

Aus der Klinik für Innere Medizin III  
mit den Schwerpunkten Kardiologie, Angiologie und internistische Intensivmedizin  
Direktor: Prof. Dr. med. Norbert Frey  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**Assoziation von zirkulierenden Plasma-Osteopontin-Spiegeln mit kardiovaskulären Risikofaktoren  
und subklinischen kardiometabolischen Parametern in der Allgemeinbevölkerung**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

**Marie-Christin Ritter**, geb. Frühauf

aus **Pritzwalk**

Kiel **2018**

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Norbert Frey, Klinik für Innere Medizin III mit den Schwerpunkten Kardiologie und Angiologie
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Hans-Heiner Kramer, Klinik für angeborene Herzfehler und Kinderkardiologie
- Tag der mündlichen Prüfung: 30.01.2019
- Zum Druck genehmigt, Kiel, den 14.11.2018

Gez.: Prof. Dr. Johann Roider  
Vorsitzender des Ausschusses für Promotion

„Deine Hand in meiner Hand, genauso soll es sein.  
Mit deiner Hand in meiner Hand sind wir nie allein.“

(Mark Sperring und Britta Teckentrup)

Meinen Kindern in großer Dankbarkeit.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>6</b>
1.1	OSTEOPONTIN .....	7
1.1.1	Vorkommen und Struktur des Osteopontin.....	8
1.1.2	Funktionen des Osteopontin .....	9
1.2	OSTEOPONTIN UND MANIFESTE ATHEROSKLEROSE.....	10
1.2.1	Atherogenese .....	10
1.2.2	Osteopontin bei manifester Atherosklerose .....	10
1.3	OSTEOPONTIN UND RISIKOFAKTOREN EINER ATHEROSKLEROSE .....	12
1.3.1	Kardiovaskuläre Risikofaktoren.....	12
1.3.2	Osteopontin bei kardiovaskulären Risikofaktoren .....	13
1.3.3	Der besondere Risikofaktor Adipositas .....	13
1.3.3.1	Vermeehrt vorkommendes Fettgewebe wirkt proatherogen .....	14
1.3.3.2	Abdominelle und viszerale Adipositas .....	17
1.3.4	Osteopontin bei Adipositas .....	18
1.3.5	Metabolisches Syndrom und nicht-alkoholische Fettlebererkrankung als Folgeveränderungen der Adipositas .....	19
1.3.5.1	Metabolisches Syndrom .....	19
1.3.5.2	Nicht-alkoholische Fettlebererkrankung.....	20
1.3.6	Osteopontin bei nicht-alkoholischer Fettlebererkrankung.....	21
1.4	OSTEOPONTIN IN POPULATIONSBASIERTEN STUDIEN .....	22
1.5	FRAGESTELLUNG .....	23
<b>2</b>	<b>PROBANDEN UND METHODEN .....</b>	<b>24</b>
2.1	BIOBANK POPGEN .....	24
2.2	BASISERHEBUNG (2005-2006) .....	25
2.3	ERSTE NACHBEOBACHTUNG (2010-2012) .....	26
2.3.1	Fragebogen PopGen .....	26
2.3.2	Ernährungsfragebogen und körperliche Aktivität.....	28
2.3.3	Erfassung anthropometrischer Daten .....	29
2.3.4	Messung der Blutdruckwerte .....	29
2.3.5	Sonographie des Abdomens.....	30
2.3.6	Sammlung von Bioproben .....	30
2.3.6.1	Bestimmungen im Zentrallabor.....	30
2.3.6.2	Bestimmung des Plasma-Osteopontin .....	31
2.3.7	Ganzkörper-MRT .....	31
2.3.7.1	Bestimmung der abdominalen Fettvolumina.....	33
2.3.7.2	Bestimmung des Leberfettgehaltes .....	34
2.3.8	Definitionen weiterer kategorieller Variablen .....	35
2.4	STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	37
2.4.1	Deskriptive Analysen .....	37
2.4.2	Korrelate des Plasma-Osteopontin .....	37
2.4.3	Assoziationen des Plasma-Osteopontin mit kardiometabolischen Risikofaktoren ..	39

