

Lehrstuhl und Poliklinik für Präventive und Rehabilitative Sportmedizin
des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. Halle)

**Assoziation zwischen Polymorphismen in den
Peroxisome Proliferator-activated Receptor- α , - δ und - γ 2 Genen
und der Ausdauerleistungsfähigkeit**

Liesl Fichtbauer

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. M. Halle
2. Univ.-Prof. Dr. T. Meitinger

Die Dissertation wurde am 13.09.2007 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 22.10.2008 angenommen.

INHALTSVERZEICHNIS

1	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	5
2	EINLEITUNG	7
3	THEORETISCHE GRUNDLAGEN UND PROBLEMSTELLUNG	8
3.1	Ausdauerleistungsfähigkeit und ihre Grundlagen.....	8
3.1.1	Begriffsbestimmung Ausdauerleistungsfähigkeit	8
3.1.2	Einflussfaktoren auf die Ausdauerleistungsfähigkeit.....	8
3.1.3	Messung der Ausdauerleistungsfähigkeit: Die maximale Sauerstoffaufnahme.....	9
3.1.4	Körperliche Anpassungsreaktionen in Folge von Ausdauertraining.....	10
3.2	Vererbung von Ausdauerleistungsfähigkeit und Trainierbarkeit.....	11
3.2.1	Studien zur Vererbung von Ausdauerleistungsfähigkeit und Trainierbarkeit.....	11
3.2.2	Studien zu den genetischen Grundlagen der Ausdauerleistungsfähigkeit	12
3.2.2.1	Aktuelle Forschungsansätze	12
3.2.2.2	Beispiele vorangegangener Studien und erste Ergebnisse	13
3.3	Geeignete Kandidatengene: Die Peroxisome Proliferator-activated Receptors	15
3.3.1	PPAR α : Vorkommen, Funktionen und bekannte Polymorphismen	16
3.3.2	PPAR δ : Vorkommen, Funktionen und bekannte Polymorphismen.....	17
3.3.3	PPAR γ :Vorkommen, Funktionen und bekannte Polymorphismen.....	18
3.4	Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	20
4	MATERIAL UND METHODIK	21
4.1	Probandenkollektiv	21
4.2	VO₂max-Messung.....	22
4.3	Genotypisierung	22
4.3.1	DNA-Gewinnung	22
4.3.2	Polymerase-Kettenreaktion	23
4.3.2.1	Amplifikation des PPAR α Leu162Val-Polymorphismus.....	23
4.3.2.2	Amplifikation des PPAR δ +294T>C Polymorphismus.....	24

4.3.3	Restriktionsenzymverdau	25
4.3.3.1	Restriktionsenzymverdau am PPAR α Leu162Val Locus.....	25
4.3.3.2	Restriktionsenzymverdau am PPAR δ + 294 T/C-Locus.....	26
4.4	Gelelektrophorese und UV-Licht Darstellung	27
4.4.1	Kontrolle der PCR-Produkte	27
4.4.2	Analyse der Restriktionsfragmentlängen	27
4.4.2.1	Analyse der Restriktionsfragmentlängen am PPAR α Leu162Val-Locus	27
4.4.2.2	Analyse der Restriktionsfragmentlängen am PPAR δ +294T>C-Locus	28
4.5	Amplifikation und Restriktionsenzymverdau am PPARγ2 Pro12Ala-Locus	29
4.6	Fehlerprüfung.....	29
4.7	Statistische Auswertung	29
4.7.1	Vergleich der Genotypenfrequenz mit dem Hardy-Weinberg-Equilibrium	30
4.7.2	Nationenvergleich	30
4.7.3	Vergleich der Athleten- und Kontrollgruppen	30
5	<u>ERGEBNISSE</u>	<u>31</u>
5.1	Hardy–Weinberg Equilibrium.....	31
5.2	Auswertung der Genotypisierung am PPARα Leu162Val-Locus	31
5.2.1	Verteilung der Genotypen, der Allele und des Trägerstatus am PPAR α Leu162Val-Locus im gesamten Probandenkollektiv	31
5.2.2	Vergleich der nationalen Gruppen am PPAR α Leu162Val-Locus	32
5.2.2.1	Vergleich der Nationengesamtgruppen ungeachtet des Trainingsstatus	32
5.2.2.2	Nationenvergleich der Athletengruppen.....	34
5.2.2.3	Nationenvergleich der Kontrollgruppen.....	35
5.2.3	Vergleich der Athleten mit den Kontrollpersonen	36
5.2.3.1	Vergleich der Athleten mit den Kontrollpersonen ungeachtet der Nationalität	36
5.2.3.2	Vergleich der nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen	37
5.2.3.3	Vergleich der deutschen Athleten und Kontrollpersonen.....	38
5.2.3.4	Vergleich der finnischen Athleten und Kontrollpersonen.....	38

5.3	Auswertung der Genotypisierung am PPARδ +294T>C-Locus.....	39
5.3.1	Verteilung der Genotypen, Allele und Trägerstatus am PPAR δ +294T>C-Locus im gesamten Probandenkollektiv	39
5.3.2	Vergleich der nationalen Gruppen am PPAR δ +294T>C-Locus.....	40
5.3.2.1	Vergleich der Nationengesamtgruppen ungeachtet des Trainingsstatus	40
5.3.2.2	Nationenvergleich der Athletengruppen.....	42
5.3.2.3	Nationenvergleich der Kontrollgruppen	43
5.3.3	Vergleich der Athleten mit den Kontrollpersonen am PPAR δ +294T>C-Locus.....	44
5.3.3.1	Vergleich der Athleten mit den Kontrollpersonen ungeachtet der Nationalität	44
5.3.3.2	Vergleich der nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen	45
5.3.3.3	Vergleich der deutschen Athleten und Kontrollpersonen.....	46
5.3.3.4	Vergleich der finnischen Athleten und Kontrollpersonen.....	47
5.4	Auswertung der Genotypisierung am PPARγ2 Pro12Ala-Locus.....	47
5.4.1	Verteilung der Genotypen, Allele und Trägerstatus am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus im gesamten Probandenkollektiv	47
5.4.2	Vergleich der verschiedenen Nationen am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus	49
5.4.2.1	Vergleich der nationalen Gruppen ungeachtet des Trainingsstatus.....	49
5.4.2.2	Nationenvergleich der Athletengruppen.....	50
5.4.2.3	Nationenvergleich der Kontrollgruppen	51
5.4.3	Vergleich der Athleten mit den Kontrollpersonen	52
5.4.3.1	Vergleich der Athleten mit den Kontrollpersonen ungeachtet der Nationalität	52
5.4.3.2	Vergleich der nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen	53
5.4.3.3	Vergleich der deutschen Athleten und Kontrollpersonen.....	55
5.4.3.4	Vergleich der finnischen Athleten und Kontrollpersonen.....	56
6	<u>DISKUSSION.....</u>	<u>57</u>
6.1	Probandenkollektiv und Methodik.....	57
6.1.1	Größe des Probandenkollektivs.....	57
6.1.2	Zusammensetzung des Probandenkollektivs.....	58
6.1.3	Vergleichbarkeit von Alter, Größe und Gewicht der Probanden	59
6.1.4	Festlegung der VO ₂ max Schwellen für die Gruppenzuordnung.....	60
6.1.5	DNA-Gewinnung und Genotypisierung mittels PCR und Restriktionsverdau.....	60

6.2	Frequenzen der Polymorphismen im Gesamtkollektiv	61
6.3	Frequenzunterschiede der Polymorphismen in den drei Nationengruppen	61
6.4	Frequenzunterschiede der Polymorphismen in Athleten- und Kontrollgruppe	63
6.4.1	Frequenz des PPAR α Leu162Val-Polymorphismus in EEA- und SC-Gruppe.....	63
6.4.2	Frequenz des PPAR δ +294T>C-Polymorphismus in EEA- und SC-Gruppe	65
6.4.3	Frequenz des PPAR γ 2 Pro12Ala Polymorphismus in EEA- und SC-Gruppe	69
7	<u>ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNG.....</u>	72
8	<u>VERZEICHNISSE.....</u>	74
8.1	Abbildungsverzeichnis.....	74
8.2	Tabellenverzeichnis.....	79
8.3	Literaturverzeichnis.....	80
9	<u>ANHANG</u>	90
9.1	Häufig verwendete Puffer und Lösungen	90
9.2	Herstellung der Gele	90

1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACE	Angiotensin converting enzyme
ADRA2A	Alpha-2A-adrenergen Rezeptor
Ala	Alanin
ATP	Adenosintri-phosphat
BMI	Body Mass Index
bp	Basenpaare
BSA	Bovines Serum Albumin
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin (Nukleinbase)
CaMKIV	Calcium/Calmodulin dependent protein kinase IV
CKMM	Muskel-spezifische Creatinekinase
CnA	Calcineurin A
DBD	Desoxyribonukleinsäure-Bindungsdomäne
DNA	Desoxyribonucleic Acid (Desoxyribonukleinsäure)
dNTP	Desoxynukleosidtriphosphat
EEA	Elite Endurance Athlete
EPOR	Erythropoetin-Rezeptor
etc.	et cetera
FT	Fast Twitch (schnell zuckend)
G	Guanin (Nukleinbase)
Gly	Glycin (Aminosäure)
HDL	High Density Lipoprotein
LBD	Liganden-Bindungsdomäne
LDL	Low Density Lipoprotein
Leu	Leucin
LPL	Lipoproteinlipase
*MIM	Mendelian Inheritance in Men Nummer
NOS3	Endotheliale Nitrooxid-Synthetase 3
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerasekettenreaktion)
PGC-1 α	Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ coactivator 1 α
PGC-1 β	Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ coactivator 1 β
PPAR	Peroxisome Proliferator-activated Receptor
PPRE	Peroxisome Proliferator Response Element

1 Abkürzungsverzeichnis

Pro	Prolin (Aminosäure)
QTL	Quantitative Trait Loci
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RXR	Retinoid-X-Receptor
SC	Sedentary Control
Ser	Serin (Aminosäure)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
ST	Slow Twitch (langsam zuckend)
T	Thymin (Nukleinbase)
u.a.	unter anderem
Val	Valin (Aminosäure)
vs.	versus
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
VO ₂ max	maximale Sauerstoffaufnahme
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

2 EINLEITUNG

Ausdauerleistungsfähigkeit und ihre Trainierbarkeit gehören in der Sportwissenschaft und Sportmedizin seit jeher zu den zentralen Forschungsgegenständen. In den letzten Jahren findet aber auch ihre Bedeutung im präventiven und rehabilitativen Bereich zunehmende Beachtung. Sportmedizinern, Trainern und Sportlern ist seit langem bekannt, dass sich die Ausdauerleistungsfähigkeit durch entsprechendes Training zwar grundsätzlich steigern lässt, der erreichbare Grad der Verbesserung von Mensch zu Mensch jedoch sehr unterschiedlich ist.

Ergebnisse von Zwillings- und Familienstudien der 70er und 80er Jahre zeigten, dass diese erheblichen interindividuellen Variationen sowohl in der Ausdauerleistungsfähigkeit als auch ihrer Trainierbarkeit zu einem beachtlichen Anteil erblich sind. Dank des technischen Fortschritts in Molekularbiologie und Gentechnologie ist es inzwischen möglich, auf der Ebene der DNA (= Desoxyribonucleic acid) nach einzelnen Genvarianten zu suchen, welche die Ausdauerleistungsfähigkeit bzw. ihre Trainierbarkeit beeinflussen. In vorausgegangenen Studien wurden bereits eine Reihe von Polymorphismen in Genen mit unterschiedlichsten Funktionen untersucht, und erste Korrelationen mit der Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit gefunden, u.a. bei Genen aus den Bereichen Sauerstofftransport im Blut, Regulation des Blutdrucks und Blutflusses und anaerober Muskelstoffwechsel (WOLFARTH et al. 2005).

Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf drei Polymorphismen in einer Gruppe von nukleären Rezeptoren, den „*Peroxisome Proliferator-activated Receptors*“ (PPARs). Da PPARs wichtige Regulatoren im Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel sind, könnten Varianten in den zugehörigen Genen zu relevanten Unterschieden in der Relation von Fettsäure- und Kohlenhydratstoffwechsel bzw. zu einer mehr oder weniger starken Zunahme der oxidativen Kapazität der Skelettmuskulatur nach systematischem Ausdauertraining führen.

Man erhofft sich, durch die Identifizierung von Assoziationen bestimmter Genvarianten mit den Phänotypen Ausdauerleistungsfähigkeit und Trainierbarkeit Erkenntnisse über bisher nur unvollkommen verstandene physiologische Regulations- und Anpassungsmechanismen zu gewinnen. Die möglichen Anwendungen dieser Erkenntnisse liegen dabei nicht nur im Bereich des Leistungssports, sondern könnten ebenfalls in der Prävention und Therapie chronischer Krankheiten wie Adipositas, Hypertonie, Diabetes Typ 2 oder der koronaren Herzkrankheit Bedeutung erlangen. Im Idealfall könnten z.B. Medikamente entwickelt werden, welche negative Konsequenzen einer bestimmten Genvariante für den Stoffwechsel kompensieren würden. Denkbar wäre auch, dass nach einer Genanalyse entschieden werden könnte, ob ein Patient von einem Behandlungsversuch mit Ausdauertraining profitieren würde oder ob eine medikamentöse Therapie viel versprechender wäre.

3 THEORETISCHE GRUNDLAGEN UND PROBLEMSTELLUNG

3.1 Ausdauerleistungsfähigkeit und ihre Grundlagen

3.1.1 Begriffsbestimmung Ausdauerleistungsfähigkeit

Unter Ausdauer versteht man in der Sportwissenschaft ganz allgemein die Fähigkeit, Belastungen einer bestimmten Intensität für möglichst lange Zeit ohne Ermüdungserscheinungen standzuhalten (HOLLMAN und HETTINGER 2000). Je nach Art des Muskelstoffwechsels, Form der verrichteten Arbeit, Anteil der arbeitenden Muskulatur und Dauer der Belastung werden verschiedene Ausdauerformen unterschieden. Im Folgenden bezieht sich der Begriff *Ausdauerleistungsfähigkeit* in Anlehnung an die einschlägige Literatur nur auf die Leistungsfähigkeit im Bereich der *allgemeinen aeroben Ausdauer* bei dynamischer Muskelarbeit. Diese zeichnet sich durch eine überwiegend Sauerstoff verbrauchende (= aerobe) Energiegewinnung und den Einsatz von mindestens 1/6 – 1/7 der gesamten Muskelmasse aus (HOLLMAN und HETTINGER 2000). Unter energetischen Gesichtspunkten entspricht die Ausdauerleistungsfähigkeit der maximalen Energie, die mit Hilfe aerober Stoffwechselprozesse pro Zeiteinheit bereitgestellt werden kann (BASSETT u. HOWLEY 2000).

3.1.2 Einflussfaktoren auf die Ausdauerleistungsfähigkeit

Voraussetzungen für eine ausgewogene aerobe Energiebereitstellung während lang andauernder Muskelarbeit sind eine ausreichende Durchblutung und Versorgung der Muskulatur mit Sauerstoff und Nährstoffen. Im Muskel selbst ist vor allem seine Ausstattung mit Mitochondrien und Enzymen des aeroben Stoffwechsels entscheidend für seine Kapazität, aus Nährstoffen unter Sauerstoffverbrauch Energie zu gewinnen. (HOLLMAN u. HETTINGER 2000). Reicht die Sauerstoffversorgung bzw. die oxidative Kapazität des Muskels unter hoher Belastungsintensität nicht aus, um den Energiebedarf vollständig über aerobe Stoffwechselwege abzudecken, kommen vermehrt auch anaerobe Stoffwechselprozesse zum Einsatz. Als Nebenprodukt dieser anaeroben Stoffwechselwege entsteht Laktat, welches im Muskel zu einem pH-Abfall und in dessen Folge zu einer schnellen Ermüdung führt (HOLLMAN u. HETTINGER 2000). Die allgemeine aerobe Ausdauerleistungsfähigkeit wird deshalb zum großen Teil von der Kapazität des kardiopulmonalen Systems hinsichtlich der Sauerstoffversorgung der arbeitenden Muskulatur sowie der oxidativen Stoffwechselkapazität der Muskulatur bestimmt (BASSETT u. HOWLEY 2000).

Durch systematisches Training lässt sich die Ausdauerleistungsfähigkeit deutlich steigern, so dass der Trainingsstatus ebenfalls entscheidend für die Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit einer Person ist. Des Weiteren spielen aber auch biomechanische, koordinative,

psychologische und nicht zuletzt umweltbezogene Aspekte eine Rolle (SHEPHARD 1993, HOLLMAN u. HETTINGER 2000). Außerdem gibt es deutliche Hinweise auf eine genetisch bedingte Komponente bei der Ausprägung von Ausdauerleistungsfähigkeit und Trainierbarkeit.

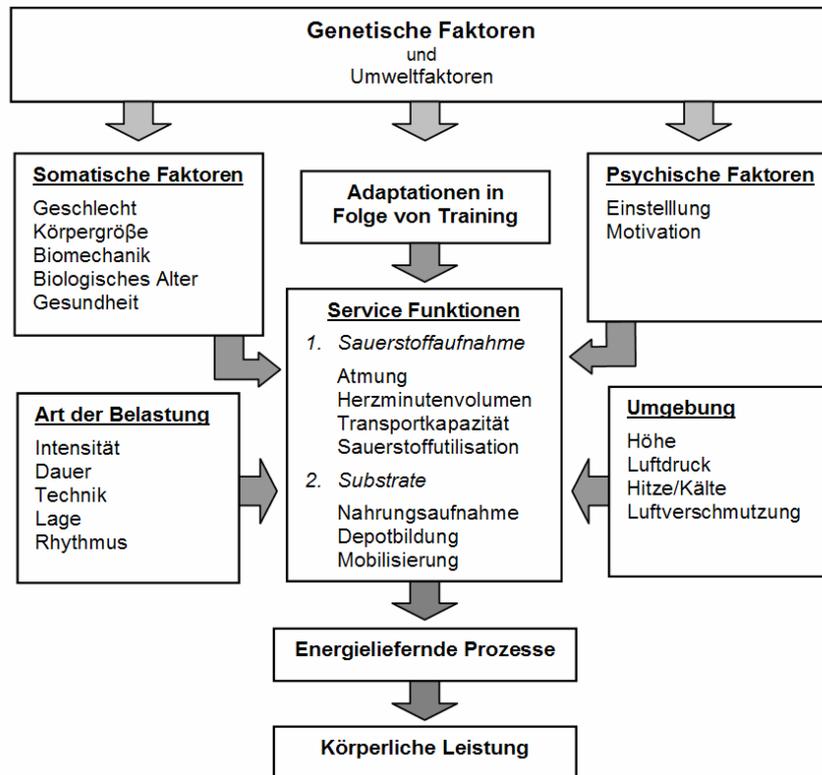


Abbildung 1: Einflussfaktoren auf die Ausdauerleistungsfähigkeit.
In Anlehnung an: ÅSTRAND 1993, Abb. 18.2, S.190.

3.1.3 Messung der Ausdauerleistungsfähigkeit: Die maximale Sauerstoffaufnahme

Einen aussagekräftigen und zuverlässigen Indikator für die Ausdauerleistungsfähigkeit einer Person stellt ihre *maximale Sauerstoffaufnahme* (VO_2max) dar. Sie gilt in der Sportwissenschaft unter mehreren weiteren Meßmethoden als der Goldstandard zur Beurteilung der Ausdauerleistungsfähigkeit (MEYER u. KINDERMANN 1999). Die VO_2max ist definiert als das größte Volumen an Sauerstoff, welches der Körper unter intensiver Belastung pro Minute aufnehmen und in aeroben Stoffwechselprozessen verbrauchen kann (GARRET u. KIRKENDALL 2000). Um die Ausdauerleistungsfähigkeit von Individuen mit unterschiedlicher Körpergröße und Körperbau besser vergleichen zu können, wird die maximale Sauerstoffaufnahme oft auch in Relation zum Körpergewicht in $ml/kg \cdot min^{-1}$ angegeben (HOLLMAN u. HETTINGER 2000).

Eine hohe VO_2max ist absolute Voraussetzung für Spitzenleistungen im gesamten Ausdauerbereich (FAGARD et al. 1991). So erreichen Weltklasseausdauersportler maximale Sauer-

stoffaufnahme von bis zu $90\text{ml/kg}\cdot\text{min}^{-1}$, während die Mehrzahl untrainierter gesunder Normalpersonen VO_2max -Werte im Bereich von $30\text{--}50\text{ml/kg}\cdot\text{min}^{-1}$ aufweist (MEYER u. KINDERMANN 1999, HOLLMANN u. HETTINGER 2000, GARRET u. KIRKENDALL 2000).

Durch Ausdauertraining kann bei normaler Ausgangslage die maximale Sauerstoffaufnahme durchschnittlich um 20-30%, maximal um ca. 40% gesteigert werden (BOUCHARD et al. 1988, BOUCHARD et al. 1992). Nur in Ausnahmefällen - insbesondere, wenn die VO_2max einen extrem niedrigen Ausgangswert hatte, wie z.B. nach langer Bettruhe - sind auch Verbesserungen um mehr als 40% beobachtet worden (HOLLMANN u. HETTINGER 2000).

3.1.4 Körperliche Anpassungsreaktionen in Folge von Ausdauertraining

Die Möglichkeit zur Steigerung der Ausdauerleistungsfähigkeit durch Training lässt sich auf adaptive Vorgänge in den verschiedenen beteiligten Organsystemen zurückführen. Im kardio-pulmonalen System richten sich diese Anpassungen in ihrer Gesamtheit auf eine Zunahme der Kapazität für die Sauerstoffaufnahme aus der Atemluft ins Blut und des Sauerstofftransports im Blut zur arbeitenden Muskulatur (GARRET u. KIRKENDALL 2000). In der Muskulatur selbst sind sowohl strukturelle als auch metabolische Veränderungen zu beobachten, die in ihrem Zusammenspiel zu einer größeren und effizienteren aeroben Energiebereitstellung führen (HOLLMANN u. HETTINGER 2000). Auf der strukturellen Ebene kann es durch Ausdauertraining zu einer Verschiebung der Muskelfasertypenrelation von Typ II oder "Fast twitch" (FT) Fasern zu Gunsten der Typ I auch "Slow Twitch" (ST) Fasern kommen (WANG et al. 2004). FT-Fasern kontrahieren schnell und mit großer Kraft, generieren die benötigte Energie aber überwiegend anaerob und ermüden daher sehr schnell. ST-Fasern kontrahieren zwar langsamer und weniger kraftvoll, sind jedoch auf Grund ihres vorwiegend aeroben Stoffwechsels relativ resistent gegen Ermüdungserscheinungen und damit prädestiniert für Ausdauerbelastungen (GOLLNICK et al. 1972, SALTIN et al. 1977, ZIERATH et al. 2004). Die Umwandlung von Typ II zu Typ I Fasern wird vermutlich über ein System von miteinander interagierenden Regulationsproteinen und Signalwegen gesteuert. Unter anderen sollen Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ coactivator 1 α (PGC-1 α), Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ coactivator 1 β (PGC-1 β), Calcium/Calmodulin dependent protein kinase IV (CaMKIV) und Calcineurin A (CnA) in diesem Regulationssystem wichtige Positionen einnehmen (HANDSCHIN et al. 2003). In metabolischer Hinsicht kann Ausdauertraining über eine Vermehrung von Mitochondrien und oxidativen Stoffwechselenzymen und eine Vergrößerung der Energiesubstratspeicher in der Skelettmuskulatur eine Steigerung der aeroben Stoffwechselkapazität um mehr als 100% bewirken (GOLLNICK et al. 1973, HOLLOSZY u.

COYLE 1984, HOLLMAN u. HETTINGER 2000). Dieses hat unter anderem auch positive Effekte auf die Nutzung von Fettsäuren als Energielieferant.

Der Anteil der Fettsäureoxidation an der gesamten Energieversorgung der arbeitenden Muskulatur ist vor allem von der Arbeitsintensität abhängig und nimmt mit der Dauer einer gleich bleibenden Belastung zu. Die höchste Rate der Fettsäureoxidation wird bei einer mittleren Belastungsintensität von ca. 60-65% VO_2max gemessen. Ein weiteres Ansteigen der Intensität führt zu einer Abnahme der Fettsäureoxidation bei zunehmendem Anteil der Kohlenhydratnutzung (ROMIJN et al. 2000, LANGE 2004). Ausdauertrainierte sind dank der größeren aeroben Kapazität ihrer Skelettmuskulatur in der Lage, die unter Belastung benötigte Energie bei gleicher absoluter und relativer Arbeitsintensität zu einem deutlich höheren Prozentsatz aus der Oxidation von Fettsäuren zu gewinnen als Untrainierte (HOLLOSZY u. COYLE 1984, COGGAN et al. 1993, KIENS 2003, LANGE 2004). Dadurch wird der Verbrauch an den nur begrenzt vorhandenen Kohlenhydraten reduziert und die Laktatproduktion vermindert. Beide Effekte verlängern die Zeit bis zum Eintreten erster Erschöpfungsanzeichen (HOLLMAN u. HETTINGER 2000, SPRIET 2003, LANGE 2004).

3.2 Vererbung von Ausdauerleistungsfähigkeit und Trainierbarkeit

3.2.1 Studien zur Vererbung von Ausdauerleistungsfähigkeit und Trainierbarkeit

In frühen Studien über die physiologischen Grundlagen der Ausdauerleistungsfähigkeit wurden immer wieder große interindividuelle Unterschiede in der Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit und ihrer Trainierbarkeit festgestellt. So maßen z.B. LORTIE und Mitarbeiter bei Probanden nach einem 20-wöchigen systematischen Ausdauertrainingsprogramm Zunahmen der VO_2max , die von 5-88% variierten (LORTIE et al. 1984). Da in Familienstudien bei Mitgliedern einer Familie oft auffällige Ähnlichkeiten in der Ausprägungen der Ausdauerleistungsfähigkeit und ihres Zuwachses nach Training beobachtet worden waren, kamen eine Reihe von Autoren zu dem Schluss, dass die Ausdauerleistungsfähigkeit zumindest zum Teil von genetischen Faktoren beeinflusst sein muss (KLISSOURAS 1971, MONTOYE u. GAYLE 1978, LORTIE et al. 1982, LESAGE et al. 1985). Mehrere Familien- und Zwillingsstudien von den 80er Jahren bis heute bestätigten die Bedeutung genetischer Faktoren für die Ausdauerleistungsfähigkeit (BOUCHARD et al. 1986, BOUCHARD et al. 1988, BOUCHARD et al. 1992). Es liegen ebenfalls zahlreiche wissenschaftliche Untersuchungen vor, die zeigen, dass die immensen interindividuellen Unterschiede in der Trainierbarkeit wahrscheinlich zum großen Teil vom Genotyp abhängig sind (PRUD'HOMME et al. 1984, HAMEL et al. 1986, BOUCHARD et al. 1989, BOUCHARD et al. 1992, SKINNER et al. 2001).

Allerdings variieren die Studienergebnisse hinsichtlich der relativen Bedeutung der Vererbung zum Teil stark. Während LESAGE und Mitarbeiter in einer Studie den Einfluss der Erbfaktoren auf die maximalen Sauerstoffaufnahme nach Alters-, Geschlechts-, und Gewichtsnormierung mit 10-20% angaben (LESAGE et al. 1985), ermittelte KLISSOURAS in Zwillingstudien eine 90%ige Vererblichkeit der VO_2max (KLISSOURAS 1971). In neueren Zwillingstudien berechneten mehrere Arbeitsgruppen unabhängig voneinander, dass die Ausprägung der VO_2max zu 65-70% durch genetische Faktoren bestimmt wird. (HAMEL et al. 1986, FAGARD et al. 1991, MAES et al. 1996). BOUCHARD geht nach mehreren Untersuchungen davon aus, dass Erbfaktoren einen ca. 40%igen Anteil an der Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit haben (BOUCHARD et al. 1986, BOUCHARD et al. 1992). Die Autoren erklären die Unterschiede in ihren Ergebnissen mit den oft geringen Fallzahlen in frühen Arbeiten und einer ungenügenden Einbeziehung von umweltbedingten Einflüssen (BOUCHARD et al. 1988, BOUCHARD et al. 1992, KLISSOURAS 1997).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass Zwilling- und Familienstudien, trotz stark variierender Angaben über den Grad der Vererblichkeit, in ihrer Gesamtheit für einen deutlichen genetischen Einfluss auf die Ausdauerleistungsfähigkeit und ihre Trainierbarkeit sprechen. Die Frage, welche Gene hierfür speziell verantwortlich sind, konnte allerdings in der Vergangenheit mit den verfügbaren wissenschaftlichen Methoden nicht beantwortet werden. Erst in jüngeren Jahren sind hierfür durch entsprechende Fortschritte in Molekulargenetik und Gentechnologie geeignete Techniken entwickelt worden.

3.2.2 Studien zu den genetischen Grundlagen der Ausdauerleistungsfähigkeit

3.2.2.1 Aktuelle Forschungsansätze

Das molekularbiologische und molekulargenetische Wissen ist in den vergangenen Jahren enorm gewachsen. Moderne Techniken ermöglichen es jetzt unter anderem, genetische Unterschiede zwischen Individuen auf DNA-Ebene zu analysieren oder auch in Zellkulturen oder bei Versuchstieren bestimmte Gene durch Genmanipulation selektiv ein- oder auszuschalten. Wegen des komplexen Zusammenspiels verschiedenster Organsysteme beim Phänotyp der Ausdauerleistungsfähigkeit und bei den Adaptationsvorgängen an regelmäßiges Ausdauertraining wird angenommen, dass es sich hierbei um polygene Merkmale handelt. So bleibt es trotz moderner Methoden eine große Herausforderung, in der Vielzahl der möglichen beteiligten Gene jene Genvarianten ausfindig zu machen, welche direkt den phänotypischen Ausprägungen von Ausdauerleistungsfähigkeit und ihrer Trainierbarkeit zugeordnet werden können. Im Folgenden werden zwei verschiedene Forschungsansätze kurz erläutert.

Molekularbiologischer Ansatz

Molekularbiologische Methoden sind darauf ausgerichtet, grundlegende Regulationsmechanismen von biologischen Prozessen und Zellfunktionen wie Stoffwechsel, Wachstum, Differenzierung und Adaptation zu identifizieren und in biochemischer Hinsicht zu entschlüsseln. Unter anderem beschäftigt sich die Molekularbiologie auch mit der Frage, wie die Transkription von Genen und die folgende Translation und Faltung in funktionelle Proteine abläuft und gesteuert wird. Zur Erforschung der Funktion einzelner Gene werden vor allem Zellkulturen und Tiermodelle eingesetzt. Nach gentechnischer Manipulation in Form von Ausschalten oder artifizieller Aktivitätssteigerung des untersuchten Gens können dann die daraus im Vergleich zum Wildtyp resultierenden Veränderungen beobachtet werden (STEINACKER und WOLFARTH 2002).

Molekulargenetischer Ansatz

Im Gegensatz zur experimentellen Vorgehensweise in der molekularbiologischen Forschung wird im Rahmen des molekulargenetischen Ansatzes versucht, auf epidemiologischem Weg direkte Assoziation einzelner Genvarianten mit der Vererbung eines bestimmten phänotypischen Merkmals zu identifizieren, ohne notwendigerweise den genauen zugrunde liegenden physiologischen Zusammenhang zu kennen (STEINACKER u. WOLFARTH 2002). Dazu können verschiedene Strategien eingesetzt werden. Eine unter dem Namen „Genomic Scan“ bekannt gewordene Methode vergleicht das gesamte Genom bzw. ganze Chromosomen verschiedener Probanden, um Variationen in einzelnen, z.T. mehrere Gene beinhaltenden, DNA-Regionen - so genannten „Quantitative trait loci (QTL)“ - ausfindig zu machen, welche mit bestimmten Phänotypen assoziiert sind (BRAY 2000).

Eine Alternative zum Genomic Scan stellt der auch in der vorliegenden Arbeit verfolgte so genannte „Kandidatengen“-Ansatz dar. Hier liegt das Augenmerk auf Polymorphismen in einzelnen Genen, für welche eine Rolle in physiologischen Regulationsmechanismen oder Stoffwechselprozessen bekannt ist oder vermutet wird (BRAY 2000).

3.2.2.2 Beispiele vorangegangener Studien und erste Ergebnisse

Im Rahmen der Suche nach verantwortlichen Genen wurde 1999 das Projekt der „Human Gene Map for Fitness and Performance“ ins Leben gerufen. In ihr wird eine jährlich aktualisierte Zusammenstellung von bisher gefundenen Einflüssen einzelner Genvariationen auf Phänotypen in den Bereichen allgemeine aerobe Ausdauer, Eliteausdauersportlerstatus, Muskelkraft, andere Muskeleigenschaften und Trainingsintoleranz veröffentlicht (WOLFARTH et al. 2005). Die in der Genemap of Fitness and Performance enthaltenen Ergebnissen

bezüglich der Ausdauerleistungsfähigkeit und Trainierbarkeit gehen zum Teil auf Veröffentlichungen zweier groß angelegter Studien zurück, die hier kurz beschrieben werden sollen.

HERITAGE- Family Study

Die HERITAGE Family Studie ist eine nordamerikanische Multicenter-Familienstudie, die mit großen Fallzahlen von 750 Probanden aus zwei Generationen und einer hoch standardisierten 20-wöchigen Trainingsintervention arbeitet, um die Rolle des Genotyps für kardiovaskuläre, metabolische und hormonelle Veränderungen als Antwort auf Ausdauertraining zu untersuchen (BOUCHARD et al. 1995).

Im Rahmen dieser Studie werden sowohl der Genomic Scan- als auch der Kandidatengen-Ansatz eingesetzt. Während GAGNON et al. bei einem ersten Scan des Chromosoms 22 noch keinen Hinweis auf einen Einfluss von ausgewählten DNA-Markern auf die $VO_2\text{max}$ und ihrer Steigerung durch Training fanden (GAGNON et al. 1997), konnte bei einem folgenden Genomic Scan eine hochsignifikante Assoziation ($p < 0.001$) zwischen der $VO_2\text{max}$ vor Trainingsbeginn und QTLs auf Chromosomen 4q12, 8q24.12, 11p15.1 und 14q21.3 festgestellt werden. In derselben Studie wurden auch hochsignifikante Zusammenhänge ($p < 0,001$) zwischen der $VO_2\text{max}$ -Zunahme nach Training und einzelnen QTLs auf den Chromosomen 1p11.2, 2p16.1 und 11p14.1 sowie der QTL-Kombination 4q26/6p21.33 nachgewiesen (BOUCHARD et al. 2000).

Direkte Zusammenhänge zwischen spezifischen Genpolymorphismen und der Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit oder ihrer Trainierbarkeit wurden in der HERITAGE Family Study bisher nur für wenige Kandidatengene gefunden. RIVERA und Mitarbeiter stellten eine signifikante Assoziation zwischen einem CKMM (muscle specific creatine kinase) NcoI Polymorphismus und der $VO_2\text{max}$ -Zunahme nach Beendigung des standardisierten Trainingsprogramms bei nicht verwandten Probanden aus der HERITAGE Family Study fest (RIVERA et al. 1997a). Ergebnisse einer Studie von MONTGOMERY et al. 1998 hinsichtlich einer Assoziation zwischen einem Insertions/Deletions (I/D) Polymorphismus im Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) und bestimmten Parametern der Ausdauerleistungsfähigkeit konnten in der HERITAGE-Studie nicht sicher repliziert werden (RANKINEN et al. 2000a).

