

S. Mühlbauer, B. Wolfarth

Genetische Polymorphismen und linksventrikuläre Masse bei hochtrainierten Ausdauerathleten

Genetic polymorphisms and left ventricular mass in elite endurance athletes

Abtlg. Rehabilitative und Präventive Sportmedizin, Medizinische Klinik, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Zusammenfassung

Regelmäßiges körperliches Training führt zu spezifischen kardialen Adaptationen. Insbesondere in Zwillingsstudien konnte gezeigt werden, dass sowohl die linksventrikuläre Masse (LVM) des Herzens im untrainierten Zustand, als auch die Anpassung der LVM auf Belastungsreize von genetischen Faktoren mitbeeinflusst wird. In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss von drei genetischen Polymorphismen der Renin-Angiotensin-Achse (RAS) auf die LVM bei hochtrainierten Ausdauerathleten untersucht. 150 männliche Athleten unterschiedlicher Sportarten mit einer maximalen Sauerstoffaufnahme von $>75 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ und einer Trainingshistorie von mindestens 5 Jahren nahmen an der Untersuchung teil. Die Herzdimensionen wurden echokardiographisch ermittelt, die LVM mit Hilfe der Devereux-Formel berechnet. Mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) und Gelelektrophorese wurden drei unterschiedliche Polymorphismen in den Genen des Angiotensin-Konvertierungs-Enzyms (ACE), des Angiotensin II-Typ 1-Rezeptors (AT1), sowie des Angiotensin II-Typ 2-Rezeptors (AT2) untersucht. Für keinen der drei untersuchten Polymorphismen konnte eine signifikante Assoziation zwischen einem bestimmten Allel und der LVM nachgewiesen werden. Bei der Analyse diverser Genotypenkombinationen fand sich jedoch eine signifikant höhere LVM bei Athleten mit der Kombination ACE/II-Genotyp und AT2 G-Allel.

Zusammenfassend fand sich kein Hinweis dafür, dass einer der untersuchten Polymorphismen eine eigenständige Rolle für die Ausprägung der LVM im untersuchten Probandenkollektiv spielt. Die Kombination aus ACE und AT2-Genotyp könnte allerdings einen gewissen Einfluss auf die Ausprägung der LVM bei Ausdauerathleten haben.

Schlüsselwörter: Ausdauerleistungsfähigkeit, Polymorphismus, RAS-Gene, linksventrikuläre Masse, Sportherz

Einleitung

Die Ausprägung eines Sportherzens ist eine Anpassungsreaktion an regelmäßige körperliche Aktivität, welche durch mechanische, elektrophysiologische und systemische (hormonell/nerval/autonom) Faktoren vermittelt wird (7). Das Ausmaß wird von Dauer, Intensität und Art der körperlichen Belastung bestimmt. Entscheidend für die Zunahme der linksventrikulären Masse ist der Ausdaueranteil einer Sportart. Ergebnisse aus Zwillingsstudien belegen, dass genetische

Summary

Regular physical exercise leads to specific cardiac adaptation. Twin studies have shown that left ventricular mass (LVM) in the untrained state, as well as the adaptation of heart size to exercise is influenced by genetic factors. The aim of our study was to investigate the influence of three genetic polymorphisms from the renin-angiotensin-system (RAS) on LVM in highly-trained endurance athletes. 150 male athletes from different endurance sports with a training history of 5 years or more and a maximum oxygen uptake $> 75 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ were recruited. Cardiac dimensions were measured by echocardiography, LVM was calculated using Devereux's formula. Polymerase chain reaction (PCR) was used to analyze three different polymorphisms in the genes encoding the angiotensin-converting-enzyme (ACE), the angiotensin II-type 1-receptor (AT1) and the angiotensin II-type 2-receptor (AT2). No significant association was found between a single variant of the three tested polymorphisms and LVM. Analyzing different genotype combinations we found a significantly higher LVM in athletes carrying the combination ACE/II-genotype and AT2 G-allele.

In conclusion, we found no evidence for an association between any one of the investigated polymorphisms and LVM in our study group. Nevertheless, we found some evidence that a specific combination of ACE genotype and AT2 genotype may play a role in cardiac adaptation in endurance athletes.

Key words: Endurance, polymorphism, RAS genes, left ventricular mass, athlete's heart

Faktoren bei der Größe der linksventrikulären Masse, wie auch bei der Ausbildung von linksventrikulären Strukturen eine Rolle spielen müssen (16,8,2). Auch bei Ausdauerathleten lässt sich zeigen, dass sie bei vergleichbarer Trainingsbelastung mit einer individuell unterschiedlichen Zunahme an linksventrikulärer Masse reagieren (13). Für die mit Bluthochdruck assoziierte linksventrikuläre Hypertrophie liegen zahlreiche Evidenzen für eine mögliche Beteiligung des Renin-Angiotensin-Systems (RAS) vor (11,10). Neuere Daten zeigen, dass das Angiotensinkonvertierungsenzym (ACE),