<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>42</b>
3.1	DESKRIPTIVE ANALYSEN .....	42
3.1.1	Basischarakteristik.....	42
3.1.2	Verteilung des Plasma-Osteopontin.....	46
3.2	KORRELATE DES PLASMA-OSTEOPONTIN .....	47
3.2.1	Verteilung der Merkmale auf Osteopontin-Tertile .....	47
3.2.2	Korrelationen.....	50
3.2.2.1	Korrelationsanalyse nach Bravais-Pearson .....	50
3.2.2.2	Rangkorrelationsanalyse nach Spearman .....	50
3.2.2.3	Prüfung auf Multikollinearität.....	51
3.2.3	Rückwärtseliminationsverfahren .....	52
3.3	ASSOZIATIONEN DES PLASMA-OSTEOPONTIN MIT KARDIOMETABOLISCHEN RISIKOFAKTOREN .....	54
3.3.1	Assoziationen mit den abdominellen Fettmessungen .....	55
3.3.2	Assoziationen mit dem Leberfettgehalt .....	57
3.3.3	Assoziationen mit dem metabolischen Syndrom.....	59
3.4	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE .....	60
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>61</b>
4.1	ZUSAMMENSETZUNG DER STUDIENPOPULATION – VERGLEICH MIT ANDEREN POPULATIONSBASIERTEN UNTERSUCHUNGEN IN DEUTSCHLAND .....	61
4.2	VERTEILUNG DES PLASMA-OSTEOPONTIN .....	63
4.3	KORRELATE DES PLASMA-OSTEOPONTIN .....	63
4.3.1	Ergebnisse vorangegangener Assoziationsstudien .....	63
4.3.2	Assoziationen einzelner Variablen mit dem zirkulierenden Osteopontin .....	65
4.4	ASSOZIATIONEN DES PLASMA-OSTEOPONTIN MIT KARDIOMETABOLISCHEN RISIKOFAKTOREN .....	70
4.4.1	Assoziationen mit den abdominellen Fettmessungen .....	70
4.4.2	Assoziationen mit dem Leberfettgehalt .....	72
4.4.3	Assoziationen mit dem metabolischen Syndrom.....	75
4.5	METHODISCHE ASPEKTE.....	76
4.5.1	Studiendesign .....	76
4.5.2	Datenerhebung.....	77
4.5.3	Datenauswertung.....	78
4.6	AUSBLICK.....	79
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>81</b>
<b>6</b>	<b>VERZEICHNISSE</b> .....	<b>83</b>
6.1	LITERATURVERZEICHNIS.....	83
6.2	TABELLENVERZEICHNIS.....	92
6.3	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	93
<b>7</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>94</b>
<b>8</b>	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>99</b>

## Glossarium

aHT	arterieller Hypertonus
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
BMI	Body Mass Index
CAU	Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
CRP	C-reaktives Protein
CVD	<i>cardiovascular diseases</i> , kardiovaskuläre Erkrankungen
DEGS1	Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland
DIfE	Deutsches Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke
DM	Diabetes mellitus (wenn nicht anders benannt, ist der Typ II gemeint)
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ESC	European Society of Cardiology
FFA	<i>free fatty acids</i> , freie Fettsäuren
GFR (MDRD)	geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
HDL-Cholesterin	High-Density-Lipoprotein-Cholesterin
iaAT	Dicke des intraabdominellen Fettgewebes in mm (sonographisch)
IL	Interleukin
IP-OoP	In-Phase-Out-of-Phase-Darstellung (MRT-Sequenz; <i>chemical shift imaging</i> )
KHK	koronare Herzkrankheit
LDL-Cholesterin	Low-Density-Lipoprotein-Cholesterin
MCP-1	Monozyten-Chemoattrahierendes Protein-1
meth/w	<i>metabolic equivalent task hours per week</i>
metS	metabolisches Syndrom
MMP	Matrix-Metalloproteinase
MRT	Magnetresonanztomogramm
NAFL	<i>non-alcoholic fatty liver</i> , nicht-alkoholische Fettleber
NAFLD	<i>non-alcoholic fatty liver disease</i> , nicht-alkoholische Fettlebererkrankung
NASH	<i>non-alcoholic steatohepatitis</i> , nicht-alkoholische Steatohepatitis
OPN	Osteopontin
OR	<i>odds ratio</i>
PAI	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
ppAT	Dicke des präperitonealen Fettgewebes in mm (sonographisch)
py	<i>pack years</i> , Packungsjahre; Maßeinheit für die Rauchintensität
RSID	<i>relative signal intensity loss</i> , relativer Signalintensitätsverlust
SAAT	<i>subcutaneous abdominal adipose tissue</i> , Volumen im MRT erfasst
scAT	Dicke des subkutanen abdominellen Fettgewebes in mm (sonographisch)
SE	<i>standard error</i> , Standardfehler
SIBLING	Small-Integrin-Binding-Ligand, N-Linked Glycoprotein
SOP	<i>standard operating procedure</i>
STRAT	<i>subcutaneous trunk adipose tissue</i> , Volumen im MRT erfasst
TG	Triglyceride
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
UK SH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
VAT	<i>visceral adipose tissue</i> , Volumen im MRT erfasst
WC	<i>waist circumference</i> , Taillenumfang
WHO	World Health Organisation
WHR	<i>waist to hip ratio</i> , Ratio Taillenumfang zu Hüftumfang
WHtR	<i>waist to height ratio</i> , Ratio Taillenumfang zu Körperhöhe
$\gamma$ -GT	$\gamma$ -Glutamyltransferase

## 1 EINLEITUNG

Waren vor dem 20. Jahrhundert noch Infektionskrankheiten und Mangelernährung für den Großteil der Todesfälle verantwortlich, so sind heute Herz-Kreislauf-Erkrankungen mit 30% aller Sterbefälle weltweit die häufigste Todesursache. In hoch industrialisierten Ländern machen sie gemäß World Health Organisation (WHO) mit 40% einen noch etwas höheren Anteil aus als in wirtschaftlich schwächeren Ländern (WHO, 2004). In Deutschland entsprach die Zahl der an Kreislauferkrankungen Verstorbenen für das Jahr 2014 mit 38,9% der der übrigen Industrienationen (Bundesamt, 2015).

