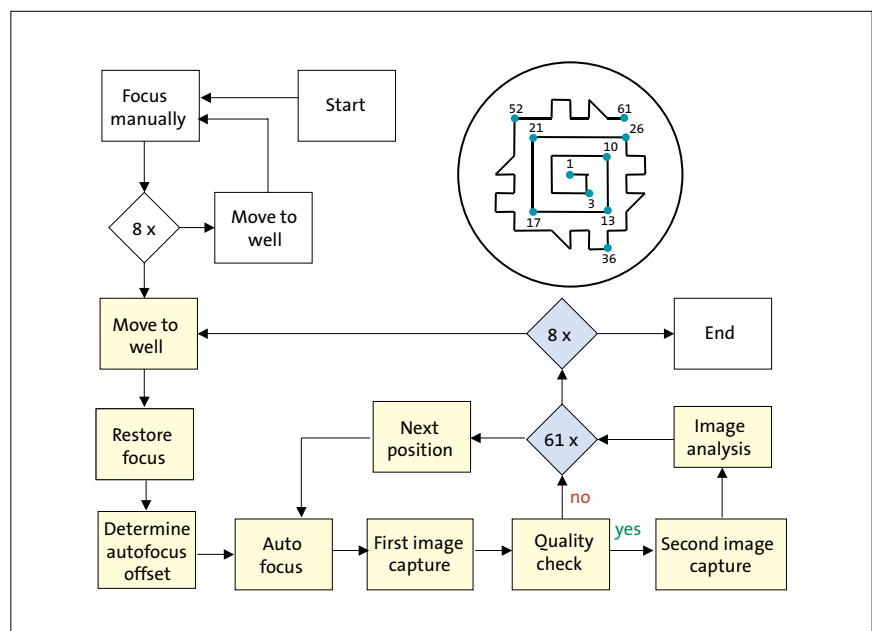
The line in the circle shows the programmed path of the objective passing through 61 positions in a slide well. The distance between two neighboring positions is 500 µm.

Zusammenfassung Lebensmittel enthalten außer Nährstoffen komplexe Kohlenhydrate (Ballaststoffe) und nicht-nutritive sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, die im Dünndarm auf Grund des Fehlens entsprechender Wirtsenzyme nicht oder nur unvollständig aufgeschlossen bzw. resorbiert werden. Die meisten dieser Stoffe unterliegen vor allem im Dickdarm einer Metabolisierung durch Mikroorganismen. Dieser Prozess führt zur Bildung von Substanzen, die günstige oder aber auch ungünstige Effekte auf zelluläre Prozesse des Wirtes ausüben können, so dass Krankheiten in ihrer Entstehung oder in ihrem Verlauf unterdrückt oder begünstigt werden können. Kolonkrebs und entzündliche Darmerkrankungen gehören u.a. zu den Erkrankungen, die mit der Darmflora in Verbindung gebracht werden. Ziel der Abteilung ist es, den Einfluss der Ernährung auf die Entwicklung, Zusammensetzung und Aktivität der Darmflora zu untersuchen und ferner die Rolle der Darmbakterien bei der Pathogenese bzw. Prävention von Kolonkrebs genauer zu definieren. Die Abteilung hat aus diesem Grund verschiedene Methoden zur kultivierungsunabhängigen Erfassung von Darmbakterien entwickelt. Zudem hat sie die bakterielle Umwandlung von nicht-nutritiven Lebensmittelinhaltsstoffen, wie z.B. Arbutin, in zum Teil mutagene Substanzen *in vitro* und am Tiermodell untersucht.

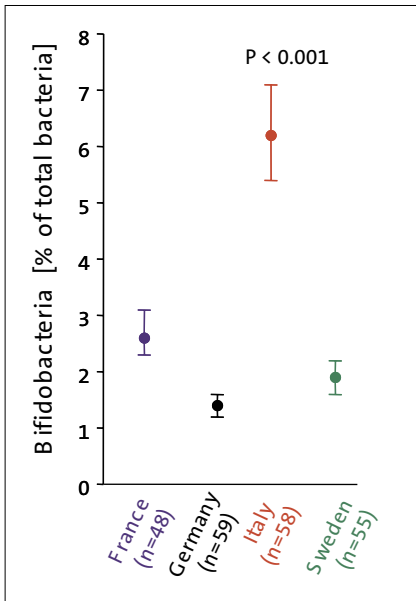
Kultivierungsunabhängige Erfassung von Darmbakterien und Einflüsse auf die Zusammensetzung der Darmflora

Ralph Thiel, Pawel Namsolleck, Ruchika Mohan, Nicole Reichardt, Susanne Müller

Um die Rolle der Darmflora bei physiologischen und pathophysiologischen Prozessen aufklären zu können, ist es notwendig, die Kenntnisse über die Vielfalt der Mikroorganismen zu erweitern und über Methoden zu verfügen, mit denen diese kultivierungsunabhängig erfasst werden können. Auf der Grundlage 16S ribosomaler RNA-Sequenzen erweiterten wir in Kooperation mit europäischen Partnern maßgeblich das Spektrum verfügbarer Oligonukleotidsonden, die zur Identifizierung von Darmbakterien mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung dienen. Um die Anwendung dieser Technik zu vereinfachen, entwickelten wir ferner ein Computer-gestütztes mikroskopisches System zur automatischen Bakterienerkennung und -zählung. Bis auf die manuelle Fokussierung des Mikroskops zu Beginn der Analyse ist kein weiterer Eingriff in die automatische Zählung erforderlich. Das entwickelte Steuerungsprogramm folgt dabei dem in Abbildung 1 dargestellten Schema. Die Auswertung der Bilder erfolgt mittels einer 3-Wege-Analyse, die sicherstellt, dass alle gezählten Objekte sowohl mit 4',6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI) markierte DNA enthalten als auch eine rRNA-Zielssequenz, die mittels spezifischer Indocarbocyanin-3 (Cy3)-markierter Oligonukleotidsonden



1 Automatische Erkennung und Auszählung von fluoreszenzmarkierten Bakterien in Stuhlproben. Das Diagramm zeigt den Verlauf der programmierten Arbeitsschritte sowie die Entscheidungspunkte im Programmablauf. Im Kreis ist der Pfad des Objektivs zu 61 festgelegten Positionen in einem runden Objektträgerfeld dargestellt, an denen ein Bild aufgenommen wird. Der Abstand zwischen zwei benachbarten Positionen beträgt 500 µm.



2 Relativer Anteil von Bifidobakterien an der Darmflora gesunder Probanden aus vier europäischen Ländern.

erkannt wird. Artefakte, die nur in einem Farbkanal sichtbar sind, werden auf diese Weise ignoriert.

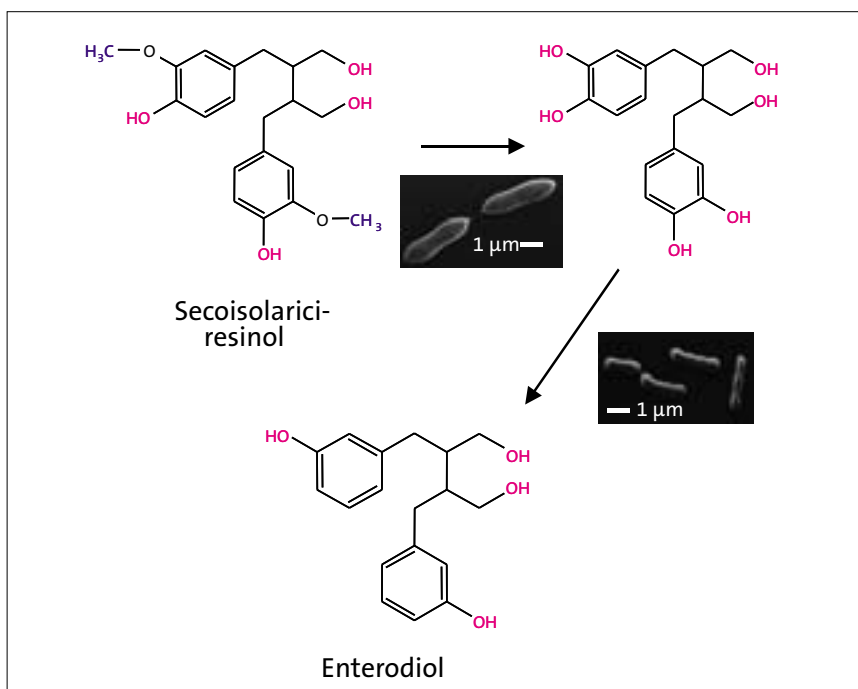
Alternativ zur mikroskopischen Bestimmungstechnik etablierten wir eine Methode zur flusszytometrischen Identifizierung fluoreszenzmarkierter Darmbakterien. Diese wurde in einer von der EU geförderten Studie eingesetzt, um herauszufinden, ob und ggf. wie sich Ernährungsgewohnheiten, Lebensalter und kulturelle Zugehörigkeit auf die Zusam-

mensetzung der Darmflora auswirken. In den vier europäischen Studienzentren, Stockholm, Potsdam, Paris und Camerino (Italien), wurden insgesamt 240 Studienteilnehmer im Alter von 25 bis 45 Jahren bzw. über 65 Jahren rekrutiert, von denen Daten zum Lebensmittelverzehr sowie bakterielle und biochemische Parameter erhoben wurden. Die noch nicht abgeschlossene Studie führen wir in enger Zusammenarbeit mit der Abteilung Interventionsstudien (IVS) des DiFE durch. Erste Analysen mit 15 spezies- bzw. gruppenspezifischen Sonden zeigen länderspezifische Unterschiede in der Bakterienbesiedlung des Darmes. Von besonderem Interesse ist die Beobachtung, dass der relative Anteil an Bifidobakterien in der italienischen Studiengruppe deutlich höher lag als der in den anderen Studiengruppen (Abb. 2). Dieser Befund wird im Zusammenhang mit einer erhöhten Zufuhr von wasserlöslichen Ballaststoffen diskutiert, die möglicherweise noch einen weiteren Parameter, nämlich die Konzentration kurzkettiger Fettsäuren, beeinflusst.

Bakterielle Transformation von Lebensmittelinhaltsstoffen

Thomas Clavel, Laura Hoschek, Annett Braune

Einigen nicht-nutritiven Lebensmittelinhaltsstoffen pflanzlichen Ursprungs wird eine präventive Wirkung gegenüber Krebs und anderen Erkrankungen zugesprochen. Um die zu Grunde liegenden Wirkmechanismen besser zu verstehen, ist es notwendig, die Bioverfüg-



3 Aktivierung des Pflanzenlignans Secoisolariciresinol zum Säugetierlignan Enterodiol durch zwei Bakterienpezies, die aus dem humanen Intestinaltrakt isoliert wurden.

2 Relative proportion of bifidobacteria relative to total bacteria in the feces of human subjects from four European countries.

program follows the scheme depicted in Figure 1. The images are interpreted using a three-way analysis routine, which ensures that all enumerated objects contain 4',6'-diamidino-2-phenylindol (DAPI)-stained DNA, as well as the desired rRNA sequence, which is recognized by the specific indocarbocyanin-3 (Cy3)-labeled oligonucleotide probe. Hence, artefacts that appear in just one color channel are omitted from enumeration.

Flow cytometry, a further method to identify fluorescently-labeled bacteria, is also established at DiFE. Currently this method is being employed in an ongoing EU-funded study, in which we collaborate with the Department of Intervention Studies (IVS). The aim of this study is to find out whether and possibly how dietary habits, age, and cultural affiliation affect the composition of the intestinal microbiota. Altogether 240 participants between the age of 25 and 45 and/or over 65 were recruited in four European study centers, namely Stockholm, Potsdam, Paris, and Camerino (Italy). Data on dietary, biochemical, and bacteriological factors were obtained. Preliminary analyses of the data obtained with 15 group- and species-specific probes show country-specific differences in the bacterial colonization of the intestine. It is of particular interest that the relative proportion of bifidobacteria is much higher in the Italian study group than in any other study group (Fig. 2). This finding is being discussed with regard to an increased consumption of water-soluble fiber, which in itself may influence a further parameter – the concentration of short-chain fatty acids.

Bacterial transformation of food components

Positive effects related to the prevention of cancer and other diseases are associated with several non-nutritive food components of plant origin. Knowledge of their bioavailability is required in order to better understand mechanisms that underlie these effects. For this purpose, bacterial conversions must be taken into account. They can inactivate active food components and also convert inactive precursor compounds into biologically active ones. Our

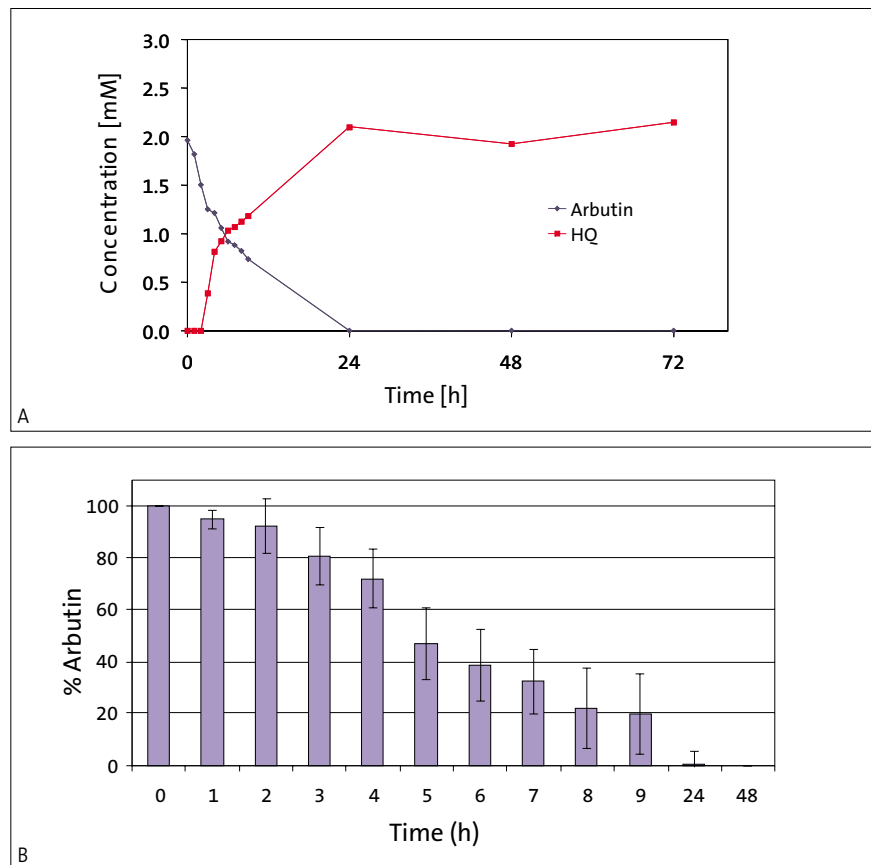
3 Activation of the plant lignan secoisolariciresinol to the mammalian lignan enterodiol by two bacterial species isolated from the human intestinal tract.

4 Degradation of arbutin to hydroquinone (HQ) by human intestinal bacteria. (A) Time course of hydroquinone formation from arbutin as catalyzed by a human fecal slurry. (B) Arbutin breakdown by fecal slurries from nine human subjects.

main interest lies in the transformation of polyphenolic food compounds: Which intermediates and end-products are formed during transformation? Which bacteria are involved and what is their numerical importance? Flavonoids and lignans are the main focus of our research. The lignan secoisolariciresinol (SECO), found in rye and linseed, shows no biological activity as such. Bacterial transformation to enterodiol and enterolactone in the gastrointestinal tract results in its activation. Enrichment culture of human fecal samples allowed us to isolate two Gram-positive bacteria that each catalyze a different step in this conversion. The first isolate, a coccoid rod, was identified as *Peptostreptococcus productus* by means of 16S rRNA gene sequencing. It is able to demethylate the methoxy groups of SECO. The second isolate, a short thin rod, dehydroxylates the product formed by the first isolate. When both bacteria are cultured together, they can convert SECO to enterodiol (Fig. 3). Bacteria involved in the conversion of enterodiol to enterolactone remain poorly described. In order to quantify enterodiol- and enterolactone-producing bacteria, MPN (most probable number) experiments were carried out with the fecal samples of 24 healthy test persons. On an average, one gram of feces contained 10^9 enterodiol and 4.2×10^5 enterolactone producers for each person.

Intestinal bacteria and cancer

Intestinal bacteria significantly contribute to the conversion of food components in the gastrointestinal tract. Bacterial catalysis in the intestine may result in the formation of genotoxic substances, which in turn may induce cancerogenesis. On the other hand, bacteria also produce protective substances that may help prevent cancer formation. We investigated the bacterial formation of the mutagenic substance hydroquinone from arbutin. Arbutin (hydroquinone- β -D-glucopyranoside) occurs in many food-stuffs, especially in pears. Here, concentrations can reach up to 4.8 mg per portion. Preliminary investigations showed that arbutin is not hydrolyzed by synthetic gastric juice. Therefore, we can assume that arbutin reaches the small intestine after oral intake. Fermentation experiments with diluted fecal samples, to which 2 mM arbutin was added, showed that hydro-



4 Abbau von Arbutin zu Hydrochinon (HQ) durch humane Darmbakterien. (A) Zeitlicher Verlauf der Hydrochinonbildung aus Arbutin durch eine verdünnte Stuhlprobe. (B) Arbutinabbau durch verdünnte Stuhlproben von neun Probanden.

barkeit dieser Inhaltsstoffe zu kennen. Durch Darmbakterien katalysierte Umwandlungen sind hierbei unbedingt zu berücksichtigen. Prinzipiell kann es durch bakterielle Aktivität zur Inaktivierung bioaktiver Nahrungskomponenten oder zur Aktivierung von Vorstufen bioaktiver Verbindungen kommen. Wir interessieren uns dafür, welche Bakterien an der Transformation polyphenolischer Nahrungsmittelkomponenten beteiligt sind, welche Intermediate und Produkte im Zuge der Transformation gebildet werden und welche zahlenmäßige Bedeutung die beteiligten Bakterien im Darm des Menschen haben. Im Mittelpunkt unseres Interesses stehen Flavonoide und Lignane. Das in Roggen und Leinsamen vorkommende Lignan Secoisolariciresinol (SECO) weist in seiner ursprünglichen Form keine biologische Aktivität auf. Erst im Gastrointestinaltrakt wird es durch bakterielle Transformation zu Enterodiol und Enterolacton aktiviert. Durch Anreicherung gelang es uns, aus humanen Stuhlproben zwei Gram-positive Bakterienspezies zu isolieren, die jeweils Teilschritte dieser Umwandlung katalysieren. Ein coccoides Stäbchen, das wir mittels 16S rRNA-Gen-Sequenzierung als *Peptostreptococcus productus* identifizierten, demethyliert die bei-

den Methoxygruppen des SECO. Ein zweites, noch nicht identifiziertes Isolat, ein kurzes dünnes Stäbchen, katalysiert die Dehydroxylierung des durch den ersten Organismus gebildeten Produktes. Werden beide Isolate zusammen kultiviert, so setzen sie SECO bis zum Enterodiol um (Abb. 3). Welche Bakterien an der Umwandlung von Enterodiol zu Enterolacton beteiligt sind, ist bislang nicht bekannt. Zur Quantifizierung Enterodiol- bzw. Enterolacton-bildender Bakterien führten wir MPN (most probable number)-Experimente an Stuhlproben von 24 gesunden Erwachsenen durch. Im Mittel wies jeder Proband etwa 10^9 Enterodiol-Produzenten und $4,2 \times 10^5$ Enterolacton-Produzenten pro Gramm Stuhl auf.