Angiotensinogen (AGT) und der Angiotensin II-Typ1-Rezeptor (AT1) im Myokard synthetisiert werden und ihre Expression während des Myokardwachstums hochreguliert wird (27,17). In vitro-Stimulationsexperimente an kardialen Myozyten mit Angiotensin II belegen die Notwendigkeit des funktionalen Angiotensin II-Typ 1-Rezeptors für das Myozytenwachstum (18). Derzeit liegen etliche Befunde vor, die einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen von RAS-Genen und linksventrikulärer Hypertrophie nahe legen. *Danser et al.* konnten zeigen, dass die An- oder Abwesenheit einer 287bp Deletion im Intron 16 des ACE-Gens (I/D-Polymorphismus) mit der kardialen ACE-Aktivität korreliert (4). Probanden mit dem DD-Genotyp hatten eine signifikant erhöhte ACE-Aktivität. Für das Deletionsallel wurde sowohl bei bluthochdruck-bedingter Hypertrophie als auch bei trainingsinduzierter Hypertrophie eine signifikante Assoziation mit einer größeren linksventrikulären Masse gezeigt (10,22,25). Für den Angiotensin II-Typ 2-Rezeptor (AT2) liegt eine Untersuchung vor, die einen Nukleotidaustausch im Intron 1 (G1675A) dieses X-chromosomal gelegenen Gens in Zusammenhang bringt mit hypertonieassoziierten Veränderungen des linken Ventrikels (29).

Die vorliegenden physiologischen und molekularbiologischen Daten bilden die Rationale, in einem Kollektiv von 150 hochtrainierten männlichen Ausdauerleistungssportlern mögliche signifikante Assoziationen zwischen der Größe der linksventrikulären Masse und dem I/D-Polymorphismus des ACE-Gens, dem A1166C-Polymorphismus des AT1-Gens oder dem G1675A-Polymorphismus des AT2-Gens zu untersuchen.

Material und Methoden

Probanden

In die Studie wurden 150 männliche Athleten der Disziplinen Laufen, Radfahren, Skilanglauf und Biathlon miteinbezogen. Insgesamt nahmen 8 Läufer, 31 Radfahrer, 49 Skilangläufer und 62 Biathleten teil. Voraussetzung für die Aufnahme in die Studie war eine Trainingshistorie von mindestens 5 Jahren, sowie eine maximale Sauerstoffaufnahme (VO_{2max}) von mindestens $75 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. Die Untersuchung genetischer Grundlagen der körperlichen Leistungsfähigkeit wurde im Rahmen der „Genathlete“-Studie durch die Ethikkommission der Universitätsklinik Freiburg begutachtet und genehmigt. Von allen Probanden liegt eine Einverständniserklärung zur Teilnahme an genetischen Studien vor.

Echokardiographie

Die Herzdimensionen wurden mittels 2-D- und M-Mode-Echokardiografie (Toshiba SSA-380A, 2,5/3,0MHz Multifrequenz Schallkopf) ermittelt. Sämtliche Untersuchungen wurden von einem einzelnen erfahrenen Untersucher durchgeführt. Die Probanden wurden in links-lateraler Lage untersucht (19). Septale und posteriore Wandstärke, sowie linksventrikuläre enddiastolische Dimensionen wurden nach den Protokollen der ASE (American Society of Echocardiography) ermittelt (19). Die linksventrikuläre Masse (LVM) wurde nach der Devereux-Formel kalkuliert und zur Berech-

nung des linksventrikulären Muskelmassen-Index (LVMI) für die Körperoberfläche korrigiert (5). Zur Auswertung wurden nur Untersuchungen herangezogen, die technisch einwandfrei waren und bei optimalen Untersuchungsbedingungen erhoben werden konnten.

Genotypisierung

Die genomische DNA wurde mit Hilfe eines Kits (Talent, Triest, Italien) aus EDTA-Vollblut der Probanden isoliert.

ACE: Der ACE Insertions-/Deletionspolymorphismus wurde anhand der 3 Primermethode bestimmt. Die Primersequenzen waren wie folgt:

- 5'-CATCCTTCTCCCAT-3' (Primer 1),
- 5'-TGGGATTACAGGCGTGATACAG-3' (Primer 2),
- 5'-ATTTTCAGAGCTGGAATAAAATT-3' (Primer 3).

Der PCR-Ansatz enthielt 50 ng Template-DNA, 10 pmol Primer 1 und 3, 7,5 pmol Primer 2, 0,1 mM dNTP, 1,5 mM $MgCl_2$, 0,5 U Taq-Polymerase (Eppendorf), 16 mM Ammoniumsulfat, 50 mM Tris-HCl pH 8,8, 0,01% Tween 20. Das PCR-Volumen betrug 20 μ l. Das PCR-Programm beinhaltete eine initiale Denaturierung für 3 min bei 95°C. Es schlossen sich 35 Zyklen mit 20 Sekunden 95°C, 1 Minute 56°C, 1 Minute 72°C an. Als Abschluss wurde eine letzte Synthesephase von 10 Minuten bei 72°C durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden auf einem 3%igen Agarosegel aufgetrennt.

AT1: Die Primersequenz für den kodierenden Strang war 5'-ATAATGTAAGCTCATCCACC-3', für den Gegenstrang 5'-GAGATTGCATTTCTGTCAGT-3'. Der PCR-Ansatz enthielt 50 ng Template-DNA, 10 pmol Primer, 0,3 mM dNTP, 1,5 mM $MgCl_2$, 0,5 U Taq-Polymerase (Eppendorf), 16 mM Ammoniumsulfat, 50 mM Tris-HCl pH 8,8, 0,01% Tween 20. Das PCR-Volumen betrug 20 μ l. Das PCR-Programm beinhaltete eine initiale Denaturierung für 3 min bei 93°C. Es schlossen sich 35 Zyklen mit 45 Sekunden 93°C, 1 Minute 57°C, 1 Minute 72°C an. Als Abschluss wurde eine letzte Synthesephase von 10 Minuten bei 72°C durchgeführt. 10 μ l des PCR-Ansatzes wurden mit 1 Unit DdeI (NEB) verdaut. Der Restriktionsansatz wurde auf einem 3%igen Agarosegel aufgetrennt.