Als ursächlich wird der Prozess des epidemiologischen Überganges gesehen, der durch Industrialisierung, Urbanisierung und begleitende Lebensstilveränderungen an allen Orten der Welt stattfindet. Die körperliche Aktivität nimmt ab, während die absolute Kalorienaufnahme zunimmt. Die Adipositas und deren Folgeerkrankungen wie Hypertonus (aHT), Diabetes mellitus Typ II (DM) und Fettstoffwechselerkrankungen werden häufiger und vor allem früher beobachtet. Sie führen zum Auftreten einer Atherosklerose und deren klinischen Manifestationen, die als kardiovaskuläre Erkrankungen (*cardiovascular diseases*, CVD) im engeren Sinne bezeichnet werden (Vollert et al., 2011). Ab dem Jahr 2020 werden sie aktuellen Schätzungen zufolge die bedeutendste Rolle für die allgemeine Gesundheit spielen (Murray and Lopez, 1997).

Als häufigste sei hier die koronare Herzkrankheit (KHK) zu nennen. Entsprechend der Lokalisation der Atherosklerose zählen zu den CVD aber auch zerebrovaskuläre Veränderungen, die periphere arterielle Verschlusskrankheit, die atherosklerotischen Läsionen der Aorta mit Aneurysma und Dissektion, Mesenterialischämien und eine vaskuläre Nephropathie (Kröger, 2011).

Nicht nur die Auswirkungen auf den Einzelnen, sondern auch die wirtschaftlichen Folgen sind erheblich. Allein im Jahr 2008 entstanden in Deutschland Kosten in Höhe von 37 Mrd. Euro für Prävention, Behandlung, Rehabilitation und Pflege von Herz-Kreislauf-Leiden. Das entspricht einem Anteil von 14,5% der gesamten Krankheitskosten in diesem Jahr (Bundesamt, 2010). Arbeitsunfähigkeit aufgrund von Herz-Kreislauf-Erkrankungen verursachte im Jahr 2013 Kosten in Höhe von 33,5 Mio. Euro, und der Produktionsausfall bedingte Mehraufwendungen von 3,5 Mrd. Euro (Brendler et al., 2013).

Diese Zahlen verdeutlichen den steigenden Handlungsbedarf, kardiovaskuläre Erkrankungen nicht erst zu diagnostizieren und zu therapieren, sobald sie in ihrem jeweiligen Vollbild vorliegen. Ziele müssen heute vorrangig eine Reduktion des Auftretens bzw. des Fortschreitens dieses Formenkreises von Erkrankungen sein. Dabei spielen sichere Früherkennungsmöglichkeiten eine ebenso wichtige Rolle wie wirkungsvolle Präventionsansätze. Hierfür unabdingbar ist das Verstehen der Pathogenese bzw. des Zusammenspiels auslösender und beeinflussender Faktoren.

Als hilfreich zur Diagnosestellung einer kardiovaskulären Erkrankung, deren Risikostratifizierung, Therapiesteuerung und Prognoseabschätzung wurden in den letzten Jahren einige Biomarker herausgestellt. Dabei wird in der Medizin als Biomarker ein „objektiv erkenn- und bestimmbares biologisches Merkmal (Proteine, Enzyme, Hormone)“ bezeichnet, „dessen Vorhandensein oder vermehrtes Vorkommen in Geweben und Körperflüssigkeiten ein unverwechselbares, physiologisches [...] oder auf einen Krankheitszustand hindeutendes [...] Kennzeichen ist“ (Jaehde, 2017).

In der Kardiologie sind einige Biomarker bereits fest etabliert in der klinischen Routine. Einzug in die Leitlinien fanden z.B. die kardialen Troponine (T und I) als ein wesentliches Diagnosekriterium von Herzinfarkten. Auch prognostische Aussagen nach akutem Koronarsyndrom, nach Lungenarterienembolie und bei anderen kardialen Erkrankungen wie z.B. Kardiomyopathien lassen sich anhand deren Bestimmung treffen. Ebenfalls in den Leitlinien empfohlen ist die Bestimmung der natriuretischen Peptide *brain natriuretic peptide* (BNP) und *N-terminal pro brain natriuretic peptide* (NT-Pro-BNP). Sie helfen bei der Diagnosestellung einer systolischen ebenso wie diastolischen Herzinsuffizienz und besitzen einen Nutzen in der Risikostratifizierung und Therapiesteuerung. Darüber hinaus wurden für eine große Anzahl weiterer Biomarker wie z.B. die Creatinkinase (CK), das Copeptin, die Myeloperoxidase (MPO), das *heart-type fatty acid-binding protein* (h-FABP) oder den *growth-differentiation factor-15* (GDF-15) vielversprechende Ergebnisse hinsichtlich Diagnose und Prognose bei kardialen Krankheitsbildern aufgezeigt (Mueller et al., 2014).

Gleiches gilt für die Untersuchung auf das Vorliegen atherosklerotischer Läsionen hin. Die Abschätzung des kardiovaskulären Risikos erfolgt gemäß Leitlinie unter anderem durch die Bestimmung des Gesamtcholesterins und weiterer Lipidparameter, der glomerulären Filtrationsrate zur Detektion einer schweren Nierenfunktionsstörung ( $GFR < 30 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ ) und der Nüchternplasmaglukose sowie des glykosylierten Hämoglobin (HbA1c) zur Diagnosestellung eines DM. Aber auch inflammatorische (hochsensitives C-reaktives Protein, Fibrinogen), thrombotische (Homozystein, Lipoprotein-assoziierte Phospholipase A2) und viele andere Biomarker zeigten in Studien reproduzierbare Ergebnisse hinsichtlich ihres diagnostischen und prognostischen Potentials im Zusammenhang mit kardiovaskulären Veränderungen (Piepoli et al., 2016).