Darmbakterien und Krebs

Sandra Wunderlich, Silke Sczesny, Gemma Henderson, Carl Alpert

Darmbakterien tragen erheblich zur Metabolisierung von Nahrungskomponenten im Gastrointestinaltrakt bei. Durch bakterielle Katalyse kann es im Darm zur Bildung von genotoxischen Substanzen kommen, die potentiell Krebs auslösen können. Umgekehrt können Bakterien zur Bildung von pro-

tektiven Substanzen beitragen, die der Krebsbildung entgegenwirken. Wir haben die bakterielle Bildung der mutagenen Substanz Hydrochinon aus Arbutin (Hydrochinon- β -D-glucopyranosid) untersucht. Arbutin kommt in einer Reihe von Lebensmitteln vor. Insbesondere Birnen können hohe Arbutin-Konzentrationen von bis zu 4,8 mg pro Portion enthalten. Voruntersuchungen zeigten, dass Arbutin durch synthetischen Magensaft nicht hydrolysiert wird, so dass davon auszugehen ist, dass Arbutin bei oraler Aufnahme in den Dünndarm gelangt. Fermentationsexperimente, in denen verdünnte Stuhlproben eingesetzt wurden, zeigten, dass aus 2 mM Arbutin innerhalb von 24 h quantitativ Hydrochinon freigesetzt wird (Abb. 13a). Alle Stuhlproben von insgesamt neun untersuchten Probanden katalysierten den Abbau von Arbutin (Abb. 13b), was den Schluss nahe legt, dass Bakterien mit der Fähigkeit zum Arbutinabbau generell im humanen Darm vorkommen. Hydrochinon, das bereits in einer Konzentration von 4 μ M mutagen ist, wurde jedoch nicht weiter umgesetzt. Somit tragen Darmbakterien zur Freisetzung einer potenziell karzinogenen Substanz aus Lebensmittelinhaltsstoffen bei. In Zusammenarbeit mit der Abteilung Ernährungstoxikologie (ETOX) wollen wir nun durch Experimente an gnotobiotischen Ratten klären, wie Arbutin unter *in vivo*-Bedingungen metabolisiert wird. Da sich die Darmflora von Mensch und Ratte erheblich unterscheidet, prüften wir zunächst, ob sich das Modell der Humanflora-assoziierten (HFA-) Ratte prinzipiell

für die *in vivo*-Untersuchung von krebsrelevanten katalytischen Aktivitäten eignet. Dazu assoziierten wir zwölf keimfreie Ratten mit intestinalen Bakterien eines humanen Donors. Anschließend verfolgten wir die weitere Entwicklung der bakteriellen Lebensgemeinschaft im Darm dieser Tiere über einen Zeitraum von bis zu zwölf Monaten. Hierfür untersuchten wir die dominanten Bakterienpopulationen der Fäzes mit Hilfe einer molekularen Analyseverfahren (Polymerase-Kettenreaktion gekoppelt mit denaturierender Gradientengelelektrophorese, PCR-DGGE). Die so erstellten Populationsprofile verglichen wir mit denen des humanen Donors bzw. mit den Profilen von sechs Ratten mit konventioneller Rattenflora. Die Populationsprofile der HFA-Ratten zeigten eine erheblich größere Ähnlichkeit zu den Profilen des humanen Donors (Ähnlichkeitskoeffizient $C_s = 62 - 95\%$) als zu den Profilen der konventionellen Ratten ($C_s = 21 - 43\%$). Diese Ergebnisse zeigen, dass die HFA-Ratte ein nützliches *in vivo*-Modell darstellt, an dem sich die Rolle der humanen Darmflora bei der Aktivierung nahrungsrelevanter genotoxischer bzw. bei der Bildung nahrungsrelevanter protektiver Substanzen besonders gut untersuchen lässt.

Technische Mitarbeiterinnen

Sabine Schmidt
Bärbel Gruhl
Sabine Zimmermann
Anke Gühler

quinone was quantitatively formed within a 24 h incubation period (Fig. 13a). All stools from nine human subjects catalyzed the degradation of arbutin (Fig. 13b). This suggests that intestinal bacteria capable of arbutin breakdown are widespread among humans. Hydroquinone, which is mutagenic in concentrations as low as 4 μ M, was not further degraded. As a result, we can conclude that intestinal bacteria contribute to the release of potentially carcinogenic substances from food components. Next, we will investigate the *in vivo* metabolism of arbutin in a gnotobiotic rat model in collaboration with the Department of Nutritional Toxicology (ETOX). Since there are considerable differences between human and rat microbiota, we first had to ascertain whether the human-flora-associated (HFA) rat model is suitable for the *in vivo* examination of cancer-associated catalytic activities. For this purpose, 12 germfree rats were associated with the intestinal flora of a human donor. For a period of 12 months, the development of the dominant bacterial populations in these HFA rats was analyzed by means of a molecular method (Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, PCR-DGGE) and compared with that of the human donor, and with that of six conventional rats. The population profiles of the HFA rats showed a much higher similarity to those of the donor (similarity coefficient $C_s = 62 - 95\%$) than to those of conventional rats ($C_s = 21 - 43\%$). These investigations showed that the HFA rat represents a useful *in vivo* model that is particularly suitable for the investigation of the role of the human intestinal flora in the activation of food-associated genotoxic and/or protective substances.

Drittmittelprojekte

External Funding

Teilprojekt A7 im SFB 633: Induktion und Modulation T-zellvermittelter Immunreaktionen im Gastrointestinaltrakt
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.07.2003–30.06.2006

The influence of human gut bacteria on bioavailability
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.05.2003–30.04.2005

BioProfil Nutrigenomik: Tumorphylaktische Nahrungsergänzungszusätze auf der Basis von Mikroorganismen des humanen Darmsystems
Finanzierung: BMBF
Laufzeit: 01.01.2004–31.12.2006

MICROBE DIAGNOSTICS: Development and application of high throughput molecular methods for studying the human gut microbiota in relation to diet and health (Koordination)
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.02.2001–31.01.2005

CROWNALIFE: Functional Food, Gut Microflora and Healthy Ageing
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.02.2001–31.10.2004

Untersuchung der mikrobiellen Abbaubarkeit höhermolekularer Kaffeemelanoidine
Finanzierung: AiF (FEI)
Laufzeit: 01.11.2004–31.10.2006

Untersuchung der interventionellen Primärbesiedlung des Gastroenterons bei Frühgeborenen unter Intervention mit *Bifidobacterium lactis*, Stamm Bb12
Finanzierung: Nestlé Nutrition GmbH
Laufzeit: 01.09.2003–31.12.2004

Ausgewählte Publikationen

Selected Publications

Originalarbeiten/Original Papers

Akkar, A., Namsolleck, P., Blaut, M., Müller, R.H.: Solubilizing poorly soluble antimycotic agents by emulsification via a solvent-free process. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 5, Article 24 (2004).
(<http://www.aapspharmscitech.org>)

Blaut, M., Schoefer, L., Braune, A.: Transformation of flavonoids by intestinal microorganisms. *Int. J. Vitam. Res.* 73, 79-87 (2003).

Herles, C., Braune, A., Blaut, M.: First bacterial chalcone isomerase isolated from *Eubacterium ramulus*. *Arch. Microbiol.* 181, 428-434 (2004).

Hold, G.L., Schwiertz, A., Aminov, R.I., Blaut, M., Flint, H.J.: Oligonucleotide probes that detect quantitatively significant groups of butyrate-producing bacteria in human feces. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 4320-4324 (2003).

Kleessen, B., Hartmann, L., Blaut, M.: Fructans in the diet cause alterations of intestinal mucosal architecture, released mucins and mucosa-associated bifidobacteria in gnotobiotic rats. *Br. J. Nutr.* 89, 597-606 (2003).

Schoefer, L., Braune, A., Blaut, M.: Cloning and expression of a phloretin hydrolase gene from *Eubacterium ramulus* and characterization of the recombinant enzyme. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 6131-6137 (2004).

Schoefer, L., Mohan, R., Schwiertz, A., Braune, A., Blaut, M.: Anaerobic degradation of flavonoids by *Clostridium orbiscindens*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 5849-5854 (2003).

Schwiertz, A., Gruhl, B., Löbnitz, M., Michel, P., Radke, M., Blaut, M.: Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. *Pediatr. Res.* 54, 393-399 (2003).

Übersichtsarbeiten/Reviews

Namsolleck, P., Thiel, R., Lawson, P., Holmstrøm, K., Rajilic, M., Vaughan, E.E., Rigottier-Gois, L., Collins, M.D., de Vos, W.M., Blaut, M.: Molecular methods for the analysis of gut microbiota. *Microbiol. Ecol. Health. Dis.* 16, 71-85 (2004).

Buchbeiträge/Book Articles

Blaut, M.: Analysing gut microbiota. In: Remacle, C., Reusens, B. (eds.) *Functional Foods, ageing, and degenerative disease*. Woodhead Publishing, Cambridge, 325-348 (2004).

Schwiertz, A., Blaut, M.: Molecular approaches in the study of gut microecology. In: Holzapfel, W., Naughton, P.J. (eds.) *Microbial ecology of the growing animal*, Elsevier, Amsterdam in press.

Sonstige/Others

Zunft, H.J., Hanisch, C., Müller, S., Koebnick, C., Blaut, M., Dore, J.: Symbiotic containing *Bifidobacterium animalis* and inulin increases stool frequency in elderly healthy people. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 13 (Suppl.), S112 (2004).

Zusammenfassung Reaktive Sauerstoffverbindungen galten lange Zeit als Verursacher von z.B. Atherosklerose oder Krebs, also Krankheiten, für die eine präventive Wirkung der Ernährung vermutet wird. Demzufolge wurden verstärkt „antioxidative“ Mikronährstoffe wie Vitamin E und Selen, ein essentieller Bestandteil von Selenoproteinen, in zahlreichen Studien auf ihre protektive Wirkung getestet. Die Ergebnisse waren nicht überzeugend und langsam wird deutlich, dass auch reaktive Sauerstoffverbindungen lebenswichtige Funktionen haben, die man nicht ausschalten sollte, und dass nicht alle Effekte der genannten Mikronährstoffe ausschließlich auf ihre „antioxidativen“ Eigenschaften zurückzuführen sind. Redox-aktive Mikronährstoffe sowie Flavonoide, Isothiocyanate wie Sulforaphan, Curcumin oder organische Schwefelverbindungen, können je nach Reaktionspartner pro- oder antioxidativ wirken. Sie beeinflussen das zelluläre Redoxgleichgewicht, was gravierende Konsequenzen für den Organismus haben kann. Als besonders redox-sensibel haben sich Signaltransduktionswege inflammatorischer Prozesse erwiesen, die sowohl bei atherosklerotischen als auch bei Krebserkrankungen eine Rolle spielen. Auch die Expression vieler Gene ist redox-reguliert.

Die Abteilung hat sich zum Ziel gesetzt, die molekularen Mechanismen aufzuklären, über welche redox-aktive Mikronährstoffe zur Prävention von Atherosklerose, inflammatorischen oder neoplastischen Erkrankungen beitragen. In diesem Zusammenhang haben wir die gen-, aber auch die redoxregulatorischen Effekte verschiedener Mikronährstoffe auf Enzyme und Signaltransduktionswege untersucht. Weitere Schwerpunkte unserer Arbeit waren die Aufklärung des Metabolismus und die Charakterisierung der genregulatorischen Funktion von Vitamin E.

Selenoproteine

Antje Banning, Kathrin Müller-Schmehl, Kerstin Schnurr, Zewen Zhou

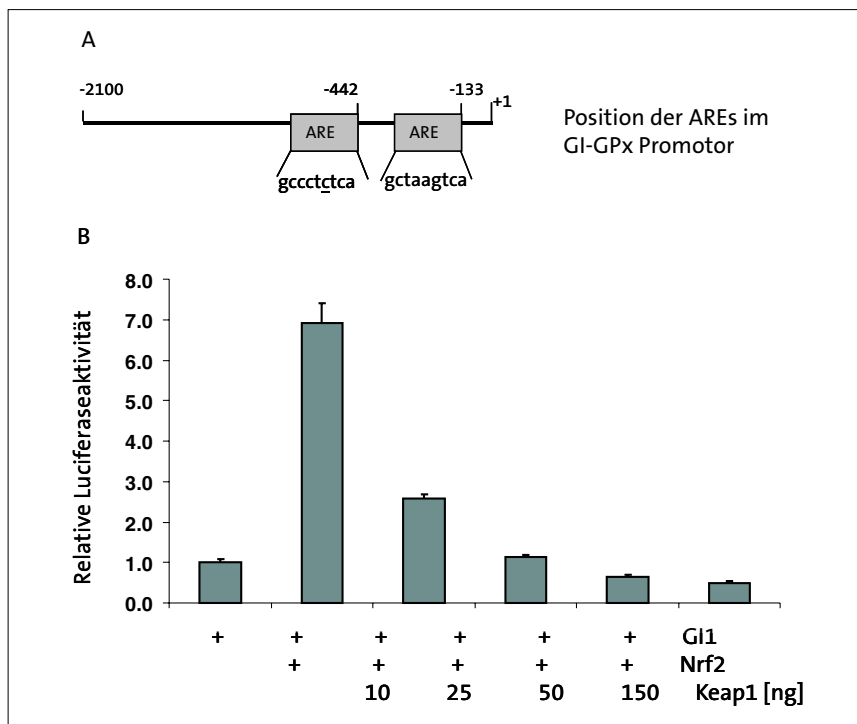
Das menschliche Selenoproteom enthält 25 Selenoproteine, wobei von längst nicht allen die Funktion bekannt ist. Fünf der Selenoproteine sind Glutathionperoxidasen (GPx). Alle reduzieren mit Hilfe von Glutathion Hydroperoxide zu den entsprechenden Alkoholen und werden deshalb vereinfacht als „antioxidative“ Enzyme bezeichnet. Dies wird den Glutathionperoxidasen nicht gerecht. Lediglich die GPx1 (klassische oder cytosolische GPx, cGPx) hat eindeutig antioxidative Funktionen. Die GPx2 (gastro-

Summary Reactive oxygen species have long been considered to play a significant role in the pathogenesis of several diseases, including atherosclerosis and cancer, diseases in which nutrition may play a preventive role. Therefore, “antioxidant” micronutrients such as vitamin E and selenium have been clinically tested for their preventive potential. The results were often not convincing. It was slowly recognized that reactive oxygen species have essential physiological functions and that not all effects of vitamin E and selenium are based on their “antioxidant” properties. Redox- active micronutrients as well as flavonoids, isothiocyanates such as sulforaphane, curcumin, or organosulfur compounds, may act pro- or antioxidative, depending on their reaction partners. They alter the cellular redox balance, which can have severe consequences for the organism. Signaltransduction pathways of inflammatory processes, which play a role in atherosclerosis and in cancer, have proved to be especially redox-sensitive. Expression of many genes is redox-regulated as well. The aim of the department is to elucidate molecular mechanisms by which redox- active micronutrients might help to prevent atherosclerotic, inflammatory, or neoplastic diseases. In this connection, we have studied gene- and redox-regulatory effects of various dietary antioxidants on enzymatic and signaling pathways. Further focal points were the metabolism of vitamin E and the characterization of its gene-regulatory functions.

Selenoproteins

The human selenoproteome comprises 25 selenoproteins, most without a defined function. Five of these are glutathione peroxidases (GPx). All of them reduce hydroperoxides to the corresponding alcohols by means of glutathione and are thus called “antioxidative” enzymes. This does not do justice to the GPxs. Only GPx1 (classical GPx, cGPx) clearly has antioxidant functions. GPx2 (gastrointestinal GPx, GI-GPx) may act as a barrier against hydroperoxide absorption, which does not completely describe its biological role. GPx3 is

■ Identification of GI-GPx as target for Nrf2. (A) The GI-GPx promoter contains 2 Nrf2 sites (ARE's). The 3' ARE consists of an exact consensus sequence, whereas the 5' ARE has one mismatch (underlined). (B) Co-transfection of HepG2 cells with Nrf2 enhanced and with Keap1 inhibited the expression of a reporter gene driven by the 2100 bp fragment of the GI-GPx promoter. This is in line with the proposed mechanism of an Nrf2-mediated gene expression.



■ Identifizierung der GI-GPx als Zielgen für Nrf2.

(A) Der GI-GPx-Promotor enthält 2 Nrf2-Bindestellen (AREs), von denen die 3'-ständige eine exakte Konsensus-Sequenz aufweist. In der zweiten Nrf2-Bindestelle befindet sich ein Basenaustausch (unterstrichen). (B) 2100 bp des GI-GPx-Promotors wurden vor ein Luciferase-Reportergen kloniert. HepG2-Zellen wurden mit dem resultierenden Konstrukt transfiziert (GI1). Co-Transfektion mit einem Nrf2-Expressionsplasmid aktivierte den Promotor 7-fach, zusätzliche Co-Transfektionen mit steigenden Konzentrationen eines Keap1-Expressionsplasmids hemmten den Nrf2-Effekt. Dies stimmt exakt mit dem postulierten Mechanismus einer Nrf2-vermittelten Genaktivierung überein.

2 Inhibition of the IL-1 signaling pathway by curcumin

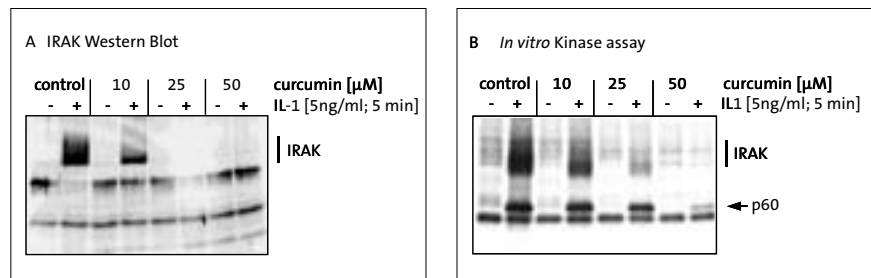
(A) Identification of the IRAK (IL-1 receptor-associated kinase) in an IL-1 receptor immunoprecipitate by Western blotting 5 min after stimulation with IL-1. Curcumin inhibited the recruitment of IRAK to the IL-1 receptor (concentration-dependent).

(B) Also, events following IRAK recruitment such as the phosphorylation of IRAK itself and an endogenous substrate (p60) were inhibited by curcumin in an *in vitro* kinase assay using the IL-1 receptor immunoprecipitate and subsequent autoradiography of electrophoretically separated proteins.

an extracellular enzyme, with poorly defined functions. GPx4 (phospholipid hydroperoxide GPx, PHGPx) forms the mitochondrial capsule of sperm cells by oxidative cross-linking to still unidentified partners via SH-groups, explaining the importance of selenium in fertility. PHGPx has also been suggested to modify thiols in other proteins.

Glutathione peroxidases and atherosclerosis:

Expression of cell adhesion molecules (CAM) and proliferation of smooth muscle cells (SMC) are early and key events in atherogenesis. CAMs are induced by cytokines and oxidants. Transcription-factor systems that react to oxidation are, e.g., the NF- κ B and the Keap1/Nrf2 system. NF- κ B regulates the response to immune stimuli and cell damage. The activation of Nrf2 enhances the capacity to react to oxidative or other forms of stress. To examine the role of glutathione peroxidases in atherogenesis, we overexpressed an antioxidant (PHGPx) and an oxidant (15-lipoxygenase, 15-LOX) enzyme in rabbit aortic SMC and analyzed their influence on basal and IL-1-induced vascular CAM (VCAM-1) expression. Surprisingly, both enzymes did not act oppositely, both induced heme oxygenase-1 (HO-1), a prototype of Nrf2-regulated enzymes. Both inhibited SMC proliferation and NF- κ B activation required for VCAM-1 expression, effects which can also be exerted by HO-1. The unidirectional effect of supposedly antagonistic enzymes can be explained by the observed oxidation of protein thiols in cells overexpressing PHGPx or 15-LOX. Modification of thiols in Keap1, which sequesters Nrf2 in the cytosol, is required for the release of Nrf2 and its translocation into the nucleus. With PHGPx, a direct modification of thiols may be possible, whereas thiols can be oxidized by hydroperoxides produced by 15-LOX. Both enzymes thus cause a moderate oxidative stress that obviously renders cells refractory for further atherogenic stimuli.



2 Hemmung des IL-1-Signalweges durch Curcumin

(A) Nachweis der IRAK in einem IL-1-Rezeptor Immunpräzipitat im Western Blot 5 min nach Stimulierung mit IL-1. Curcumin hemmte konzentrationsabhängig die Rekrutierung von IRAK an den Rezeptor.

(B) Auch der Rekrutierung nachfolgende Ereignisse am IL-1 Rezeptor, wie die Phosphorylierung der IRAK selbst und die eines endogenen Substrats (p60), wurden konzentrationsabhängig von Curcumin gehemmt. Der Nachweis erfolgte durch eine *in vitro* Kinase-Reaktion am IL-1-Rezeptor-Immunpräzipitat und anschließende Autoradiographie der gelelektrophoretisch getrennten Proteine.

intestinale GPx, GI-GPx) wurde als Barriere für die Hydroperoxidabsorption bezeichnet, was auch nicht vollständig ihrer biologischen Bedeutung gerecht wird. Die GPx3 ist ein extrazelluläres Enzym mit ungeklärter Funktion. Die GPx4 (Phospholipidhydroperoxid Glutathionperoxidase, PHGPx) bildet mit noch unbekanntem Reaktionspartnern durch oxidative Vernetzung von SH-Gruppen die mitochondriale Kapsel von Spermien, was die Bedeutung von Selen in der Fertilität erklärt. Die PHGPx soll auch Thiole anderer Proteine modifizieren. Die Funktion der GPx6 (GPx5 ist kein Selenoprotein) wurde noch nicht untersucht.