AT2: Die Primersequenz für den kodierenden Strang war 5'-GGAAGGTAGAACATACATTAATG-3', für den Gegenstrang 5'-CCTGTAAGAGAAACAGCAGCTAAAGAATT-3'. Der PCR-Ansatz enthielt 50 ng Template-DNA, 10 pmol Primer, 0,2 mM dNTP, 1,5 mM $MgCl_2$, 0,5 U Taq-Polymerase (Eppendorf), 16 mM Ammoniumsulfat, 50 mM Tris-HCl pH 8,8, 0,01% Tween 20. Das PCR-Volumen betrug 20 μ l. Das PCR-Programm beinhaltete eine initiale Denaturierung für 3 min bei 95°C. Es schlossen sich 35 Zyklen mit 45 Sekunden 95°C, 1 Minute 55°C, 1 Minute 72°C an. Als Abschluss wurde eine letzte Synthesephase von 10 Minuten bei 72°C durchgeführt. 10 μ l des PCR-Ansatzes wurden mit 1 Unit EcoRI (NEB) verdaut. Der Restriktionsansatz wurde auf einem 3%igen Agarosegel aufgetrennt.

Die Detektion der PCR- bzw. Verdauprodukte erfolgte jeweils durch Färbung mit Ethidiumbromid und Fluoreszenz im UV-Licht.

Statistische Methoden

Die statistischen Auswertungen wurden mit dem Programm SPSS 11.01 (SPSS Inc., Chicago, Illinois) durchgeführt. Mittels eines Chi²-Tests wurde überprüft, ob die beobachteten Frequenzen der ACE- und AT1-Genotypen im Hardy-Weinberg Gleichgewicht vorliegen. Alle quantitativen Phänotypen werden als Mittelwert mit Standardabweichung angegeben. Die Bedeutung der Sportart für die Ausprägung der linksventrikulären Masse wurde über eine univariate Varianzanalyse untersucht, bei der Alter, Zahl der Trainingsjahre und BMI als Kovariablen eingesetzt wurden. Um zu untersuchen, ob eine Beziehung zwischen den Parametern LVM bzw. LVMI und bestimmten Genotypen vorliegt, wurde für das ACE-Gen, wie für das AT1-Gen eine Unterteilung des Studienkollektivs in Genotypen vorgenommen. Um zu analysieren, ob bestimmte Allele des ACE-, AT1- oder AT2-Gens einen Einfluss auf die LVM bzw. die LVMI besitzen, wurde das Athletenkollektiv zusätzlich in Carrier und Nicht-Carrier unterteilt. Zusätzlich wurde zur Kontrolle einer möglichen Interaktion aus ACE-Genotyp und dem Vorliegen eines bestimmten AT2-Allels das Athletenkollektiv nach ACE-Genotyp x AT2-Allelkombination unterteilt.

Die Verteilung der quantitativen Variablen zwischen den Genotypen und Carriern der einzelnen Gene wurde über nicht-parametrische Tests überprüft. Die Verteilung der quantitativen Variablen zwischen den Genotyp-Allelkombinationen wurde anhand einer univariaten Varianzanalyse überprüft. Die Verteilung der Sportarten innerhalb dieser Klassen wurde mit einem Chi²-Test untersucht. P-Werte unter 0,05 wurden als signifikant betrachtet.

Ergebnisse

Das Durchschnittsalter der Athleten lag bei 20,3 ± 4,7 Jahren. Die mittlere Trainingshistorie betrug 9,3 ± 4 Jahre. Der durchschnittliche BMI lag bei 21,8 ± 1,4 kg/m², die VO₂max betrug 79,6 ± 3,6 ml·kg⁻¹·min⁻¹. Die LVM wurde mit 269,2 ± 54,2 g (Min.: 164 g, Max.: 423 g) bestimmt, korrigiert für die Körperoberfläche ergab sich eine LVMI von 142,7 ± 24,4 g/m² (Min.: 95,8 g/m², Max.: 217,5 g/m²). Die Zahl der Trainingsjahre (p=0,08) und das Alter (p=0,327) der Athleten sind in dem untersuchten Kollektiv nicht signifikant mit der LVM korreliert. Die Sportart (p<0,001) und der BMI (p<0,001) sind hochsignifikant mit der Ausprägung der linksventrikulären Masse assoziiert, wobei die Radfahrer im untersuchten Kollektiv im Durchschnitt die größten Herzen aufweisen. Die Genotypen von ACE und AT1 befinden sich in der untersuchten Population im Hardy-Weinberg Gleichgewicht. Alter, Zahl der Trainingsjahre, BMI und sind in den Genotypen- wie den Carrierklassen bei allen drei Genen gleich ver-

