

Medizinische Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin
Aus der Abteilung für Endokrinologie, Diabetes und Ernährungsmedizin und
dem Deutschen Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke
Abteilung Klinische Ernährung
Leiter: Prof. Dr. Andreas F. H. Pfeiffer

Der PPAR γ -Pro12Ala-Polymorphismus und metabolisches Syndrom

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Zahnärztin Carolin Klonower
aus Potsdam

Referent: Prof. Dr. med. A. F. H. Pfeiffer
Korreferent: Priv.-Doz. Dr. med. U. Kintscher

Gedruckt mit Genehmigung der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 23.06.2006

*Die Fragen sind es, aus denen das, was bleibt, entsteht.
Erich Kästner (1899-1974), deutscher Schriftsteller*

Verwendete Abkürzungen

100-bp-Leiter	100-Basenpaar-Leiterstock
ADA	American Diabetes Association
AF-1/-2	Transaktivierungsfunktion-1/-2
Arg1152Gln	Aminosäureaustausch von Arginin zu Glutamin am Codon 1152
BMI	Body-Mass-Index
BMR	Basic metabolic rate; Stoffwechselgrundumsatz
DBD	DNA-Bindungsdomäne
DDG	Deutsche Diabetesgesellschaft
ddNTP	Didesoxyribonukleosidtriphosphate
DNA	Deoxyribonucleic acid; Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleotidtriphosphate
EGIR	European Group for the Study of Insulin Resistance
ELISA	Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent Assay
FFA	Free fatty acids; freie Fettsäuren
FS	Fettsäure
HbA1c	Hämoglobin A1c; Langzeitblutzuckerwert
HDL	High-density lipoprotein
HETE	Hydroxyeicosatetraensäure
HODE	Hydroxyoctadecadiensäure
HOMA	Homeostasis modell assessment
hPPAR γ	Human peroxisome proliferator-activated receptor γ
HSP	Hitzeschockprotein
IDF	International Diabetes Federation
IFG	Impaired fasting glucose; gestörte Nüchtern glukose
IGT	Impaired glucose tolerance; gestörte Glukosetoleranz
IL	Interleukin
iNOS	Inducible NO-synthase; induzierbare NO-Synthase
IR	Insulinresistenz-Index
IRS-1/-2	Insulinrezeptorsubstrat-1/-2
ISI	Insulinsensitivitäts-Index
LBD	Liganden-bindende Domäne
LBM	Lean body mass; fettfreie Körpermasse
LDL	Low-density lipoprotein
LE-Agarose	Low endosmose-agarose

II Abkürzungsverzeichnis

Lys1068Gln	Aminosäurenaustausch von Lysin zu Glutamin am Codon 1068
MeSyBePo-Studie	Metabolisches Syndrom Berlin Potsdam-Studie
MET	Metabolic equivalent
mRNA	Messenger ribonucleic acid; Boten-Ribonukleinsäure
NCEP ATP III	National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III
NEFA	Non-esterified fatty acids; nichtveresterte Fettsäuren
NGT	Normal glucose tolerance; normale Glukosetoleranz
NHR	Nukleäre Hormonrezeptoren
oGTT	Oraler Glukosetoleranztest
oxLDL	Oxidiertes low-density lipoprotein
PCR	Polymerase chain reaction; Polymerase-Kettenreaktion
PG	Prostaglandin
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptor; durch Peroxisomen-Proliferatoren aktivierter Rezeptor
PPRE	PPAR-response element
Pro12Ala	Aminosäurenaustausch von Prolin zu Alanin am Codon 12
PUFA	Polyunsaturated fatty acids; mehrfach ungesättigte Fettsäuren
QUICKI	Quantitative insulin sensitivity check index
RXR	Retinoid-X-Rezeptor
SFA	Saturated fatty acids; gesättigte Fettsäuren
SNP	Single nucleotide polymorphism; Punktmutation
SNuPE	Single nucleotide primer-extension
S-Primer	SNP detection-primer; Sequenzierungsprimer
SR-A	Scavenger receptor A
STH	Somatotropes Hormon, Somatotropin
TAE-Puffer	Tris-Acetat-EDTA-Puffer
Taq	Thermophilus aquaticus
TBF	Total body fat; Gesamtkörperfettmasse
TG	Triglyzeride
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor- α
TZD	Thiazolidinedione
Val985Met	Aminosäurenaustausch von Valin zu Methionin am Codon 985
VDR	Vitamin-D-Rezeptor
VLDL	Very low-density lipoprotein
WHO	World Health Organization
WHR	Waist-to-Hip-Ratio

