

Aus der Klinik für Innere Medizin IV
- Nieren- und Hochdruckkrankheiten -
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Univ.-Prof. Dr. D. Fliser

Körpermasse, sportliche Aktivität und Monozytensubpopulationen bei gesunden Probanden

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der
UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2016

vorgelegt
von Judith Theresa Berg
geboren am 03.06.1985 in Zweibrücken

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	7
Tabellenverzeichnis	9
1 Zusammenfassung/Summary	10
1.1 Deutsche Zusammenfassung	10
1.2 Summary	12
2 Einleitung	14
2.1 Bedeutung der Atherosklerose	14
2.2 Monozyten und Atherosklerose	16
2.3 Die menschliche Monozytenheterogenität	18
2.4 Die besondere Rolle des Übergewichts bei Atherosklerose	20
2.5 Körperliche Aktivität als Einflussfaktor auf die atherosklerotische Gefäß- erkrankung	21
2.6 Zielsetzung der Arbeit	22
3 Material und Methoden	23
3.1 Material	23
3.1.1 Geräte	23
3.1.2 Verbrauchsmaterialien	24
3.1.3 Monoklonale Antikörper	26
3.1.4 Substanzen	26
3.1.5 Puffer und Medien	27
3.2 Methoden	28
3.2.1 Studiendesign	28
3.2.2 Studienablauf	29

3.2.3	Messung der Intima-Media-Dicke	29
3.2.4	Datenerhebung mittels Fragebogen	30
3.2.5	Blutdruck- und Pulsmessung	31
3.2.6	Messung des Körpergewichts, der Körpergröße und des Taillen- und Hüftumfangs	31
3.2.7	Blutentnahme und Morgenurinabgabe	31
3.2.8	Labordiagnostik	32
3.2.9	Framingham-Score	33
3.2.10	Immunologisch-experimenteller Teil: Phänotypisierung der Mono- zytensubpopulationen	34
3.2.11	Datenanalyse	36
4	Ergebnisse	37
4.1	Patientencharakteristika	37
4.2	Stratifikation anhand des Body Mass Index	40
4.3	Zusammenhang zwischen BMI, Adipositas und Monozytensubpopulationen	41
4.3.1	Monozytensubpopulationen und BMI	41
4.3.2	Monozytensubpopulationen und Taille-Hüft-Verhältnis	44
4.4	Regelmäßige körperliche Bewegung als Einflussfaktor auf die Monozyten- subpopulationen	47
4.4.1	Sportverhalten und Monozytenzahlen in der gesamten Studienko- horte	47
4.4.2	Sportverhalten und Monozytenzahlen bei übergewichtigen Stu- dienteilnehmern	49
4.5	Assoziation zwischen Lipoproteinen, Triglyceriden und Monozytensubpo- pulationen	51
4.6	Die CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ -Monozyten als abhängige Variable	54
4.7	Intima-Media-Messung	55

5 Diskussion	56
5.1 Rolle der Monozyten im inflammatorischen Prozess der Atherosklerose . .	56
5.2 Monozytenheterogenität und kardiovaskuläre Erkrankungen - Einordnungen dieser Arbeit in bisherige Studien unserer Arbeitsgruppe	57
5.3 Monozyten und Adipositas	59
5.4 Regelmäßige körperliche Aktivität als Einflussfaktor auf atherosklerosebedingende Variablen	61
5.5 Monozyten und Lipidmetabolismus	63
5.6 Limitationen	65
5.7 Schlussfolgerungen und Ausblick	66
 Literaturverzeichnis	 67
 Danksagung	 80
 Anhang	 81
1. Fragebogen	81
2. Publikationen	88

Abkürzungsverzeichnis

ABCA1	ABC-Transporter, Sub-Familie ABCA, 1
ABCG1	ABC-Transporter, Sub-Familie ABCG, 1
ACC	Arteria Carotis Communis
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ApoE	Apolipoprotein E
BMI	Body Mass Index
CCL	Chemokinligand
CCR	Chemokinrezeptor
CD	Cluster of Differentiation
CKD	Chronic Kidney Disease
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
CRP	C-Reaktives Protein
DXA	Dual-Röntgen-Absorptiometrie
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
eGFR	Estimated Glomerular Filtration Rate
eNOS	Endotheliale Stickstoffmonoxidsynthase
et al.	et alia
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorting
Fc	Crystallisable Fragment
HDL	High Density Lipoprotein
I LIKE HOME	..	Inflammation, Lipoprotein Metabolism and Kidney Damage in early atherogenesis - The Homburg Evaluation
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
IL	Interleukin
IMT	Intima Media Thickness
iNOS	Induzierbare Stickstoffmonoxidsynthase
IUIS	Union of Immunological Societies
LDL	Low Density Lipoprotein

Inhaltsverzeichnis

LPS	Lipopolysaccharidstimulation
MCH	Mean Corpuscular Hemoglobin
MCHC	Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
MCP	Monocyte Chemoattractant Protein
MCSF	Macrophage Colony Stimulating Factor
MCV	Mean Corpuscular Volume
MMP	Matrix-Metalloprotease
NO	Stickstoffmonoxid
oxLDL	Oxidiertes LDL-Cholesterin
PECAM	Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule
PerCP	Peridinin Chlorophyll Protein
PRR	Pattern Recognition Receptor
RANTES	Regulated on Activated Normal T-Cell Expressed and Secreted
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RR	Blutdruckmessung nach Riva Rocci
SD	Standardabweichung
SR	Scavenger Receptor
TLR	Toll Like Receptor
TNF	Tumornekrosefaktor
VCAM	Vascular Cell Adhesion Molecule
VLA	Very Late Antigen
WHO	World Health Organization

Abbildungsverzeichnis

1	Messung der Intima-Media-Dicke	30
2	Gatingstrategie zur Identifizierung der Monozytensubpopulationen	35
3	Zusammensetzung der Studienkohorte nach Body Mass Index	40
4	Zusammenhang zwischen Gesamtmonozyten und BMI nach Kategorien	41
5	Zusammenhang zwischen CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻ -Monozyten und BMI nach Kategorien	42
6	Zusammenhang zwischen CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ -Monozyten und BMI nach Kategorien	42
7	Zusammenhang zwischen CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ -Monozyten und BMI nach Kategorien	43
8	Korrelation von Gesamtmonozytenzahl und Taille-Hüft-Verhältnis	44
9	Korrelation von CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻ -Monozytenzahl und Taille-Hüft-Verhältnis	45
10	Korrelation von CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ -Monozytenzahl und Taille-Hüft-Verhältnis	45
11	Korrelation von CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ -Monozytenzahl und Taille-Hüft-Verhältnis	46
12	Zusammenhang zwischen Gesamtmonozytenzahl und regelmäßiger körperlicher Bewegung in Kategorien	47
13	Zusammenhang zwischen CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ -Monozytenzahl und regelmäßiger körperlicher Bewegung in Kategorien	48
14	Zusammenhang zwischen CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ -Monozytenzahl und regelmäßiger körperlicher Bewegung in Kategorien	48
15	Zusammenhang zwischen Gesamtmonozytenzahl und regelmäßiger körperlicher Bewegung in Kategorien bei übergewichtigen Probanden	49
16	Zusammenhang zwischen CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ -Monozytenzahl und regelmäßiger körperlicher Bewegung in Kategorien bei übergewichtigen Probanden	50
17	Zusammenhang zwischen CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ -Monozytenzahl und regelmäßiger körperlicher Bewegung in Kategorien bei übergewichtigen Probanden	50
18	Zusammenhang zwischen HDL und Gesamtmonozyten	51
19	Zusammenhang zwischen HDL und CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻ -Monozyten	52

Abbildungsverzeichnis

20	Korrelation der Gesamtmonozytenzahlen mit den Triglyceriden	53
21	Korrelation der CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ -Monozytenzahlen mit den Triglyceriden .	53

Tabellenverzeichnis

1	Geräte, die im Rahmen der Studie eingesetzt wurden	24
2	Verbrauchsmaterialien, die im Rahmen der Studie verwendet wurden . .	25
3	Monoklonale Antikörper zur Bestimmung der Monozytensubpopulationen	26
4	Substanzen, die im Rahmen der Studie verwendet wurden	26
5	Herstellung von Puffern und Medien	27
6	Allgemeine Patientencharakteristik, Teil 1	38
7	Allgemeine Patientencharakteristik, Teil 2	39
8	Multiple lineare Regressionsanalyse mit der CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ -Monozytenzahl als abhängigem Parameter	54
9	Multiple lineare Regressionsanalyse mit der Intima-Media-Dicke als ab- hängigem Parameter	55

1 Zusammenfassung/Summary

1.1 Deutsche Zusammenfassung

Hintergrund

Kardiovaskuläre Erkrankungen führen in den Industrienationen die Todesursachenstatistiken an und haben aufgrund ihrer hohen Morbidität enorme sozioökonomische Auswirkungen. Bekannt ist, dass ein inflammatorischer Prozess in der Entstehung der Atherosklerose entscheidend ist. Hierbei sind Monozyten von großer Wichtigkeit. Insbesondere die Entdeckung der verschiedenen Monozytensubpopulationen und deren Rolle in der Pathogenese der Atherosklerose führten zu großem wissenschaftlichem Fortschritt. Allerdings liegen nur wenige Untersuchungen zur Bedeutung der Monozytenheterogenität bei gesunden Menschen vor.

In der vorliegenden Arbeit erfolgte eine Wiedereinbestellung der Probanden der I-LIKE-HOMe-Studie (Inflammation, Lipoprotein Metabolism and Kidney Damage in early atherogenesis - The Homburg Evaluation)^[85]. Untersucht wurde bei Gesunden ohne manifeste koronare Herzkrankheit der Zusammenhang zwischen CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten und dem Body Mass Index, dem Taille-Hüft-Verhältnis, dem Ausmaß körperlicher Aktivität und Cholesterin beziehungsweise Triglyceriden.

Methodik

In einer Querschnittsuntersuchung wurden insgesamt 420 Probanden rekrutiert. Diese wurden labormedizinisch und sonographisch durch Messung der Intima-Media-Dicke untersucht. Mittels standardisiertem Fragebogen wurde das kardiovaskuläre Risikoprofil ermittelt. Durch Erhebung von Körpergröße, Körpergewicht, Hüft- und Bauchumfang wurden Body Mass Index und Taille-Hüft-Verhältnis als Parameter der Adipositas berechnet. Per Durchflusszytometrie wurde die immunphänotypische Aufteilung der Monozyten in die drei Subpopulationen klassische CD14⁺⁺CD16⁻-Monozyten, intermediäre CD14⁺⁺CD16⁺- und nicht-klassische CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten erreicht.

Ergebnisse

Bei Gesunden ohne Vorliegen einer koronarer Herzkrankheit korrelieren CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten mit dem Taille-Hüft-Verhältnis ($r = 0,284$; $p < 0,001$) als Parameter der Fettverteilung. Eine Assoziation zeigte sich auch zwischen den Zahlen dieser nicht-klassischen Monozyten und BMI-Kategorien als Parameter der Fettmasse ($r = 0,315$; $p < 0,001$). Mit zunehmendem Ausmaß körperlicher Aktivität der Studienteilnehmer fielen die Zahlen der CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten ab; dies sowohl unter Einbeziehung aller Studienteilnehmer ($p = 0,017$), als auch unter selektiver Betrachtung der Studienteilnehmer mit $\text{BMI} > 25 \text{ kg/m}^2$ ($p = 0,007$).

Festgestellt wurde ferner eine Korrelation der CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten mit den Triglyceriden ($r = 0,128$; $p = 0,009$).

Dagegen korrelierte HDL negativ mit den Gesamtmonozyten ($r = -0,108$; $p = 0,026$) und CD14⁺⁺CD16⁻-Monozyten ($r = -0,099$; $p = 0,043$).

Schlussfolgerungen

Der Body Mass Index als Parameter der reinen Körperfettmasse scheint gegenüber der Messung des Taille-Hüft-Verhältnisses, welches eine Abschätzung der Fettverteilung und damit des viszeralen Fettanteils erlaubt, leicht überlegen zu sein. Zur Abschätzung der systemischen Inflammation sollten beide Parameter bestimmt werden.

Es ergaben sich weiterhin Hinweise auf einen antiinflammatorischen Effekt regelmäßiger sportlicher Aktivität, auch bei übergewichtigen Individuen.

Überdies finden sich Zeichen einer Assoziation zwischen Monozyten und Cholesterin beziehungsweise Triglyceriden, was eine Basis für zukünftige Therapiestrategien zur Prophylaxe atherosklerotischer Erkrankung darstellen könnte.

1.2 Summary

Background

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in industrial nations and have enormous socioeconomic effects due to their high morbidity. It is known that atherosclerosis is an inflammatory disease. In the pathogenesis of atherosclerosis monocytes are of particular importance. Especially the identification of the different monocyte subpopulations and their role in the pathogenesis of atherosclerosis led to large scientific progress. There are, however, only a few studies on the importance of the monocyte heterogeneity among healthy people.

In the present study we reinvited the participants of the I-LIKE-HOMe-Study (Inflammation, Lipoprotein Metabolism and Kidney Damage in early atherogenesis - The Homburg Evaluation)^[85]. Among healthy subjects without manifest coronary heart disease we investigated the relationship between CD14⁺CD16⁺⁺ monocytes and the body mass index, the waist-hip ratio, the level of physical activity and cholesterol subfractions and triglycerides.

Methods

In a cross-sectional study a total of 420 subjects was recruited. They were examined by standard laboratory methods and ultrasonic measurement of the intima-media thickness. Furthermore, the cardiovascular risk profile was identified using a standardized questionnaire. Via measurement of body height, body weight, hip and waist circumference, the body mass index and the waist-hip ratio as parameters of obesity were calculated. By flow cytometry the immunophenotypic characterization of monocytes in the three subpopulations classical CD14⁺⁺CD16⁻ monocytes, intermediate CD14⁺⁺CD16⁺ monocytes and non-classical CD14⁺CD16⁺⁺ monocytes was performed.

Results

Among healthy individuals without coronary heart disease CD14⁺CD16⁺⁺ monocytes correlated with the waist-hip ratio ($r = 0.284$, $p < 0.001$) as an estimator of fat distribution. Furthermore, we found an association between these non-classical monocytes and categories of body mass index as an estimator of general fat mass ($r = 0.315$, $p < 0.001$).

There was a decrease of numbers of CD14⁺CD16⁺⁺ monocytes with increasing level of physical activity; both involving all study participants ($p = 0.017$) and taking into account only study participants with a BMI > 25 kg/m² ($p = 0.007$).

In addition, a correlation of CD14⁺CD16⁺⁺ monocytes with the triglycerides ($r = 0.128$, $p = 0.009$) was found.

In contrast, HDL correlated negatively with total monocytes ($r = -0.108$, $p = 0.026$) and CD14⁺⁺CD16⁻ monocytes ($r = -0.099$, $p = 0.043$).

Conclusion

In the differentiated consideration and evaluation of obesity, the assessment of body fat mass via calculation of body mass index appears to be slightly superior to the estimation of body fat localization and thus of visceral fat mass via the waist-hip ratio. For an accurate estimation of systemic inflammation both parameters should be determined.

Furthermore, there is evidence of an anti-inflammatory effect of regular physical activity, even among obese individuals.

Moreover, in line with other studies, our data suggest a connection between monocytes, cholesterol subfractions and triglycerides, which may constitute a basis for future therapeutic strategies to prevent atherosclerotic disease.

2 Einleitung

2.1 Bedeutung der Atherosklerose

Kardiovaskuläre Erkrankungen führen in den Industrienationen die Todesursachenstatistiken an und haben aufgrund ihrer hohen Morbidität enorme sozioökonomische Auswirkungen^[114]. Weltweit wird die Bedeutung kardiovaskulärer Erkrankung wegen der zunehmenden Prävalenz kardiovaskulärer Risikofaktoren auch in den sich entwickelnden Ländern zunehmen^[72,121].

Die Atherosklerose stellt den grundlegenden pathophysiologischen Prozess für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen dar. Der Begriff Arteriosklerose wurde von Johann Friedrich Lobstein 1833 in seinem „Lehrbuch der pathologischen Anatomie“ geprägt und charakterisierte hauptsächlich die Kalzifizierung der Arterien als altersbedingte physiologische Veränderung der Arterienwand. Rudolf Virchow postulierte bereits 1856, dass hierfür erhöhte Lipidwerte verantwortlich seien^[32]. Die Bezeichnung Atherosklerose als eine die Arteriosklerose begleitende Intimaverfettung formulierte 1904 Felix Marchand^[62].

In den folgenden 110 Jahren wandelte sich das Verständnis der Atherosklerose grundlegend.

So beschrieb Anitschkow 1914 als Erster die Rolle der Cholesterinansammlung in der arteriellen Wand^[5,41]. Gemeinsam mit Chalатов benannte er außerdem die von den Makrophagen abstammenden Schaumzellen^[6,41].

Auf Basis dieser Vorarbeiten postulierten Duff und McMillan 1951 die sogenannte Lipidhypothese, nach der der wichtigste Faktor in der Entwicklung der Atherosklerose eine passive Lipidansammlung in der Intima^[27], der mit Endothelzellen ausgekleideten innersten Gefäßwandschicht, ist.

Einen nächsten bedeutsamen Beitrag zum Verständnis der Ätiologie der Atherosklerose lieferten 1979 Brown und Goldstein durch ihre Entdeckung des LDL-Rezeptors^[14] und der durch ihn gesteuerten Aufnahme von LDL in Makrophagen als Voraussetzung für deren Umwandlung in Schaumzellen.

Ross und Glomset stellten 1976 parallel die „Response-to-injury-Hypothese“ auf. Gemäß dieser führt eine Verletzung der Endothelzellschicht der Intima wie z. B. durch Hypertonie zur Proliferation und Migration von glatten Muskelzellen aus der Media in die Intima, und zur Bildung von Schaumzellen in Intima und Media mit der langfristigen Folge der Plaquebildung^[90].

Zum zentralen Paradigmenwechsel kam es, als Ross im Jahre 1999 die Inflammationstheorie formulierte und somit die beiden bisherigen Hypothesen zusammenführte^[89].

Er postulierte, dass es durch den endothelialen Schaden und somit der Entstehung einer endothelialen Dysfunktion zur Lipoproteinkumulation in der Intima mit nachfolgendem entzündlichen Prozess und der Adhäsion von Leukozyten, Monozyten und T-Lymphozyten auf der endothelialen Oberfläche kommt^[89]. Dabei betonte Ross die zentrale Rolle der Monozyten als Vorläufer der Makrophagen und Schaumzellen als in jeder Phase der Atherogenese allgegenwärtig^[89].

Seitdem erkannt wurde, dass die Aktivierung von Monozyten einer der grundlegenden Prozesse der Atherosklerose ist, wurden viele Anstrengungen unternommen, um die Auswirkungen der monozytären Rekrutierung auf die Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen zu verstehen.

2.2 Monozyten und Atherosklerose

Die etablierten konventionellen Risikofaktoren wie Rauchen, arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus, mangelnde körperliche Aktivität und Übergewicht verursachen, vermittelt durch proinflammatorische Stimuli wie etwa Interleukin-1-Beta ($IL1\beta$)^[22], Tumornekrosefaktor-Alpha ($TNF-\alpha$)^[22], Angiotensin II^[2] und oxidiertes Low Density Lipoprotein (oxLDL) Cholesterin^[102], eine Schädigung und Aktivierung endothelialer Zellen^[42,81], welche als endotheliale Dysfunktion beschrieben wird und als Schlüsselereignis in der Atherogenese gilt.

Durch diese Stimuli wird die Expression von Adhäsionsmolekülen, wie Selektinen und Integrinen (intercellular adhesion molecule [ICAM] und vascular cell adhesion molecule [VCAM]) auf der endothelialen Oberfläche induziert, die dann die Rekrutierung von zirkulierenden Monozyten ermöglicht^[1,29,42,64,123]. Im Anschluss an die Adhäsion werden die Monozyten über Diapedese in die Tunica intima des Blutgefäßes aufgenommen. Dies geschieht vor allem PECAM-1- (platelet endothelial cell adhesion molecule 1, CD31) und CD99-abhängig^[70].

Im subendothelialen Raum differenzieren die Monozyten unter dem Einfluss von Macrophage Colony Stimulating Factor (MCSF)^[18] zu Makrophagen aus^[42]. Diese dehnen den inflammatorischen Prozess durch Proliferation und Produktion proinflammatorischer Zytokine und Wachstumsfaktoren^[59] weiter aus. Durch Scavenger-Rezeptoren der Klasse A (SR-AI, -AII, und -AIII) und Scavenger-Rezeptoren der Klasse B (SR-BI und CD36), die auf den Makrophagen zur Aufnahme von oxLDL und anderen Lipiden führen^[26,35,50,54] kommt es zur Bildung lipidbeladener Schaumzellen, die eine charakteristische Eigenschaft atherosklerotischer Läsionen darstellen. Diese Scavenger-Rezeptoren gehören zur Gruppe der Pattern-Recognition-Rezeptoren (PRRs), die durch Auslösung einer Signalkaskade generell eine wichtige Rolle bei der Immunantwort des Körpers spielen.

Zu den PRRs gehören auch Rezeptoren wie die Toll-Like-Rezeptoren 2 und 4 (TLR2 und TLR4), die die von oxLDL-induzierte Immunantwort triggern^[65,97].

Die beschriebenen inflammatorischen Prozesse locken andere Immunzellen an und führen so über kontinuierliche Zellrekrutierung zu der Bildung fortgeschrittener atherosklerotischer Plaques. Diese bestehen aus einer nekrotischen Kernregion umrandet von einer Hülle von glatten Muskelzellen und kollagenreicher Matrix. Die fibröse Hülle kann durch von Makrophagen freigesetzte Matrix-Metalloproteasen (MMPs) ausgedünnt werden und so den Plaque rupturanfällig machen^[73]. Durch diese Desintegration der fibrösen

Hülle kann subendotheliales prothrombotisches Material aufgedeckt werden, somit die die intravaskuläre Gerinnungskaskade aktiviert und die Thrombusbildung mit folgendem Gefäßverschluss induziert werden^[32].

2.3 Die menschliche Monozytenheterogenität

Im Jahre 1989 konnte durch Passlick et al.^[76] anhand der differentiellen Expression von CD14 (Lipopolysaccharid-Rezeptor) und CD16 (Fc γ III-Rezeptor) durchflusszytometrisch nachgewiesen werden, dass es sich bei Monozyten um eine heterogene Zellpopulation handelt.