Tabelle 1: Phänotypische Variablen der Probanden nach ACE- bzw. AT1- Genotyp

ACE	II	ID	DD	p
n=150	41	61	48	
Alter (Jahre)	20,4±4,4	20,2±4,9	20,2±4,8	0,894
Trainingsjahre	9,7±4,1	8,6±3,8	9,7±4,3	0,211
VO ₂ max (ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)	79,9±3,9	79,2±3,9	79,5±3,5	0,519
BMI (kg/m ²)	21,9±1,3	21,7±1,5	21,8±1,4	0,757
LVM (g)	279,4±56,3	269,2±55,7	260,7±49,7	0,259
LVMI (g/m ²)	147,0±22,5	142,6±24,7	139,2±25,6	0,154
AT1	AA	AC	CC	p
n=149	69	57	23	
Alter (Jahre)	20,0±4,5	20,7±5,1	19,9±4,5	0,745
Trainingsjahre	9,6±4,1	8,9±4,2	9,0±3,9	0,372
VO ₂ max (ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)	79,4±3,8	79,7±3,9	79,4±3,3	0,921
BMI (kg/m ²)	21,7±1,5	21,9±1,4	21,7±1,4	0,906
LVM (g)	271,0±58,8	265,0±46,3	272,1±59,3	0,883
LVMI (g/m ²)	143,2±25,9	141,9±22,1	142,6±26,8	0,996

Die Angaben für die phänotypischen Parameter beziehen sich auf Mittelwert ± Standardabweichung. VO₂max= maximale Sauerstoffaufnahme in ml·kg⁻¹·min⁻¹, BMI = Body Mass Index in kg/m², LVM = linksventrikuläre Masse in g, LVMI = linksventrikulärer Muskelmassenindex in g/m². Die Verteilung der Variablen wurde mit dem Kruskal-Wallis-Test untersucht. II, ID und DD = Genotypen des ACE-Gens, AA, AC und CC = Genotypen des AT1-Gens.

teilt (Tab. 1,2). Weder für ACE noch für AT1 besteht eine signifikante Assoziation eines Genotyps mit der LVM oder dem LVMI (Tab. 1). Der Vergleich zwischen II- und DD-Genotypen bezüglich LVMI zeigt eine Tendenz zu geringerer LVM beim DD-Genotyp (p=0,074). Auch in der Carrieranalyse zeigt sich keine signifikante Assoziation zwischen einem bestimmten Allel des ACE-, AT1- bzw. AT2-Gens und der LVM oder dem

Tabelle 2: Phänotypische Variablen der Probanden nach ACE-, AT1-, AT2-Carrierstatus

ACE	I	D	p
n=150	102	109	
Alter (Jahre)	20,3±4,7	20,2±4,8	0,678
Trainingsjahre	9,0±3,9	9,1±4,0	0,389
VO ₂ max (ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)	79,5±3,9	79,3±3,7	0,343
BMI (kg/m ²)	21,7±1,4	21,7±1,5	0,595
LVM (g)	273,3±55,9	265,4±53,1	0,163
LVMI (g/m ²)	144,4±23,8	141,1±25,0	0,095
AT1	A	C	p
n=149	126	80	
Alter (Jahre)	20,3±4,8	20,5±4,9	0,973
Trainingsjahre	9,3±4,1	8,9±4,1	0,939
VO ₂ max (ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)	79,5±3,8	79,6±3,7	0,956
BMI (kg/m ²)	21,8±1,4	21,8 ±1,4	0,939
LVM (g)	268,3±53,4	267,1±50,1	0,752
LVMI (g/m ²)	142,6±24,2	142,1±23,4	0,983
AT2	A	G	p
n=149	80	69	
Alter (Jahre)	19,6±3,7	21,0±5,6	0,200
Trainingsjahre	8,9±3,6	9,7±4,5	0,457
VO ₂ max (ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)	79,2±3,7	79,9±3,8	0,269
BMI (kg/m ²)	21,9±1,4	21,6±1,4	0,341
LVM (g)	265,8±56,7	272,4±51,3	0,180
LVMI (g/m ²)	141,0±25,2	144,4±23,7	0,165

Die Angaben für die phänotypischen Parameter beziehen sich auf Mittelwert ± Standardabweichung. VO₂max= maximale Sauerstoffaufnahme in ml·kg⁻¹·min⁻¹, BMI = Body Mass Index in kg/m², LVM = linksventrikuläre Masse in g, LVMI = linksventrikulärer Muskelmassenindex in g/m². I, D = Insertions- bzw. Deletionsallele des ACE-Gens. A, C = Allele des AT1-Gens. A, G = Allele des AT2-Gens. Die Verteilung der Variablen wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test untersucht. Die p-Werte für die ACE-Carrieranalyse beziehen sich auf den Vergleich von D-Carriern zu nicht D-Carriern, bei der AT1-Carrieranalyse wurden A-Carrier mit nicht A-Carriern verglichen.