## 1.1 OSTEOPONTIN

Ein Biomarker, für den neben anderen pathologischen Prozessen eine wesentliche Beteiligung an der Entstehung und Progression der Atherosklerose diskutiert wird, ist das Osteopontin (OPN, abgeleitet von dem griechischen Wort „osteon“ für Knochen und dem lateinischen Wort „pons“ für Brücke). Erstmals wurde dieses Protein 1985 von Franzen und Heinegard aus bovinem Knochen isoliert (Franzen and Heinegard, 1985).

### 1.1.1 Vorkommen und Struktur des Osteopontin

Gewebegebunden wurde das OPN sowohl extra- als auch intrazellulär nachgewiesen. In sezernierter Form kommt es im Blut oder in anderen Körperflüssigkeiten wie Urin oder Muttermilch vor (Wolak, 2014). Für viele verschiedene Zelltypen konnte bereits eine Expression des OPN gezeigt werden. Zu ihnen gehören Osteoblasten, Osteozyten und Chondroblasten ebenso wie Makrophagen, T-Zellen, Fibroblasten, Hepatozyten, Endothelzellen, glatte Muskelzellen und Skelettmuskelzellen. Außerdem konnte es in verschiedenen anderen Geweben wie Gehirn, Innenohr, Plazenta, Brustdrüsen und Niere nachgewiesen werden (Kahles et al., 2014).

Das OPN wird der Familie der SIBLINGs (small integrin-binding-ligand, N-linked glycoproteins) zugeordnet. Das kodierende Gen, das Secreted Phosphoprotein 1 (SPP-1) - Gen, liegt auf dem langen Arm von Chromosom 4 (4q13) und enthält 7 Exons (Kahles et al., 2014).

Diese Abbildung wurde aus  
Datenschutzgründen entfernt und ist der  
Originalpublikation zu entnehmen (*figure 1*).

**Abbildung 1: OPN-Struktur** Dargestellt sind in grün, rot und blau wichtige Zellinteraktionsdomänen (Bindungsstellen mit Integrinen). Oben sind zusätzlich in grau Bindungsstellen für Calcium und in schwarz Bindungsstellen für andere Matrixbestandteile aufgezeigt. Mit "P" sind bekannte Orte für Phosphorylierungen gekennzeichnet. Unten ist die Aminosäuresequenz des humanen OPN abgebildet. Darin sind mit roten Pfeilen Spaltstellen für Matrix-Metalloproteinasen (MMP) markiert, während das blaue Dreieck die Thrombinspaltstelle kennzeichnet (Scatena et al., 2007).

Dieses saure Glykoprotein wird in drei Spaltvarianten exprimiert: Das OPN-a beschreibt die volle Isoform, dem OPN-b fehlt das Exon 5 und dem OPN-c das Exon 4. Posttranslational finden zudem diverse Modifikationen wie Prozesse der Phosphorylierung, Glykosylierung, Sulfatierung, enzymatische Spaltung und Proteinquervernetzung statt, sodass sein Molekulargewicht je nach Veränderung zwischen 41-75 kDa variiert. Dazu beinhaltet das OPN-Molekül verschiedene Zellbindungsdomänen und Spaltstellen für Proteasen. Bedeutsam als Interaktionsdomäne mit

verschiedenen Integrinen, die auf der Oberfläche anderer Zellen gebunden sind, sind die Arginin-Glycin-Aspartat (RGD)-Sequenz und die Serin-Valin-Valin-Tyrosin-Glutamat-Leucin-Arginin (SVVYGLR)-Sequenz. Eine Bindung der Integrine an diese Domänen des OPN hat eine Aktivierung der zellulären Signaltransduktion zur Folge. Ebenfalls von großer Bedeutung ist die Spaltung des OPN durch Thrombin und verschiedene Matrix-Metalloproteinasen (MMP 2,3,7,9 und 12) (vgl. Abbildung 1 auf Seite 8). Fragmente mit unterschiedlicher Länge, differentem Aufbau und somit verschiedenen Funktionen entstehen. Inwiefern OPN-Splicevarianten und -Spaltprodukte die im Folgenden beschriebenen Funktionen vermitteln, ist aktuell Gegenstand der Forschung (Wolak, 2014).

### 1.1.2 Funktionen des Osteopontin

Bei ekto- oder pathologischen Kalzifizierungsprozessen wie Gefäß- oder Herzklappenverkalkungen, Nierensteinen, Gallensteinen und bei der Bildung von pathologischem Knochen wirkt OPN als **Mineralisationsinhibitor**. Es aktiviert über Integrine die Osteoklasten und so die Knochenresorption (Scatena et al., 2007). Zusätzlich kann es als negativ geladenes Protein direkt an der Oberfläche von Apatitkristallen binden und dort einer weiteren Mineralisierung entgegenwirken (Wada et al., 1999). Außerdem stimuliert es die Carboanhydrase-II-Produktion in Monozyten, die normalerweise über eine vermehrte Bildung von  $H^+$  zu einer Ansäuerung und Auflösung von Verkalkungen führt (Steitz et al., 2002).