Gemäß aktueller Nomenklatur der International Union of Immunological Societies (IUIS) werden drei Monozytensubpopulationen unterschieden:

- Klassische CD14⁺⁺CD16⁻-Monozyten
- Intermediäre CD14⁺⁺CD16⁺-Monozyten
- Nicht-klassische CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten

In älteren Arbeiten wurden die intermediäre und nicht-klassische Monozytensubpopulation als CD16-positive Monozytensubpopulation zusammengefasst.

Bedingt durch ihre starke Assoziation mit Entzündungszuständen^[31,37,47,51,52,94,100,104] und der Expression inflammatorischer Mediatoren^[9,22,122] werden CD16-positive Monozyten als proinflammatorisch betrachtet. Sie weisen untereinander jedoch große Unterschiede auf.

Das hohe proinflammatorische Potenzial intermediärer CD14⁺⁺CD16⁺-Monozyten resultiert sowohl aus ihrer Erzeugung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS)^[122] als auch aus ihrer selektiven Produktion von IL1 β und TNF- α nach Lipopolysaccharidstimulation (LPS)^[22].

Im Gegensatz dazu ist die Sekretion von IL1 β der nicht-klassischen CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten eher durch Viren und Nukleinsäuren als durch LPS getriggert^[22].

Auch die Mechanismen, die die endotheliale Affinität steuern, divergieren zwischen den Monozytensubpopulationen.

Ein für die Adhäsion verantwortliches Molekül ist das auf CD16-positiven Monozyten hoch exprimierte VLA-4 (Very Late Antigen 4), ein Integrindimer, das mit dem Integrinrezeptor VCAM-1 auf endothelialen Zellen interagiert^[103]. Durch VLA-4 kommt es zu einer Mobilisierung CD-16-positiver Monozyten und zur Anlagerung am Endothel^[43,103].

Die endotheliale Affinität wird auch durch Chemokine vermittelt, die auf aktivierten

Endothelzellen exprimiert werden, und Chemokinrezeptoren, die sich auf den Monozyten befinden. Interaktionen zwischen den Ligand-Rezeptorpaaren sind für die Migration, die Extravasation und die Diapedese von Monozyten ins Gewebe verantwortlich^[3].

Von besonderer Wichtigkeit sind hierbei die Chemokinrezeptoren CCR2 (C-C Chemokinrezeptor Typ 2), CCR5 (C-C Chemokinrezeptor Typ 5) und der CX3CR1 (CX3C Chemokinrezeptor 1).

CCR2 ist der Rezeptor für das Monocyte Chemoattractant Protein 1 (Chemokinligand 2 [CCL2]).

An CCR5 bindet CCL5, welches auch unter der Namen Regulated on Activated Normal T-Cell Expressed and Secreted (RANTES) bekannt ist.

CX3CR1 ist der Rezeptor für das Chemokin Fraktalkin, welches in menschlichen atherosklerotischen Läsionen nachgewiesen werden konnte^[34].

Intermediäre Monozyten exprimieren CCR2, CX3CR1 und selektiv CCR5 und haben daher die größte endotheliale Affinität unter den Monozytensubpopulationen.

Auf nicht-klassische Monozyten findet sich ebenfalls der Rezeptor CX3CR1, und nur in geringem Ausmaß CCR2 und CCR5.

Klassische Monozyten exprimieren vor allem CCR2, jedoch kaum CX3CR1 und kein CCR5^[3].

Eine Untergliederung der CD16-positiven Monozyten kann auch durch Analyse der Expression von ACE (Angiotensin Converting Enzyme)^[107] oder TLR2 (Toll-Like-Receptor 2)^[111] vorgenommen werden, welche ebenfalls am höchsten auf intermediären Monozyten exprimiert werden.

Verglichen mit CD16-negativen Monozyten nehmen beide CD16-positive Monozytensubpopulationen außerdem in hohem Maße oxLDL auf^[68].

Tierexperimentell gibt es Hinweise auf eine Abstammung der CD16-positiven Monozytensubpopulationen von den klassischen Monozyten. Nach Übertritt aus dem Knochenmark in den Blutkreislauf, vermögen klassische Monozyten zu intermediären und darauffolgend zu nicht-klassischen Monozyten zu differenzieren. Diese letzte Subpopulation ist für eine natürliche lokale Überwachung der Gewebe verantwortlich und kann im Falle von Beschädigung oder Infektion ins Gewebe einwandern^[44,122]. Im Anschluss an die Diapedese, können sich Monozyten zu Makrophagen oder dendritischen Zellen entwickeln.

2.4 Die besondere Rolle des Übergewichts bei Atherosklerose

In den Industrienationen konnten die verminderte Inzidenz und bessere Kontrolle einzelner kardiovaskulärer Risikofaktoren einerseits und optimierte Therapiemöglichkeiten manifester kardiovaskulärer Erkrankung andererseits einen Rückgang der kardiovaskulären Todesfälle bewirken^[87]. Allerdings wurde in den letzten Jahren ein Anstieg der Prävalenz von Übergewicht verzeichnet^[82]. Da Übergewicht einen bekannten Risikofaktor für atherosklerotische Gefäßkrankheit darstellt, könnte der durch verminderte Inzidenz und bessere Kontrolle anderer Risikofaktoren erzielte Fortschritt nivelliert werden^[82]. Insbesondere die zunehmende Prävalenz des Übergewichts bei Kindern könnte in Zukunft die Rate kardiovaskulärer Erkrankungen wieder ansteigen lassen^[74].

Wie bei der Atherosklerose hat sich auch das Verständnis der Pathogenese des Übergewichts gewandelt. Nachdem Adipozyten lange Zeit lediglich als passive Lipidspeicher angesehen wurden, konnte in den letzten Jahren nachgewiesen werden, dass Fettgewebe ein endokrines Organ darstellt. Übergewicht führt zu einem Zustand lokaler Mikroinflammation im Fettgewebe, da mit zunehmendem Übergewicht Makrophagen einwandern^[4,16,23,112,119] und in der Folge proinflammatorische Mediatoren freisetzen^[82]. Durch diesen niedriggradigen chronischen Entzündungszustand kommt es zu weiterer Aktivierung des Immunsystems^[48,89] und schließlich zu systemischer Inflammation, welche sich in erhöhten Werten von Interleukinen, wie etwa IL-1 und IL-6, und Akute-Phase-Proteinen, wie dem C-reaktiven Protein (CRP), Serumamyloid A und Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1)^[15,23,38] widerspiegelt.

In der Beziehung zwischen Übergewicht und kardiovaskulärer Erkrankung spielen Monozyten eine wichtige Rolle^[78,85].

Es konnte gezeigt werden, dass die Zellzahl der CD16-positiven Monozyten bei Adipösen der WHO-Klasse II (Body Mass Index: 35 - 39,9 kg/m²) und III (Body Mass Index: > 40 kg/m²) höher ist als bei normgewichtigen Individuen^[78].

Im Einklang hierzu war nach bariatrischer Chirurgie ein Abfall intermediärer und vor allem nicht-klassischer Monozyten in kleineren Studien zu beobachten^[20,78].

Außerhalb selektierter Kohorten von höhergradig übergewichtigen Patienten konnte erstmalig in der I-LIKE-HOME-Studie (Inflammation, Lipoprotein Metabolism and Kidney Damage in early atherogenesis - The Homburg Evaluation)^[85] ein Zusammenhang zwischen CD16-positiven Monozyten und dem Body Mass Index beschrieben werden^[85].

2.5 Körperliche Aktivität als Einflussfaktor auf die atherosklerotische Gefäßerkrankung

Körperliche Inaktivität ist als eigenständiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankung^[10,56,67,80] anerkannt.

Daher hat regelmäßige physische Bewegung einen wichtigen Stellenwert bei der Primär^[17,66] und Sekundärprävention^[53,75,99] von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, zumal körperliche Betätigung auch andere kardiovaskuläre Risikofaktoren positiv beeinflusst. Hierzu zählt die positive Auswirkung auf erhöhten arteriellen Blutdruck^[13,39,40], Herzfrequenz und deren Variabilität^[24,28,58], Plasmalipoproteine^[101,117,118], Blutzuckerspiegel^[12], Übergewicht und (auch unabhängig von einer Körpergewichtsreduktion) das Auftreten von Diabetes mellitus^[46,49,60,61].

Die WHO empfiehlt daher für gesunde Erwachsene zwischen dem 18. und 64. Lebensjahr eine moderate bis starke 30 bis 60 Minuten dauernde Aktivität an drei bis fünf Tagen pro Woche^[115].

2.6 Zielsetzung der Arbeit

Unsere Arbeitsgruppe konnte in mehreren Vorarbeiten CD14⁺⁺CD16⁺-Monozyten als unabhängige Prädiktoren kardiovaskulärer Ereignisse bei kardiovaskulären Risikopatienten identifizieren^[45,83,84].

Weiterhin sahen wir in der I-LIKE-HOMe-Studie bei vermeintlich gesunden Erwachsenen einen Zusammenhang zwischen CD16-positiven Monozyten und subklinischer Atherosklerose. Interessanterweise zeigte sich in allen von uns untersuchten Kohorten eine robuste positive Korrelation zwischen CD16-positiven Monozyten und dem Body Mass Index, sodass erhöhte Zellzahlen proinflammatorischer Monozytensubpopulationen Mediatoren der erhöhten kardiovaskulären Morbidität bei übergewichtigen Menschen darstellen könnten.

In den letzten Jahren gab es allerdings Hinweise dafür, dass die Körperfettverteilung gegenüber dem Körpergewicht-basierten Body Mass Index für die Abschätzung des kardiovaskulären Risikos bei übergewichtigen Menschen überlegen ist^[120].

Vor diesem Hintergrund wurde in der hier vorgelegten Nachfolgeuntersuchung der I-LIKE-HOMe-Kohorte ein etwaiger Zusammenhang zwischen Monozytensubpopulationen und der Körperfettverteilung - bestimmt als Taille-Hüft-Verhältnis - untersucht. Nachdem eine kleine Interventionsstudie^[105] aufzeigen konnte, dass Ausdauertraining zu einer Reduktion der CD16-positiven Monozytenzahlen führt, wurde darüber hinaus das Sportverhalten der Probanden erfasst.

Es werden folgende zwei Hypothesen aufgestellt:

Hypothese I

Bei Gesunden korrelieren CD16-positive Monozytenzahlen stärker mit dem Taille-Hüft-Verhältnis als mit dem Body Mass Index.

Hypothese II

Bei Gesunden korrelieren CD16-positive Monozytenzahlen negativ mit sportlicher Aktivität.

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Geräte

Autoklav Systec 2540 EL	Systec GmbH, Wettenberg, D
Durchflusszytometer BD FACS Canto II	BD Biosciences, Heidelberg, D
Brutschrank	Heraeus Instruments, Hanau, D
Eppendorfcentrifuge Minifuge	Eppendorf, Hamburg, D
Feinwaage Ohaus	Ohaus Corporation, Florham Park, USA
Gefrierschrank -20°C	Bosch, Homburg, D
Gefrierschrank -60°C	Bosch, Homburg, D
Gilson Kolbenhubpipetten	Abimed, Langenfeld, D
Kühlschrank +4°C	Liebherr, Biberach an der Riss, D
Laborwaage Sartorius	Sartorius, Göttingen, D
pH Meter CG 825	Schott, Mainz, D
Pipetboy plus	Integra Biosciences, Fernwald, D

Minishaker IKA	IKA-Works, Wilmington, USA
Spannungsquelle Consort E425	UniEquip, Martinsried, D
Sterile Werkbank Laminair HB2472	Heraeus Instruments, Hanau, D
Vortex Mixer K	NeoLab, Heidelberg, D
Wasseraufbereiter MilliQ UF plus	Millipore, Eschborn, D
Zentrifuge (Megafuge 1.0R)	Heraeus Instruments, Hanau, D

Tabelle 1: Geräte, die im Rahmen der Studie eingesetzt wurden

3.1.2 Verbrauchsmaterialien

0,5 ml Reaktionsgefäße	NeoLab, Heidelberg, D
1,5 ml Reaktionsgefäße	Brand, Wertheim, D
15 ml Röhren	Greiner, Frickenhausen, D
50 ml Röhren	Greiner, Frickenhausen, D
Einmalplastikpipetten (1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml, 25 ml)	Cornig Costar, Wiesbaden
FACS Röhren	Becton Dickinson, Heidelberg, D

3 Material und Methoden

Filterpipettenspitzen (10 µl, 20 µl, 100 µl, 1000 µl)	Greiner, Frickenhausen, D
4,7 ml Lithium-Heparin Gel-Monovetten	Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf, D
4,7 ml Serum-Gel-Monovetten	Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf, D
5 ml Citrat-Monovetten	Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf, D
2,7 ml Kalium-EDTA-Monovetten	Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf, D
Urin-Monovetten mit Saugspitze	Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf, D
Safety Multifly	Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf, D
Multifly Adapter	Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf, D
Sheath Fluid	Dako, Cytomation, Hamburg, D
Parafilm „M“	Roth, Karlsruhe, D
Pipettenspitzen für Kolbenhubpipetten	Greiner, Frickenhausen, D

Tabelle 2: Verbrauchsmaterialien, die im Rahmen der Studie verwendet wurden

3.1.3 Monoklonale Antikörper

Monoklonaler Antikörper	Klon	Konjugat	Firma
Anti-CD86	HA5.2B7	PE	Beckmann Coulter, Krefeld, D
Anti-CD14	M ϕ P9	PerCP	BD Biosciences, Heidelberg, D
Anti-CD16	3G8	PeCy7	BD Biosciences, Heidelberg, D

Tabelle 3: Monoklonale Antikörper zur Bestimmung der Monozytensubpopulationen

3.1.4 Substanzen

Aqua injectabile	Braun, Melsungen, D
BD FACS Lysing Solution	Becton Dickinson, Heidelberg, D
BSA	Serva, Heidelberg, D
FACS-Flow	Becton Dickinson, Heidelberg, D
FCS	Seromed, Berlin, D
NaN ₃	Serva, Heidelberg, D
PBS	Biochrom, Berlin, D
PFA	Sigma-Aldrich, Deisenhofen, D

Tabelle 4: Substanzen, die im Rahmen der Studie verwendet wurden

3.1.5 Puffer und Medien

Name	Ingredienz	Menge
FACS-Puffer	PBS	500 ml
	FCS hitzeinaktiviert	25 ml
	BSA (pH 7)	2,5 g
	EDTA 10%	1 ml
	NaN ₃ 10%	3,5 ml
Lysepuffer	Lysing-Solution	50 ml
	Aqua dest.	450 ml
NaN ₃ 10%	NaN ₃	10 g
	PBS	100 ml
PFA 4%	PFA	8 g
	PBS	200 ml
PFA 1%	PFA 4%	25 ml
	PBS	75 ml

Tabelle 5: Herstellung von Puffern und Medien

3.2 Methoden

3.2.1 Studiendesign

Im Jahr 2004/2005 waren im Rahmen einer Querschnittsuntersuchung 622 Mitarbeiter des Universitätsklinikums des Saarlandes rekrutiert worden^[85].

Ziel dieser Arbeit war es einen etwaigen Zusammenhang zwischen durchflusszytometrisch analysierten Monozytensubpopulationen und der Intima-Media-Dicke (IMT) als sonographischem Marker subklinischer Atherosklerose zu untersuchen^[11,25].

In der vorliegenden Arbeit wurden im Zeitraum von März 2009 bis Februar 2011 insgesamt 420 dieser Studienteilnehmer erneut in der Klinik für Innere Medizin IV - Nieren und Hochdruckkrankheiten - am Universitätsklinikum des Saarlandes untersucht.

Die Studieninitiierung, die Patientenrekrutierung und die klinische und immunologische Datenerhebung wurde durch das I-LIKE-HOME-Studienteam gewährleistet. Die Verfasserin dieser Promotionsarbeit war für die klinischen, sonographischen und einen Teil der labormedizinischen Untersuchungen von März 2009 bis Februar 2010 verantwortlich.

Einschlusskriterien:

- Teilnahme an I-LIKE-Home-1
- Kein fieberhafter Infekt in den letzten drei bis fünf Tagen
- Einwilligung nach Aufklärung

Ausschlusskriterien:

- Vorliegen eines akuten fieberhaften Infekts innerhalb der letzten drei bis fünf Tage

3.2.2 Studienablauf

Die Probanden wurden telefonisch zur Teilnahme eingeladen.

In standardisierter Form wurden die Intima-Media Dicke gemessen, klinische Parameter erhoben, Blutentnahme und Urinasservierung sowie ein Interview mittels Fragebogen durchgeführt.

Nach fünfminütiger Ruhepause wurden Puls und arterieller Blutdruck gemessen. Außerdem erfolgte eine Messung des Körpergewichts, der Körpergröße und des Hüft- und Taillenumfangs.

Im Anschluss daran wurde ein Teil der Blutröhrchen und eine Urinprobe zur Bestimmung der klinisch-chemischen Laborwerte an das Zentrallabor der Universität des Saarlandes geschickt und der andere Teil im Labor der Klinik für Innere Medizin IV - Nieren und Hochdruckkrankheiten - verarbeitet (siehe Kapitel 2.2.8, Labordiagnostik).

Eine Aussage über das kardiovaskuläre Risiko der Studienteilnehmer wurde mit dem Framingham-Risc-Score ermittelt.

Die Ergebnisse der Untersuchungen und des Scores wurde den Probanden in einem anschließenden Gespräch mitgeteilt.

3.2.3 Messung der Intima-Media-Dicke

Für die sonographische Untersuchung wurde das Ultraschallgerät Siemens Sequoia C512 (Erlangen, Deutschland) verwendet.

Die Bestimmung der IMT geschah beim liegenden Probanden mit leicht überstrecktem Hals sowie leichter Wendung zur Gegenseite.

Die Arteria carotis communis (ACC) wurde mittels eines 15 MHz Linearschallkopfes zunächst im Querschnitt aufgesucht; danach wurde der Schallkopf um 90° gedreht und das sonographische Bild somit in den Längsschnitt übertragen. Daraufhin wurde die ACC longitudinal in Richtung distal bis zum Bulbus caroticus und der Bifurkation in Arteria carotis interna und Arteria carotis externa untersucht.

Der Intima-Media-Komplex wurde per Messung des Abstands zwischen erstem und zweitem Grenzreflex ermittelt. Die Messung der IMT erfolgte beidseits geräteautomatisiert an der Hinterwand der ACC nach den Empfehlungen des „Carotid Intima Media Thickness Consensus“^[106] über eine Strecke von 10 mm ab dem Beginn des Bulbus caroticus und dem somit distalen Ende der ACC nach kaudal.

Hierbei wurde als Voraussetzung zur optimalen Ermittlung der IMT-Dicke festgelegt, dass das IMT-Gefüge in Kontinuität ab dem Bulbus caroticus über mindestens 20 mm klar einsehbar sein musste. Verbildlicht wird dies auf Abbildung 1.

Das Sonographiegerät errechnete aus der gemessenen Strecke einen IMT-Maximalwert, sowie einen IMT-Mittelwert.

Während des Untersuchungszeitraums gab es zwei Erstuntersucher, die die angefertigten Bilder zur Sicherung auf dem Sonographiegerät abspeicherten und ausdruckten.

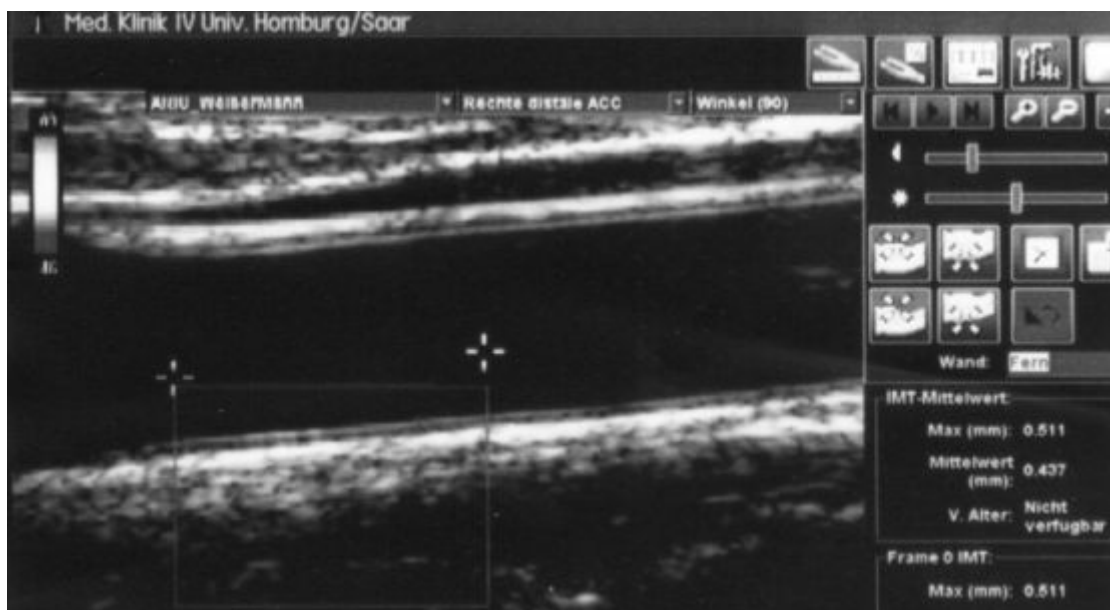


Abbildung 1: Messung der Intima-Media-Dicke

3.2.4 Datenerhebung mittels Fragebogen

Im Anschluss an die IMT-Messung wurde analog zur I-LIKE-HOME-1-Studie zur Standardisierung der Ergebnisse ein Fragebogen mit den Studienteilnehmern bearbeitet (siehe Anhang). Er bestand in Fragen zur Abklärung von alten oder neuen Risikofaktoren (z.B. Nikotin- und Alkoholkonsum und Herzinfarkt oder Schlaganfall bei einem Eltern- oder Geschwisterteil vor dem 60. Lebensjahr), sowie neu aufgetretenen Erkrankungen oder dem Verlauf bereits bestehender Erkrankungen. Zur Vergleichbarkeit wurde hierbei der gleiche Fragebogen verwendet wie bei I-LIKE-HOME-1. Dieser basierte damals wie

heute auf einer deutschen Übersetzung des Fragebogens der WHO zur Erkennung von Angina pectoris und peripherer arterieller Verschlusskrankung.