Tabelle 3: Phänotypische Variablen und Sportartenverteilung innerhalb der ACE-Genotyp x AT2-Allel Kombinationen

	II + A	II + G	ID + A	ID + G	DD + A	DD + G	p
N	24	17	28	32	28	20	
Alter (Jahre)	19,5±3,4	21,6±5,3	19,5±4,0	20,8±5,7	19,7±3,7	21,0±6,1	0,913
Trainingsjahre	8,9±3,2	10,8±5,0	8,9±4,2	8,2±3,4	8,7±3,5	11,0±5,1	0,137
VO ₂ max (ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)	79,7±3,7	80,2±4,2	79,3±4,3	79,3±3,6	78,7±3,0	80,5±3,9	0,506
BMI (kg/m ²)	21,7±1,3	22,0±1,7	21,7±1,6	21,7±1,5	22,2±1,3	21,3±1,5	0,136
Sportart	B 12 SKL 5 R 6 L 1	B 3 SKL 7 R 7	B 11 SKL 8 R 7 L 2	B 14 SKL 7 R 8 L 3	B15 SKL 11 R 1 L 1	B6 SKL 11 R 2 L 1	0,037

Die Angaben für die phänotypischen Parameter beziehen sich auf Mittelwert ± Standardabweichung. VO₂max= maximale Sauerstoffaufnahme in ml·kg⁻¹·min⁻¹, BMI = Body Mass Index in kg/m². II, ID, DD bezeichnen den ACE-Genotyp, A und G bezeichnen das vorliegende AT2-Allel. B=Biathlon, SKL= Skilanglauf, R=Radsport, L=Läufer. Der Einfluss der ACE-Genotyp/AT2-Allelkombinationen auf Alter, Zahl der Trainingsjahre und BMI wurde mittels univariater Varianzanalyse getestet. Unterschiede in der Verteilung der Sportarten wurden über einen Chi²-Test untersucht, bei dem die Läufer aufgrund der geringen Fallzahl nicht miteinbezogen wurden.

LVMI (Tab. 2). Bei der Auswertung der ACE/AT2-Genotypen-kombinationen sind die Probandenklassen bezüglich Alter, Zahl der Trainingsjahre, BMI oder VO₂max vergleichbar (Tab. 3). Sie unterscheiden sich allerdings in der Verteilung der Sportarten (p=0,037, Tab. 3). Für die Größen LVM und den LVMI ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Genotyp-Allel-Kombinationen (p=0,038 bzw. p=0,01, Tab. 4). Träger des II-Genotyps, die gleichzeitig das G-Allel des AT2-Gens tragen, zeichnen sich durch einen signifikant höheren Wert an LVM, sowie LVMI aus.

Tabelle 4: LVM und LVMI in den ACE-Genotyp x AT2-Allelkombinationen

ACE-Genotyp x AT2-Allel	LVM (g)	LVMI (g/m ²)
II + A	265,5±56,7	139,3±21,3
II + G	299,0±51,0	157,9±20,1
ID + A	278,7±62,5	147,9±27,8
ID + G	259,2±48,3	137,5±21,1
DD + A	253,2±49,1	135,6±24,8
DD + G	271,1±49,8	144,2±26,4
P	0,038	0,010

Die Angaben für LVM und LVMI beziehen sich auf Mittelwert ± Standardabweichung. LVM = linksventrikuläre Masse in g, LVMI = linksventrikulärer Muskelmassenindex in g/m². II, ID, DD bezeichnen den ACE-Genotyp, A und G bezeichnen das vorliegende AT2-Allel. Der Einfluss der ACE-Genotyp/AT2-Allelkombinationen wurde mittels univariater Varianzanalyse untersucht.

Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie, in der 150 Ausdauerathleten verschiedener Sportarten untersucht wurden, zeigt, dass sich weder für Genotypen noch für Carrier eines bestimmten Allels bei ACE, AT1 und AT2 signifikante Unterschiede in der LVM bzw. im LVMI ergaben. Jedoch besitzen homozygote Träger des ACE-Insertionsallels, die gleichzeitig das G-Allel des AT2-Polymorphismus tragen, eine größere LVM und einen höheren LVMI, was auf einen Einfluss dieser Kombination auf die Anpassung des Herzens bei Ausdauerathleten hindeuten könnte. Dieser Befund steht im Gegensatz zu anderen Publikationen aus dem Bereich der trainingsinduzierten Myokardhypertrophie, die von einer Assoziation des ACE-Deletionsallels mit einer größeren linksventri-

kulären Masse berichten. *Montgomery und Mitarbeiter* (22) fanden bei 140 Militärrekruten, die sich einem 10 wöchigen Training unterzogen, einen größeren Zuwachs an LVM bei ACE DD- und ID-Genotypen verglichen zu II-Genotypen. Diese Befunde wurden von ihnen in einer weiteren Studie bestätigt, in der Rekruten nach II- und DD-Genotyp unterteilt wurden und sich nach dem 10 wöchigen Ausdauertraining nur für die DD-Genotypen ein signifikanter Zuwachs an LVM feststellen ließ (25). Auch *Fatini et al.* stellten fest, dass in einem Kollektiv von 28 Profifußballern die Träger des D-Allels nach einem 7monatigen Training eine größere LVM aufwiesen (9). In einem Kollektiv von 43 Ultramarathonläufern ließ sich derselbe Effekt aufzeigen. Träger des D-Allels besaßen eine größere LVM als Träger des I-Allels (26).

Jedoch existieren auch andere Publikationen, die für das ACE-Gen keinerlei Einfluss auf die linksventrikuläre Hypertrophie nachweisen konnten. *Kupari et al.* konnten in einem Kollektiv von 86 gesunden Probanden, die nach ACE-Genotyp unterteilt waren, keinerlei signifikante Unterschiede bezüglich LVM oder linksventrikulärer Funktion feststellen (15). Auch bei Ausdauerathleten wurden solche Untersuchungen durchgeführt, die gleichfalls keinen Unterschied in LVM (12) bzw. LVM und weiteren Herzdimensionen (6) in Abhängigkeit vom ACE-Genotyp fanden.