Zudem werden **Inflammationsprozesse** wesentlich durch das OPN reguliert. Verschiedene Zytokine und Wachstumsfaktoren, aber auch eine hohe Blutglukose und oxidiertes Low-Density-Lipoprotein-Cholesterin (LDL) führen zu einer Expression des OPN in Entzündungszellen. In der Folge werden die Adhäsion und Migration von Monozyten, deren Differenzierung zu Makrophagen und die Phagozytose induziert. Weiterhin stimuliert OPN die Chemotaxis von Neutrophilen und die Expression von MMPs. Ebenso wird die Ausschüttung von Zytokinen der zellvermittelten Immunität durch das OPN reguliert. T-Zellen werden aktiviert, während antiinflammatorische Signalwege inhibiert werden (Kahles et al., 2014). Über diese Mechanismen ist das OPN assoziiert mit verschiedenen Autoimmunerkrankungen, Tumorerkrankungen und chronischen Entzündungsprozessen, zu denen auch die Adipositas und die Atherosklerose gehören (Scatena et al., 2007, Kahles et al., 2014, Wolak, 2014, Shevde and Samant, 2014).

Schließlich konnte für **Reparatur- und Anpassungsprozesse** nach einer akuten Schädigung eine Beteiligung des OPN belegt werden. Beispiele sind die Wundheilung, das vaskuläre Remodeling oder die Entwicklung einer Herzinsuffizienz. Das kardiale Remodeling nimmt dabei eine Sonderrolle ein. Eine gewisse OPN-Konzentration ist hier nötig, um eine linksventrikuläre Dilatation zu verhindern, aber zu hohe Mengen führen zu einer Fibrosierung des Myokards (Kahles et al., 2014).

## 1.2 OSTEOPONTIN UND MANIFESTE ATHEROSKLEROSE

### 1.2.1 Atherogenese

Die 1958 von der WHO veröffentlichte Definition der Atherosklerose als eine „[...] variable Kombination von Veränderungen der Arterienintima, bestehend aus herdförmigen Ansammlungen von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, Bindegewebe und Kalziumablagerungen, verbunden mit Veränderungen der Media in großen und mittleren elastischen und muskulären Arterien“ ist noch heute gültig (WHO, 1958). Auch in deren Entstehungsprozess, der Atherogenese, sind viele zentrale Mechanismen wie die endotheliale Dysfunktion, die subintimale Ablagerung von LDL-Cholesterin und die Bildung von Schaumzellen schon lange bekannt („Response-To-Injury“-Hypothese) (Ross and Glomset, 1976, Ross, 1993). Neuere Arbeiten stellten nun die Schlüsselrolle der Inflammation in diesem hochkomplexen Geschehen heraus. Sie verbindet pathophysiologisch multiple auslösende Faktoren mit der veränderten Biologie der Arterienwand. Auch die Plaquestabilität und -progression werden maßgeblich über inflammatorische Prozesse reguliert (Libby et al., 2009).

### 1.2.2 Osteopontin bei manifester Atherosklerose

Seine regulatorische Funktion bei inflammatorischen, aber auch bei Fibrosierungs- und Kalzifizierungsprozessen legt eine Beteiligung des OPN an der Entstehung und am Progress atherosklerotischer Läsionen nahe.

Das Vorkommen von OPN in atherosklerotischen Plaques menschlicher Aorten wurde bereits 1993 von Hirota et al. beschrieben (Hirota et al., 1993). Tiermodelle bestätigten zudem seine aktive Beteiligung an der Atherogenese. Bei transgenen Mäusen, in denen mehr OPN mRNA exprimiert wurde, konnte eine ausgeprägtere Atherosklerose der Aorta beobachtet werden als bei Wildtyp-Mäusen. Die Schaumzellen der transgenen Mäuse enthielten zudem mehr OPN (Chiba et al., 2002). Parallel führte das Ausschalten des OPN-Gens zu einer Reduktion der **Plaquesmaße** und der Schaumzellen in den Plaques (Bruemmer et al., 2003). Auch die **Plaquestabilität** wird vom OPN beeinflusst. Plaques, in denen eine hohe inflammatorische Aktivität nachweisbar war, wiesen auch eine Erhöhung der OPN-Expression auf (Hag et al., 2012, Wolak et al., 2013). Als Mechanismen der Plaquestabilisierung wurden eine Beeinträchtigung der Funktion OPN-mRNA-exprimierender Schaumzellen in den Plaques, eine Stimulation der T-Helfer-Zellen und die Induktion von oxidativem Stress identifiziert (Hirota et al., 1993, Wolak, 2014).

Auch für die Prozesse des **vaskulären Remodelings** konnte eine Beteiligung des OPN gezeigt werden. Die Bildung von Neointima war dabei ebenso durch das OPN reguliert wie die Proliferation und

Migration glatter Muskelzellen (Liaw et al., 1997, Liu et al., 2014). Außerdem kommt dem OPN in seiner Eigenschaft als **Mineralisationsinhibitor** eine wesentliche Rolle **bei vaskulären Kalzifizierungsprozessen** zu (Wada et al., 1999, Steitz et al., 2002). Schließlich konnte für das OPN eine protektive Beteiligung im Hinblick auf den **Erhalt der Elastizität** von Gefäßen nachgewiesen werden. Bei OPN-defizienten Mäusen wurden in der Aorta gesteigerte Kollagendepots, die Fragmentation von Elastin und eine Zunahme der Wanddicke nachgewiesen, sodass Compliance und Blutfluss abnahmen (Shao et al., 2011).