Glutathionperoxidasen und Atherosklerose

Die Expression von zellulären Adhäsionsmolekülen (CAM) und die Proliferation glatter Muskelzellen (SMC) sind frühe und zentrale Ereignisse in der Atherogenese. CAMs werden durch Cytokine oder oxidative Prozesse induziert. Transkriptionsfaktorsysteme, die auf Oxidation reagieren, sind z.B. das NF- κ B und das Keap1/Nrf2 System. NF- κ B reguliert die Antwort auf Immunstimuli oder Zellschädigung, während eine Aktivierung von Nrf2 die Kapazität der Zelle erhöht, auf oxidativen oder anderen Stress zu reagieren. Um den Einfluss von Redoxprozessen auf die Entstehung von atherosklerotischen Erkrankungen zu untersuchen, haben wir SMC aus Kaninchenarterien mit einem „antioxidativen“ (PHGPx) bzw. mit einem „oxidativen“ (15-Lipoxygenase, 15-LOX) Enzym transfiziert und die Auswirkungen auf die basale und die Interleukin-1 (IL-1)-induzierte Expression des vaskulären CAM (VCAM-1) analysiert. Überraschenderweise verhielten sich die Enzyme nicht – wie erwartet – konträr. Beide Enzyme induzierten die Hämoxxygenase-1 (HO-1), ein Enzym, das als Prototyp der Nrf2-regulierten Enzyme gilt. Zudem hemmten sie die Proliferation der SMC und die für die Expression von VCAM-1 unabdingbare Aktivierung von NF- κ B, Effekte, die auch durch HO-1 erzielt werden können. Der gleichgerichtete Effekt

der sonst als Gegenspieler betrachteten Enzyme kann mit der beobachteten Oxidation von Proteinthiolen in PHGPx- oder 15-LOX-überexprimierenden Zellen erklärt werden. Eine Modifikation von Thiolen in Keap1, das Nrf2 bindet und so im Zytosol hält, ist Voraussetzung für eine Freisetzung von Nrf2 und seiner Translokation in den Kern. Im Falle der PHGPx kann die Modifizierung von Thiolen direkt, im Falle der 15-LOX indirekt über die Produktion von Hydroperoxiden erfolgen. Beide Enzyme verursachen somit auf unterschiedliche Weise einen moderaten oxidativen Stress, der Zellen offenbar refraktär für atherogene Stimuli macht.

Glutathionperoxidasen und Krebs

Die GI-GPx ist in humanen Tumoren des Dickdarms hochreguliert. GPx1/GPx2 doppel *knock-out* Mäuse entwickeln Colitis und Mikroflora-assoziierte Tumore im Colon und Dünndarm. Beide Befunde deuten auf eine wichtige Funktion der GI-GPx bei inflammatorischen Prozessen und bei der Krebsentstehung hin. Wie viele Gene, die für Proteine mit anti-karzinogenem Potential kodieren, enthält der GI-GPx Promotor eine Nrf2-Bindungsstelle. Um ihre Funktionalität zu testen, haben wir den GI-GPx Promotor vor ein Reportergen kloniert. Überexpression von Nrf2 induzierte das Reportergen, was durch Co-Transfektion mit Keap1 konzentrationsabhängig verhindert wurde (Abb. 2). Auch Sulforaphan, Curcumin und t-Butylhydrochinon, die zu den typischen Nrf2-Aktivatoren zählen, induzierten das Reportergen sowie endogene GI-GPx. Die GI-GPx wurde somit als Zielgen für Nrf2 identifiziert. Ob die beobachtete anti-inflammatorische und/oder anti-karzinogene Wirkung von Nrf2-Aktivatoren auf eine Induktion der GI-GPx zurückzuführen ist, soll nun an einem Mausmodell, das gemeinsam mit den Abteilungen Ernährungstoxikologie (ETOX) und Gastrointestinale Mikrobiologie (GAMI) entwickelt wird, untersucht werden.

Redoxregulation entzündlicher Prozesse

Gaby-Fleur Böl, Nadine Jurrmann

Interleukin-1 (IL-1) spielt eine Schlüsselrolle im inflammatorischen Geschehen. Der IL-1-Signaltransfer enthält Schritte, die möglicherweise redox-reguliert sind und soll auch die Produktion von reaktiven Sauerstoffverbindungen beinhalten. Dies macht den IL-1-Signalweg zu einem idealen Modell, an dem der molekulare Mechanismus von anti-inflammatorisch wirkenden Mikronährstoffen untersucht werden kann. Wir haben solche Untersuchungen durchgeführt und dabei auch einige der im Folgenden beschriebenen Schritte im IL-1-Signaltransfer charakterisiert. Nach Bindung von IL-1 an seinen Rezeptor werden diverse Proteine an den Rezeptor rekrutiert. Hierzu gehören u.a. die IL-1-Rezeptor-assoziierte Kinase (IRAK), IRAK4 und das Adapterprotein MyD88. IRAK wird am Rezeptor hyperphosphoryliert. Dadurch dissoziiert sie vom Rezeptor und transloziert in den Zellkern. Für die Translokation und die Phosphorylierung nukleärer Zielproteine war die Kinasedomäne der IRAK erforderlich. Thiol-modifizierende Agenzien, wie z.B.

Curcumin, blockierten Thiolgruppen in der IRAK und verhinderten so die Rekrutierung von IRAK an den Rezeptor (Abb. 2). Auch nachfolgende Ereignisse wie die Aktivierung von NF- κ B oder die Induktion von Adhäsionsmolekülen waren gehemmt. Dies identifizierte die Rekrutierung der IRAK als den frühesten redox-regulierten Schritt im IL-1-Signaltransfer, der ein wichtiges Ziel für redox-aktive Immunmodulatoren sein könnte.

Metabolismus und genregulatorische Funktion von Vitamin E

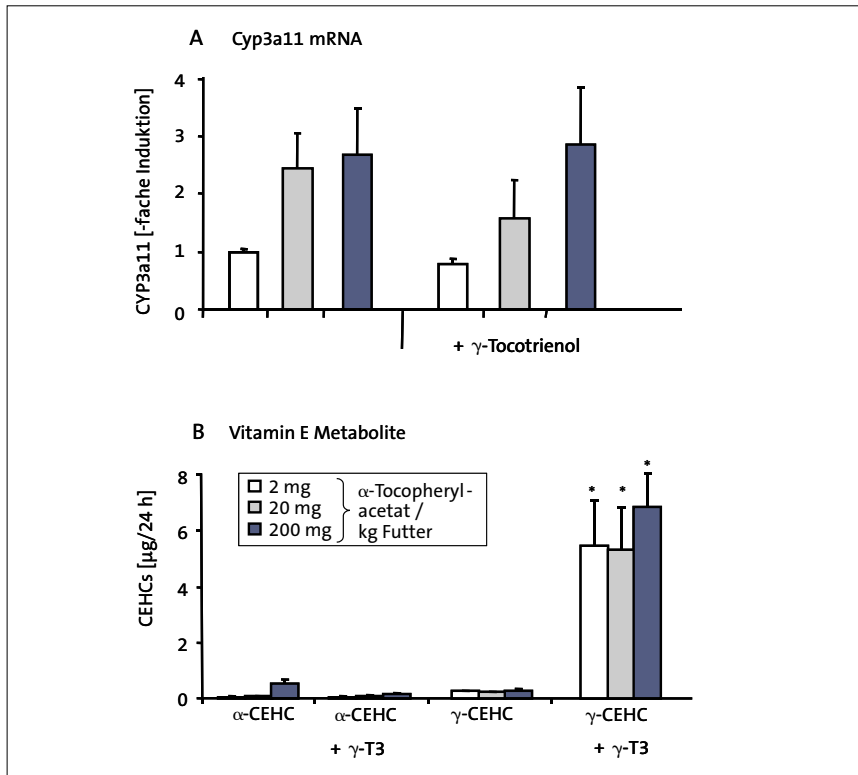
Christiane Bumke-Vogt, Paul Pfluger, Nico Landes, Dirk Kluth, Kathrin Weiss

Der Metabolismus von Vitamin E wurde fast vollständig in unserer Abteilung aufgeklärt. Der Mechanismus ist für alle Vitamin E-Formen gleich, die Seitenkette wird verkürzt und die Endprodukte (CEHC) im Urin ausgeschieden. Allerdings werden die individuellen E-Vitamer in höchst unterschiedlichem Ausmaß abgebaut, was ihre Bioverfügbarkeit entscheidend beeinflussen dürfte. Der Abbau der Seitenketten von Tocopherolen und

Glutathione peroxidases and cancer: GI-GPx is enhanced in human colon cancer. GPx1/GPx2 double-KO mice develop colitis and microflora-associated tumors in colon and small intestine pointing to a crucial role of GI-GPx in the inflammatory response and in carcinogenesis in the gastrointestinal tract. The GI-GPx promoter contains an Nrf2 site as do many genes encoding for proteins with anticarcinogenic potential. To test its functional activity, we cloned the GI-GPx promoter in front of a reporter gene. Overexpression of Nrf2 induced the reporter gene, which was prevented by co-transfection with Keap1 (Fig. 1). Sulforaphane, curcumin, and butyl hydroquinone, typical Nrf2 activators, induced the reporter gene and also endogenous GI-GPx, identifying GI-GPx as target for Nrf2. Whether the anti-inflammatory and anti-carcinogenic effect of Nrf2 activators are linked to an up-regulation of GI-GPx will be investigated in a mouse cancer model in cooperation with the Departments of Nutritional Toxicology (ETOX) and Gastrointestinal Microbiology (GAMI).

Redox regulation of inflammatory processes

Interleukin-1 (IL-1) plays a key role in the inflammatory process. Its signaling pathway contains steps that putatively are redox-regulated, and reactive oxygen species have been postulated to act as mediators in the pathway. This makes the IL-1-mediated signal transduction an ideal model to study the molecular mechanism of anti-inflammatory micronutrients. Many of the signaling steps described below were detected during these investigations. Upon binding of IL-1 to its receptor, various proteins are recruited to the receptor, including the IL-1 receptor-associated kinase (IRAK), IRAK4, and the adapter protein MyD88. IRAK is hyperphosphorylated, then it dissociates from the receptor and translocates into the nucleus. The kinase domain of IRAK is pivotal for these events. Thiol-modifying agents such as curcumin blocked IRAK



2 Die Cyp3a11 mRNA-Expression wird *in vivo* durch α -Tocopherol aber nicht durch γ -Tocotrienol (γ -T3) induziert. Der Cyp3a11 mRNA-Gehalt in Lebern von Mäusen, die für 3 Monate mit einer α -Tocopherol-defizienten (2 mg α -Tocopherylacetat/kg Futter, weiße Balken), – normalen (20 mg/kg, graue Balken), und – überdosierten (200 mg/kg, blaue Balken) Diät gefüttert wurden und die in der letzten Woche jeweils zur Hälfte 250 μ g γ -T3 täglich erhielten, wurde mittels *Real-time* Polymerase-Kettenreaktion (PCR) bestimmt. (A) α -Tocopherol erhöhte konzentrationsabhängig die Expression der Cyp3a11 mRNA, γ -T3 hatte keinen Effekt. (B) Das Fehlen einer Cyp3a11 Induktion durch γ -T3 kann durch seinen schnellen und effizienten Abbau zu γ -CEHC und dessen Ausscheidung im Urin erklärt werden. * $p < 0,05$ gegen die entsprechende α -Tocopherol-defiziente Gruppe

3 Cyp3a11 mRNA expression is induced by α -tocopherol but not by γ -tocotrienol (γ -T3). Hepatic Cyp3a11 mRNA levels were measured by real-time polymerase chain reaction in mice fed with the diets indicated for 3 months. Half of each group received 250 μ g γ -T3 daily during the last week. (A) α -Tocopherol increased Cyp3a11 mRNA dose-dependently, whereas γ -T3 did not. (B) The failure of γ -T3 to induce Cyp3a11 can be explained by its fast and efficient transformation to γ -CEHC, which is excreted in the urine. * $p < 0.05$ versus the respective α -tocopherol-deficient group

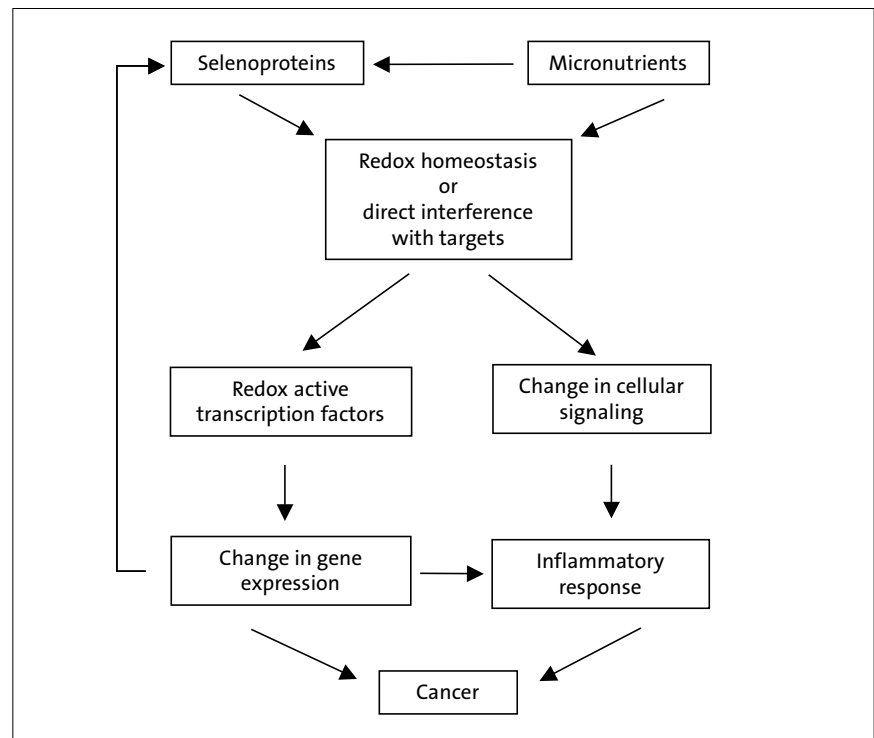
4 Projects and aims of the Department

thiols and thereby prevented its recruitment (Fig. 2), so that, downstream signaling events, i.e., activation of NF- κ B, phosphorylation of nuclear targets, or induction of cell adhesion molecules, were inhibited as well. Recruitment of IRAK thus proved to be the most upstream redox-regulated step of IL-1 signaling, possibly an attractive target of redox-active immune modulators.

Metabolism and gene regulatory function of vitamin E

We have almost completely elucidated the metabolism of vitamin E. Whereas the mechanism is identical for all forms of vitamin E, resulting in the final products (CEHC, excreted in the urine), the degree of degradation differs substantially between different forms. The side-chain degradation of tocopherols and tocotrienols occurs by β -oxidation, which requires an initial ω -hydroxylation. This is catalyzed by cytochrome P450 enzymes (CYP). Many CYP substrates induce their own degrading enzymes, which are regulated by the activation of the pregnane X receptor (PXR). Also vitamin E induced PXR-driven reporter genes and endogenous CYP3A4 in HepG2 cells. Tocotrienols displayed the highest activity, followed by δ -, α -, and γ -tocopherol.

In cooperation with M. Ristow, Department of Clinical Nutrition (KLE), the induction of Cyp3a11 (murine homolog of human CYP3A4), by α -tocopherol was confirmed in mice. Surprisingly, γ -tocotrienol did not show any effect (Fig. 3). This failure was easily explained by its fast and efficient metabolism, which prevented a significant accumulation of γ -tocotrienol in liver and plasma. The data show that (1) vitamin E, in principle, is able to activate genes and to interact with transcription factors, (2) high doses of α -tocopherol may interact with the synthesis of enzymes metabolizing drugs and xenobiotics, and (3) novel functions of individual forms of vitamin E detected *in vitro* can only be manifested *in vivo* if the compounds accumulate due to low metabolic turnover - unless the metabolites exert these functions themselves. Anti-inflammatory and anti-carcinogenic functions of intact vitamin E and of metabolites, as discussed for γ -CEHC, will be tested in future research.



4 Übersicht über Projekte und Ziele der Abteilung Biochemie der Mikronährstoffe (BIM).

Tocotrienolen erfolgt über eine β -Oxidation, was eine initiale ω -Hydroxylierung erfordert. Diese wird von Cytochrom P450-Enzymen (CYP) katalysiert, deren Identität noch nicht ganz klar ist. Es werden CYP4F2 und CYP3A4 diskutiert. Viele CYP-Substrate induzieren die sie abbauenden Enzyme selbst, wobei die Induktion durch Aktivierung des Pregnan-X-Rezeptors (PXR) reguliert wird. Wir konnten an einem Zellkulturmodell zeigen, dass auch Vitamin E PXR-regulierte Reportergene und endogenes CYP3A4 induziert. Tocotrienole waren hierbei am effektivsten, gefolgt von δ -, α - und γ -Tocopherol.

In Zusammenarbeit mit M. Ristow, Abteilung Klinische Ernährung (KLE), haben wir die Induktion von Cyp3a11, dem murinen Homolog des humanen CYP3A4, durch α -Tocopherol *in vivo* bestätigt. Dagegen induzierte γ -Tocotrienol Cyp3a11 nicht (Abb. 3), was mit einer enorm hohen Abbaurate erklärt werden konnte. Diese Untersuchungen zeigen,

dass: (1) Vitamin E im Prinzip in der Lage ist, Gene zu aktivieren; (2) hohe Dosen α -Tocopherol über die Induktion von CYP3A4 mit dem Fremdstoffmetabolismus interferieren könnten; und (3) individuelle Formen von Vitamin E *in vitro* beobachtete Funktionen *in vivo* nur ausüben können, wenn sie nicht oder wenig metabolisiert werden – es sei denn, die Metabolite haben selbst eine entsprechende Wirkung. Anti-karzinogene und anti-inflammatorische Funktionen von Vitamin E und seiner Metabolite, die insbesondere für γ -CEHC diskutiert werden, sollen in Zukunft überprüft werden.

Technische Mitarbeiter/innen

Gerlinde Aust
Jörg Bittner
Stefanie Deubel
Elvira Krohn
Edith Wendt

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Originalarbeiten/Original Papers

Al-Taie, O.H., Uceyler, N., Eußner, U., Jakob, F., Mörk, H., Scheurlen, M., Brigelius-Flohé, R., Schöttker, K., Abel, J., Thalheimer, A., Katzenberger, T., Illert, B., Melcher, R., Köhrle, J.: Expression profiling and genetic alterations of the selenoproteins GI-GPx and SePP during colorectal carcinogenesis. *Nutr. Cancer* 48, 6-14 (2004).

Banning, A., Schnurr, K., Bö, G.F., Kupper, D., Müller-Schmehl, K., Viita, H., Ylä-Herttuala, S., Brigelius-Flohé, R.: Inhibition of basal and interleukin-1-induced VCAM-1 expression by phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase and 15-lipoxygenase in rabbit aortic smooth muscle cells. *Free Radic. Biol. Med.* 36, 135-144 (2004).

Birringer, M., EyTina, J.H., Salvatore, B.A., Neuzil, J.: Vitamin E analogues as inducers of apoptosis: structure-function relation. *Br. J. Cancer*, 88, 1948-1955 (2003).

Bö, G.F., Jurrmann, N., Brigelius-Flohé, R.: Recruitment of the interleukin-1 receptor (IL-1RI) associated kinase IRAK to the IL-1RI is redox regulated. *Biol. Chem.* 384, 609-617 (2003).

Landes, N., Pfluger, P., Kluth, D., Birringer, M., Rühl, R., Bö, G.F., Glatt, H., Brigelius-Flohé, R.: Vitamin E activates gene expression via the pregnane X receptor. *Biochem. Pharmacol.* 65, 269-273 (2003).

Müller, C., Winkler, K., Brigelius-Flohé, R.: 3'UTRs of glutathione peroxidases differentially affect selenium-dependent mRNA stability and selenocysteine incorporation efficiency. *Biol. Chem.* 384, 11-18 (2003).

Müller-Schmehl, K., Beninde, J., Finckh, B., Florian, S., Dudenhausen, J.W., Brigelius-Flohé, R., Schuelke, M.: Localization of α -tocopherol transfer protein in trophoblast, fetal capillaries' endothelium and amnion epithelium of human term placenta. *Free Rad. Res.* 38, 413-420 (2004).

Ristow, M., Mulder, H., Pomplun, D., Schulz, T.J., Müller-Schmehl, K., Krause, A., Fex, M., Puccio, H., Müller, J., Isken, F., Spranger, J., Müller-Wieland, D., Magnuson, M.A., Möhlig, M., Koenig, M., Pfeiffer, A.F.H.: Frataxin deficiency in pancreatic islets causes diabetes due to loss of β cell mass. *J. Clin. Invest.* 112, 527-534 (2003).

Rühl, R., Szech, R., Landes, N., Pfluger, P., Kluth, D., Schweigert, F.J.: Carotenoids and their metabolites are naturally occurring activators of gene expression via the pregnane X receptor. *Eur. J. Nutr.* 43, 336-343 (2004).