Bisher veröffentlichte Studien zur genetischen Grundlage der trainingsinduzierten linksventrikulären Adaptation, insbesondere die Querschnittsstudien, wurden mit grenzwertig kleinen Kollektiven durchgeführt (6,12,26). Dies gilt auch für die Studie von *Fatini und Mitarbeitern*, welche zwar den Vorteil eines prospektiven Designs aufweist, allerdings in der Gruppe der homozygoten I-Allel Träger nur eine Fallzahl von n=4 Sportlern aufweist (9). Letztlich erscheint bei der Durchsicht der Literatur, insbesondere bezüglich des ACE I/D-Polymorphismus die Probandenzahl der entsprechenden Studien von entscheidender Bedeutung zu sein. Im Bereich der kardiologischen Fragestellung fanden, nach anfänglich euphorischen Ergebnissen in kleinen Studien, alle großen Meta-Analysen keine Effekte dieser genetischen Variante auf die untersuchten Zielgrößen (art. Hypertonie, KHK, etc.) (1,14). Verglichen mit den anderen Querschnittsstudien aus dem Bereich der LVM- Adaptation unter Belastung in Abhängigkeit genetischer Marker (6,9), ist die von uns unter-

suchte Kohorte die bei weitem zahlenstärkste und am besten definierte Probandengruppe (Ausdauersport, Trainingsalter, $VO_2\max$, LVM als Eintrittskriterium). Bei einer Kohortengröße von 150 Probanden und strengen Einschlusskriterien erscheint eine Studiengröße erreicht, ab welcher sinnvolle Aussagen zur Allel- und Genotypenverteilung bei einem gut definierten Phänotyp (LVM) möglich sein sollten.

Die formal-methodisch beste Studie in diesem Bereich ist zweifelsohne die Untersuchung von *Myerson* aus dem Jahr 2001, bei welcher ein prospektives Design, eine ausreichende Probandenzahl und die derzeit verlässlichste Messmethode (Kardio-NMR) für die LVM angewendet wurde (25). Die echokardiographische Messmethodik, welche im Gegensatz hierzu in unserer Studie zur Anwendung kam, erscheint für eine Querschnittsstudie allerdings ausreichend genau, insbesondere berücksichtigend, dass alle Untersuchungen von dem selben erfahrenen Untersucher durchgeführt wurden. Die Tatsache, dass die echokardiographisch bestimmte LVM in der Regel etwas zu hoch eingeschätzt wird (3), hat hierbei als gleichmäßiger Faktor für alle Probanden keine Auswirkung auf die Assoziationsauswertung.

Auch bei kritischer Wertung all dieser Voraussetzungen muss daher offen bleiben, weshalb in der vorliegenden Studie, im Gegensatz zu den Ergebnissen der Arbeitsgruppe um *Montgomery und Mitarbeiter*, die D-Allel Träger in der Tendenz sogar geringere LVM und LVMI-Werte aufweisen als die I-Allel Träger unter den Athleten (Tab. 1).

Ähnlich widersprüchliche Ergebnisse bezüglich eines potentiellen Einflusses des ACE-Gens auf die linksventrikuläre Hypertrophie finden sich in Arbeiten, die sich mit den genetischen Grundlagen der linksventrikulären Hypertrophie bei Bluthochdruck beschäftigen (10,11,30).

Insgesamt wird die Bedeutung des ACE I/D-Polymorphismus für die Herzdimension, wie im übrigen auch für die allgemeine körperliche Leistungsfähigkeit, sehr kontrovers diskutiert (23,28,31). Die biologischen Hintergründe einer RAS vermittelten Beeinflussung, insbesondere der körperlichen Leistungsfähigkeit sind bis dato ungeklärt. Die Tatsache, dass D-Allel Status mit einer höheren LVM einhergehen soll (22) und I-Allel Status gleichzeitig einen entscheidend positiven Einfluss auf die Ausdauerleistungsfähigkeit haben sollte (24), ist zumindest in Teilen widersprüchlich. In der Gesamtschau der Befunde muss zum jetzigen Zeitpunkt offen bleiben, ob und wie weit der ACE I/D-Polymorphismus eine Rolle für die trainingsinduzierte linksventrikuläre Hypertrophie spielt.

In der vorliegenden Studie konnte kein Einfluss des AT1-Gens auf die linksventrikuläre Masse detektiert werden. Dies steht in Einklang mit anderen Befunden, die bei Ausdauerathleten gleichfalls keine Assoziation eines AT1-Polymorphismus mit LVM feststellen konnten (12,6). *Myerson et al.* konnten in einer anderen Fall-Vergleichsstudie mit britischen Rekruten zeigen, dass die mit dem DD-Genotyp assoziierte trainingsinduzierte Zunahme der LVM bei Probanden, die mit dem AT1-Antagonisten Losartan behandelt wurden, nicht signifikant beeinträchtigt war (25). Aus diesen Untersuchungen lässt sich schließen, dass eine eventuelle Beeinflussung der LV-Adaptation durch Angiotensin II nicht über

den AT1-Rezeptor vermittelt wird. Hier könnten unter Umständen andere Rezeptoren wie der AT4-Rezeptor oder direkte Einflüsse wachstums-regulierender Kinine auf die Myozyten eine Rolle spielen (20,21). Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass keine der bislang durchgeführten genetischen Assoziationsstudien eine Evidenz dafür erbringen konnte, dass der untersuchte AT1-Rezeptor-Polymorphismus von Bedeutung für die Ausprägung der trainingsinduzierten LV-Adaptation ist.