In seiner zirkulierenden Form, also im Sinne eines Biomarkers, wurde das OPN zunächst an der **kardialen Manifestation** der Atherosklerose, der KHK, untersucht. Gemessen im Blutplasma oder -serum korrelierten seine Spiegel bereits 2003 nicht nur mit dem Vorhandensein einer koronarangiographisch gesicherten KHK, sondern auch mit der Anzahl signifikant stenosierter Gefäße (Ohmori et al., 2003). Ein erhöht gemessener OPN-Wert konnte zudem als ein unabhängiger Prädiktor für zukünftige kardiale Ereignisse herausgestellt werden (Moriyama et al., 2010). Bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom wurden ebenso erhöhte OPN-Spiegel beobachtet (Okuy et al., 2011). Diese überstiegen sogar noch die OPN-Messwerte der Patienten mit stabiler KHK. Darüber hinaus wurden bei Patienten mit vergleichsweise hohen OPN-Konzentrationen im Blut eine schnellere Plaqueprogression und höhere Restenoseraten beobachtet. Hieraus wurde geschlossen, dass das OPN mit einer erhöhten Plaquevulnerabilität assoziiert wäre (Mazzone et al., 2011). Waren die OPN-Werte zum Zeitpunkt des Infarktes hoch, so wurde schließlich auch ein schlechteres Outcome beobachtet (Bjerre et al., 2013).

Für die **extrakardialen Manifestationen** der Atherosklerose belegten Moriyama et al. einen positiven Zusammenhang zwischen dem Plasma-OPN und dem Vorhandensein bzw. Ausmaß der atherosklerotischen Läsionen in thorakalen und abdominellen Regionen der Aorta (Moriyama et al., 2010). Ebenso konnten erhöhte OPN-Serumspiegel bei dem Vorhandensein eines abdominellen Aortenaneurysmas nachgewiesen werden. Seine Konzentrationen korrelierten dabei positiv mit dem Durchmesser des Aneurysmas, sodass die Bestimmung des OPN im Blut sogar Anwendung finden könnte, um das Wachstum eines Aneurysmas vorherzusagen (Golledge et al., 2007). Pathologien der Aortenklappe im Sinne von Sklerosierungen und Kalzifikationen konnten ebenfalls mit erhöhten OPN-Werten in Verbindung gebracht werden (Sainger et al., 2013). Gleiches wurde bei Vorliegen einer pAVK (periphere arterielle Verschlusskrankheit) und von Carotisstenosen beobachtet (Kadoglou et al., 2008, Koshikawa et al., 2009). Nach einem ischämischen Apoplex sagten erhöhte Serum-OPN-Werte sogar ein schlechteres neurologisches Outcome voraus (Carbone et al., 2015).

Insgesamt konnten erhöhte zirkulierende OPN-Spiegel bei Vorliegen einer klinisch manifesten kardiovaskulären Erkrankung weitestgehend konsistent nachgewiesen werden. Im Sinne einer Sekundärprävention ist in Zukunft zu untersuchen, ob Interventionen wie z.B. eine medikamentöse Senkung der OPN-Spiegel oder eine Antikörperblockade des Zielproteins ein Fortschreiten der CVD reduzieren und so die Prognose dieser Patienten verbessern können (Wolak, 2014).

Anders präsentiert sich die Datenlage, wenn eine kardiovaskuläre Erkrankung noch nicht klinisch manifest ist. Studien, die Zusammenhänge zwischen dem OPN und subklinischen Veränderungen der Atherosklerose untersuchten, erbrachten bislang widersprüchliche Ergebnisse. Beispielhaft konnte in einer Arbeit eine positive Beziehung zwischen dem Plasma-OPN und der Intima-Media-Dicke der Carotiden dargestellt werden (Kurata et al., 2006). Eine andere Untersuchung konnte dieses Ergebnis nicht bestätigen (Wendelin-Saarenhovi et al., 2011). In reproduzierbaren Daten läge das Potential, atherosklerotische Läsionen zu detektieren und zu beeinflussen, noch bevor sie klinisch in Erscheinung treten.

### 1.3 OSTEOPONTIN UND RISIKOFAKTOREN EINER ATHEROSKLEROSE

Ein weiterer Fokus der Forschung am OPN betrifft einen noch früheren Zeitpunkt der Atherogenese und somit die Frage, ob das OPN mit bestimmten Risikofaktoren für CVD assoziiert ist. Analog zu bereits manifesten kardiovaskulären Veränderungen wäre in Zukunft durch eine Beeinflussung des OPN auch eine Reduktion der Ausbildung atherosklerotischer Plaques im Sinne einer Primärprävention denkbar (Kahles et al., 2014).