3.2.5 Blutdruck- und Pulsmessung

Nach mindestens fünfminütiger Ruhepause wurde eine Blutdruck- (systolisch und diastolisch) und Herzfrequenzmessung beim sitzenden Probanden durchgeführt. Um mögliche personen- oder geräteabhängige Messfehler auszuschließen geschah dies standardisiert und nichtinvasiv durch das DINAMAP® ProCare Auscultatory (GE Healthcare, München, Deutschland), einem automatischen RR-Messgerät.

3.2.6 Messung des Körpergewichts, der Körpergröße und des Taillen- und Hüftumfangs

Eine Messung des Taillenumfangs erfolgte bei jedem Studienteilnehmer standardisiert in Expiration in der Mitte zwischen den Cristae iliacae und der zwölften Rippe. Als Leitstruktur zur Vermessung des Hüftumfangs dienten die beiden Trochanteres majores femorum. Hierbei wurde stets dasselbe konventionelles Maßband verwendet.

Auch die Messung des Körpergewichts und der Körpergröße erfolgte standardisiert.

Zur Bewertung des Körpergewichts wurde der BMI berechnet. Die Formel zur Berechnung lautet:

$$\text{BMI} = \text{Körpermasse [kg]} / \text{Körpergröße [m]}^2.$$

Die Einteilung des Gewichtes anhand des BMI erfolgte nach WHO in Normalgewicht ($\text{BMI} = 18,50 - 24,99 \text{ kg/m}^2$), Präadipositas ($\text{BMI} = 25 - 29,99 \text{ kg/m}^2$), Adipositas der Klasse I ($\text{BMI} = 30 - 34,99 \text{ kg/m}^2$), der Klasse II ($\text{BMI} = 35 - 39,99 \text{ kg/m}^2$) und der Klasse III ($\text{BMI} > 40 \text{ kg/m}^2$).

3.2.7 Blutentnahme und Morgenurinabgabe

Die Probanden waren im Vorfeld gebeten worden, am Morgen der Studienteilnahme den ersten Morgenurin zu asservieren und mitzubringen. Hierzu wurde ihnen ein sauberer, verschließbarer Becher ausgehändigt. Zusätzlich wurden sie ersucht, nüchtern zu erscheinen. Hierbei galt als Nüchternheit die nicht stattgefundene Nahrungsaufnahme und das Beschränken auf das Trinken klarer Flüssigkeit seit mindestens sechs Stunden vor Studienteilnahme.

Nach Beendigung des Fragebogens und der Blutdruck- und Herzfrequenzmessung wurde somit eine Nüchternblutentnahme unter standardisierten Bedingungen durchgeführt.

3.2.8 Labordiagnostik

Ein Teil der Blutröhrchen (1 x 2,7 ml EDTA-Röhrchen und 1 x 4,7 ml Li-Hep-Plasma, beides bei Raumluft) und eine Urinprobe wurde zur Bestimmung der klinisch-chemischen Laborwerte an das Zentrallabor der Universität des Saarlandes geschickt.

Diese dienen der standardisierten Feststellung folgender Parameter:

- Klinische Chemie: Bestimmung von Elektrolyten (Natrium, Kalium, Chlorid, Kalzium, Phosphat), Kreatinin, Harnstoff, Nüchtern-Glukose, CRP, Gesamt-Cholesterin, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin, Triglyzeriden
- Hämatologie: Bestimmung von Leukozyten, Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, MVC, MCH, MCHC, Thrombozyten
- Differentialblutbild: Bestimmung von Neutrophilen, Lymphozyten, Monozyten, Eosinophilen, Basophilen
- Urindiagnostik: Bestimmung von Protein, Albumin, Kreatinin

Die Errechnung der abgeschätzten glomerulären Filtrationsrate (estimated glomerular filtration rate, eGFR) zur Ermittlung der Nierenfunktion erfolgte mittels CKD-EPI-Formel^[57].

Im Labor der Inneren Medizin IV -Nieren und Hochdruckkrankheiten - wurden im Anschluss pro Proband je ein 9-ml-Serum-Röhrchen, ein 5-ml-Citratplasma-Röhrchen und drei 9-ml-EDTA-Röhrchen abzentrifugiert (bei 1300 U/min für 7 Minuten) und auf insgesamt 32 Mikroreaktionsgefäße (0,5 ml, Firma: Eppendorf, Deutschland) aliquotiert. Auch wurden pro Studienteilnehmer 10 x 2ml (Mikroreaktionsgefäße, Firma: Eppendorf, Deutschland) Morgenurin in Mikroreaktionsgefäße pipettiert.

Anschließend wurden also insgesamt 42 Mikroreaktionsgefäße bei -60 °C in Einzelboxen und verschiedenen Gefrierschränken archiviert, um die eventuelle Nachbestimmung labormedizinischer Parameter zu ermöglichen.

Zusätzlich wurde aus einem der EDTA-Blutröhrchen (2,7 ml) 100 µl entnommen und im nephrologischen Arbeitslabor mittels Durchflusszytometrie analysiert (siehe Kapitel 2.2.10, immunologisch-experimenteller Teil).

3.2.9 Framingham-Score

Analog zur vorangegangenen I-LIKE-HOMe-1-Studie wurde erneut der Framingham-Risk-Score berechnet um das kardiovaskuläre Risiko zu ermitteln.

Die Framingham-Studie wurde ab 1948 in der Stadt Framingham (USA) als große epidemiologische Studie durchgeführt um die wichtigsten Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen bei gesunden Erwachsenen (Personen ab dem 20. Lebensjahr ohne Vorliegen einer Herzerkrankung oder eines Diabetes mellitus) zu detektieren. Anhand dieser Daten wurden Größen herausgearbeitet, die das Risiko abschätzen, dass es bei der betreffenden Person in den nächsten zehn Jahren zu einem ernststen kardiovaskulären Zwischenfall (Hard Coronary Heart Disease) wie einem Myokardinfarkt oder zum Tod aufgrund koronarvaskulärer Ursache kommt.

Die Variablen, die in die Berechnung des Scores eingehen, sind:

Alter, Geschlecht, Gesamt-Cholesterin (mg/dl), HDL-Cholesterin (mg/dl), Nikotinkonsum (als Raucher galten hierbei Personen, die entweder aktuell Raucher waren oder das Rauchen weniger als einen Monat vor Studieneinschluss eingestellt haben) und die Einnahme einer blutdrucksenkenden Medikation. Der Framingham-Score wird zur Berechnung im Internet angeboten (z.B. <http://cvdrisk.nhlbi.nih.gov/>). Das niedrigste hierbei zu ermittelnde Risiko war <1%, der höchste Wert >20%.

3.2.10 Immunologisch-experimenteller Teil: Phänotypisierung der Monozytensubpopulationen

Zur Analyse der Blutprobe wurde eine Immunphänotypisierung mittels FACS (=fluorescence activated cell sorting) der peripheren Blutzellen durchgeführt. Diese erfolgte unter Zuhilfenahme von Fluorchrom-konjugierten monoklonalen Antikörpern.

Eine Verarbeitung der Blutproben mittels Durchflusszytometrie fand in der vorliegenden Arbeit im direkten Anschluss an die Blutentnahme statt.

Die Monozytenheterogenität wurde im Einklang mit dem Protokoll von I-LIKE-HOMe-1^[85] mit Hilfe von Antikörpern gegen CD14, CD16 und CD86 dokumentiert. Auch das Färbeprotokoll wurde als etablierte Standardmethode des Immunlabors der Klinik für Nephrologie der Universität des Saarlandes erneut angewandt.

Zur Färbung fand eine Vermischung von jeweils 100 µl EDTA-Blutes und 2 ml FACS-Puffers durch Vortexen statt. Im Anschluss wurde eine siebenminütige Zentrifugation bei 1300 U/min durchgeführt. Der Überstand wurde mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt.

Im Anschluss wurde die Probe erneut mit 70 µl FACS-Puffer vermischt und außerdem je 5 µl anti-CD86-PE, 4 µl anti-CD14-PerCP und 0,5 µl anti-CD16-PeCy7 hinzugefügt. Eine Vermischung wurde wiederum mittels Vortexen erzielt.

Nun wurde die Probe bei 4 °C über eine Zeit von 30 Minuten im Kühlschrank inkubiert. Im nächsten Schritt mussten die Erythrozyten lysiert werden. Zu diesem Zweck wurden 2 ml 1fach BD-Lysing Solution hinzugefügt. Beim danach durchgeführten Vortexen bei Raumtemperatur und im Dunkeln kam es zur Lysierung im Zeitraum von 10 Minuten. Bevor die Messung am Durchflusszytometer stattfand, wurde wiederum mit 2 ml FACS-Puffer gewaschen und das erhaltene Pellet daraufhin in 250 µl 1% Paraformaldehyd fixiert.

Analog zu I-LIKE-HOMe-1 wurden die Monozyten anhand ihrer Expression von CD86 sowie ihrer Lage im Vorwärts-Seitwärts-Scatter (siehe Abbildung 2) definiert und unterschieden. Hierbei ergaben sich die drei Subtypen, klassische CD14⁺⁺CD16⁻, intermediäre CD14⁺⁺CD16^{+/-} und nicht-klassische CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten.

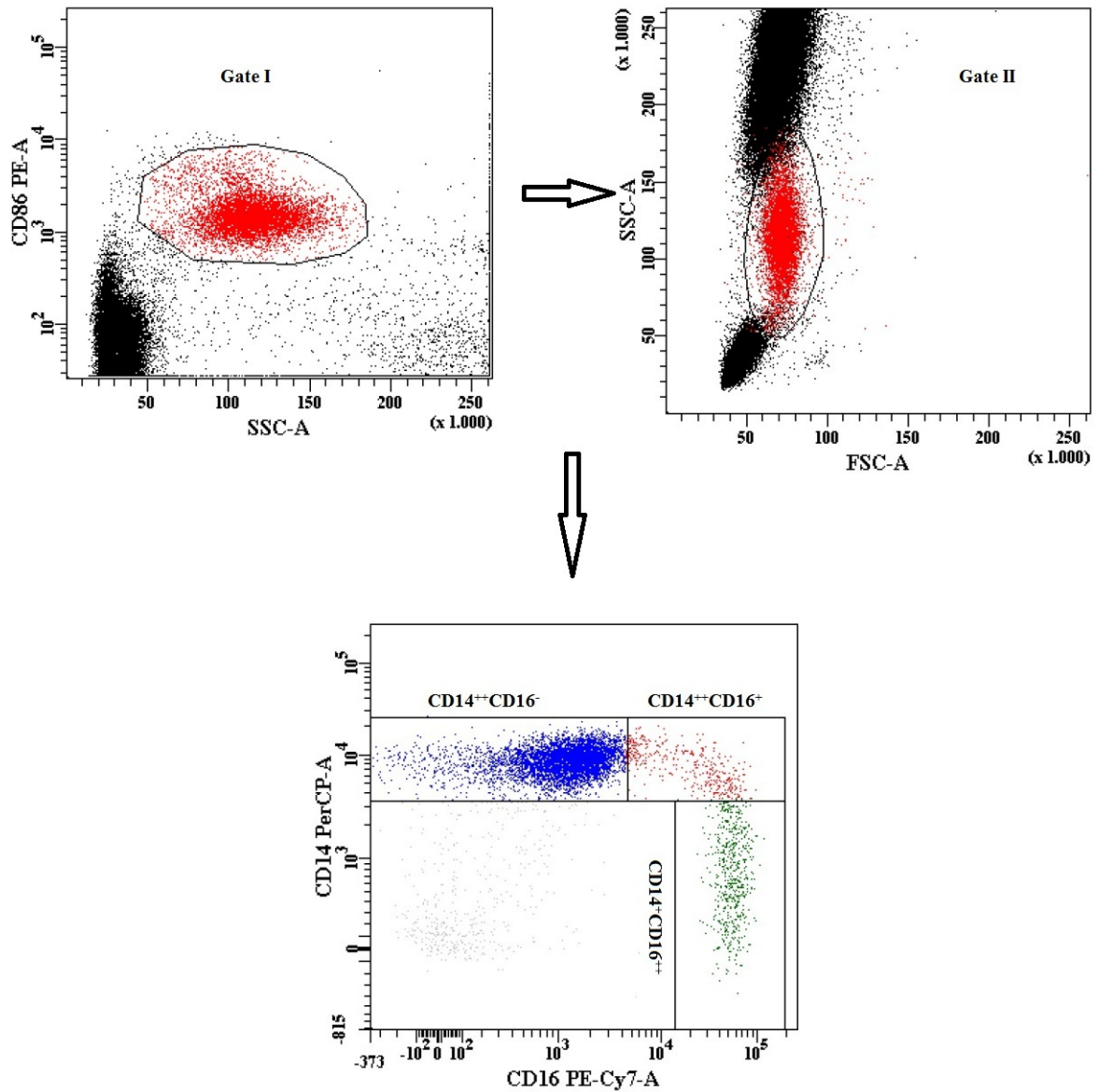


Abbildung 2: Gatingstrategie zur Identifizierung der Monozyten anhand ihrer CD86-Expression (Gate I), sowie ihrer kennzeichnenden Lage im Vorwärts-Seitwärts-Scatter (Gate II) zur Aufteilung in die drei Monozytensubpopulationen

3.2.11 Datenanalyse

Eine Erfassung der Daten erfolgte mit dem Programm Excel 2003 (Microsoft). Zur statistischen Auswertung wurde mit der Software SPSS (Statistical Product and Service Solution; IBM), Version 18 und 20 gearbeitet.

Kontinuierliche Variablen wurden in den Tabellen als Mittelwerte \pm Standardabweichung wiedergegeben, kategoriale Merkmale als prozentuale Anteile der bezeichnenden Gesamtpopulation.

Erstere wurden durch den Mann-Whitney-U-Test bei zwei ungepaarte Variablen bzw. durch univariate Varianzanalyse bei mehr als zwei ungepaarten Variablen auf Signifikanz untersucht. Letztere wurden einer Signifikanzprüfung mittels Chi-Quadrat-Test unterzogen.

Als statistisch signifikant galt in allen angewendeten statistischen Verfahren ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$.

Analog zu I-LIKE-HOME-1 wurde zur Untersuchung von Korrelationen zwischen zwei kontinuierlichen Variablen der Korrelationskoeffizient nach Spearman errechnet.

Außerdem diente die Berechnung eines linearen Regressionsmodells der Detektierung unabhängiger Kontexte zwischen der Intima-Media-Messung bzw. den CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten als abhängige Merkmale und kardiovaskulären Risikofaktoren.

4 Ergebnisse

4.1 Patientencharakteristika

Insgesamt wurden 420 Probanden in die statistische Auswertung eingeschlossen, von denen 220 von der Verfasserin dieser Promotionsarbeit selbst untersucht wurden.

67,1 % des Gesamtkollektivs waren Frauen (N = 282). Der Anteil aktiver Raucher betrug 26,4 % (N = 110), 5,2% waren Diabetiker (N = 22) und 23,3 % (N = 97) gaben eine familiäre Prädisposition für ein Herz-Kreislauf-Ereignis an.

Als sportliche Einheit galt eine Betätigung > 30 Minuten in einer Intensität, welche zum Schwitzen führt.

In Tabelle 6 sind die klinischen, laborchemischen und immunphänotypischen Parameter des Gesamtkollektivs dargestellt.

	Mittelwert \pm SD	Minimum	Maximum
Alter (Jahre)	48,4 \pm 7,2	30,4	64,7
Größe (cm)	169,5 \pm 9,2	148	202
Gewicht (kg)	76,5 \pm 17,1	40	177
BMI (kg/m ²)	26,5 \pm 5,0	16,4	62,7
Taillenumfang (cm)	88,5 \pm 14,1	61	144
Hüftumfang (cm)	103,8 \pm 10,3	76	170
Taille-Hüft-Verhältnis	0,9 \pm 0,1	0,6	1,3

4 Ergebnisse

IMT bds. (mm)	0,63 ± 0,13	0,41	1,10
Blutdruck systolisch (mmHg)	137 ± 18	97	198
Blutdruck diastolisch (mmHg)	89 ± 11	61	137
eGFR (ml/min/1,73 m ²)	92,4 ± 12,6	50,7	123,9
Gesamtcholesterin (mg/dl)	215 ± 37	122	344
HDL-Cholesterin (mg/dl)	64 ± 17	25	127
LDL-Cholesterin (mg/dl)	134 ± 35	61	270
Gesamtleukozyten/μl	6200 ± 1800	1600	15500
Gesamtmonozyten/μl	488 ± 167	128	1386
CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻ -Monozyten/μl	412 ± 150	78	1261
CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ -Monozyten/μl	27 ± 16	8	128
CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ -Monozyten/μl	48 ± 24	10	137

Tabelle 6: Allgemeine Patientencharakteristik, Teil 1

4 Ergebnisse

	Median	25%-Perzentil	75%-Perzentil
CRP (mg/l)	1,3	0,6	2,7
Triglyceride (mg/dl)	93,5	70,0	138,0
Sportliche Betätigung (Einheiten*/Woche)	1,0	0,0	2,0

Tabelle 7: Allgemeine Patientencharakteristik, Teil 2

* Betätigung > 30 Minuten in einer Intensität, welche zum Schwitzen führt.

4.2 Stratifikation anhand des Body Mass Index

Die Einteilung der Kohorte anhand des Body Mass Index (BMI) in vier Gruppen erfolgte nach Empfehlungen der WHO.

Die Adipositas Grad II und III wurde aufgrund geringer Patientenzahl zusammengefasst:

- Normalgewicht (BMI < 25 kg/m²)
- Präadipositas (BMI = 25 - 29,9 kg/m²)
- Adipositas der Klasse I (BMI = 30 - 34,9 kg/m²)
- Adipositas der Klasse II und III (BMI > 35 kg/m²)

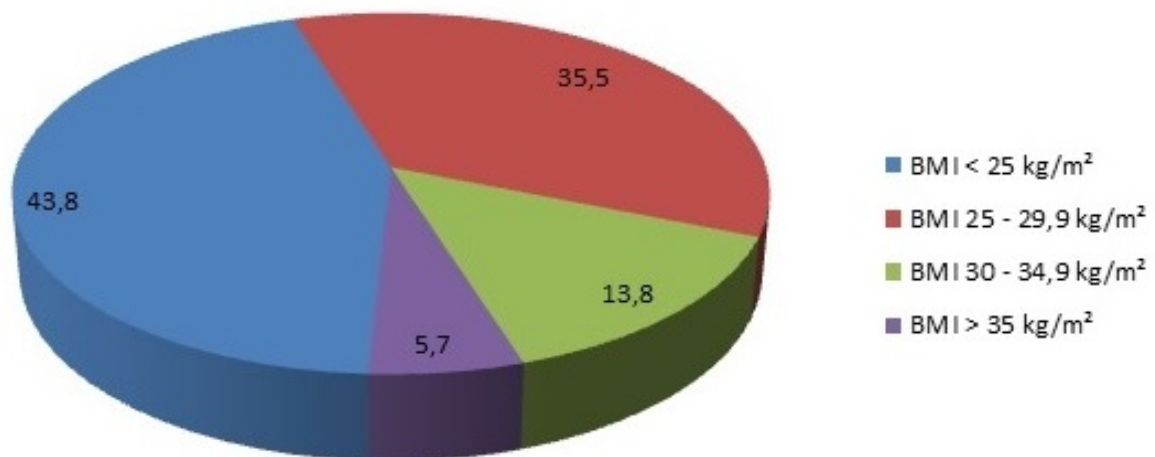


Abbildung 3: Zusammensetzung der Studienkohorte nach Body Mass Index

Diese Verteilung in der Studienkohorte entspricht nach der Gesundheitsberichterstattung des Bundes 2009/2010 (www.gbe-bund.de) der BMI-Verteilung in der deutschen Allgemeinbevölkerung. Danach sind 45,7 % der Bevölkerung normalgewichtig, 36,3 % präadipös, und 15,8 % adipös mit BMI über 30 kg/m².

4.3 Zusammenhang zwischen BMI, Adipositas und Monozytensubpopulationen

4.3.1 Monozytensubpopulationen und BMI

Nach Einteilung der Studienkohorte nach BMI wurde mittels univariater Varianzanalyse (ANOVA) untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen BMI-Kategorien und Zahlen der Gesamtmonozyten bzw. der Monozytensubpopulationen besteht.

Die WHO-Adipositas-Stadien I, II und III wurden aufgrund der geringen Gruppengrößen als BMI > 30 kg/m² zusammengefasst.

Es fand sich eine signifikante Assoziation des Body Mass Index mit der Gesamtzahl der Monozyten ($p = 0,021$; Abb. 4).

Während zwischen den CD14⁺⁺CD16⁻-Monozyten und einem höheren BMI kein statistisch signifikanter Zusammenhang gefunden wurde ($p = 0,168$; Abb. 5), konnte sowohl für die CD14⁺⁺CD16⁺-Monozyten ($p = 0,015$; Abb. 6), als auch und in besonderem Maße für die CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten ($p < 0,001$; Abb. 7) eine signifikante Assoziation nachgewiesen werden.

Dargestellt in Abbildung 4 - 7 sind Mittelwert \pm Standardfehler.