GENATHLETE- Studie

Die Genathlete-Studie ist eine internationale multizentrische Fall-Vergleichsstudie, in der eine Kohorte von ca. 300 Eliteausdauersportlern mit ca. 300 nicht verwandten Normalpersonen kaukasischer Abstammung hinsichtlich der Häufigkeit des Auftretens von bestimmten Polymorphismen in Kandidatengenen verglichen wird. Als Kandidatengene werden dabei solche

Gene angesehen, die wichtige Rollen in den Bereichen leistungsregulierende Hormone, Muskelstoffwechsel, Fettstoffwechsel, Wachstumsfaktoren, Wachstumsregulation und zelluläre Mediatoren spielen (für eine ausführlichere Beschreibung des Studiendesigns siehe WOLFARTH 2002).

Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Kohorten konnten bisher nur für relativ wenige Genvarianten ermittelt werden. So wies die Athletengruppe eine 3,5fach höhere Inzidenz für einen Polymorphismus im Erythropoetin-Rezeptor (EPOR)-Gen auf. Weitere signifikante, wenn auch nicht ganz so deutliche Assoziationen, wurden für den DraI-Polymorphismus im Alpha-2A-adrenergen Rezeptor (ADRA2A) (WOLFARTH et al. 2000) und einen Mikrosatelliten Marker im Endotheliale Nitrooxid-Synthetase 3 (NOS3)-Gen gefunden. Dagegen konnten Ergebnisse vorhergehender Studien, dass ein I/D-Polymorphismus im Angiotensin-Converting-Enzym (MONTGOMERY et al. 1998) sowie ein Polymorphismus in der muskulären Kreatinkinase (HERITAGE-Family-Studie, RIVERA et al. 1997a) mit der Ausprägung und der Trainierbarkeit der Ausdauerleistungsfähigkeit assoziiert seien, in der Genathlete-Studie nicht repliziert werden (RANKINEN et al. 2000b, RIVERA et al. 1997b). Daher bleibt die Rolle dieser beiden Polymorphismen für die Trainierbarkeit der Ausdauerleistungsfähigkeit unklar.

Unabhängig von diesen beiden groß angelegten Studien erregte kürzlich eine Untersuchung von Lucia et al. Aufmerksamkeit, in der ein Gly482Ser Polymorphismus im PGC-1 α -Gen in einer Gruppe von Weltklasse-Ausdauerathleten mit 29,1% signifikant seltener vorkam, als in einer Gruppe von untrainierten Kontrollpersonen (40,0%) ($p = 0,01$) (LUCIA et al. 2005).

3.3 Geeignete Kandidatengene: Die Peroxisome Proliferator-activated Receptors

Aus der Vielzahl der möglichen Kandidatengene wurde für diese Arbeit die Gruppe der *Peroxisome Proliferator-activated Receptors (PPARs)* ausgewählt, die mit ihren drei im Zellkern lokalisierten Rezeptorsubtypen PPAR α , PPAR δ und PPAR γ der Superfamilie der Steroid-/Thyroid-/Retinoidrezeptoren zuzuordnen ist (CLARKE et al. 1999). Als Transkriptionsregulatoren für verschiedene Enzyme und Transportproteine spielen PPARs eine wichtige Rolle in der Regulation des Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels. Sie haben aber unter anderem auch eine Bedeutung bei Entstehung von Diabetes Typ II, Atherosklerose, Krebs, Entzündungsreaktionen und der Embryonalen Implantation (DESVERGNE u. WAHLI 1999, KERSTEN et al. 2000).

Gemeinsam ist den drei Subtypen von PPARs ihr struktureller Proteinaufbau in vier Domänen sowie die Organisation der sechs codierenden Exons und die Art der Aktivierung durch lang-

kettige und ungesättigte Fettsäuren bzw. einige Fettsäurederivate (CLARKE et al. 1999, BERGER und MOLLER 2002). Bindet ein Ligand an ein PPAR-Protein, beginnt eine Kaskade von molekularen Abläufen, welche letztendlich zu einer Regulierung der Transkription von Zielgenen führt (siehe Abbildung 2). Zunächst bildet das aktivierte PPAR Protein ein Heterodimer mit dem Retinoid-X-Receptor (RXR), welches dann an eine spezifische DNA-Sequenz (Peroxisome Proliferator Response Element = PPRE) im Zielgen bindet. Nach Dissoziation von Co-Repressoren und Rekrutierung von Transkriptionscofaktoren erfolgt dann die Transkription des Zielgens (DESVERGNE und WAHLI 1999, BERGER und MOLLER 2002).

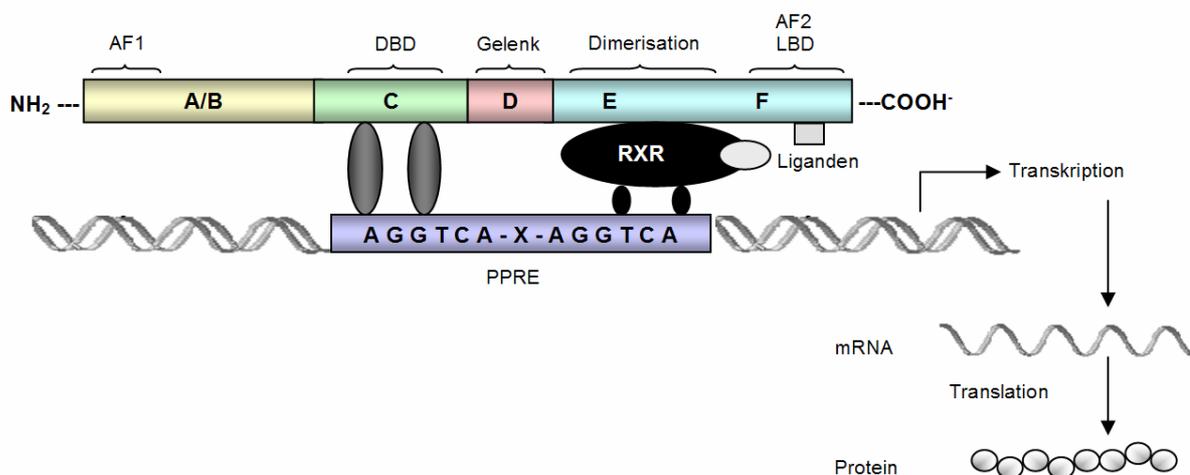


Abbildung 2: Vereinfachte schematische Darstellung der Struktur und molekularen Funktionsweise eines PPAR-Gens. AF1 = Aktivierungsfunktion 1, DBD = DNA-Bindungsdomäne, AF2 = Aktivierungsfunktion 2, LBD = Ligandenbindungsdomäne, PPRE = PPAR Response Element.
In Anlehnung an: Diradourian et al. 2005, Fig. 1, S.34

3.3.1 PPAR α : Vorkommen, Funktionen und bekannte Polymorphismen

Vorkommen und Funktionen

Menschliches PPAR α -Protein ist in besonders großer Konzentration in Geweben mit hohem oxidativen Metabolismus vorhanden, u.a. in der Leber, in der Niere, sowie in der Herz- und Skelettmuskulatur (MUOIO et al. 2002, FERRÉ 2004). Hier reguliert PPAR α die Expression von einer Reihe von katabol in den Fettstoffwechsel involvierten Genen. Die Aktivierung von PPAR α erfolgt endogen durch verschiedene langkettige Fettsäuren und mehrfach ungesättigte Fettsäuren, Eicosanoiden und auch durch Glukokortikoide (FERRÉ 2004). Sie führt über die Up-Regulation einer Vielzahl von an der Fettsäureoxidation beteiligten Enzymen sowie von Fettsäure-Transportproteinen in der Zell- und Mitochondrienmembran zu einer Steigerung der Fettsäureoxidation in der Leber und Skelettmuskulatur. Damit verbunden ist eine Senkung der Fettsäuresynthese und -freisetzung in der Leber und eine Hemmung der Fettspeicherung in Adipozyten (DESVERGNE u. WAHLI 1999, MUOIO et al. 2002, ZHANG et al 2004). Daraus resultiert unter anderem eine drastischen Senkung der Triglyceridkonzentration im Blut-

plasma. Dieser Effekt wird bei Vorliegen einer Hyperlipidämie therapeutisch bereits mit Hilfe synthetischer PPAR α -Liganden, vor allem aus der Klasse der Fibrate, genutzt (KERSTEN et al. 2000, GOUNI-BERTHOLD et al. 2004). Die von PPAR α vermittelte Steigerung der Fettsäureoxidation spielt besonders bei der Stoffwechselanpassung an Fastensituationen eine Rolle (LEONE et al. 1999, KERSTEN et al. 1999). Zudem stellten zwei Arbeitsgruppen nach mehrwöchigem Ausdauertraining eine erhöhte PPAR α -Expression und -Aktivität fest (HOROWITZ et al. 2000, RUSSEL et al. 2003).

Geninformation und bekannte Polymorphismen

Das menschliche PPAR α -Gen (+MIM 170998, ONLINE MENDELIAN INHERITANCE IN MEN 2007) befindet sich auf Chromosom 22 in der Region 22q12 – 22q13.1 (SHER et al. 1993). Unter mehreren verbreiteten Genvarianten ist eine von der Arbeitsgruppe VOHL et al. identifizierte C>G-Substitution an Position 484 in Exon 5 (entsprechend der ersten Position im Codon 162) bisher am ausführlichsten untersucht worden. Diese Mutation führt bei der Translation zu einer Substitution der Aminosäure Leucin durch die Aminosäure Valin in der DNA-Bindungsdomäne des PPAR α -Proteins (VOHL et al. 2000). Der Polymorphismus wird mit mehreren Stoffwechseleränderungen in Verbindung gebracht, unter anderem mit einer höheren Konzentrationen an LDL-Apolipoprotein B- und LDL-Cholesterin im Blut (VOHL et al. 2000), einer niedrigeren Nüchternkonzentration von Triglyceriden im Serum (BOSSE et al. 2003), einem geringeren Body Mass Index (BMI) und Körperfettanteil bei unveränderter Fettverteilung sowie einem höheren Alter bei erstmaligem Auftreten von Diabetes mellitus Typ 2 (FLAVELL et al. 2005).

Für einen G>C-Polymorphismus im Intron 7 des PPAR α -Gens wurde zunächst ein Zusammenhang mit dem Ausmaß der trainingsbedingten linksventrikulären Hypertrophie festgestellt (Jamshidi et al. 2002). Kürzlich zeigte sich dann auch eine signifikante Assoziation zwischen dem Auftreten des selteneren C-Allels und dem Anteil an Fast-Twitch-Muskelfasern bei russischen Leistungssportlern (AHMETOV et al. 2006).

3.3.2 PPAR δ : Vorkommen, Funktionen und bekannte Polymorphismen

Vorkommen und Funktionen

PPAR δ wird in einer Vielzahl von Geweben in relativ gleichmäßig hohen Konzentrationen exprimiert und hat dementsprechend vielfältige Wirkungsgebiete, z.B. in Keratozytendifferenzierung und Wundheilung (MICHALIK et al. 2001, TAN et al. 2001), Entzündungsreaktionen (HE et al. 1999, TAN et al. 2001), Atherosklerose (LEE et al. 2003), Plazentaimplantation

(BARAK et al. 2002), Myelination im Zentralen Nervensystem und der Entstehung von Darmkrebs (BERGER u. MOLLER 2002).

In der Skelettmuskulatur, wo PPAR δ der vorherrschende PPAR-Subtyp ist, ähnelt seine stoffwechselregulierende Funktion der von PPAR α (WANG et al. 2003). PPAR δ wird ebenfalls durch langkettige Fettsäuren und Prostacycline sowie spezifische synthetische Substanzen aktiviert (HOLST et al. 2003). Er vermittelt durch vermehrte Transkription von Genen, die an Cholesterin-Efflux, Energie-Entkopplung, Fettsäuretransport in die Zellen und die Mitochondrien, β -Oxidation sowie an der Respiration in den Mitochondrien beteiligt sind, eine Steigerung des Anteils der Fettsäureoxidation zu Lasten der aeroben Glykolyse (DRESSEL et al. 2003, HOLST et al. 2003, TANAKA et al. 2003, GRIMALDI 2005). Infolgedessen führt die Aktivierung von PPAR δ zu einem gesteigerten Energieumsatz aus Fettsäuren, wodurch das Risiko für die Entwicklung einer ernährungsbedingten Adipositas und Insulinresistenz gesenkt wird (WANG et al. 2003, TANAKA et al. 2003). Zusätzlich entdeckten WANG und Mitarbeiter, dass PPAR δ eine Rolle in der Transformation von Typ II zu Typ I Muskelfasern zu spielen scheint (WANG et al. 2004).

Geninformation und bekannte Polymorphismen

Das menschliche PPAR δ -Gen (*MIM 600409, ONLINE MENDELIAN INHERITANCE IN MEN 2006) befindet sich auf Chromosom 6 in der Region 6p21.2 – p21.1 (SKOGSBERG et al. 2000). Es konnten bereits mehrere Polymorphismen identifiziert werden, die eine Auswirkung auf Stoffwechselfparameter haben. So fand beispielsweise die Arbeitsgruppe um VÄNTTINEN bei drei von sechs untersuchten Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) im PPAR δ Gen (rs2267668, rs2076167, rs1053049, rs6902123) jeweils alleine oder in Kombination Assoziationen mit Blutdruck, der Gesamtcholesterin- bzw. LDL-Konzentration im Plasma und der Menge der Glukoseaufnahme in die Skelettmuskulatur (VÄNTTINEN et al. 2005). Auch für die in der vorliegenden Arbeit untersuchte +294T>C-Mutation im nicht translatierten Abschnitt des Exons 4 zeigte sich in vorhergehenden Studien ein Zusammenhang zwischen dem Vorliegen des selteneren C-Allels und einer erhöhten LDL-Plasmakonzentration (SKOGSBERG et al. 2003).

3.3.3 PPAR γ :Vorkommen, Funktionen und bekannte Polymorphismen

Vorkommen und Funktionen

PPAR γ kommt beim Menschen in zwei verschiedenen Subtypen PPAR γ 1 und PPAR γ 2, welche durch unterschiedliches Splicen am 5'-Ende entstehen (MUKHERJEE et al. 1997, ROSEN und SPIEGELMANN 2001). PPAR γ 1 wird in den meisten Geweben zu einem gewissen

Grad exprimiert, besonders stark im Fettgewebe und in der Dickdarmschleimhaut, sehr gering in Skelettmuskelfasern. PPAR γ 2 ist dagegen fast ausschließlich im Fettgewebe zu finden (MUKHERJEE et al. 1997). Neben langkettigen Fettsäuren zählen auch Prostaglandine und Insulin zu den aktivierenden Liganden von PPAR γ . Im Gegensatz zu den anderen beiden PPAR-Subtypen hat PPAR γ im Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel vornehmlich anabole Wirkungen. So induziert aktiviertes PPAR γ in Fettzellen Enzyme, welche die Aufnahme von Fettsäuren und Kohlenhydraten und ihre anschließende Speicherung als Triglyceride fördern. In Leber und Skelettmuskulatur werden diese Enzyme dagegen gehemmt (BERGER und MOLLER 2002, FERRÉ 2004). Bei der Therapie des Diabetes mellitus Typ 2 nutzt man diese Funktionen von PPAR γ mit Hilfe von synthetischen Agonisten (Thiazolidindione und Glitazone), um einen Insulin-sensitivierenden Effekt zu erzielen (ROSEN u. SPIEGELMANN 2001). Neben der Entwicklung von Insulinresistenz und Diabetes mellitus Typ 2 sind Entzündungsreaktionen in Verbindung mit Atherosklerose und die Entstehung von Darm- und Brustkrebs weitere PPAR γ -bezogene Forschungsgebiete (ROSEN u. SPIEGELMANN 2001).

Geninformation und bekannte Polymorphismen

Das menschliche PPAR γ -Gen befindet sich auf Chromosom 3 in der Region 3p25 (*MIM 601487, ONLINE MENDELIAN INHERITANCE IN MEN 2007). Bisher konnten für mehrere Polymorphismen (u.a. Pro12Ala, C1431T, C618G) eine Korrelation mit biometrischen oder Stoffwechselfparametern identifiziert werden. Unter ihnen ist der ursprünglich von YEN et al. identifizierte Pro12Ala-Polymorphismus in der Liganden unabhängigen Aktivierungsdomäne des PPAR γ 2-Proteins schon wegen seiner relativen Häufigkeit in der Bevölkerung bisher am intensivsten untersucht worden (YEN et al. 1997). Das seltenere Ala-Allel führt zu einer verminderten Affinität zum PPRE der PPAR γ -Zielgene und senkt die Transkriptionsaktivität um 50% (DEEB et al. 1998). Der Pro12Ala-Polymorphismus ist bis dato hauptsächlich in Verbindung mit der Insulinsensitivität untersucht worden. Er scheint das Risiko für die Entwicklung eines Typ II Diabetes und einer Adipositas zu senken und geht mit einer stark verminderten Aktivität der Lipoproteinlipase in Fettzellen (LPL) einher (DEEB et al. 1998, STUMVOLL u. HÄRING 2002, SCHNEIDER et al. 2002). WEISS und Mitarbeiter fanden zudem eine stärkere Steigerung der Insulinsensitivität nach Ausdauertraining für Heterozygote als für homozygote Pro-Träger (WEISS et al 2005).

3.4 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Arbeit lag darin, drei relativ häufig vorkommende funktionelle Polymorphismen in den stoffwechselregulatorisch bedeutsamen PPAR-Genen im Rahmen einer klassischen Fall-Kontroll-Studie durch molekulargenetische Untersuchungen auf eine mögliche Assoziation mit dem Phänotyp Ausdauerleistungsfähigkeit hin zu prüfen. Im Einzelnen handelte es sich hierbei um den Leu162Val-Polymorphismus im PPAR α -Gen, den +294T>C-Polymorphismus im PPAR δ -Gen und den Pro12Ala-Polymorphismus im PPAR γ 2-Gen. Hierzu wurden 617 männliche Probanden einer internationalen Fallvergleichsstudie (Genathlete-Studie) mittels Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus-Analyse an diesen drei Genorten genotypisiert. Die Studienteilnehmer waren je nach Höhe ihrer maximalen Sauerstoffaufnahme einer der zwei Gruppen Eliteausdauerathleten ($VO_2\max \geq 75\text{ml/kg}\cdot\text{min}^{-1}$) bzw. untrainierte Normalpersonen ($VO_2\max \leq 50\text{ml/kg}\cdot\text{min}^{-1}$) zugeordnet. Anschließend wurde durch einen Vergleich der Häufigkeitsverteilung der drei genetischen Varianten in der Athleten- und der Kontrollgruppen ermittelt, ob eine erkennbare Korrelation zwischen dem Vorhandensein der einzelnen PPAR-Genpolymorphismen und der Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit vorliegt. Da es sich bei dieser Untersuchung um eine epidemiologische Fall-Kontroll-Studie handelt, können beobachtete Assoziationen zwischen den einzelnen Polymorphismen und dem Grad der Ausdauerleistungsfähigkeit lediglich als Hinweis für eine mögliche Rolle des jeweiligen Gens in der Regulation von Anpassungsvorgängen an Ausdauertraining gewertet werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit sind also nicht geeignet, kausale Zusammenhänge zwischen den einzelnen PPAR-Polymorphismen und der Ausdauerleistungsfähigkeit aufzudecken, können aber als Ausgangsbasis für entsprechende weiterführende Studien dienen.

4 MATERIAL UND METHODIK

4.1 Probandenkollektiv

Das Probandenkollektiv für diese Arbeit bildeten die 617 männlichen Teilnehmer der Genathlete-Studie. Sie waren nordamerikanischer, deutscher oder finnischer Herkunft und allesamt kaukasischer Abstammung. Von ihnen waren 314 Hochleistungsausdauersportler (elite endurance athletes = EEAs) und 303 gesunde, untrainierte Kontrollpersonen (sedentary controls = SCs).

Als Einschlusskriterium für die Aufnahme in die Athletengruppe wurde in Anlehnung an vorausgehende Studien eine maximale Sauerstoffaufnahme (VO_2max) von mindestens $75 \text{ ml/kg}\cdot\text{min}^{-1}$ festgelegt. Dieser Grenzwert wurde gewählt, weil in der Regel nur Spitzensportler mit entsprechender Veranlagung solch hohe VO_2max -Werte erreichen (MEYER u. KINDERMANN 1999). Die eingeschlossenen Ausdauersportler kamen aus den Bereichen Skilanglauf (33,2%), Biathlon (27,5%), Radsport (22,7%), Leichtathletik (12,1%) und weiteren ausdauerorientierten Sportarten (4,5%). Sie waren zu 24,3% Nordamerikaner, zu 59,4% Deutsche und zu 16,3% Finnen.

Für die Aufnahme in die Kontrollgruppe wurde ein VO_2max von $50 \text{ ml/kg}\cdot\text{min}^{-1}$ oder weniger vorausgesetzt. Auf diese Weise sollten nach Möglichkeit solche Personen von der Kontrollgruppe ausgeschlossen werden, die zwar ein genetisches Potenzial für eine hohe VO_2max haben, diese aber mangels Training nicht verwirklichen. Die nordamerikanischen Kontrollpersonen (29,6%) wurden der HERITAGE-Family Studie und der Quebec Family Studie (QFS) entliehen, die deutschen Probanden (54,9%) wurden von der Abteilung für Sportmedizin der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg eigens für die Genathlete-Studie rekrutiert, und die finnischen Kontrollpersonen (15,5%) waren Teilnehmer der DNASCO-Studie von der University of Kuopio in Finnland.

Tabelle 1: Biometrische Daten des Probandenkollektivs. Aufgeführt sind jeweils die Mittelwerte für Alter, Größe, Gewicht und VO_2max in den einzelnen Untergruppen. Der Wert in Klammern gibt die Standardabweichung an

	Anzahl	Alter [Jahren]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	VO_2max [ml/kg*min-1]
EEA Gesamt	314	21,5 (5,40)	178,7 (6,15)	69,3 (7,09)	79,1 (3,46)
Nordamerikaner	76	24,6 (5,46)	177,8 (6,16)	68,3 (7,78)	79,1 (3,19)
Finnen	51	21,5 (5,72)	178,5 (5,85)	69,9 (6,03)	78,2 (3,04)
Deutsche	187	20,3 (4,82)	179,1 (6,23)	69,5 (7,06)	79,3 (3,65)
SC Gesamt	303	28,8 (12,03)	178,0 (7,35)	75,4 (9,43)	40,2 (6,98)
Nordamerikaner	89	25,0 (4,89)	175,5 (5,55)	72,4 (9,07)	38,0 (6,31)
Finnen	46	54,6 (3,02)	172,6 (5,78)	75,7 (8,63)	31,8 (5,50)
Deutsche	168	23,8 (5,47)	180,9 (7,27)	76,9 (9,52)	43,7 (4,96)

4.2 VO₂max-Messung

Zur Bestimmung ihrer maximalen Sauerstoffaufnahme absolvierten die Probanden einen Leistungstest mit stufenweise ansteigender Belastung, während dem die respiratorischen Austauschparameter (CO₂- und O₂-Konzentration in Ein- und Ausatemluft) mit einem Open-chain System fortlaufend spirometrisch aufgezeichnet wurden. Die Ausdauerathleten wurden auf einem Fahrradergometer oder Laufband getestet, je nachdem, welcher Bewegungsablauf ihrer sportlichen Disziplin am nächsten kam. In der Kontrollgruppe wurde der Test für alle Probanden auf einem Fahrradergometer durchgeführt, da hier die geringsten koordinativen Probleme zu erwarten sind und eine sichere konditionelle Ausbelastung möglich ist. Das Fahrradergometerprogramm bestand aus jeweils 3-minütigen Belastungsstufen, in denen die Belastung von einer Anfangsleistung von 50 Watt ausgehend mit Beginn jeder neuen Stufe um 25 Watt erhöht wurde, bis der Proband subjektiv konditionell erschöpft war. In ähnlicher Weise hatte das Laufbandprogramm ebenfalls 3-minütige Belastungsstufen, mit deren Beginn die Laufgeschwindigkeit jeweils um 2 km/h gesteigert wurde. In beiden Testverfahren wurde die höchste Rate der Sauerstoffaufnahme, die mit einem Plateau von mindestens 30 Sekunden gemessen wurde, als VO₂max angenommen. Die konditionelle Ausbelastung der Probanden zum Zeitpunkt der so ermittelten VO₂max wurde zusätzlich durch Messungen des Laktatspiegels aus Kapillarblut überprüft, welches alle 3 Minuten jeweils am Ende einer Belastungsstufe aus dem Ohrläppchen entnommen wurde.

4.3 Genotypisierung

4.3.1 DNA-Gewinnung

Die genomische DNA der Probanden wurde durch DNA-Extraktion aus Vollblut gewonnen. Dazu wurde der Genomix® DNA-Extraktionskit (Talent/Italien) nach den Angaben des Herstellers eingesetzt. Im Anschluss an die Extraktion wurde die Konzentration und der Reinheitsgrad der gewonnenen DNA mit Hilfe eines Spektralphotometers (Firma Carl Zeiss/Deutschland) durch Extinktionsmessung bei den Wellenlängen 260nm (OD260) für DNA und 280nm (OD280) für Proteine und Phenole bestimmt. Lag der Quotient OD260/OD280 als Maß für den Reinheitsgrad unter 1,5, wurde die gewonnene DNA weiteren Reinigungsschritten unterzogen, bis der geforderte Reinheitsgrad erreicht war.

4.3.2 Polymerase-Kettenreaktion

Die Methode der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ermöglicht die Herstellung von millionenfachen selektiven Kopien eines gewünschten DNA-Abschnitts, auch wenn dieser in der Ursprungsprobe nur in sehr geringen Mengen vorhanden ist. Voraussetzung hierfür ist, dass der gewünschte DNA-Abschnitt beidseitig durch bekannte Teilsequenzen begrenzt wird. Diesen bekannten Teilsequenzen entsprechend werden 20-30bp lange spezifische Oligonukleotidprimer eingesetzt, die als Startpunkte für die DNA-Replikation durch eine hitzestabile bakterielle DNA-Polymerase dienen. Die PCR läuft in den drei sich zyklisch wiederholenden Schritten Strangtrennung (Denaturierung), Hybridisierung der Primer (Annealing) und DNA-Synthese (DNA-Extension) ab.

PCR-Materialien

Tabelle 2: Verwendete PCR-Reagenzien

Reagenz	Konzentration	Hersteller
DNA-Template	10 ng/µl	
Taq-Polymerase	5U /µl	Invitek/ Deutschland
Primer	100 µM	Metabion international AG
dNTP-Mix (hergestellt aus Invitek dNTP set)	2 mM je dNTP (4 x 0,5 ml 50mM)	Invitek/ Deutschland
PCR-Reaktionspuffer	10x	Invitek/ Deutschland
MgCl ₂ -Lösung	25 µM	Invitek/ Deutschland
Purified BSA-Lösung	10 mg/ml	New England Biolabs/ Deutschland
Entionisiertes, steriles H ₂ O		Eigenherstellung

Tabelle 3: Verwendete Oligonukleotidprimer

Primerbezeichnung	Sequenz	Polymorphismus
A010 (fw) A011 (rw)	5'-GACTCAAGCTGGTGTATGACAAGT-3' 5'-CGTTGTGTGACATCCCGACAGAA <u>T</u> -3' *	PPAR α Leu162Val
A012 (fw) A013 (rw)	5'-CATGGTATAGCATGCAGGAA-3' 5'-CTTCCTCCTGTGGCTGCTC-3'	PPAR δ +294T>C

* Die abweichende Base im Rückwärtsprimer ist durch Unterstreichung markiert

4.3.2.1 Amplifikation des PPAR α Leu162Val-Polymorphismus

Ein den Leu162Val-Polymorphismus enthaltender 117bp langer Abschnitt im Exon 5 des PPAR α -Gens wurde in Anlehnung an das von VOHL und Mitarbeitern beschriebene Verfahren aus der genomischen DNA mit Hilfe einer Mismatch-PCR amplifiziert (VOHL et al. 2000). Bei einer Mismatch-PCR ist die Basenfolge einer der beiden Primer an einer Position nicht exakt komplementär zur Sequenz des DNA-Templates, so dass die amplifizierten DNA-

Fragmente ebenfalls an einer Stelle von der Sequenz der genomischen DNA-Matrize abweichen. In diesem Fall wurde durch Verwendung der Mismatch-PCR-Methode bei Vorliegen der gesuchten C>G-Mutation im PCR-Produkt eine sonst nicht vorhandene Schnittstelle für das Restriktionsenzym *Hinf*I (siehe Abschnitt 4.3.3.1) erzeugt.

PCR-Bedingungen:

20µl Reaktionsansätze, bestehend aus 10ng genomischer DNA, 0,5U Taq Polymerase, je 1µM der beiden Primer A010 und A011, 100µM pro dNTP, 1,5µM MgCl₂, 1x PCR-Puffer, 2µg purified BSA wurden auf Eis in 200µl PCR Softstrips pipettiert. Anschließend durchliefen die Reaktionsgefäße in einem Thermocycler (Whatman Biometra T1 Thermocycler) das in Tabelle 4 angegebene PCR-Programm.

Tabelle 4: PCR-Programm PPAR α Exon 5, Leu162Val-Polymorphismus

Phasen	Temperatur	Dauer
Erste Denaturierungsphase	94°C	3 min
<i>35 Zyklen mit jeweils:</i>		
Denaturierungsphase	94°C	30 s
Annealingphase	59°C	30 s
Synthesephase	72°C	30 s
<i>Gefolgt von</i>		
Finale Synthesephase	72°C	5 min

4.3.2.2 Amplifikation des PPAR δ +294T>C Polymorphismus

Ein den +294T/C-Polymorphismus tragendes 269bp langes Fragment des Exon 4 des PPAR δ -Gens wurde aus der genomischen DNA durch PCR wie folgt amplifiziert: 20µl Reaktionsansätze, bestehend aus 10ng genomischer DNA, 0,5U Taq Polymerase, je 1µM der beiden Primer A012 und A013, 100µM pro dNTP, 1,5µM MgCl₂, 1x PCR-Puffer, 2µg purified BSA wurden auf Eis in 200µl PCR Softstrips pipettiert. Das verwendete PCR-Programm ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: PCR-Programm PPAR δ Exon 4, +294T>C-Polymorphismus

Phasen	Temperatur	Dauer
Erste Denaturierungsphase	94°C	3 min
<i>30 Zyklen mit jeweils:</i>		
Denaturierungsphase	94°C	30 s
Annealingphase	58°C	30 s
Synthesephase	72°C	30 s
<i>Gefolgt von</i>		
Finale Synthesephase	72°C	5 min

4.3.3 Restriktionsenzymverdau

Restriktionsenzyme (=Restriktionsendonukleasen) sind Proteine, die von Bakterien als Abwehrmechanismen gegen Virusinfektionen produziert werden (GOODSELL 2002, WINKLER 1992). Restriktionsenzyme vom Typ II erkennen eine für sie spezifische kurze DNA-Sequenz und spalten („verdauen“) die beiden DNA-Stränge an ebenfalls spezifischen Positionen in zwei DNA-Restriktionsfragmente (GOODSELL 2002, WINKLER 1992). Diese Eigenschaft macht man sich zu Nutze, um so genannte „Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLPs)“ zu identifizieren. Liegt ein Genpolymorphismus innerhalb der Erkennungssequenz eines Restriktionsenzym, so kann durch die Variation einer Base die Schnittstelle verloren gehen. Andererseits ist es ebenfalls möglich, dass durch den Austausch zweier Basen erst eine Erkennungssequenz für ein Restriktionsenzym entsteht. In beiden Fällen führt die Restriktionsenzymreaktion bei Wildtyp und Genvariante zu verschieden langen DNA-Restriktionsfragmenten, die eindeutig den vorliegenden Genotyp erkennen lassen.

4.3.3.1 Restriktionsenzymverdau am PPAR α Leu162Val Locus

Materialien

Tabelle 6: Reagenzien für den Restriktionsenzymverdau am PPAR α Leu162Val-Locus

Reagenz	Konzentration	Hersteller
Restriktionsenzym <i>Hinf</i> 1	10.000U/ml	New England Biolabs
Reaktionspuffer NEB 2	10x	New England Biolabs
Purified BSA-Lösung	10mg/ml	New England Biolabs
Entionisiertes, steriles Wasser		Eigene Herstellung

Für den Restriktionsenzymverdau wurden 20 μ l Reaktionsansätze bestehend aus 10 μ l PCR-Produkt, 4U *Hinf*1, 2,0 μ l des vom Hersteller empfohlenen 10x Puffers NEB2, 4,0 μ g Purified BSA-Lösung und 3,6 μ l sterilem Wasser auf Eis in 200 μ l PCR Softstrips pipettiert und bei 37°C über Nacht inkubiert (Biometra T1 Thermocycler).

Ist im durch die Mismatch-PCR amplifizierten Genabschnitt das häufigere Leu-Allel vorhanden, besteht keine Erkennungssequenz für *Hinf*1, wodurch das 117bp lange PCR-Produkt nicht geschnitten wird. Nur wenn das seltenere Val-Allel vorliegt, d.h., an der Position 484 das C durch ein G ersetzt ist, entsteht eine Schnittstelle für *Hinf*1 und der amplifizierte Genabschnitt wird von *Hinf*1 in zwei Restriktionsfragmente der Länge 93bp und 24bp gespalten (Siehe auch Abbildung 4) (GOUINI-BERTHOLD et al. 2004).

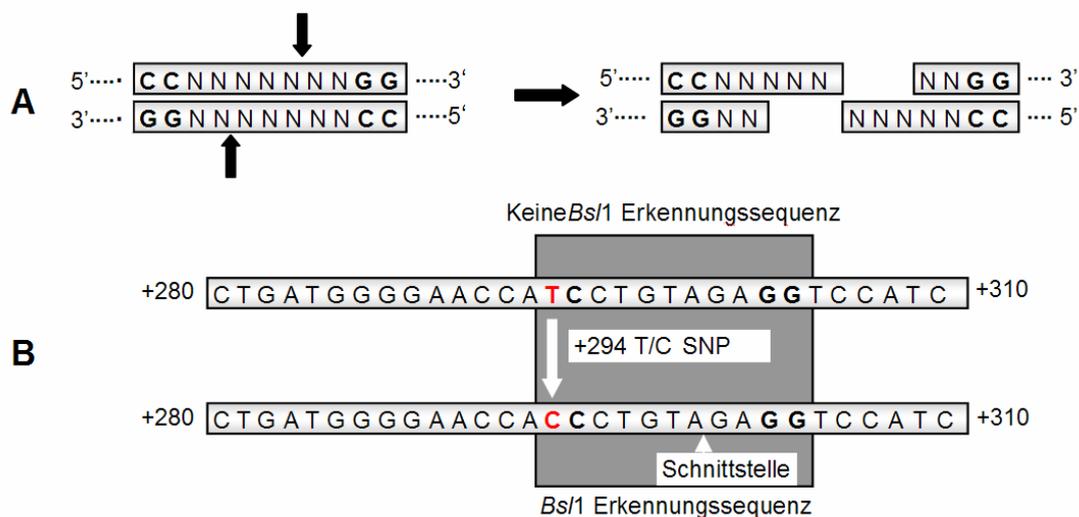
4.3.3.2 Restriktionsenzymverdau am PPAR δ + 294 T/C-Locus

Materialien

Tabelle 7: Reagenzien für den Restriktionsenzymverdau am PPAR δ +294T>C-Locus

Reagenz	Konzentration	Hersteller
Restriktionsenzym <i>Bs</i> I	10.000U/ml	New England Biolabs
Reaktionspuffer NEB 3	10x	New England Biolabs
Purified BSA	10mg/ml	New England Biolabs
Entionisiertes, steriles Wasser		Eigene Herstellung

Für den Restriktionsenzymverdau wurden 25 μ l Reaktionsansätze, bestehend aus 10 μ l PCR-Produkt, 6U *Bs*I, 2,5 μ l des vom Hersteller empfohlenen 10x Puffers NEB 3, 5,0 μ g Purified BSA und 6,9 μ l destilliertem Wasser, auf Eis in 200 μ l PCR Softstrips pipettiert und bei 55°C über Nacht inkubiert (Biometra T1 Thermocycler). Im amplifizierten Genabschnitt ist nur dann eine Schnittstelle für *Bs*I enthalten, wenn das seltenere C-Allel vorliegt. In diesem Fall schneidet *Bs*I das Fragment in zwei Teile von 169bp und 102bp Länge. Enthält der amplifizierte Genabschnitt das häufigere T-Allel, besteht hingegen keine Erkennungssequenz für *Bs*I und daher bleibt das amplifizierte DNA-Fragment in voller Länge von 269bp erhalten (Siehe auch Abbildung 3 und 5).