#### 1.3.1 Kardiovaskuläre Risikofaktoren

Faktoren, die Einfluss auf die Entstehung und das Fortschreiten atherosklerotischer Läsionen haben, werden kardiovaskuläre Risikofaktoren genannt. Dieser Terminus ist auf die Framingham-Studie zurückzuführen (Kannel et al., 1961). Einige auch als Hauptrisikofaktoren bezeichnete Veränderungen lagen in großen Beobachtungsstudien der letzten Jahrzehnte bei 80% bis hin zu 100% und im Mittel bei 85% der Patienten vor, bei denen sich eine KHK manifestierte (Greenland et al., 2003, Khot et al., 2003, Canto et al., 2011). Zu ihnen gehören neben dem zunehmenden Lebensalter und dem männlichen Geschlecht auch ein aHT, ein anhaltender bzw. stattgehabter Nikotinabusus, der DM - und hier vorwiegend der Typ II, verschiedene Fettstoffwechselstörungen und eine positive Familienanamnese für CVD (erstgradige Verwandte, CVD bei Männern < 55 Jahren und Frauen < 65 Jahren). Weitere Faktoren, für die eine klinische Relevanz bereits nachgewiesen werden konnte, fanden Einzug in die aktuelle Präventionsleitlinie der European Society of Cardiology (ESC) und sind in Tabelle 1 auf Seite 13 aufgeführt.

**Tabelle 1: Kardiovaskuläre Risikofaktoren gemäß European Society of Cardiology (ESC)** (Piepoli et al., 2016)

Hauptrisikofaktoren	Alter, Geschlecht, aHT, Nikotinabusus, DM, Fettstoffwechselstörungen, positive Familienanamnese
konstitutionelle Faktoren	ethnische Zugehörigkeit und genetische Veränderungen
Lebensstilfaktoren	Adipositas (vor allem abdominell bzw. viszeral), körperliche Inaktivität, ungesunde Ernährungsweise <i>Als kardioprotektiv gelten eine mediterrane Diät und moderater Alkoholkonsum.</i>
psychosoziale Aspekte	niedriger sozioökonomischer Status, fehlende soziale Unterstützung, Stress im Arbeitsumfeld, Stress in der häuslichen Situation, soziale Anfeindungen, Depression, Angststörungen
Biomarker im Blut oder im Urin	inflammatorische Marker (z.B. Fibrinogen, hochsensitives CRP, OPN) thrombotische Marker (z.B. Homozystein, Lipoprotein-Phospholipase A <sub>2</sub> ) Glukose- bzw. Lipid-assoziierte Marker (z.B. Apolipoproteine) organspezifische Marker (z.B. kardiale oder renale Marker)
Besonderheiten bei Frauen	Hypertonie bzw. Präeklampsie in der Schwangerschaft, Syndrom der polyzystischen Ovarien, primäre Ovarialinsuffizienz
präklinische atherosklerotische Veränderungen	Bestimmung koronarer Verkalkungen mittels Computertomographie sonographische Darstellung der hirnversorgenden Arterien mit Bestimmung der Intima-Media-Dicke, Darstellung von Plaques und Erhebung von Maßen der Steifigkeit der Arterien (z.B. Pulswellengeschwindigkeit, Augmentationsindex) Ankle-Brachial-Index (ABI) Erkenntnisse der Echokardiographie (z.B. linksventrikuläre Hypertrophie)
andere Grunderkrankungen	chronische Niereninsuffizienz, gerade ablaufende Influenzainfektion, Periodontitis, stattgehabte Tumortherapie, Autoimmunerkrankungen, obstruktive Schlafapnoe, erektile Dysfunktion

### 1.3.2 Osteopontin bei kardiovaskulären Risikofaktoren

Das OPN konnte bereits mit einigen kardiovaskulären Risikofaktoren in Verbindung gebracht werden. Beispielsweise wurde in einer Arbeit die Expression von OPN aus Endothelzellen nachgewiesen, die mit Zigarettenrauchextrakt vorbehandelt waren. In derselben Arbeit wurde an Probanden auch eine Abnahme der Serum-OPN-Konzentration bereits kurze Zeit nach einem Nikotinstopp beschrieben (Bishop et al., 2012). Ebenso wurden erhöhte OPN-Spiegel bei essentiellen Hypertonus gemessen, wobei eine Blockade der Angiotensin-II-Rezeptoren das OPN signifikant senken konnte (Kurata et al., 2011). Derselbe Effekt wurde auch für eine Statintherapie beobachtet (Lorenzen et al., 2010). Patienten mit einem DM Typ I wiesen ebenfalls vermehrt zirkulierendes OPN auf (Barchetta et al., 2016). Zudem erbrachte eine Steigerung der körperlichen Aktivität eine signifikante - und in einer Studie sogar lineare - Abnahme des Serum-OPN (You et al., 2013, Sponder et al., 2016).

### 1.3.3 Der besondere Risikofaktor Adipositas

Wie eingangs bereits dargestellt, kommt dem Risikofaktor „Adipositas“ eine besondere Bedeutung bei der Entstehung der Atherosklerose zu. Zum einen stellt sie nicht nur einen eigenständigen kardiovaskulären Risikofaktor dar, sondern sie begünstigt auch die Entstehung weiterer auslösender Faktoren atherosklerotischer Läsionen. Zum anderen zeigt die Entwicklung des Körpergewichtes einen deutlichen Aufwärtstrend nicht mehr nur in hochindustrialisierten Regionen. In den USA, dem Land der höchsten Adipositasprävalenz weltweit, wurden zuletzt 37,7% der Erwachsenen als adipös

eingestuft (Flegal et al., 2016). In einer Erhebung zwischen 1999 und 2002 waren es noch 30,5%, zwischen 1988 und 1992 sogar nur 22,9% (Flegal et al., 2002). Für Deutschland werden zwar etwas niedrigere Anteile von 23,3% unter den Männern und 23,9% unter den Frauen berichtet, ein Anstieg zu 10 Jahre früher erhobenen Daten besteht jedoch auch hier (Mensink et al., 2013).