Übersichtsarbeiten/Reviews

Brigelius-Flohé, R.: Vitamin E and drug metabolism. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 305, 737-740 (2003).

Brigelius-Flohé, R., Banning, A., Schnurr, K.: Selenium-dependent enzymes in endothelial cell function. *Antioxid. Redox Signal.* 5, 205-215 (2003).

Brigelius-Flohé, R., Banning, A., Kny, M., Bö, G.F.: Redox events in interleukin-1 signaling. *Arch. Biochem. Biophys.* 423, 66-73 (2004).

Landes, N., Birringer, M., Brigelius-Flohé, R.: Homologous metabolic and gene activating routes for vitamins E and K. *Mol. Aspects Med.* 24, 337-344 (2003).

Buchbeiträge/Book Articles

Brigelius-Flohé, R., Müller, C., Florian, S., Müller-Schmehl, K.: Selenium in cancer prevention. Optimization of selenoprotein expression or specific functions of selenium compounds? In: Scheppach, W., Scheurlen, M. (eds.) *Exogenic Factors in Colonic Carcinogenesis – Falk Symposium 128*, Kluwer Acad. Publ., Lancaster, UK, 275-286 (2003).

Sonstige/Others

Brigelius-Flohé, R., Köhrle, J.: 55th Mosbach Colloquium: how nutrients influence gene activity. *Biol. Chem.* 385, 569 (2004).

Drittmittelprojekte External Funding

Mechanismus und Funktion der Seitenkettenverkürzung von Tocopherolen
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.11.2000–30.06.2003

Identifizierung redoxregulierter Proteine bei Interleukin-1 vermittelten Signalen
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.05.2001–31.03.2004

Redoxprozesse in der Expression von Adhäsionsmolekülen. Rolle der Phospholipidhydroperoxid-Glutathionperoxidase (PHGPx) und der 15-Lipoxygenase
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.05.2001–30.04.2003

Regulation der Genexpression durch Vitamin E unter besonderer Berücksichtigung von Genen für Fremdstoff-metabolisierende Enzyme
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.08.2004–31.07.2006

Regulation of the tissue-specific expression of individual glutathione peroxidases (im Schwerpunktprogramm 1087: Selenoproteine – Biochemische Grundlagen und klinische Bedeutung)
Finanzierung: DFG
Laufzeit: 01.07.2002–31.07.2006

VITAGE: Fat-soluble vitamin status and metabolism during ageing: Functional and nutritional consequences
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.01.2000–31.12.2003

Promotionsstipendium
Finanzierung: Sonnenfeld Stiftung
Laufzeit: 01.06.2004–31.05.2005

Summary The effect of a diet rich in fruits, vegetables, and cereals on the incidence of coronary heart diseases and stroke has been well established by epidemiological studies. Fruits and vegetables contain many types of dietary fiber and secondary, non-nutritive components such as polyphenols. The beneficial effects thus could be due to consumption of such components. Evidence from cell cultures and animal models indicates a certain chemopreventive value of polyphenolics in inflammatory and neoplastic diseases. However, pleiotropic molecular mechanisms underlying these potentially health-protective effectors are still unknown.

Dysfunction of intracellular protein degradation, via the ubiquitin-proteasome pathway, is a key event in several diseases. Our research is dedicated to the working hypothesis that catalytic activities of certain enzymes of the ubiquitin-proteasome system (UPS) might be targeted by dietary polyphenols, which could serve to prevent nutrition-associated diseases. We have thus studied the effects of various flavonoids, a subgroup of polyphenols, on proteasome inhibition and modulation of gene expression.

In vitro studies give limited answers to the complex questions on the prevention of nutrition-associated diseases. Thus, we also aim to elucidate the physiological effects of dietary fiber from oat products and polyphenols from enzymatically processed fruit juices on microflora and cholesterol metabolism of animals and humans.

Modulation of intracellular proteolysis, of gene expression, and physiological parameters by non-nutritive food factors

Structure-function relations of proteasome inhibition by polyphenols

More than 5,000 different flavonoids and phenolic acids and their biotransformation products are known from various food sources such as fruit, vegetables, tea, wine, and chocolate. Inhibitory properties of six structurally related subgroups of flavonoids

1 The 20S proteasome, a multicatalytic threonine nucleophilic protease, is the proteolytic executor of the ubiquitin-proteasome system (UPS). Its six active catalytic sites are hidden in the internal cavities of the barrel-shaped 20S protein complex and display multiple cleavage preferences. Associated with proteasome activator PA700, it recognizes, binds, unfolds, and degrades ubiquitylated proteins. PA28 is another proteasome activator. CHYT, chymotrypsin-like activity; TRYP, trypsin-like activity; CASP, caspase-like activity. Relative inhibition of CHYT *in vitro* by 4 flavonoids.

Leitung: PD Dr. Ralf Stohwasser

Zusammenfassung Die protektive Wirkung von Obst, Gemüse und Getreide – Kernelementen einer mediterranen Diät – ist vor allem für koronare Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Schlaganfälle durch epidemiologische Studien gut belegt. Ebenso scheint ein erhöhter Konsum dieser Lebensmittel der Krebsentstehung vorzubeugen. Früchte und Gemüse enthalten viele Ballaststoffe und sekundäre Pflanzenstoffe, wie Polyphenole. Die krankheitspräventiven Effekte könnten daher auf den Verzehr dieser Nahrungskomponenten zurückzuführen sein. So sprechen Ergebnisse aus Zellkultur- und Tiermodellen für einen gewissen chemopräventiven Wert polyphenolischer Substanzen bei entzündlichen und neoplastischen Erkrankungen. Die vielfältigen molekularen Mechanismen, die diesen potentiell gesundheitsprotektiven Effektoren zugrunde liegen, sind allerdings noch unbekannt.

Ein Versagen des intrazellulären Proteinabbaus, der über den Ubiquitin-Proteasom-Weg erfolgt, ist ein Schlüsselereignis bei verschiedenen Erkrankungen. Unsere Forschung ist der Arbeitshypothese gewidmet, dass Enzyme des Ubiquitin-Proteasom-Systems (UPS) Ansatzpunkte einer präventiven Polyphenolwirkung bei ernährungsabhängigen Erkrankungen sein können. Die Arbeitsgruppe hat in diesem Zusammenhang die Proteasom-inhibitorischen und die Genexpression-modulierenden Eigenschaften verschiedener Flavonoide, einer Subgruppe der Polyphenole, untersucht.

Da *in vitro* Studien allein der Komplexität von Fragestellungen zur Prävention ernährungsabhängiger Erkrankungen nicht gerecht werden können, ist der zweite Arbeitsschwer-

punkt der Arbeitsgruppe den physiologischen Wirkungen von Ballaststoffen aus Haferprodukten und Polyphenolen aus enzymatisch hergestellten Extraktions-Fruchtsäften gewidmet. In Tiermodellen und Humanstudien konnten wir modulierende Effekte auf die Mikroflora und den Cholesterolfstoffwechsel belegen.

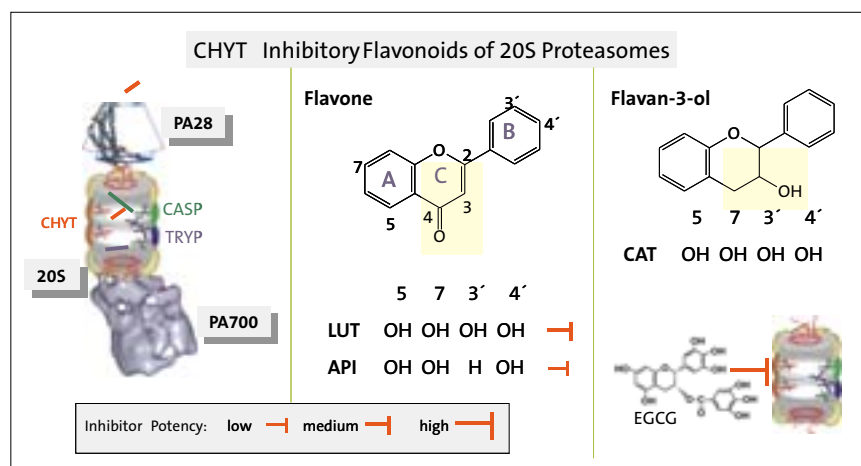
Modulation intrazellulärer Proteolyse, der Genexpression und physiologischer Parameter durch nicht-nutritive Nahrungsfaktoren

Struktur-Funktionsbeziehungen der Proteasominhibierung durch Polyphenole

Anne Brockhoff, Ralf Stohwasser

Mehr als 5.000 verschiedene Flavonoide und Phenolsäuren sowie ihre Biotransformationsprodukte sind aus verschiedenen Nahrungsquellen wie Früchten, Gemüse, Tee, Wein und Schokolade bekannt. Die Inhibitoreigenschaften von sechs strukturell verwandten Subgruppen der Flavonoide wurden untersucht und sind in Abbildung 1 zusammengefasst. Die Untersuchung von Struktur-Funktions-Beziehungen zeigt, dass die catecholische Struktur des B-Rings, das C4-Carbonylkohlenstoffatom und die C2-C3-Doppelbindung des C-Rings die maßgeblichen strukturellen Erfordernisse für die Proteasom-inhibitorischen Eigenschaften der Flavonoide darstellen. Teepolyphenole ohne C4 Carbonylgruppe und mit gesättigter C2-C3-Flavanolstruktur hemmen die Chymotrypsin-ähnliche (CHYT) Aktivität des Proteasoms nicht.

Im Verlauf unserer Untersuchungen polyphenolischer sekundärer Pflanzenmetabolite auf



1 Das 20S-Proteasom, eine multikatalytische Threonin-Nukleophil-Hydrolase, ist die proteolytische Einheit des Ubiquitin-Proteasom-Systems (UPS). Seine sechs aktiven, katalytischen Zentren mit verschiedenen Schnittpräferenzen sind in internen Reaktionsräumen des tonnenförmigen 20S-Komplexes verborgen. In Assoziation mit Proteasomaktivator PA700 erkennt, bindet, entfaltet und verdaut das Proteasom ubiquitylierte Proteine. PA28 ist ein weiterer Proteasomaktivator. CHYT, Chymotrypsin-ähnliche Aktivität; TRYP, Trypsin-ähnliche Aktivität; CASP, Caspase-ähnliche Aktivität. Die relativen *in vitro* CHYT-Inhibitoraktivitäten von vier Vertretern aus Untergruppen der Flavonoide sind dargestellt: LUT, Luteolin; API, Apigenin; CAT, Catechin, EGCG, Epigallocatechingallat.

Proteasom-modulatorische Eigenschaften *in vitro* und in HT29-Adenokarzinomzellen beobachteten wir, dass Epigallocatechingallat (EGCG), ein Teepolyphenol, ähnliche inhibitorische Eigenschaften aufweist wie konventionelle Proteasominhibitoren (Abb. 21). Synthetische Proteasominhibitoren werden derzeit in klinischen Studien getestet, da ihr Einfluss auf Proliferation und Apoptose sie zu geeigneten Kandidaten der Krebstherapie macht.

Modulation der Genexpression durch Flavonoide

Barbara Raab, Ralf Stohwasser

Luteolin, ein Flavon, das in Petersilie, Oliven, Artischocken und Kräutertees vorkommt, ist in der medizinischen Forschung aufgrund anti-inflammatorischer und anti-neoplastischer Wirkungen von großem Interesse. Wie wir zeigen konnten, beeinflusst Luteolin die Proteasomaktivität *in vitro* (Abb. 22). Da Proteasomen an der Transkriptionskontrolle beteiligt sind, sind Untersuchungen zum Einfluss von Luteolin auf die Genexpression offensichtlich von Interesse. Oligonucleotid-Microarrays von MWG Biotech, die 10.000 Gene repräsentieren (10k), wurden verwendet, um Kandidatengene einer Modulation durch Luteolin in HT-29-Adenokarzinomzellen zu identifizieren (Abb. 23). Die hohe Zahl von ungefähr 370 regulierten Kandidatengenen erforderte sen-

sitive Methoden, die die gleichzeitige Messung der Expression mehrerer Gene erlauben. Daher wurden einige der Kandidatengene mittels Real-time Polymerase-Kettenreaktion (PCR)- und Northern-Technologie im Hinblick auf einen genmodulatorischen Einfluss von Luteolin überprüft. Die Genexpressionsdaten belegen unsere Ausgangshypothese, dass Luteolin die Expression krankheitsrelevanter Gene beeinflusst.

Physiologische Wirkungen von Ballaststoffen und Polyphenolen

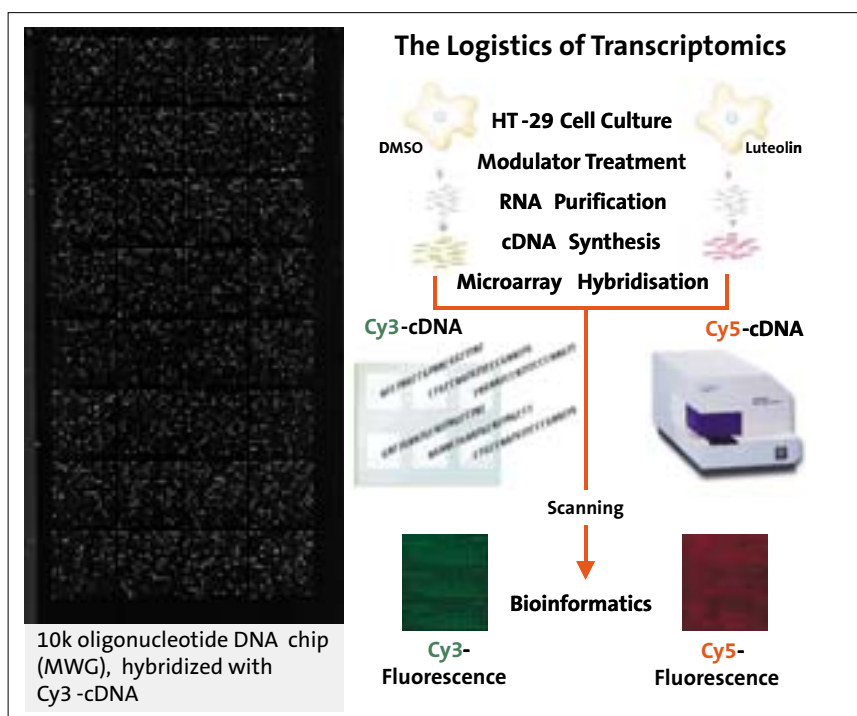
Gerhard Dongowski, Barbora Drzikova, Sabine Sembries

Um zur Aufklärung der Ballaststoffwirkung beizutragen, untersuchten wir *in vivo* die physiologischen Effekte von Haferprodukten, die reich an Gesamtballaststoffen, β -Glucan und resistenter Stärke sind. Hierbei interessierten uns besonders die Effekte auf die intestinale Mikroflora und den Cholesterolfstoffwechsel. Im Darminhalt und in den Fäzes von Ratten, die eine haferproduktreiche Diät erhielten, nahm die Zahl der coliformen Keime ($p < 0,05$) ab und die der Bifidobakterien ($p < 0,05$) zu. Ebenso stieg die Konzentration kurzkettiger Fettsäuren (short-chain fatty acids, SCFA) ($p < 0,05$), die ein Hauptendprodukt der mikrobiellen Polysaccharid-Fermentation sind. Zudem war die Konzentration der in der Leber gebildeten, primären Gallensäuren (GS) und der neutralen Sterole

towards the chymotrypsin-like (CHYT) activity of 20S proteasomes are summarized in Figure 24. Analysis of structure-function relations indicates that the catecholic B-ring structure, the C4 carbonyl carbon atom, and the C2-C3 double bond of the C-ring are the major structural requirements of inhibitory properties of flavonoids towards the 20S proteasome. Tea polyphenols lacking the C4 carbonyl group and containing a saturated C2-C3 flavanol structure are non-inhibitory as to CHYT activity. During a screening for polyphenolic secondary plant metabolites modulating catalytic activities of 20S proteasomes *in vitro* and in HT29 adenocarcinoma cells, we observed that epigallocatechingallate (EGCG), a tea polyphenol, has inhibitory properties similar to those of well-known proteasome-specific inhibitors (Fig. 25). Synthetic proteasome inhibitors and natural inhibitory compounds have recently become a focus of clinical investigations, since their impact on proliferation and apoptosis makes them suitable candidates for cancer therapy.

Modulation of gene expression by flavonoids

Luteolin, a flavone found in parsley, olives, artichokes, and certain herbal teas, is of interest in medical research for its anti-inflammatory and anti-neoplastic effects. Since we were able to demonstrate that luteolin affects proteasome activity *in vitro* (Fig. 26), and proteasomes are known to be involved in transcriptional control, the rationale of studying the gene expression affected by luteolin is obvious. Oligonucleotide microarrays from MWG Biotech representing 10,000 genes (10k) were used to identify candidate genes modulated in HT-29 adenocarcinoma cells by treatment with luteolin (Fig. 27). The high number of approximately 370 up- or downregulated candidate genes required sensitive methods that allowed more genes to be analyzed in parallel. Therefore, we evaluated some of the candidate genes with real-time polymerase chain reaction (PCR) and by Northern blotting in order to assess the modulatory impact of luteolin. These gene expression data confirm our initial hypothesis that luteolin affects the expression of disease-relevant genes.



23 Die Logistik der Transkriptomanalyse sowie die Fluoreszenzintensitäten eines Microarray-Hybridisierungsexperimentes, in dem 10.000 Gene der HT-29-Adenokarzinomzelllinie mit und ohne Modulatorbehandlung erfasst wurden, ist links dargestellt.

27 The logistics of transcriptomics. Left panel shows microarray results of approximately 10,000 genes of HT-29 adenocarcinoma cells treated with luteolin or the solvent control (dimethylsulfoxide, DMSO). The experimental sub-steps are indicated.

B (A) Analysis of short-chain fatty acids using gas chromatography. (B) Detection of bile acids in intestinal contents and feces using high performance liquid chromatography (HPLC).

Physiological effects of dietary fiber and polyphenols

We studied *in vivo* the physiological effects of oat products, which are rich in total fiber, β -glucan, and resistant starch, in order to further elucidate the effects of dietary fiber. We were especially interested in its effect on the intestinal microflora and cholesterol metabolism. In the intestinal contents and feces of rats fed a high-oat diet, the number of coliform bacteria decreased ($p < 0.05$) whereas the bifidobacteria increased ($p < 0.05$). This was paralleled by an increase in concentration of the short-chain fatty acids (SCFA; $p < 0.05$), major final products of microbial polysaccharide fermentation. The concentration of primary bile acids (BA) formed in the liver and of neutral sterols was also significantly increased in the feces. On the other hand, the relative percentage of secondary BA decreased. Secondary BA, products of microbial transformation of primary BA in the intestine, can cause or reinforce damage to cells of the intestinal mucosa. In this study, the extent of the effects of dietary fiber was influenced by the oat-product composition.

Tests with humans, in which subjects consumed 100 g of an oat extrudate in addition to their normal diet, gave similar results. It is interesting that the physiological parameters tended toward the initial values within 2 weeks after ending the intervention.

Additional analytical and physiological studies were carried out with enzymatically processed extraction juices, enriched in secondary, non-nutritive substances and dietary fiber from fruits and vegetables. In rats given these juices instead of water, we found not only a higher fermentative activity of the intestinal microflora but also the previously-described effects on the elimination of BA and neutral sterols. Analyses of urine samples also indicated that animals and humans metabolize and absorb secondary, non-nutritive food components such as flavonoids.

These results lead to the assumption that both dietary fiber and flavonoids affect the formation of SCFA and the elimination of steroids in the intestinal tract.



B (A) Gaschromatographische Analyse kurzketziger Fettsäuren. (B) Bestimmung von Gallensäuren in Intestinalinhalten und Fäzes mittels Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC).

in den Fäzes signifikant erhöht. Der prozentuale Anteil an sekundären GS war hingegen reduziert. Diese GS entstehen erst im Darm durch mikrobielle Umwandlung der primären GS und können Zellschäden in der Darmmukosa verursachen bzw. verstärken. Das Ausmaß der Ballaststoff-Effekte wurde in dieser Studie von der Haferprodukt-Zusammensetzung beeinflusst.