Abbildung 3: Schematische Darstellung der Funktionsweise des Restriktionsverdau am PPAR δ + 294 T/C-Locus

A: Erkennungssequenz und Schnittstelle von *Bs*I. Der Buchstabe N steht für eine beliebige Base

B: Entstehung einer Schnittstelle für *Bs*I durch die +294 T>C Substitution

4.4 Gelelektrophorese und UV-Licht Darstellung

Mittels Gelelektrophorese können in einem Gemisch vorliegende DNA-Fragmente unterschiedlicher Länge entsprechend ihrer Größe aufgetrennt werden. Das aufzutrennende Gemisch wird dazu in kleine Taschen eines Agarosegels pipettiert und anschließend in einer Elektrophoresekammer einem elektrischen Gleichstrom ausgesetzt. Wegen ihrer negativen Ladung wandern die DNA-Fragmente in dem Agarosegel vom Minus- zum Pluspol, wobei kleine Fragmente schneller als große Fragmente durch die Poren des Gels hindurch gelangen. Unter UV-Licht können die unterschiedlich großen, mit Ethidiumbromid angefärbten Fragmente nach Abschluss der Gelelektrophorese dann als einzelne Banden sichtbar gemacht werden.

4.4.1 Kontrolle der PCR-Produkte

Die Produkte der Amplifikation der Genabschnitte von PPAR α und PPAR δ wurden mit Hilfe einer Gelelektrophorese auf Quantität und Kontamination überprüft. Dazu wurden jeweils 3 μ l PCR-Produkt zusammen mit 0,5 μ l Auftragspuffer in die Geltaschen eines 1,5%igen (PPAR α) bzw. 1%igen (PPAR δ) Agarose-Gels pipettiert. In eine weitere Tasche wurde 1 μ l einer 100bp DNA Ladder (New England Biolabs) gegeben. Sodann wurde das Gel in eine mit 1x TBE Puffer gefüllte Elektrophoresekammer gelegt und für 50-60min einem Gleichstrom von 125mA ausgesetzt (Kodak Bio Max MBP 300 sowie Pharmacia Biotech EPS3500). Unter UV-Licht (Eagle Eye II, Stratagene) zeigten sich die PCR-Produkte als 117bp (PPAR α) bzw. 269bp (PPAR δ) lange Banden. Für den folgenden Restriktionsenzymverdau wurden nur PCR-Produkte der korrekten Länge bei jeweils zugehöriger unkontaminierter Leerprobe verwendet.

4.4.2 Analyse der Restriktionsfragmentlängen

4.4.2.1 Analyse der Restriktionsfragmentlängen am PPAR α Leu162Val-Locus

Jeweils 15-16 μ l Restriktionsenzymverdau-Produkt wurden zusammen mit 2 μ l Auftragspuffer in die Tasche eines 2,5%igen Agarosegels pipettiert. Eine weitere Tasche wurde mit einer 100bp DNA Ladder (New England Biolabs) als Größenmarker versehen. Das Gel wurde in ein mit 1x TBE-Puffer gefülltes Elektrophoresebecken gelegt und für 60-75min einer Spannung von 130V ausgesetzt (Kodak Bio Max MBP 300 sowie Pharmacia Biotech EPS3500). Unter UV-Licht (Eagle Eye II, Stratagene) konnten nun die Genotypen der Probanden identifiziert werden. Für das Leu-Allel homozygote Probanden zeigen lediglich eine einzelne Bande in der Größenordnung des unverdauten PCR-Produkts von 117bp (siehe Spuren 1-3 und 5-6 in Abbildung 4). Für das Val-Allel homozygote Probanden weisen eine einzelne

Bande mit der Länge von 93bp auf, welche dem größeren Fragment des durch die Restriktionsendonuklease in zwei Teile geschnittenen PCR-Produkts zuzuordnen ist (siehe Spur 7 in Abbildung 4). Das kleinere Restriktionsfragment ist mit seiner Länge von 24bp nicht von eventuell im PCR-Produkt noch vorhandenen überschüssigen Primern zu unterscheiden. Bei heterozygoten Probanden tritt sowohl eine Bande bei 117bp als auch eine Bande bei 93bp auf (siehe Spuren 4, 8 und 9 in Abbildung 4).

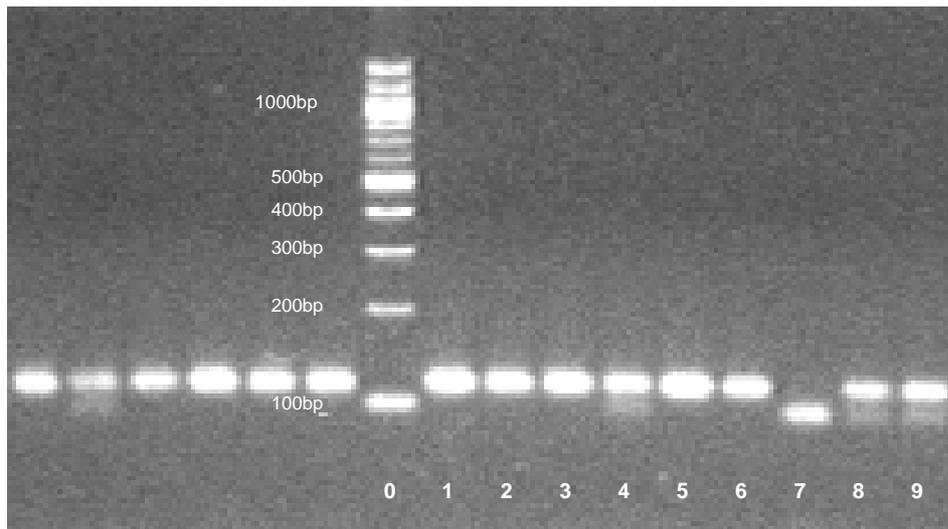


Abbildung 4: UV-Lichtfoto nach Restriktionsenzymverdau und Gelelektrophorese am PPAR α Leu162Val-Locus. Spur 0: 100bp-Leiter als Größenmarker, Spur 1-3, 5-6: Leu-homozygot, Spur 4, 8-9: heterozygot, Spur 7: Val-homozygot

4.4.2.2 Analyse der Restriktionsfragmentlängen am PPAR δ +294T>C-Locus

Die Gelelektrophorese und UV-Lichtdarstellung zur Identifizierung der PPAR δ -Genotypen wurde grundsätzlich analog zu dem für PPAR α beschriebenen Prozedere durchgeführt, jedoch mit der Abwandlung, dass 2,0%ige Agarosegele verwendet wurden und die Dauer der Stromwirkung nur 50-60min betrug.

Unter UV-Licht zeigt sich bei für das T-Allel homozygoten Probanden lediglich eine einzelne Bande in der Größenordnung des unverdauten PCR-Produkts von 269bp (siehe Spuren 2, 4-8, 10 und 12 in Abbildung 5). Bei homozygoten Trägern des C-Allels erscheinen zwei Banden der Größe 167bp und 102bp, welche den beiden Restriktionsfragmenten entsprechen (siehe Spuren 3 und 13 in Abbildung 5). Heterozygote Probanden weisen alle drei Banden auf: eine bei 269bp für den ungeschnittenen T-Allel tragenden DNA-Strang, sowie je eine Bande bei 167bp und 102bp für die zwei Restriktionsfragmente des geschnittenen C-Allel tragenden DNA-Strangs (siehe Spuren 1, 9 und 11 in Abbildung 5). Rückstände von überschüssigen Primern im PCR-Produkt waren zum Teil als schwache Bande der Größenordnung von 20bp zu sehen (siehe Spuren 5-8).

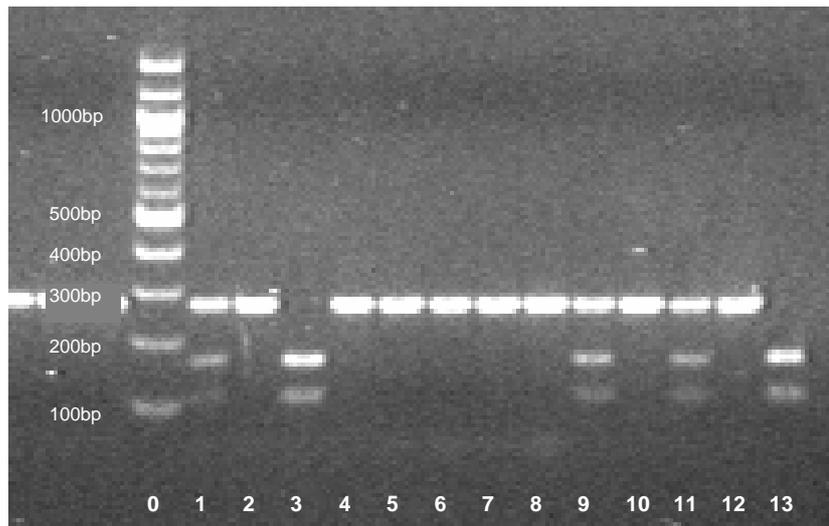


Abbildung 5: UV-Lichtfoto nach Restriktionsenzymverdauung und Gelelektrophorese am PPAR δ +294 T>C-Locus. Spur 0: 100bp-Leiter als Größenmarker, Spur 2, 4-8, 10, 12: T-homozygot, Spur 1, 9, 11: heterozygot, Spur 3, 13: C-homozygot

4.5 Amplifikation und Restriktionsenzymverdauung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus

Die Amplifikation und Genotypisierung am Pro12Ala-Locus des PPAR γ 2-Gens wurde im Labor des Lehrstuhls für Molecular Nutrition der Christian Albrecht Universität Kiel durchgeführt. Dazu wurde das TaqMan SNP System (Applied Biosystems (ABI), Foster City, CA, USA) nach den Angaben des Herstellers verwendet. Die Genotypisierung erfolgte durch Fluoreszenzmessung mit dem ABI Prism 7900 HT Sequence Detection System (Applied Biosystems (ABI), Foster City, CA, USA).

4.6 Fehlerprüfung

Um die Ergebnisse der Genotypisierung zu überprüfen, wurde für den PPAR α Leu162Val-Polymorphismus und den PPAR δ +294T>C-Polymorphismus der gesamte Ablauf bei knapp 10% der Proben wiederholt. Dazu wurden aus Athleten- und Kontrollgruppe jeweils 30 Stichproben nach dem Zufallsprinzip ausgewählt. Für diese Stichproben stimmten die Resultate der zweiten Genotypisierung zu 100% mit den Ergebnissen der ersten Genotypisierung überein.

4.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe des Computerprogramms "SPSS für Windows 13.0" (SPSS Inc., Chicago, USA) durchgeführt. Als Signifikanzniveau für die statistischen Tests wurde grundsätzlich ein p-Wert < 0,05 gewählt. Für die einzelnen Genloci (PPAR α , PPAR δ und PPAR γ) wurde jeweils der in den Punkten 4.7.1 – 4.7.3 beschriebene Testablauf durchgeführt.

4.7.1 Vergleich der Genotypenfrequenz mit dem Hardy-Weinberg-Equilibrium

Die Übereinstimmung der Genotypenverteilung mit dem Hardy-Weinberg-Equilibrium wurde für das Gesamtkollektiv, die Athleten- bzw. Kontrolluntergruppen und die einzelnen Nationengruppen durch einen χ^2 -Mehrfelder-Test überprüft (BORTZ u. LIEHNERT 2003).

4.7.2 Nationenvergleich

Die verschiedenen Nationen (Nordamerikaner, Deutsche und Finnen) wurden hinsichtlich der Allelfrequenz, der Genotypenverteilung sowie den Trägerfrequenzen vom häufigeren und selteneren Allel mit Hilfe eines χ^2 -Mehrfelder-Tests verglichen. Wenn in mehr als 20% der Felder des χ^2 -Mehrfelder-Tests eine zu erwartende Häufigkeit von weniger als 5 vorlag, wurde auf Grund der in diesem Fall mangelnden Zuverlässigkeit des χ^2 -Mehrfelder-Tests ersatzweise ein exakter Test nach Fisher herangezogen (BORTZ u. LIEHNERT 2003). Diese Tests sollten darüber Aufschluss geben, ob sich die einzelnen Nationen bezüglich dieser Merkmale statistisch signifikant unterscheiden. Im Einzelnen wurden zum Vergleich der Nationalitäten folgende Tests durchgeführt:

- 1) Vergleich der nationalen Gruppen miteinander ungeachtet des Trainingsstatus
- 2) Vergleich der Athleten-Gruppen der verschiedenen Nationen
- 3) Vergleich der Kontroll-Gruppen der verschiedenen Nationen

Zeigte sich im χ^2 -Mehrfelder-Test ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Nationengruppen, so wurden die Nationen jeweils noch paarweise mit einem Pearson χ^2 -Test bzw. einem exakten Test nach Fisher miteinander verglichen.

4.7.3 Vergleich der Athleten- und Kontrollgruppen

Zur Identifizierung eines möglichen Zusammenhangs zwischen dem jeweiligen Polymorphismus und dem Phänotyp "Ausdauerleistungsfähigkeit" wurden im nächsten Schritt folgende Gruppenvergleiche (Allelfrequenz, Genotypverteilung, Trägerstatus für häufigeres und selteneres Allel) mittels χ^2 -(Mehrfelder)-Test bzw. einem exakten Test nach Fisher erstellt:

- 1) Vergleich der zusammengefassten Athletengruppe mit der zusammengefassten Kontrollgruppe ungeachtet der Nationalität
- 2) Vergleich der Athleten mit den Kontrollpersonen innerhalb der einzelnen Nationen.

Durch den Vergleich der Athleten und Kontrollpersonen innerhalb der einzelnen nationalen Gruppen wurde die Möglichkeit geprüft, dass sich der Zusammenhang zwischen den Polymorphismen und der Ausdauerleistungsfähigkeit in den verschiedenen untersuchten Populationen (Nordamerikaner, Deutsche und Finnen) unterschiedlich gestaltet.

5 ERGEBNISSE

5.1 Hardy–Weinberg Equilibrium

Die beobachteten Genotypverteilungen an den drei Genloci PPAR α , PPAR δ und PPAR γ zeigten im Gesamtkollektiv, in allen drei Nationengruppen sowie in den Untergruppen der Athleten und Kontrollpersonen keine statistisch signifikanten Abweichungen von den nach dem Hardy-Weinberg-Equilibrium erwarteten Genotypverteilungen.

5.2 Auswertung der Genotypisierung am PPAR α Leu162Val-Locus

5.2.1 Verteilung der Genotypen, der Allele und des Trägerstatus am PPAR α Leu162Val-Locus im gesamten Probandenkollektiv

Der Genotyp am PPAR α Leu162Val-Locus konnte für jeden der 617 Probanden erfolgreich bestimmt werden. Im Probandenkollektiv traten alle drei möglichen Genotypen (Leu/Leu, Leu/Val, Val/Val) auf, wobei der Genotyp Leu/Leu am häufigsten (89,3%) und der Genotyp Leu/Val am zweithäufigsten (9,9%) waren. Der Genotyp Val/Val kam mit 0,8% nur sehr selten vor (siehe Abbildung 6). Entsprechend der Genotypverteilung war das Leu-Allel mit 94,2% deutlich häufiger vertreten als das Val-Allel (5,8%) (Abbildung 7).

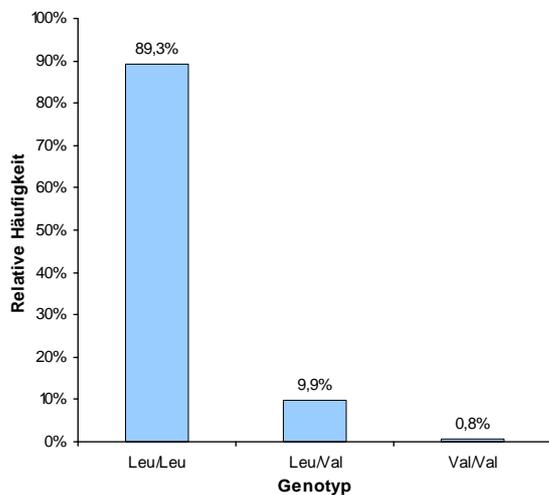


Abbildung 6: Verteilung der Genotypen am PPAR α Leu162Val-Locus im gesamten Probandenkollektiv

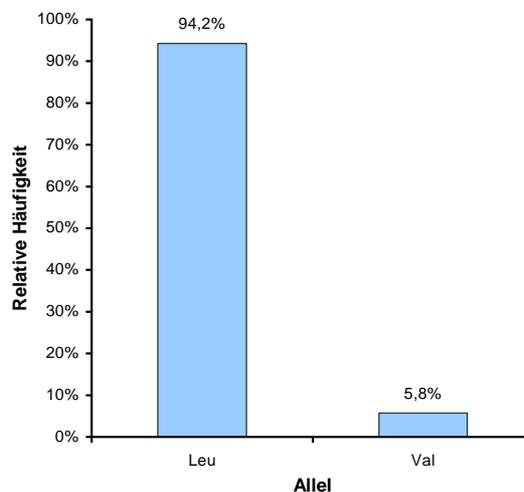


Abbildung 7: Verteilung der Allele am PPAR α Leu162Val-Locus im gesamten Probandenkollektiv

Wie Abbildung 8 veranschaulicht wird, war die große Mehrheit der Probanden Träger des Leu-Allels (99,2%). Homozygote Val-Träger bildeten die Ausnahme (0,8%). Der Anteil der Val-Träger blieb mit 10,7% der Genotypenverteilung entsprechend weit hinter dem Leu-Homozygoten-Anteil zurück (Abbildung 9).

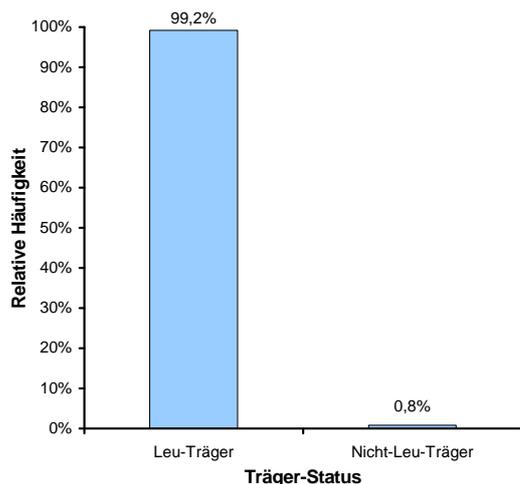


Abbildung 8: Relative Häufigkeit der Leu-Träger am PPAR α Leu162Val-Locus im gesamten Probandenkollektiv

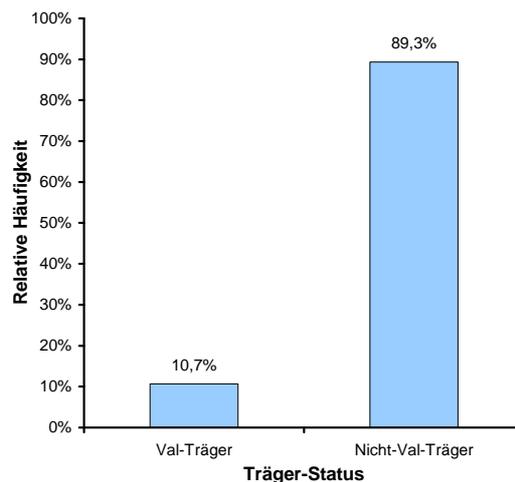


Abbildung 9: Relative Häufigkeit der Val-Träger am PPAR α Leu162Val-Locus im gesamten Probandenkollektiv

5.2.2 Vergleich der nationalen Gruppen am PPAR α Leu162Val-Locus

5.2.2.1 Vergleich der Nationengesamtgruppen ungeachtet des Trainingsstatus

Zwischen den ermittelten Genotypenfrequenzen der einzelnen Nationen bestand ein signifikanter Unterschied ($p = 0,013$) (siehe Abbildung 10). Gemeinsam war allen drei Nationengruppen, dass die große Mehrheit der Probanden den Leu/Leu-Genotyp aufwies. Allerdings variierte dessen relative Häufigkeit zwischen den Nationen (Nordamerikaner: 83,6%, Deutsche: 90,4%, Finnen: 94,8%) ebenso wie der Anteil des Leu/Val-Genotyps (Nordamerikaner: 14,5%, Deutsche: 9,3%, Finnen: 4,1%). Der Val/Val Genotyp kam in allen drei Nationengruppen nur sehr selten vor (Nordamerikaner: 1,8%, Deutsche: 1,0%, Finnen: 0,3%).

Wegen des signifikanten Unterschiedes zwischen den drei Ländern wurden die einzelnen Nationengruppen zusätzlich paarweise verglichen. Dabei ergab sich jeweils ein signifikanter Unterschied zwischen der nordamerikanischen und der finnischen bzw. zwischen der nordamerikanischen und der deutschen Probandengruppen ($p = 0,016$ bzw. $p = 0,030$), während der Unterschied zwischen den Finnen und den Deutschen nicht signifikant war ($p = 0,129$).

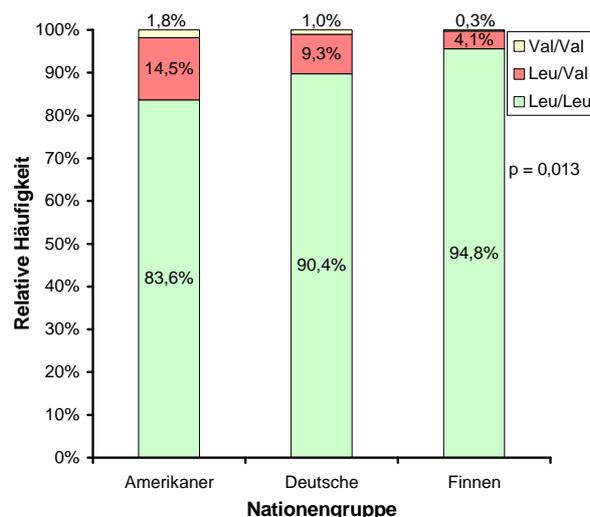


Abbildung 10: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen

Hinsichtlich der Allelfrequenzen war der Unterschied zwischen den drei Ländergruppen ebenfalls signifikant ($p = 0,006$). Entsprechend der Genotypenverteilung dominierte bei allen Nationengruppen das Leu-Allel (Nordamerikaner: 90,9%, Deutsche: 95,1%, Finnen: 96,9%).

Auffällig war, dass bei den Nordamerikanern das seltenere Val-Allel mit 9,1% beinahe doppelt bzw. dreimal so oft vorkam, wie bei den Deutschen (4,9%) und Finnen (3,1%) (Abbildung 11). Der paarweise Vergleich der Nationen zeigte wiederum einen signifikanten Unterschied zwischen den Nordamerikanern und den anderen beiden Nationengruppen ($p = 0,017$ bzw. $p = 0,009$), während die Allelfrequenzen der Finnen und Deutschen nicht signifikant voneinander abwichen ($p = 0,276$).

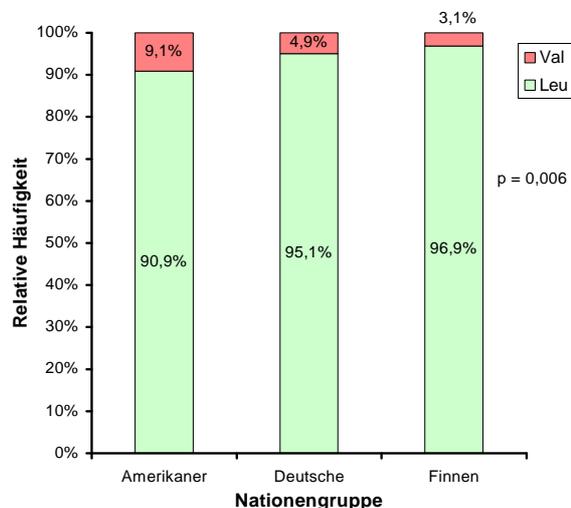


Abbildung 11: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengruppen

Im Gegensatz zu den Genotypen- und Allelfrequenzen lagen die Anteile der Leu-Träger in den drei Ländergruppen mit 98,2% bei den Nordamerikanern, 99,0% bei den Finnen und 99,7% bei den Deutschen dicht beieinander (Abbildung 12), so dass sich aus ihnen kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Nationengruppen ergab ($p = 0,119$).

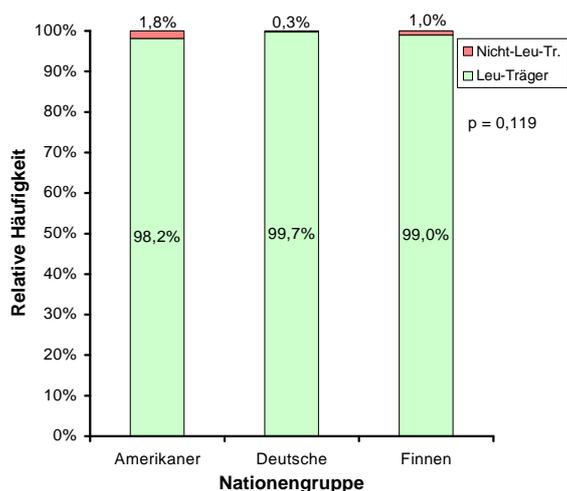


Abbildung 12: Vergleich der relativen Häufigkeit von Leu-Trägern am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengruppen

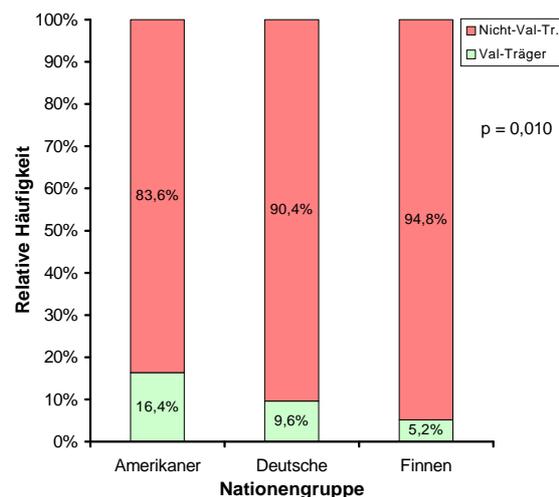


Abbildung 13: Vergleich der relativen Häufigkeit von Val-Trägern am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengruppen

Die relative Häufigkeit der Val-Träger in den drei Nationengruppen war wiederum signifikant verschieden ($p = 0,010$). Entsprechend der Genotypenverteilung traten bei den Finnen nur

sehr wenige Val-Träger (5,2%) auf, während der Prozentsatz bei den Deutschen fast doppelt (9,6%) und bei Nordamerikanern mehr als dreimal so hoch war (16,4%) (Abbildung 13). Der paarweise Nationenvergleich ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den Nordamerikanern und den Finnen bzw. Deutschen ($p = 0,007$ bzw. $p = 0,025$). Finnen und Deutsche unterschieden sich hingegen nicht signifikant ($p = 0,169$).

5.2.2.2 Nationenvergleich der Athletengruppen

Beim Vergleich der Genotypenfrequenzen in den Athletengruppen fiel der Unterschied zwischen den drei Ländern nicht signifikant aus ($p = 0,244$) (Abbildung 14). Die grundsätzlichen Merkmale der Genotypenverteilung in den einzelnen Sportlergruppen entsprachen denjenigen, die auch für die gesamten Ländergruppen beobachtet worden waren. In allen drei EEA-Gruppen war der homozygote Leu/Leu-Genotyp vorherrschend, am stärksten bei den Finnen (94,1%), gefolgt von den Deutschen (90,9%) und den Nordamerikanern (85,5%). Der heterozygote Genotyp Leu/Val trat bei den finnischen Sportlern mit 3,9% im Vergleich zu den nordamerikanischen (13,2%) und deutschen Athleten (8,6%) deutlich seltener auf. Der Val/Val-Genotyp kam bei allen drei Athletengruppen am seltensten vor (Nordamerikaner: 1,3%, Deutsche 0,5%, Finnen 2,0%).

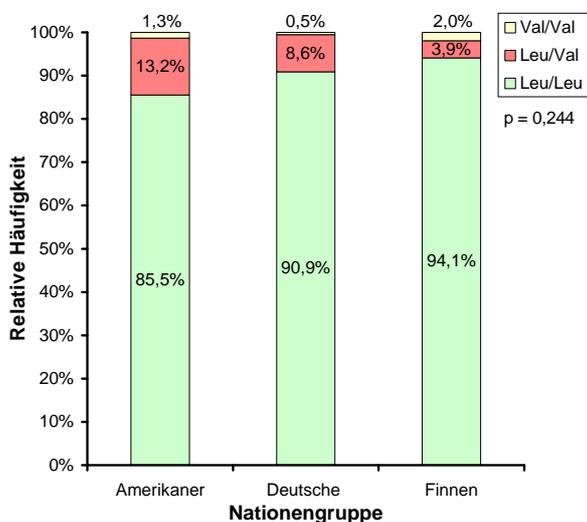


Abbildung 14: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Athleten

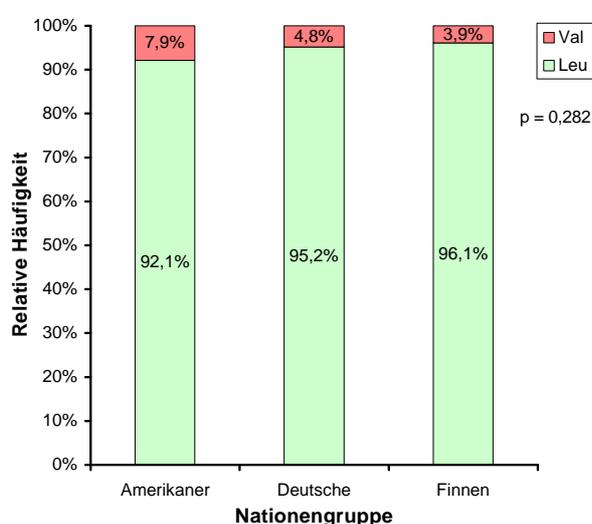


Abbildung 15: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Athleten

Hinsichtlich der Allelfrequenz ergab sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Athletengruppen ($p = 0,282$). Wie Abbildung 15 zeigt, wog bei allen drei EEA-Gruppen die relative Häufigkeit des Leu-Allels (Nordamerikaner: 92,1%, Deutsche: 95,2%, Finnen: 96,1%) bei weitem die des Val-Allels (Nordamerikaner: 7,9%, Deutsche: 4,8%, Finnen: 3,9%).

Auch im Leu-Träger-Status zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Athletengruppen der drei Nationen ($p = 0,358$). Die große Mehrzahl der Sportler waren Träger des Leu-Allels (Nordamerikaner: 98,7%, Deutsche: 99,5%, Finnen: 98,0%). Bezüglich des Val-Träger-Status wurde zwar ein deutlicher jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Athletengruppen beobachtet ($p = 0,241$). So wiesen die nordamerikanischen Sportler mit 14,5% mehr als doppelt so viele Val-Träger auf als die finnischen Sportler (5,9%). Die deutschen Athleten lagen mit einem Val-Träger-Anteil von 9,1% zwischen den Nordamerikanern und den Finnen.

5.2.2.3 Nationenvergleich der Kontrollgruppen

Die Genotypenfrequenz in den drei Kontrollgruppen wies erhebliche Unterschiede auf, die allerdings noch knapp oberhalb der Signifikanzgrenze lagen ($p = 0,056$). Wiederum war der homozygote Genotyp Leu/Leu in allen drei Kontrollgruppen mit Abstand der häufigste, sein Anteil variierte jedoch maßgeblich (Nordamerikaner: 82,0%, Deutsche: 89,9%, Finnen: 95,7%). Hinsichtlich des heterozygoten Leu/Val-Genotyps ließ sich eine genau gegenteilige Reihenfolge der Nationen feststellen (Nordamerikaner: 15,7%, Deutsche: 10,1%, Finnen: 4,3%). Für das Val-Allel homozygote Kontrollpersonen kamen nur in der nordamerikanischen Kontrollgruppe (2,2%) vor, in den finnischen und deutschen Kontrollgruppen dagegen nicht (je 0,0%) (siehe Abbildung 16).

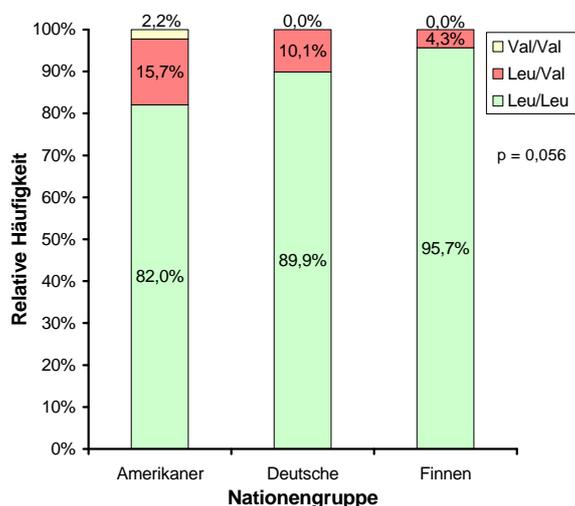


Abbildung 16: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollgruppen

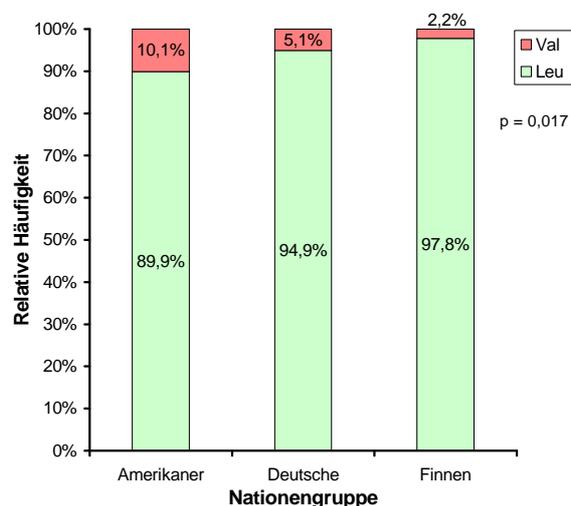


Abbildung 17: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollgruppen

Die schon in der Genotypenfrequenz beobachteten Unterschiede zwischen den drei Kontrollgruppen übertrugen sich auf die Allelfrequenz und waren hier auch signifikant ($p = 0,017$). Wie aus Abbildung 17 ersichtlich wird, herrschte das Leu-Allel bei den drei Kontrollgruppen

in verschiedenem Maße vor (Nordamerikaner: 89,9%, Deutsche: 94,9%, Finnen: 97,8). Dementsprechend war das Val-Allel bei den Finnen (2,2%) im Vergleich zu den Nordamerikanern (10,1%) und Deutschen (5,1%) eher selten. Im anschließenden paarweisen Vergleich ergab sich ein signifikanter Unterschied in den Allelfrequenzen zwischen den nordamerikanischen und sowohl den deutschen als auch den finnischen Kontrollpersonen ($p = 0,030$ bzw. $p = 0,018$). Die deutschen und finnischen Kontrollpersonen unterschieden sich untereinander jedoch nicht signifikant in ihren Allelfrequenzen ($p = 0,390$).