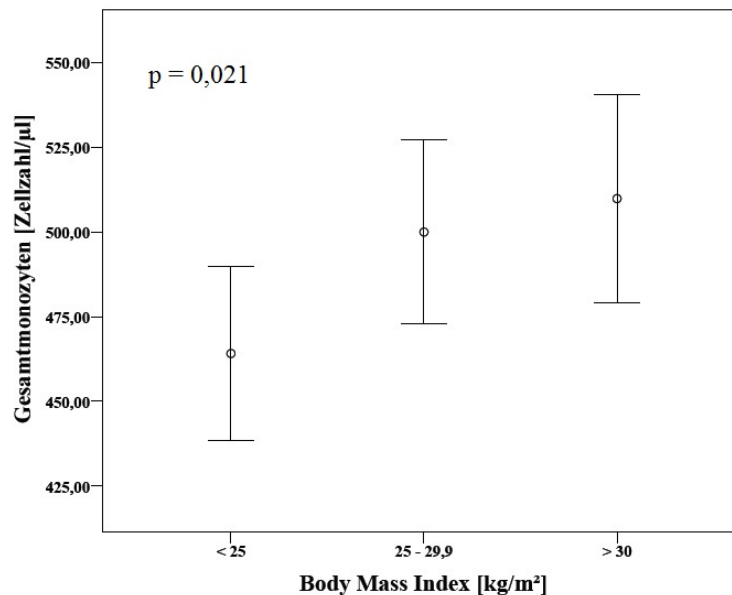


Abbildung 4: Zusammenhang zwischen Gesamtmonozyten und BMI nach Kategorien

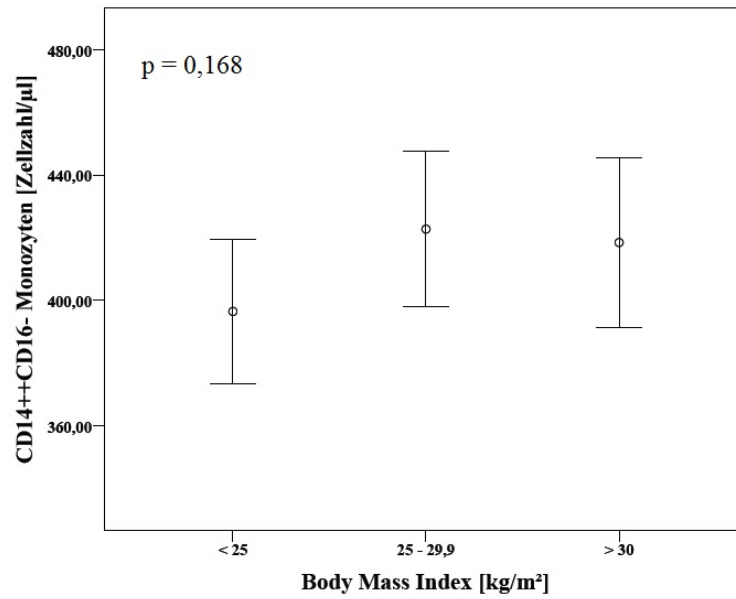


Abbildung 5: Zusammenhang zwischen $CD14^{++}CD16^{-}$ -Monozyten und BMI nach Kategorien

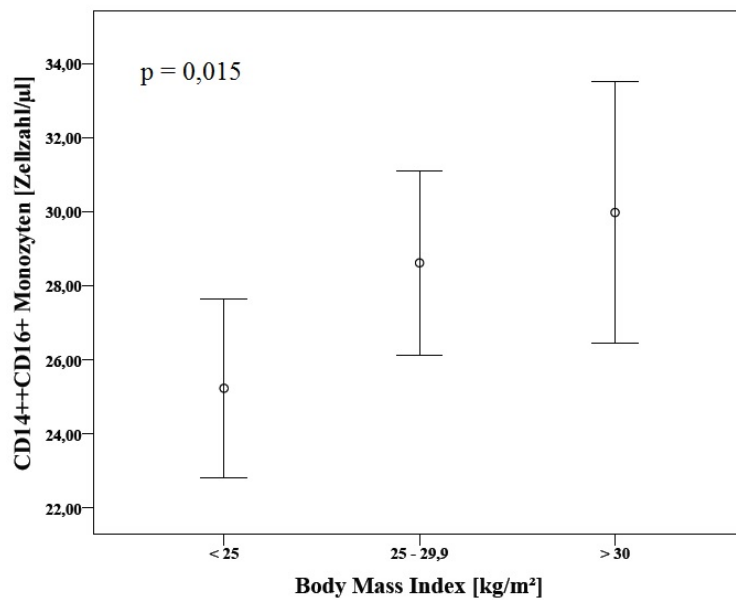


Abbildung 6: Zusammenhang zwischen $CD14^{++}CD16^{+}$ -Monozyten und BMI nach Kategorien

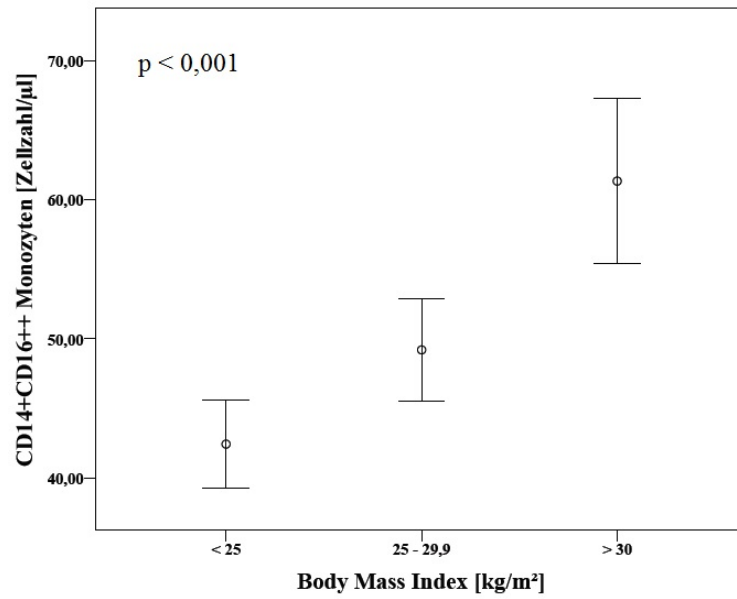


Abbildung 7: Zusammenhang zwischen CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten und BMI nach Kategorien

4.3.2 Monozytensubpopulationen und Taille-Hüft-Verhältnis

Auch der Taille-Hüft-Index als Marker der Fettverteilung stellt neben dem BMI einen wichtigen klinischen Parameter eines erhöhten kardiovaskulären Risikos dar.

Als Übergewicht gilt bei Verwendung des Taille-Hüft-Verhältnisses ein Wert von 0,90 - 0,99 beim männlichen Geschlecht und von 0,8 - 0,84 beim weiblichen Geschlecht. Als Adipositas gilt ein Wert $> 0,85$ bei Frauen und $> 1,0$ bei Männern^[116].

In der Studienkohorte galt dies für 32,4 % der männlichen und 41,2% der weiblichen Probanden.

Der Taille-Hüft-Index korrelierte schwach mit den Gesamtmonozyten (Abb. 8).

Für die CD14⁺CD16⁺⁺-Monozytenzahl (Abb. 11) fand sich die stärkste Assoziation mit dem Taille-Hüft-Verhältnis.

Für die CD14⁺⁺CD16⁻-Monozyten (Abb. 9) bzw. für die CD14⁺⁺CD16⁺-Monozyten (Abb. 10) konnte diese Korrelation nicht nachgewiesen werden.

Dargestellt in Abbildung 8 - 11 ist der Korrelationskoeffizient nach Spearman.

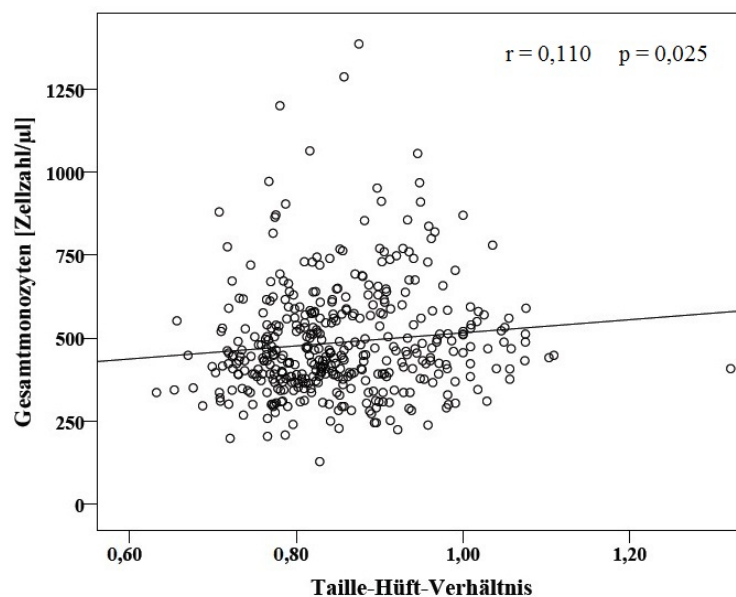


Abbildung 8: Korrelation von Gesamtmonozytenzahl und Taille-Hüft-Verhältnis

4 Ergebnisse

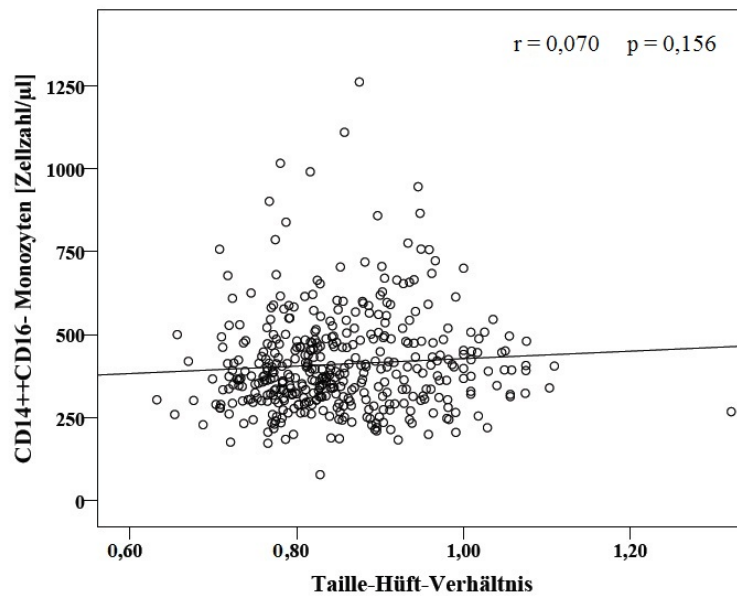


Abbildung 9: Korrelation von $CD14^{++}CD16^{-}$ -Monozytenzahl und Taille-Hüft-Verhältnis

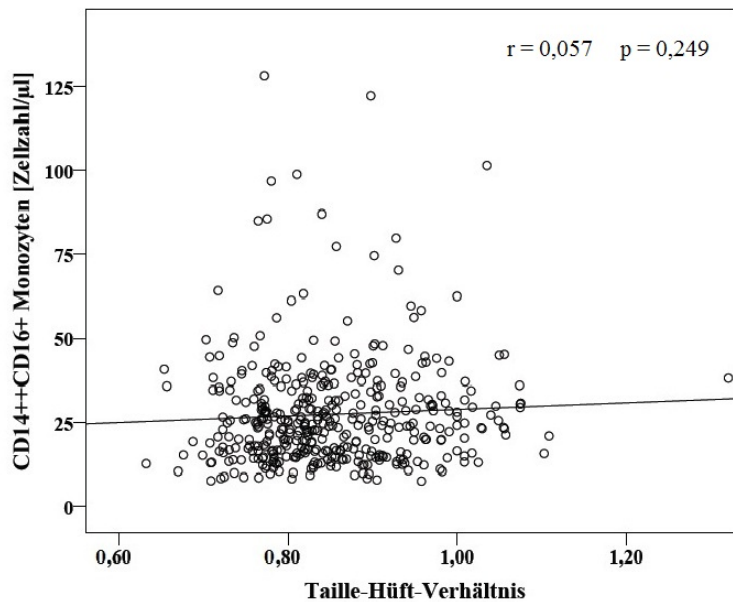


Abbildung 10: Korrelation von $CD14^{++}CD16^{+}$ -Monozytenzahl und Taille-Hüft-Verhältnis

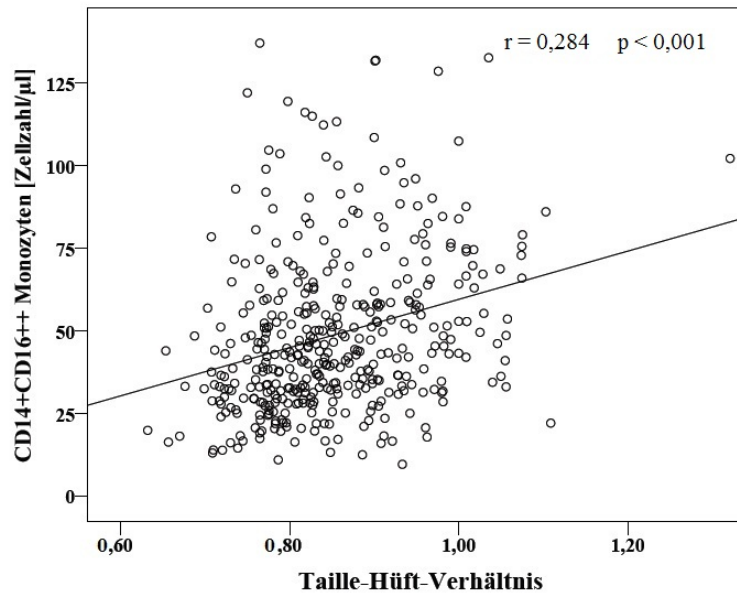


Abbildung 11: Korrelation von CD14⁺CD16⁺⁺-Monozytenzahl und Taille-Hüft-Verhältnis

4.4 Regelmäßige körperliche Bewegung als Einflussfaktor auf die Monozytensubpopulationen

4.4.1 Sportverhalten und Monozytenzahlen in der gesamten Studienkohorte

Mittels univariater Varianzanalyse (ANOVA) wurde ermittelt, ob regelmäßige körperliche Bewegung einen Einfluss auf die Monozytensubpopulationszahlen hat.

Interessanterweise unterschied sich die Zahl beider CD16-positiver Monozytensubpopulationen (Abb. 13 bzw. Abb. 14) in Abhängigkeit des Ausmaßes körperlicher Bewegung, während dies nicht für die Gesamtmonozytenzahl (Abb. 12) und die Zahl der CD16-negativen Monozytensubpopulation ($p = 0,149$; unten nicht aufgeführt) nachgewiesen werden konnte.

Dargestellt in Abbildung 12 - 14 sind Mittelwert \pm Standardfehler.

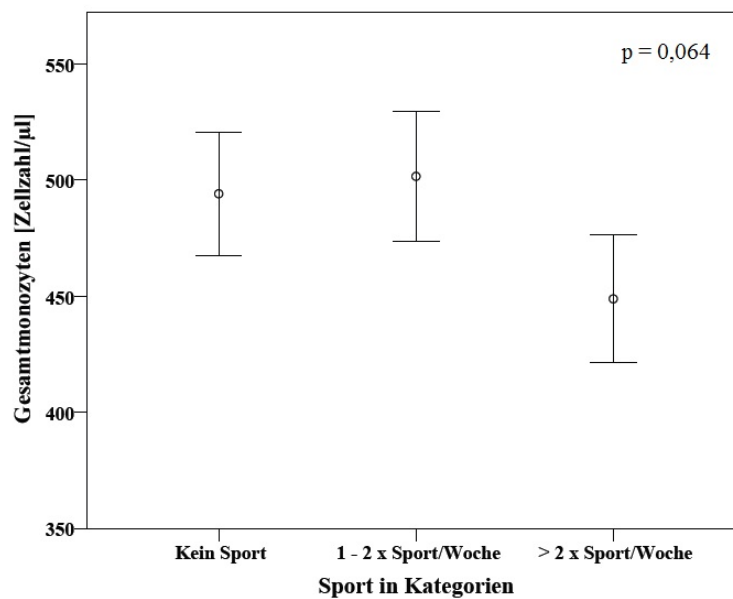


Abbildung 12: Zusammenhang zwischen Gesamtmonozytenzahl und regelmäßiger körperlicher Bewegung in Kategorien

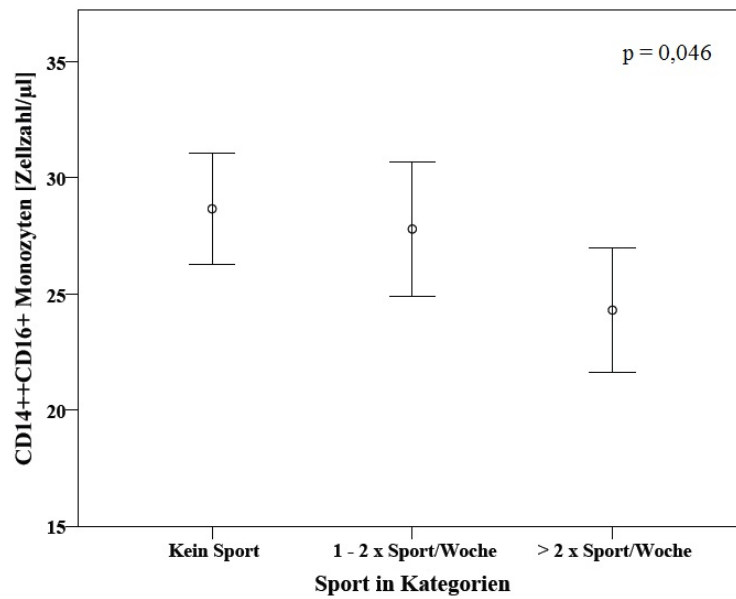


Abbildung 13: Zusammenhang zwischen CD14⁺⁺CD16⁺-Monozytenzahl und regelmäßiger körperlicher Bewegung in Kategorien

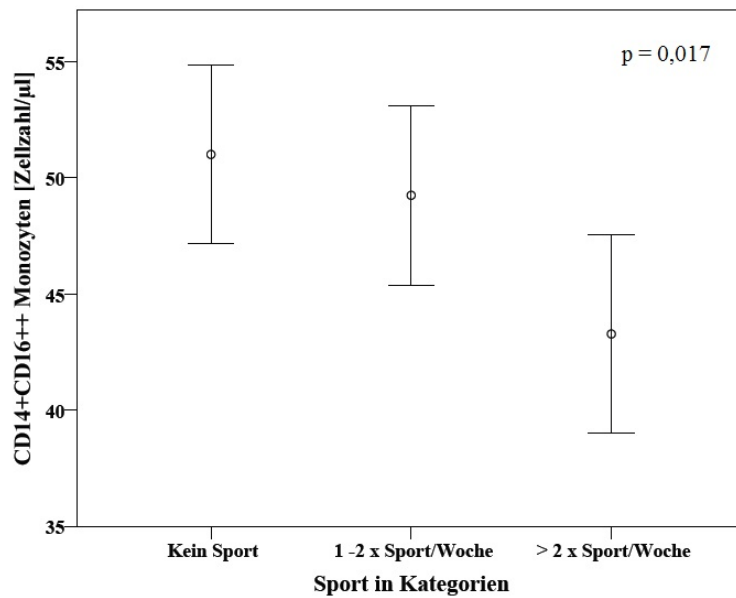


Abbildung 14: Zusammenhang zwischen CD14⁺CD16⁺⁺-Monozytenzahl und regelmäßiger körperlicher Bewegung in Kategorien

4.4.2 Sportverhalten und Monozytenzahlen bei übergewichtigen Studienteilnehmern

Aufgrund der tendenziell erhöhten CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten unter den Studienteilnehmern mit einem Body Mass Index über 25 kg/m² untersuchten wir die Auswirkungen von körperlicher Betätigung in diesem Kollektiv noch einmal gesondert.

Nach Stratifizierung hinsichtlich körperlicher Aktivität unterschieden sich die Gesamtmonozytenzahlen (Abb. 15), CD14⁺⁺CD16⁻-Monozytenzahlen ($p = 0,246$; unten nicht abgebildet) und CD14⁺⁺CD16⁺-Monozytenzahl (Abb. 16) nicht signifikant zwischen den einzelnen Strata, wohingegen Probanden mit höherer körperlicher Aktivität statistisch signifikant niedrigere CD14⁺CD16⁺⁺-Monozytenzahlen aufwiesen (Abb. 17).

Dargestellt in Abbildung 15 - 17 sind Mittelwert \pm Standardfehler.

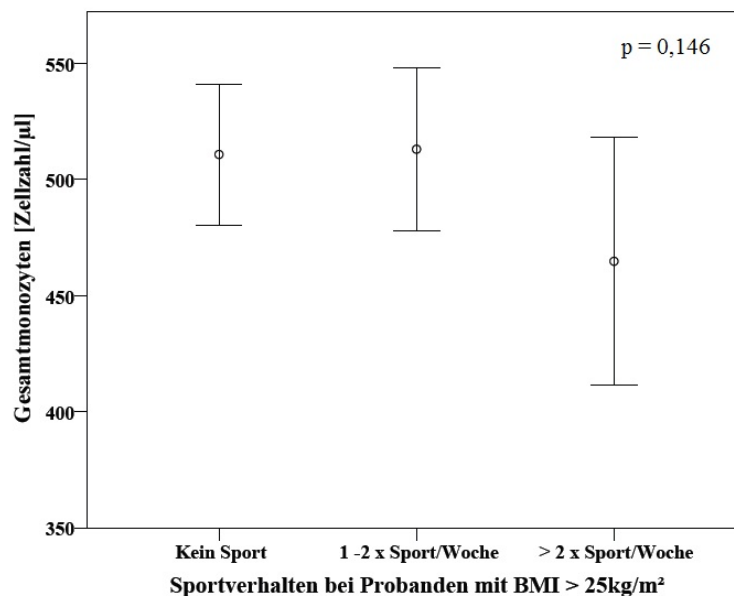


Abbildung 15: Zusammenhang zwischen Gesamtmonozytenzahl und regelmäßiger körperlicher Bewegung in Kategorien bei übergewichtigen Probanden

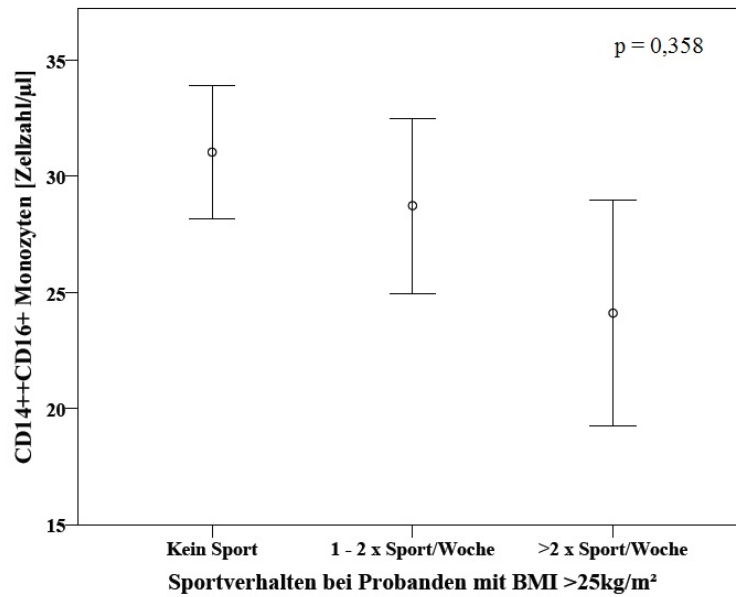


Abbildung 16: Zusammenhang zwischen CD14⁺⁺CD16⁺-Monozytenzahl und regelmäßiger körperlicher Bewegung in Kategorien bei übergewichtigen Probanden

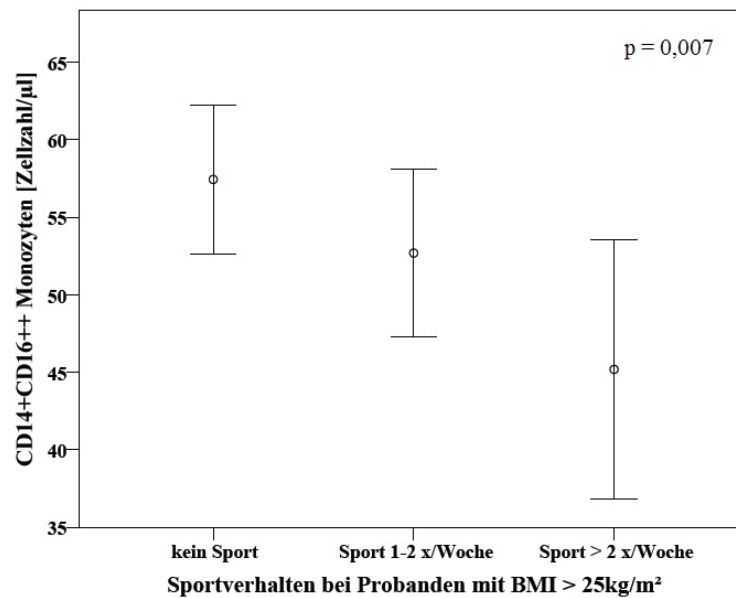


Abbildung 17: Zusammenhang zwischen CD14⁺CD16⁺⁺-Monozytenzahl und regelmäßiger körperlicher Bewegung in Kategorien bei übergewichtigen Probanden

4.5 Assoziation zwischen Lipoproteinen, Triglyceriden und Monozytensubpopulationen

Hinweise auf Interaktionen zwischen Lipidmetabolismus und Monozytensubpopulationen wurden bereits in mehreren Studien gefunden^[26,50,68,92].