Eine am Menschen durchgeführte Versuchsreihe, in der Probanden zusätzlich zu ihrer normalen Kost 100 g eines Extrudates aus Hafer verzehrten, lieferte ähnliche Ergebnisse. Interessanterweise tendierten die physiologischen Parameter bereits 2 Wochen nach Beendigung der Interventionsphase wieder in Richtung der Ausgangswerte. Weitere analytische und physiologische Untersuchungen erfolgten mit enzymatisch hergestellten Extraktionssäften, die erhöhte Anteile an sekundären Pflanzenstoffen und Ballaststoffen aus Früchten und Gemüse auf-

wiesen. Bei Ratten, die diese Säfte anstelle von Wasser erhielten, stellten wir sowohl eine erhöhte Fermentationsaktivität ihrer intestinalen Mikroflora als auch die bereits beschriebenen Effekte auf die Ausscheidung von GS und neutralen Sterolen fest. Ferner zeigten Analysen von Urinproben, dass sowohl Tiere als auch Menschen sekundäre Pflanzenstoffe, wie Flavonoide, aus der Nahrung resorbieren und metabolisieren. Aufgrund dieser Resultate ist zu vermuten, dass sowohl Ballast- als auch sekundäre Pflanzenstoffe die Bildung von SCFA und die Ausscheidung von Steroiden im Intestinaltrakt wesentlich beeinflussen.

Technische Mitarbeiter/innen

Elke Chudoba
Horst Maischack
Monika Niehaus
Karin Richter

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Originalarbeiten/Original Papers

Amarowicz, R., Raab, B., Shahidi, F.: Antioxidant activity of Phenolic Fractions of Rapeseed. *J. Food Lipids* 10, 51-62 (2003).

Dongowski, G., Huth, M., Gebhardt, E.: Steroids in the intestinal tract of rats are affected by dietary fibre-rich barley-based diets. *Br. J. Nutr.* 90, 895-906 (2003).

Dongowski, G., Lorenz, A.: Intestinal steroids in rats are influenced by the structural parameters of pectin. *J. Nutr. Biochem.* 15, 196-205 (2004).

Dongowski, G., Drzikova, B., Gebhardt, E., Hampshire, J., Habel, A.: Einsatz der Extrusion zur Herstellung von Haferprodukten, die mit resistenter Stärke angereichert sind, und deren ernährungsphysiologische Bedeutung. *Dtsch. Lebensm.-Rdsch.* 100, 333-343 (2004).

Gebhardt, E., Habel, A., Dongowski, G., Drzikova, B., Hampshire, J.: Multifunktionelle Ballaststofflebensmittel auf Basis von Hafer. *Getreidetechnologie* 58, 80-85 (2004).

Kotcharian, A., Kunzek, H., Dongowski, G.: The influence of variety on the enzymatic degradation of carrots and on functional and physiological properties of the cell wall materials. *Food Chem.* 87, 231-245 (2004).

Lehmann, U., Rössler, C., Schmiedl, D., Jacobasch, G.: Production and physicochemical characterization of resistant starch type III derived from pea starch. *Nahrung/Food* 47, 60-63 (2003).

Loncar, M.B., Al-azze, E.D., Sommer, P.S., Marinovic, M., Schmehl, K., Kruschewski, M., Blin, N., Stohwasser, R., Gott, P., Kayadmir, T.: Tumour necrosis factor alpha and nuclear factor kappaB inhibit transcription of human TFF3 encoding a gastrointestinal healing peptide. *Gut* 52, 1297-1303 (2003).

Mehrländer, K., Will, F., Dietrich, H., Sembries, S., Dongowski, G.: Herstellung und Charakterisierung von Traubensäften aus zweistufiger enzymatischer Behandlung und daraus gewonnenen Polyphenolextrakten. *Dt. Lebensm.-Rdsch.* 100, 77-83 (2004).

Pickardt, C., Dongowski, G., Kunzek, H.: The influence of mechanical and enzymatic disintegration of carrots on structure and properties of cell wall materials. *Eur. Food Res. Technol.* 219, 229-239 (2004).

Sembries, S., Dongowski, G., Jacobasch, G., Mehrländer, K., Will, F., Dietrich, H.: Effects of dietary fibre-rich juice colloids from apple pomace extraction juices on intestinal fermentation products and microbiota in rats. *Br. J. Nutr.* 90, 607-615 (2003).

Sembries, S., Dongowski, G., Mehrländer, K., Will, F., Dietrich, H.: Dietary fiber-rich colloids from apple pomace extraction juices do not affect food intake and blood serum lipid levels, but enhance fecal excretion of steroids in rats. *J. Nutr. Biochem.* 15, 296-302 (2004).

Stohwasser, R., Holzhütter, H.G., Lehmann, U., Henklein, P., Kloetzel, P.M.: Hepatitis B virus HBx peptide 116-138 and proteasome activator PA28 compete for binding to the proteasome alpha4/MC6 subunit. *Biol. Chem.* 384, 39-49 (2003).

Will, F., Mehrländer, K., Dietrich, H., Dongowski, G., Sembries, S.: Enzymatic liquefaction of apple mash by a two-step process. *Fruit Proc.* 13, 429-432 (2003).

Buchbeiträge/Book Articles

Stohwasser, R.: Structure-Function Relations of Proteasome Inhibition by Polyphenols. In: Hoikkala, A., Soidinsalo, O., Wähälä, K. (eds.) *Polyphenols Communications. Organic Chemistry Laboratory, University of Helsinki, Finland* 49-50 (2004).

Drittmittelprojekte External Funding

Partner im TRESTERnetz.berlin-brandenburg
Finanzierung: BMWi (AiF)
Laufzeit: 01.01.2003–31.12.2005

Wertstoffgewinnung durch zweistufige enzymatische Behandlung von Obst- und Gemüsemaische – Analyse und physiologische Charakterisierung der gewonnenen Produkte
Finanzierung: AiF (FEI)
Laufzeit: 01.03.2001–01.12.2003

Verfahrenstechnische und ernährungsphysiologische Aspekte zur Bildung von resistenter Stärke in Hafer durch Extrusion
Finanzierung: AiF (FEI)
Laufzeit: 01.12.2000–01.08.2003

Impact of new technologies on the health benefits and safety of bioactive plant compounds (COST Action 926)
Finanzierung: EU
Laufzeit: 01.05.2004–30.04.2007

Nutritional Counseling Center

Head: Dr. Christiana Einig

The Nutritional Counseling Center (EBZ) informs the regional and national public about dietary recommendations that are based on scientific evidence. In addition, the EBZ advises the media, the Brandenburg Ministry of Health (MASGF), and the *aid* (public information service). More than 1,600 inquiries to current topics have been answered (Tab. 1). Moreover, during the last two years, over 350 individuals with nutrition-related diseases contacted our consultation center. Due to the problematic trend toward obesity in the general public, the priority of the counseling focuses on weight reduction and treatment of the metabolic syndrome. Counselings on other nutrition-related diseases, such as gastrointestinal diseases or rheumatism, have also been requested. Another priority of the EBZ is the development and evaluation of counseling strategies. We developed a concept for weight management that focuses on a diet with a moderate fat reduction which is rich in dietary fiber. It is our goal to enable the participants to manage their own weight-reduction and health programs by themselves. In order to evaluate the efficacy of our concept, a perennial pilot study with 109 participants has been started in 2000. During the entire study, anthropometric data, clinical-biochemical parameters, dietary behavior, and physical activity will be determined at regular intervals. Criteria of the Institute of Medicine (IOM), which is an organization of the US National Academies, are hereby used as indicators of successful weight management. First results indicate that the participants were able to maintain only a very moderate weight reduction over a period of four years, whereas the blood parameter HDL-cholesterol significantly improved over a longer period. We intend to evaluate the concept in a controlled intervention study subsequent to the pilot study.

Das Ernährungsberatungszentrum (EBZ) hat es sich zur Aufgabe gemacht, wissenschaftlich gesicherte, aktuelle und zukunftsweisende Ernährungsempfehlungen an die regionale und überregionale Bevölkerung weiterzugeben. Zudem steht es den Medien, dem *aid* (öffentlich geförderter Informationsdienst) sowie den Arbeitsgemeinschaften des Ministeriums für Arbeit, Soziales, Gesundheit und Frauen in beratender Funktion zur Verfügung. In diesem Zusammenhang haben die Mitarbeiterinnen des EBZ in den letzten zwei Jahren über 1.600 Anfragen zu verschiedenen Themen beantwortet (Tab. 1). Überdies nutzten mehr als 350 Ratsuchende (Erstberatungen) das Angebot einer individuellen Ernährungsberatung. Da in Deutschland die Zahl übergewichtiger Menschen stetig zunimmt und damit verbunden das Metabolische Syndrom mit Adipositas (krankhaftem Übergewicht), Bluthochdruck, gestörtem Cholesterinstoffwechsel und Insulinresistenz immer mehr an Bedeutung gewinnt, liegt der Beratungsschwerpunkt beim Thema Übergewicht und seinen Folgeerkrankungen. Daneben beraten die Mitarbeiterinnen des EBZ auch Patienten, die an anderen Krankheiten leiden, welche sich durch eine gezielte Ernährung positiv beeinflussen lassen (z. B. Magen-Darm-Erkrankungen). Eine weitere Aufgabe des EBZ ist die

Entwicklung und Evaluation von Beratungsstrategien. Seine Mitarbeiterinnen haben eine Konzeption zum Gewichtsmanagement entwickelt, die nicht nur praxisnahe Informationen zu einer fettmoderaten, fettmodifizierten und ballaststoffreichen Kost vermittelt, sondern vor allem die Förderung der Handlungskompetenz der Betroffenen in Bezug auf ihr Gewichts- und Gesundheitsmanagement zum Ziel hat. Zur Effektivitäts- und Effizienzabschätzung läuft seit dem Jahr 2000 ein mehrjähriges Pilotprojekt mit 109 Teilnehmer/innen. Während des gesamten Projektes erfolgen in regelmäßigen Abständen Messungen der anthropometrischen und klinisch-biochemischen Parameter sowie Untersuchungen des Ess- und Bewegungsverhaltens. Als Indikatoren für ein erfolgreiches Gewichtsmanagement gelten bei dieser Studie die Kriterien des *Institute of Medicine (IOM)*, welche eine Organisation der US amerikanischen *National Academies* ist. Nach ersten Ergebnissen konnten die Teilnehmer/innen über vier Jahre zwar nur eine sehr moderate Gewichtsreduktion stabilisieren, ihre HDL-Cholesterin-Werte zeigten jedoch eine dauerhafte und signifikante Verbesserung. Im Anschluss an das Projekt ist geplant, die Ergebnisse in einer kontrollierten Studie zu überprüfen.

Thema	Anzahl der Anfragen Number of inquiries	Topic
Allgemeine Maßnahmen zur Gewichtsreduktion	377	General strategies of weight reduction
Diätformen (z.B. Atkins-, Glyx-Diät)	44	Diets
Lebensmittelspezifische Anfragen	326	Food specific inquiries
Altersabhängige Ernährung	104	Age-related nutrition
Nahrungsergänzungsmittel	71	Dietary supplements
Vegetarismus, Makrobiotik	21	Vegetarian diet, macrobiotics
Stoffwechselerkrankungen	112	Metabolic diseases
Magen-Darmerkrankungen	111	Gastrointestinal diseases
Lebererkrankungen	20	Hepatic diseases
Krebs	38	Cancer
Allergien und Intoleranzen	117	Food allergies and intolerance
Osteoporose	12	Osteoporosis
Bulimie, Magersucht	23	Bulimia, Anorexia Nervosa
Sonstige Erkrankungen (z.B. Hypertonie)	20	Other diseases (e.g. hypertension)
Informationsmaterial	40	Informative literature
Fortbildungsmöglichkeiten	35	Educational programs
Sonstiges (z.B. Ernährungserhebung, Software)	169	Others (e.g. dietary assessment, software)

1 Topics of telephone and written inquiries 2003–2004

1 Inhalte der telefonischen und schriftlichen Anfragen 2003–2004

Die zentrale Tierhaltung des DIfE und der Universität Potsdam ist im Max-Rubner-Laboratorium (MRL) untergebracht, wo wissenschaftliche Fragestellungen der einzelnen Abteilungen und Arbeitsgruppen mit Hilfe von Tiermodellen bearbeitet werden. Der Aufbau des Hauses ermöglicht die Haltung der Versuchstiere (vorwiegend Maus und Ratte) unter standardisierten Umgebungs- und Hygienebedingungen. Eine Beeinflussung der Versuchsergebnisse durch einen unkontrollierten Status der Tiere ist daher weitestgehend auszuschließen. Ferner reduzieren modernste Haltungs- und Mess-techniken sowie eine intensive Betreuung durch qualifiziertes und verantwortungsvolles Pflegepersonal die Belastung der Tiere auf ein Minimum.

Tierschutzbeauftragte, Fachtierärzte und Fachwissenschaftler für Versuchstierkunde beraten die experimentell tätigen Wissenschaftler in Fragen der Antragstellung und Versuchsplanung und unterstützen sie bei der Durchführung ihrer Untersuchungen. Speziell geschulte Biologielaboranten tragen durch praktische Hilfe ebenso zum Gelingen der Studien bei.

Neben den eigentlichen Tierhaltungsräumen beherbergt das Haus eine Reihe von Funktionsräumen, die in direktem Zusammenhang mit den Tierexperimenten stehen und der Umsetzung der nachstehend genannten Techniken dienen:



Technische Mitarbeiter/innen

Ines Grüner
Gerhard Güldenpenning
Birgit Hase
Swetlana König
Janet Krause
Janina Kröner
Ute Lehmann (z. Z. im Erziehungsurlaub)
Carola Plau
Elvir Steinmeyer
Marlies Taszarski
Elke Thom
Irmgard Thomas
Kerstin Weinert (z. Z. im Erziehungsurlaub)

Max Rubner Laboratory (MRL)

Head: Dr. Reinhart Kluge

The central research animal facilities of DIfE and the University of Potsdam are housed in the Max-Rubner-Laboratory (MRL), where scientific questions of the different departments are dealt with using animal models. The experimental animals (mostly mice and rats) are kept under standardized conditions as far as the physical environment and the sanitation status are concerned in order to ensure that the status of the rodents has no effect on the test results. Animal stress during experiments is reduced to a minimum by using suitable housing and measurement techniques as well as through the attentive care of a highly motivated, well-trained staff. Further assistance is given by animal welfare officers, veterinarians, and certified specialists in the field of laboratory animal science who advise the researchers in performing animal experiments. Especially skilled biological-laboratory assistants also have a part in successful experimental work. In addition to animal rooms, the facility encompasses diagnostic laboratories and animal procedure laboratories.

Spezielle Techniken im MRL:

- Energie- und Substratumsatzmessungen (indirekte Kalorimetrie) bei verschiedenen Umgebungstemperaturen
- Stoffwechseluntersuchungen in Stoffwechselkäfigen
- Zeitliche und quantitative Erfassung der Nahrungs- und Wasseraufnahme sowie Nahrungspräferenzen
- Messung der Körpertemperatur und der Aktivität
- Bestimmung der Körperzusammensetzung am lebenden Tier mit Hilfe von Röntgenstrahlung (DEXA) sowie Kernspin (NMR)
- Transponder- und Minipumpenimplantation, dadurch kontinuierliche Messung verschiedener Parameter sowie kontinuierliche Wirkstoffapplikation
- Generierung, Zucht und Haltung keimfreier Ratten
- Zucht von genetisch kontrollierten Spezialstämmen der Maus
- Herstellung und Pelletierung spezieller Futtermischungen

Special techniques used in the MRL:

- Indirect calorimetric measurements under different temperatures
- Examination of metabolism using metabolic cages
- Monitoring of food and water intake by a feeding monitoring system to assess quantitative and chronological food intake as well as food preference by using choice diets
- Measurement of body temperature and activity
- *In vivo* analysis of whole-body composition by x-ray (DEXA) and nuclear magnetic resonance (NMR)
- Implantation of transponders and mini-pumps
- Blood pressure measurement
- Breeding and housing of rats under gnotobiotic conditions
- Breeding and genetic monitoring of special strains of mice
- Preparation and processing of specified diets

Ehrungen und Forschungspreise

Honors and Awards

Hans-Georg Joost (PHA):

Mitgliedschaft in der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina, Halle, 2003

Heiner Boeing (EPI):

Preis „Prävention in der Medizin“, Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin, 2003

Hans-Rudolf Glatt (ETOX):

GUM-Preis der Gesellschaft für Umwelt-Mutationsforschung, 2003

Oliver Kreuzer und Mark Birringer

peptides&elephants (Firmenausgründung aus dem Institut): Technologietransferpreis der Technologie Stiftung Brandenburg, 2004

Leona Plum (PHA):

Förderpreis der Deutschen Diabetesgesellschaft 2003 für ihre Dissertation

Michael Ristow (KLE):

Heinrich-Sauer-Preis der Norddt. Diabetes-Gesellschaft, 2003

Michael Ristow (KLE):

Ferdinand-Bertram-Preis der Deutschen Diabetes-Gesellschaft, 2004

Andrea Scheepers (PHA):

Promotionspreis der Berliner Wissenschaftlichen Gesellschaft, 2004

Andrea Scheepers (PHA):

Michelson-Preis der Universität Potsdam für die beste Promotion des Jahrgangs, 2004

Joachim Spranger (KLE):

Max-Rubner Preis der Deutschen Gesellschaft für Ernährung und der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin, 2003

Joachim Spranger (KLE):

Silvia-King-Preis der Deutschen Diabetes-Gesellschaft, 2004

Dissertationen • Dissertations

Bernd Bufe (MOGE):

Charakterisierung von Bitterrezeptoren. Uni Potsdam, Math.-Nat. Fakultät, 2003

Maren Daenzer (EST):

Einfluss hoher Nahrungsproteinzufuhr auf die prä- und postnatale Entwicklung sowie Parameter des Energiestoffwechsels. Uni Potsdam, Math.-Nat. Fakultät, 2003

Simone Florian (PML):

Immunhistochemische Charakterisierung pathologischer Veränderungen bei der sporadischen kolorektalen Karzinogenese und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen; Präventionsstrategien mit resistenter Stärke Typ III – experimentelle Studien am DMH und TNBS-Modell. Charité – Universitätsmed. Berlin, Campus Benjamin Franklin, 2004

Claudia Herles (GAMI):

Untersuchungen zum enzymatischen Abbau ausgewählter Flavonoide durch *Eubacterium ramulus*. Uni Potsdam, Math.-Nat. Fakultät, 2003

Heli Hollnagel (ETOX):

2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridin: Bioaktivierung und DNA-Addukt-bildung in V79-Zelllinien und verschiedenen Rattengeweiben. Uni Potsdam, Math.-Nat. Fakultät, 2004

Stephan Hoyer (IVS):

Prädiktiver Wert sensorischer Laboruntersuchungen für den Getränkekonsum älterer Menschen unter Alltagsbedingungen. Uni Potsdam, Math.-Nat. Fakultät, 2003

Oliver Kreuzer (MOGE):

Immunozytochemische Analyse des Internalisierungswegs des Somatostatin-Rezeptors 3 der Ratte und Untersuchungen zur Prozessierung des internalisierten Peptid-Liganden für die Rezeptor-Subtypen 1 und 3 der Ratte. Uni Potsdam, Mat.-Nat. Fakultät, 2004

Morana Marinovic (PML):

Verhalten der PKC-Isoenzymmuster, des NF- κ B und des β -Catenins bei der kolorektalen Karzinogenese und CED-Effekt von RS III auf die Signalübertragung und den Krankheitsverlauf. Uni Potsdam, Math.-Nat. Fakultät, 2004

Ute Nöthlings (EPI):

Development and evaluation of an abbreviated food frequency questionnaire to discriminate between study participants in a cohort study. TU Berlin, Fakultät VIII Wirtschaft und Management, 2004

Ulrike Pabel (ETOX):

Stabile Expression von Sulfotransferasen – allein oder in Kombination mit Cytochrom P450 – in Zelllinien für Mutagenitätsuntersuchungen. Uni Potsdam, Math.-Nat. Fakultät, 2003

Leona Plum (PHA):

Identifizierung und Charakterisierung von Suszeptibilitätsloci für Typ-2-Diabetes mellitus in einem Mausmodell für das Metabolische Syndrom. RWTH Aachen, Med. Fakultät, 2003

Christine Rössler (PML):

Herstellung und Charakterisierung von resistenter Stärke aus Getreide und ihr Einfluss auf die Gallensäuren bei der TNBS-Rattencolitis. FU Berlin, Med. Fakultät, 2003

Natalia Rudovich (KLE):

Anwendung eines hyperglykämischen Glukoseklemmtests mit drei unterschiedlichen Secretagogen für die Phänotypisierung der frühen metabolischen Veränderungen bei erstgradigen Verwandten von Patienten mit Typ 2 Diabetes Mellitus. FU Berlin, Med. Fakultät, 2003

Andrea Scheepers (PHA):

Charakterisierung der genomischen Organisation, Expression und Funktion der Glucosetransporter GLUT8 und GLUT11. Uni Potsdam, Math.-Nat. Fakultät, 2003

Lilian Schoefer (GAMI):

Transformation of flavonoids by bacteria from the human intestinal tract. Uni Potsdam, Math.-Nat. Fakultät, 2003

Petra Wiedmer (EST):