Die relative Häufigkeiten der Leu-Träger in den drei Kontrollgruppen lagen eng beieinander (Nordamerikaner: 97,8%, Deutsche: 100%, Finnen: 100%), so dass die aufgetretenen Unterschiede zwischen den Gruppen keine Signifikanz erreichten ($p = 0,108$). Anders verhielt es sich hinsichtlich des Prozentsatzes an Val-Trägern, welcher zwischen den drei Nationengruppen signifikant variierte ($p = 0,043$). Dabei wies die nordamerikanische SC-Gruppe mit 18,0% den höchsten Anteil an Val-Trägern auf, gefolgt von der deutschen (10,1%) und der finnischen Kontrollgruppe (4,3%). Im paarweisen Ländervergleich zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den nordamerikanischen und den finnischen Kontrollpersonen ($p = 0,007$), wohingegen die deutschen Kontrollpersonen sich weder von den nordamerikanischen noch von den finnischen signifikant unterschieden ($p = 0,073$ bzw. $p = 0,378$).

5.2.3 Vergleich der Athleten mit den Kontrollpersonen

5.2.3.1 Vergleich der Athleten mit den Kontrollpersonen ungeachtet der Nationalität

Die Genotypenverteilung war in den nationenübergreifenden Athleten- und Kontrollgruppen sehr ähnlich. Die maximale Abweichung zwischen beiden Gruppen betrug zwei Prozentpunkte ($p = 0,663$). In beiden Gruppen dominierte der Leu/Leu-Genotyp (EEA: 90,1%, SC: 88,4%), während der Val/Val-Genotyp sehr selten vorkam (EEA: 1,0%, SC: 0,7%). Der heterozygote Leu/Val-Genotyp war in der SC-Gruppe etwas häufiger vertreten als in der EEA-Gruppe (10,9% vs. 8,9%) (Abbildung 18).

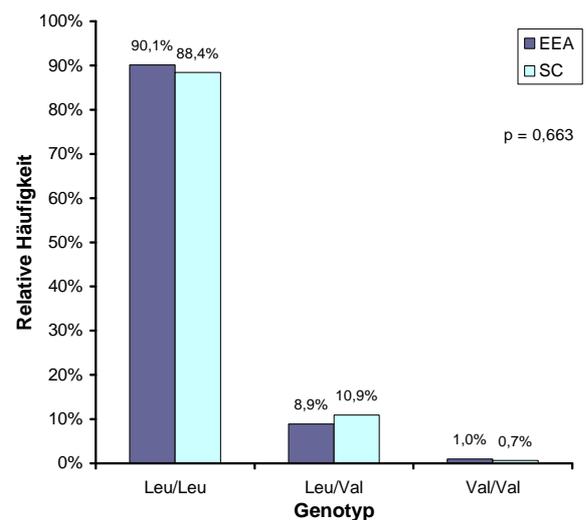


Abbildung 18: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen

Zwischen den Allelfrequenzen in der Athleten- und der Kontrollgruppe bestanden ebenfalls nur minimale Unterschiede ($p = 0,602$). In der SC-Gruppe war das Leu-Allel mit 93,9% zu Gunsten des Val-Allels (6,1%) geringfügig seltener vertreten als in der EEA-Gruppe (94,6% bzw. 5,4%) (siehe Abbildung 19).

Der Anteil der Leu-Träger war in Athleten- und Kontrollgruppe fast identisch (99,0% bzw. 99,3%) ($p = 0,682$). Auch hinsichtlich des Val-Träger-Status fiel der Unterschied zwischen der Athleten- und der

Kontrollgruppe relativ klein aus. Die Kontrollgruppe besaß einen ca. 2% höheren Anteil an Val-Trägern als die Athletengruppe (11,8% vs. 9,9%). Auch dieser Unterschied war nicht signifikant ($p = 0,500$).

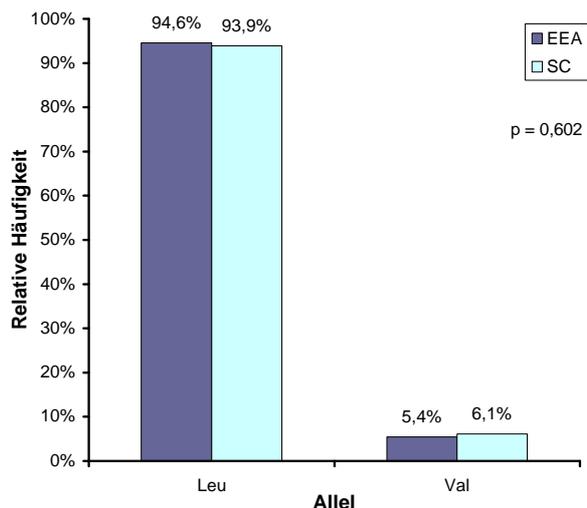


Abbildung 19: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen

5.2.3.2 Vergleich der nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen

Wie Abbildung 20 und Abbildung 21 zeigen, wichen die nordamerikanischen Athleten- und Kontrollgruppe bezüglich ihrer Genotypen- und Allelfrequenzen nur unbedeutend voneinander ab ($p = 0,864$ bzw. $p = 0,485$). In der Kontrollgruppe war das seltenere Val-Allel mit 10,1% etwas häufiger, und im Gegenzug das Leu-Allel (89,9%) etwas seltener zu beobachten als in der Sportlergruppe (7,9% bzw. 92,1%).

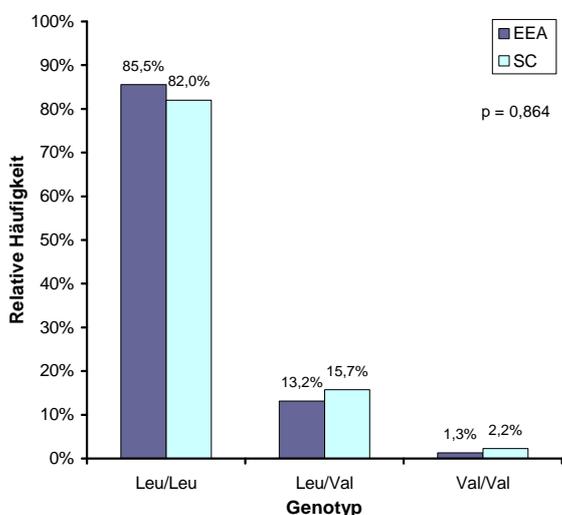


Abbildung 20: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen

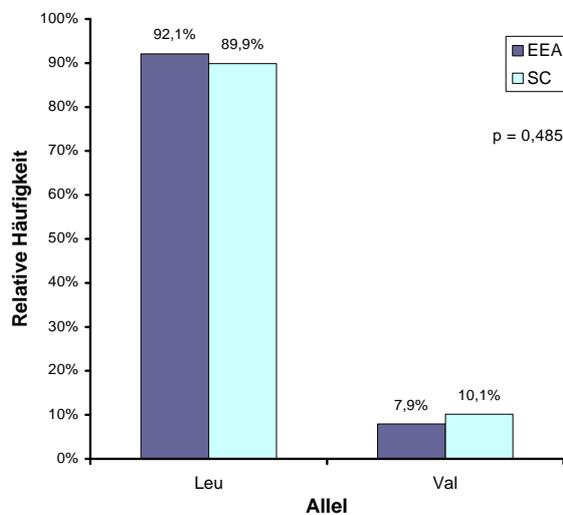


Abbildung 21: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen

Auch die relativen Häufigkeiten der Leu-Allel-Träger in der Kontroll- und Athletengruppe kamen sich sehr nahe, so dass kein signifikanter Unterschied auszumachen war ($p > 0,999$). Ebenfalls nicht signifikant war der ermittelte Unterschied zwischen der Kontroll- und der Athletengruppe hinsichtlich des Val-Träger-Status ($p = 0,674$), auch wenn hier die Differenz zwischen den beiden Gruppen mehr als 3 Prozentpunkte betrug (SC: 18,0% Val-Träger, EEA: 14,5% Val-Träger).

5.2.3.3 Vergleich der deutschen Athleten und Kontrollpersonen

Die deutschen Athleten und Kontrollpersonen waren sich hinsichtlich aller geprüften Merkmale, d.h. in ihrer Genotypenverteilung, in ihrer Allelverteilung und in den jeweiligen Anteilen an Leu- und Val-Trägern sehr ähnlich, so dass keine signifikanten Unterschiede zu verzeichnen waren ($p = 0,850$, $p = 0,880$, $p > 0,999$, $p = 0,742$) (Siehe Abbildung 22 und Abbildung 23).

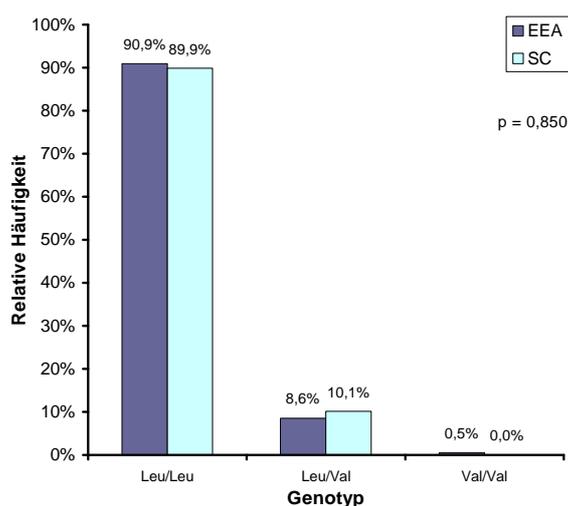


Abbildung 22: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den deutschen Athleten und Kontrollpersonen

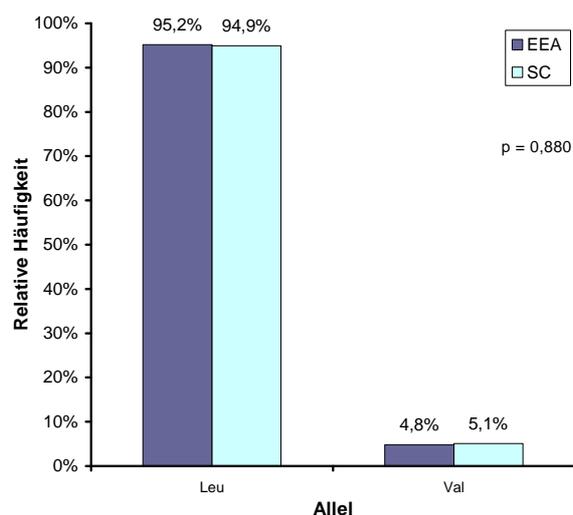


Abbildung 23: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den deutschen Athleten und Kontrollpersonen

5.2.3.4 Vergleich der finnischen Athleten und Kontrollpersonen

Unter den finnischen Kontrollpersonen gab es im Gegensatz zu den finnischen Sportlern keine Homozygote für das seltenere Val-Allel (SC: 0,0%, EEA: 2,0%). Im Ausgleich kamen der Leu/Leu- und der Leu/Val-Genotyp in der finnischen SC-Gruppe etwas häufiger vor als in der finnischen EEA-Gruppe (Abbildung 24). Insgesamt waren die Unterschiede in der Genotypenfrequenz zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant ($p > 0,999$). Anders als bei den Nordamerikanern und den Deutschen war der Prozentsatz des Leu-Allels in der finnischen EEA-Gruppe niedriger als in der SC-Gruppe (Sportler: 96,1%, Kontrollpersonen: 97,8%) (Abbildung 25). Dieser Unterschied war aber ebenfalls nicht signifikant ($p = 0,685$).

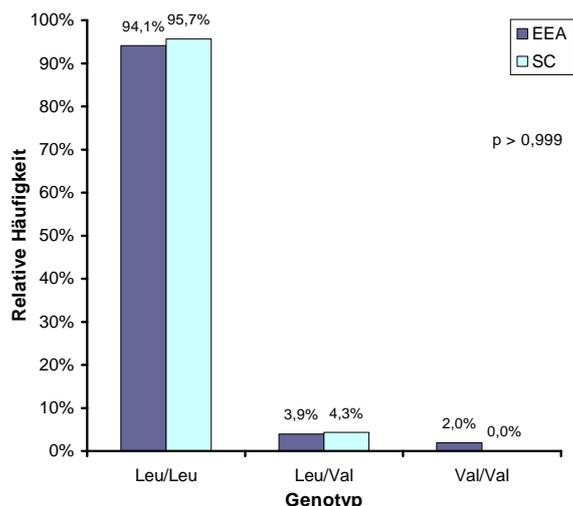


Abbildung 24: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den finnischen Athleten und Kontrollpersonen

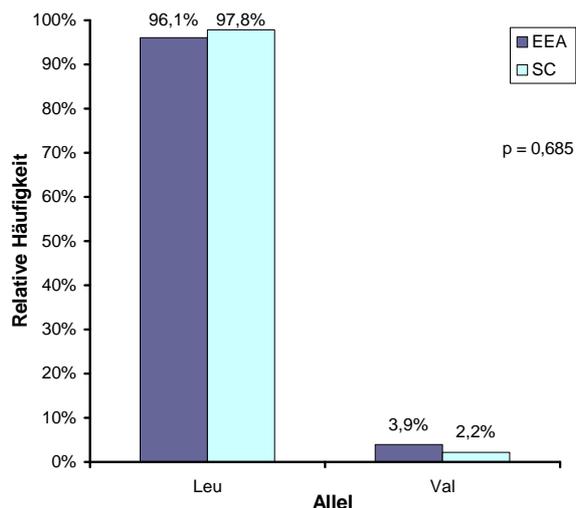


Abbildung 25: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den finnischen Athleten und Kontrollpersonen

Alle Mitglieder der finnischen SC-Gruppe waren Träger des Leu-Allels, in der finnischen EEA-Gruppe betrug der Anteil der Leu-Träger nur 98,0%. Dieser Unterschied war jedoch wie auch der Unterschied bezüglich des Val-Trägerstatus (EEA: 5,9% Val-Träger, SC: 4,3% Val-Träger) nicht signifikant (jeweils $p > 0,999$).

5.3 Auswertung der Genotypisierung am PPAR δ +294T>C-Locus

5.3.1 Verteilung der Genotypen, Allele und Trägerstatus am PPAR δ +294T>C-Locus im gesamten Probandenkollektiv

Am PPAR δ +294T>C-Locus verlief die Genotypenbestimmung für alle 617 Probanden erfolgreich. Die Genotypenverteilung im Gesamtkollektiv ist in Abbildung 26 dargestellt. Mit 62,1% war der T/T-Genotyp am häufigsten vertreten, gefolgt vom T/C-Genotyp mit 33,4%. Der C/C-Genotyp kam nur bei 4,5% der Studienteilnehmer vor.

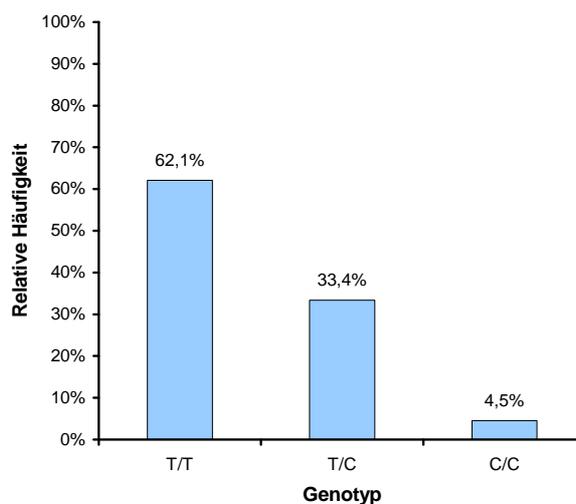


Abbildung 26: Verteilung der Genotypen am PPAR δ +294T>C-Locus im gesamten Probandenkollektiv

Aus dieser Genotypenverteilung ergab sich, eine sehr viel höhere T-Allel- als C-Allel-Frequenz (78,6% vs. 21,4%) (Abbildung 27). Die überwiegende Mehrheit (95,5%) der Probanden war Träger des T-Allels. Nur 4,5% der Studienteilnehmer wiesen kein T-Allel auf (Abbildung 28). Immerhin 37,9% der Probanden waren Träger des selteneren C-Allels. Die Mehrheit der Probanden (62,1%) war jedoch kein Träger des C-Allels (Abbildung 29).

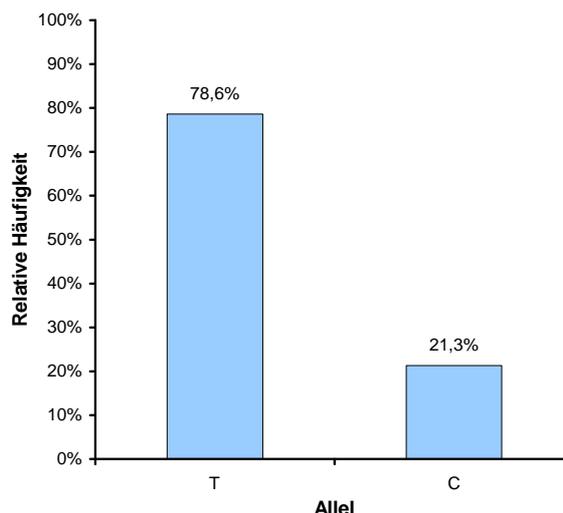


Abbildung 27: Verteilung der Allele am PPAR δ +294T>C-Locus im gesamten Probandenkollektiv

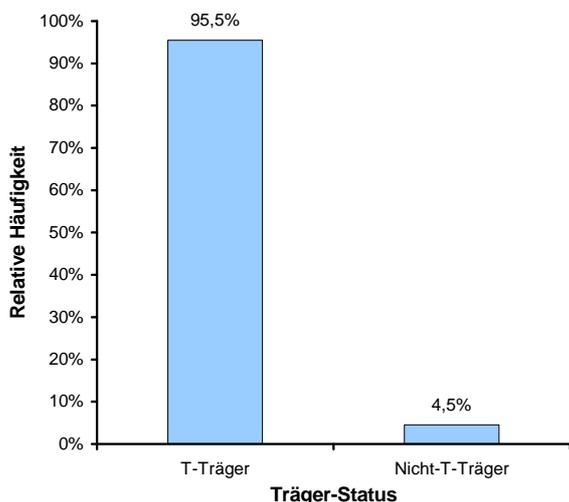


Abbildung 28: Relative Häufigkeit der T-Träger am PPAR δ +294T>C-Locus im gesamten Probandenkollektiv

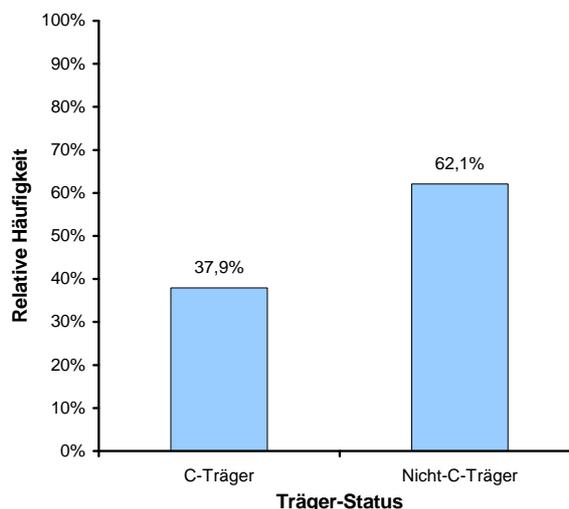


Abbildung 29: Relative Häufigkeit der C-Träger am PPAR δ +294T>C-Locus im gesamten Probandenkollektiv

5.3.2 Vergleich der nationalen Gruppen am PPAR δ +294T>C-Locus

5.3.2.1 Vergleich der Nationengesamtgruppen ungeachtet des Trainingsstatus

Wie Abbildung 30 zeigt, wiesen die drei Nationengruppen signifikante Unterschiede bezüglich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus auf ($p = 0,004$). In allen Nationengruppen kam der T/T-Genotyp am häufigsten vor. Bei den finnischen Probanden dominierte dieser mit 76,3% am deutlichsten, gefolgt von den Deutschen mit 61,1% und den Nordamerikanern mit lediglich 55,8%. Der heterozygote Genotyp T/C war in allen drei Nationengruppen der zweithäufigste (Nordamerikaner: 36,4%, Deutsche: 34,9%, Finnen: 22,7%), der C/C-Genotyp der seltenste (Nordamerikaner: 7,9%, Deutsche: 3,9%, Finnen: 1,0%).

Der anschließende paarweise Vergleich der Nationengruppen ergab einen signifikanten Unterschied sowohl zwischen den Finnen und Nordamerikanern ($p = 0,001$) als auch zwischen den Finnen und Deutschen ($p = 0,017$), während sich die Nordamerikaner und Deutschen nicht signifikant voneinander unterschieden ($p = 0,137$).

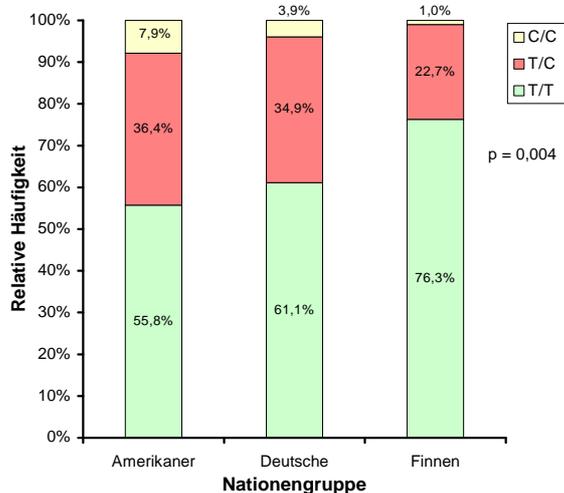


Abbildung 30: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengruppen

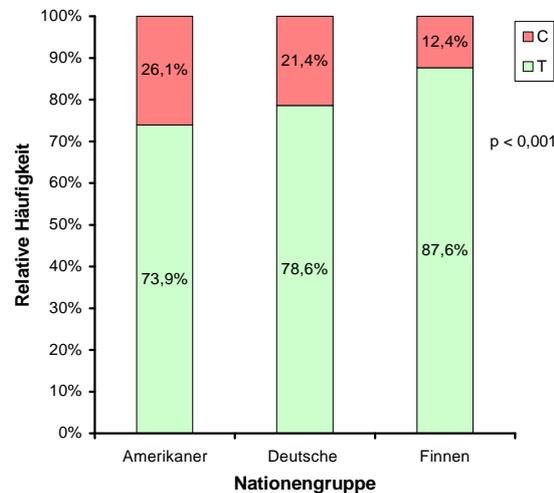


Abbildung 31: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengruppen

Die schon bei der Genotypenverteilung beschriebenen signifikanten Unterschiede zwischen den nordamerikanischen, finnischen und deutschen Probandengruppen spiegeln sich in der Allelverteilung wider ($p < 0,001$). In allen drei Nationengruppen fand sich das T-Allel weitaus häufiger als das C-Allel, wobei der Abstand zwischen relativen Häufigkeiten der Allele bei den Finnen am größten (87,6% vs. 12,4%) und bei den Nordamerikanern am geringsten ausgeprägt war (73,9% vs. 26,1%). Die deutschen Probanden nahmen eine Mittelstellung ein (Abbildung 31). Im paarweisen Vergleich unterschieden sich wiederum die Finnen signifikant von sowohl den Nordamerikanern als auch den Deutschen ($p < 0,001$ und $p = 0,005$). Zwischen Nordamerikanern und Deutschen bestand dagegen kein signifikanter Unterschied ($p = 0,096$).

Hinsichtlich der relativen Häufigkeit der T-Träger lagen ebenfalls signifikante Abweichungen zwischen den drei Nationengruppen vor ($p = 0,025$) (siehe Abbildung 32). Die Finnen waren bis auf eine Ausnahme alle T-Träger (99,0%). Bei den Nordamerikanern waren immerhin 7,9% keine T-Träger. Die Deutschen nahmen wiederum eine Mittelstellung ein.

Der Anteil der C-Träger variierte ebenfalls signifikant zwischen den drei Nationengruppen ($p = 0,010$). Den höchsten Anteil an C-Trägern wiesen die Nordamerikaner mit 44,2 % auf, gefolgt von den Deutschen mit 38,9%. Bei den Finnen waren lediglich 23,7% der Probanden C-Träger (Abbildung 33). Im paarweisen Vergleich ergab sich dasselbe Bild wie schon beim

Genotyp und bei der Allelfrequenz: Die Finnen unterschieden sich signifikant sowohl von den Nordamerikanern als auch von den Deutschen ($p < 0,001$ bzw. $p = 0,005$). Zwischen Nordamerikanern und Deutschen traten keine signifikanten Abweichungen auf ($p = 0,096$).

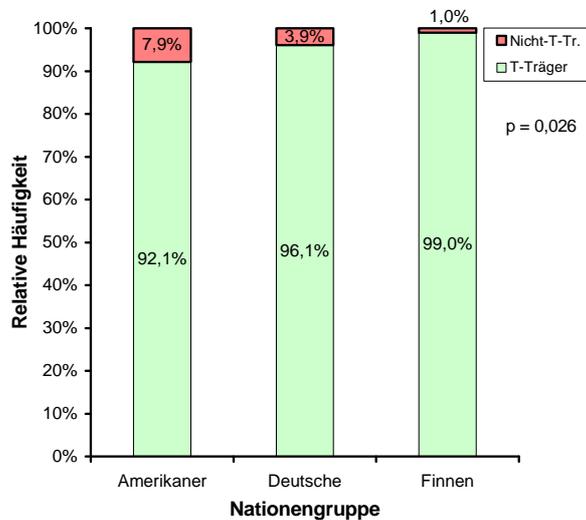


Abbildung 32: Vergleich der relativen Häufigkeit der T-Träger am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen

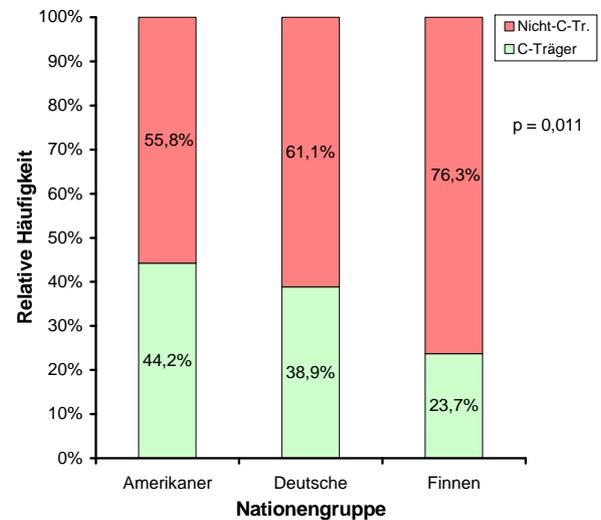


Abbildung 33: Vergleich der relativen Häufigkeit der C-Träger am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen

5.3.2.2 Nationenvergleich der Athletengruppen

Wurden nur die Athletengruppen der drei Nationen miteinander verglichen, blieben die unter Punkt 5.3.2.1 beschriebenen nationenspezifischen Charakteristika bezüglich den Merkmalsverteilungen auch in den EEA-Gruppen erhalten. D.h., die finnischen Sportler zeichneten sich durch die größten relativen Häufigkeiten vom homozygoten T/T-Genotyp, vom T-Allel und vom T-Träger-Status aus. Hingegen wiesen die nordamerikanischen Sportler die höchsten Anteile vom heterozygoten T/C-Genotyp, vom homozygoten C/C-Genotyp, vom C-Allel und vom C-Träger-Status auf. Die deutschen Sportler lagen in ihren Merkmalsverteilungen wiederum zwischen den Finnen und den Nordamerikanern (Abbildung 34 und Abbildung 35). Insgesamt fielen die Unterschiede zwischen den drei Athletengruppen geringer aus als beim Vergleich der Ländergesamtgruppen. Für keines der vier Merkmale Genotypenverteilung, Allelfrequenz, T-Träger-Status und C-Träger-Status ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p = 0,777$, $p = 0,414$, $p = 0,818$ und $p = 0,409$).

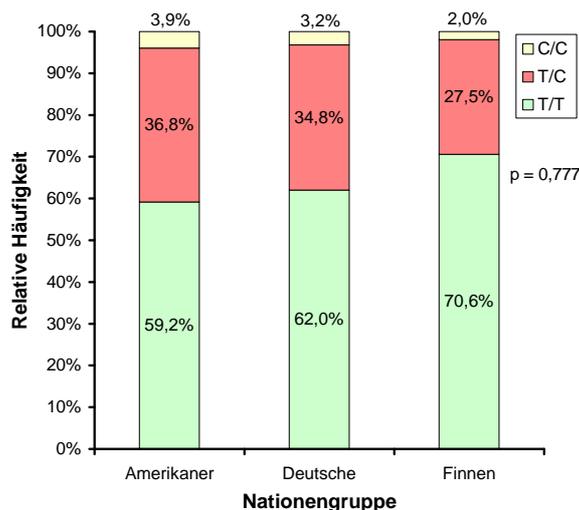


Abbildung 34: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Athleten

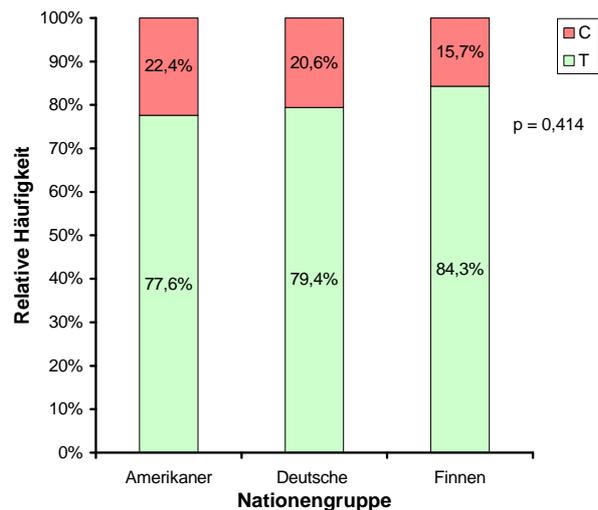


Abbildung 35: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Athleten

5.3.2.3 Nationenvergleich der Kontrollgruppen

Im Gegensatz zu den Athletengruppen unterschieden sich die Kontrollgruppen der drei Nationen in allen vier Merkmalen Genotypenverteilung, Allelfrequenz, T-Trägerstatus und C-Träger-Status signifikant ($p = 0,003$, $p < 0,001$, $p = 0,020$, $p = 0,003$). In der finnischen SC-Gruppe überwogen der T/T-Genotyp (82,6%) bzw. das T-Allel (91,3%) am stärksten, während der C/C-Genotyp überhaupt nicht auftrat. Die nordamerikanische SC-Gruppe war von allen diejenige Untergruppe mit den höchsten Anteilen vom heterozygoten T/C-Genotyp (36,0%), homozygoten C/C-Genotyp (11,2%), C-Allel (29,2%) und C-Trägerstatus (47,2%) (siehe Abbildung 36 - Abbildung 39).

Im paarweisen Ländervergleich wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den finnischen und nordamerikanischen Kontrollpersonen bezüglich aller vier Merkmale (Genotypenverteilung: $p = 0,002$; Allelfrequenz: $p < 0,001$; T-Träger-Status: $p = 0,016$, C-Träger-Status: $p = 0,001$) beobachtet. Zwischen den finnischen und deutschen Kontrollpersonen bestanden für drei der vier Merkmale mit Ausnahme des T-Träger-Status ebenfalls signifikante Unterschiede (Genotypenverteilung: $p = 0,013$; Allelfrequenz: $p = 0,003$; T-Träger-Status: $p = 0,206$; C-Träger-Status: $p = 0,005$). Die nordamerikanischen und deutschen Kontrollpersonen unterschieden sich in keinem der vier Merkmale signifikant (Genotypenverteilung: $p = 0,133$; Allelfrequenz: $p = 0,085$; T-Träger-Status: $p = 0,053$ und C-Träger-Status: $p = 0,259$).

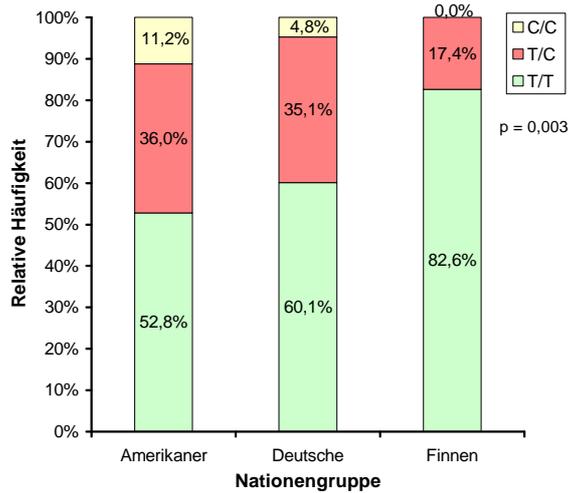


Abbildung 36: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollpersonen.

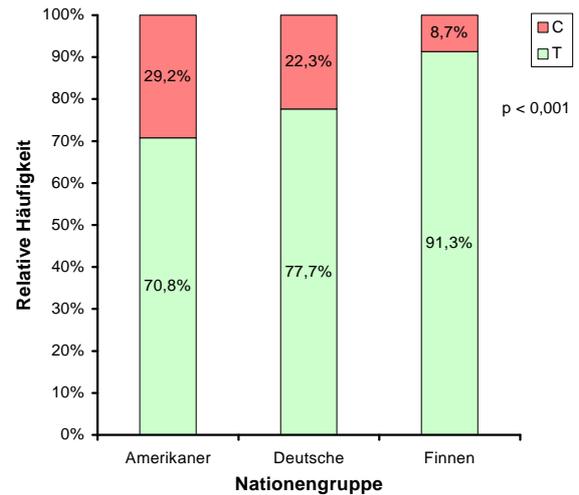


Abbildung 37: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollpersonen.

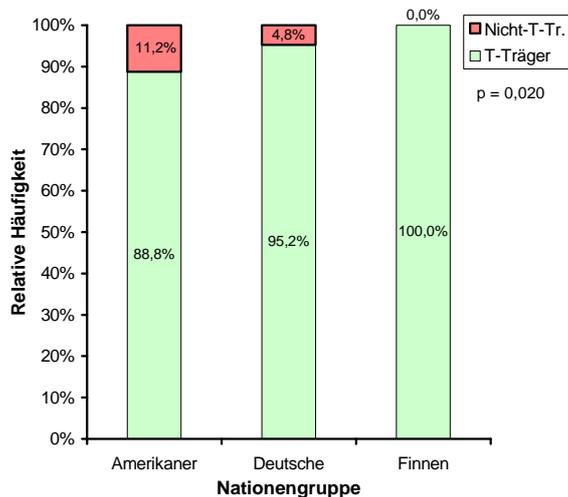


Abbildung 38: Vergleich der relativen Häufigkeit der T-Träger am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollpersonen.

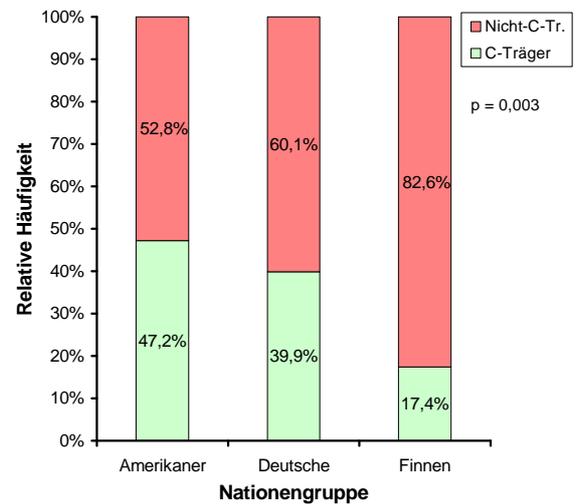


Abbildung 39: Vergleich der relativen Häufigkeit der C-Träger am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollpersonen.