Eine Assoziation konnte in der vorliegenden Studienkohorte weder zwischen LDL und Gesamtmonozytenzahlen bzw. Monozytensubpopulationszahlen noch zwischen Gesamtcholesterin und Gesamtmonozytenzahlen bzw. Monozytensubpopulationszahlen aufgezeigt werden (nicht abgebildet).

Jedoch fand sich eine geringgradige negative Korrelation zwischen HDL und Gesamtmonozyten (Abb. 18) und zwischen HDL und CD14⁺⁺CD16⁻-Monozyten (Abb. 19). Diese konnte für die CD16⁺-Monozytensubpopulationen nicht nachgewiesen werden (nicht abgebildet).

Dargestellt in Abbildung 18 und 19 ist der Korrelationskoeffizient nach Spearman.

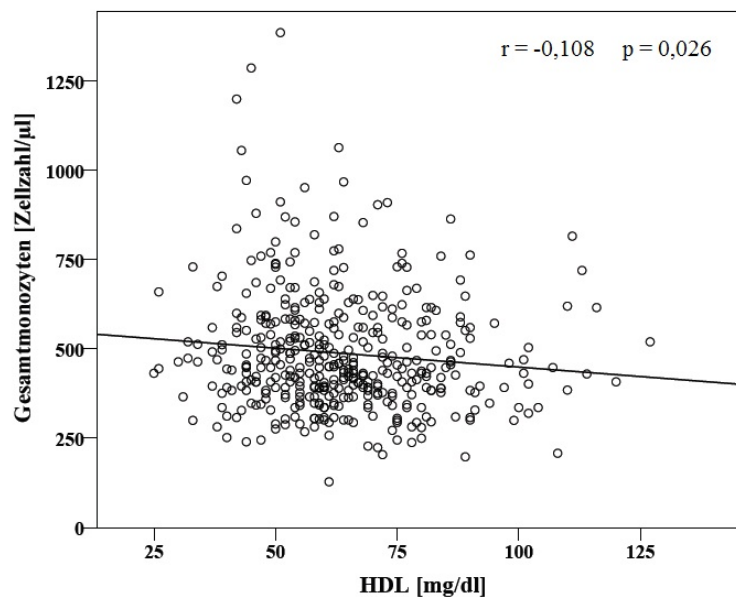


Abbildung 18: Zusammenhang zwischen HDL und Gesamtmonozyten

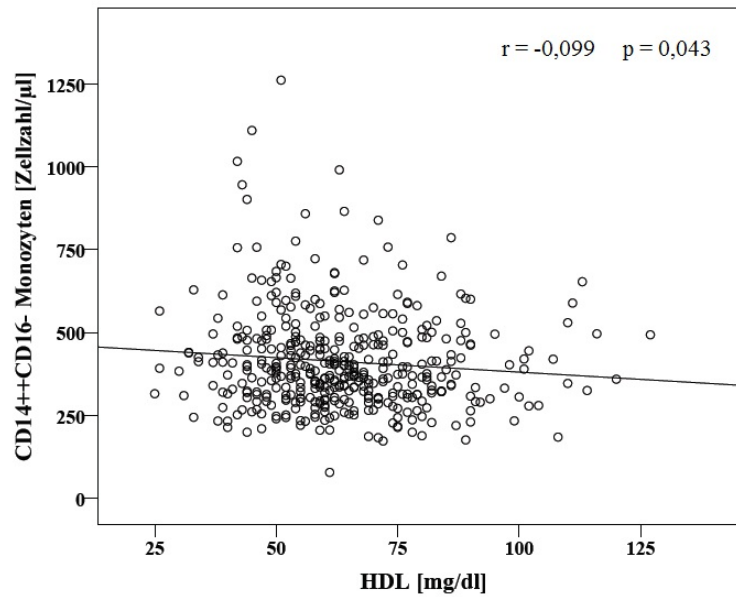


Abbildung 19: Zusammenhang zwischen HDL und CD14⁺⁺CD16⁻-Monozyten

Bei Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Triglyceriden und Gesamtmonozyten- bzw. Monozytensubpopulationszahlen konnte eine schwache, jedoch signifikante Korrelation für die CD14⁺⁺CD16⁻-Monozyten ($r = 0,120$; $p = 0,014$; unten nicht abgebildet) nachgewiesen werden, die sich für die CD14⁺⁺CD16⁺-Monozyten ($r = 0,066$; $p = 0,178$; unten nicht abgebildet) nicht bestätigte.

Zwischen Plasma-Triglyceriden und Gesamtmonozyten ($r = 0,133$; $p = 0,006$; Abb. 20) und zwischen Plasma-Triglyceriden und CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten ($r = 0,128$; $p = 0,009$; Abb. 21) wurde eine schwache, jedoch signifikante positive Korrelation gefunden. Dargestellt in Abbildung 20 und 21 ist der Korrelationskoeffizient nach Spearman.

4 Ergebnisse

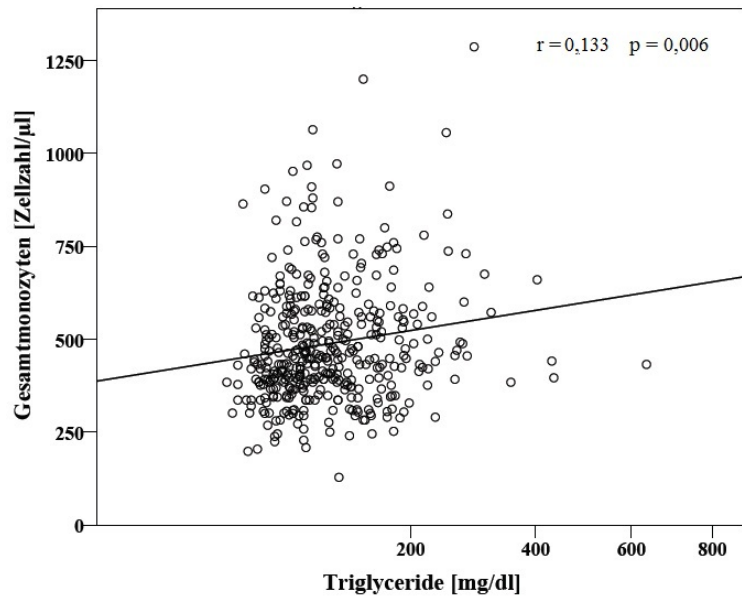


Abbildung 20: Korrelation der Gesamtmonozytenzahlen mit den Triglyceriden

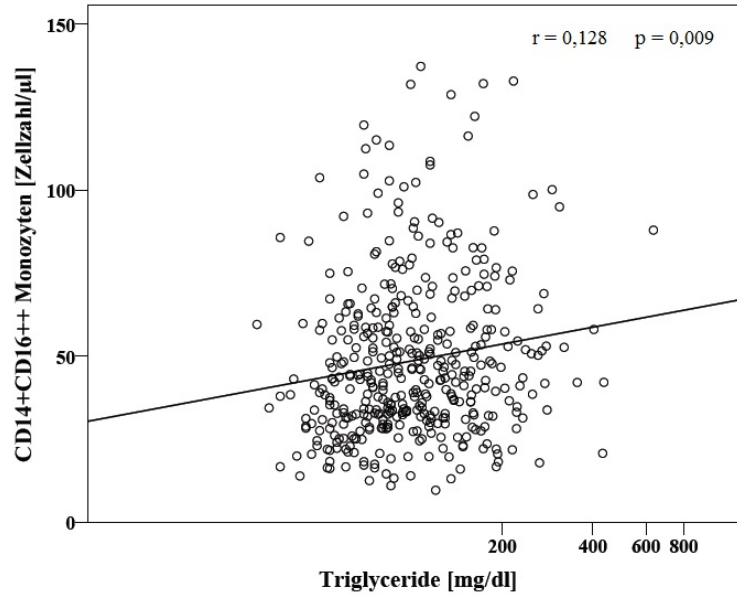


Abbildung 21: Korrelation der CD14⁺CD16⁺⁺-Monozytenzahlen mit den Triglyceriden

4.6 Die CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten als abhängige Variable

Die univariat mit den CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten assoziierten Parameter wurden mittels linearem Regressionsmodell untersucht, um herauszuarbeiten, welche Variablen die CD14⁺CD16⁺⁺-Monozytenzahlen unabhängig beeinflussen. Hier verblieben BMI, Alter und Nikotinkonsum als weiterhin signifikante Variablen.

Abhängige Variable	β -Koeffizient	P-Wert
Alter [Jahre]	0,125	0,009
Body Mass Index [kg/m ²]	0,227	<0,001
HDL [mg/dL]	0,080	0,158
Triglyceride [mg/dL]	0,009	0,853
Mittlerer Blutdruck [mmHg]	0,051	0,355
CRP [mg/L]	0,069	0,183
Nicotinkonsum [Ja/Nein]	-0,091	0,049
Geschlecht	-0,095	0,074

Tabelle 8: Multiple lineare Regressionsanalyse mit der CD14⁺CD16⁺⁺-Monozytenzahl als abhängigem Parameter.

β : Standardisierter Regressionskoeffizient; P-Wert: Signifikanzniveau.

4.7 Intima-Media-Messung

In der linearen Regressionsanalyse der univariat mit der Intima-Media-Dicke assoziierten Parameter zeigte sich in der vorliegenden Studie nur das Alter als bleibend signifikante Variable.

Abhängige Variable	β -Koeffizient	P-Wert
Alter [Jahre]	0,470	<0,001
Body Mass Index [kg/m ²]	0,077	0,154
CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ -Monozyten [Zellzahl/ μ L]	-0,012	0,791
Gesamtcholesterin [mg/dL]	-0,050	0,648
LDL [mg/dL]	0,107	0,323
Triglyceride [mg/dL]	0,022	0,639
Mittlerer Blutdruck [mmHg]	0,061	0,205
CRP [mg/L]	0,028	0,546
GFR [ml/min/1,73 m ²]	-0,041	0,356

Tabelle 9: Multiple lineare Regressionsanalyse mit der Intima-Media-Dicke als abhängigem Parameter.

β : Standardisierter Regressionskoeffizient; P-Wert: Signifikanzniveau.

5 Diskussion

5.1 Rolle der Monozyten im inflammatorischen Prozess der Atherosklerose

Die Aktivierung von Monozyten ist einer der grundlegenden Prozesse in der Entstehung der Atherosklerose.

Einen Meilenstein in der Erforschung von Monozyten stellte die Entdeckung der monozytären Subpopulationen durch Passlick et al.^[76] dar. Er teilte die Monozyten in CD16-negative und CD16-positive Monozyten ein.

Aktuell gültig ist die Einteilung nach IUIS in klassische CD14⁺⁺CD16⁻-Monozyten, intermediäre CD14⁺⁺CD16⁺-Monozyten und nicht-klassische CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten. CD16-positive Monozyten werden als proatherosklerotisch angesehen, da sie vermehrt proinflammatorische Zytokine exprimieren und eine hohe endotheliale Affinität besitzen.

Intermediäre Monozyten stimulieren nicht nur die T-Zell-Proliferation^[91,122], sondern produzieren auch freie Radikale^[122], Interleukin-1-Beta (IL1 β) und Tumornekrosefaktor-Alpha (TNF- α)^[22]. Außerdem nehmen sie oxidiertes LDL-Cholesterin (oxLDL) auf^[68] und sind hoch angiogen^[122].

Auch nicht-klassische Monozyten sezernieren IL1 β ^[22] und resorbieren oxLDL^[68]. Sie patrouillieren außerdem am Endothel entlang und wandern, getriggert durch inflammatorische Stimuli, transendothelial ins Gewebe ein, um hier in Makrophagen zu differenzieren^[7,22].

5.2 Monozytenheterogenität und kardiovaskuläre Erkrankungen - Einordnungen dieser Arbeit in bisherige Studien unserer Arbeitsgruppe

Schlitt et al.^[96] untersuchten erstmalig die Monozytenheterogenität bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung. Bei Patienten mit stabiler Angina pectoris und akutem Koronarsyndrom wurden vermehrte Zellzahlen CD16-positiver Monozyten und ein erhöhter TNF- α -Spiegel nachgewiesen. Allerdings wurden lediglich zwei Subpopulationen, nämlich CD16-positive und CD16-negative Monozyten, differenziert. Auch erfolgte die durchflusszytometrische Identifizierung der Monozyten in Abgrenzung zu anderen Leukozyten im Gegensatz zum aktuellen Standard ohne panmonozytären Marker^[43,122].

Ulrich et al.^[107] stellten 2006 fest, dass das Angiotensin Converting Enzyme als proinflammatorischer Mediator vor allem auf intermediären Monozyten exprimiert wird und charakterisierten die Monozytensubpopulationen somit weiter. Verglichen mit Probanden mit normaler Nierenfunktion wiesen Dialysepatienten eine erhöhte monozytäre ACE-Expression auf. Auch unter den Dialysepatienten kennzeichnete eine nochmals erhöhte ACE-Expression auf intermediären Monozyten diejenigen Patienten, die bereits kardiovaskulär erkrankt waren^[107].

Erweiternde Untersuchungen zu diesem Thema wurden 2010 und 2011 publiziert. Innerhalb von niereninsuffizienten Patienten im CKD-Stadium V wiesen diejenigen mit höheren intermediären Monozytenzahlen (und somit einer erhöhten ACE-Expression) eine signifikant höhere Mortalität auf^[109]. Zusätzlich wurde der Nachweis erbracht, dass das Angiotensin Converting Enzyme tatsächlich ein mit der Atherosklerose assoziierter Marker ist^[110].

Außerdem belegten Ulrich et al. 2008 einen raschen Rückgang nicht-klassischer Monozyten nach erfolgreicher Nierentransplantation^[108].

Erstmalig konnte 2008 durch Heine et al. aufgezeigt werden, dass Dialysepatienten im Vergleich zu Kontrollpatienten eine Verschiebung der Monozytensubpopulationsverteilung hin zu intermediären CD14⁺⁺CD16⁺-Monozyten aufweisen^[45]. Weiterhin erwies sich die Zahl intermediärer Monozyten als prädiktiv für zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse^[45].

Rogacev et al. führten 2009 eine Untersuchung der Monozytenheterogenität im Rahmen

einer Hämodialyse-Studie durch, um die Auswirkungen eines bereits bekannten peridialytischen Abfalls^[98] intermediärer und nicht-klassischer Monozyten zu analysieren. In der Studie kam es bei den Testpersonen zu einer transienten Reduktion vor allem intermediärer Monozyten. Patienten, bei denen dies geringer ausgeprägt war, hatten ein höheres Risiko für ein kardiovaskuläres Ereignis als Patienten mit stärkerem Abfall dieser Zellen^[86]. Der Grund für dieses Phänomen ist noch nicht vollständig geklärt. Es wird jedoch diskutiert, dass eine Dialysebehandlung zur Immunmodulation führt, welche dieses Phänomen bewirkt^[44]. Denn in Studien konnten Rogacev et al. und Heine et al. nachweisen, dass Patienten in höheren CKD-Stadien vor Beginn einer Dialysepflichtigkeit^[45,84] wesentlich niedrigere Zellzahlen an CD16⁺-Monozyten besaßen als danach. Außerdem führten Rogacev et al. eine langjährige Beobachtung bei niereninsuffizienten, nicht-dialysepflichtigen Patienten durch^[84]. Patienten mit höheren intermediären Monozytenzahlen hatten signifikant mehr kardiovaskuläre Erkrankungen zu verzeichnen. In der HOM SWEET HOME Studie (Heterogeneity of monocytes in subjects with coronary heart disease - The Homburg evaluation)^[83] wurden Patienten untersucht, die sich einer elektiven Koronarangiographie am Universitätsklinikum des Saarlandes unterzogen. Auch hier wurde wieder die Rolle der intermediären Monozyten als unabhängige Prädiktoren kardiovaskulärer Ereignisse bestätigt. Zawada et al.^[122] fanden 97 Gene, die selektiv auf intermediären Monozyten aktiv sind und wiesen proatherosklerotische Eigenschaften dieser Monozytensubpopulation nach. Rogacev et al. führten mit der I-LIKE-HOME-Studie^[85] die bisher einzige Untersuchung bei kardiovaskulär gesunden Probanden durch. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen CD16-positiven Monozyten und der Intima-Media-Dicke als Marker der subklinischen Atherosklerose. Der Body-Mass-Index korrelierte in der I-LIKE-HOME-Studie mit der Zellzahl nicht-klassischer Monozyten, nicht jedoch mit der Zellzahl der Gesamtmonozyten. Probanden mit Untergewicht oder Normalgewicht wiesen eine signifikant geringere Intima-Media-Dicke auf als Probanden mit Übergewicht oder Adipositas^[85]. Bisher nicht untersucht waren zum einen die Monozytenheterogenität unter Berücksichtigung des Unterschieds zwischen Körperfettmasse und Körperfettverteilung und zum anderen die Auswirkungen regelmäßiger körperlicher Betätigung auf die Monozytenheterogenität.

5.3 Monozyten und Adipositas

Adipositas führt zu einem Zustand systemischer, chronischer Entzündung, in dem das Fettgewebe durch Makrophagen infiltriert wird^[4,16,23,112,119] und proinflammatorische Mediatoren freigesetzt werden^[82].

Hierbei gilt insbesondere das viszerale, intraabdominelle Fettgewebe als problematisch, da vor allem dieses biologisch aktiv ist. Durch Sekretion von beispielsweise TNF- α trägt es in besonderem Maße zur Inflammation bei, welche wiederum die Ausbildung einer Insulinresistenz fördert^[79].

Die alleinige Bewertung einer Adipositas durch den Body Mass Index ist kritisch zu betrachten; er unterscheidet nicht zwischen Körpermasse, Körperfettmasse und Fettverteilungsmuster.

Zur Vorhersage kardiovaskulärer Ereignisse waren in Studien der Bauchumfang bzw. das Taille-Hüft-Verhältnis dem BMI gleichwertig^[77] oder gar überlegen^[120].

Gefunden wurde weiterhin, dass bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit ein höherer BMI mit niedrigerer Mortalität assoziiert ist^[88]. Hierbei spricht man auch vom sogenannten Adipositas-Paradoxon.

Coutinho et al. postulierten, dass Patienten mit normalem BMI und erhöhtem Bauchumfang, das heißt einer Normalgewichtsadipositas, demnach die höchste Mortalität haben müssten. Dies konnten die Autoren in einer großen klinischen Studie an Patientin mit Normalgewichtsadipositas bestätigen^[21].

Bisherige Studien zur Adipositas und ihrer Auswirkung auf die Monozytenheterogenität stützen sich bisher leider alleinig auf den Body Mass Index. In der vorliegenden Studie wurde nicht nur der BMI gemessen, sondern auch der Bauchumfang und der Taille-Hüft-Index in die Bewertung einer Adipositas miteinbezogen. Es bestätigte sich die signifikante Assoziation zwischen CD16-positiven Monozyten, v.a der CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten, und dem Vorliegen einer Adipositas.

Cottam et al.^[20] untersuchten 2002 die Monozytenheterogenität bei 26 Individuen, die einen BMI von mehr als 40 kg/m² und somit eine Adipositas der Klasse III aufwiesen. Verglichen mit zehn gesunden, schlanken Kontrollprobanden wurden bei diesen Patienten erhöhte Werte CD16-positiver Monozyten gefunden, die nach einer Roux-Y-Magenbypass-Operation und damit chirurgisch induziertem Gewichtsverlust rasch

reversibel waren.

Poitou et al.^[78] publizierten 2011 eine ähnliche Untersuchung bei einer größeren Patientengruppe. Eingeschlossen wurden 105 Probanden der Adipositas-Klassen II und III (BMI > 35 kg/m²), die sich ebenfalls einer bariatrischen Operation unterzogen. Außerdem wurden 39 Übergewichtige der Adipositas-Klasse I (BMI 25-35 kg/m²) untersucht, die an einem Gewichtsreduktionsprogramm teilnahmen. Als Kontrollgruppe dienten 32 schlanke Probanden. Im Vergleich zu den Kontrollprobanden wurden bei den übergewichtigen Probanden der WHO-Klasse II und III erneut erheblich höhere Zahlen intermediärer und nicht-klassischer Monozyten gefunden. Dies galt nicht für Patienten mit weniger schwerem Übergewicht (BMI < 35 kg/m²). Außerdem führte diese Arbeitsgruppe bei den Probanden eine Körperfettanalyse mittels DXA (Dual-Röntgen-Absorptiometrie) durch, die erneut eine Verknüpfung der CD16⁺-Monozyten mit der Fettmasse bestätigte. Analog zu den Ergebnissen von Cottam et al. kam es auch hier bei den stark adipösen Patienten nach Operation des Magens zu einer ausgeprägten Reduktion der intermediären und vor allem der nicht-klassischen Monozyten.