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Metabolisches Syndrom	1
1.1.1	Definition und Diagnose.....	1
1.1.2	Prävalenz.....	2
1.1.3	Komponenten des metabolischen Syndroms.....	2
1.2	Peroxisome proliferator-activated receptors	12
1.2.1	Einteilung und Struktur	12
1.2.2	Gewebeverteilung.....	13
1.2.3	PPAR als Regulatoren der Transkription.....	14
1.2.4	Liganden des PPAR	15
1.2.5	Wirkung von PPAR γ im menschlichen Organismus	16
1.3	Pro12Ala - Zielstellung der Arbeit.....	19
2	Methodik	23
2.1	Beschreibung der Studienkohorte.....	23
2.2	Gendiagnostik - Darstellung des Polymorphismus.....	23
2.2.1	Polymerase-Kettenreaktion.....	24
2.2.2	Aufreinigung des PCR-Amplifikats	26
2.2.3	SNP-Sequenzierung.....	27
2.2.4	Aufreinigung des SNUPE-Produkts.....	29
2.2.5	Single nucleotide polymorphism-Analyse	29
2.3	Qualitätssicherung.....	30
2.3.1	Sequenzierung des PCR-Amplifikats.....	30
2.3.2	Gelelektrophorese mit Photodokumentation.....	31
2.3.3	Überprüfung auf Kontamination	31
2.3.4	Auswertung der Ergebnisse der Sequenzierung.....	32
2.4	Bestimmung der Laborparameter.....	32
2.4.1	Insulinkonzentration, HbA1c-Wert und Blutfettwerte.....	32
2.4.2	Plasmaglukose - Orale Glukosetoleranztest.....	33
2.5	Anthropometrie und Blutdruckmessung.....	33
2.5.1	Körpergröße, Gewicht und BMI.....	33
2.5.2	Taillenumfang, Hüftumfang und Waist-to-Hip-Ratio	34
2.5.3	Körperfettanteil, Gesamtkörperfett und fettfreie Körpermasse	34

2.5.4	Blutdruckmessung.....	35
2.6	Bestimmung der Insulinsensitivität.....	35
2.6.1	Clampetest.....	35
2.6.2	Indizes der Insulinsensitivität.....	36
2.7	Erfassung des Ernährungsverhaltens der Probanden	38
2.8	Erfassung der körperlichen Aktivität der Probanden	39
2.9	Statistische Auswertung.....	40
3	Ergebnisse und Auswertung	43
3.1	Pro12Ala und metabolisches Syndrom	43
3.1.1	Parameter des metabolischen Syndroms zwischen Probanden mit und ohne	44
	metabolisches Syndrom	44
3.1.2	Parameter des metabolischen Syndroms zwischen den PPAR γ -Genotypen	45
3.2	Pro12Ala und Insulinresistenz.....	46
3.3	Pro12Ala und Umweltfaktoren	48
3.3.1	Zielstellung.....	48
3.3.2	Auswertung der Ernährungsfragebögen.....	49
3.3.3	Auswertung der Fragebögen zur körperlichen Aktivität.....	51
4	Diskussion	55
4.1	Das metabolische Syndrom.....	55
4.2	Pro12Ala und metabolisches Syndrom	56
4.3	Pro12Ala und Insulinsensitivität	58
4.4	Pro12Ala und Umweltfaktoren	59
4.5	Mögliche Ursachen für die uneinheitliche Datenlage.....	61
5	Zusammenfassung/Summary.....	65
	Genutzte Materialien und Geräte.....	71
	Literaturverzeichnis	75
	Tabellenverzeichnis	89
	Abbildungsverzeichnis	91
	Selbständigkeitserklärung.....	93
	Danksagung	95