5.3.3 Vergleich der Athleten mit den Kontrollpersonen am PPAR δ +294T>C-Locus

5.3.3.1 Vergleich der Athleten mit den Kontrollpersonen ungeachtet der Nationalität

Beim Vergleich der gesamten Athletengruppe mit der gesamten Kontrollgruppe ergaben sich nur geringfügige, nicht signifikante Unterschiede (Abbildung 40). In der SC-Gruppe waren der homozygote T/T-Genotyp sowie der heterozygote T/C-Genotyp etwas seltener zu finden als in der EEA-Gruppe. Auffallend war, dass der C/C-Genotyp in der Kontrollgruppe mit 5,9% fast doppelt so oft vorkam wie in der Sportlergruppe (3,2%). In Folge dieser Genotypenverteilungen überstieg die T-Allelfrequenz in der Sportlergruppe die entsprechende Frequenz in der Kontrollgruppe um 2,1 Prozentpunkte (siehe Abbildung 41).

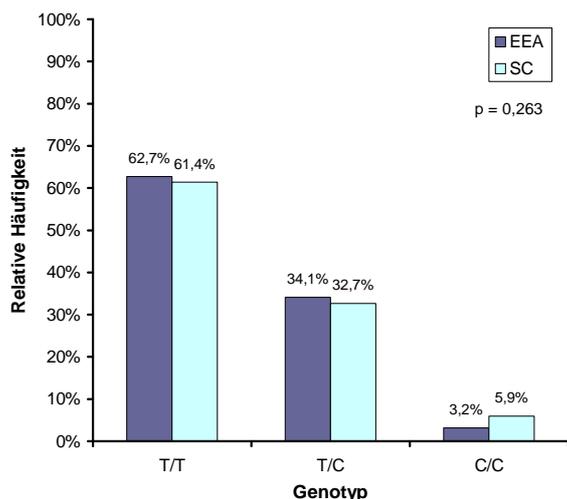


Abbildung 40: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen

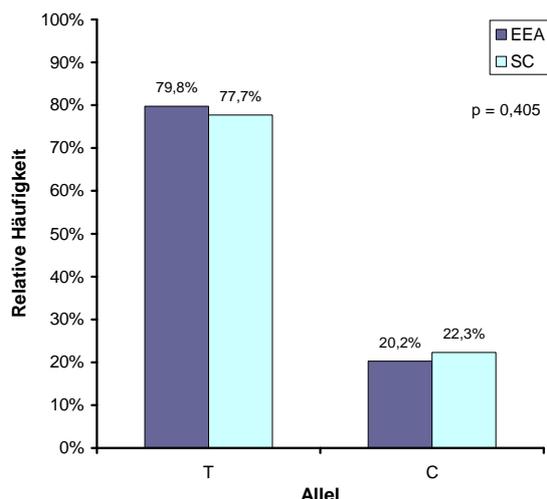


Abbildung 41: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen

Die relative Häufigkeit der T-Träger lag in der EEA-Gruppe (96,8%) nur knapp über derjenigen in der SC-Gruppe (94,1%) ($p=0,122$). Auch die Anteile der C-Träger lagen in beiden Gruppen mit 37,3% bei den EEAs und 38,6% bei den SCs nahe beieinander ($p = 0,741$).

5.3.3.2 Vergleich der nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen

Die Genotypenverteilung der nordamerikanischen Athleten wich insbesondere bei den homozygoten Genotypen von derjenigen der Kontrollpersonen ab, während sich der Anteil der Heterozygoten in beiden Gruppen sehr ähnlich war (Abbildung 42). In der EEA-Gruppe war der T/T-Genotyp mit 59,2% deutlich häufiger vertreten als in der SC-Gruppe (52,8%). Hingegen war der C/C-Genotyp in der Sportlergruppe sehr viel seltener (EEA: 3,9%, SC: 11,2%).

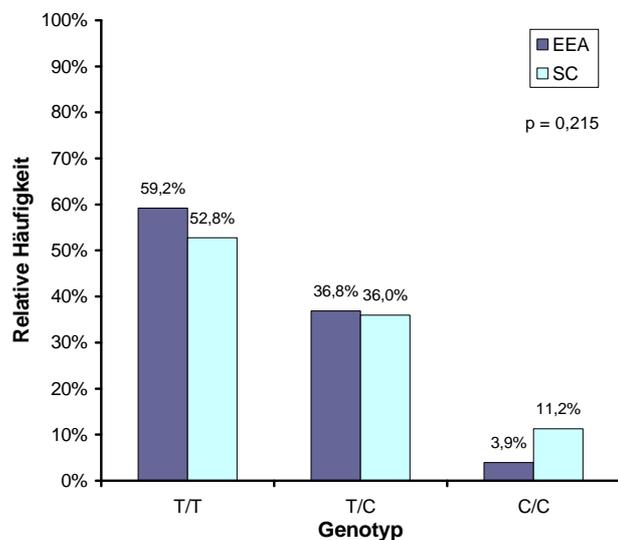


Abbildung 42: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen.

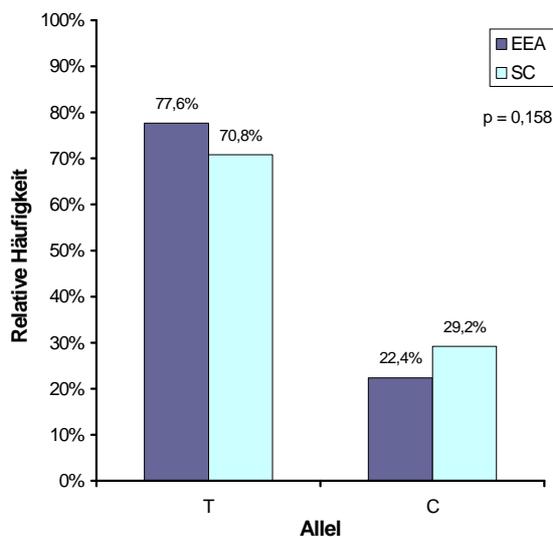


Abbildung 43: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen.

Hinsichtlich der Allelverteilung wies die nordamerikanische Sportlergruppe einen klar höheren Anteil vom T-Allel auf als die Kontrollgruppe (EEA: 77,6%, SC: 70,8%) (siehe Abbildung 43). Der Genotypenverteilung entsprechend lag auch der Prozentsatz der T-Träger in der EEA-Gruppe um mehr als 7 Prozentpunkte über dem in der SC-Gruppe (96,1% in der EEA-Gruppe vs. 88,8% in der SC-Gruppe), während die EEA-Gruppe bezüglich der relativen Häufigkeit der C-Träger um knapp 7 Prozentpunkte hinter der SC-Gruppe zurückblieb (40,7% vs. 47,2%). Jedoch war keiner der hier beschriebenen Unterschiede statistisch signifikant (Genotypenverteilung: $p = 0,298$; Allelverteilung: $p = 0,208$, T-Träger-Status: $p = 0,083$; C-Träger-Status: $p = 0,409$).

5.3.3.3 Vergleich der deutschen Athleten und Kontrollpersonen

Im Vergleich zu den anderen beiden Nationengruppen fielen die Unterschiede zwischen den deutschen Athleten und Kontrollen nur minimal und nicht signifikant aus (Genotypenverteilung: $p = 0,742$, Allelverteilung: $p = 0,574$, T-Träger-Status: $p = 0,453$; C-Träger-Status: $p = 0,712$). Weder bei der Genotypenverteilung noch bei der Allelverteilung betrug die Differenz zwischen den beiden Gruppen mehr als 2 Prozentpunkte (Abbildung 44 und Abbildung 45). Wie schon bei den Nordamerikanern waren der homozygote T/T-Genotyp und das T-Allel tendenziell in der EEA-Gruppe häufiger und das C-Allel seltener als in der SC-Gruppe. Ebenso gering wie bei der Genotypen- und Allelverteilung fielen die Abweichungen zwischen deutschen Sportlern und Kontrollpersonen hinsichtlich des T-Träger-Status (EEAs: 96,8% vs. SCs: 95,2%) und des C-Träger-Status (EEAs: 38,0% vs. SCs: 39,9%) aus.

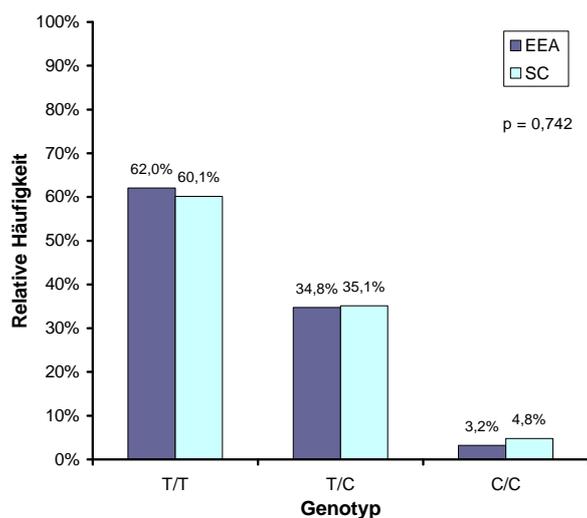


Abbildung 44: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den deutschen Athleten und Kontrollpersonen.

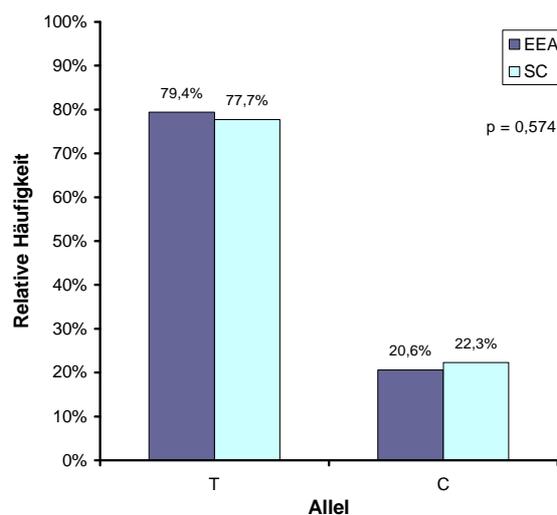


Abbildung 45: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den deutschen Athleten und Kontrollpersonen.

5.3.3.4 Vergleich der finnischen Athleten und Kontrollpersonen

Innerhalb der finnischen Probanden ergaben sich hinsichtlich der Genotypenverteilung auffällige Unterschiede zwischen Athleten- und Kontrollgruppe. Im Gegensatz zu den nordamerikanischen und deutschen Probanden war es bei den Finnen die Kontrollgruppe, die anteilig mehr T-Homozygote (SC: 82,6%, EEA: 70,6%) und weniger Heterozygote (SC: 17,4%, EEA: 27,5%) und C-Homozygote (SC: 0%, EEA: 2,0%) enthielt (Abbildung 46).

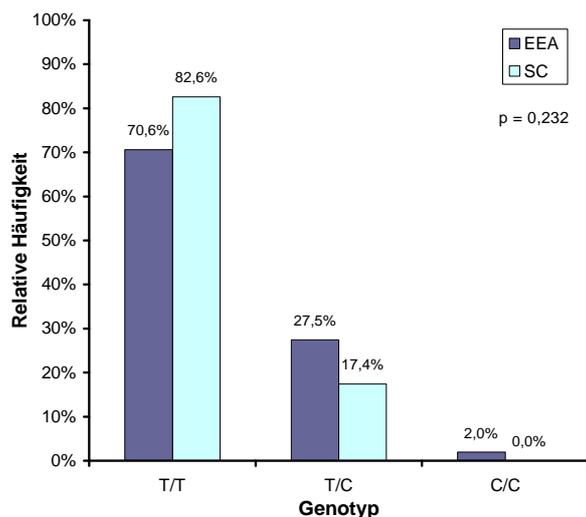


Abbildung 46: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den finnischen Athleten und Kontrollpersonen.

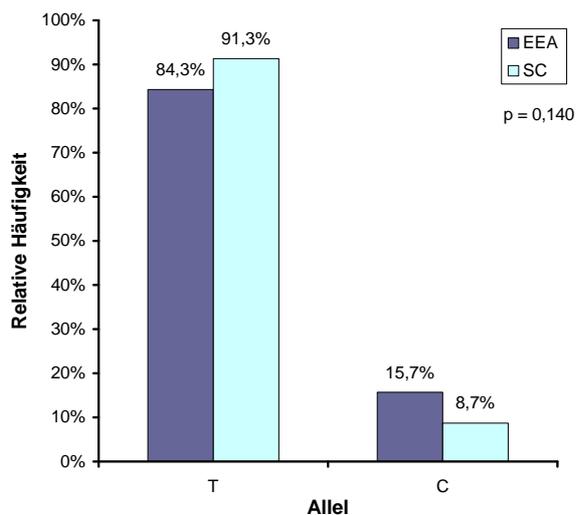


Abbildung 47: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den finnischen Athleten und Kontrollpersonen

Infolgedessen war die T-Allelfrequenz bei den finnischen SCs um 7 Prozentpunkte größer (SCs: 91,3% vs. EEAs: 84,3%) (siehe Abbildung 47) und der Anteil der C-Träger um etwa 12 Prozentpunkte geringer als bei den finnischen EEAs (SCs: 17,4% vs. EEAs: 29,4%). Der Anteil der T-Träger war in beiden Gruppen dagegen sehr ähnlich (SC: 100%, EEA: 98,0%). Keiner dieser beobachteten Unterschiede zwischen den finnischen EEAs und SCs erreichte statistische Signifikanz (Genotypenverteilung: $p = 0,232$; Allelverteilung: $p = 0,140$, T-Träger-Status: $p > 1,000$; C-Träger-Status: $p = 0,165$).

5.4 Auswertung der Genotypisierung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus

5.4.1 Verteilung der Genotypen, Allele und Trägerstatus am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus im gesamten Probandenkollektiv

Der Genotyp am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus konnte für 611 der insgesamt 617 Studienteilnehmer ermittelt werden. Die große Mehrheit der Probanden hatte den Genotyp T/T (74,8%). Am zweithäufigsten war der Pro/Ala-Genotyp mit 22,7%. Der Ala/Ala-Genotyp war mit 2,5% nur selten vertreten (Abbildung 48).

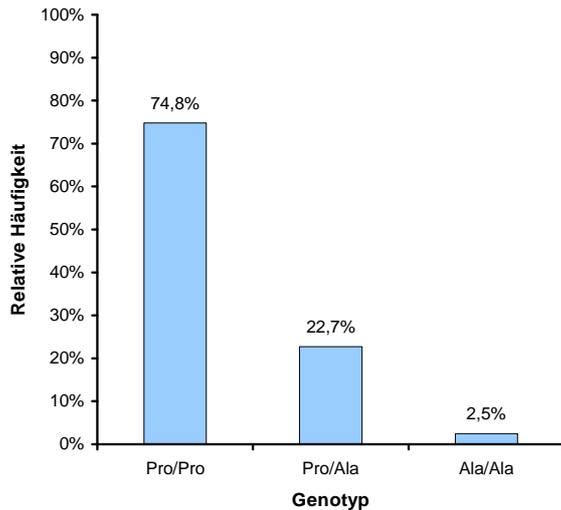


Abbildung 48: Verteilung der Genotypen am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus im gesamten Probandenkollektiv

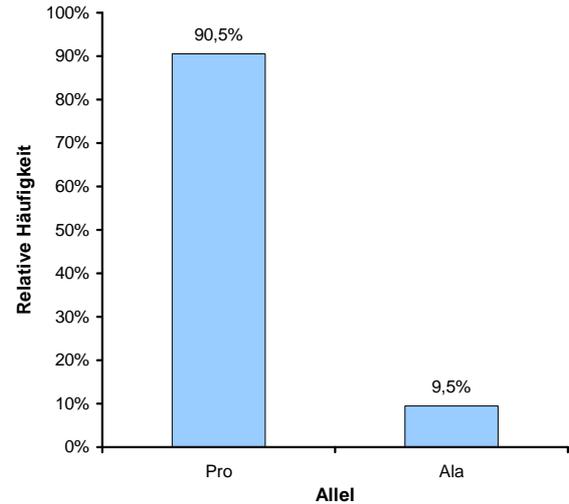


Abbildung 49: Verteilung der Allele am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus im gesamten Probandenkollektiv

Wie schon aus der Genotypenverteilung ersichtlich war, trat das Pro-Allel mit 90,5% deutlich häufiger auf als das Ala-Allel mit nur 9,5% (Abbildung 49). Die große Mehrheit der Probanden (97,5%) war Träger des Pro-Allels. Nur 2,5% der Probanden wiesen kein Pro-Allel auf (Abbildung 50). Etwa ein Viertel (25,2%) der untersuchten Probanden waren Träger des Ala-Allels (Abbildung 51).

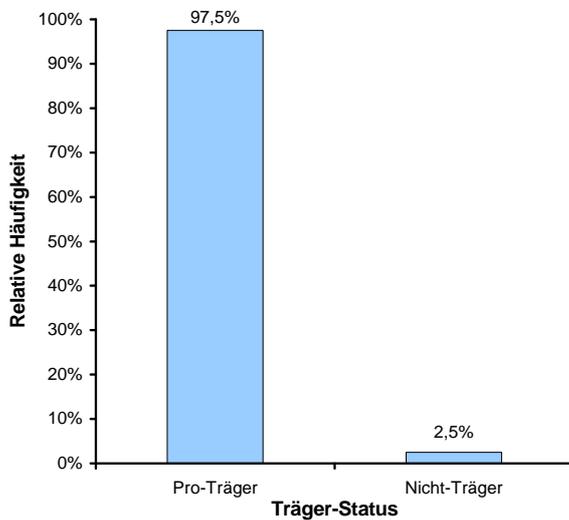


Abbildung 50: Relative Häufigkeit der Pro-Träger am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus im gesamten Probandenkollektiv

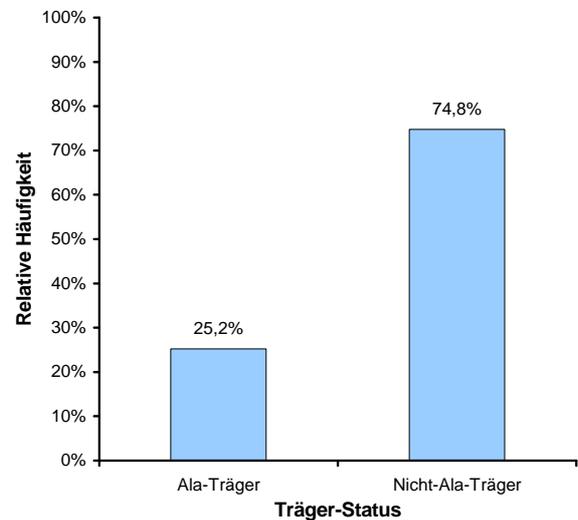


Abbildung 51: Relative Häufigkeit der Ala-Träger am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus im gesamten Probandenkollektiv

5.4.2 Vergleich der verschiedenen Nationen am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus

5.4.2.1 Vergleich der nationalen Gruppen ungeachtet des Trainingsstatus

Im Gegensatz zu den PPAR α - und PPAR δ -Genloci ließen sich am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus keine signifikanten Unterschiede zwischen den Nationengruppen bezüglich der Merkmale Genotypenverteilung ($p = 0,537$), Allelverteilung ($p = 0,577$), Pro-Träger-Status ($p = 0,712$) und Ala-Träger-Status ($p = 0,416$) feststellen. Es wurden daher keine paarweisen Vergleiche

der Nationengruppen durchgeführt. In allen drei Ländergruppen dominierte der Pro/Pro-Genotyp, gefolgt vom Pro/Ala-Genotyp und dem seltenen Ala/Ala-Genotyp. Von den drei Nationengruppen zeichneten sich die Nordamerikaner durch den größten Anteil des homozygoten Pro/Pro-Genotyp (Nordamerikaner: 78,0%, Deutsche: 74,4%, Finnen: 71,6%) und den geringsten Anteil am heterozygoten Pro/Ala-Genotyp (Nordamerikaner: 19,5%, Deutsche: 22,8%, Finnen: 28,4%) aus. Die Finnen hatten als Gruppe zwar den größten Anteil an Heterozygoten, der für das seltenere Ala-Allel homozygote Genotyp kam bei ihnen im Vergleich zu den Deutschen und Nordamerikanern aber nur knapp halb so oft vor (Nordamerikaner: 2,4%, Deutsche: 2,8%, Finnen: 1,1%) (Abbildung 52).

Die Allelfrequenzen in den drei Nationengruppen lagen sehr eng beieinander. Die nordamerikanische Probandengruppe zeichnete sich entsprechend der Genotypenverteilung durch die höchste relative Häufigkeit des Pro-Allels (Nordamerikaner: 87,8%, Deutsche: 85,9%, Finnen: 84,9%) und die niedrigste relative Häufigkeit des Ala-Allels aus (Nordamerikaner: 12,2%, Deutsche: 14,1%, Finnen: 15,1%) (Abbildung 53).

Auch bezüglich des Pro-Träger-Status bestanden nur minimale Unterschiede zwischen

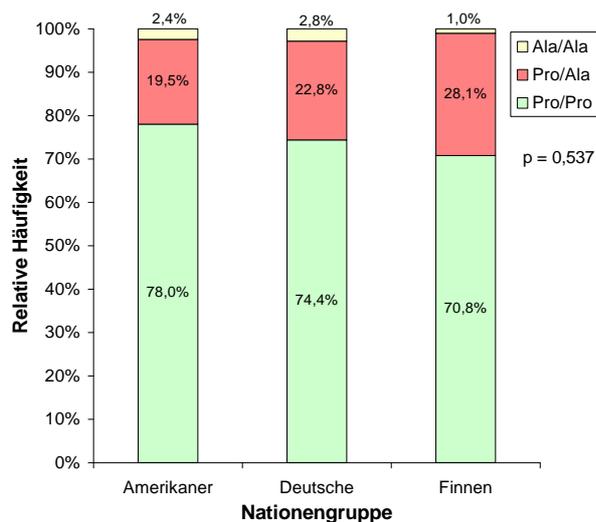


Abbildung 52: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengruppen

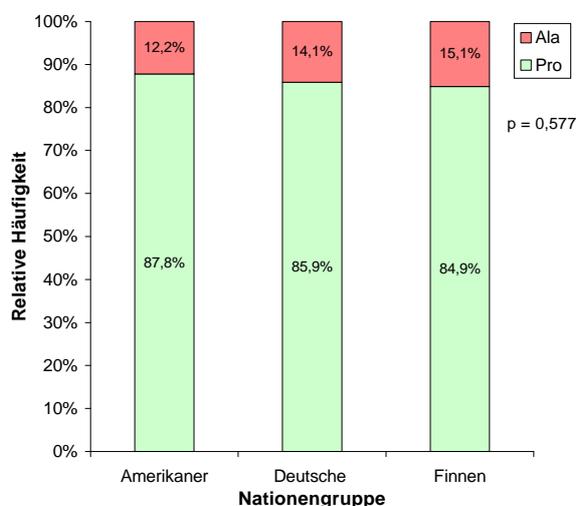


Abbildung 53: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengruppen

den drei Ländergruppen, wobei der Prozentsatz an Pro-Trägern zwischen 97,2% bei den Deutschen und 99,0% bei den Finnen lag (Abbildung 54). Die Variationen zwischen den drei Nationengruppen hinsichtlich der relativen Häufigkeit der Ala-Träger betragen maximal 7,2 Prozentpunkte (22,0% bei den Nordamerikanern vs. 29,2% bei den Finnen), waren aber ebenfalls nicht signifikant ($p = 0,416$) (Abbildung 55).

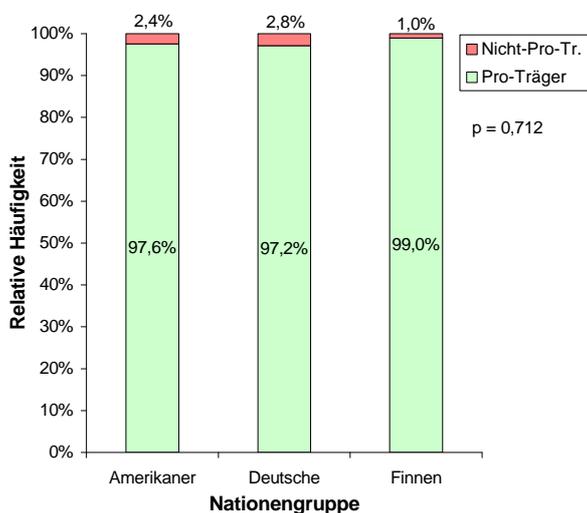


Abbildung 54: Vergleich der relativen Häufigkeit der Pro-Träger am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen

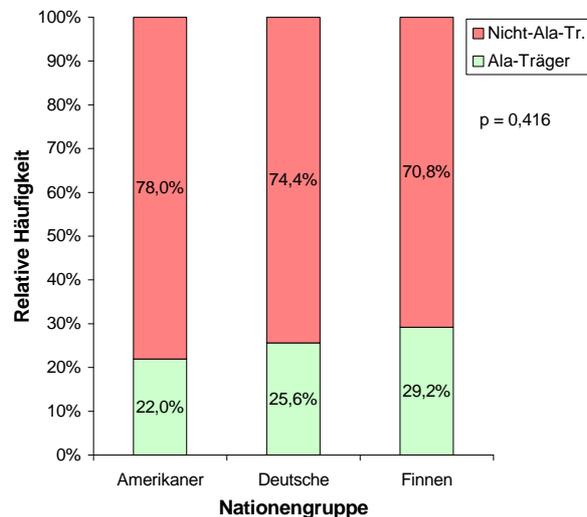


Abbildung 55: Vergleich der relativen Häufigkeit der Ala-Trägern am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen

5.4.2.2 Nationenvergleich der Athletengruppen

Wurden lediglich die Athleten der einzelnen Länder miteinander verglichen, fielen die Unterschiede zwischen den Nationen ähnlich gering aus wie beim Vergleich der Ländergesamtgruppen. Sie waren daher ebenfalls nicht signifikant (Genotypenverteilung $p = 0,909$, Allelverteilung $p = 0,839$). Tendenziell wiesen die drei Sportler-Gruppen einen etwas geringeren Anteil am homozygoten Pro/Pro-Genotyp auf als das Gesamtkollektiv, wobei der Pro/Pro-Anteil bei den finnischen EEAs mit 68,0% am niedrigsten und bei den deutschen EEAs mit 72,4% am höchsten war. Umgekehrt war der heterozygote Pro/Ala-Genotyp bei den finnischen EEAs etwas häufiger (30,0%) als bei den deutschen (24,9%) und nordamerikanischen EEAs (25,0%) zu finden. Homozygote für das Ala-Allel kamen in allen drei Sportler-Gruppen nur selten vor, davon noch am häufigsten bei den nordamerikanischen EEAs (4,0%) (Abbildung 56).

Als Konsequenz aus der Genotypenverteilung variierten die relative Häufigkeit des selteneren Ala-Allels nur wenig zwischen den drei EEA-Gruppen (Nordamerikaner: 16,4%, Deutsche: 15,1%, Finnen: 17,0%). (Abbildung 57). Der prozentuale Anteil der Pro-Trägern lag zwischen 96,1% bei den nordamerikanischen EEAs und 98,0% bei den finnischen EEAs ($p = 0,890$).

Auch die Unterschiede zwischen den drei Sportlergruppen bezüglich des Ala-Träger-Anteils waren gering (Nordamerikaner: 28,9%, Deutsche: 27,6%, Finnen: 32,6%) und damit nicht statistisch signifikant ($p = 0,823$).

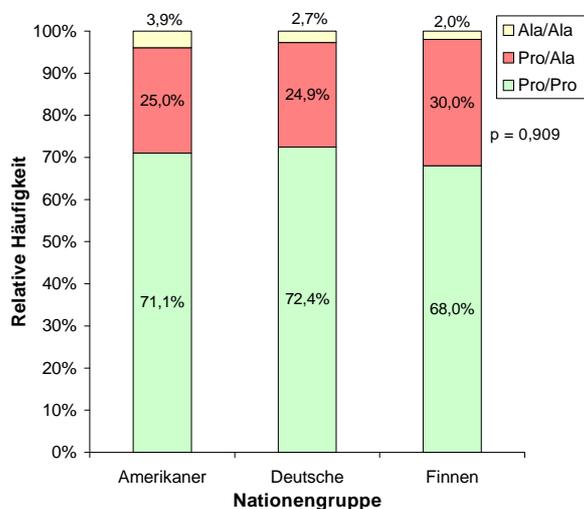


Abbildung 56: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Athleten.

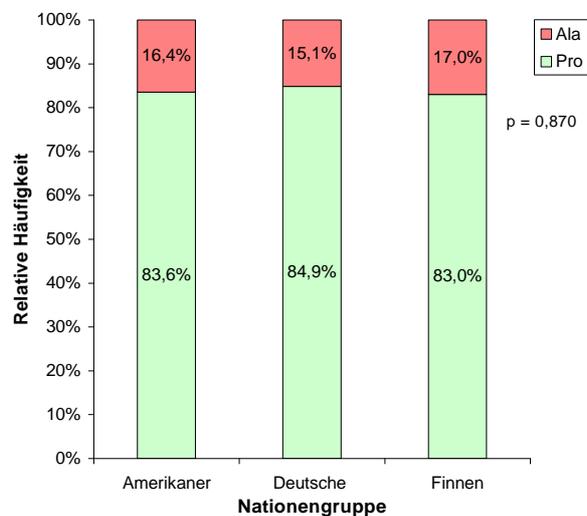


Abbildung 57: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Athleten.

5.4.2.3 Nationenvergleich der Kontrollgruppen

Obwohl die Unterschiede zwischen den Kontrollpersonen der drei Nationen etwas ausgeprägter waren als zwischen den entsprechenden EEA-Gruppen, erreichten sie ebenfalls für keines der untersuchten Merkmale statistische Signifikanz (Genotypenverteilung: $p = 0,404$, Allelverteilung: $p = 0,270$, Pro-Träger-Status: $p = 0,614$ und Ala-Träger-Status: $p = 0,276$).

Die relative Häufigkeit des homozygoten Pro/Pro-Genotyps variierte von 84,1% bei den nordamerikanischen über 76,5% bei den deutschen bis zu 73,9% bei den finnischen Kontrollpersonen. Beim Pro/Ala-Genotyp bestand eine umgekehrte Länderreihenfolge (Nordamerikaner: 14,8%, Deutsche: 20,5%, Finnen: 26,1%). Der Ala/Ala-Genotyp war in den nordamerikanischen und deutschen Kontroll-Gruppen nur selten (3,0% bzw. 1,1%), in der finnischen SC-Gruppe gar nicht vorhanden (siehe Abbildung 58).

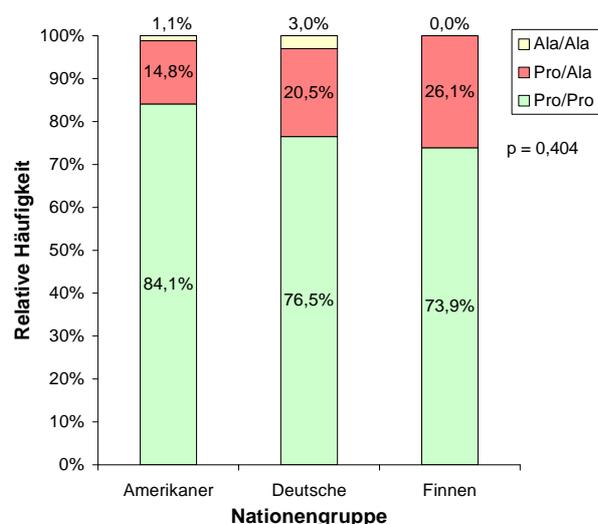


Abbildung 58: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollpersonen

Die Allelfrequenzen waren in der deutschen und finnischen Kontrollgruppe mit jeweils 87,0% Pro-Allel und 13,0% Ala-Allel identisch. In der nordamerikanischen SC-Gruppe wurde eine mit 8,5% klar niedrigere Frequenz des selteneren Ala-Allels beobachtet (siehe Abbildung 59).

Die überwiegende Mehrheit der Kontrollpersonen aller drei Nationengruppen war Träger des Pro-Allels (Nordamerikaner: 98,9%, Deutsche: 97,0%, Finnen: 100%). Größere Unterschiede zwischen den drei

Kontrollgruppen ließen sich in Hinsicht auf die prozentualen Anteile von Ala-Trägern feststellen (Nordamerikaner: 15,9%, Deutsche: 23,5%, Finnen: 26,1%).

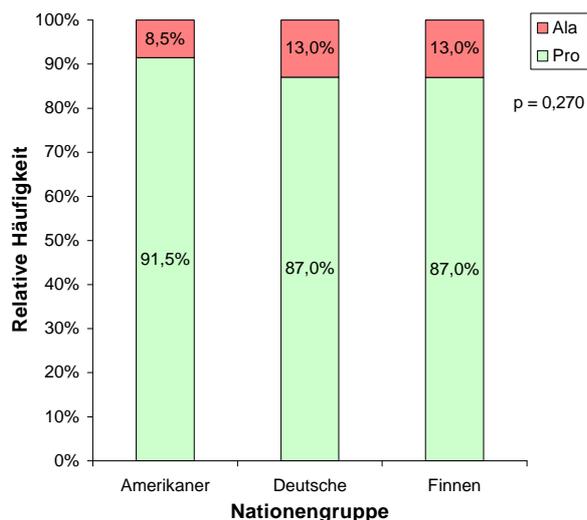


Abbildung 59: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollpersonen.

5.4.3 Vergleich der Athleten mit den Kontrollpersonen

5.4.3.1 Vergleich der Athleten mit den Kontrollpersonen ungeachtet der Nationalität

Wie in Abbildung 60 zu sehen ist, kamen in der EEA-Gesamtgruppe die das seltenere Ala-Allel beinhaltenden Genotypen Pro/Ala und Ala/Ala deutlich häufiger vor als in der SC-Gesamtgruppe (25,7% vs. 19,3% und 2,9% vs. 2,0%), der homozygote Pro/Pro-Genotyp dagegen in einer niedrigeren relativen Häufigkeit (71,4% vs. 78,7%). Diese Abweichungen zwischen der EEA- und der SC-Gruppe waren statistisch jedoch nicht signifikant (p = 0,114).

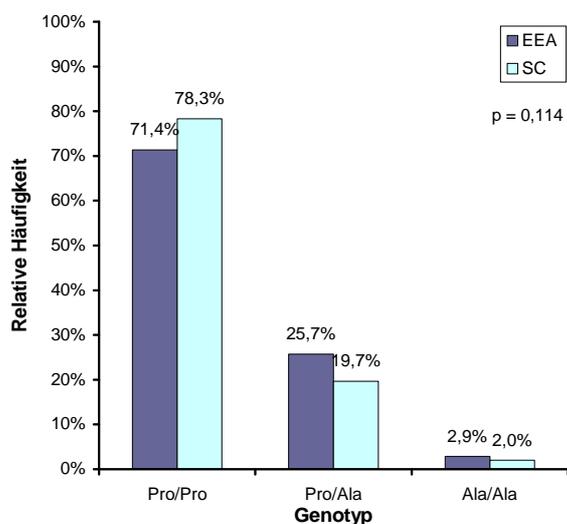


Abbildung 60: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen

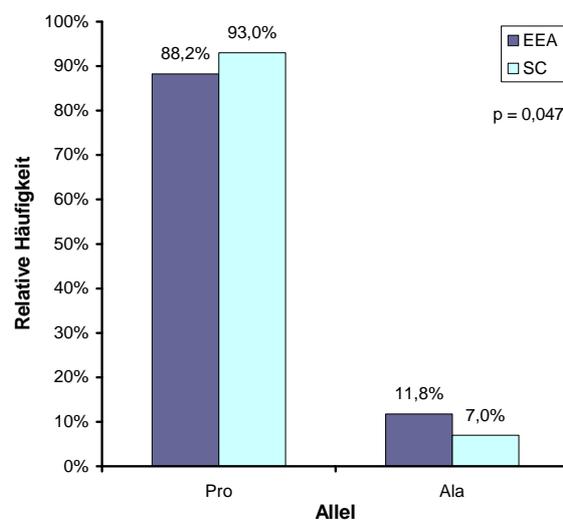


Abbildung 61: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen

Hinsichtlich der Allelverteilung wurden ebenfalls größere Unterschiede zwischen den Athleten und den Kontrollpersonen beobachtet, die hier auch statistisch schwach signifikant waren ($p = 0,047$). Entsprechend der Genotypenverteilung überstieg die Frequenz des selteneren Ala-Allels in der EEA-Gruppe diejenige in der SC-Gruppe merklich (11,8% vs. 7,0%). Im Gegenzug fiel die Pro-Allel-Frequenz in der Athletengruppe hinter derjenigen der Kontrollgruppe zurück (88,2% vs. 93,0%) (Abbildung 61). Bezüglich des Pro-Träger-Status unterschieden sich die EEA- und die SC-Gruppe nur um knapp einen Prozentpunkt und damit nicht statistisch signifikant ($p = 0,475$). In beiden Gruppen war die eindeutige Mehrheit der Probanden Träger des Pro-Allels (EEA: 97,1%, SC: 98,0%) (Abbildung 62).