Geschlechtsspezifische Körpergewichtsregulation bei Mäusen – Untersuchungen zur Set-Point-Theorie der Körpermasse. Uni Potsdam, Mat.-Nat. Fakultät, 2004

Habilitationen • Habilitations

Hadi Al-Hasani (PHA):

Targeting of the insulin-regulated glucose transporter GLUT4. Uni Köln, 2003

Anja Kroke (EPI):

Primärprävention chronischer Erkrankungen durch Ernährung – von der epidemiologischen Grundlagenforschung zur Formulierung von Empfehlungen. HU Berlin, 2003

Berufungen • Appointments

Matthias Tschöp (PHA):

Associate Professor, Dept. of Psychiatry, University of Cincinnati, Genome Research Institute, 2003 (angenommen)

Heiner Boeing (EPI):

Apl. Professor, Institut für Ernährungswissenschaft, Uni Potsdam, 2004 (angenommen)

Michael Ristow (KLE):

C3-Professur Experimentelle Ernährungsmedizin, Lehrstuhl für Ernährungsmedizin (Prof. Hans Hauner), TU München, 2004 (abgelehnt)

C4-Lehrstuhl für Humanernährung, Institut für Ernährungswissenschaften, Friedrich-Schiller-Universität Jena, 2004 (angenommen)

Annette Schürmann (PHA):

C3-Professur Pharmakologie, Institut für Veterinärpharmakologie, Justus-Liebig-Universität Gießen, 2004 (abgelehnt)

Patente • Patents 2003–2004

Bitter taste receptors (MOGE)

Angemeldete Marke zu GUSTOGEN (MOGE)

Rekombinantes Zellsystem zur Deorphanisierung von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (MOGE)

Verfahren zur Expressionsveränderung von Polypeptiden in rekombinanten Expressionssystemen (ETOX)

Agonist of bitter taste receptor and uses thereof (MOGE)

2003

Rehbrücker Kolloquien

Rehbrücker Lectures

15. 01. 2003	Mark J. Zoller Research Senomyx Inc., La Jolla, USA	Developing novel modulators of taste and smell
22. 01. 2003	Günter Vollmer Institut für Zoologie, Dresden	Phytoestrogens – Toys, tools, or more?
29. 01. 2003	Bruno Viertel Boehringer Ingelheim Pharma KG	Reproduktionstoxikologie: Ein Beitrag zur Arzneimittelsicherheit
19. 02. 2003	Dirk Haller Wissenschaftszentrum Weihenstephan, TU München	TGF-beta-activated Smad signaling inhibits enteric bacteria-induced NFκB activation and inflammatory gene expression in intestinal epithelial cells
02. 04. 2003	Jutta Dierkes Institute of Clinical Chemistry, Magdeburg	Nutritional, genetic, and environmental determinants of hyperhomocysteinemia – implications for cardiovascular risk
11. 04. 2003	Mads Tang-Christensen University of Copenhagen, DK	Pre-proglucagon derived peptides and their role in regulation of food intake and body weight
16. 04. 2003	Annette Beck-Sickinger Universität Leipzig	Signal recognition and transduction of neuropeptide Y: A molecule involved in hunger, stress and memory
28. 04. 2003	Volker Arlt Institute of Cancer Research, Sutton, Surrey, UK	DNA adduct formation and metabolic activation of the environmental contaminant 3-nitrobenzanthrone
23. 05. 2003	Alfred Zyball Beta-Gamma-Service, Wiehl	Lebensmittelbestrahlung: Technik und Einsatzmöglichkeiten
12. 06. 2003	Bernhard Hennig University of Kentucky, USA	Nutrition and PCB toxicity in the vascular endothelium: Implications in atherosclerosis
19. 06. 2003	Tobias Pischon School of Public Health, Harvard, USA	Association of polyunsaturated fatty acid intake and physical activity with markers of inflammation in US men and women
13. 08. 2003	Michael Murkovic Graz University of Technology, AU	Bioavailability of anthocyanes from elderberry (<i>Sambucus nigra</i>)
03. 09. 2003	Stefan Bornstein Universitätsklinikum Düsseldorf	Stress and overweight: Neuroendocrine strategies for the therapie of obesity
19. 09. 2003	David Josephy University of Guelph, CAN	Human enzymes of drug metabolism expressed in <i>E. coli</i> : Studies of wild-type and variant NAT2 and P450 1A2 proteins
19. 11. 2003	Lauren Lissner Gothenburg University, DK	The epidemic of obesity and chronic disease occurrence
27. 11. 2003	Ben van Ommen TNO Food and Nutrition Research, Zeist, NL	Nutrigenomics, nutritional systems biology, and NuGO
03. 12. 2003	Nicole Soranzo University College, London, UK	Evidence for selection at bitter taste selection genes
05. 12. 2003	Ed Leiter Jackson Laboratory, Bar Harbor, USA	Negative heterosis: Molecular and biochemical genetic mechanisms for impaired phosphatidylcholine metabolism in obese (NON x NZO) F1 mice

Symposien, Workshops, andere Veranstaltungen

Symposia, Worshops, other Events

10. 01. 2003	Fortbildung, UKBF, Berlin Andreas F.H. Pfeiffer, Abt. Klinische Ernährung	Fortschritt und Praxis in der Endokrinologie
29. 01. 2003	4. Diabetologie-Seminar, UKBF, Berlin Andreas F.H. Pfeiffer, Abt. Klinische Ernährung	Diabetologie
07. 05. 2003	Fortbildung, UKBF, Berlin Andreas F.H. Pfeiffer, Abt. Klinische Ernährung	Endokrinologie

16. 05. 2003	DFG-Rundgespräch, Potsdam-Rehbrücke Hans-Georg Joost, DIFE	Ursachen hyperkalorischer Ernährung
23.–25. 05. 2003	Praxiskurs, Potsdam-Rehbrücke Andreas F.H. Pfeiffer, Abt. Klinische Ernährung	Ernährungsmedizin
16.–26. 06. 2003	DDG-Fortbildungskurs (80 h), Potsdam-Rehbrücke Andreas F.H. Pfeiffer, Abt. Klinische Ernährung	Diabetologie
14.–25. 07. 2003	Summer School, Potsdam-Rehbrücke Heiner Boeing, Abt. Epidemiologie, in Zusammenarbeit mit dem Berliner Zentrum Public Health und dem Forschungsinstitut für Kinderernährung, Dortmund	Grundlagen der Ernährungsepidemiologie
01.–02. 12. 2003	Workshop mit EU-Partnern, Potsdam-Rehbrücke Hans-Joachim Zunft und Corinna Koebnick, Abt. Interventionsstudien	Isoheart
08.–09. 12. 2003	DFG-Rundgespräch, Potsdam-Rehbrücke Hans-Georg Joost, DIFE	Prägung und Anpassung: Die Regulation von Energiebilanz und Fettspeicherung

2004

Rehbrücker Kolloquien

Rehbrücker Lectures

28. 01. 2004	Edith Feskens National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, NL	Insight into the metabolic syndrome from population-based studies
18. 02. 2004	Ulrich Schlemmer Bundesanstalt für Ernährung, Karlsruhe	Significance of phytic acid for humans and animals and its change during digestion in the gut – Studies in pigs as model for humans
25. 02. 2004	Nick Wareham Strangeways Research Laboratory, Cambridge, UK	Diabetes genes
03. 03. 2004	Klaus Rohde Max-Delbrück-Centrum, Berlin-Buch	Haplotype estimation from multilocus SNP genotypes and their use in association studies
17. 03. 2004	Ulrich Nordheim Universität Basel, CH	An appropriate method to test pharmacological and molecular tool compounds <i>in vivo</i>
08. 04. 2004	Danielle Reed Monell Chemical Senses Center, Philadelphia, USA	The genetics of human bitter perception
28. 04. 2004	Matthias Laska University of Munich Medical School	Making sense out of scents: Comparative studies of olfactory performance
18. 05. 2004	Thorkild Soerensen Institute of Preventive Medicine, Copenhagen, DK	NUGENOB (Nutrient Gene Interaction in Human Obesity): Results so far
10. 06. 2004	Charles N. Falany University of Alabama, Birmingham, USA	Amino acid conjugation of bile acids in human tissues
16. 06. 2004	Claudia Stark Schering AG, Berlin	Carcinogenicity testing: Animal models used in toxicology
23. 06. 2004	Thomas Konrad Institute for Metabolic Research, Frankfurt	Strategies of preventive care: Insulin resistance and endothelial dysfunction – the school project, the “praxis” project and the city project
18. 08. 2004	Jan Alexander Norwegian Institute of Public Health, Oslo, N	Animal models of colon carcinogenesis
15. 09. 2004	Stephan Herzig German Cancer Research Center, Heidelberg	Transcriptional control of insulin sensitivity and glucose homeostasis
16. 09. 2004	Angelo del Parigi National Institute of Diabetes & Digestive & Kidney Diseases of the National Institutes of Health (NIH/NIDDK), Phoenix, Arizona, USA	Functional neuroimaging of the brain's response to meal consumption in humans

06. 10. 2004	Susanne Neschen Howard Hughes Medical Institute, New Haven, Connecticut, USA	Mice lacking mitochondrial glycerol-3-phosphate acyltransferase 1 (mtGPAT1) are protected from high-fat diet induced hepatic insulin resistance
13. 10. 2004	Ian Rowland University of Ulster, IRE	Diet gut microflora interactions in colon cancer
20. 10. 2004	Ulrich Schweizer Charité Universitätsmedizin Berlin	Molecular biology of selenoproteins – unexpected functions in the brain revealed by gene targeting
27. 10. 2004	Martin Hrabé de Angelis GSF Neuherberg	Mutagenesis and the German mouse clinic – mouse models for human diseases
17. 11. 2004	Svetlana A. Limborskaya Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Science, Moscow, RU	Molecular genetic study of common diseases (coronary heart disease and NIDDM) in the Russian population
13. 12. 2004	José Ordovas Tufts University, Boston USA	Integration and analysis of nutrigenetic population data from the Americas and Asia

Symposien, Workshops, andere Veranstaltungen

Symposia, Workshops, other Events

31. 03. 2004	Fortbildung, Charité/CBF Andreas F.H. Pfeiffer, Abt. Klinische Ernährung	Neues zu Parathormon
01.–03. 04. 2004	55. Moosbacher Kolloquium, Moosbach Regina Brigelius-Flohé, DIfE and Josef Köhrle, Charité	How nutrients influence gene activity
18.–20. 06. 2004	Praxiskurs, Potsdam-Rehbrücke Andreas F.H. Pfeiffer, Abt. Klinische Ernährung	Ernährungsmedizin
23. 06. 2004	Fortbildung, Charité/CBF Andreas F.H. Pfeiffer, Abt. Klinische Ernährung	Kontroversen in der Diabetesbehandlung
01.–02. 07. 2004	Workshop mit EU-Partnern, Potsdam-Rehbrücke Hans-Joachim Zunft, Abt. Interventionsstudien	NutriSenex
19.–30. 07. 2004	Summer School, Potsdam-Rehbrücke Heiner Boeing, Abt. Epidemiologie, in Zusammenarbeit mit dem Berliner Zentrum Public Health und dem Forschungsinstitut für Kinderernährung, Dortmund	Grundlagen der Ernährungsepidemiologie
26. 07. 2004	Symposium der DFG-Forschergruppe 441, Potsdam-Rehbrücke Hans-Georg Joost, Abt. Pharmakologie	Mechanismen der normalen und gestörten Insulinwirkung
28. 11. 2004	2. Arbeitstreffen des DFG Verbundforschungs- programms, Potsdam-Rehbrücke Michael Blaut, Abt. Gastrointestinale Mikrobiologie	Plant flavonoids and polyphenols: Towards a better understanding of molecular mechanisms of action to benefit/risk evaluation

Press and Public Relations 2003–2004

Why are some people fat and others thin? Why does one person like broccoli and the other one hates it? Is *Atkins* better than *LOGI*? And what does *lowcarb* and *glyx* mean? Our office of Press and Public Relations had to answer these or similar questions frequently. The evaluation of carbohydrate-reduced diets (e.g., Atkins diet) and the discussion on changes in the nutritional pyramid were special topics to be dealt with by our staff.

Numerous questions from interested journalists and other persons were answered by telephone and mail. Dife experts gave interviews in the media and provided journalists with press releases. The strong interest of journalists is reflected by the many articles appearing in the press (p. 64/65).

Participation in scientific conferences and meetings kept us up to date on the latest topics in nutrition science and gave us the opportunity to exchange information with scientists from other institutions, and with representatives of the media. As an internal newsletter, the electronic Dife-Info appears regularly, having replaced the printed version of the staff magazine in 2003. It announces interesting lectures, conferences, and exciting research articles. In addition, we have successfully redesigned our website www.dife.de.

Presentation of Dife at numerous events was successfully done thanks to the great assistance of many Dife staff members that we highly appreciate!

In dialog with the public – highlights

2003

May 6: At the *Parlamentarischer Abend der Leibniz-Gemeinschaft* in Berlin, Dife staff members demonstrated the measurement of basal energy expenditure by calorimetry (Fig. 1).

May 17: At the centennial of Rehbrücke and the 775-year anniversary of the founding of Bergholz, Dife presented the history of nutrition research, from 1945 to 1985.

1 **Brandenburgtag** (September 6, 2003): (A) Dr. Bernd Bufer presenting various taste tests; (B) Dr. Gunda Backes being interviewed by Inforadio; (C) Paul Pflüger measuring the basic energy expenditure on volunteers at the *Parlamentarischer Abend der Leibniz-Gemeinschaft*; (D) Paul Pflüger during TV takes in the Department of Biochemistry of Micronutrients (BIM).

Warum sind manche Menschen dick und andere dünn? Warum liebt der eine Brokkoli, während der andere ihn hasst? Ist *Atkins* besser als *LOGI*? Und was verbirgt sich hinter *Lowcarb* und *Glyx*? Fragen wie diese gehörten in den letzten 2 Jahren zum Alltag der Pressestelle. Besonders die Einschätzung der kohlenhydratreduzierten Diäten (z.B. Atkins-Diät) und die Diskussion um eine Umstellung der Ernährungspyramide waren beliebte Themen.

Mitarbeiterinnen der Pressestelle beantworteten täglich zahlreiche telefonische und schriftliche Anfragen von Bürgern und Journalisten zu den verschiedensten Themen *rund um die Ernährung*. Wir vermittelten Dife-Experten an die Medien oder standen selbst als Interviewpartner zur Verfügung: Auskünfte zu Übergewicht und Diabetes, Krebsentstehung, Geschmacksforschung, Probiotika und Nahrungsergänzungsmitteln (um nur einige zu nennen) waren dabei ebenso gefragt wie die wissenschaftliche Einschätzung neuer Lebensmittel-Trends und Diäten. Mit Pressemitteilungen und Stellungnahmen informierten wir Journalisten und Öffentlichkeit über wichtige Forschungsergebnisse unserer Wissenschaftler. Zudem stärkten Hintergrundgespräche und Pressekonferenzen die gute Zusammenarbeit mit

den Medien. Das große regionale und überregionale Interesse der Journalisten spiegelte sich nicht zuletzt in der großen Presseresonanz wider (S. 64/65).

Die Teilnahme an wissenschaftlichen Kongressen und Meetings trug dazu bei, auf dem neuesten Stand *in Sachen Ernährung* zu sein und uns mit Wissenschaftlern anderer Institutionen und Medienvertretern auszutauschen. Um auch institutsinternen Neuigkeiten zu vermitteln und zur Kommunikation anzuregen, erscheint regelmäßig die elektronische *Dife-Info*, die seit 2003 die gedruckte Version der Mitarbeiterzeitschrift ersetzt. Sie weist u.a. auf interessante Vorträge, Kongresse sowie spannende Artikel aus der Forschung hin.

Weiterhin konnten wir die Überarbeitung unserer *website* erfolgreich abschließen: www.dife.de präsentiert sich nun in einem neuen Design. Struktur und Inhalt der *website* wurden aktualisiert und können nun zu großen Teilen mittels Redaktionssystem gepflegt werden.

Die Präsentation des Dife auf zahlreichen Veranstaltungen war nicht zuletzt durch das große Engagement vieler Dife-Mitarbeiter erfolgreich und wir möchten uns an dieser Stelle ganz herzlich dafür bedanken!



1 **Brandenburgtag** (6. September 2003): (A) Dr. Bernd Bufer präsentiert verschiedene Geschmackstests; (B) Dr. Gunda Backes im Interview mit Inforadio; (C) Messung des Grundumsatzes an freiwilliger Versuchsperson auf dem Parlamentarischen Abend der Leibniz-Gemeinschaft; (D) Paul Pflüger bei Fernsehaufnahmen in der Abteilung Biochemie der Mikronährstoffe (BIM).



Fig. 1 Tag der Offenen Tür (11. Juni 2004): (A) Besucher am Stand der Abteilung Pharmakologie (PHA); (B) Expertenrunde zum Thema *Übergewicht – ein schwerwiegendes Problem!?*



Im Dialog mit der Öffentlichkeit – Höhepunkte

2003

6. Mai: In Berlin fand der *Parlamentarische Abend der Leibniz-Gemeinschaft* statt. DIfE-Mitarbeiterinnen (Dr. Christiana Einig, Petra Wiedmer) führten auf dieser Veranstaltung Grundumsatz-Messungen mittels Kalorimetrie durch (Abb. 1).

17. Mai: Das 100-jährige Bestehen des Ortsteils Rehbrücke und das 775-jährige Bestehen des Ortsteils Bergholz nahm das DIfE zum Anlass, sich am *Festumzug in Bergholz-Rehbrücke* zu beteiligen und an die Geschichte der Ernährungsforschung in den Jahren 1945 bis 1985 zu erinnern.

21. Mai: Der damalige SFB (jetzt RBB Berlin) lud im Rahmen der Wissenschaftssendung *Quivive* zur Aktion *Fit im Frühling* ein. Mitarbeiterinnen der DIfE-Pressestelle präsentierten die Themen *Zucker in Getränken* und *Fette in Lebensmitteln*, bestimmten den Körperfettanteil von Besuchern und standen für Fragen rund um die Adipositasforschung zur Verfügung (Dr. Susanne Schelosky, Dr. Gunda Backes).

6. September: Ein weiterer Höhepunkt des Jahres 2003 war der *Brandenburgtag* in Potsdam. Das DIfE war zusammen mit anderen Instituten der Landesvereinigung außer-universitärer Forschungseinrichtungen in Brandenburg (LAUF e.V.) auf dem Wissenschaftsmarkt vertreten. Wissenschaftler des DIfE gaben Interviews und präsentierten neue Erkenntnisse aus der Forschung. Neben der Ernährungsberatung waren besonders die von Dr. Bernd Bufo durchgeführten Geschmackstests sowie die Messungen des Körperfettgehalts (Dr. Dieter Johnsen, Eileen Nebel) sehr gefragt (Abb. 2).

18. September: Das DIfE öffnete seine Türen für Schüler und gab ihnen die Gelegenheit, Labore und verschiedene Projekte des DIfE zu besichtigen und einen Einblick in die Ernährungsforschung zu bekommen.

2004

4. April: Im Potsdamer Alten Rathaus fand im Rahmen der Veranstaltungsreihe *Potsdamer Köpfe* die Sonntagsvorlesung von Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost statt. Sein Thema: *Diktieren die Gene was wir essen?* Dabei erklärte er die Adipositasentstehung auf genetischer Ebene am Modell der *New Zealand Obese-Maus*.

3.–5. Juni: Dr. Bernd Bufo beteiligte sich zusammen mit dem Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie in Berlin (Max-Planck-Institut) an der ScienceFair auf dem Berliner Breitscheidplatz. Unter der Schirmherrschaft von Wolfgang Thierse, Präsident des Deutschen Bundestages, konnten Schüler und andere interessierte Besucher *mit allen Sinnen* Geschmack erleben und mehr über die Funktion des Geschmackssinns erfahren.

11. Juni: Das DIfE lud wissenschaftsinteressierte Gäste zum *Tag der Offenen Tür* ein. Auf dem Programm standen Laborführungen und die Präsentation neuer Forschungsergebnisse. Wissenschaftler des DIfE diskutierten in einer Expertenrunde mit interessierten Gästen das Thema *Übergewicht – ein schwerwiegendes Problem!?* (Abb. 3)

4. November: Das DIfE beteiligte sich an der *Gesundheitskonferenz – Gesunde Stadt Potsdam* und lieferte damit einen wissenschaftlichen Input zur regionalen Gesundheitsaufklärung (Dr. Gunda Backes, Dr. Christiana Einig).

10. November: Der Tag der Wissenschaft und Forschung fand diesmal in Frankfurt/Oder unter der Schirmherrschaft von Prof. Dr. Johanna Wanka, Ministerin für Wissenschaft, Forschung und Kultur des Landes Brandenburg statt. Das DIfE beteiligte sich mit einem Vortrag zum Thema *Einfluss der Gene auf das Essverhalten* und zeigte interessierten Schülern, wie auf genetischer Ebene Adipositasforschung betrieben wird (Dr. Gunda Backes, Dr. Andrea Scheepers, Stephan Scherneck).