Tabellenverzeichnis

Tab. 1.1	Klinische Kriterien des metabolischen Syndroms nach WHO 1999	Seite 1
Tab. 1.2	Mögliche Ursachen und Risikofaktoren des Typ-2 Diabetes mellitus	Seite 6
Tab. 2.1	PCR-Protokoll für einen 20 µl-Ansatz	Seite 25
Tab. 2.2	PCR-Temperatur-Zeit-Programm für die Amplifizierung im Mastercycler	Seite 25
Tab. 2.3	Protokoll Aufreinigungsschritt des PCR-Amplifikats	Seite 26
Tab. 2.4	Temperatur-Zeit-Programm Aufreinigungsschritt im Mastercycler	Seite 26
Tab. 2.5	SNuPE-Protokoll für einen 10 µl-Ansatz	Seite 28
Tab. 2.6	Temperatur-Zeit-Programm SNuPE-Reaktion im Mastercycler	Seite 29
Tab. 2.7	Sequenzierreaktion, Protokoll 20 µl-Reaktionsansatz	Seite 30
Tab. 2.8	Sequenzierreaktion, Programm im Thermocycler	Seite 31
Tab. 2.9	Grenzwerte der Plasmaglukose im 75-g-oGTT nach WHO-Kriterien	Seite 33
Tab. 2.10	Gewichtseinstufung anhand des BMI nach WHO-Kriterien	Seite 34
Tab. 2.11	Harris-Benedict-Formel zur Berechnung des Grundumsatzes	Seite 39
Tab. 3.1	Charakteristika der Studiengruppe	Seite 43
Tab. 3.2	Verteilung zwischen den PPAR γ -Genotypen	Seite 43
Tab. 3.3	Parameter des metabolischen Syndroms bei Probanden mit und ohne metabolisches Syndrom	Seite 44
Tab. 3.4	Parameter des metabolischen Syndroms zwischen den PPAR γ -Genotypen	Seite 45
Tab. 3.5	M-Wert aus dem Clamptest bei Probanden mit NGT	Seite 47
Tab. 3.6	Korrelationsanalyse der Indizes aus den Nüchternwerten mit dem M-Wert	Seite 47
Tab. 3.7	Korrelationsanalyse der Indizes aus den oGTT-Werten mit dem M-Wert	Seite 47
Tab. 3.8	ISI _{2_{Stummvoll}} zwischen den PPAR γ -Genotypen	Seite 48
Tab. 3.9	Verteilung der <i>underrecorder/undereater</i> und <i>normalreporter</i> in der Studiengruppe	Seite 49
Tab. 3.10	Verteilung der <i>underrecorder/undereater</i> und <i>normalreporter</i> zwischen den PPAR γ -Genotypen	Seite 49
Tab. 3.11	Vergleich der Makronährstoffaufnahme zwischen den PPAR γ -Genotypen	Seite 50
Tab. 3.12	Ergebnisse der Interaktionsberechnungen	Seite 51
Tab. 3.13	<i>Self-reported physical activity index</i> in MET-Stunden pro Woche zwischen den PPAR γ -Genotypen	Seite 51

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1	Zentrale Rolle des Fettgewebes für das metabolische Syndrom	Seite 3
Abb. 1.2	Mögliche Zusammenhänge bei der Entstehung von Bluthochdruck	Seite 7
Abb. 1.3	Struktur nukleärer Hormonrezeptoren	Seite 13
Abb. 1.4	Funktionsmechanismus von PPAR	Seite 14
Abb. 2.1	Kontrolle des PCR-Amplifikats: Gelelektrophorese, Photodokumentation	Seite 26
Abb. 2.2	Beispiele der SNP-Diagnostik	Seite 29

Selbständigkeitserklärung

Ich, Carolin Klonower, erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift mit dem Thema „Der PPAR γ -Pro12Ala-Polymorphismus und metabolisches Syndrom“ selbst verfasst habe. Ich habe keine anderen Quellen und Hilfsmittel als die hier angegebenen benutzt. Diese Arbeit wurde ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst. Kopien anderer Arbeiten, auch in Teilen, wurden nicht dargestellt.