In der vorliegenden Studie zeigte ein Vergleich der Assoziation zwischen nicht-klassischen Monozyten mit dem BMI bzw. dem Taille-Hüft-Verhältnis die stärkere Korrelation für den BMI ($r = 0,315$). Auch das Taille-Hüft-Verhältnis korrelierte signifikant, jedoch mit schwächerem Koeffizient ($r = 0,248$).

Die größte bisherige Untersuchung zur Assoziation der Monozytenheterogenität mit dem Körpergewicht bei gesunden Probanden wurde im Rahmen der I-LIKE-HOME-1-Studie^[85] durchgeführt. Bei den Probanden korrelierte der Body Mass Index signifikant mit den Zellzahlen der nicht-klassischen Monozyten, diese Korrelation blieb auch nach Ausschluss von Studienteilnehmern mit BMI von mehr als 35 kg/m² bestehen. Keine Korrelation wurde zwischen BMI und klassischen bzw. intermediären Monozytenzahlen gefunden.

In der vorliegenden Studie wurde per linearem Regressionsmodell herausgearbeitet, welche Variablen die Zahl der CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten unabhängig beeinflussen. Hier blieben alleinig BMI, Alter und Nikotinkonsum als unabhängige Parameter bestehen.

5.4 Regelmäßige körperliche Aktivität als Einflussfaktor auf atherosklerosebedingende Variablen

Verschiedene experimentelle und klinische Untersuchungen führten zu einer Erweiterung unseres Verständnisses des Potenzials regelmäßiger körperlicher Aktivität.

Durch Bildung entsprechender Mediatoren und Verbesserung der Hämodynamik wirkt Sport gefäßprotektiv.

Hierbei spielt Stickstoffmonoxid (NO) eine besondere Rolle. Es wirkt vasodilatierend, verhindert die Adhäsion und Aggregation von Thrombozyten und Leukozyten und unterdrückt die Proliferation glatter Muskelzellen in der Gefäßwand^[19,36]. Die Bildung von NO erfolgt vornehmlich im Endothel durch die endotheliale Stickstoffmonoxidsynthase (eNOS). Auch von Monozyten und Makrophagen wird jedoch eine Isoform dieses Enzyms, die induzierbare Stickstoffmonoxidsynthase (iNOS), produziert.

Dies wurde von Schirmer et al.^[95] 2015 näher untersucht. Bei Mäusen wurde die Reperfusion des rechten Hinterbeins nach Abbinden der rechten Arteria femoralis untersucht. Hier wurde unterschieden zwischen Tieren, die zuvor über drei Wochen ein freiwilliges Training im Laufrad absolviert hatten und Tieren, welche dies nicht getan hatten. Es ergab sich eine signifikant beschleunigte Reperfusion sowie eine vermehrte Anhäufung von Makrophagen um Kollateralgefäße bei der erstgenannten Gruppe. Außerdem kam es zu einer erhöhten Expression von eNOS und iNOS sowohl in den Kollateralgefäßen als auch in systemisch vorhandenen mononukleären Zellen. Weiterhin wurde der Nachweis erbracht, dass diese Mechanismen der Atherogenese tatsächlich iNOS getriggert sind. Auch bei Menschen, welche über sechs Monate dreimal pro Woche ein aerobes körperliches Training absolvierten, war ferner eine erhöhte iNOS-Expression in Monozyten nachzuweisen^[95].

Ein weiterer Effekt sportlicher Aktivität ist die Verbesserung der Hämodynamik. Hierzu zählen u.a. positive Auswirkungen auf erhöhten Blutdruck^[13,39,40] und die Herzfrequenz und deren Variabilität^[24,28,58].

Darüber hinaus beeinflusst Sport endotheliale Vorläuferzellen. Laufs et al.^[55] führten hierzu 2004 eine Studie an 19 Patienten mit stabiler koronarer Herzerkrankung durch. Diese absolvierten ein tägliches körperliches Training über 28 Tage. Eine Messung der Anzahl endothelialer Vorläuferzellen wurde vor und nach diesem Zeitraum durchgeführt.

Es konnte eine signifikante Erhöhung dieser Zellen gezeigt werden.

Die gleiche Studiengruppe wies 2009 in einer weiteren Studie sowohl tierexperimentell als auch im Vergleich zwischen Sportlern und untrainierten Personen eine Stabilisierung von Telomerproteinen und einen Schutz vor stressinduzierter vaskulärer Apoptose durch körperliche Aktivität nach^[113].

Bereits lange bekannt ist, dass akute körperliche Belastung zu einer transienten Erhöhung der Leukozytenzahlen^[63] und darunter auch der Monozytenzahlen^[69] führt.

Die Auswirkungen regelmäßiger körperlicher Bewegung auf die Monozyten- und deren Subpopulationszahlen wurden bisher allerdings nur wenig untersucht.

Timmermann et al.^[105] untersuchten 2008 in einer kleinen Studie gesunde Probanden zwischen dem 65. und 80. Lebensjahr. Wie in der vorliegenden Studie wurden sie zu ihren sportlichen Gewohnheiten befragt und anhand des Merkmals körperlich aktiv oder inaktiv eingeteilt. Während aktive Probanden ihren Lebensstil beibehalten sollten, wurden die inaktiven dazu angehalten über 12 Wochen dreimal pro Woche ein 20-minütiges aerobes Sportprogramm zu absolvieren. Die Zellzahlen CD16-positiver Monozyten wurden vor und nach Beginn der Studie ermittelt. Während körperlich aktive Probanden bereits zu Beginn eine um 64 % niedrigere CD16-positive Monozytenzahl aufwiesen, kam es bei der körperlich inaktiven Gruppe im Studienverlauf zu einer Reduktion dieser Zellen um 52 %.

In der vorliegenden Studie wurden einerseits die bereits bekannten Hinweise auf erhöhte Zellzahlen nicht-klassischer Monozyten bei übergewichtigen Individuen bestätigt.

Andererseits wiesen sportlich aktive Studienteilnehmer generell niedrigere Zellzahlen nicht-klassischer Monozyten auf als sportliche inaktive ($p = 0,017$). Dieses Ergebnis bestätigte sich auch bei selektiver Betrachtung der Probanden mit BMI von mehr als 25 kg/m² ($p = 0,007$). Zudem besaßen sportlich aktive Studienteilnehmer auch signifikant niedrigere Zellzahlen intermediärer Monozyten ($p = 0,046$), also der Monozytensubpopulation, die am stärksten mit dem kardiovaskulären Risiko assoziiert ist^[83].

Im Einklang mit Ergebnissen anderer Studien finden sich also auch in der vorliegenden Arbeit Hinweise auf den positiven Einfluss regelmäßiger körperlicher Bewegung. Zur Verbesserung des Verständnisses der genauen Auswirkungen von Sport auf die Monozyten-subpopulationen sind weitere klinische und experimentelle Untersuchungen notwendig.

5.5 Monozyten und Lipidmetabolismus

Interaktionen zwischen Monozytensubpopulationen und Lipidmetabolismus wurden bereits in mehreren Studien nachgewiesen.

Gerrity et al.^[33] konnten erstmalig eine bei Schweinen nutritiv herbeigeführte Hypercholesterinämie mit erhöhter Monozytenadhäsion am Endothel in Verbindung bringen. In weiteren tierexperimentellen Studien dokumentierte diese Arbeitsgruppe sowohl eine Erhöhung monozytärer Vorläuferzellen im Knochenmark im Rahmen einer cholesterinreichen Diät^[8] als auch die Ausbildung einer Leukozytose bereits eine Woche nach cholesterinreicher Ernährung^[30].

Rothe et al.^[92] publizierten 1996 eine klinische Studie an 19 Patienten mit Hypercholesterinämie und dokumentierten eine negative Assoziation der Zellzahlen nicht-klassischer Monozyten mit der Serum-HDL-Konzentration. Diese konnte bei gesunden Kontrollen nicht nachgewiesen werden. Auch wurde keine Korrelation zwischen den Zellzahlen klassischer bzw. intermediärer Monozyten und den Serum-Lipoproteinen gefunden.

Die gleiche Gruppe führte 1999 an 79 Patienten mit Hypercholesterinämie und koronarer Herzerkrankung eine weitere Studie durch und fand eine stärkere Assoziation zwischen hohem Serum-Gesamtcholesterin bzw. hohem Serum-Triglycerid-Werten und den Zellzahlen nicht-klassischer Monozyten als zwischen niedrigem Serum-HDL und diesen Zellen^[93].

Auch Poitou et al. analysierten die Verbindung zwischen den Lipoproteinen und den Monozytensubpopulationen in ihrer Studie an Patienten mit Adipositas der Klasse II - III. Die Assoziation hoher Zellzahlen nicht-klassischer Monozyten mit hohen Serum-Triglycerid-Werten und niedrigem Serum-HDL wurde bestätigt^[78], allerdings nach Korrektur um den BMI eliminiert^[78].

In der vorliegenden Nachbeobachtung der I-LIKE-HOME-Studie konnte die Korrelation zwischen Serum-Triglycerid-Konzentration und den Zellzahlen nicht-klassischer Monozyten bestätigt ($r = 0,128$; $p = 0,009$) werden. Diese fand sich nicht für die Konzentration des Serum-Gesamtcholesterins.

Unter den Lipoproteinen ist vor allem oxidiertes LDL-Cholesterin maßgeblich an der Aktivierung von Monozyten beteiligt, denn in Anwesenheit von oxLDL als immunaktivierendem Stimulus^[102] kommt es zur Aktivierung endothelialer Zellen, zur Adäsion

zirkulierender Monozyten und zu deren Umwandlung in Makrophagen^[42].

Mosig et al^[68] differenzierten 2009 zwei Monozytensubpopulationen, CD16-positive und CD16-negative Monozyten, bei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie aufgrund eines Defekts des LDL-Rezeptors. In dieser Studie wiesen CD16-positive Monozyten eine erhöhte Aufnahme von oxLDL auf. Außerdem hatten CD16-positive Monozyten eine erhöhte Adhäsionskapazität am aktivierten Endothel nach Stimulation durch oxLDL.

Ein wichtiges Bindeglied der Interaktion zwischen Monozyten und Lipoproteinmetabolismus stellen auch die Cholesterineffluxpumpen ABCA1 (ABC-Transporter, Sub-Familie ABCA, 1) und ABCG1 (ABC-Transporter, Sub-Familie ABCG, 1) dar. Tierexperimentell konnte aufgezeigt werden, dass ein Defekt der Cholesterineffluxpumpen zur intrazellulären Cholesterinakkumulation in Monozyten und deren Vorläuferzellen führt. Diese bedingt wiederum eine inflammatorische Aktivierung der Zellen und eine unkontrollierte Proliferation der Monozytenprogenitorzellen^[71].

In der vorliegenden Untersuchung ergab sich eine negative Assoziation zwischen der Serum-HDL-Konzentration und den Zellzahlen der Gesamtmonozyten ($r = -0,108$; $p = 0,026$) und der klassischen Monozyten ($r = -0,099$; $p = 0,043$). Auch hier war also eine höhere HDL-Konzentration mit niedrigerer monozytärer Proliferation verbunden. Allerdings stellten sich hier vor allem die klassischen Monozyten als am sensitivsten auf die HDL-Konzentration reagierender Parameter dar.

5.6 Limitationen

Da die vorliegende Untersuchung auf einer Querschnittsstudie beruht, können hier nur Assoziationen beurteilt werden, jedoch niemals Kausalitäten.

Darüber hinaus wurde eine gesunde Kohorte mit niedrigem kardiovaskulärem Risiko untersucht; hierdurch sind gemessene Parameter überwiegend im Normalbereich und Veränderungen minimal.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Differenzierung der generellen Körperfettmasse und der Körperfettlokalisation mittels aktueller Parameter realisiert, jedoch erfolgte keine genauere Objektivierung dieser Messungen beispielsweise mittels DXA.

Der Einfluss sportlicher Aktivität auf die Monozytenheterogenität kann in dieser Studie nur als hypothesengenerierend aufgefasst werden. Ob regelmäßige körperliche Betätigung lediglich zu vermehrter Muskel- und verminderter Fettmasse führt, oder ob Sport eine Direktwirkung auf die Monozytensubpopulationen ausübt, bleibt unklar, und müsste im Rahmen weiter klinischer und experimenteller Studien überprüft werden.

5.7 Schlussfolgerungen und Ausblick

Ziel dieser Untersuchung war es eine 5-Jahres-Nachbeobachtung der Studienkohorte der I-LIKE-HOMe-Studie durchzuführen, um die Assoziation zwischen Monozytensubpopulationen und Körperfettverteilung genauer zu charakterisieren.

Erstmalig gelang es in einem großen Kollektiv gesunder Probanden einen Zusammenhang zwischen abdominell betonter Adipositas, begleitender Lipidstoffwechselveränderungen und nicht-klassischer CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten aufzuzeigen.

Weiterhin konnten dokumentiert werden, dass körperliche Betätigung mit niedrigeren CD14⁺CD16⁺⁺-Monozytenzahlen assoziiert ist.

Zum genaueren Verständnis des Zusammenhangs zwischen Adipositas und Monozytenbiologie sind weitere experimentelle und klinische Untersuchungen notwendig.

Zusammenfassend lassen sich in dieser Studie die zwei Ausgangshypothesen folgendermaßen beantworten:

- **Hypothese I:**

Bei Gesunden ohne manifeste koronare Herzkrankheit korrelieren CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten sowohl mit dem Body Mass Index als auch mit dem Taille-Hüft-Index.

- **Hypothese II:**

Bei Gesunden ohne manifeste koronare Herzkrankheit korrelieren CD14⁺CD16⁺⁺-Monozyten negativ mit sportlicher Aktivität.

Literaturverzeichnis

- [1] ALAMANDA, V. ; SINGH, S. ; LAWRENCE, N. J. ; CHELLAPPAN, S. P.: Nicotine-mediated induction of E-selectin in aortic endothelial cells requires Src kinase and E2F1 transcriptional activity. In: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 418 (2012), Nr. 1, S. 56–61
- [2] ALVAREZ, A. ; CERDA-NICOLAS, M. ; NAIM ABU NABAHAH, Y. ; MATA, M. ; ISSEKUTZ, A. C. ; PANES, J. ; LOBB, R. R. ; SANZ, M. J.: Direct evidence of leukocyte adhesion in arterioles by angiotensin II. In: *Blood* 104 (2004), Nr. 2, S. 402–408
- [3] ANCUTA, P. ; RAO, R. ; MOSES, A. ; MEHLE, A. ; SHAW, S. K. ; LUSCINSKAS, F. W. ; GABUZDA, D.: Fractalkine preferentially mediates arrest and migration of CD16+ monocytes. In: *J. Exp. Med.* 197 (2003), Nr. 12, S. 1701–1707
- [4] ANDERSON, E. K. ; GUTIERREZ, D. A. ; HASTY, A. H.: Adipose tissue recruitment of leukocytes. In: *Curr. Opin. Lipidol.* 21 (2010), Nr. 3, S. 172–177
- [5] ANITSCHKOW, N.: Experimentelle Untersuchungen über die Ablagerung von Cholesterinfetten im subkutanen Bindegewebe - Aus dem pathologischen Institut der Universität Freiburg im Br. (1914)
- [6] ANITSCHKOW, N. ; CHALATOW, S.: Über experimentelle Cholesterinsteatose und ihre Bedeutung für die Entstehung einiger pathologischer Prozesse. In: *Zentrbl. für Allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie* 24 (1913), S. 1–9
- [7] AUFRAY, C. ; FOGG, D. ; GARFA, M. ; ELAIN, G. ; JOIN-LAMBERT, O. ; KAYAL, S. ; SARNACKI, S. ; CUMANO, A. ; LAUVAU, G. ; GEISSMANN, F.: Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior. In: *Science* 317 (2007), Nr. 5838, S. 666–670
- [8] AVERILL, L. E. ; MEAGHER, R. C. ; GERRITY, R. G.: Enhanced monocyte progenitor cell proliferation in bone marrow of hyperlipemic swine. In: *Am. J. Pathol.* 135 (1989), Nr. 2, S. 369–377
- [9] BELGE, K. U. ; DAYYANI, F. ; HORELT, A. ; SIEDLAR, M. ; FRANKENBERGER, M. ; FRANKENBERGER, B. ; ESPEVIK, T. ; ZIEGLER-HEITBROCK, L.: The proinflammatory CD14+CD16+DR++ monocytes are a major source of TNF. In: *J. Immunol.* 168 (2002), Nr. 7, S. 3536–3542
- [10] BLAIR, S. N. ; KOHL, H. W. ; PAFFENBARGER, R. S. ; CLARK, D. G. ; COOPER, K. H. ; GIBBONS, L. W.: Physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy men and women. In: *JAMA* 262 (1989), Nr. 17, S. 2395–2401

- [11] BOTS, M. L. ; HOES, A. W. ; KOUDSTAAL, P. J. ; HOFMAN, A. ; GROBBEE, D. E.: Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. In: *Circulation* 96 (1997), Nr. 5, S. 1432–1437
- [12] BOULE, N. G. ; WEISNAGEL, S. J. ; LAKKA, T. A. ; TREMBLAY, A. ; BERGMAN, R. N. ; RANKINEN, T. ; LEON, A. S. ; SKINNER, J. S. ; WILMORE, J. H. ; RAO, D. C. ; BOUCHARD, C.: Effects of exercise training on glucose homeostasis: the HERITAGE Family Study. In: *Diabetes Care* 28 (2005), Nr. 1, S. 108–114
- [13] BRAITH, R. W. ; POLLOCK, M. L. ; LOWENTHAL, D. T. ; GRAVES, J. E. ; LIMACHER, M. C.: Moderate- and high-intensity exercise lowers blood pressure in normotensive subjects 60 to 79 years of age. In: *Am. J. Cardiol.* 73 (1994), Nr. 15, S. 1124–1128
- [14] BROWN, M. S. ; GOLDSTEIN, J. L.: Receptor-mediated endocytosis: insights from the lipoprotein receptor system. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76 (1979), Nr. 7, S. 3330–3337
- [15] CANCELLO, R. ; CLEMENT, K.: Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. In: *BJOG* 113 (2006), Nr. 10, S. 1141–1147
- [16] CANCELLO, R. ; HENEGAR, C. ; VIGUERIE, N. ; TALEB, S. ; POITOU, C. ; ROUAULT, C. ; COUPAYE, M. ; PELLOUX, V. ; HUGOL, D. ; BOUILLOT, J. L. ; BOULOUIMIE, A. ; BARBATELLI, G. ; CINTI, S. ; SVENSSON, P. A. ; BARSH, G. S. ; ZUCKER, J. D. ; BASDEVANT, A. ; LANGIN, D. ; CLEMENT, K.: Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss. In: *Diabetes* 54 (2005), Nr. 8, S. 2277–2286
- [17] CHANDRASHEKHAR, Y. ; ANAND, I. S.: Exercise as a coronary protective factor. In: *Am. Heart J.* 122 (1991), Nr. 6, S. 1723–1739
- [18] CLINTON, S. K. ; UNDERWOOD, R. ; HAYES, L. ; SHERMAN, M. L. ; KUFE, D. W. ; LIBBY, P.: Macrophage colony-stimulating factor gene expression in vascular cells and in experimental and human atherosclerosis. In: *Am. J. Pathol.* 140 (1992), Nr. 2, S. 301–316
- [19] COOKE, J. P. ; DZAU, V. J.: Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. In: *Annu. Rev. Med.* 48 (1997), S. 489–509
- [20] COTTAM, D. R. ; SCHAEFER, P. A. ; SHAFTAN, G. W. ; VELCU, L. ; ANGUS, L. D.: Effect of surgically-induced weight loss on leukocyte indicators of chronic inflammation in morbid obesity. In: *Obes Surg* 12 (2002), Nr. 3, S. 335–342
- [21] COUTINHO, T. ; GOEL, K. ; SA, D. Correa d. ; CARTER, R. E. ; HODGE, D. O. ; KRAGELUND, C. ; KANAYA, A. M. ; ZELLER, M. ; PARK, J. S. ; KOBER, L. ; TORP-PEDERSEN, C. ; COTTIN, Y.