Fig. 2 *Tag der Offenen Tür* (June 11, 2004): (A) Visitors at the stand of the Department of Pharmacology (PHA); (B) Panel of experts on the topic *Overweight – a weighty problem!?*

May 21: The TV station SFB (now RBB Berlin) invited staff members to participate in the science program *Quivive's project Fit im Frühling*.

September 6: A further highlight in 2003 was *Brandenburgtag* in Potsdam, where DIfE took part at a science fair (Fig. 1).

September 18: DIfE had a *Tag der Offenen Tür* for school students, giving them the opportunity to see DIfE's laboratories and to gain insight into nutrition research.

2004

April 4: In Potsdam's Old Town Hall, as part of the lecture series *Potsdamer Köpfe*, the Sunday lecture of Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost took place. His topic: *Do genes dictate what we eat?*

June 3–5: Dr. Bernd Bufo, along with the Research Institute of Molecular Pharmacology (Max-Planck Institute) in Berlin, participated at the Science Fair in Berlin, under the patronage of Wolfgang Thierse, President of the *Bundestag*.

June 11: DIfE had a *Tag der Offenen Tür* for visitors interested in science. The program included tours of the laboratories and presentations of research results. In a panel of experts, scientists of DIfE discussed the topic: *Overweight – a weighty problem!?* with interested guests (Fig. 2).

November 4: DIfE took part in the Health Conference *Gesundheitskonferenz – Gesunde Stadt Potsdam*, and thus contributed with its scientific input to regional health education.

November 10: *Tag der Wissenschaft und Forschung* for school students took place in Frankfurt/Oder under the patronage of Prof. Dr. Johanna Wanka, Minister of Science, Research, and Culture of Brandenburg. Scientists of DIfE participated with a lecture on *The effect of genes on eating behavior*, and showed how obesity research is done at a genetic level.

Das DiF im Hörfunk und TV 2003–2004

(Auswahl)

64

Medium	Titel und Thema der Sendung	Verantwortlicher
MDR – MDR 3	Hauptsache gesund: Hunger entsteht im Kopf	Prof. Dr. Susanne Klaus
ORB	Currywurst und Pommes	Prof. Dr. Susanne Klaus, Prof. Dr. Hans-Joachim Zunft
Inforadio	Nährstoffe im Körper – Jahr der Chemie	Prof. Dr. Susanne Klaus
SWR	Warum Weshalb Wieso: Warum wir dick werden	Dr. Matthias Tschöp, Prof. Dr. Hans-Joachim Zunft
ORB – Antenne Brandenburg	Ratgeber: Trinken – aber reichlich	Dr. Gunda Backes
WDR	Servicezeit Kostprobe: Körperzusammensetzung	Dr. Ulrike Trippo
N-TV	Nachrichten – DGE-Tagung: Prävention und Therapie Diabetes mellitus Typ 2	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
ARD	Tagesthemen: Tomatentest, Geruchs- Geschmackslabor	Dr. Stephan Hoyer
Sat 1	Blitz: Diäten	Dr. Gunda Backes
N 24	Wirtschaftsmagazin: Nahrungsergänzungsmittel	Prof. Brigelius-Flohé
DW Fernsehen	Projekt Zukunft: Adipositas und Ursachen	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
MDR	Hauptsache gesund: Pre- und Probiotika	Prof. Dr. Michael Blaut
RBB Berlin	Quivive: Frühstück für Kinder	Dr. Christiana Einig
3SAT	Nano: Fällt die Ernährungspyramide?	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost, Dr. Sandra Kluge, Dr. Hartmut Schulz
MDR	Wirtschaft und Verbraucher: Gewichtsmanagement über Weihnachten	Dr. Christiana Einig
Inforadio	DiF-Präsentation am Brandenburgtag	Dr. Gunda Backes
N24	Schokolade für die Seele	Dr. Christiana Einig
RBB Berlin	Einsteins Erben: Nahrungsergänzungsmittel	Prof. Dr. Regina Brigelius-Flohe
ZDF	Morgenmagazin: Fast Food und Convenience Food	Dr. Gunda Backes
WDR 2	Service-Zeit: Fasten	Prof. Dr. Susanne Klaus
RBB	Quivive: Vegetarismus	Dr. Corinna Koebnick
Deutsche Welle	Projekt Zukunft: Geschmack, Geruch	Dr. Bernd Bufe, Prof. Dr. Wolfgang Meyerhof
Bayrischer Rundfunk	Archimedes: Fasten – Formel für ein langes Leben?	Prof. Dr. Susanne Klaus
ARD	Sinn und Unsinn von Diäten	Prof. Dr. Andreas Pfeiffer
Inforadio	Eine Sache der Gene? Stand der Forschung	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Deutschlandfunk	Journal am Vormittag: Experte zum Thema Adipositas	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Inforadio	Der gesunde Mittelweg	Prof. Dr. Hans-Joachim Zunft
XXP	Medizin und Forschung: Übergewicht/Diäten	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Spiegel-TV MMX	Atkins-Diät	Prof. Dr. Andreas Pfeiffer
Deutschlandfunk	Studiozeit: Atkins, Übergewicht	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost, Dr. Christiana Einig
Inforadio	Abnehmen ohne etwas dafür zu tun – wie weit ist die Forschung?	Prof. Dr. Andreas Pfeiffer
WDR 5	Leonardo: Doch kein Appetitzügler – Wirkung des Sättigungshormons PYY nicht nachweisbar	Dr. Matthias Tschöp, Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost, DiF
Radio 1	12 Uhr mittags: Experte zum Film <i>super-size-me</i>	Dr. Gunda Backes
MDR	Hauptsache gesund: Probiotika	Prof. Dr. Michael Blaut
Deutschlandradio	Gut für das Fach: Nobelpreis für Geruchsforscher	Dr. Dietmar Krautwurst
WDR 5	Umami – die fünfte Geschmacksqualität	Prof. Dr. Wolfgang Meyerhof
Österreichischer Rundfunk Radio Ö1	Radiokolleg: Dick und Dünn	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost, Prof. Dr. Andreas Pfeiffer, Prof. Dr. Susanne Klaus, Prof. Dr. Heiner Boeing, Prof. Dr. Wolfgang Meyerhof, Prof. Dr. Hans-Joachim Zunft

Medium	Titel des Beitrags	Verantwortlicher
The Press and Journal, Aberdeen	Genetic code may hold answers	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Tagesspiegel	Rezepte für einen gesunden Lebensstil	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost, Prof. Dr. Andreas Pfeiffer, Dr. Matthias Tschöp
Frankfurter Allgemeine Sonntagszeitung	Neue Waffe gegen Volkskrankheit Diabetes	Prof. Dr. Andreas Pfeiffer, Dr. Joachim Spranger
Ärztezeitung	Gemüseliebhaber haben weniger Krebs	Prof. Dr. Heiner Boeing
Märkische Allgemeine Zeitung	Mensch und Maus ähneln sich	Dr. Christa Thöne-Reineke, Dr. Reinhart Kluge
Tagesspiegel	Süßes im Blut	Prof. Dr. Andreas Pfeiffer, Prof. Dr. Heiner Boeing
AOK Gesundheitsmagazin	Abnehmen	Dr. Christiana Einig
Frankfurter Allgemeine Zeitung	Riskante Mahlzeiten: Lebensmittel tierischer Herkunft könnten sicherer sein	Anja Schienkiewitz
Spektrum der Wissenschaft	Macht gesunde Ernährung krank?	Prof. Dr. Christian Barth, Prof. Dr. Heiner Boeing
Süddeutsche Zeitung	Nie mehr bittere Pillen	Dr. Bernd Bufe
Neue Apotheken Illustrierte	Wann kommt die Antifettpille?	Dr. Matthias Tschöp
Berliner Zeitung	Weniger Darmkrebs durch Ballaststoffe	Prof. Dr. Heiner Boeing
Die Süddeutsche	Fett gegen den Bauch	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Tagesspiegel	Neue Hoffnung bei Altersdiabetes	PD Dr. Michael Ristow, Prof. Dr. Andreas Pfeiffer
Berliner Zeitung	Kopf und Bauch	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Tagesspiegel	Essen wie am Mittelmeer	Dr. Gunda Backes
Märkische Allgemeine Zeitung	Spitzenforschung in Rehbrücke	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Stern Spezial Gesund leben	Keine Angst vorm Fett	Prof. Dr. Andreas Pfeiffer
Neue Züricher Zeitung am Sonntag	Was der probiotische Joghurt mit der Darmflora anstellt	Prof. Dr. Michael Blaut
Berliner Morgenpost	Mit Fett gegen Fett	Dr. Christiana Einig
Berliner Zeitung	Nahrungspräferenz	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost, Prof. Dr. Wolfgang Meyerhof
Potsdamer Neueste Nachrichten	Molekül zur Traumfigur – DiE erforscht Diabetes und Adipositas	Dr. Susanne Schelosky
Ökotest Kompakt	Pillen gegen das schlechte Gewissen	Prof. Dr. Regina Brigelius-Flohé
Stern	Mit Köpfchen gegen den Bauch	Dr. Christiana Einig
Die Zeit	Special: Adipositas	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Welt am Sonntag	Ernährungsexpertin sieht „Anti-Aging-Diäten“ kritisch	Prof. Dr. Regina Brigelius-Flohé
Berliner Morgenpost	Gesund essen – gesund abnehmen	Dr. Christiana Einig
Die Zeit	Kampf der Mehlspeise	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Financial Times Deutschland	Weg mit dem Mief – Geruch und Geschmack	Prof. Dr. Wolfgang Meyerhof
Welt am Sonntag	Zu viele Burger für die Bürger	Dr. Gunda Backes
focus-online	Knochenpower aus der Nahrung	Dr. Christiana Einig
Tagesspiegel	Ein Band für schwere Fälle	Prof. Dr. Andreas Pfeiffer
Le scienze	Obesità e tumore del seno	Dr. Petra Lahmann
Frankfurter Allgemeine Sonntagszeitung	Fettleibigkeit: Eine Katastrophe weniger	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost
Deutsches Ärzteblatt	Das Körpergewicht, die Hormontherapie und das Brustkrebsrisiko	Dr. Petra Lahmann
Stern	Richtig essen – aber was denn nun?	Prof. Dr. Susanne Klaus, Prof. Dr. Heiner Boeing
Süddeutsche Zeitung	Von der perfekten Schlankheitspille bleiben nur dürre Träume	Dr. Matthias Tschöp, Prof. Dr. Susanne Klaus
Stern	Wieviele Vitamine sind gesund?	Prof. Dr. Regina Brigelius-Flohé
Financial Times Deutschland	Studie alarmiert Getränkeindustrie in den USA	Prof. Dr. Heiner Boeing
Der Spiegel	Bewegte Kindheit	Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost

Gäste und Begegnungen

Guests and Meetings

Das DIfE konnte neben zahlreichen Wissenschaftlern aus aller Welt (siehe Rehbrücker Kolloquien, S. 59–61), interessierten Bürgern, Schüler- und Seniorengruppen auch Politiker als Gäste willkommen heißen:

26. Februar 2003:

Katherina Reiche, CDU, bildungs- und forschungspolitische Sprecherin der CDU/CSU-Bundestagsfraktion, CDU-Bundestagsabgeordnete

26. März 2003:

Andrea Wicklein, SPD-Bundestagsabgeordnete

06. Mai 2004:

Norbert Glante, EU-Abgeordneter

23. Juli 2004:

Jörg Schönbohm, CDU, Innenminister des Landes Brandenburg

23. Juli 2004:

Gerhard Ling, CDU, Bürgermeister der Gemeinde Nuthetal

Momentaufnahmen ausgewählter Besuche sind auf dieser und der folgenden Seite wiedergegeben.

DIfE was able to welcome not only scientists from all over the world (see Rehbrücker Lectures, p. 59–61), interested individuals, groups of school students and senior citizens, but also politicians:

February 26, 2003: Katherina Reiche of the CDU Party, expert on education and research of the CDU/CSU in the German Parliament (*Bundestag*), member of the *Bundestag*

March 26, 2003:

Andrea Wicklein of the SPD Party, member of the *Bundestag*

May 6, 2004:

Norbert Glante, member of the European Parliament

July 23, 2004:

Jörg Schönbohm of the CDU Party, Minister of the Interior, State of Brandenburg

July 23, 2004:

Gerhard Ling of the CDU Party, Mayor of Nuthetal

Snapshots of selected visits are shown on this and the following page.

28. Januar 2003 Besuch der Senioren-Wandergruppe Stern von der Akademie 2. Lebenshälfte; Vortrag über *Die 10 Regeln der DGE und Gesunde Ernährung im Alter*; Vortragende: Dr. Schelosky und Dr. Johnsen
January 28, 2003 Visit by a senior citizens' hiking group; lecture on *The ten rules of the German Nutrition Society and Healthy nutrition for senior citizens*; lecturers: Dr. Schelosky and Dr. Johnsen.



Jeweils Januar bis April 2003/2004; Kurs Ernährungsmedizin der Ernst-von-Bergmann-Akademie für ärztliche Fortbildung der Ärztekammer Berlin, der Akademie für ärztliche Fortbildung der Landeskommission Brandenburg und des DIfE. Intensive Lernwochenenden für Kursteilnehmer...

In 2003 and 2004, 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 DIfE. Intensive weekends of learning for the participants...



26. März 2003 SPD-Bundestagsabgeordnete Frau Wicklein besucht das DIfE v.l.n.r.: Dr. Schäfer, Prof. Dr. Dr. Joost, Frau Wicklein
March 26, 2003 Ms Wicklein (SPD), a member of the German Parliament (*Bundestag*), visits DIfE



13. Februar 2004 Besuch der Bioolympioniken
February 13, 2004 Participants of the *Olympic Games in Biology* visit DIfE

22. Juli 2004
Summer School
Epidemiologie
July 22, 2004
Summer School
in Epidemiology



15. September 2004
Besuch einer 8. Klasse
der Friedrich-Wilhelm-
von-Steuben-
Gesamtschule
September 15, 2004
Visit by eighth-grade
students of the
*Friedrich-Wilhelm-von-
Steuben-Gesamtschule*



7. Oktober 2004 Besuch einer indonesischen Wissenschaftsdelegation
October 7, 2004 Visit by an Indonesian science delegation



8. Juni 2004 Besuch vom Forschungszentrum Rossendorf, 18 Auszubildende, 8 Ausbilder sowie der Kaufmännische Direktor, Dr. Joehnk (r.)
June 8, 2004 18 apprentices, 8 instructors, as well as the administrative director, Dr. Joehnk (r.) of the *Forschungszentrum Rossendorf* visit DIfE



23. Juli 2004 Besuch von Herrn Schönbohm (CDU), Innenminister des Landes Brandenburg; Frau Prof. Dr. Schürmann gibt einen Überblick über die Forschungsarbeiten der Abteilung Pharmakologie (PHA)
July 23, 2004 Mr Schönbohm (CDU), Brandenburg's Minister of the Interior visits DIfE; Prof. Dr. Schürmann informs the Minister about the research projects of the Department of Pharmacology (PHA)



12. November 2004 NuGO (European Nutrigenomics Organization) 2nd Governing Council Meeting: Konferenzteilnehmer im Gespräch; hinten v.r.n.l.: Prof. Dr. Mathers (University of Newcastle, UK); Prof. Dr. Morgan (Rowett Research Institute, UK); Prof. Dr. Palou (University of the Balearic Islands, E); Prof. Dr. Dr. Joost (DIfE German Institute of Human Nutrition, D); Dr. Schäfer (DIfE German Institute of Human Nutrition, D); Dr. Pepping (NuGO Network Manager, NL); vorne v.l.n.r.: Dr. de Gooijer (Chairman, Director Sciences Group, Wageningen University, NL); Dr. van Ommen (TNO Nutrition and Food Research, Zeist, NL); Prof. Dr. Drevon (University of Oslo, N)

November 12, 2004 Round table on occasion of NuGO (European Nutrigenomics Organization) 2nd Governing Council Meeting: back row, from right to left: Prof. Dr. Mathers (University of Newcastle, UK); Prof. Dr. Morgan (Rowett Research Institute, UK); Prof. Dr. Palou (University of the Balearic Islands, E); Prof. Dr. Dr. Joost (DIfE German Institute of Human Nutrition, D); Dr. Schäfer (DIfE German Institute of Human Nutrition, D); Dr. Pepping (NuGO Network Manager, NL); front row, from left to right: Dr. de Gooijer (Chairman, Director Sciences Group, Wageningen University, NL); Dr. van Ommen (TNO Nutrition and Food Research, Zeist, NL); Prof. Dr. Drevon (University of Oslo, N)

Vorstand**Board**

Glindemann, Brigitte
 Joost, Hans-Georg, Prof. Dr. Dr.
 Kohlmann, Gudrun
 Lammersmann, Monika
 Schäfer, Judith, Dr.
 Schmidt, Anke, Dr.
 Schulz, Hartmut, Dr.

Abteilung Molekulare Genetik**Department of Molecular Genetics**

Behrens, Maik, Dr.
 Brockhoff, Anne, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Brune, Nicole, Dipl.-Biol.
 Buße, Bernd, Dr.
 Carlo, Anne-Sophie, Neurobiol.
 Chudoba, Elke (ab 01.05.2004)
 Demgensky, Stefanie
 Jäger, Ines (ab 25.06.2003, ausgeschieden am 30.09.2004)
 Kocharyan, Ara, Dr. (ausgeschieden am 30.09.2003)
 Krautwurst, Dietmar, Dr.
 Kretzschmar, Beate
 Kuhn, Christina, Dipl.-Biol.
 Lerner, Ulrike
 Meyerhof, Wolfgang, Prof. Dr.
 Olias, Gisela, Dr. (bis 31.03.2004)
 Pyrski, Martina, Dr.
 Raab, Barbara, Dr. (ab 01.07.2004)
 Schmiedeberg, Kristin, Dipl.-Biol. (ausgeschieden am 31.03.2004)
 Schöley-Pohl, Ellen
 Shirokova, Elena, Dipl.-Phys.
 Silkeit, Monika (ausgeschieden am 30.06.2004)
 Stähler, Frauke, Dr.
 Stepanyan, Zaruhi, Medizinerin (ausgeschieden am 30.09.2003)
 Winnig, Marcel, Dipl.-Oecotroph.

Abteilung Pharmakologie**Department of Pharmacology**

Al-Hasani, Hadi, Dr.
 Augustin, Robert, Dr.
 Buchmann, Jana, Dipl.-Biochem.
 Castañeda, Tamara, Dr. (ausgeschieden am 31.08.2003)
 Hommel, Angela, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Joost, Hans-Georg, Prof. Dr. Dr.
 Jürgens, Hella, Dipl.-Oecotroph.
 Karasinsky, Anne (ab 24.06.2003)
 Kluge, Reinhart, Dr.
 Leicht, Katja, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Neubert, Susanne
 Niehaus, Monika (ab 01.09.2004)
 Plaue, Carola (ab 01.09.2004)
 Rischke, Brigitte
 Scheepers, Andrea, Dr.

Scherneck, Stephan, Pharmazeut
 Schmidt, Stefan, Dipl.-Biochem.
 Schmidt, Ulrike, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Schmolz, Katja, Dipl.-Biol.
 Schürmann-Bartsch, Annette, Prof. Dr.
 Tschöp, Matthias, Dr. (ausgeschieden am 31.08.2003)
 Warnke, Kathrin
 Wiedmer, Petra, Dr. (ab 01.02.2004)
 Zahn, Claudia, Dipl.-Biol.

Abteilung Pharmakologie / Arbeitsgruppe Physiologie des Energiestoffwechsels**Department of Pharmacology / Laboratory of Physiology of the Energy Metabolism**

Albrecht, Petra
 Brüning, Silke
 Daenzer, Maren, Dr. (ausgeschieden am 30.04.2003)
 Dorn, Maren (ausgeschieden am 31.05.2003)
 Friedrich, Maika, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Katterle, Yvonne, Dr.
 Klaus, Susanne, Prof. Dr.
 Ortmann, Sylvia, Dr. (ausgeschieden am 31.01.2003)
 Petzke, Klaus-Jürgen, Dr.
 Plaue, Carola (bis 31.01.2004)
 Schaller, Karin
 Sylvester, Antje
 Wiedmer, Petra, Dr. (bis 31.01.2004)

Abteilung Klinische Ernährung**Department of Clinical Nutrition**

Bobbert, Thomas, Dr. (ausgeschieden am 30.11.2003)
 Eisele, Isabelle, Dipl.-Ern.-Wiss. (ausgeschieden am 31.08.2004)
 Glaubitz, Markus, Dipl.-Oecotroph. (ausgeschieden am 31.12.2003)
 Göhring, Isabel, Dipl.-Ing.
 Gölke, Birgit
 Grosch, Sandra
 Hannemann, Melanie
 Huckauf, Nadine
 Jahn, Beate
 Jebautzke, Britta (ausgeschieden am 31.12.2003)
 Kaiser, Simone, Dr.
 Mietzner, Brun Henning, Dipl.-Biochem.
 Möhlig, Matthias, Dr.
 Osterhoff, Martin, Dr.
 Pfeiffer, Andreas, Prof. Dr.
 Pomplun, Doreen, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Richter, Susann
 Richter, Susanne, Dipl.-Lebensmittelchem.
 Ristow, Michael, PD Dr.