Datum:

Unterschrift:

Danksagung

Diese Arbeit entstand unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Andreas F. H. Pfeiffer in der Abteilung Klinische Ernährung am Deutschen Institut für Ernährungsforschung in Potsdam-Rehbrücke und in der Abteilung für Endokrinologie, Diabetes und Ernährungsmedizin der Charité Berlin, Campus „Benjamin Franklin“. Herrn Professor Pfeiffer möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas und für die Möglichkeit, in seiner Abteilung mitzuarbeiten, herzlich danken. Auch war Professor Pfeiffer stets für die wissenschaftliche Diskussion der Thematik ansprechbar, wofür ich mich an dieser Stelle ebenfalls herzlich bedanken möchte.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Doktor Matthias Möhlig für die stete Bereitschaft, Fragen zu diskutieren, Hilfestellung zu geben, für seinen nie nachlassenden Enthusiasmus für das Vorankommen dieser Arbeit und letztendlich für das sehr sorgfältige Korrekturlesen.

Frau Katrin Sprengel danke ich für die freundliche und kompetente Einarbeitung in die nötigen molekulargenetischen Labormethoden und die vielen freundschaftlichen Gespräche außerhalb der Arbeitszeit. Allen anderen Mitarbeitern des Labors danke ich für die freundliche Aufnahme und die nette Atmosphäre.

Herrn Doktor Martin Osterhoff möchte ich für seine stete Hilfsbereitschaft bei auftretenden Fragen und bei der Durchführung der Sequenzierungen besonders danken.

Ein großes Dankeschön gilt an dieser Stelle meinem Lebensgefährten, Herrn Christian Tuma, der mich während der ganzen Zeit unterstützt hat, und der vor allem bei technischen Problemen und gestalterischen Fragen immer gute Ideen und Lösungen parat hatte und, wenn nötig, Aufbauarbeit – mentaler und softwaretechnischer Art – leisten durfte.

Des weiteren möchte ich an dieser Stelle Frau Doktor Christine Möhlig für ihre Gastfreundlichkeit und ihr Verständnis für so manch lange abendliche Diskussion danken.

Zu guter Letzt danke ich meiner Familie, vor allen Dingen meiner lieben Schwester Katharina und meinen Großeltern, für die nie endende Unterstützung.

Curriculum Vitae

- 15.06.1975:** Geboren in Potsdam
- September 1982 bis August 1995:** Schulbildung
- August 1995:** Erlangung der allgemeinen Hochschulreife am „Fontane-Gymnasium“ in Rangsdorf
- Oktober 1995 bis November 2001:** Studium der Zahnmedizin an der „Ernst-Moritz-Arndt-Universität“ in Greifswald und an der „Université Sophia Antipolis“ in Nizza, Frankreich (Universitätsjahr 1998/1999)
- November 2001:** Staatsexamen im Fach Zahnmedizin
- Februar 2002:** Approbation zur Zahnärztin
- Januar 2002 bis März 2002:** Praktikum im Lektorat Zahnmedizin beim Urban & Fischer Verlag in München
Anschließende Redaktions- und Lektoratstätigkeit
- Juni 2002 bis Juni 2004:** Assistenz Zahnärztin in Berlin und Aufnahme der Tätigkeit als Doktorandin unter der Leitung von Professor A. F. H. Pfeiffer, Leiter der Abteilung für Endokrinologie, Diabetes und Ernährungsmedizin der Charité Berlin und der Abteilung Klinische Ernährung am Deutschen Institut für Ernährungsforschung in Potsdam-Rehbrücke
- Seit Juli 2004:** Niedergelassene Zahnärztin in einer Gemeinschaftspraxis in Berlin mit 4 weiteren Kollegen
-