- ; LORGIS, L. ; LEE, S. H. ; KIM, Y. J. ; THOMAS, R. ; ROGER, V. L. ; SOMERS, V. K. ; LOPEZ-JIMENEZ, F.: Combining body mass index with measures of central obesity in the assessment of mortality in subjects with coronary disease: role of normal weight central obesity. In: *J. Am. Coll. Cardiol.* 61 (2013), Feb, Nr. 5, S. 553–560
- [22] CROS, J. ; CAGNARD, N. ; WOOLLARD, K. ; PATEY, N. ; ZHANG, S. Y. ; SENECHAL, B. ; PUEL, A. ; BISWAS, S. K. ; MOSHOUS, D. ; PICARD, C. ; JAIS, J. P. ; D'CRUZ, D. ; CASANOVA, J. L. ; TROUILLET, C. ; GEISSMANN, F.: Human CD14dim monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors. In: *Immunity* 33 (2010), Nr. 3, S. 375–386
- [23] DALMAS, E. ; ROUAULT, C. ; ABDENNOUR, M. ; ROVERE, C. ; RIZKALLA, S. ; BAR-HEN, A. ; NAHON, J. L. ; BOUILLOT, J. L. ; GUERRE-MILLO, M. ; CLEMENT, K. ; POITOU, C.: Variations in circulating inflammatory factors are related to changes in calorie and carbohydrate intakes early in the course of surgery-induced weight reduction. In: *Am. J. Clin. Nutr.* 94 (2011), Nr. 2, S. 450–458
- [24] DE MEERSMAN, R. E.: Heart rate variability and aerobic fitness. In: *Am. Heart J.* 125 (1993), Nr. 3, S. 726–731
- [25] DEL SOL, A. I. ; MOONS, K. G. ; HOLLANDER, M. ; HOFMAN, A. ; KOUDSTAAL, P. J. ; GROBBEE, D. E. ; BRETELER, M. M. ; WITTEMAN, J. C. ; BOTS, M. L.: Is carotid intima-media thickness useful in cardiovascular disease risk assessment? The Rotterdam Study. In: *Stroke* 32 (2001), Nr. 7, S. 1532–1538
- [26] DRAUDE, G. ; HUNDELSHAUSEN, P. von ; FRANKENBERGER, M. ; ZIEGLER-HEITBROCK, H. W. ; WEBER, C.: Distinct scavenger receptor expression and function in the human CD14(+)/CD16(+) monocyte subset. In: *Am. J. Physiol.* 276 (1999), Nr. 4 Pt 2, S. H1144–1149
- [27] DUFF, G. L. ; McMILLAN, G. C.: Pathology of atherosclerosis. In: *Am. J. Med.* 11 (1951), Nr. 1, S. 92–108
- [28] DURU, F. ; CANDINAS, R. ; DZIEKAN, G. ; GOEBBELS, U. ; MYERS, J. ; DUBACH, P.: Effect of exercise training on heart rate variability in patients with new-onset left ventricular dysfunction after myocardial infarction. In: *Am. Heart J.* 140 (2000), Nr. 1, S. 157–161
- [29] ERIKSSON, E. E. ; WERR, J. ; GUO, Y. ; THOREN, P. ; LINDBOM, L.: Direct observations in vivo on the role of endothelial selectins and alpha(4) integrin in cytokine-induced leukocyte-endothelium interactions in the mouse aorta. In: *Circ. Res.* 86 (2000), Nr. 5, S. 526–533
- [30] FELDMAN, D. L. ; MOGELESKY, T. C. ; LIPTAK, B. F. ; GERRITY, R. G.: Leukocytosis in rabbits with diet-induced atherosclerosis. In: *Arterioscler. Thromb.* 11 (1991), Nr. 4, S. 985–994

- [31] FINGERLE, G. ; PFORTE, A. ; PASSLICK, B. ; BLUMENSTEIN, M. ; STROBEL, M. ; ZIEGLER-HEITBROCK, H. W.: The novel subset of CD14+/CD16+ blood monocytes is expanded in sepsis patients. In: *Blood* 82 (1993), Nr. 10, S. 3170–3176
- [32] FUSTER, V. ; MORENO, P. R. ; FAYAD, Z. A. ; CORTI, R. ; BADIMON, J. J.: Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. In: *J. Am. Coll. Cardiol.* 46 (2005), Nr. 6, S. 937–954
- [33] GERRITY, R. G. ; NAITO, H. K. ; RICHARDSON, M. ; SCHWARTZ, C. J.: Dietary induced atherogenesis in swine. Morphology of the intima in prelesion stages. In: *Am. J. Pathol.* 95 (1979), Nr. 3, S. 775–792
- [34] GREAVES, D. R. ; GORDON, S.: Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease. In: *Trends Immunol.* 22 (2001), Nr. 4, S. 180–181
- [35] GREAVES, D. R. ; GORDON, S.: The macrophage scavenger receptor at 30 years of age: current knowledge and future challenges. In: *J. Lipid Res.* 50 Suppl (2009), S. S282–286
- [36] GREEN, D. J. ; MAIORANA, A. ; O'DRISCOLL, G. ; TAYLOR, R.: Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. In: *J. Physiol. (Lond.)* 561 (2004), Nr. Pt 1, S. 1–25
- [37] GRIP, O. ; BREDBERG, A. ; LINDGREN, S. ; HENRIKSSON, G.: Increased subpopulations of CD16(+) and CD56(+) blood monocytes in patients with active Crohn's disease. In: *Inflamm. Bowel Dis.* 13 (2007), Nr. 5, S. 566–572
- [38] GUSTAFSON, B. ; HAMMARSTEDT, A. ; ANDERSSON, C. X. ; SMITH, U.: Inflamed adipose tissue: a culprit underlying the metabolic syndrome and atherosclerosis. In: *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 27 (2007), Nr. 11, S. 2276–2283
- [39] HAGBERG, J. M. ; GOLDRING, D. ; EHSANI, A. A. ; HEATH, G. W. ; HERNANDEZ, A. ; SCHECHTMAN, K. ; HOLLOSZY, J. O.: Effect of exercise training on the blood pressure and hemodynamic features of hypertensive adolescents. In: *Am. J. Cardiol.* 52 (1983), Nr. 7, S. 763–768
- [40] HAGBERG, J. M. ; MONTAIN, S. J. ; MARTIN, W. H. ; EHSANI, A. A.: Effect of exercise training in 60- to 69-year-old persons with essential hypertension. In: *Am. J. Cardiol.* 64 (1989), Nr. 5, S. 348–353
- [41] HANKE, H. ; LENZ, C. ; FINKING, G.: The discovery of the pathophysiological aspects of atherosclerosis—a review. In: *Acta Chir. Belg.* 101 (2001), Nr. 4, S. 162–169
- [42] HANSSON, G. K. ; HERMANSSON, A.: The immune system in atherosclerosis. In: *Nat. Immunol.* 12 (2011), Nr. 3, S. 204–212

- [43] HEIMBECK, I. ; HOFER, T. P. ; EDER, C. ; WRIGHT, A. K. ; FRANKENBERGER, M. ; MAREI, A. ; BOGHADADI, G. ; SCHERBERICH, J. ; ZIEGLER-HEITBROCK, L.: Standardized single-platform assay for human monocyte subpopulations: Lower CD14+CD16++ monocytes in females. In: *Cytometry A* 77 (2010), Nr. 9, S. 823–830
- [44] HEINE, G. H. ; ORTIZ, A. ; MASSY, Z. A. ; LINDHOLM, B. ; WIECEK, A. ; MARTINEZ-CASTELAO, A. ; COVIC, A. ; GOLDSMITH, D. ; SULEYMANLAR, G. ; LONDON, G. M. ; PARATI, G. ; SICARI, R. ; ZOCCALI, C. ; FLISER, D.: Monocyte subpopulations and cardiovascular risk in chronic kidney disease. In: *Nat Rev Nephrol* 8 (2012), Nr. 6, S. 362–369
- [45] HEINE, G. H. ; ULRICH, C. ; SEIBERT, E. ; SEILER, S. ; MARELL, J. ; REICHART, B. ; KRAUSE, M. ; SCHLITT, A. ; KOHLER, H. ; GIRNDT, M.: CD14(++)CD16+ monocytes but not total monocyte numbers predict cardiovascular events in dialysis patients. In: *Kidney Int.* 73 (2008), Nr. 5, S. 622–629
- [46] HELMRICH, S. P. ; RAGLAND, D. R. ; LEUNG, R. W. ; PAFFENBARGER, R. S.: Physical activity and reduced occurrence of non-insulin-dependent diabetes mellitus. In: *N. Engl. J. Med.* 325 (1991), Nr. 3, S. 147–152
- [47] HORELT, A. ; BELGE, K. U. ; STEPPICH, B. ; PRINZ, J. ; ZIEGLER-HEITBROCK, L.: The CD14+CD16+ monocytes in erysipelas are expanded and show reduced cytokine production. In: *Eur. J. Immunol.* 32 (2002), Nr. 5, S. 1319–1327
- [48] HOTAMISLIGIL, G. S.: Inflammation and metabolic disorders. In: *Nature* 444 (2006), Nr. 7121, S. 860–867
- [49] HU, F. B. ; MANSON, J. E. ; STAMPFER, M. J. ; COLDITZ, G. ; LIU, S. ; SOLOMON, C. G. ; WILLETT, W. C.: Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. In: *N. Engl. J. Med.* 345 (2001), Nr. 11, S. 790–797
- [50] KAPINSKY, M. ; TORZEWSKI, M. ; BUCHLER, C. ; DUONG, C. Q. ; ROTHE, G. ; SCHMITZ, G.: Enzymatically degraded LDL preferentially binds to CD14(high) CD16(+) monocytes and induces foam cell formation mediated only in part by the class B scavenger-receptor CD36. In: *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 21 (2001), Nr. 6, S. 1004–1010
- [51] KATAYAMA, K. ; MATSUBARA, T. ; FUJIWARA, M. ; KOGA, M. ; FURUKAWA, S.: CD14+CD16+ monocyte subpopulation in Kawasaki disease. In: *Clin. Exp. Immunol.* 121 (2000), Nr. 3, S. 566–570
- [52] KAWANAKA, N. ; YAMAMURA, M. ; AITA, T. ; MORITA, Y. ; OKAMOTO, A. ; KAWASHIMA, M. ; IWAHASHI, M. ; UENO, A. ; OHMOTO, Y. ; MAKINO, H.: CD14+,CD16+ blood monocytes and joint inflammation in rheumatoid arthritis. In: *Arthritis Rheum.* 46 (2002), Nr. 10, S. 2578–2586

- [53] KING, M. L. ; WILLIAMS, M. A. ; FLETCHER, G. F. ; GORDON, N. F. ; GULANICK, M. ; KING, C. N. ; LEON, A. S. ; LEVINE, B. D. ; COSTA, F. ; WENGER, N. K.: Medical director responsibilities for outpatient cardiac rehabilitation/secondary prevention programs: a scientific statement from the American Heart Association/American Association for Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation. In: *Circulation* 112 (2005), Nr. 21, S. 3354–3360
- [54] KUNJATHOOR, V. V. ; FEBBRAIO, M. ; PODREZ, E. A. ; MOORE, K. J. ; ANDERSSON, L. ; KOEHN, S. ; RHEE, J. S. ; SILVERSTEIN, R. ; HOFF, H. F. ; FREEMAN, M. W.: Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. In: *J. Biol. Chem.* 277 (2002), Nr. 51, S. 49982–49988
- [55] LAUFS, U. ; WERNER, N. ; LINK, A. ; ENDRES, M. ; WASSMANN, S. ; JURGENS, K. ; MICHE, E. ; BOHM, M. ; NICKENIG, G.: Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. In: *Circulation* 109 (2004), Nr. 2, S. 220–226
- [56] LEE, I. M. ; HSIEH, C. C. ; PAFFENBARGER, R. S.: Exercise intensity and longevity in men. The Harvard Alumni Health Study. In: *JAMA* 273 (1995), Nr. 15, S. 1179–1184
- [57] LEVEY, A. S. ; STEVENS, L. A. ; SCHMID, C. H. ; ZHANG, Y. L. ; CASTRO, A. F. ; FELDMAN, H. I. ; KUSEK, J. W. ; EGGERS, P. ; VAN LENTE, F. ; GREENE, T. ; CORESH, J.: A new equation to estimate glomerular filtration rate. In: *Ann. Intern. Med.* 150 (2009), Nr. 9, S. 604–612
- [58] LEVY, W. C. ; CERQUEIRA, M. D. ; HARP, G. D. ; JOHANNESSEN, K. A. ; ABRASS, I. B. ; SCHWARTZ, R. S. ; STRATTON, J. R.: Effect of endurance exercise training on heart rate variability at rest in healthy young and older men. In: *Am. J. Cardiol.* 82 (1998), Nr. 10, S. 1236–1241
- [59] LIBBY, P.: Inflammation in atherosclerosis. In: *Nature* 420 (2002), Nr. 6917, S. 868–874
- [60] LYNCH, J. ; HELMRICH, S. P. ; LAKKA, T. A. ; KAPLAN, G. A. ; COHEN, R. D. ; SALONEN, R. ; SALONEN, J. T.: Moderately intense physical activities and high levels of cardiorespiratory fitness reduce the risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in middle-aged men. In: *Arch. Intern. Med.* 156 (1996), Nr. 12, S. 1307–1314
- [61] MANSON, J. E. ; RIMM, E. B. ; STAMPFER, M. J. ; COLDITZ, G. A. ; WILLETT, W. C. ; KROLEWSKI, A. S. ; ROSNER, B. ; HENNEKENS, C. H. ; SPEIZER, F. E.: Physical activity and incidence of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. In: *Lancet* 338 (1991), Nr. 8770, S. 774–778
- [62] MARCHAND, F.: Über Arteriosklerose (Athero-Sklerose). In: *Verh. dzsch. Congr. inn.Med* 21 (1904), S. 23–59
- [63] MCCARTHY, D. A. ; DALE, M. M.: The leucocytosis of exercise. A review and model. In: *Sports Med* 6 (1988), Nr. 6, S. 333–363

- [64] MESTAS, J. ; LEY, K.: Monocyte-endothelial cell interactions in the development of atherosclerosis. In: *Trends Cardiovasc. Med.* 18 (2008), Nr. 6, S. 228–232
- [65] MILLER, Y. I. ; VIRIYAKOSOL, S. ; BINDER, C. J. ; FERAMISCO, J. R. ; KIRKLAND, T. N. ; WITZTUM, J. L.: Minimally modified LDL binds to CD14, induces macrophage spreading via TLR4/MD-2, and inhibits phagocytosis of apoptotic cells. In: *J. Biol. Chem.* 278 (2003), Nr. 3, S. 1561–1568
- [66] MORRIS, C. K. ; FROELICHER, V. F.: Cardiovascular benefits of physical activity. In: *Herz* 16 (1991), Nr. 4, S. 222–236
- [67] MORRIS, J. N. ; CLAYTON, D. G. ; EVERITT, M. G. ; SEMMENCE, A. M. ; BURGESS, E. H.: Exercise in leisure time: coronary attack and death rates. In: *Br Heart J* 63 (1990), Nr. 6, S. 325–334
- [68] MOSIG, S. ; RENNERT, K. ; KRAUSE, S. ; KZHYSHKOWSKA, J. ; NEUNUBEL, K. ; HELLER, R. ; FUNKE, H.: Different functions of monocyte subsets in familial hypercholesterolemia: potential function of CD14+ CD16+ monocytes in detoxification of oxidized LDL. In: *FASEB J.* 23 (2009), Nr. 3, S. 866–874
- [69] MOYNA, N. M. ; ACKER, G. R. ; WEBER, K. M. ; FULTON, J. R. ; GOSS, F. L. ; ROBERTSON, R. J. ; RABIN, B. S.: The effects of incremental submaximal exercise on circulating leukocytes in physically active and sedentary males and females. In: *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 74 (1996), Nr. 3, S. 211–218
- [70] MULLER, W. A.: Leukocyte-endothelial-cell interactions in leukocyte transmigration and the inflammatory response. In: *Trends Immunol.* 24 (2003), Nr. 6, S. 327–334
- [71] MURPHY, A. J. ; AKHTARI, M. ; TOLANI, S. ; PAGLER, T. ; BIJL, N. ; KUO, C. L. ; WANG, M. ; SANSON, M. ; ABRAMOWICZ, S. ; WELCH, C. ; BOCHEM, A. E. ; KUIVENHOVEN, J. A. ; YVAN-CHARVET, L. ; TALL, A. R.: ApoE regulates hematopoietic stem cell proliferation, monocytois, and monocyte accumulation in atherosclerotic lesions in mice. In: *J. Clin. Invest.* 121 (2011), Oct, Nr. 10, S. 4138–4149
- [72] MURRAY, C. J. ; LOPEZ, A. D.: Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. In: *Lancet* 349 (1997), Nr. 9064, S. 1498–1504
- [73] NEWBY, A. C.: Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture. In: *Physiol. Rev.* 85 (2005), Nr. 1, S. 1–31
- [74] OLSHANSKY, S. J. ; PASSARO, D. J. ; HERSHOW, R. C. ; LAYDEN, J. ; CARNES, B. A. ; BRODY, J. ; HAYFLICK, L. ; BUTLER, R. N. ; ALLISON, D. B. ; LUDWIG, D. S.: A potential decline in life

- expectancy in the United States in the 21st century. In: *N. Engl. J. Med.* 352 (2005), Nr. 11, S. 1138–1145
- [75] PAFFENBARGER, R. S. ; HYDE, R. T. ; WING, A. L. ; HSIEH, C. C.: Physical activity, all-cause mortality, and longevity of college alumni. In: *N. Engl. J. Med.* 314 (1986), Nr. 10, S. 605–613
- [76] PASSLICK, B. ; FLIEGER, D. ; ZIEGLER-HEITBROCK, H. W.: Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. In: *Blood* 74 (1989), Nr. 7, S. 2527–2534
- [77] PISCHON, T. ; BOEING, H. ; HOFFMANN, K. ; BERGMANN, M. ; SCHULZE, M. B. ; OVERVAD, K. ; SCHOUW, Y. T. d. ; SPENCER, E. ; MOONS, K. G. ; TJ?NNELAND, A. ; HALKJAER, J. ; JENSEN, M. K. ; STEGGER, J. ; CLAVEL-CHAPELON, F. ; BOUTRON-RUAULT, M. C. ; CHAJES, V. ; LINSEISEN, J. ; KAAKS, R. ; TRICHOPOULOU, A. ; TRICHOPOULOS, D. ; BAMIA, C. ; SIERI, S. ; PALLI, D. ; TUMINO, R. ; VINEIS, P. ; PANICO, S. ; PEETERS, P. H. ; MAY, A. M. ; MESQUITA, H. B. ; DUIJNHOFEN, F. J. ; HALLMANS, G. ; WEINEHALL, L. ; MANJER, J. ; HEDBLAD, B. ; LUND, E. ; AGUDO, A. ; ARRIOLA, L. ; BARRICARTE, A. ; NAVARRO, C. ; MARTINEZ, C. ; QUIROS, J. R. ; KEY, T. ; BINGHAM, S. ; KHAW, K. T. ; BOFFETTA, P. ; JENAB, M. ; FERRARI, P. ; RIBOLI, E.: General and abdominal adiposity and risk of death in Europe. In: *N. Engl. J. Med.* 359 (2008), Nr. 20, S. 2105–2120
- [78] POITOU, C. ; DALMAS, E. ; RENOVATO, M. ; BENHAMO, V. ; HAJDUCH, F. ; ABDENNOUR, M. ; KAHN, J. F. ; VEYRIE, N. ; RIZKALLA, S. ; FRIDMAN, W. H. ; SAUTES-FRIDMAN, C. ; CLEMENT, K. ; CREMER, I.: CD14dimCD16+ and CD14+CD16+ monocytes in obesity and during weight loss: relationships with fat mass and subclinical atherosclerosis. In: *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31 (2011), Nr. 10, S. 2322–2330
- [79] POWELL, K.: Obesity: the two faces of fat. In: *Nature* 447 (2007), Nr. 7144, S. 525–527
- [80] POWELL, K. E. ; THOMPSON, P. D. ; CASPERSEN, C. J. ; KENDRICK, J. S.: Physical activity and the incidence of coronary heart disease. In: *Annu Rev Public Health* 8 (1987), S. 253–287
- [81] RIOU, S. ; MEES, B. ; ESPOSITO, B. ; MERVAL, R. ; VILAR, J. ; STENGEL, D. ; NINIO, E. ; HAPEREN, R. van ; CROM, R. de ; TEDGUI, A. ; LEHOUX, S.: High pressure promotes monocyte adhesion to the vascular wall. In: *Circ. Res.* 100 (2007), Nr. 8, S. 1226–1233
- [82] ROCHA, V. Z. ; LIBBY, P.: Obesity, inflammation, and atherosclerosis. In: *Nat Rev Cardiol* 6 (2009), Nr. 6, S. 399–409
- [83] ROGACEV, K. S. ; CREMERS, B. ; ZAWADA, A. M. ; SEILER, S. ; BINDER, N. ; EGE, P. ; GROSSE-DUNKER, G. ; HEISEL, I. ; HORNOF, F. ; JEKEN, J. ; REBLING, N. M. ; ULRICH, C. ; SCHELLER, B.