Assoziationsstudien, die einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen des AT2-Gens und linksventrikulärer Hypertrophie untersuchen, wurden bisher kaum durchgeführt. Der in der vorliegenden Studie untersuchte Polymorphismus des AT2-Gens (G1675A) liegt im Intron 1 und wurde von *Schmieder et al.* erst im vergangenen Jahr beschrieben (29). Diese Arbeitsgruppe untersuchte die Verteilung für diesen Polymorphismus in einer Fall-Vergleichsstudie mit 60 leicht hypertensiven jungen Männern und 60 gesunden Kontrollen. In der Hypertoniekohorte ließ sich eine Assoziation des A-Allels mit einem höheren LVMI-Wert und größeren kardialen Wandstärkeparametern feststellen, während in der Kontrollkohorte keine Assoziation zwischen einem AT2-Allel und unterschiedlichen morphologischen Parametern des Herzens auftrat.

Die in unserer Studie gefundene Assoziation zwischen einer Kombination aus ACE und AT2 Genotypen mit linksventrikulären Größenparametern ist bisher nicht beschrieben. Eine ausführliche Diskussion über evtl. Mechanismen einer Beeinflussung der physiologischen Anpassung des kardialen Systems an Belastungsreize durch die Gene der RAS-Achse erscheint aufgrund der sehr konträren Ergebnisse für das ACE-Gen und der zu geringen Datenbasis für die AT2-Varianten derzeit nicht sinnvoll. Insgesamt sollten die bislang vorliegenden Befunde zu einer potentiellen Beteiligung der von uns untersuchten Polymorphismen der RAS-Achse vorsichtig interpretiert werden und unbedingt in anderen Studien bzw. mit vergrößertem Kollektiv repliziert werden. Wie schon zuvor angesprochen, bleibt in der Zusammenschau unserer eigenen Befunde und den bisher in diesem Bereich veröffentlichten Daten zur Interaktion der Gene der RAS-Achse mit der trainingsbedingten Größenadaptation des Herzens ein großes Fragezeichen bestehen. Die Herausforderung für die Zukunft wird darin bestehen, in großen Multi-Center-Studien zahlenstarke Querschnittskollektive gut definierter, hochtrainierter Ausdauerathleten zu rekrutieren. Parallel dazu müssen allerdings auf jeden Fall langfristig (5-8 Jahre) angelegte, prospektive Studien etabliert werden, die eine künftige Untersuchung der chronischen Adaptation des Herzens auf körperliche Belastungsreize unter Berücksichtigung genetischer Varianten ermöglichen.

Literatur

1. *Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A: ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites [see comments]. Arterioscler Thromb Vasc Biol 20 (2000) 484-492.*

