

## **Zusammenfassung der Dissertation**

### **“Genetische Determinanten des Homocystein- und Folatstoffwechsels“**

Die Ergebnisse zahlreicher epidemiologischer Studien weisen darauf hin, dass der Homocysteinspiegel ein unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen ist. Der Homocysteinspiegel ist neben Lebensstilfaktoren auch von genetischen Determinanten abhängig. In den letzten Jahren wurden vor allem Polymorphismen im Homocystein- und Folatstoffwechsel untersucht. Der am besten untersuchte Polymorphismus ist die MTHFR-C677T-Transition im Gen der Methylentetrahydrofolatreduktase. Es konnte gezeigt werden, dass dieser Polymorphismus mit dem Homocysteinspiegel und mit kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert ist. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Bedeutung von weiteren Polymorphismen in den Genen des Homocystein- und Folatstoffwechsels für den Homocysteinspiegel aufzuklären.

Im ersten Teil der Arbeit wurden Methoden zum Nachweis von bekannten Polymorphismen etabliert. Als besonders anwenderfreundlich erwiesen sich die Denaturing High Performance Chromatography (DHPLC) und die direkte Agarosegelelektrophorese (dAGE). RFLP-Methoden waren im Vergleich zu DHPLC- und dAGE-Methoden arbeitsintensiver in der Durchführung. Die DHPLC-Methoden fielen positiv durch geringen Probenverbrauch und die gute Automatisierbarkeit auf. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) konnte bei neun, DHPLC bei sieben und dAGE bei drei von zwölf Polymorphismen angewendet werden.

Im zweiten Teil wurde der Einfluss der TC II-C776G-Transversion und der RFC I-G80A-Transition auf den Homocysteinspiegel bei 159 gesunden Senioren untersucht. Es wurde ermittelt, dass bei den untersuchten Probanden weder die TC II-C776G-Transversion noch die RFC-G80A-Transition mit dem Homocysteinspiegel assoziiert waren. Das G-Allel der Transversion war bei diesen Probanden mit reduzierten Holo-Transcobalaminspiegeln assoziiert. Zusätzlich zu diesen Ergebnissen wurde bei einem Probanden eine bis jetzt unbekannte stille DNA-Sequenzvariation nachgewiesen. Die Genotyp- und Allelfrequenzen sowie stoffwechselphysiologischen Effekte dieser DNA-Sequenzvariation müssen in weiteren Studien untersucht werden.

Im dritten Teil wurde der Einfluss von drei bekannten Polymorphismen (6-Bp-Deletion, 28-Bp-Repeat, G-58C-Transversion) im Thymidylatsynthasegen bei 63 gesunden Probanden auf den Homocysteinspiegel und die Folatkonzentrationen untersucht. Des Weiteren wurde die codierende DNA-Sequenz des Gens mittels DHPLC auf unbekannte DNA-Sequenzvariationen untersucht. Für die 6-Bp-Deletion wurden bei homozygoten Probanden höhere Homocysteinspiegel als bei heterozygoten Probanden und Wildtypen ermittelt. Eine C>T-Transition im Intron 6 des Thymidylatsynthasegens zeigte bei heterozygoten Probanden höhere Erythrozyten- bzw. Plasmafolatkonzentrationen als bei Wildtypen und homozygoten Probanden. Bei einem Probanden wurde eine weitere bis jetzt unbekannte 8-Bp-Deletion im Intron 1 des Thymidylatsynthasegens nachgewiesen. Auch zur Ermittlung der Genotyp- und Allelfrequenzen sowie der stoffwechselphysiologischen Effekte dieser Deletion müssen weitere Studien durchgeführt werden. Es wurden keine bis jetzt unbekanntes exonischen DNA-Sequenzvariationen im Gen der Thymidylatsynthase entdeckt.

Die DHPLC-Technologie erwies sich in dieser Arbeit als eine zuverlässige Methode zum Screenen nach bekannten und unbekanntes DNA-Sequenzvariationen.