- ; BOHM, M. ; FLISER, D. ; HEINE, G. H.: CD14++CD16+ Monocytes Independently Predict Cardiovascular Events: A Cohort Study of 951 Patients Referred for Elective Coronary Angiography. In: *J. Am. Coll. Cardiol.* (2012)
- [84] ROGACEV, K. S. ; SEILER, S. ; ZAWADA, A. M. ; REICHART, B. ; HERATH, E. ; ROTH, D. ; ULRICH, C. ; FLISER, D. ; HEINE, G. H.: CD14++CD16+ monocytes and cardiovascular outcome in patients with chronic kidney disease. In: *Eur. Heart J.* 32 (2011), Nr. 1, S. 84–92
- [85] ROGACEV, K. S. ; ULRICH, C. ; BLOMER, L. ; HORNOF, F. ; OSTER, K. ; ZIEGELIN, M. ; CREMERS, B. ; GRENNER, Y. ; GEISEL, J. ; SCHLITT, A. ; KOHLER, H. ; FLISER, D. ; GIRNDT, M. ; HEINE, G. H.: Monocyte heterogeneity in obesity and subclinical atherosclerosis. In: *Eur. Heart J.* 31 (2010), Nr. 3, S. 369–376
- [86] ROGACEV, K. S. ; ZIEGELIN, M. ; ULRICH, C. ; SEILER, S. ; GIRNDT, M. ; FLISER, D. ; HEINE, G. H.: Haemodialysis-induced transient CD16+ monocytopenia and cardiovascular outcome. In: *Nephrol. Dial. Transplant.* 24 (2009), Nr. 11, S. 3480–3486
- [87] ROGER, V. L. ; GO, A. S. ; LLOYD-JONES, D. M. ; BENJAMIN, E. J. ; BERRY, J. D. ; BORDEN, W. B. ; BRAVATA, D. M. ; DAI, S. ; FORD, E. S. ; FOX, C. S. ; FULLERTON, H. J. ; GILLESPIE, C. ; HAILPERN, S. M. ; HEIT, J. A. ; HOWARD, V. J. ; KISSELA, B. M. ; KITTNER, S. J. ; LACKLAND, D. T. ; LICHTMAN, J. H. ; LISABETH, L. D. ; MAKUC, D. M. ; MARCUS, G. M. ; MARELLI, A. ; MATCHAR, D. B. ; MOY, C. S. ; MOZAFFARIAN, D. ; MUSSOLINO, M. E. ; NICHOL, G. ; PAYNTER, N. P. ; SOLIMAN, E. Z. ; SORLIE, P. D. ; SOTOODEHNIA, N. ; TURAN, T. N. ; VIRANI, S. S. ; WONG, N. D. ; WOO, D. ; TURNER, M. B.: Executive summary: heart disease and stroke statistics–2012 update: a report from the American Heart Association. In: *Circulation* 125 (2012), Nr. 1, S. 188–197
- [88] ROMERO-CORRAL, A. ; MONTORI, V. M. ; SOMERS, V. K. ; KORINEK, J. ; THOMAS, R. J. ; ALLISON, T. G. ; MOOKADAM, F. ; LOPEZ-JIMENEZ, F.: Association of bodyweight with total mortality and with cardiovascular events in coronary artery disease: a systematic review of cohort studies. In: *Lancet* 368 (2006), Aug, Nr. 9536, S. 666–678
- [89] ROSS, R.: Atherosclerosis—an inflammatory disease. In: *N. Engl. J. Med.* 340 (1999), Nr. 2, S. 115–126
- [90] ROSS, R. ; GLOMSET, J. ; HARKER, L.: Response to injury and atherogenesis. In: *Am. J. Pathol.* 86 (1977), Nr. 3, S. 675–684
- [91] ROSSOL, M. ; KRAUS, S. ; PIERER, M. ; BAERWALD, C. ; WAGNER, U.: The CD14(bright) CD16+ monocyte subset is expanded in rheumatoid arthritis and promotes expansion of the Th17 cell population. In: *Arthritis Rheum.* 64 (2012), Nr. 3, S. 671–677

- [92] ROTHE, G. ; GABRIEL, H. ; KOVACS, E. ; KLUCKEN, J. ; STOHR, J. ; KINDERMANN, W. ; SCHMITZ, G.: Peripheral blood mononuclear phagocyte subpopulations as cellular markers in hypercholesterolemia. In: *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 16 (1996), Nr. 12, S. 1437–1447
- [93] ROTHE, G. ; HERR, A. S. ; STOHR, J. ; ABLETSHAUSER, C. ; WEIDINGER, G. ; SCHMITZ, G.: A more mature phenotype of blood mononuclear phagocytes is induced by fluvastatin treatment in hypercholesterolemic patients with coronary heart disease. In: *Atherosclerosis* 144 (1999), Nr. 1, S. 251–261
- [94] SALEH, M. N. ; GOLDMAN, S. J. ; LOBUGLIO, A. F. ; BEALL, A. C. ; SABIO, H. ; MCCORD, M. C. ; MINASIAN, L. ; ALPAUGH, R. K. ; WEINER, L. M. ; MUNN, D. H.: CD16+ monocytes in patients with cancer: spontaneous elevation and pharmacologic induction by recombinant human macrophage colony-stimulating factor. In: *Blood* 85 (1995), Nr. 10, S. 2910–2917
- [95] SCHIRMER, S. H. ; MILLENAAR, D. N. ; WERNER, C. ; SCHUH, L. ; DEGEN, A. ; BETTINK, S. I. ; LIPP, P. ; ROOLJEN, N. van ; MEYER, T. ; BOHM, M. ; LAUFS, U.: Exercise Promotes Collateral Artery Growth Mediated by Monocytic Nitric Oxide. In: *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 35 (2015), Aug, Nr. 8, S. 1862–1871
- [96] SCHLITT, A. ; HEINE, G. H. ; BLANKENBERG, S. ; ESPINOLA-KLEIN, C. ; DOPHEIDE, J. F. ; BICKEL, C. ; LACKNER, K. J. ; IZ, M. ; MEYER, J. ; DARIUS, H. ; RUPPRECHT, H. J.: CD14+CD16+ monocytes in coronary artery disease and their relationship to serum TNF-alpha levels. In: *Thromb. Haemost.* 92 (2004), Nr. 2, S. 419–424
- [97] SEIMON, T. A. ; NADOLSKI, M. J. ; LIAO, X. ; MAGALLON, J. ; NGUYEN, M. ; FERIC, N. T. ; KOSCHINSKY, M. L. ; HARKEWICZ, R. ; WITZTUM, J. L. ; TSIMIKAS, S. ; GOLENBOCK, D. ; MOORE, K. J. ; TABAS, I.: Atherogenic lipids and lipoproteins trigger CD36-TLR2-dependent apoptosis in macrophages undergoing endoplasmic reticulum stress. In: *Cell Metab.* 12 (2010), Nr. 5, S. 467–482
- [98] SESTER, U. ; SESTER, M. ; HEINE, G. ; KAUL, H. ; GIRNDT, M. ; KOHLER, H.: Strong depletion of CD14(+)CD16(+) monocytes during haemodialysis treatment. In: *Nephrol. Dial. Transplant.* 16 (2001), Nr. 7, S. 1402–1408
- [99] SMITH, S. C. ; BLAIR, S. N. ; CRIQUI, M. H. ; FLETCHER, G. F. ; FUSTER, V. ; GERSH, B. J. ; GOTTO, A. M. ; GOULD, K. L. ; GREENLAND, P. ; GRUNDY, S. M.: Preventing heart attack and death in patients with coronary disease. In: *Circulation* 92 (1995), Nr. 1, S. 2–4
- [100] SOARES, G. ; BARRAL, A. ; COSTA, J. M. ; BARRAL-NETTO, M. ; VAN WEYENBERGH, J.: CD16+ monocytes in human cutaneous leishmaniasis: increased ex vivo levels and correlation with clinical data. In: *J. Leukoc. Biol.* 79 (2006), Nr. 1, S. 36–39

- [101] STEFANICK, M. L. ; MACKEY, S. ; SHEEHAN, M. ; ELLSWORTH, N. ; HASKELL, W. L. ; WOOD, P. D.: Effects of diet and exercise in men and postmenopausal women with low levels of HDL cholesterol and high levels of LDL cholesterol. In: *N. Engl. J. Med.* 339 (1998), Nr. 1, S. 12–20
- [102] STEMME, S. ; FABER, B. ; HOLM, J. ; WIKLUND, O. ; WITZTUM, J. L. ; HANSSON, G. K.: T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92 (1995), Nr. 9, S. 3893–3897
- [103] STEPPICH, B. ; DAYYANI, F. ; GRUBER, R. ; LORENZ, R. ; MACK, M. ; ZIEGLER-HEITBROCK, H. W.: Selective mobilization of CD14(+)CD16(+) monocytes by exercise. In: *Am. J. Physiol., Cell Physiol.* 279 (2000), Nr. 3, S. C578–586
- [104] THIEBLEMONT, N. ; WEISS, L. ; SADEGHI, H. M. ; ESTCOURT, C. ; HAEFFNER-CAVAILLON, N.: CD14^{low}CD16^{high}: a cytokine-producing monocyte subset which expands during human immunodeficiency virus infection. In: *Eur. J. Immunol.* 25 (1995), Nr. 12, S. 3418–3424
- [105] TIMMERMAN, K. L. ; FLYNN, M. G. ; COEN, P. M. ; MARKOFSKI, M. M. ; PENCE, B. D.: Exercise training-induced lowering of inflammatory (CD14+CD16+) monocytes: a role in the anti-inflammatory influence of exercise? In: *J. Leukoc. Biol.* 84 (2008), Nov, Nr. 5, S. 1271–1278
- [106] TOUBOUL, P. J. ; HENNERICI, M. G. ; MEAIRS, S. ; ADAMS, H. ; AMARENCO, P. ; BORNSTEIN, N. ; CSIBA, L. ; DESVARIEUX, M. ; EBRAHIM, S. ; FATAR, M. ; HERNANDEZ HERNANDEZ, R. ; JAFF, M. ; KOWNATOR, S. ; PRATI, P. ; RUNDEK, T. ; SITZER, M. ; SCHMINKE, U. ; TARDIF, J. C. ; TAYLOR, A. ; VICAUT, E. ; WOO, K. S. ; ZANNAD, F. ; ZUREIK, M.: Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. In: *Cerebrovasc. Dis.* 23 (2007), Nr. 1, S. 75–80
- [107] ULRICH, C. ; HEINE, G. H. ; GARCIA, P. ; REICHART, B. ; GEORG, T. ; KRAUSE, M. ; KOHLER, H. ; GIRNDT, M.: Increased expression of monocytic angiotensin-converting enzyme in dialysis patients with cardiovascular disease. In: *Nephrol. Dial. Transplant.* 21 (2006), Nr. 6, S. 1596–1602
- [108] ULRICH, C. ; HEINE, G. H. ; GERHART, M. K. ; KOHLER, H. ; GIRNDT, M.: Proinflammatory CD14+CD16+ monocytes are associated with subclinical atherosclerosis in renal transplant patients. In: *Am. J. Transplant.* 8 (2008), Nr. 1, S. 103–110
- [109] ULRICH, C. ; HEINE, G. H. ; SEIBERT, E. ; FLISER, D. ; GIRNDT, M.: Circulating monocyte subpopulations with high expression of angiotensin-converting enzyme predict mortality in patients with end-stage renal disease. In: *Nephrol. Dial. Transplant.* 25 (2010), Nr. 7, S. 2265–2272

- [110] ULRICH, C. ; SEIBERT, E. ; HEINE, G. H. ; FLISER, D. ; GIRNDT, M.: Monocyte angiotensin converting enzyme expression may be associated with atherosclerosis rather than arteriosclerosis in hemodialysis patients. In: *Clin J Am Soc Nephrol* 6 (2011), Nr. 3, S. 505–511
- [111] URRRA, X. ; VILLAMOR, N. ; AMARO, S. ; GOMEZ-CHOCO, M. ; OBACH, V. ; OLEAGA, L. ; PLANAS, A. M. ; CHAMORRO, A.: Monocyte subtypes predict clinical course and prognosis in human stroke. In: *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 29 (2009), Nr. 5, S. 994–1002
- [112] WEISBERG, S. P. ; MCCANN, D. ; DESAI, M. ; ROSENBAUM, M. ; LEIBEL, R. L. ; FERRANTE, A. W.: Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. In: *J. Clin. Invest.* 112 (2003), Nr. 12, S. 1796–1808
- [113] WERNER, C. ; FURSTER, T. ; WIDMANN, T. ; POSS, J. ; ROGGIA, C. ; HANHOUN, M. ; SCHARHAG, J. ; BUCHNER, N. ; MEYER, T. ; KINDERMANN, W. ; HAENDELER, J. ; BOHM, M. ; LAUFS, U.: Physical exercise prevents cellular senescence in circulating leukocytes and in the vessel wall. In: *Circulation* 120 (2009), Dec, Nr. 24, S. 2438–2447
- [114] WHO: Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control, Geneva, 2011.
- [115] WHO: Global Recommendations on Physical Activity for Health, Geneva, 2010.
- [116] WHO: Waist Circumference and Waist-Hip Ratio. Report of a WHO Consultation, Geneva, 2011.
- [117] WILLIAMS, P. T.: High-density lipoprotein cholesterol and other risk factors for coronary heart disease in female runners. In: *N. Engl. J. Med.* 334 (1996), Nr. 20, S. 1298–1303
- [118] WOOD, P. D. ; STEFANICK, M. L. ; WILLIAMS, P. T. ; HASKELL, W. L.: The effects on plasma lipoproteins of a prudent weight-reducing diet, with or without exercise, in overweight men and women. In: *N. Engl. J. Med.* 325 (1991), Nr. 7, S. 461–466
- [119] XU, H. ; BARNES, G. T. ; YANG, Q. ; TAN, G. ; YANG, D. ; CHOU, C. J. ; SOLE, J. ; NICHOLS, A. ; ROSS, J. S. ; TARTAGLIA, L. A. ; CHEN, H.: Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. In: *J. Clin. Invest.* 112 (2003), Nr. 12, S. 1821–1830
- [120] YUSUF, S. ; HAWKEN, S. ; OUNPUU, S. ; BAUTISTA, L. ; FRANZOSI, M. G. ; COMMERFORD, P. ; LANG, C. C. ; RUMBOLDT, Z. ; ONEN, C. L. ; LISHENG, L. ; TANOMSUP, S. ; WANGAI, P. ; RAZAK, F. ; SHARMA, A. M. ; ANAND, S. S.: Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. In: *Lancet* 366 (2005), Nr. 9497, S. 1640–1649

- [121] YUSUF, S. ; HAWKEN, S. ; OUNPUU, S. ; DANS, T. ; AVEZUM, A. ; LANAS, F. ; MCQUEEN, M. ; BUDAJ, A. ; PAIS, P. ; VARIGOS, J. ; LISHENG, L.: Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. In: *Lancet* 364 (2004), Nr. 9438, S. 937–952
- [122] ZAWADA, A. M. ; ROGACEV, K. S. ; ROTTER, B. ; WINTER, P. ; MARELL, R. R. ; FLISER, D. ; HEINE, G. H.: SuperSAGE evidence for CD14++CD16+ monocytes as a third monocyte subset. In: *Blood* 118 (2011), Nr. 12, S. 50–61
- [123] ZERNECKE, A. ; SHAGDARSUREN, E. ; WEBER, C.: Chemokines in atherosclerosis: an update. In: *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 28 (2008), Nr. 11, S. 1897–1908

Danksagung

Ich danke ganz herzlich meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. med. Kyrill Rogacev, aktuell tätig als Facharzt in der Klinik für Kardiologie der Universitätsklinik Lübeck sowie meinem Arbeitsgruppen-Leiter und wissenschaftlichen Mentor, Herrn Prof. Dr. med. Gunnar Heine, Oberarzt der Klinik für Innere Medizin IV, dass sie mir dieses Dissertationsthema zur Verfügung stellten und mich während meiner Arbeit unterstützten.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. med. Danilo Fliser, Direktor der Klinik für Innere Medizin IV, für die Möglichkeit in seiner Abteilung zu promovieren.

Außerdem möchte ich mich herzlich bei allen Mitarbeitern der nephrologischen Ambulanz und beim Labor-Team für die Unterstützung auf allen Ebenen bedanken; zu nennen sind insbesondere Herr Dr. rer. nat. Adam Zawada und Frau Martina Wagner.

Ein großes Dankeschön gilt auch Herrn Fabio Lizzi, der mir stets als Ansprechpartner zur Verfügung stand.

Danken möchte ich natürlich auch allen Studienteilnehmern, ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Ich möchte meinen Geschwistern Tobias Berg und Tabea Berg und meinen Freunden danken für ihre stetige Unterstützung und ihre große Verlässlichkeit während des gesamten Studiums.

Danken möchte ich auch meinem Freund Rosario Melisi, der insbesondere während des praktischen Teils der Promotionsarbeit stets ein offenes Ohr für mich hatte und mir jederzeit bei der Lösung von Computerproblemen zur Seite stand.

Schließlich möchte ich mich in besonderem Maße bei meinen Eltern Michaela Berg und Anton Watzl-Berg bedanken, die während meiner gesamten Studienzeit an mich geglaubt und mich sehr unterstützt haben.

Anhang

1. Fragebogen

Untersuchungsdatum: ____ . ____ . ____

Proband: _____ Geburtsdatum: _____ Geschlecht: _____

Körpergröße ohne Schuhe: _____

Körpergewicht leicht bekleidet: _____

Nach 5 Minuten Ruhe:

RR _____ / _____ rechts

RR _____ / _____ links

01. Hatten Sie jemals Schmerzen oder Beschwerden in Ihrem Brustkorb?

- Ja
- Nein (*falls Nein, bitte Fragen 2-9 überspringen, weiter mit 10*)

02. Bekommen Sie diese Schmerzen oder Beschwerden beim Bergangehen oder raschen Gehen?

- Ja
- Nein (*falls Nein weiter mit 9*)
- Ich gehe nicht bergan und gehe nicht rasch.

03. Bekommen Sie diese Schmerzen oder Beschwerden beim Gehen in normalem Tempo in der Ebene?

- Ja
- Nein

04. Was machen Sie, wenn Sie diese Schmerzen oder Beschwerden beim Gehen bekommen?

- Ich halte an oder laufe langsamer
- Ich laufe weiter (*weiter mit Frage 9*)

Bei Benutzung von Nitrospray: „Ich halte an oder laufe langsamer“ ankreuzen.

05. Wenn Sie anhalten, was passiert mit diesen Schmerzen oder diesen Beschwerden?

- Es kommt zu einer Erleichterung
- Es kommt zu keiner Erleichterung (*weiter mit Frage 9*)

06. Wie rasch?

- Innerhalb von zehn Minuten
- Nicht innerhalb von zehn Minuten (*weiter mit Frage 9*)

07. Zeigen Sie mir bitte, wo die Schmerzen oder Beschwerden lokalisiert sind.

- Sternum (oberes oder mittleres Drittel)
- Sternum (unteres Drittel)
- Linksseitige vordere Brustwand
- Linker Arm

(Alle Angaben notieren)

08. Haben Sie diese Schmerzen oder Beschwerden sonstwo?

- Ja (*notieren wo _____*)
- Nein

09. Hatten Sie jemals einen schweren Schmerz über der Vorderseite Ihres Brustkorbes, der über 30 Minuten oder länger anhielt?

- Ja
- Nein

10. Bekommen Sie Schmerzen beim Gehen in einem oder beiden Beinen?

- Ja
- Nein (*falls Nein, weiter mit Frage 19*)

11. Begann dieser Schmerz jemals beim Stehen in Ruhe oder beim Sitzen?

- Ja (*falls Ja, weiter mit Frage 19*)
- Nein

12. Wo im Bein empfinden Sie diesen Schmerz?

- Der Schmerz bezieht den oder die Unterschenkel ein.
- Der Schmerz bezieht den oder die Unterschenkel nicht ein (*weiter mit Frage 19*).

13. Bekommen Sie diesen Schmerz beim Bergangehen oder raschen Gehen?

- Ja
- Nein (*falls Nein weiter mit Frage 19*)
- Ich gehe nicht bergan und gehe nicht rasch.

14. Bekommen Sie diesen Schmerz beim Gehen in normalem Tempo in der Ebene?

- Ja
- Nein

15. Ist der Schmerz jemals während des Gehens verschwunden?

- Ja (*falls Ja, weiter mit Frage 19*)
- Nein

16. Was machen Sie wenn Sie diese Schmerzen oder Beschwerden beim Gehen bekommen?

- Ich halte an oder laufe langsamer
- Ich laufe weiter (*weiter mit Frage 19*)

17. Wenn Sie anhalten, was passiert mit diesen Schmerzen oder Beschwerden?

- Es kommt zu einer Erleichterung
- Es kommt zu keiner Erleichterung (*weiter mit Frage 19*)

18. Wie rasch?

- Innerhalb von zehn Minuten
- Nicht innerhalb von zehn Minuten

19. Hatten Sie jemals einen Herzinfarkt, eine Bypass-Operation oder eine Aufdehnung von Herzkranzgefäßen mittels Herzkatheter?

- Ja
- Nein

20. Hatten Sie jemals einen Schlaganfall mit Beschwerden, die länger als 24 Stunden angehalten haben?

- Ja
- Nein

21. Hatten Sie jemals einen Schlaganfall mit Beschwerden, die kürzer als 24 Stunden angehalten haben?

- Ja
- Nein

22. Sind Ihre Halsschlagadern operiert oder mittels Katheter aufgedehnt?

- Ja
- Nein

23. Sind Ihre Becken- oder Beinschlagadern operiert oder aufgedehnt?

- Ja
- Nein

24. Ist bei Ihnen eine bösartige Tumorerkrankung oder eine chronische Entzündungserkrankung, etwa eine chronische Darmentzündung oder eine chronische Leberentzündung bekannt?

- Ja
- Nein

25. Hatten Sie in den letzten fünf Tagen einen akuten Infekt?

- Ja
- Nein

26. Haben Sie jemals geraucht?

- Ja
- Nein (*falls Nein, weiter mit Frage 31*)

27. Rauchen Sie aktuell?

- Ja (*falls Ja, weiter mit Frage 28a*)
- Nein (*falls Nein, nur Frage 28*)

28. Wann haben Sie die letzte Zigarette geraucht? _____

28a. Blutentnahme Uhrzeit _____

28b. Letzte Zigarette vor Blutentnahme _____

28c. Insgesamt Anzahl Zigaretten vor Blutentnahme _____

29. Wie viele Jahre haben Sie insgesamt geraucht? _____

30. Wie viele Päckchen haben Sie durchschnittlich am Tag geraucht? _____

31. Hat Ihr Vater oder Ihre Mutter einen Herzinfarkt oder einen Schlaganfall vor dem 60. Lebensjahr erlitten?

- Ja
- Nein

32. Hat eines oder mehrere Geschwister einen Herzinfarkt oder einen Schlaganfall vor dem 60. Lebensjahr erlitten?

- Ja
- Nein

33. Ist bei Ihnen ein Diabetet mellitus bekannt?

- Ja
- Nein

34. Wie ist der Diabetet mellitus behandelt?

- Insulin
- Blutzuckersenkende Tabletten
- Diät

35. An wievielen Tagen der Woche betätigen Sie sich mindestens 30 Minuten sportlich in einem Ausmaß, dass Sie ins Schwitzen kommen?

_____ (Falls „0“, weiter mit Frage 37)

36. Welche Sportarten betreiben Sie hierbei mindestens einmal pro Woche?

37. Waren Sie zum Zeitpunkt der Blutentnahme nüchtern?

- Ja
- Nein

38. Ist bei Ihnen eine Nierenerkrankung bekannt?

- Ja
- Nein (*falls Nein, weiter mit Frage 40*)

39. Welche Nierenerkrankung ist bei Ihnen bekannt?

40. Wenn Sie das letzte Jahr betrachten, wie viele Gläser Alkohol haben Sie durchschnittlich pro Woche, also von Montag bis Sonntag, getrunken?

Wir betrachten 0,35 l Bier, 0,12 l (ein „Achtel“) Wein oder 45 ml Spirituosen als ein Glas Alkohol.

- Bier: _____ Gläser
- Rotwein: _____ Gläser
- Weißwein: _____ Gläser
- Spirituosen: _____ Gläser
- Gesamt: _____ Gläser

41. Nehmen Sie regelmäßig (seit mindestens 14 Tagen täglich) oder gelegentlich (mindestens einmal in den letzten 14 Tagen) Medikamente oder Hormonpräparate wie die Pille ein?

- Ja
- Nein

42. Wie heißen diese Medikamente oder Hormonpräparate?

2. Publikationen

Teilergebnisse der I-LIKE-HOMe-Studie-2 wurden zur Publikation akzeptiert:

Atherosclerosis. 2014 May; 234(1): 17-22

„S-adenosylhomocysteine is associated with subclinical atherosclerosis and renal function in a cardiovascular low-risk population.“

Adam M. Zawada¹, Kyrill S. Rogacev¹, Björn Hummel², Judith T. Berg, Annika Friedrich, Heinz J. Roth, Rima Obeid, Jürgen Geisel, Danilo Fliser, Gunnar H. Heine