

## Functional and association analysis of polymorphisms in selected genes of fat metabolism

MSc Mike Böhme

1. Berichterstatter: Professor Dr. F. Döring

Das Fettsäure-Bindungsprotein 2 (FABP2), das mikrosomalen Triglycerid-Transfer Protein (MTTP) und die Prostaglandin E Synthase 2 (PTGES2) sind beteiligt an der Regulierung des Fettstoffwechsels. Polymorphismen in den Genen vom FABP2, MTTP und PTGES2 sind mit Markern des Metabolischen Syndroms (MetS) assoziiert. Diese Arbeit erweitert das Wissen über den Zusammenhang zwischen diesen 3 Gen Bereichen und Markern des MetS auf der Basis von Assoziationsstudien in der KORA Kohorte mit mehr als 8000 Teilnehmern. Weiterhin wurde die Regulation des FABP2 Promotors durch PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  funktionell in einem Zellkulturansatz untersucht.

FABP2 reguliert die Absorption und den zytosolischen Transport von nicht veresterten langkettigen freien Fettsäuren (FS) sowie deren Einbau in Chylomikronen im Darm. Weiterhin transportiert FABP2 FS in den Zellkern, in dem diese als Liganden für Transkriptionsfaktoren fungieren. Der FABP2 Promotor zeigt die Polymorphismen c.-80\_-79insT, c.-136\_-132delAGTAG, c.-168\_-166delAAGinsT, c.-260G>A, c.-471G>A und c.-778G>T, die in den Haplotypen A and B resultieren. Studien in kleinen Kohorten zeigten Assoziationen der FABP2 Promotor Haplotypen mit Diabetes Typ 2 (T2D) und BMI. Lineare Regressions-Analysen der beiden Haplotypen im Bezug auf den BMI von 8072 Männern und Frauen der KORA Kohorte offenbarte eine Reduktion um -0.39 BMI Einheiten (E.) (p=0.02) von homozygoten männlichen FABP2 Promotor Haplotyp B-Trägern. Generell hatten Männer mit dem Haplotyp B einen um -0.19 E. (p=0.03) signifikant erniedrigten BMI. Übereinstimmend hatten Träger des seltenen Allels eine BMI Erniedrigung in den Gruppen mit einem BMI von 25-30 (-0.10 E., p=0.03) und <30 (-0.37 E., p=0.02). Weibliche Träger des seltenen Allels zeigten keine signifikanten Assoziationen. Funktionelle Untersuchungen der FABP2 Promotor Haplotypen nach PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  Transfektion führten zu einer 2-fach erhöhten Aktivität des Haplotyps B im Vergleich zu A im Zellkulturansatz. FABP2 Promotor Chimären zeigten, dass die stärkere Aktivierbarkeit des Haplotyps B wesentlich von dem c.-471G>A SNP abhängig ist. Elektro Mobility Shift Assays und Promotor Reporter Analysen zeigten eine Promotor aktivierende Bindung von OCT1 im Bereich des c.-471 SNP. Die haplotypen-spezifische Induktion durch PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  wurde dadurch aufgehoben.

MTTP ist ein Schlüsselenzym in der Bildung und der Sekretion von Chylomikronen und VLDL im Darm und in der Leber. Assoziationsstudien zwischen MTTP SNPs und Markern des MetS, besonders Lipid-Werten, wiesen in kleinen Kohorten widersprüchliche Ergebnisse auf. 7 htSNPs, sowie 2 cSNPs (I128T, H297Q), die eine 52 kb Region des MTTP Locus umspannen, wurden auf ihr MetS Marker veränderndes Potential mittels Linearer Regression in 7582 Teilnehmern der KORA Kohorte hin untersucht. Ausschließlich weibliche Träger eines Haplotyps mit dem seltenen Allel des H297Q SNP zeigten eine signifikante Erniedrigung des BMIs um -0.64 E. (p=0.03). Ausschließlich Frauen mit einem Q-Allel zeigten Verminderungen des BMIs (Q- Träger: -0.26 BMI E., p=0.02; Q/Q: -0.66 BMI E., p=0.01), des Hüftumfangs (Q- Träger: -0.66 cm, p=0.01; Q/Q -1.44 cm, p=0.01) und des gesamt Cholesterins (Q- Träger: -0.05 mmol/l, p=0.03; Q/Q: -0.11 mmol/l, p=0.03). Männliche Träger des Q-Allels wiesen keine Veränderung dieser Parameter auf.

PTGES2 bildet das antilipolytische Prostaglandin E<sub>2</sub>. Das H-Allel des R298H SNP im PTGES2 Gen ist mit einem erniedrigten T2D Risiko assoziiert. Um den Einfluss von PTGES2 SNPs auf BMI Veränderungen zu untersuchen, wurden der R298H SNP und 3 htSNPs, welche eine 20 kb Region des PTGES2 Gens umspannen, in der KORA Kohorte mit 8079 Teilnehmern analysiert. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen BMI und heterozygoten Trägern des R298H SNP im Vergleich zu Trägern des häufigen Allels wurde ausschließlich in Männern gefunden. Träger des R/H Genotyps wiesen eine Reduktion um -0.30 BMI E. (p=0.02) auf.

Männer die einen 298H Haplotyp aufwiesen zeigten einen um -0.19 E. erniedrigten BMI ( $p=0.04$ ). Weiteren htSNPs oder Haplotypen zeigten keine Assoziationen zu einem veränderten BMI.

Lineare Regressions-Analysen in der KORA Kohorte ( $n>8000$ ) zeigten Assoziationen zwischen dem BMI und Polymorphismen im FABP2 Promotor und den Genen des MTTP und der PTGES2. Der MTTP H297Q SNP ist weiterhin mit Veränderungen im Hüftumfang und des Gesamt Cholesterins assoziiert. Funktionelle Analysen des FABP2 Promotors zeigten, dass die 2-fach höhere Aktivierbarkeit des Haplotyps B durch PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  durch den SNP c.-471G>A hervorgerufen wird. Zusätzlich wurde OCT1 als ein Transkriptionsfaktor identifiziert, der den FABP2 Promotor reguliert. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass Polymorphismen in den Genen des FABP2, MTTP und PTGES2, die für den Fettstoffwechsel wichtig sind, zur Entstehung des MetS beitragen.