Rudovich, Natalia, Dr.
 Salami-Shojaie, Farideh (ausgeschieden am 30.04.2004)
 Schlüter, Stefanie
 Schulz, Tim Julius, Dipl.-Biochem.
 Simon, Kristin
 Spranger, Joachim, Dr.
 Sprengel, Katrin
 Stempel, Andrea (ausgeschieden am 31.08.2004)
 Twilfert, Mechthild, Ärztin im Praktikum (ausgeschieden am 30.06.2004)
 Voigt, Anja, Dipl.-Ern.-Wiss.
 von Kraack, Wiltraut
 Wagner, Andreas (ab 01.12.2004)
 Wegewitz, Uta, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Weickert, Martin, Dr.
 Ziegenhorn, Andrea

Abteilung Interventionsstudien**Department of Intervention Studies**

Franke, Andrea (ab 01.02.2003)
 Garcia, Ada, Dr.
 Gründel, Sindy, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Hanisch, Christiana, Dipl.-Oecotroph. (ausgeschieden am 31.10.2004)
 Höhne, Antje, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Hoyer, Stephan, Dr. (ausgeschieden am 31.01.2004)
 Koebnick, Corinna, Dr.
 Lorse, Martina
 Machowetz, Anja, Dipl.-Oecotroph.
 Nicolai, Karin, Dipl.-Ing. agr.
 Pester, Silvia
 Reimann, Manja, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Ruttkowski, Katja
 Schröder, Renate
 Schultz, Stefanie
 Simchen, Ulrike, Dipl.-Ern.-Wiss. (ausgeschieden am 30.06.2003)
 Steiniger, Jochen, Dr.
 Trippo, Ulrike, Dr. (ausgeschieden am 31.03.2004)
 Ulbricht, Gottfried, Dr. (ausgeschieden am 30.06.2003)
 Vulprecht, Dagmar
 Wagner, Andreas (bis 30.11.2004)
 Wagner, Karen, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Zunft, Hans-Joachim, Prof. Dr. (ausgeschieden am 31.10.2004)

Abteilung Epidemiologie**Department of Epidemiology**

Behling, Kay
 Bergmann, Manuela, Dr.
 Bernigau, Wolfgang
 Boeing, Heiner, Prof. Dr.
 Dietrich, Thomas, Dr. (ausgeschieden am 30.09.2003)

Drogan, Dagmar, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Fallisch, Sabine
 Ficht, Wilfried
 Fisher, Eva, Dr.
 Fleischhauer, Wolfgang, Mediziner
 Franke, Andrea (bis 31.01.2003)
 Haftenberger, Marjolein, Dr. (ausgeschieden am 31.08.2003)
 Hahn, Andreas, Dr.
 Harttig, Ulrich, Dr.
 Heidemann, Christin, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Heinrich, Christine
 Hoffmann, Kurt, Dr.
 Klipstein-Grobusch, Kerstin, Dr.
 Kluge, Sandra, Dr. (ausgeschieden am 31.07.2004)
 Kohlsdorf, Ellen
 Konowalzyk, Madleen (ausgeschieden am 30.11.2004)
 Kühn, Kathrein
 Lahmann, Petra, Dr.
 Nimptsch, Katharina, Dipl.-Oecotroph.
 Nöthlings, Ute, Dr. (ausgeschieden am 29.02.2004)
 Piechot, Herbert, Dipl.-Dokumentar
 Pischon, Tobias, Dr.
 Polychronidou, Elektra
 Ray, Jennifer, Dipl.-Ghl.
 Schienkiewitz, Anja, Dipl.-Oecotroph.
 Schulz, Mandy, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Schulze, Matthias, Dr.
 Walter, Dietmar, Dipl.-Oecotroph. (ausgeschieden am 31.07.2003)
 Weeske, Gabriele
 Weikert, Cornelia, Dr.

Abteilung Ernährungstoxikologie**Department of Nutritional Toxicology**

Baasanjav, Chimgee, Dipl.-Biol.
 Bakhiya, Nadiya, Dr.
 Bauer-Marinovic, Morana, Dr.
 Braune, Sabine
 Brüning, Silke
 Dobbernack, Gisela, Dipl.-Biol.
 Engst, Wolfram, Dr.
 Florian, Simone, Dr.
 Glatt, Hans-Rudolf, Prof. Dr.
 Gumz, Christine
 Hollnagel, Heli Miriam, Dipl.-Lebensmittelchem. (ausgeschieden am 31.01.2004)
 Katschak, Andrea
 Knuth, Brigitte
 Kollock, Ronny, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Langheinrich, Claudia, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Liu, Yungang, Dr. (ausgeschieden am 30.06.2003)

Meinl, Walter, Dr.
 Meyer, Elisabeth
 Osterloh-Quiroz, Mandy, Dipl.-
 Biochem.
 Pabel, Ulrike, Dr. (ausgeschieden
 am 31.10.2003)
 Schneider, Heiko, Dr.
 Scholtyssek, Martina
 Schwenk, Jutta
 Solloch, Stephan, Dipl.-Lebens-
 mittelchem.
 Sommer, Yasmin, Dipl.-Lebens-
 mittelchem.
 Stephani, Monika, Dipl.-Lebens-
 mittelchem.

Abteilung Gastrointestinale Mikrobiologie

Department of Gastrointestinal Microbiology

Alpert, Carl-Alfred, Dr.
 Blaut, Michael, Prof. Dr.
 Braune, Annett, Dr.
 Clavel, Thomas, Dipl.-Biol.
 Gruhl, Bärbel
 Gühler, Anke (ab 01.05.2003)
 Henderson, Gemma, Dipl.-
 Mikrobiol. (Bachelor of Science)
 Hollnagel, Heli Miriam, Dipl.-
 Lebensmittelchem. (ausgeschie-
 den am 31.01.2004)
 Hoschek, Laura, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Lachmann, Kathrin (ausgeschieden
 am 31.01.2003)
 Lehmann, Katrin, Dipl.-Ern.-Wiss.
 (ausgeschieden am 30.06.2004)
 Mohan, Ruchika, Mikrobiologin
 (Master)
 Müller, Susanne, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Namsolleck, Pawel, Dipl.-Meeresbiol.
 Schindler, Regine
 Schmidt, Sabine
 Sczesny, Silke, Dr. (ausgeschieden
 am 30.06.2004)
 Thiel, Ralph, Dipl.-Biol. (ausgeschie-
 den am 30.09.2004)
 Urbich, Marion
 Zimmermann, Sabine

Abteilung Biochemie der Mikronährstoffe

Department of Biochemistry of Micronutrients

Aust, Gerlinde
 Banning, Antje, Dipl.-Ern.-Wiss.
 Bittner, Jörg-Uwe
 Böhl, Gaby Fleur, Dr.
 Brigelius-Flohé, Regina, Prof. Dr.
 Bumke-Vogt, Christiane, Dr.
 Deubel, Stefanie
 Gühler, Anke (bis 30.04.2003)

Jurmann, Nadine, Dipl.-Biol.
 Kluth, Dirk, Dipl.-Biol.
 Krohn, Elvira
 Kuka, Daniela, Dipl.-Biol. (ausge-
 schieden am 21.03.2004)
 Landes, Nico, Dipl.-Ern.-Wiss. (aus-
 geschieden am 31.07.2003)
 Müller-Schmehl, Katrin, Dr. (ausge-
 schieden am 31.07.2003)
 Nell, Sandra, Dipl.-Biol.
 Pfluger, Paul, Dipl.-Biol. (ausge-
 schieden am 31.07.2004)
 Schindler, Regine
 Schnurr, Kerstin, Dr. (ausgeschie-
 den am 31.05.2003)
 Wendt, Edith (ausgeschieden am
 30.06.2004)
 Zhou, Zewen, Dr.

Arbeitsgruppe Präventiv-Medizi- nische-Lebensmittelforschung

Laboratory of Food Chemistry and Preventive Nutrition

Chudoba, Elke (bis 30.04.2004)
 Dongowski, Gerhard, Dr.
 Drzikova, Barbora, Dipl.-Ern.-Wiss.
 König, Bärbel
 Kretzschmar, Beate
 Kunkel, Bärbel (ausgeschieden am
 30.06.2003)
 Maischack, Horst
 Niehaus, Monika (bis 31.08.2004)
 Raab, Barbara, Dr. (bis 30.06.2004)
 Richter, Karin
 Sembries, Sabine, Dr. (ausgeschie-
 den am 31.03.2004)
 Stohwasser, Ralf, Dr.

Max-Rubner-Laboratorium

Max Rubner Laboratory

Gaebel, Gerhard
 Gruener, Ines
 Guldenpenning, Siegfried
 (bis 30.09.2004)
 Hase, Birgit
 Kluge, Reinhart, Dr.
 König, Svetlana
 Krause, Janet
 Kröner, Janina
 Lehmann, Ute
 Plaue, Carola (ab 01.02.2004)
 Steinmeyer, Elvira
 Tazarski, Marlies
 Taugner, Felicitas, Dr.
 Thom, Elke
 Thomas, Irmgard
 Thöne-Reineke, Christa, Dr.
 (ausgeschieden am 31.12.2003)
 Weinert, Kerstin

Ernährungsberatungszentrum

Nutritional Counseling Center

Einig, Christiana, Dr.
 Hofmann, Christine

Presse- und Öffentlichkeitsarbeit

Press and Public Relations

Backes, Gunda, Dr.
 Olias, Gisela, Dr. (ab 01.04.2004)
 Schelosky-Lauss, Susanne, Dr.
 (ausgeschieden am 29.02.2004)

Bibliothek

Library

Heidmann, Regine
 Kollhof, Dagmar

Informationstechnik

Information Technology

Fähnrich, Thomas (ab 20.06.2003)
 Kozerke, Wolfgang, Dr.
 Lux, Wolfgang
 Munzke, Michael
 Taubert, Dieter

Personal- und Sozialwesen

Personnel Department

Goetzmann, Thekla
 Ozierenski, Bärbel
 Schmidt, Korinna (ab 27.06.2003)
 Zimmermann, Karin

Haushalts- und Rechnungswesen

Bookkeeping Department

Döring, Ann-Cathrin
 Draeger, Angelika
 Findeisen, Karin
 Hunkeler-Wittleder, Ruth (ausge-
 schieden am 31.07.2004)
 Liebe, Erika
 Wilke, Michaela

Technik / Betrieb

Technical and Service Department

Backers, Hans-Günter
 Bünsch, Mario
 Clemens, Jörn-Steffen
 Glindemann, Jürgen
 Götsch, Horst
 Guldenpenning, Siegfried (ab
 01.10.2004)
 Gutsche, Christian (ausgeschieden
 am 30.06.2003)
 Kirchner, Reiner
 Luckmann, Andreas
 Reißmann, Andreas (ausgeschie-
 den am 31.01.2003)

Retusch, Michael
 Roeder, Ralph-Thomas
 Witzmann, Olaf
 Wuthe, Ralf

Allgemeine Dienste / Beschaffung

General Administration / Purchasing Department

Gärtner, Helmut (ausgeschieden
 am 30.06.2003)
 Gräser, Marina
 Heinrich, Helge
 Hirsch, Friedhelm
 Krause, Marion
 Liebe, Edith
 Osché, Elke

Auszubildende

Apprentices

Fähnrich, Thomas (bis 19.06.2003)
 Großmann, Peggy
 Jäger, Ines (bis 23.06.2003)
 Jenchen, Sebastian
 Karasinsky, Anne (bis 23.06.2003)
 Kumm, Ulrike
 Schmidt, Korinna (bis 26.06.2003)
 Schöttle, Doreen
 Tragsdorf, Tobias
 Woitkowiak, David

Kuratorium

Vorsitzende

Frau Konstanze Pistor

Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kultur des Landes Brandenburg

Stellvertretender Vorsitzender

MinDirig Dr. Peter Lange

Bundesministerium für Bildung und Forschung

Stiftungsvorstand

Wissenschaftliches Mitglied

Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost

Administratives Mitglied

Dr. Hartmut Schulz

Forschende Abteilungen und Arbeitsgruppen

Abteilung MOGE

Molekulare
Genetik

Prof. Dr.
Wolfgang Meyerhof

Abteilung PHA Pharmakologie

Prof. Dr. Dr.
Hans-Georg Joost

Arbeitsgruppe
EPH

Endokrine
Pharmakologie

Prof. Dr.
Annette Schürmann

Arbeitsgruppe
EST

Physiologie des
Energietoffwechsels

Prof. Dr.
Susanne Klaus

Abteilung KLE

Klinische
Ernährung

Prof. Dr.
Andreas Pfeiffer

Abteilung IVS

Interventions-
studien

Prof. Dr.
Hans-Joachim F. Zunft

Abteilung aufgelöst
zum 31. 10. 2004

Zentrale Einrichtungen und Administration

Ernährungs-
beratungszentrum

Dr. Christiana Einig

Max-Rubner-
Laboratorium

Dr. Reinhart Kluge

Bibliothek

Dagmar Kollhof

Informations-
technik

Wolfgang Lux

Wissenschaftliches Komitee

Vorsitzender
Prof. Dr. Dieter Häussinger, Düsseldorf



**Deutsches Institut
für Ernährungsforschung
Postdam-Rehbrücke**

Arthur-Scheunert-Allee 114-116
14558 Nuthetal
Telefon +49(0)33 200-88 0
Telefax +49(0)33 200-88 444
<http://www.dife.de>

Wissenschaftlicher Rat

Vorsitzender
Prof. Dr. Michael Blaut

Vorstandsreferentin

Dr. Anke Schmidt

Personalrat

Vorsitzender
Dr. Klaus-Jürgen Petzke

Presse- und Öffentlichkeitsarbeit

Dr. Gunda Backes

Dr. Gisela Olias

Abteilung EPI

Epidemiologie

Prof. Dr.
Heiner Boeing

Abteilung ETOX

Ernährungs-
toxikologie

Prof. Dr.
Hans-Rudolf Glatt

Abteilung GAMI

Gastrointestinale
Mikrobiologie

Prof. Dr.
Michael Blaut

Abteilung BIM

Biochemie der
Mikronährstoffe

Prof. Dr.
Regina Brigelius-Flohé

Arbeitsgruppe PML

Präventiv-Medi-
zinische Lebens-
mittelforschung

PD Dr.
Ralf Stohwasser

Arbeitsgruppe aufgelöst
zum 31. 12. 2004

Förder- angelegenheiten

Dr. Judith Schäfer

Personal- und Sozialwesen

Bärbel Ozierenski

Haushalts- und Rechnungswesen

Michaela Wilke

Technik/Betrieb

Jürgen Glindemann

Allgemeine Dienste/ Beschaffung

Marion Krause

Organe des DIfE

(Stand 31.12.2004)

Kuratorium
Advisory Board

Vorsitzende
Chairman

Konstanze Pistor, Potsdam

Stellvertr. Vorsitzende

Assistant Chairman

MinDirig Dr. Peter Lange, Bonn

Mitglieder

Members

Prof. Dr. Rudi Balling, Braunschweig

Prof. Dr. Gudrun Brockmann, Berlin

Prof. Dr. Helmut Erbersdobler, Kiel

Prof. Dr. Dr. Ulf Göbel, Berlin

Prof. Dr. Dieter Häussinger, Düsseldorf

Prof. Dr. Frieder Scheller, Potsdam

Prof. Dr. Martin Paul, Berlin

Dr. Astrid Potz, Bonn

Prof. Dr. Walter Rosenthal, Berlin

Prof. Dr. Otmar Wiestler, Heidelberg

Wissenschaftliches Komitee
Scientific Committee

Vorsitzender
Chairman

Prof. Dr. Dieter Häussinger, Düsseldorf

Mitglieder

Members

Prof. Dr. Rudi Balling, Braunschweig

Prof. Dr. Gudrun Brockmann, Berlin

Prof. Dr. Helmut Erbersdobler, Kiel

Prof. Dr. Dr. Ulf B. Göbel, Berlin

Prof. Dr. Hans-Ulrich Häring, Tübingen

Prof. Dr. Peter Morgan, Aberdeen, GB

Prof. Dr. Hans-Hilger Ropers, Berlin

Prof. Dr. Walter Rosenthal, Berlin

Prof. Dr. Peter van Bladeren, Lausanne, CH

Prof. Dr. Otmar Wiestler, Heidelberg

Stiftungsvorstand
Board of Directors

Wissenschaftlicher Vorstand
Scientific Director

Prof. Dr. Dr. Hans-Georg Joost

Administrativer Vorstand

Administrative Director

Dr. Hartmut Schulz

Wissenschaftlicher Rat
Scientific Council

Vorsitzender
Chairman

Prof. Dr. Michael Blaut

Personalrat
Staff Council

Vorsitzender
Chairman

Dr. Klaus-Jürgen Petzke



How to get to DfE

by air:

preferably to Berlin-Tegel airport, from there by bus (line X9) to train station "Berlin-Zoologischer Garten" and further by train (direction Belzig 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, 1.3 km), **DfE main building (Haus E)** is located on the left

or alternatively from "Berlin-Zoologischer Garten" further by train (direction Brandenburg or Magdeburg) to "Potsdam-Hauptbahnhof", from there by tram (line X91, 90 or 93) in direction "Bahnhof Rehbrücke" out of town to the end of the line, continue along Arthur-Scheunert-Allee by bus (line 611, bus stop near the tram platform) to bus stop "Ernährungsinstitut" or walk in the same direction (about 15 minutes walking time, 1.3 km)

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, 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, 1.3 km), **DfE main building (Haus E)** is located on the left

to "Berlin-Zoologischer Garten" and further by train (direction Belzig 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, 1.3 km) to "Berlin-Wannsee", from there by train to station "Potsdam-Rehbrücke" (direction Belzig, 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, 1.3 km)

by car:

via Berliner Ring (A 10) to junction "Dreieck Nuthetal", from there in direction Berlin to exit "Saarmund", further on to the right, continue for about 1.2 km and enter Alice-Bloch-Straße on the left to get to DfE premises V (Haus V) or continue for about 2 km to get to **DfE main building (Haus E)** on the right

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, die Zufahrt über Alice-Bloch-Straße zum DfE, Haus V befindet sich nach ca. 1,2 km auf der linken Seite, das **DfE-Hauptgebäude (Haus E)** 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 „Potsdam Hauptbahnhof“ bis Haltestelle „Ernährungsinstitut“ (fährt i.d.R. stündlich), mit den Straßenbahnlinien X91 (fährt nur im Berufsverkehr), 90 oder 93 bis Endhaltestelle „Bahnhof-Rehbrücke“, dann weiter mit dem Bus 611 bis Haltestelle „Ernährungsinstitut“ (fährt i.d.R. stündlich) oder zu Fuß ca. 1,3 km auf der Arthur-Scheunert-Allee, das **DfE-Hauptgebäude (Haus E)** befindet sich aus dieser Richtung kommend auf der linken Seite

von Berlin:

mit der Regionalbahn ab Bahnhof „Alexanderplatz“, „Friedrichstraße“, „Zoologischer Garten“ in Richtung Belzig oder Dessau bis Bahnhof „Potsdam-Rehbrücke“, dann weiter wie von Potsdam oder mit dem Regionalexpress ab Bahnhof „Alexanderplatz“, „Friedrichstraße“ oder „Zoologischer Garten“ in Richtung Brandenburg oder Magdeburg bis „Potsdam-Hauptbahnhof“, dann weiter mit den Straßenbahnlinien X91 (fährt nur im Berufsverkehr), 90 oder 93, weiter wie von Potsdam oder ab „Wannsee“ mit dem Regionalexpress in Richtung Belzig oder Dessau oder mit der Regionalbahn in Richtung Jüterbog oder Beelitz bis Bahnhof „Potsdam-Rehbrücke“, dann weiter wie von 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





DfE-Haupteingang, Haus E
DfE main entrance, building E



Innenhof, Haus E
courtyard, building E



Bibliothek, Haus E
library, building E



DfE-Gästehaus, Gelände E
DfE guest house, premises E



**Max-Rubner-Laboratorium (MRL),
Gelände V**
Max Rubner Laboratory (MRL),
premises V