Die relative Häufigkeit der Ala-Träger wies wesentlich größere und statistisch auch schwach signifikante Unterschiede zwischen der EEA- und der SC-Gruppe auf ($p = 0,048$). Wie Abbildung 63 veranschaulicht, enthielt die EEA-Gruppe prozentual deutlich mehr Ala-Träger als die SC-Gruppe (28,6% vs. 21,7%).

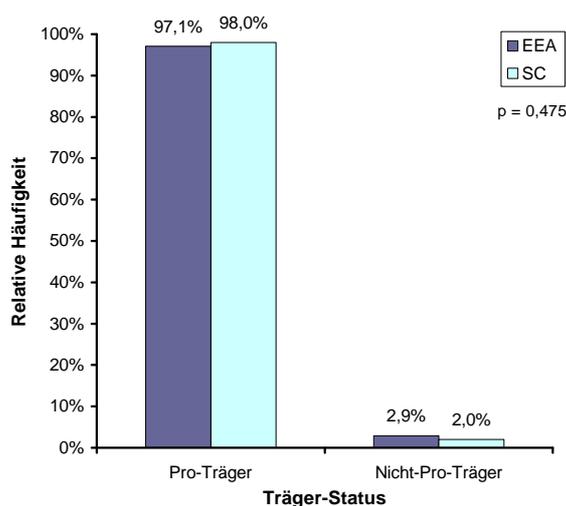


Abbildung 62: Vergleich der relativen Häufigkeit der Pro-Träger am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen.

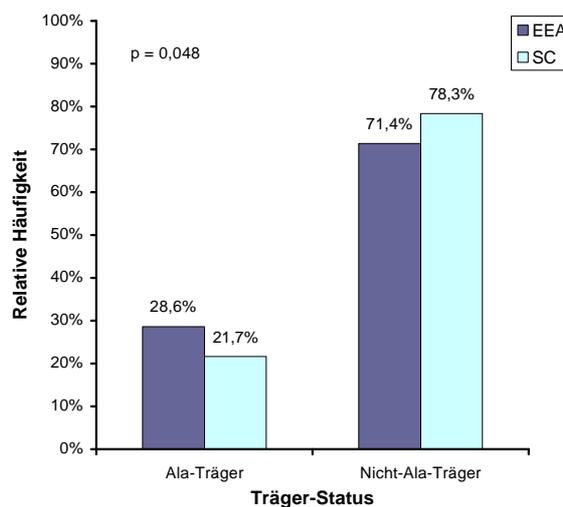


Abbildung 63: Vergleich der relativen Häufigkeit der Ala-Trägern am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen.

5.4.3.2 Vergleich der nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen

Beim Vergleich zwischen nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen ergaben sich klare Unterschiede, die allerdings wie bei den EEA- und SC-Gesamtgruppen nur für die Allelfrequenz und den Ala-Träger-Status statistische Signifikanz erreichten. Die das seltenere Ala-Allel enthaltenden Genotypen Pro/Ala und Ala/Ala traten in der nordamerikanischen EEA-Gruppe jeweils mit Abstand häufiger auf, als in der nordamerikanischen SC-Gruppe (Pro/Ala: 25,0% vs. 14,8%; Ala/Ala: 4,0% vs. 1,1%), während die Frequenz des Pro/Pro-Genotyps bei den Athleten 13 Prozentpunkte niedriger als bei den Kontrollpersonen war. Diese Unterschiede zwischen den beiden Gruppen waren jedoch nicht statistisch signifikant ($p = 0,133$).

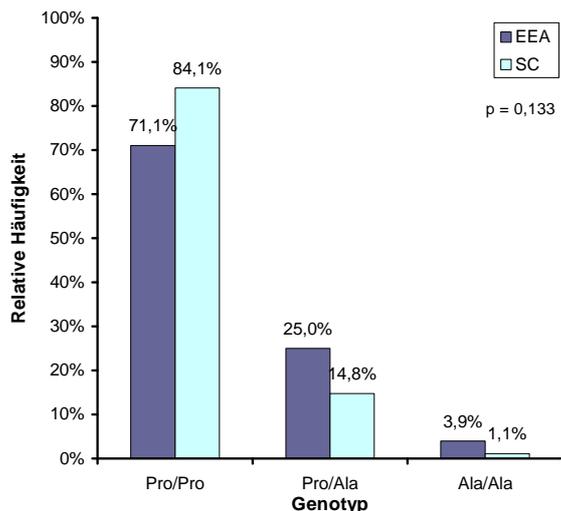


Abbildung 64: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen.

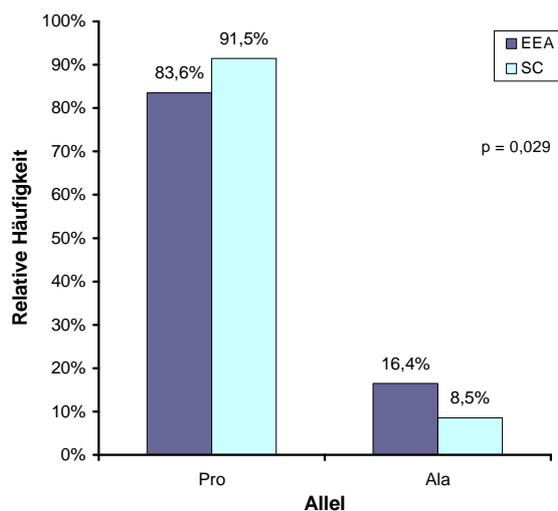


Abbildung 65: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen.

Hinsichtlich der Allelverteilung wurden ebenfalls starke Abweichungen zwischen den nordamerikanischen Sportlern und Kontrollpersonen beobachtet und erreichten hier auch statistische Signifikanz ($p = 0,029$). So kam das seltenere Ala-Allel in der nordamerikanischen Athletengruppe mit 16,4% annähernd doppelt so häufig vor wie in der Kontrollgruppe (8,5%), das häufigere Pro-Allel dementsprechend seltener (83,6% vs. 91,5%) (Abbildung 65).

Trotz dieser relativ großen Variationen in den Genotypen- und Allelverteilungen zwischen den nordamerikanischen EEAs und SCs bestand hinsichtlich des Pro-Trägerstatus kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,337$). Sowohl bei den Athleten als auch bei den Kontrollpersonen war die Mehrheit Pro-Träger (EEA: 96,1%, SC: 98,6%) ($p = 0,337$).

Ein enormer und auch statistisch signifikanter Unterschied ($p = 0,044$) zwischen nordamerikanischer Athleten- und Kontroll-Gruppe ließ sich bezüglich der relativen Häufigkeit der Ala-Träger feststellen (siehe Abbildung 66). Diese war in der EEA-Gruppe mit 28,9% fast doppelt so groß wie in der SC-Gruppe (15,9%).

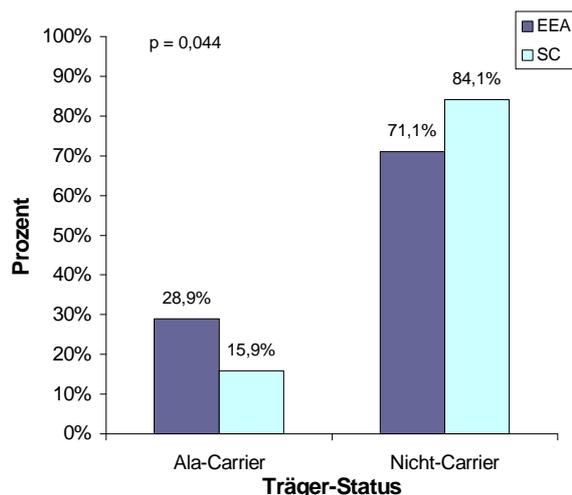


Abbildung 66: Vergleich der relativen Häufigkeit der Ala-Träger am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen.

5.4.3.3 Vergleich der deutschen Athleten und Kontrollpersonen

Im Gegensatz zu den nordamerikanischen Probanden ergab der Vergleich zwischen den deutschen Athleten und Probanden bei keinem der vier Merkmale Genotyp, Allelfrequenz, Pro-Träger-Status und Ala-Träger-Status statistisch signifikanten Unterschiede.

Bei Betrachtung der Genotypenverteilungen (Abbildung 67) zeigte sich wieder der schon bei den Nordamerikanern beobachtete Sachverhalt, dass in der Athletengruppe der homozygote Pro/Pro-Genotyp nicht ganz so oft (72,4% vs. 76,5%), der Pro/Ala-Genotyp dagegen häufiger (24,9% vs. 20,5%) vertreten war als in der Kontrollgruppe. Die relative Häufigkeit des Ala/Ala-Genotyps war in beiden Untergruppen ähnlich niedrig (EEA: 2,7%, SC: 3,0%), ($p = 0,618$). Die Frequenzen des Pro- und Ala-Allels in der deutschen Athleten- und Kontrollgruppe wichen nur geringfügig und nicht statistisch signifikant voneinander ab ($p = 0,476$). In der deutschen EEA-Gruppe war die Pro-Frequenz etwas niedriger (84,9% vs. 87,0%) und die Ala-Frequenz entsprechend höher als in der deutschen SC-Gruppe (Abbildung 68).

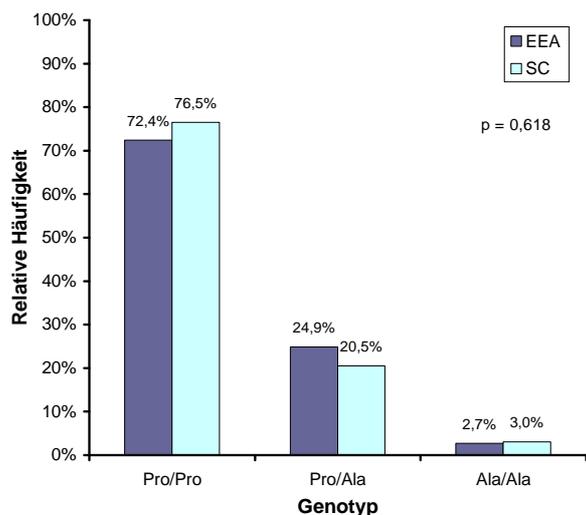


Abbildung 67: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den deutschen Athleten und Kontrollpersonen

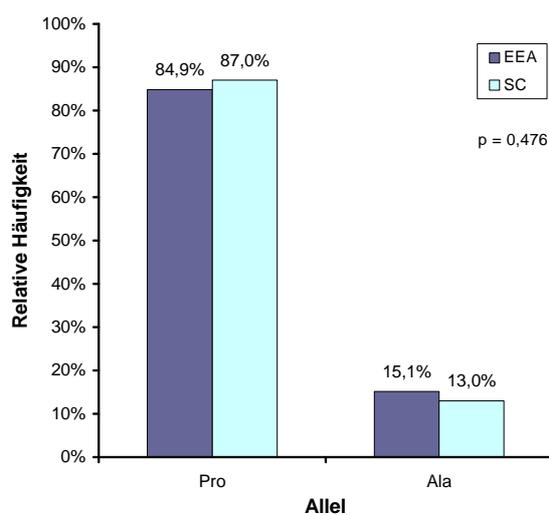


Abbildung 68: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den deutschen Athleten und Kontrollpersonen

Der Anteil an Pro-Trägern war in beiden Untergruppen fast identisch (EEAs: 97,3%, SCs: 97,0%), ($p > 0,999$). Etwas deutlicher fiel der Unterschied zwischen deutschen Athleten und deutschen Kontrollpersonen hinsichtlich der relativen Häufigkeit der Ala-Träger aus. Wie auch schon bei den Nordamerikanern, wies die deutsche EEA-Gruppe (27,6%) einen höheren Prozentsatz an Ala-Trägern auf als die deutsche SC-Gruppe (23,5%) ($p = 0,383$).

5.4.3.4 Vergleich der finnischen Athleten und Kontrollpersonen

Wie in der deutschen Nationengruppe zeigten sich beim Vergleich der finnischen Athleten und Kontrollpersonen keine signifikanten Unterschiede bezüglich der vier Merkmale Genotyp, Allelfrequenz, Pro-Träger-Anteil und Ala-Träger-Anteil. Wieder wiesen die finnischen EEAs jeweils einen höheren Anteil der Genotypen Pro/Ala und Ala/Ala auf als die finnischen SCs (Abbildung 69). Der Unterschied zwischen den beiden Untergruppen war jedoch nicht statistisch signifikant ($p = 0,735$). Die Allelfrequenzen des Pro- und Ala-Allels wichen im Vergleich der finnischen Athleten- und Kontrollgruppe ebenfalls nicht signifikant voneinander ab ($p = 0,444$). Die Ala-Frequenz lag in der finnischen Sportlergruppe (17,0%) um 4 Prozentpunkte höher als in der Kontrollgruppe (13,0%) (Abbildung 70).

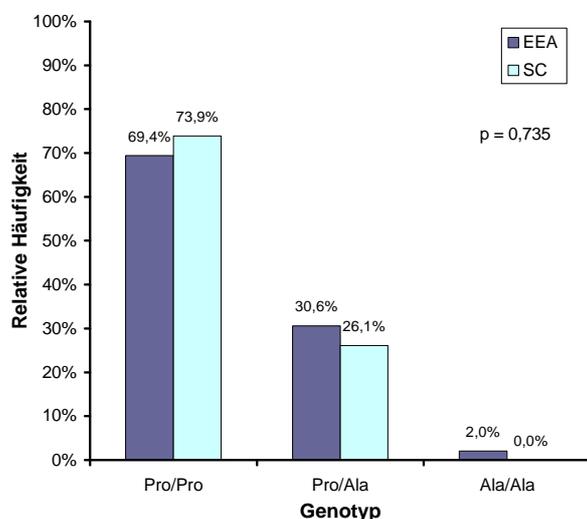


Abbildung 69: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den finnischen Athleten und Kontrollpersonen

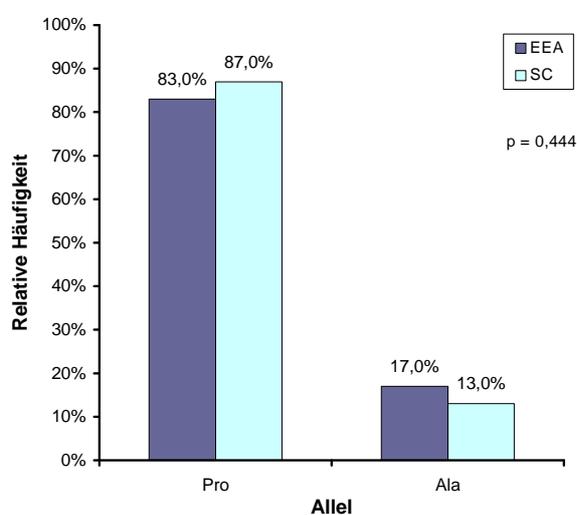


Abbildung 70: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den finnischen Athleten und Kontrollpersonen

Bezüglich des Pro-Träger-Anteils wurden nur ein minimaler Unterschied zwischen den finnischen Untergruppen ermittelt (EEA: 98,0%, SC: 100%) ($p > 0,999$). Hinsichtlich des Ala-Träger-Status fielen die Unterschiede zwischen finnischer Athleten- und Kontrollgruppe zwar größer aus (32,0% in der EEA-Gruppe vs. 26,1% in der SC-Gruppe), waren jedoch ebenfalls nicht signifikant ($p = 0,524$).

6 DISKUSSION

6.1 Probandenkollektiv und Methodik

6.1.1 Größe des Probandenkollektivs

Das Probandenkollektiv dieser Arbeit umfasste insgesamt 617 männliche Personen kaukasischer Abstammung aus Nordamerika, Deutschland und Finnland. Diese wurden hinsichtlich der drei Polymorphismen PPAR α Leu162Val, PPAR δ +294T>C und PPAR γ 2 Pro12Ala genotypisiert, um zu untersuchen, ob ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten dieser Polymorphismen und dem Grad der Ausdauerleistungsfähigkeit besteht. Dazu wurden die Probanden je nach der Höhe ihrer maximalen Sauerstoffaufnahme in eine Hochleistungs-Ausdauerathletengruppe (n = 314) und eine Gruppe untrainierter Kontrollpersonen (n = 303) eingeteilt. Das Gesamtkollektiv wurde dabei aus Probanden drei verschiedener Herkunftsländer zusammen gestellt, um insbesondere in der EEA-Gruppe eine hinreichende Anzahl an Studienteilnehmern für eine aussagekräftige statistische Auswertung zu erreichen. Es ist davon auszugehen, dass die Kollektivgröße von 617 Probanden ausreichte, um für den PPAR δ +294T>C-Locus zuverlässige Ergebnisse zu liefern, da hier das seltenere C-Allel mit einer Frequenz von 0,214 in genügend großer Fallzahl auftrat. Kritischer sind die Ergebnisse bezüglich des PPAR α Leu162Val-Polymorphismus und des PPAR γ 2 Pro12Ala-Polymorphismus zu sehen. An beiden Loci kam das jeweils seltenere Allel nur in relativ geringer Fallzahl vor (Val-Allel 5,8%, Ala-Allel 9,5%). Bei solch niedrigen Allelfrequenzen muss aus statistischer Sicht eher damit gerechnet werden, dass beobachtete Unterschiede zwischen zwei Gruppen auf Zufällen beruhen. So erlangten beispielsweise beim Vergleich der Genotypenverteilung von EEAs und SCs am PPAR γ 2 Pro12Ala Locus selbst Abweichungen von 6 Prozentpunkten bei Pro-Homozygoten und Heterozygoten keine statistische Signifikanz. Derselbe prozentuale Unterschied wäre in einem Kollektiv von mehr als 920 Probanden aber statistisch signifikant gewesen. Bei der vorliegenden Kollektivgröße von 617 Probanden werden bei niedriger Frequenz des seltenen Allels also nur relativ große Unterschiede zwischen EEA- und SC-Gruppe als Zeichen für eine Assoziation zwischen Polymorphismus und Ausdauerleistungsfähigkeit gewertet. In Anbetracht der Zielsetzung der Genathlete-Studie, in der Vielzahl möglicher Kandidatengene einzelne Polymorphismen zu identifizieren, welche die Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit stark beeinflussen, erscheint es aber sinnvoll, nur maßgebliche Unterschiede zwischen Athleten- und Kontrollgruppe als Hinweis auf eine nennenswerte Rolle des entsprechenden Polymorphismus anzusehen. Unabhängig davon sollte ein Ausbau des Probandenkollektivs auf eine Gesamtzahl von mehr als 1000 Teilnehmer (mindestens je 500 pro Untergruppe) angestrebt werden.

6.1.2 Zusammensetzung des Probandenkollektivs

Sowohl die Athleten- als auch die Kontrollgruppe war aus Probanden nordamerikanischer, deutscher und finnischer Herkunft zusammengesetzt, wobei die Kontrollpersonen so rekrutiert wurden, dass die jeweiligen Anteile von Nordamerikanern, Deutschen und Finnen in den EEA- und SC-Gruppen jeweils sehr ähnlich waren. Hierdurch konnte sichergestellt werden, dass beim Vergleich der Athleten- und Kontroll-Gesamtgruppen mögliche - und letztendlich auch für zwei der drei untersuchten Polymorphismen beobachtete - Unterschiede zwischen den einzelnen Ländergruppen hinsichtlich der Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Polymorphismen (siehe Punkt 6.2) ausgeglichen wurden. Ein zusätzlicher Vorteil des aus mehreren Nationengruppen zusammengestellten Probandenkollektivs ist, dass man durch Vergleich der Nationengruppen überprüfen kann, ob eine beobachtete Assoziation zwischen dem Auftreten eines Polymorphismus und dem Grad der Ausdauerleistungsfähigkeit nur isoliert in einer Nationengruppe auftritt oder nationenübergreifend zu beobachten ist. Eine nationenübergreifend festzustellende Assoziation zwischen Polymorphismus und Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit würde einen stärkeren Hinweis auf einen generellen Zusammenhang zwischen Vorliegen des jeweiligen Polymorphismus und der Ausdauerleistungsfähigkeit liefern, als wenn dieselbe Assoziation nur in einer Nationengruppe vorliegt.

Kritisch könnte man allerdings die unterschiedlich starke Vertretung der einzelnen Nationengruppen in der Athleten- und Kontrollgruppe bewerten. Die Deutschen stellten mit 59,6% in der Athleten- und 55,4% in der Kontrollgruppe die Mehrheit der Probanden. Die finnischen Probanden waren mit 16,2% in der Athleten- und 15,2% in der Kontrollgruppe stark in der Minderheit. Der Anteil der nordamerikanischen Sportler und Kontrollpersonen lag mit 24,2% bzw. 29,4% zwischen dem der deutschen und finnischen. Auf Grund dieser Verteilung nahmen die deutschen Probanden den weitaus stärksten Einfluss auf die Gesamtergebnisse, während die finnischen Probanden für die Gesamtauswertung nur eine geringe Rolle spielten. Daher kommt z.B. der für die nordamerikanische Probandenuntergruppe für den PPAR γ Pro12Ala-Polymorphismus ermittelte signifikante Unterschied zwischen Athleten- und Kontrollgruppe in der Gesamtanalyse (ungeachtet der Nationalität) weniger stark zum tragen, als wenn derselbe Unterschied in der deutschen Probandenuntergruppe beobachtet worden wäre. Um eine solche unterschiedliche Wichtung der einzelnen Nationengruppen in der Gesamtanalyse zu vermeiden, wäre es erstrebenswert, in Zukunft die Anteile von Deutschen, Nordamerikanern und Finnen in Athleten- und Kontrollgruppe möglichst anzugleichen.

6.1.3 Vergleichbarkeit von Alter, Größe und Gewicht der Probanden

Zwischen den Athleten- und Kontrollgruppen der drei Nationen traten zum Teil deutliche Abweichungen hinsichtlich Alter, Größe und Gewicht der Probanden auf. Am ausgeprägtesten waren diese Unterschiede in der finnischen Probandengruppe. Hier waren die Kontrollpersonen durchschnittlich 33,1 Jahre älter, 5,9cm kleiner und 5,8kg schwerer als die Ausdauerathleten. Auch in der deutschen SC-Gruppe lag das Durchschnittsalter um 3,5 Jahre, die Körpergröße um 1,8cm und das Durchschnittsgewicht um 7,4kg über den entsprechenden Werten in der EEA-Gruppe. Die nordamerikanischen Kontrollpersonen waren im Mittel 0,4 Jahre älter, 2,3cm kleiner und 4,1kg schwerer als die nordamerikanischen Athleten.

Alter, Körpergewicht und in geringerem Maß auch die Körpergröße haben Einfluss auf die Höhe der $VO_2\text{max}$ (HOLLMANN UND HETTINGER 2000). Gewichtsunterschiede zwischen den EEAs und den SCs wurden durch die Wahl der Angabe der $VO_2\text{max}$ in $\text{ml}/\text{kg}\cdot\text{min}^{-1}$ einigermaßen neutralisiert. Hinsichtlich des Alters geht man davon aus, dass die größte $VO_2\text{max}$ zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr erreicht wird, und danach mit zunehmendem Alter kontinuierlich absinkt. Im 60. Lebensjahr ist die $VO_2\text{max}$ bei Untrainierten im Vergleich zum Maximalwert im Alter zwischen 20-30 Jahren bereits um 1/4 bis 1/3 vermindert (HOLLMANN UND HETTINGER 2000). Das mittlere Alter lag in den EEA-Gruppen aller drei Länder sowie in den nordamerikanischen und deutschen SC-Gruppen zwischen 20 und 30 Jahren und damit im dem Altersbereich, wo normalerweise die höchste individuell erreichbare $VO_2\text{max}$ beobachtet wird. Daher sollten die Altersunterschiede zwischen den nordamerikanischen bzw. deutschen EEA- und SC-Gruppen bezüglich der maximalen Sauerstoffaufnahme kaum ins Gewicht fallen. Da die finnischen Kontrollpersonen jedoch im Mittel 54,6 Jahre alt waren, ist anzunehmen, dass ihr $VO_2\text{max}$ -Wert zum Zeitpunkt der Messung schon deutlich unter ihrem jeweiligen persönlichen Maximalwert in jüngerem Alter lag. Unter Umständen könnten somit Probanden in die Kontrollgruppe eingeschlossen worden sein, deren ursprüngliche $VO_2\text{max}$ mehr als $50\text{ml}/\text{kg}\cdot\text{min}^{-1}$ betrug. Allerdings hatten die finnischen Kontrollpersonen mit durchschnittlich $31,8\text{ml}/\text{kg}\cdot\text{min}^{-1}$ eine sehr niedrige maximale Sauerstoffaufnahme. Selbst wenn man davon ausgeht, dass die finnischen Kontrollpersonen zum Zeitpunkt bereits 1/3 ihrer ursprünglichen $VO_2\text{max}$ eingebüßt hatten, ergibt sich aus der Zurückberechnung auf das Alter zwischen 20 und 30 Jahren eine $VO_2\text{max}$ von unter $48\text{ml}/\text{kg}\cdot\text{min}^{-1}$. Auf Grund der geringen Anzahl der finnischen Probanden erscheint es zudem unwahrscheinlich, dass einzelne fehlerhaft in die finnische Kontrollgruppe aufgenommenen Probanden das Gesamtergebnis maßgeblich beeinflussen. Trotzdem wäre für zukünftige Studien eine altersmäßige Angleichung der finnischen Kontrollgruppe an die Athletengruppe wünschenswert.

6.1.4 Festlegung der VO₂max Schwellen für die Gruppenzuordnung

In Anlehnung an vorhergehende Studien wurde als Einschlusskriterium für die Athletengruppe eine VO₂max von mindestens 75ml/kg·min⁻¹ festgelegt, da in der Regel nur Spitzensportler mit entsprechender Veranlagung solch hohe VO₂max-Werte erreichen (GARRETT und KIRKENDALL 2000).

Für die Aufnahme in die Kontrollgruppe wurde ein oberer Grenzwert der VO₂max von 50ml/kg·min⁻¹ gewählt. Durch diesen oberen Grenzwert der VO₂max sollte mit hoher Sicherheit ausgeschlossen werden, dass solche Personen in die Kontrollgruppe aufgenommen würden, die zwar die genetischen Voraussetzungen für eine sehr hohe maximale Sauerstoffaufnahme mitbringen, diese jedoch auf Grund fehlenden Trainings nie erreichen. Die Wahl dieses Grenzwertes beruht auf der Tatsache, dass in der Literatur die maximal mögliche trainingsbedingte Steigerung der VO₂max mit bis zu 40% eines normalen Ausgangswertes angegeben wird (BOUCHARD et al. 1988, BOUCHARD et al. 1992). Selbst bei einer optimalen Steigerung von 40% würden die Kontrollpersonen bei einem VO₂max Ausgangswert von 50 ml/kg·min⁻¹ lediglich einen Endwert von 70 ml/kg·min⁻¹ erlangen, welcher deutlich unter dem Einschlusskriterium für die Athletengruppe von mindestens 75 ml/kg·min⁻¹ liegt. Somit sollte durch die Festlegung der jeweiligen VO₂max-Grenzwerte eine ausreichend scharfe Trennung zwischen Kontroll- und Athletengruppe erzielt worden sein.

6.1.5 DNA-Gewinnung und Genotypisierung mittels PCR und Restriktionsverdau

Alle in dieser Arbeit verwendeten Methoden zur DNA-Gewinnung und Genotypisierung sind seit Jahren etabliert und werden in vielen vergleichbaren Untersuchungen angewendet. Insbesondere die Kombination aus PCR und anschließender Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus-Analyse durch Restriktionsenzymverdau ist eine beliebte und sehr zuverlässige Methode für die SNP-Genotypisierung. Allerdings müssen für jedes Gen-Fragment die PCR und der Restriktionsenzymverdau erst durch die Auswahl geeigneter PCR-Primer und der Restriktionsendonuklease sowie Ermittlung der besten jeweiligen Reaktionsbedingungen optimiert werden, was unter Umständen Schwierigkeiten bereiten kann. In der vorliegenden Arbeit wurden für alle drei untersuchten Polymorphismen bereits in vorhergehenden Studien erprobte PCR-Primer und Restriktionsenzymverdaubedingungen erfolgreich übernommen. Um die Zuverlässigkeit der Genotypisierung in dieser Arbeit zu überprüfen, wurden für die Loci PPAR α Leu162Val und PPAR δ +294T>C jeweils 10% der Proben zufällig ausgewählt und ein zweites Mal genotypisiert. Die 100%ige Übereinstimmung zwischen erster und zweiter Genotypisierung der Stichproben zeigt eine hohe Zuverlässigkeit der Ergebnisse. Fehlbestimmungen des Genotyps können damit weitgehend ausgeschlossen werden.

6.2 Frequenzen der Polymorphismen im Gesamtkollektiv

Die im Gesamtkollektiv für den PPAR α Leu162Val-Locus ermittelte Genotypenverteilung (Leu/Leu 89,3%, Leu/Val 9,9%, Val/Val 0,8%) entsprach in etwa derjenigen, die VOHL und Mitarbeiter in einer früheren Untersuchung in einem Kollektiv von Nordamerikanern beobachtet hatten (Leu/Leu 87,2%, Leu/Val und Val/Val zusammen 12,8%) (VOHL et al. 2000). Auch am PPAR δ +294T>C-Locus wurde in der vorliegenden Arbeit eine ähnliche Genotypenverteilung ermittelt (T/T 62,1%, T/C 33,4%, C/C 4,5%) wie schon in einer früheren Studie von SHIN et al. für ein anderes Probandenkollektiv kaukasischer Abstammung (T/T: 60,0%, T/C: 34,0%, C/C: 6,0%) (SHIN et al. 2004). Die C-Allelfrequenz im Gesamtkollektiv lag mit 21,3% merklich über den von SKOGSBERG und Mitarbeitern für zwei Kollektive skandinavischer Herkunft angegebenen Frequenzen von 15,6% bzw. 15,9% (SKOGSBERG et al. 2003), welche wiederum noch größer waren, als die C-Allel-Frequenz in der finnischen Untergruppe dieser Arbeit (12,4%). Am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus blieb die Frequenz des selteneren Ala-Allels im Gesamtkollektiv (9,5%) ebenfalls nur geringfügig hinter der in der Literatur von mehreren Autoren relativ konstant mit Ala-Frequenz von ca. 11% zurück (EK et al. 2001, NICKLAS et al. 2001., STUMVOLL u. HÄRING 2002). Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die in der vorliegenden Studie ermittelten Genotypenverteilungen und Allelfrequenzen an allen drei Genloci nicht nennenswert von Ergebnissen für Probanden kaukasischer Abstammung aus früheren Studien abweichen.

6.3 Frequenzunterschiede der Polymorphismen in den drei Nationengruppen

Auf Grund von populationsgenetischen Mechanismen unterscheiden sich ethnische Gruppen oder auch einzelne Bevölkerungsgruppen oft maßgeblich hinsichtlich der Frequenz bestimmter Genpolymorphismen. Daher wurde im Rahmen dieser Arbeit für jeden untersuchten Polymorphismus neben der Analyse des Gesamtkollektivs auch ein Vergleich der drei das Probandenkollektiv bildenden Nationengruppen durchgeführt. Obwohl alle Probanden kaukasischer Abstammung waren, ergaben die statistischen Auswertungen an den Genloci PPAR α Leu162Val und PPAR δ +294T>C jeweils signifikante Unterschiede hinsichtlich der Genotypen- und Allelverteilung zwischen den drei Nationengruppen. Interessanterweise ließ sich hier keine der Nationengruppen eindeutig von den anderen zwei abgrenzen. So unterschieden sich im paarweisen Vergleich am PPAR α Leu162Val-Locus die Nordamerikaner signifikant von Finnen und Deutschen. Am PPAR δ +294T>C-Locus sonderten sich hingegen die Finnen im paarweisen Vergleich von den Nordamerikanern und Deutschen ab. Auch am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus bestanden nicht zu übersehende Abweichungen zwischen den Genotypen-

frequenzen in den einzelnen Nationengruppen, diese erreichten jedoch keine Signifikanz. Auffallend war, dass die Finnen und Nordamerikaner an allen drei Genloci jeweils die Extreme bezüglich der Genotypenverteilung aufzeigten, während die Genotypenverteilung in der deutschen Probandengruppe immer zwischen denen der anderen beiden Nationengruppen lag. So wiesen die Finnen sowohl am PPAR α Leu162Val-Locus als auch am PPAR δ +294T>C-Locus den höchsten Anteil an Homozygoten für das jeweils häufigere Leu bzw. T-Allel auf. Hingegen traten die Genotypen Leu/Val bzw. T/C sowie die jeweils selteneren Val- bzw. C-Allele in ihrer homozygoten Form bei ihnen in der geringsten Prozentzahl auf. Im Gegensatz dazu wurde in der nordamerikanischen Probandengruppe sowohl am PPAR α Leu162Val-Locus als auch am PPAR δ +294T>C-Locus der geringste Prozentsatz an Homozygoten für das jeweils häufigere Leu bzw. T-Allel bei gleichzeitig höchstem Anteil an Heterozygoten und Homozygoten für das jeweils selteneren Val- bzw. C-Allel ermittelt. Es ist anzunehmen, dass diese Beobachtungen zu einem großen Teil auf die unterschiedliche populationsgenetische Geschichte der finnischen und nordamerikanischen Bevölkerung zurückzuführen sind. So zeigten vorhergehende Studien, dass sich die finnische Population über lange Zeit relativ isoliert von anderen europäischen Bevölkerungsgruppen entwickelt und im Verlauf mehrere so genannte "Bottleneck"-Effekte durchlebt hat (WORKMAN et al. 1976, DE LA CHAPELLE und WRIGHT 1992, KITTLES et al. 1999). Dementsprechend ist die genetische Variabilität in der heutigen finnischen Population relativ gering, so dass bestimmte Genpolymorphismen, welche in der Gründerpopulation schon selten waren, auch in der heutigen finnischen Bevölkerung nur in geringer Frequenz anzutreffen sind. Im Gegensatz dazu setzt sich der kaukasische Bevölkerungsanteil in Nordamerika aus Nachfahren von sich durchmischenden europäischen Einwanderern verschiedenster Herkunft zusammen, weshalb hier mit einer relativ großen genetischen Vielfalt und damit dem häufigeren Auftreten von Genpolymorphismen zu rechnen ist. Deutschland ist in der Vergangenheit weder ein typisches Einwanderungsland noch stark von anderen europäischen Ländern isoliert gewesen, wodurch die in dieser Arbeit hinsichtlich der Genotypenverteilungen beobachtete Mittelstellung Deutschlands zwischen Finnland und Nordamerika erklärlich wird.