2. Bielen E, Fagard R, Amery A: The inheritance of left ventricular structure and function assessed by imaging and Doppler echocardiography. *Am Heart J* 121 (1991) 1743-1749.
3. Bottini PB, Carr AA, Prisant LM, Flickinger FW, Allison JD, Gottdiener JS: Magnetic resonance imaging compared to echocardiography to assess left ventricular mass in the hypertensive patient. *Am J Hypertens* 8 (1995) 221-228.
4. Danser AH, Schalekamp MA, Bax WA, van den Brink AM, Saxena PR, Riegger GA, Schunkert H: Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation* 92 (1995) 1387-1388.
5. Devereux RB: Detection of left ventricular hypertrophy by M-mode echocardiography. Anatomic validation, standardization, and comparison to other methods. *Hypertension* 9 (1987) 119-26.
6. Diet F, Graf C, Mahnke N, Wassmer G, Predel HG, Palma-Hohmann I, Rost R, Bohm M: ACE and angiotensinogen gene genotypes and left ventricular mass in athletes. *Eur J Clin Invest* 31 (2001) 836-842.
7. Ehsani AA, Hagberg JM, Hickson RC: Rapid changes in left ventricular dimensions and mass in response to physical conditioning and deconditioning. *Am J Cardiol* 42 (1978) 52-56.
8. Fagard R, Van Den Broeke C, Bielen E, Amery A: Maximum oxygen uptake and cardiac size and function in twins. *Am J Cardiol* 60 (1987) 1362-1367.
9. Fatini C, Guazzelli R, Manetti P, Battaglini B, Gensini F, Vono R, Toncelli L, Zilli P, Capalbo A, Abbate R, Gensini GF, Galanti G: RAS genes influence exercise-induced left ventricular hypertrophy: an elite athletes study. *Med Sci Sports Exerc* 32 (2000) 1868-1872.
10. Gharavi AG, Lipkowitz MS, Diamond JA, Jhang JS, Phillips RA: Deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is independently associated with left ventricular mass and geometric remodeling in systemic hypertension. *Am J Cardiol* 77 (1996) 1315-1319.
11. Iwai N, Ohmichi N, Nakamura Y, Kinoshita M: DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation* 90 (1994) 2622-2628.
12. Karjalainen J, Kujala UM, Stolt A, Mantysaari M, Viitasalo M, Kainulainen K, Kontula K: Angiotensinogen gene M235T polymorphism predicts left ventricular hypertrophy in endurance athletes. *J Am Coll Cardiol* 34 (1999) 494-499.
13. Karjalainen J, Mantysaari M, Viitasalo M, Kujala U: Left ventricular mass, geometry, and filling in endurance athletes: association with exercise blood pressure. *J Appl Physiol* 82 (1997) 531-537.
14. Keavney B, McKenzie C, Parish S, Palmer A, Clark S, Youngman L, Delepine M, Lathrop M, Peto R, Collins R: Large-scale test of hypothesised associations between the angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism and myocardial infarction in about 5000 cases and 6000 controls. International Studies of Infarct Survival (ISIS) Collaborators. *Lancet* 355 (2000) 434-442.
15. Kupari M, Perola M, Koskinen P, Virolainen J, Karhunen PJ: Left ventricular size, mass, and function in relation to angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in humans. *Am J Physiol* 267 (1994) H1107-H1111.
16. Landry F, Bouchard C, Dumesnil J: Cardiac dimension changes with endurance training. Indications of a genotype dependency. *JAMA* 254 (1985) 77-80.
17. Lee YA, Liang CS, Lee MA, Lindpaintner K: Local stress, not systemic factors, regulate gene expression of the cardiac renin-angiotensin system in vivo: a comprehensive study of all its components in the dog. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93 (1996) 11035-11040.
18. Liu Y, Leri A, Li B, Wang X, Cheng W, Kajstura J, Anversa P: Angiotensin II stimulation in vitro induces hypertrophy of normal and postinfarcted ventricular myocytes. *Circ Res* 82 (1998) 1145-1159.
19. Martin WH, III, Coyle EF, Bloomfield SA, Ehsani AA: Effects of physical deconditioning after intense endurance training on left ventricular dimensions and stroke volume. *J Am Coll Cardiol* 7 (1986) 982-989.
20. Matsubara H: Pathophysiological role of angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular and renal diseases. *Circ Res* 83 (1998) 1182-1191.
21. McDonald KM, Mock J, D'Aloia A, Parrish T, Hauer K, Francis G, Stillman A, Cohn JN: Bradykinin antagonism inhibits the antigrowth effect of converting enzyme inhibition in the dog myocardium after discrete transmural myocardial necrosis. *Circulation* 91 (1995) 2043-2048.
22. Montgomery HE, Clarkson P, Dollery CM, Prasad K, Losi MA, Hemingway H, Statters D, Jubb M, Girvain M, Varnava A, World M, Deanfield J, Talmud P, McEwan JR, McKenna WJ, Humphries S: Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. *Circulation* 96 (1997) 741-747.
23. Montgomery HE, Marshall R, Hemingway H, Myerson S, Clarkson P, Dollery C, Hayward M, Holliman DE, Jubb M, World M, Thomas, EL, Brynes AE, Saeed N, Barnard M, Bell JD, Prasad K, Rayson M, Talmud, PJ, Humphries SE: Human gene for physical performance [letter]. *Nature* 393 (1998) 221-222.
24. Myerson S, Hemingway H, Budget R, Martin J, Humphries S, Montgomery H: Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *J Appl Physiol* 87 (1999) 1313-1316.
25. Myerson SG, Montgomery HE, Whittingham M, Jubb M, World MJ, Humphries SE, Pennell DJ: Left Ventricular Hypertrophy With Exercise and ACE Gene Insertion/Deletion Polymorphism: A Randomized Controlled Trial With Losartan. *Circulation* 103 (2001) 226-230.
26. Nagashima J, Musha H, Takada H, Awaya T, Oba H, Mori N, Ohmiya K, Nobuoka S, Murayama M: Influence of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on development of athlete's heart. *Clin Cardiol* 23 (2000) 621-624.
27. Raman VK, Lee YA, Lindpaintner K: The cardiac renin-angiotensin-aldosterone system and hypertensive cardiac hypertrophy. *Am J Cardiol* 76 (1995) 18D-23D.
28. Rankinen T, Wolfarth B, Simoneau JA, Maier-Lenz D, Rauramaa R, Rivera MA, Boulay MR, Chagnon YC, Perusse L, Keul J, Bouchard C: No association between the angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status. *J Appl Physiol* 88 (2000) 1571-1575.
29. Schmieder RE, Erdmann J, Delles C, Jacobi J, Fleck E, Hilgers K, Regitz-Zagrosek V: Effect of the angiotensin II type 2-receptor gene (+1675 G/A) on left ventricular structure in humans. *J Am Coll Cardiol* 37 (2001) 175-182.
30. Shlyakhto EV, Shwartz EI, Nefedova YB, Zukova AV, Vinnic TA, Conrady AO: Lack of association of the renin-angiotensin system genes polymorphisms and left ventricular hypertrophy in hypertension. *Blood Press* 10 (2001) 135-141.
31. Sonna LA, Sharp MA, Knapik JJ, Cullivan M, Angel KC, Patton JF, Lilly CM: Angiotensin-converting enzyme genotype and physical performance during US Army basic training. *J Appl Physiol* 91 (2001) 1355-1363.

Korrespondenzadresse:

Dr. Susanne Mühlbauer

Universitätsklinik Freiburg

Abteilung Rehabilitative und Präventive Sportmedizin

Hugstetterstr. 55

79106 Freiburg

Fax: +497612706328

Email: sum@msm1.ukl.uni-freiburg.de