6.4 Frequenzunterschiede der Polymorphismen in Athleten- und Kontrollgruppe

6.4.1 Frequenz des PPAR α Leu162Val-Polymorphismus in EEA- und SC-Gruppe

Es ist lange bekannt, dass die Steigerung der muskulären Kapazität für die Fettsäureoxidation und die Umwandlung von Skelettmuskelfasern vom Typ II zum Typ I wichtige Effekte von systematischem Ausdauertraining sind. Welche speziellen Regulationsmechanismen dieser Anpassung zugrunde liegen, ist jedoch noch weitgehend unaufgeklärt. Neben anderen Faktoren wie z.B. PGC-1 α , PGC-1 β , CaMKIV und Calcineurin A (HANDSCHIN et al. 2003) wird auch PPAR α wegen seines positiven Effekts auf die Fettsäureaufnahme und Fettsäureoxidation in der Muskulatur als möglicher Regulationsfaktor diskutiert (GOUNI-BERTHOLD et al. 2004, ZHANG et al. 2004).

Ein denkbarer Mechanismus zur Steigerung der Fettsäureoxidationskapazität im Skelettmuskel nach Ausdauertraining wäre eine durch belastungsbedingte Stimuli induzierte verstärkte Aktivierung oder Expression von PPAR α . Unter Ausdauerbelastung werden vermehrt langkettige Fettsäuren aus dem Fettgewebe, aber auch Glukokortikoide, freigesetzt. Diese könnten als direkte PPAR α -Liganden zu einer PPAR α -vermittelten Zunahme der Syntheserate von am Fettstoffwechsel beteiligten Proteinen führen. Diese Hypothese wird durch die Ergebnisse mehrerer Studien unterstützt, in denen nach mehrwöchigem Ausdauertraining mit relativ hoher Intensität neben einer Vermehrung wichtiger Enzyme der Fettoxidation auch eine 2-3fache Steigerung des PPAR α -Gehalts in Muskelfasern vom Typ I, und in Typ IIa und -IIx Fasern immerhin noch eine 1.5fache Erhöhung nachgewiesen werden konnte (RUSSELL et al. 2005, HOROWITZ et al. 2000). In Einklang mit diesen Beobachtungen zeichnete sich in einer Studie von KRÄMER et al. eine Gruppe von Ausdauerathleten bei einem Vergleich mit untrainierten Kontrollpersonen durch einen mehr als doppelt so hohen Gehalt an PPAR α -mRNA, PPAR δ -mRNA und PCG-1 α -mRNA in einer Muskelbiopsie aus dem M. vastus lateralis aus, während eine Gruppe von Personen mit Rückenmarksverletzung gegenüber den Kontrollpersonen hinsichtlich des mRNA-Gehalts dieser drei Regulationsproteine deutlich abfielen (KRÄMER et al. 2006). Dem widersprechend gibt es allerdings auch Daten, die keine signifikante Änderung der PPAR α -Konzentration in der Skelettmuskulatur nach Ausdauertraining aufzeigen (TUNSTALL et al. 2002). Die Autoren führen diese Diskrepanz in den Ergebnissen auf Unterschiede in den Ausdauertrainingsprotokollen hinsichtlich ihrer Dauer und Intensität zurück.

In Hinblick auf die in den beschriebenen Studien angedeutete Rolle von PPAR α für die Adaptationsvorgänge in der Skelettmuskulatur an Ausdauertraining war es in der vorliegenden Arbeit von Interesse, inwiefern der untersuchte funktionelle Polymorphismus im PPAR α -

Gen durch eine eventuelle Veränderung der PPAR α -Aktivität mit dem Grad der Ausdauerleistungsfähigkeit assoziiert ist. Unter vielen bekannten SNPs im PPAR α Gen ist der Leu162Val Polymorphismus in Exon 5 bisher am ausführlichsten untersucht worden. Diese Missense-Mutation führt bei der Translation zu einer Substitution der Aminosäure Leucin durch die Aminosäure Valin in der DNA-Bindungsdomäne des PPAR α Proteins (VOHL et al. 2000). Da Leu162 im PPAR α -Gen mehrerer Spezies wie Mäusen, Ratten, Meerschweinchen und Menschen stark konserviert ist, liegt es nahe, dass Leu162 wichtig für die physiologische PPAR α -Aktivität ist, und die Valin-Substitution möglicherweise die Funktionsfähigkeit von PPAR α senkt (VOHL et al 2000).

Bei Menschen wird die Leu162Val Transformation mit Veränderungen mehrerer Stoffwechselfparameter wie höheren LDL-Apolipoprotein B und LDL-Cholesterin Konzentrationen, niedrigerer Nüchternkonzentration von Serum-Triglyceriden, geringerem BMI und Körperfettanteil sowie dem Alter bei Auftritt von Diabetes mellitus Typ 2 in Verbindung gebracht. (VOHL et al. 2000, BOSSE et al. 2003, FLAVELL et al. 2005). Untersuchungen über die direkten Auswirkungen des Leu162Val-Polymorphismus auf trainingsbedingte Adaptationsvorgänge in der Skelettmuskulatur fehlen bisher.

In der vorliegenden Arbeit konnte keine offensichtliche Assoziation zwischen dem Auftreten des Leu162Val-Polymorphismus und dem Grad der Ausdauerleistungsfähigkeit festgestellt werden. Zwischen Athleten- und Kontrollgruppe bestand weder im Gesamtkollektiv noch in der Einzelanalyse der Nationen ein signifikanter Unterschied oder auffälliger Trend bezüglich der relativen Häufigkeiten der drei möglichen Genotypen und des seltenen Val-Allels bzw. der Leu-Träger und Val-Träger. Allenfalls in der nordamerikanischen Untergruppe kann man von einer schwachen Tendenz zu einem geringeren Anteil von Trägern des Val-Allels und der damit verbundenen Genotypen in der Athletengruppe sprechen. In noch schwächerem Ausmaß findet sich dieselbe Tendenz auch bei der deutschen Untergruppe wieder. Im Gegensatz dazu verhielten sich die Finnen genau umgekehrt. Hier kamen in der Sportlergruppe weniger Homozygote für das Leu-Allel und mehr Val-Träger vor als in der Kontrollgruppe.

Zwischen den drei Gesamtgruppen der einzelnen Nationen bestanden signifikante Unterschiede hinsichtlich der Genotypenverteilung, den Allelfrequenzen und der relativen Häufigkeit der Val-Träger. Interessanterweise verschwand diese Signifikanz, wenn nur die Athletengruppen der drei Nationen miteinander verglichen wurden, während sie beim Vergleich der drei Kontrollgruppen zumindest hinsichtlich der Allelfrequenzen und des Val-Träger-Anteils bestehen blieb. Die Athletengruppen der drei Nationen scheinen sich also untereinander ähnlicher zu sein als die Kontrollgruppen. Unter Umständen könnte dies als Hinweis gewertet

werden, dass doch eine bestimmte Genotypkonstellation vorteilhaft für das Erreichen einer hohen Ausdauerleistungsfähigkeit ist. Allerdings bleibt es unerklärt, warum die Genotypenverteilungen der Sportler und Kontrollpersonen bei den Finnen im Vergleich zu Nordamerikanern und Deutschen genau entgegengesetzte Tendenzen aufwiesen.

Insgesamt macht es diese nicht eindeutige Datenlage unwahrscheinlich, dass eine Leu162Val-Mutation die Funktion des PPAR α -Gens oder -Proteins in der Skelettmuskulatur so stark beeinträchtigt, dass die Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit maßgeblich beeinflusst wird. Allerdings schließt das Fehlen einer Assoziation zwischen dem Auftreten des PPAR α Leu162Val-Polymorphismus und der Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit nicht aus, dass andere, hier nicht untersuchte, SNPs im PPAR α -Gen allein oder in Kombination mit dem PPAR α Leu162Val-Polymorphismus einen Einfluss auf die Ausdauerleistungsfähigkeit haben. So zeigte sich beispielsweise in einer erst kürzlich veröffentlichten Studie, dass in einem russischen Probandenkollektiv aus Sportlern verschiedener Disziplinen und nicht trainierten Kontrollpersonen die relative Häufigkeit eines G>C-Polymorphismus im Intron 7 des PPAR α -Gens (refsnp4253778) parallel mit dem Anteil an anaerobem Energiegewinn steigt (AHMETOV et al. 2006). In der Gruppe mit Ausdauersportlern war dort das seltenere C-Allel mit 10,8% signifikant weniger oft anzutreffen, als in der Gruppe mit kraftorientierten Sportlern 27,2% ($p = 0,029$ für linearen Trend). In einem anschließenden Vergleich von Muskelbiopsien wurde zusätzlich eine deutliche Korrelation zwischen den Vorliegen des selteneren C-Allels und dem Prozentsatz an Fast-twitch-Muskelfasern gefunden, wobei G/G-Homozygote den höchsten Anteil an langsamen Muskelfasern vom Typ I aufwiesen (AHMETOV et al. 2006). Könnten diese Ergebnisse der Arbeitsgruppe um AHMETOV in Zukunft, z.B. im Rahmen der Genathlete-Studie oder HERITAGE-Family Study, repliziert werden, würden sie neben den Trainingsstudien von RUSSELL und HOROWITZ einen weiteren wichtigen Hinweis auf eine wesentliche Rolle von PPAR α in der metabolischen Anpassungsreaktion der Skelettmuskulatur an Ausdauertraining liefern.

6.4.2 Frequenz des PPAR δ +294T>C-Polymorphismus in EEA- und SC-Gruppe

PPAR δ ist in der Skelettmuskulatur der vorherrschende PPAR-Subtyp (WANG et al. 2004). Aktiviertes PPAR δ wirkt hier ähnlich wie PPAR α stimulierend auf die Transkription von Genen, die am Fettsäuretransport in die Mitochondrien, der dortigen β -Oxidation von Fettsäuren, dem Cholesterin-Efflux, und der Energieentkopplung beteiligt sind (DRESSEL 2003, HOLST 2003, TANAKA 2003).

Interessanterweise enthalten Muskelfasern vom Typ I eine weitaus größere Menge an PPAR δ als Muskelfasern vom Typ II. Dementsprechend fanden KRÄMER und Mitarbeitern bei Ausdauerathleten mit einem hohen Anteil von Typ I Fasern im Vergleich zu untrainierten Kontrollpersonen einen mehr als doppelt so hohen Gehalt an PPAR α -mRNA, PPAR δ -mRNA und PGC-1 α -mRNA in einer Muskelbiopsie aus dem M. vastus lateralis. Dagegen wies eine Gruppe von Personen nach Rückenmarksverletzung, bei denen Typ I Fasern drastisch zurückgebildet werden, gegenüber den Kontrollpersonen und Ausdauerathleten einen sehr geringen Gehalt an mRNA dieser drei Regulationsproteine auf (KRÄMER et al. 2006).

LUQUET et al. fanden heraus, dass ein sechswöchiges moderates Ausdauertraining bei Wildtyp-Mäusen einen Anstieg des PPAR δ -Proteins in Typ I Muskelfasern auf das 2,7fache bewirkte. In derselben Studie führte eine muskelspezifische Überexpression von PPAR δ in transgenen Mäusen im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen zu einer ebenfalls 2,7-fachen Erhöhung der oxidativen Muskelfasern im Tibialis anterior Muskel (LUQUET et al. 2003). Wird das PPAR δ -Gen speziell in der Skelettmuskulatur von Mäusen ausgeschaltet, so entwickeln sich bei diesen Mäusen hauptsächlich Skelettmuskelfasern mit nur geringer oxidativer Kapazität (SCHULER et al. 2006). WANG et al. untersuchten ebenfalls die Auswirkung einer gezielten Überaktivierung von PPAR δ in der Skelettmuskulatur von Mäusen auf die Muskelfasereinsammensetzung. Die transgenen Mäuse hatten dabei im Vergleich zu den Wildtyp-Mäusen einen doppelt so hohen Prozentsatz von Typ I Muskelfasern im M. gastrocnemius. Dabei erstreckten sich die Auswirkungen des artifiziell aktivierten PPAR δ s nicht nur auf die intrazelluläre Umstellung von anaerob-glykolytischer auf oxidative Energiegewinnung, sondern es wurden ebenfalls neuromuskuläre und vaskuläre Veränderungen beobachtet, die den physiologischen Adaptationsvorgängen nach Ausdauertraining entsprachen. Dass die PPAR δ -induzierten Typ I Fasern voll funktionsfähig waren, zeigte sich in einem Ausdauerstest, in dem die mit artifiziell aktivierten PPAR δ -Gen transfizierten untrainierten Mäuse ca. doppelt so weite Strecken auf dem Laufrad zurücklegten wie Wildtyp-Mäuse, während PPAR δ -Null-Mäuse deutlich hinter den Wildtyp-Mäusen zurück blieben (WANG et al. 2004).

Ob PPAR δ selbst direkt eine Umwandlung von Typ II zu Typ I Muskelfaser stimuliert oder seine Wirkungen über die Aktivierung von PGC-1 α entfaltet, konnte bisher noch nicht eindeutig geklärt werden. Auf jeden Fall scheint das Vorhandensein von PPAR δ in der Skelettmuskulatur zumindest bei Mäusen eine Bedingung für die Entwicklung und den Erhalt von Typ I Fasern zu sein (SCHULER et al. 2006).

Angesichts dieses beeindruckenden Effekts von überaktiviertem PPAR δ auf die Ausdauerleistungsfähigkeit ist es denkbar, dass es bestimmte Genvarianten im PPAR δ -Gen gibt,

welche die Funktionsfähigkeit von PPAR δ verstärken oder vermindern und somit die Ausdauerleistungsfähigkeit positiv oder negativ beeinflussen könnten. Es wurden bereits mehrere funktionelle PPAR δ -Polymorphismen mit Auswirkung auf bestimmte Stoffwechselfparameter identifiziert. SHIN et al. (2004) beobachteten in einem koreanischen Probandenkollektiv schwache Korrelationen zwischen dem Auftreten von fünf Polymorphismen im PPAR δ -Gen und dem Nüchternblutzucker sowie dem BMI. In einer Studie von VÄNTTINEN und Mitarbeitern wurden für vier SNPs im PPAR δ -Gen jeweils einzeln oder in Kombination Assoziationen mit Blutdruck (rs2267668), der Gesamtcholesterin- bzw. LDL-Konzentration im Plasma (rs2076167, rs1053049) und der Menge der Glukoseaufnahme des gesamten Körpers (rs2076167, rs1053049, rs6902123) sowie in die Skelettmuskulatur (rs2076167, rs1053049, rs6902123) gefunden (VÄNTTINEN et al. 2005). Für die in der vorliegenden Arbeit untersuchte T>C-Mutation im nicht translatierten Abschnitt des Exons 4, welche in der Studie von VÄNTTINEN et al. mit keinem der gemessenen metabolischen Parameter korrelierte, berichtete die Arbeitsgruppe um HU von einer positiven Assoziation zwischen dem Vorliegen des selteneren C-Allels und der Höhe des Nüchternblutzuckerspiegels in einem chinesischen Probandenkollektiv (HU et al. 2006). SKOGSBERG et al. fanden in einer Untersuchung einer schwedischen Population einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Eigenschaft des C-Trägers und einer erhöhten LDL-Plasmakonzentration (SKOGSBERG 2003). In derselben Untersuchung konnte gezeigt werden, dass durch die T>C-Mutation eine zusätzliche Erkennungssequenz für den Transkriptionsfaktor Sp-1 im Exon 4 des PPAR δ -Gens entsteht und infolgedessen das seltene C-Allel gegenüber dem T-Allel eine höhere Transkriptionsrate aufweist (SKOGSBERG et al. 2003). Zwar ist diese höhere Transkriptionsrate nicht automatisch mit einer höheren funktionellen Aktivität des PPAR δ -Gens gleichzusetzen, könnte jedoch einen ersten Schritt zu einer höheren PPAR δ -Aktivität darstellen. In diesem Fall wäre zu erwarten, dass sich das aktivere C-Allel in Hinsicht auf die Skelettmuskulatur positiv auf den Anteil der Typ I Fasern auswirkt, was über eine größere oxidative Kapazität der Skelettmuskulatur einen begünstigenden Effekt auf die Ausdauerleistungsfähigkeit bei Trägern des C-Allels vermuten ließe. Dementsprechend würde man in der vorliegenden Untersuchung in der Athletengruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe überdurchschnittlich viele C-Träger vermuten.

Allerdings wurden bezüglich der Genotypen-, Allel-, und C-Trägerverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus weder im Gesamtkollektiv noch in der Einzelanalyse der drei Nationengruppen statistisch signifikante Unterschiede zwischen der Athleten- und Kontrollgruppe beobachtet, sondern es ergaben sich lediglich nichtsignifikante Tendenzen. So wiesen die

nordamerikanischen Athleten im Vergleich zu den nordamerikanischen Kontrollpersonen einen deutlich höheren Anteil an Homozygoten für das T-Allel bei einem ebenso deutlich niedrigeren Anteil an Homozygoten für das C-Allel sowie C-Trägern insgesamt auf. Auch bei den deutschen Probanden war dieser Trend, wenn auch in sehr viel geringerem Ausmaß, festzustellen. Aus dieser Beobachtung könnte man folgern, dass das T-Allel entgegen der oben formulierten Erwartung möglicherweise einer hohen Ausdauerleistungsfähigkeit eher zuträglich, der homozygote C/C-Genotyp eher abträglich ist. Dem widerspricht allerdings die Tatsache, dass die Verhältnisse im finnischen Probandenkollektiv genau umgekehrt waren, d.h. bei den finnischen Kontrollpersonen traten der homozygote T/T-Genotyp und das T-Allel viel häufiger auf als bei den finnischen Sportlern. Insgesamt lässt sich daher aus den vorliegenden Daten keine Assoziation zwischen der T>C-Transformation und dem Grad der Ausdauerleistungsfähigkeit ableiten. Hierdurch wird allerdings nicht ausgeschlossen, dass PPAR δ an sich eine wichtige Rolle für den Phänotyp der Ausdauerleistungsfähigkeit spielt. Mögliche Gründe für die nicht vorhandene Assoziation zwischen der T>C-Transformation und dem Ausprägungsgrad der Ausdauerleistungsfähigkeit könnten beispielsweise darin liegen, dass mehrere Faktoren (z.B. auch PGC-1 α und PPAR α) bei Steigerung der oxidativen Kapazität und der Fasertypentransformation in der Skelettmuskulatur interagieren, so dass eventuelle Störungen durch die T>C-Variation ausgeglichen werden können. Weiterhin befindet sich die T>C-Mutation in einem nicht translatierten Abschnitt des PPAR δ -Gens und verändert damit nicht die Struktur des PPAR δ -Proteins. Zwar ist die Transskriptionsrate des PPAR δ -Gens bei Vorhandensein des C-Allels nachweislich erhöht, dieses scheint aber nicht eine ebenfalls gesteigerte Aktivierung des PPAR δ -Proteins mit sich zu bringen, welche als Voraussetzung für die vermehrte Ausbildung von Typ I Muskelfasern angesehen wird. Insofern wäre es interessant, in weiteren Studien funktionelle Polymorphismen im PPAR δ -Gen zu untersuchen, welche in einem translatierten Bereich des Gens liegen, z.B. in der Ligandenbindungsdomäne oder der ligandenunabhängigen Aktivierungsdomäne, und damit direkt auf die Aktivität des PPAR δ -Proteins als Rezeptor einwirken könnten. Es würde sich beispielsweise anbieten, im Rahmen des Genathlete-Kollektivs die von VÄNTTINEN beschriebenen Polymorphismen im PPAR δ -Gen mit Einfluss auf die Glucoseaufnahme in die Skelettmuskulatur (rs2076167, rs1053049, rs6902123) (VÄNTTINEN et al. 2005) in Hinblick auf eine mögliche Korrelation mit der Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit zu überprüfen.

6.4.3 Frequenz des PPAR γ 2 Pro12Ala Polymorphismus in EEA- und SC-Gruppe

Am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus unterschieden sich die Athleten- und Kontrollgruppe des Gesamtkollektivs schwach signifikant in der Allelverteilung (EEAs: 11,8% vs. SCs: 7,0%, $p = 0,047$) und hinsichtlich des Anteils an Ala-Trägern (EEAs: 28,6% vs. SCs: 21,7%, $p = 0,048$). Diese Beobachtung gibt Anlass zu der Vermutung, dass das Vorhandensein eines Ala-Allels einen günstigen Effekt auf die Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit bzw. ihre Trainierbarkeit haben könnte. Einen gewissen Zusammenhang zwischen dem Vorliegen des PPAR γ 2 Pro12Ala-Polymorphismus und der Auswirkung von Ausdauertraining zeigte sich schon in vorausgehenden Studien, in welchen für Träger des Val-Allels nach Ausdauertraining eine stärkere Senkung des Nüchternblutzuckerspiegels bei gleichzeitiger größerer Steigerung der Insulinsensitivität (ADAMO et al. 2005, WEISS et al 2005) bzw. ein höherer Gewichtsverlust (ØSTERGÅRD et al. 2005) nachgewiesen werden konnte als für homozygote Pro-Träger.

Angesichts der Tatsache, dass menschliches PPAR γ 2 fast ausschließlich im Fettgewebe vorkommt (MUKHERJEE et al. 1997), ist es nicht ganz einfach, einen potenziellen Mechanismus für den möglichen Einfluss des Ala-Allels auf die Ausdauerleistungsfähigkeit anzugeben. Aktiviertes PPAR γ 2 induziert in Fettzellen Enzyme, welche die Aufnahme von Fettsäuren und Kohlenhydraten und ihre Speicherung als Triglyceride fördern. Gleichzeitig werden die entsprechenden Enzyme in Leber und Skelettmuskulatur gehemmt (BERGER und MOLLER 2002, FERRÉ 2004). Eine medikamentöse Überstimulation von PPAR γ führt bei Mäusen zu einem vielfach höheren Triglyceridgehalt des weißen Fettgewebes, während der Triglyceridgehalt in Leber und Muskelzellen sinkt. Daraus folgt eine erhöhte Insulinsensitivität, d.h. insulinabhängige Glucoseaufnahme in die Skelettmuskulatur, allerdings in Verbindung mit einer Gewichtszunahme durch Vermehrung des Fettgewebes (MEIRHAEGHE et al. 2005).

Die Substitution der Aminosäure Prolin durch Alanin befindet sich in der ligandenunabhängigen Aktivierungsdomäne des PPAR γ 2-Proteins. Sie führt zu einer verminderten Affinität des PPAR γ 2-Proteins zu dem PPRE in seinen Zielgenen und dadurch zu einer um 50% reduzierten Transkription der Zielgene (DEEB et al. 1998, EK et al. 2001). Es wäre denkbar, dass infolgedessen die hemmende Wirkung von PPAR γ 2 auf die Enzyme für Fettaufnahme und -speicherung in der Muskulatur geringer ausfällt, und somit bei Vorliegen des Ala-Allels die Fettsäureaufnahme und -oxidation im Muskel weniger stark gebremst werden. Hierdurch könnte es, besonders auch unter Belastung, zu einem höheren Anteil der Fettsäureoxidation in der Skelettmuskulatur kommen, wodurch die Ausdauerleistungsfähigkeit dank einer effizienteren Energiebereitstellung positiv beeinflusst würde. Für diesen Mechanismus spricht, dass YAMAUCHI bei heterozygot PPAR γ 2-defizienten Mäusen eine im

Vergleich zu Wildtyp-Mäusen gesteigerte Fettsäureoxidation in der Skelettmuskulatur bei gleichzeitig verminderter Lipogenese im Fettgewebe beobachtete (YAMAUCHI et al. 2001). In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen zeigten MEIRHAEGHE und Mitarbeiter, dass eine reduzierte Aktivität von PPAR γ indirekt zu einer erhöhten Insulinsensitivität führt, indem der Triglyceridgehalt sowohl im Fettgewebe als auch in Leber und Muskulatur über eine vermehrte Fettsäureoxidation und verminderte Lipogenese niedrig gehalten wird (MEIRHAEGHE et al. 2005). Die Autoren vertreten die Hypothese, dass eine reduzierte PPAR γ 2-Aktivität zu einer geringeren Suppression der Leptinausschüttung führt und so indirekt lipogene Enzyme hemmt, wodurch wiederum deren inhibitorische Wirkung auf PPAR α -vermittelte Fettsäureoxidation wegfällt.

Im Widerspruch zu diesem möglichen Mechanismus für einen begünstigenden Effekt eines partiellen Funktionsverlustes von PPAR γ 2 auf die Ausdauerleistungsfähigkeit stehen die Ergebnisse einer Studie von WISLØFF und Mitarbeitern. Diese Arbeitsgruppe züchtete Mäuse über 11 Generationen, welche je nach ihrer maximalen Laufdistanz im untrainierten Zustand entweder der Gruppe der "high capacity runners (HCRs)" oder der Gruppe der "low capacity runners (LCRs)" zugeordnet und innerhalb der jeweiligen Gruppen zur Fortpflanzung gebracht wurden. Die HCRs der 11. Generation wiesen unter anderem eine klar höhere PPAR γ -Konzentration im M. soleus auf als die LCRs (WISLØFF et al. 2005), was impliziert, dass eine überdurchschnittliche PPAR γ -Konzentration in der Muskulatur die Ausdauerleistungsfähigkeit positiv beeinflusst. Will man die obige Hypothese zur Vorteilhaftigkeit eines partiellen Funktionsverlustes von PPAR γ für die Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit nicht in Frage stellen, so sind die Ergebnisse von WISLØFF nur erklärlich, wenn der erhöhte PPAR γ -Level gar nicht zu der gesteigerten Laufleistung der Mäuse beitragen würde, sondern eventuell nur im Rahmen einer insgesamt gesteigerten PPAR-Expression aller drei bekannter Subtypen aufträte. Diese Erklärung liegt vor allem deswegen nahe, weil der PPAR α - und PPAR δ -Gehalt in der Skelettmuskulatur nach Ausdauertraining ansteigt (HOROWITZ et al. 2000, RUSSELL et al. 2005, KRÄMER et al. 2006). PPAR α und PPAR δ aktivieren ihrerseits PGC-1 α (PUIGSERVER und SPIEGELMAN 2003, SCHULER et al. 2006), welcher letztendlich unter anderem aktivitätsfördernd mit PPAR γ interagiert (PUIGSERVER und SPIEGELMAN 2003). PPAR α - und PPAR δ - und PGC-1 α -Konzentrationen wurden in der Studie von WISLØFF und Mitarbeitern allerdings nicht bestimmt.

Ein anderer denkbarer Mechanismus, wie das Ala-Allel zu einer besseren Ausdauerleistungsfähigkeit beitragen könnte, wäre eine veränderte Interaktion des Ala-PPAR γ -Proteins mit PGC-1 α . Eine Steigerung der Aktivität von PPAR γ durch Interaktion mit PGC-1 α ist seit

längerer Zeit bekannt (PUIGSERVER und SPIEGELMAN 2003). Es wäre möglich, dass das Ala-Allel das PPAR γ -Protein strukturell so verändert, dass dessen Bindung an PGC-1 α behindert wird, und in der Folge die PGC-1 α vermittelten Aktivierung von PPAR γ geringer ausfällt. Auch wenn in der Literatur bislang so nicht beschrieben, könnte PPAR γ andererseits - ebenso wie für PPAR α und PPAR δ angenommen (PUIGSERVER und SPIEGELMAN 2003, SCHULER et al. 2006) - aktivitätssteigernd auf PGC-1 α zurückwirken und damit die PGC-1 α -vermittelte Steigerung der oxidativen Kapazität von Muskelfasern fördern. In diesem Fall müsste das Ala-Allel die Interaktion von PGC-1 α mit PPAR γ begünstigen, um die in dieser Arbeit beobachtete positive Korrelation des Ala-Allels auf die Ausdauerleistungsfähigkeit erklären zu können. Allerdings fanden NITZ und Mitarbeiter bei einem Vergleich der Interaktion von PGC-1 α und dem PPAR γ Pro12Ala-Polymorphismus bzw. PGC-1 α und dem PPAR γ -Wildtyp in Leberzellen keine signifikante Änderung der resultierenden Transkriptionsaktivität des PPAR γ -Zielgens ACBP-1C (NITZ et al. 2007), so dass die hier zuletzt aufgestellten Hypothesen zum Mechanismus der Ala-Allel-Wirkung unwahrscheinlich werden.

Ebenso bleibt unklar, warum die im Gesamtkollektiv beobachtete Assoziation zwischen dem Pro12Ala-Polymorphismus und der maximalen Sauerstoffaufnahme sich lediglich in der nordamerikanischen Subgruppe wieder fand, während insbesondere bei den Deutschen fast kein Unterschied zwischen Sportlern und Kontrollpersonen hinsichtlich der Auftretenshäufigkeit des Ala-Allels bestand. Möglicherweise lässt sich diese Beobachtung durch eine Wechselwirkung zwischen dem PPAR γ 2 Pro12Ala-Polymorphismus und einem in der vorliegenden Arbeit nicht erfassten, in den einzelnen Nationengruppen unterschiedlich häufig vertretenen SNP erklären (z.B. andere Mutation im PPAR γ 2-Gen oder in einem Co-Aktivator-Gen wie PGC-1 α). Um einen positiven Einfluss des Ala-Allels auf die Ausdauerleistungsfähigkeit sicher postulieren zu können, sind daher weitere Untersuchungen notwendig. Insbesondere wäre eine prospektive Studie sinnvoll, in der die Zunahme der VO $_2$ max bei homozygoten Pro-Trägern und Ala-Trägern nach Abschluss eines standardisierten Ausdauertrainingsprogramms verglichen wird. Ein weiterer Ansatz wäre, eine Trainingsstudie mit Knock-out-Mäusen durchzuführen, um die Relevanz der PPAR γ 2-Aktivität für die Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit zu prüfen. Ideal wäre eine groß angelegte und damit allerdings sehr aufwendige Studie, welche alle drei PPAR-Subtypen und ihrer Co- bzw. Aktivierungsfaktoren (z.B. PGC-1 α) mit einschließt, indem verschiedene Gruppen von Knock-out-Mäusen (jeweils eine für die einzelnen PPAR-Subtypen mit und ohne PGC-1 α) verglichen werden. So könnten neben der Funktion der einzelnen PPAR-Subtypen auch mögliche Interaktionsmechanismen miterfasst werden.

7 ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNG

Im Rahmen dieser Arbeit wurde in einer klassischen Fall-Vergleichs-Studie untersucht, in wie weit eine Assoziation zwischen der Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit und den Polymorphismen Leu162Val im PPAR α -Gen, +294T>C im PPAR δ -Gen und Pro12Ala im PPAR γ 2-Gen besteht. Diese Gene spielen allesamt eine wichtige Rolle in der Regulation des Fettsäurestoffwechsels. Hierzu wurden 314 Hochleistungsausdauersportler und 303 untrainierte Kontrollpersonen, welche über ihre maximale Sauerstoffaufnahme (VO₂max) eindeutig den entsprechenden Gruppen zugeteilt wurden, an diesen drei Loci genotypisiert.

Für den PPAR α Leu162Val-Polymorphismus und den PPAR δ +294T>C-Polymorphismus ergab sich beim Vergleich der beiden Gruppen weder bei der Häufigkeit der Allele, noch bei der Genotypenverteilung ein signifikanter Unterschied zwischen Athleten und Kontrollpersonen. Da sowohl für PPAR α als auch für PPAR δ Studienergebnisse vorliegen, die auf eine direkte, zum Teil synergistische Rolle von PPAR α bzw. PPAR δ in den Anpassungsmechanismen an Ausdauertraining hindeuten, sollte in weiteren Studien untersucht werden, ob andere funktionelle Polymorphismen in diesen Genen bzw. Kombinationen aus mehreren SNPs einen Einfluss auf die Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit haben.

Am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus fanden sich in der Athletengruppe eine signifikant höhere Frequenz des selteneren Ala-Allels ($p = 0,047$), sowie ein höherer Anteil an Ala-Trägern ($p = 0,048$) aus. Derselbe Sachverhalt wurde bei der Subanalyse der nordamerikanischen Untergruppe in noch etwas deutlicherer Ausprägung beobachtet.

Eine mögliche funktionelle Erklärung findet sich in der reduzierten transkriptionellen Aktivität des Ala-Allels. Dies könnte die normale PPAR γ -vermittelte Hemmung der Fettsäureaufnahme und -oxidation in der Skelettmuskulatur indirekt vermindern. Dieser Effekt könnte wiederum, insbesondere unter Belastung, einen höheren Anteil an Fettsäureoxidation begünstigen und damit zu einer besseren Energiebereitstellung bei Ausdauerleistungen beitragen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und ihre Bedeutung für die Ausdauerleistungsfähigkeit müssen in weiteren Studien, z.B. prospektiven Trainingsstudien überprüft werden. Zusätzlich sollten funktionelle Studien mit Knock-out-Mäusen durchgeführt werden, um die Bedeutung der PPAR γ 2-Aktivität für die Ausprägung der Ausdauerleistungsfähigkeit genauer bestimmen zu können.

Auch wenn die vorliegende Untersuchung, wie auch weiterführende Untersuchungen einzelner Gene in Bezug auf die Ausdauerleistungsfähigkeit nur kleine Teilaspekte in einem komplexen Zusammenspiel von vielen Faktoren klären können, tragen sie doch maßgeblich zu dem übergeordneten Ziel bei, die genetischen und physiologischen Regulationsmechanismen hinter den körperlichen Anpassungsvorgängen auf Ausdauertraining besser zu verstehen.

8 VERZEICHNISSE

8.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Einflussfaktoren auf die Ausdauerleistungsfähigkeit.....	9
Abbildung 2: Vereinfachte schematische Darstellung der Struktur und molekularen Funktionsweise eines PPAR-Gens.	16
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Funktionsweise des Restriktionsverdau am PPAR δ + 294 T/C-Locus.....	26
Abbildung 4: UV-Lichtfoto nach Restriktionsenzymverdau und Gelelektrophorese am PPAR α Leu162Val-Locus.....	28
Abbildung 5: UV-Lichtfoto nach Restriktionsenzymverdau und Gelelektrophorese am PPAR δ +294 T>C-Locus.....	29
Abbildung 6: Verteilung der Genotypen am PPAR α Leu162Val-Locus im gesamten Probandenkollektiv.....	31
Abbildung 7: Verteilung der Allele am PPAR α Leu162Val-Locus im gesamten Probandenkollektiv.....	31
Abbildung 8: Relative Häufigkeit der Leu-Träger am PPAR α Leu162Val-Locus im gesamten Probandenkollektiv.....	32
Abbildung 9: Relative Häufigkeit der Val-Träger am PPAR α Leu162Val-Locus im gesamten Probandenkollektiv.....	32
Abbildung 10: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen.....	32
Abbildung 11: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen.....	33
Abbildung 12: Vergleich der relativen Häufigkeit von Leu-Trägern am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen.....	33
Abbildung 13: Vergleich der relativen Häufigkeit von Val-Trägern am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen.....	33
Abbildung 14: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Athleten.....	34
Abbildung 15: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Athleten.....	34

Abbildung 16: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollgruppen.....	35
Abbildung 17: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollgruppen.....	35
Abbildung 18: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen.....	36
Abbildung 19: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen.....	37
Abbildung 20: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen	37
Abbildung 21: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen	37
Abbildung 22: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den deutschen Athleten und Kontrollpersonen.....	38
Abbildung 23: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den deutschen Athleten und Kontrollpersonen.....	38
Abbildung 24: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den finnischen Athleten und Kontrollpersonen	39
Abbildung 25: Vergleich der Allelverteilung am PPAR α Leu162Val-Locus zwischen den finnischen Athleten und Kontrollpersonen.....	39
Abbildung 26: Verteilung der Genotypen am PPAR δ +294T>C-Locus im gesamten Probandenkollektiv	39
Abbildung 27: Verteilung der Allele am PPAR δ +294T>C-Locus im gesamten Probandenkollektiv	40
Abbildung 28: Relative Häufigkeit de T-Träger am PPAR δ +294T>C-Locus im gesamten Probandenkollektiv.....	40
Abbildung 29: Relative Häufigkeit der C-Träger am PPAR δ +294T>C-Locus im gesamten Probandenkollektiv.....	40
Abbildung 30: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen	41
Abbildung 31: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen	41

Abbildung 32: Vergleich der relativen Häufigkeit der T-Träger am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen.....	42
Abbildung 33: Vergleich der relativen Häufigkeit der C-Träger am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen.....	42
Abbildung 34: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Athleten.....	43
Abbildung 35: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Athleten.....	43
Abbildung 36: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollpersonen.	44
Abbildung 37: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollpersonen.	44
Abbildung 38: Vergleich der relativen Häufigkeit der T-Träger am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollpersonen.....	44
Abbildung 39: Vergleich der relativen Häufigkeit der C-Träger am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollpersonen.....	44
Abbildung 40: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen.....	45
Abbildung 41: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen.....	45
Abbildung 42: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen.	45
Abbildung 43: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen.	45
Abbildung 44: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den deutschen Athleten und Kontrollpersonen.....	46
Abbildung 45: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den deutschen Athleten und Kontrollpersonen.....	46
Abbildung 46: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den finnischen Athleten und Kontrollpersonen.	47

Abbildung 47: Vergleich der Allelverteilung am PPAR δ +294T>C-Locus zwischen den finnischen Athleten und Kontrollpersonen	47
Abbildung 48: Verteilung der Genotypen am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus im gesamten Probandenkollektiv	48
Abbildung 49: Verteilung der Allele am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus im gesamten Probandenkollektiv	48
Abbildung 50: Relative Häufigkeit der Pro-Träger am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus im gesamten Probandenkollektiv	48
Abbildung 51: Relative Häufigkeit der Ala-Träger am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus im gesamten Probandenkollektiv	48
Abbildung 54: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen	49
Abbildung 55: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen	49
Abbildung 54: Vergleich der relativen Häufigkeit der Pro-Träger am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen	50
Abbildung 55: Vergleich der relativen Häufigkeit der Ala-Trägern am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Nationengesamtgruppen	50
Abbildung 56: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Athleten.....	51
Abbildung 57: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Athleten.....	51
Abbildung 58: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollpersonen	51
Abbildung 59: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen, deutschen und finnischen Kontrollpersonen.	52
Abbildung 60: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen.....	52
Abbildung 61: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen.....	52

Abbildung 62: Vergleich der relativen Häufigkeit der Pro-Träger am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen.	53
Abbildung 63: Vergleich der relativen Häufigkeit der Ala-Trägern am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den EEA- und SC-Gesamtgruppen.	53
Abbildung 64: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen.	54
Abbildung 65: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen.	54
Abbildung 66: Vergleich der relativen Häufigkeit der Ala-Träger am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den nordamerikanischen Athleten und Kontrollpersonen.....	54
Abbildung 67: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den deutschen Athleten und Kontrollpersonen.....	55
Abbildung 68: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den deutschen Athleten und Kontrollpersonen.....	55
Abbildung 69: Vergleich der Genotypenverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den finnischen Athleten und Kontrollpersonen.....	56
Abbildung 70: Vergleich der Allelverteilung am PPAR γ 2 Pro12Ala-Locus zwischen den finnischen Athleten und Kontrollpersonen.....	56

8.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Biometrische Daten des Probandenkollektivs	21
Tabelle 2: Verwendete PCR-Reagenzien	23
Tabelle 3: Verwendete Oligonukleotidprimer	23
Tabelle 4: PCR-Programm PPAR α Exon 5, Leu162Val-Polymorphismus	24
Tabelle 5: PCR-Programm PPAR δ Exon 4, +294T>C-Polymorphismus	24
Tabelle 6: Reagenzien für den Restriktionsenzymverdau am PPAR α Leu162Val-Locus	25
Tabelle 7: Reagenzien für den Restriktionsenzymverdau am PPAR δ +294T>C-Locus	26

8.3 Literaturverzeichnis

- Adamo, K.B., Sigal, R.J., Williams, K., Kenny, G., Prud'homme, D., Tesson, F.: Influence of Pro12Ala peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 polymorphism on glucose response to exercise training in type 2 diabetes. *Diabetologia*. 48(2005) 1503-1509.
- Ahmetov, I.I., Mozhayskaya, I.A., Flavell, D.M., Astratenkova, I.V., Komkova, A.I., Lyubaeva, E.V., Tarakin, P.P., Shenkman, B.S., Vdovina, A.B., Netroba, A.I., Popov, D.V., Vinogradova, O.L., Montgomery, H.E., Rogozkin, V.A.: PPARalpha gene variation and physical performance in Russian athletes. *Eur J Appl Physiol*. 97 (2006) 103-108.
- Åstrand, P.O.: Welche Messungen sind sinnvoll? In: "Ausdauer im Sport. Eine Veröffentlichung des IOC in Zusammenarbeit mit der FIMS", Shephard, R.J. und Åstrand, P.O. (Hrsg.), Deutscher Ärzte-Verlag, Köln 1993, S.189-190.
- Barak, Y., Liao, D., He, W., Ong, E.S. Nelson, M.C., Olefsky, J.M., Boland, R. und Evans, R.M.: Effects of peroxisome proliferator-activated receptor δ on placentation, adiposity, and colorectal cancer. *PNAS* 99 (2002) 303-308.
- Bassett, D.R. Jr. und Howley, E.T.: Limiting factors for maximum oxygen uptake and determination of endurance performance. *Med Sci Sports Exerc* 32 (2000) 70-84.
- Berger, J. und Moller, D.E.: The Mechanisms of Action of PPARs. *Annu Rev Med* 53 (2002) 409-435.
- Bortz, J. und Lienert, G.A.: "Kurzgefasste Statistik für die klinische Forschung. Leitfaden für die verteilungsfreie Analyse kleiner Stichproben"; 2., aktualisierte und bearbeitete Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2003.
- Bosse, Y., Desprès, J.P., Bouchard, C., Pérusse, L. und Vohl, M.C.: The Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α L162V Mutation Is Associated with Reduced Adiposity. *Obes Res*. 11 (2003) 809-816.
- Bouchard, C., Lesage, R., Lortie, G., Simoneau, J.A., Hamel, P., Boulay, M.R., Pérusse, L., Theriault, G. und Leblanc, C.: Aerobic performance in brothers, dizygotic and monozygotic twins. *Med Sci Sports Exerc* 18 (1986) 639-646.
- Bouchard, C., Boulay, M.R., Simoneau, J.A., Lortie, G. und Pérusse, L.: Heredity and trainability of aerobic and anaerobic performances. An update. *Sports Med* 5 (1988) 69-73.
- Bouchard, C., Chagnon, M., Thibault, M.C., Boulay, M.R., Marcotte, M. Cote, C. und Simoneau, J.A.: Muscle genetic variants and relationship with performance and trainability. *Med Sci Sports Exerc* 21 (1989) 71-77.
- Bouchard, C., Dionne F.T., Simoneau, J.A. und Boulay, M.R.: Genetics of aerobic and anaerobic performances. *Exerc Sport Sci Rev* 20 (1992) 27-58.

- Bouchard, C., Leon, A.S., Rao, D.C., Skinner, J.S., Wilmore, J.H. und Gagnon, J.: The HERITAGE family study. Aims, design, and measurement protocol. *Med Sci Sports Exerc.* 27 (1995) 721-729.
- Bouchard, C., Rankinen, T., Chagnon, Y.C., Rice, T., Perusse, L., Gagnon, J., Borecki, I., An, P., Leon, A.S., Rao, D.C., Skinner, J.S. und Wilmore, J.H., Province, M. und Rao, D.C.: Genomic scan for maximal oxygen uptake and its response to training in the HERITAGE Family Study. *J Appl Physiol.* 88 (2000) 551-558.
- Bray, M.S.: Genomics, genes, and environmental interaction: the role of exercise. *J Appl Physiol* 88 (2000) 788-792.
- Clarke, S.D., Thuillier, P., Baillie, R.A. und Sha, X.: Peroxisome proliferator-activated receptors: a family of lipid-activated transcription factors. *Am J Clin Nutr* 70 (1999) 566-571.
- Coggan, A.R., Abduljalil, A.M., Swanson, S.C., Earle, M.S., Farris, J.W., Mendenhall, L.A. und Robitaille, P.-M.: Muscle metabolism during exercises in young and older untrained and endurance-trained men. *J Appl Physiol* 75 (1993) 2125-2133.
- Deeb, S.S., Fajas, L., Nemoto, M., Pihlajamäki, J., Mykkänen, L., Kuusisto, J., Laakso, M., Fujimoto, W. und Auwerx, J.: A Pro12Ala substitution in PPAR γ 2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nature genetics* 20 (1998) 284 – 287.
- De la Chapelle, A. und Wright, F.A.: Linkage disequilibrium mapping in isolated populations: The example of Finland revisited. *Proc Natl Acad Sci USA* 95 (1998) 12416-12423.
- Desvergne, B. und Wahli, W.: Peroxisome Proliferator-Activated Receptors: Nuclear Control of Metabolism. *Endocrine Reviews* 20 (1999) 649–688.
- Diradourian, C., Girard, J., Pégrier, J.-P.: Phosphorylation of PPARs: from molecular characterization to physiological relevance. *Biochimie* 87 (2005) 33–38.
- Dressel, U., Allen, T.L., Pippal, J.B., Rohde, P.R., Lau, P. und Muscat, G.E.O.: The Peroxisome Proliferator-Activated Receptor β/δ Agonist, GW501516, Regulates the Expression of Genes Involved in Lipid Catabolism and Energy Uncoupling in Skeletal Muscle Cells. *Molecular Endocrinology* 17 (2003) 2477-2493.
- Ek, J., Andersen G., Urhammer, S.A., Hansen, L., Carstensen, B., Borch-Johnson, K., Drivsholm, T., Berglund, L., Hansen, T., Lithell, H., Pedersen, O.: Studies of the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 (PPAR- γ 2) gene in relation to insulin sensitivity among glucose tolerant Caucasians. *Diabetologia* 44 (2001) 1170-1176.
- Fagard, R., Bielen, E. und Amery, A.: Heritability of aerobic power and anaerobic energy

- generation during exercise. *J Appl Physiol* 70 (1991) 357-362.
- Ferré, P.: The Biology of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors. Relationship With Lipid Metabolism and Insulin Sensitivity. *Diabetes* 53, Suppl. 1, (2004) S43-S50.
- Flavell, D.M., Ireland, H., Stephens, J.W., Hawe, E., Acharya, J., Mather, H., Hurel, S.J. und Humphries, S.E.: Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gene Variation Influences Age of Onset and Progression of Type 2 Diabetes. *Diabetes* 54 (2005) 582-586.
- Gagnon, J., Ho-Kim, M.-A., Chagnon, Y.C., Pérusse, L., Dionne F.T., Leon, A.S., Rao, D.C., Skinner, J.S., Wilmore, J.H. und Bouchard, C.: Absence of linkage between VO₂max and its response to training with markers spanning chromosome 22. *Med Sci Sports Exerc* 29 (1997) 1448-1453.
- Garret, W.E. Jr. und Kirkendall, D.T. (Editoren): Exercise and Sport Science. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000, S.107-172.
- Gollnick, P.D., Armstrong, R.B., Saubert IV, C.W., Piehl, K. und Saltin, B.: Enzyme activity and fiber composition in skeletal muscle of untrained and trained men. *J Appl Physiol* 33 (1972) 3312-319.
- Gollnick, P.D., Armstrong, R.B., Saltin, B., Saubert IV, C.W., Sembrowich, W.L. und Shepherd, R.E.: Effect of training on enzyme activity and fiber composition of human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 34 (1973) 107-111.
- Goodsell, D.S.: The Molecular Perspective: Restriction Endonucleases. *Stem Cells* 20 (2002) 190-191.
- Gouni-Berthold, I., Giannakidou, E., Müller-Wieland, D., Faust, M., Kotzka, J., Berthold, H.K. und Krone, W.: Association between the PPAR α L162V polymorphism, plasma lipoprotein levels, and atherosclerotic disease in patients with diabetes mellitus type 2 and in nondiabetic controls. *Am Heart J* 147 (2004) 1117-1124.
- Grimaldi, P.A.: Regulatory role of peroxisome proliferator-activated receptor delta (PPAR δ) in muscle metabolism. A new target for metabolic syndrome treatment? *Biochimie* 87 (2005) 5-8.
- Hamel, P., Simoneau, J.A., Lortie, G., Boulay, M.R. und Bouchard, C.: Heredity and muscle adaptation to endurance training. *Med Sci Sports Exerc* 18 (1986) 690-696.
- Handschin, C., Rhee, J., Lin, J., Tarr, P.T. und Spiegelmann, B.M.: An autoregulatory loop controls peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 γ expression in muscle. *PNAS* 100 (2003) 7111-7116.
- He, T., Chan, T.A., Vogelstein, B. und Kinzler, K.W.: PPAR δ is an APC-Regulated Target of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Cell* 99 (1999) S. 335-345.

- Hollmann, W. und Hettinger, Th.: "Sportmedizin: Grundlagen für Arbeit, Training und Präventivmedizin"; 4., völlig neu bearbeitete Aufl., Schattauer, Stuttgart, 2000.
- Holloszy, J.O. und Coyle, E.F.: Adaptation of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J Appl Phys* 56 (1984) 831-838.
- Holst, D., Luquet, S., Nogueira, V., Kristiansen, K., Leverve, X. und Grimaldi, P.A.: Nutritional regulation and role of peroxisome proliferator-activated receptor δ in fatty acid catabolism in skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta* 1633 (2003) 43 - 50.
- Horowitz, J.F., Leone, T.C., Feng, W., Kelly, D.P. und Klein, S.: Effect of endurance training on lipid metabolism in women: a potential role for PPAR α in the metabolic response to training. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 279 (2000) E348–E355.
- Hu, C., Jia, W., Fang, Q., Zhang, R., Wang, C., Lu, J., Xiang, K.: Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) delta genetic polymorphism and its association with insulin resistance index and fasting plasma glucose concentrations in Chinese subjects. *Diabet Med*. 23 (2006) 1307-1312.
- Jamshidi, Y., Montgomery, H.E., Hense, H.-W., Myerson, S.G., Torra, I.P., Staels, B., World, M.J., Doering, A., Erdmann, J., Hengstenberg, C., Humphries, S.E., Schunkert, H., Flavell, D.M.: Peroxisome proliferator-activated receptor α gene regulates left ventricular growth in response to exercise and hypertension. *Circulation* 105 (2002) 950-955.
- Kersten, S., Desvergne, B. und Wahli, W.: Roles of PPARs in health and disease. *Nature* 405 (2000) 421-424.
- Kiens, B. und Roepstorff, C: Utilization of long-chain fatty acids in human skeletal muscle during exercise. *Acta Physiol Scand* 178 (2003) 391-396.
- Kittles, R.A., Bergen, A.W., Urbanek, M., Virkkunen, M., Linnoila, M., Goldman, D., Long, J.C.: Autosomal, mitochondrial, and Y chromosome DNA variation in Finland: evidence for a male-specific bottleneck. *Am J Phys Anthropol*. 108 (1999) 381-399
- Klissouras, V.: Heritability of adaptive variation. *J Appl Physiol* 31 (1971) 338-344.
- Krämer, D.K., Ahlsen, M., Norrbom, J., Jansson, E., Hjeltnes, N., Gustafsson, T., Krook, A.: Human skeletal muscle fibre type variations correlate with PPAR alpha, PPAR delta and PGC-1 alpha mRNA. *Acta Physiol (Oxf)*. 188 (2006) 207-16.
- Lange, K.H.W.: Fat metabolism in exercises – with special reference to training and growth hormone administration. *Scand J Med Sci Sports* 14 (2004) 74-99.
- Lee, C.-H., Chawla, A., Urbiztondo, N., Liao, D., Boisvert, W.A. und Evans, R.M.: Transcriptional Repression of Atherogenic Inflammation: Modulation by PPAR δ . *Science* 302 (2003) 453–457.

- Leone, T.C., Weinheimer, C.J. und Kelly, D.P.: A critical role for the peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) in the cellular fasting response: The PPAR α -null mouse as a model of fatty acid oxidation disorders. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 (1999) 7473-7478.
- Lesage, R., Simoneau, J.A., Jobin, J., Leblanc, J. und Bouchard, C.: Familial resemblance in maximal heart rate, blood lactate, and aerobic power. *Hum Hered* 35 (1985) 182-189.
- Lortie, G., Bouchard, C., Leblanc, C. et al.: Familial similarity in aerobic power. *Hum Biol* 54 (1982) 801-812.
- Lortie, G.: Responses of maximal aerobic power and capacity to aerobic training. *Int J Sports Med* 5 (1984) 232-236.
- Lucia, A., Gómez-Gallego, F., Barroso, I., Rabadán, M., Bandrés, F., San Juan, A.F., Chicharro, J.L., Ekelund, U., Brage, S., Earnest, C.P., Wareham, N.J., Franks, P.W.: PPARGC1A genotype (Gly482Ser) predicts exceptional endurance capacity in European men. *J Appl Physiol*. 99 (2005) 344-348.
- Luquet, S., Lopez-Soriano, J., Holst, D., Fredenrich, A., Melki, J., Rassoulzadegan, M. und Grimaldi, P.A.: Peroxisome proliferator-activated receptor δ controls muscle development and oxidative capability. *FASEB* 17 (2003) 2299-2301.
- Maes, H.H., Beunen, G.P., Vlietinck, R.F., Neale, M.C., Thomis, M., Van den Eynde, B., Lysens, R., Simons, J., Derom, C., Derom, R.: Inheritance of physical fitness in 10-year-old twins and their parents. *Med Sci Sports Exerc*. 28 (1996)1479-1491.
- Meirhaeghe, A., Cottel, D., Amouyel, P. und Dallongeville, J.: Association Between Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Haplotypes and the Metabolic Syndrome in French Men and Women. *Diabetes* 54 (2005) 3043-3048.
- Meyer, T. und Kindermann, W.: Die maximale Sauerstoffaufnahme (VO₂max). *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 50 (1999) 285-286.
- Michalik, L., Desvergne, B., Basu-Modak, S., Tan, N.S., Wahli, W.: Nuclear hormone receptors and mouse skin homeostasis: implication of PPARbeta. *Horm Res*. 54 (2000) 263-268.
- Montgomery, H.E., Marshall, R., Hemingway, H., Myerson, S., Clarkson, P., Dollery, C., Hayward, M., Holliman, D.E., Jubb, M., World, M., Thomas, E.L., Brynes, A.E., Saced, N., Barnard, M., Bell, J.D., Prasad, K., Rayson, M., Talmund, P.J. und Humphries, S.E.: Human gene for physical performance. *Nature* 393 (1998) 221.
- Montoye, H.J. und Gayle, R.: Familial relationships in maximal oxygen uptake. *Hum Biol* 50 (1978) 241-249.

- Muoio, D.M., Way, J.M., Tanner, C.J., Winegar, D.A., Kliewer, S.A., Houmard, J.A., Kraus, W.E. und Dohm, G.L.: Peroxisome Proliferator-activated Receptor- α Regulates Fatty Acid Utilization in Primary Human Skeletal Muscle Cells. *Diabetes* 51(2002) 901 - 909.
- Mukherjee, R., Jow, L., Croston, G.E. und Paterniti, J.R.: Identification, Characterization, and Tissue Distribution of Human Peroxisome Proliferator-activated Receptor (PPAR) Isoforms PPAR γ 2 versus PPAR γ 1 and Activation with Retinoid X Receptor Agonists and Antagonists. *J Biological Chemistry* 272 (1997) 8071-8076.
- Nicklas, B.J., van Rossum, E.F.C., Berman, D.M., Ryan, A.S., Dennis, K.E. und Shuldiner, A.R.: Genetic Variation in the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ 2 Gene (Pro12Ala) Affects Metabolic Responses to Weight Loss and Subsequent Weight Regain. *Diabetes* 50 (2001) 2171-2176.
- Nitz I, Ewert A, Klapper M und Döring F. (2007): Analysis of PGC-1 α variants Gly482Ser and Thr612Met concerning their PPAR γ 2-coactivation function. *Biochem Biophys Res Commun.* 353(2007) 481-486.
- Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). Johns Hopkins University, Baltimore, MD. World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>
- Østergård, T., Ek J., Hamid, Y., Saltin, B., Pedersen, O.B., Hansen, T. und Schmitz, O.: Influence of the PPAR- γ 2 Pro12Ala and ACE I/D Polymorphisms on Insulin Sensitivity and Training Effects in Healthy Offspring of Type 2 Diabetic Subjects. *Horm Metab Res* 37 (2005) 99-105.
- Prud'Homme, D., Bouchard, C., Leblanc, C., Landry, F. und Fontaine, E.: Sensitivity of maximal aerobic power to training is genotype-dependent. *Med Sci Sports Exerc* 16 (1984) 489-493.
- Puigserver, P. und Spiegelman, B.M.: Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Coactivator 1 α (PGC-1 α): Transcriptional Coactivator and Metabolic Regulator. *Endocrine Reviews* 24 (2003) 78-90.
- Rankinen, T., Pérusse, L., Gagnon, J., Chagnon, Y.C., Leon, A.S., Skinner, J.S., Wilmore, J.H., Rao, D.C. und Bouchard, C.: Angiotensin-converting enzyme I/D Polymorphism and fitness phenotype in the HERITAGE Family Study. *J Appl Physiol.* 88 (2000a) 1029-1035.
- Rankinen, T., Wolfarth, B., Simoneau, J.A., Maier-Lenz, D., Rauramaa, R., Rivera, M.A., Boulay, M.R., Chagnon, Y.C., Pérusse, L., Keul, J. und Bouchard, C.: No association

- between the angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status. *J Appl Physiol* 88 (2000b) 1571–1575.
- Rivera, M.A., Dionne, F.T., Simoneau, J.-A., Pérusse, L., Chagnon, M., Chagnon, Y., Gagnon, J., Leon, A.S., Rao, D.C., Skinner, J.S., Wilmore, J.H. und Bouchard, C.: Muscle-specific creatine kinase gene polymorphism and VO_2max in the HERITAGE Family Study. *Med Sci Sports Exerc* 29 (1997a) 1311-1317.
- Rivera, M.A., Dionne, F.T., Wolfarth, B., Chagnon, M., Simoneau, J.-A., Pérusse, L., Boulay, M.R., Gagnon, J., Song, T.M.K., Keul, J. und Bouchard, C.: Muscle-specific creatine kinase gene polymorphism in elite endurance athletes and sedentary controls. *Med Sci Sports Exerc* 29 (1997b) 1444-1447.
- Romijn, J.A., Coyle, E.F., Sidossis, L.S., Rosenblatt, J. und Wolfe, R.: Substrate metabolism during different exercise intensities in endurance-trained women. *J Appl Physiol* 88 (2000) 1707-1714.
- Rosen E.D. und Spiegelman, B.M.: PPAR γ : a Nuclear Regulator of Metabolism, Differentiation, and Cell Growth. *J Biol Chem* 276 (2001) 37731 – 37734.
- Russel, A.P., Feilchenfeldt, J., Schreiber, S., Praz, M. Crettenand, A., Gobelet, C., Meier, C.A., Bell, D.R., Kralli, A., Giacobino, J.-P. und Dériaz, O.: Endurance Training in Humans leads to Fiber Type-Specific Increases in Levels of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Coactivator-1 and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α in Skeletal Muscel. *Diabetes* 52 (2003) 2874-2881.
- Saltin, B., Henriksson, J., Nygaard, E., Andersen, P.: Fiber types and metabolic potentials of skeletal muscles in sedentary man and endurance runners. *Ann NY Acad Sci* 301 (1977) 3-29.
- Schneider, J., Kreuzer, J., Hamann, A., Nawroth, P.P. und Dugi, K.A.: The Proline 12 Alanine Substitution in the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ 2 Gene Is Associated With Lower Lipoprotein Lipase Activity in Vivo. *Diabetes* 51 (2002) 867–870.
- Schuler, M., Ali, F., Chambon, C., Duteil, D., Bornert, J.M., Tardivel, A., Desvergne, B., Wahli, W., Chambon, P., Metzger, D.: PGC1 α expression is controlled in skeletal muscles by PPAR β , whose ablation results in fiber-type switching, obesity, and type 2 diabetes. *Cell Metab.* 4 (2006) 407-14.
- Shephard, R.J.: Die maximale Sauerstoffaufnahme. In: "Ausdauer im Sport. Eine Veröffentlichung des IOC in Zusammenarbeit mit der FIMS", Shephard, R.J. und Åstrand, P.O. (Hrsg.), Deutscher Ärzte-Verlag, Köln 1993, S.191-198.

- Sher, T., Yi, H.-F., McBride, W. und Gonzales, F.J.: cDNA Cloning, Chromosomal Mapping, and Functional Characterization of the Human Peroxisome Proliferator Activated Receptor. *Biochemistry* 32 (1993) 5598-5604.
- Shin, H.D., Park, B.L., Kim, L.H., Jung, H.S., Cho, Y.M., Moon, M.K., Park, Y.J., Lee, H.K. und Park, K.S.: Genetic Polymorphisms in Peroxisome Proliferator-Activated Receptor δ Associated With Obesity. *Diabetes* 53 (2004) 847-851.
- Skinner, J.S., Jaskólski, A., Jaskólska, A., Krasnoff, J., Gagnon, J., Leon, A.S., Rao, D.C., Wilmore, J.H. und Bouchard, C.: Age, sex, race, initial fitness, and response to training: the HERITAGE Family Study. *J Appl Physiol* 90 (2001) 1770-1776.
- Skogsberg, J., Kannisto, K., Roshani, L., Gagné, E., Hamsten, A., Larsson, C. und Ehrenborg, E.: Characterization of the human peroxisome proliferator activated receptor delta gene and its expression. *Int J Molecular Medicine* 6 (2000) 73-81.
- Skogsberg, J., Kannisto, K., Cassel, T.N., Hamsten, A., Eriksson, P. und Ehrenborg, E.: Evidence That Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Delta Influences Cholesterol Metabolism in Men. *Thromb Vasc Biol* 23 (2003) 637-643.
- Spriet, L.L. und Watt, M.J.: Regulatory mechanisms in the interaction between carbohydrate and lipid oxidation during exercise. *Acta Physiol Scand* 178 (2003) 443-452.
- Steinacker, J.M. und Wolfarth, B.: Molekularbiologie und Molekulargenetik: Eine zukünftige Herausforderung in der Sportmedizin. Editorial. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 53 (2002) 337.
- Stumvoll, M. und Häring, H.: The Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ 2 Pro12Ala Polymorphism. *Diabetes* 51 (2002) 2341-2347.
- Tan, N.S., Michalik, L., Noy, N., Yasmin, R., Pacot, C., Heim, M., Flühmann, B., Desvergne, B., Wahli, W.: Critical roles of PPAR beta/delta in keratinocyte response to inflammation. *Genes Dev.* 15(2001) 3263-3277.
- Tanaka, T., Yamamoto, J., Iwasaki, S., Asaba, H.: Activation of peroxisome proliferator-activated receptor δ induces fatty acid β -oxidation in skeletal muscle and attenuates metabolic syndrome. *PNAS* 100 (2003) 15924-15929.
- Tunstall, R.J., Mehan, K.A., Wadley, G.D., Collier, G.R., Bonen, A., Hargreaves, M. und Cameron-Smith, D.: Exercise training increases lipid metabolism gene expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283 (2002) E66-E72.
- Vänttinen, M., Nuutila, P., Pihlajamäki, J., Hällsten, K., Virtanen, K.A., Lautamäki, R., Peltola, P., Kempainen, J., Takala, T., Viljanen, A.P.M., Knuuti, J., und Laakso, M.: The Effect of the Ala12 Allele of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ 2

- Gene on Skeletal Muscle Glucose Uptake Depends on Obesity: A Positron Emission Tomography Study. *J Clin Endocrinol Metab* 90 (2005) 4249–4254.
- Vohl, M.-C., Lepage, P., Gaudet, D., Brewer, C.G., Bétard, C., Perron, P., Houde, G., Cellier, C., Faith, J.M., Després, K.M. und Hudson, T.J.: Molecular scanning of the human PPAR α gene: association of the L162V mutation with hyperapobetalipoproteinemia. *Journal of Lipid Research* 41 (2000) 945 - 952.
- Wang, Y.-X., Lee, C.-H., Tiep, S., Yu, R.T., Ham, J., Kang, H. und Evans, R.M.: Peroxisome proliferator-activated receptor δ Activates Fat Metabolism to Prevent Obesity. *Cell* 113 (2003) 159-170.
- Wang, Y.-X., Zhang, C.-L., Yu, R.T., Cho, H.K., Nelson, M.C. Bayuga-Ocampo, C.R., Ham, J., Kang, H. und Evans. R.M.: Regulation of Muscle Fiber Type and Running Endurance by PPAR δ . *PLOS Biology* 2(2004) 1532 - 1539.
- Weiss, E.P., Kulaputana, O., Ghiu, I.A., Brandauer, J., Wohn, C.R., Phares, D.A., Shuldiner, A.R. und Hagberg, J.M.: Endurance training-induced changes in the insulin response to oral glucose are associated with the peroxisome proliferator activated receptor- γ 2 Pro12Ala genotype in men but not in women. *Metabolism Clinical and Experimental* 54 (2005) 97-102.
- Winkler, F.K.: Structure and function of restriction endonucleases. *Curr Opin Struct Biol* 2 (1992) 93-99.
- Wisløff, U., Najjar, S.M., Ellingsen, Ø., Haram, P.M., Swoap, S., Al-Share, Q., Fernström, M., Rezaei, K., Lee, S.J., Koch, L.G. und Britton, S.: Cardiovascular Risk Factors Emerge After Artificial Selection for Low Aerobic Capacity. *Science* 307 (2005) 418-420.
- Workman, P.L., Mielke, J.H. und Nevanlinna, H.R.: The genetic structure of finland. *Am. J. Phys. Anthropol.* 44 (1976) 341-67.
- Wolfarth, B., Rivera, M.A., Opper,t J.M., Boulay, M.R., Dionne, F.T., Chagnon, M., Gagnon, J., Chagnon, Y., Perusse, L., Keul, J., Bouchard, C.: A polymorphism in the alpha2a-adrenoceptor gene and endurance athlete status. *Med Sci Sports Exerc.* 32(2000) 1709-1712.
- Wolfarth, B.: Genetische Polymorphismen bei hochtrainierten Ausdauerathleten - die Genathlete-Studie. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 53 (2002) 338-344.
- Wolfarth, B., Bray, M.S., Hagberg, J. M., Perusse, L., Rauramaa, R., Rivera, M.A., Roth, S.M., Rankinen, T. und Bouchard, C.: The Human Gene Map for Performance and

- Health-Related Fitness Phenotypes: The 2004 Update. *Med Sci Sports Exerc.* Vol. 37 (2005)881–903.
- Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H., Murakami, K., Motojima, K., Komeda, K., Ide, T., Kubota, N., Terauchi, Y., Tobe, K., Miki, H., Tsuchida, A., Akanuma, Y., Nagai, R., Kimura, S. und Kadowaki, T.: The Mechanisms by Which Both Heterozygous Peroxisome Proliferator-activated Receptor- γ (PPAR γ) Deficiency and PPAR γ Agonist Improve Insulin Resistance. *J Biol Chem* 276 (2001) 41245-41254.
- Yen, C.-J., Beamer, B.A., Negri, C., Silver, K., Brown, K.A., Yaranall, D.P., Burns, D.K., Roth, J. und Shuldiner, A.R.: Molecular Scanning of the Human Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ (hPPAR γ) Gene in Diabetic Caucasians: Identification of a Pro/Ala PPAR γ 2 Missense Mutation. *Biochemical and Biophysiological Research Communications* 241 (1997) 270-274.
- Zhang, J., Phillips D.I.W., Wang, C. und Byrne, C.D.: Human skeletal muscle PPAR α expression correlates with fat metabolism gene expression but not BMI or insulin sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 286 (2004) E168–E175.
- Zierath, J.R. und Hawley, J.A.: Skeletal Muscle Fiber Type: Influence on Contractile and Metabolic Properties. *PLoS Biology* 2 (2004) 1523-1527.

9 ANHANG

9.1 Häufig verwendete Puffer und Lösungen

0,5M EDTA

73,1 g EDTA (Carl Roth, Deutschland) wurden in ca. 300 ml destilliertem H₂O aufgelöst, der pH mit NaOH-Plättchen (Carl Roth, Deutschland) auf 8 eingestellt und anschließend mit destilliertem H₂O auf 500 ml aufgefüllt.

5 x TBE-Puffer (5L)

269,5g Tris (Carl Roth, Deutschland) und 137,5g Borsäure (Carl Roth, Deutschland) wurden in 4000ml destilliertem H₂O über Nacht gerührt. Dann wurden 100ml EDTA (0,5M, pH 8) hinzugegeben und die Mischung mit destilliertem H₂O auf 5 L aufgefüllt.

1 x TBE-Puffer (5L)

Zu 1000 ml 5x TBE-Puffer wurden 4000 ml destilliertes H₂O hinzugegeben.

Auftragspuffer (200 ml; 40% Saccharose, Bromphenolblau, Xylencyanol)

80g Saccharose (Carl Roth, Deutschland) und 20ml 0,5 M EDTA wurden mit destilliertem H₂O auf 200ml aufgefüllt und autoklaviert. Anschließend wurde je eine Spatelspitze Bromphenolblau und Xylencyanol hinzugefügt.

9.2 Herstellung der Gele

1 %iges Gel (20cm x 20cm, 300ml)

3g Agarose NEEO Ultra-Qualität Roti[®] GAROSE f.d. DNA/RNA Elektrophorese (Carl Roth, Deutschland) wurden mit 1x TBE-Puffer auf 300ml aufgefüllt und aufgeköcht. Nach leichtem Abkühlen wurden 4-5 µl einer 1% Ethidiumbromid-Lösung (Carl Roth, Deutschland; 10mg/ml) hinzugegeben und die Mischung auf einen Gelträger gegossen.

1,5 %iges Gel (20cm x 20cm, 300ml)

4,5g Agarose NEEO Ultra-Qualität Roti[®] GAROSE f.d. DNA/RNA Elektrophorese (Carl Roth, Deutschland) wurden mit 1x TBE-Puffer auf 300ml aufgefüllt, dann aufgeköcht. Nach leichtem Abkühlen wurden 4-5 µl einer 1% Ethidiumbromid-Lösung (Carl Roth, Deutschland; 10mg/ml) hinzugegeben und die Mischung auf einen Gelträger gegossen.

2 %iges Gel (20cm x 20cm, 300ml)

6g Agarose NEEO Ultra-Qualität Roti[®] GAROSE f.d. DNA/RNA Elektrophorese (Carl Roth, Deutschland) wurden mit 1x TBE-Puffer auf 300ml aufgefüllt, dann aufgeköcht. Nach leichtem Abkühlen wurden 4-5 µl einer 1% Ethidiumbromid-Lösung (Carl Roth, Deutschland; 10mg/ml) hinzugegeben und die Mischung auf einen Gelträger gegossen.

2,5 %iges Gel (20cm x 20cm, 300ml)

7,5 g Agarose NEEO Ultra-Qualität Roti[®] GAROSE f.d. DNA/RNA Elektrophorese (Carl Roth, Deutschland) wurden mit 1x TBE-Puffer auf 300ml aufgefüllt, dann aufgeköcht. Nach leichtem Abkühlen wurden 4-5 µl einer 1% Ethidiumbromid-Lösung (Carl Roth, Deutschland; 10mg/ml) hinzugegeben und die Mischung auf einen Gelträger gegossen.

DANKSAGUNG

Mein herzlicher Dank gilt zuallererst meinem Doktorvater, Herrn Dr. Bernd Wolfarth, für die Ermöglichung der Bearbeitung dieses Themas, die nette Betreuung und die wertvollen Anregungen und Hilfestellungen zur Gestaltung meiner Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Halle danke ich dafür, dass ich den experimentellen Teil meiner Arbeit im Labor seines Lehrstuhls durchführen durfte.

Besonderer Dank gilt auch Frau Dr. Barbara Wimmer und Frau Anja Pertl für die Einarbeitung im Labor und die Hilfe bei der technischen Umsetzung.