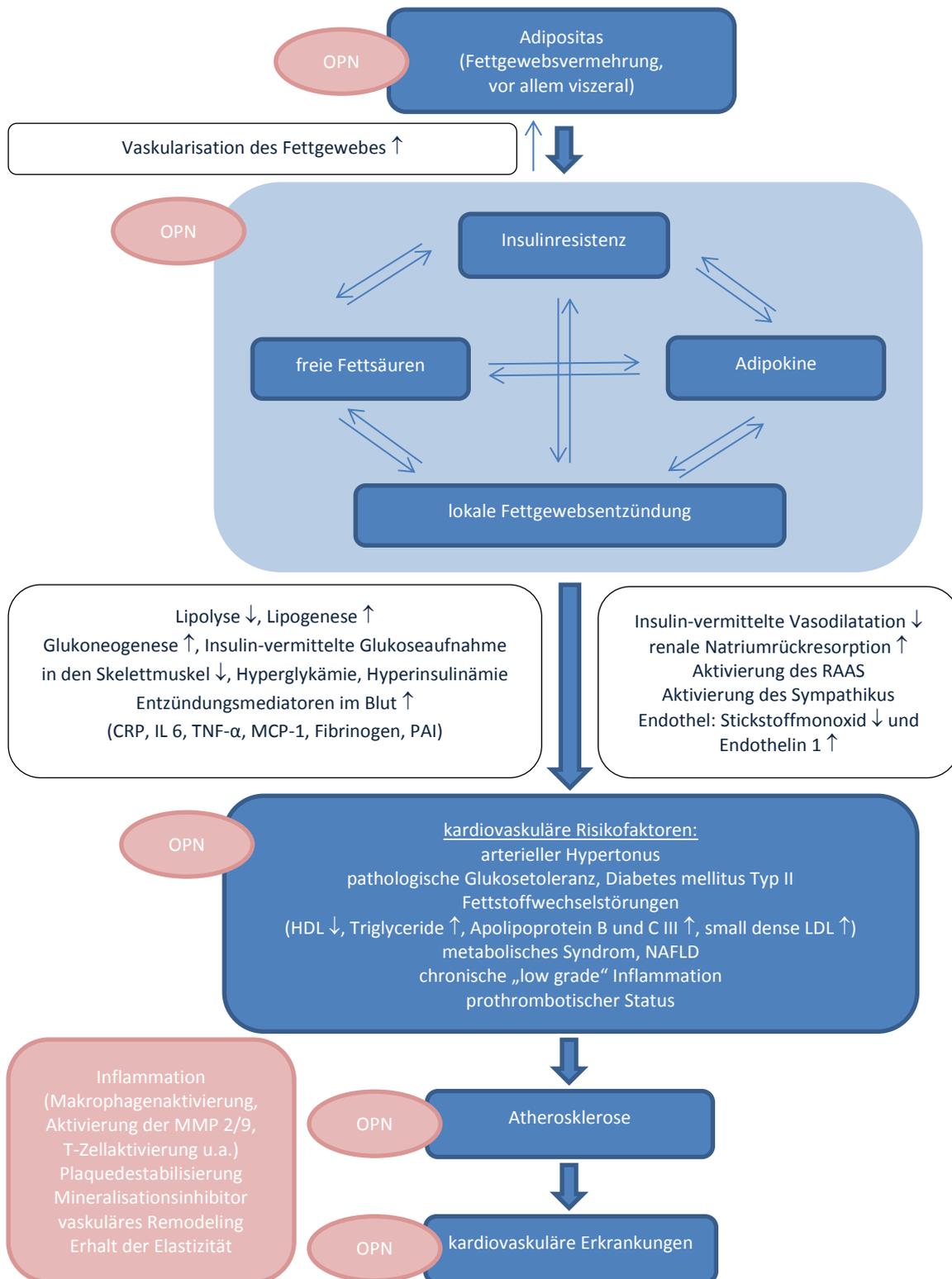
Die Adipositas wird von der WHO anhand des Body Mass Index (BMI) definiert (WHO, 2000). Dieser berechnet sich nach folgender Formel:  $BMI = \frac{\text{Körpergewicht}(kg)}{\text{Körperhöhe}(m) * \text{Körperhöhe}(m)}$ . Übergewicht liegt ab einem BMI  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$  vor, eine Adipositas ab einem Grenzwert von  $30 \text{ kg/m}^2$  und eine morbid Adipositas bei  $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ . Der BMI beschreibt dabei das Gesamtausmaß der Adipositas.

Übergewicht und Adipositas führen zu Einschränkungen in der Bewegungsfreiheit und der Lebensqualität, haben soziale Folgen und stehen im Zusammenhang mit vielen Beschwerden und Erkrankungen (Mensink et al., 2013). Zu ihnen gehören CVD ebenso wie der aHT, Stoffwechselerkrankungen (DM, die Fettlebererkrankung, Fettstoffwechselstörungen, Hyperurikämie), Krebserkrankungen, obstruktive Schlafapnoe, Demenz, Allergien, Gon- und Coxarthrose, die Refluxösophageitis, Steine in der Gallenblase, Schilddrüsenerkrankungen und andere hormonelle Veränderungen (Renehan et al., 2008, Schienkiewitz et al., 2012, Bluher, 2014, DAG, 2014).

In der Folge ist die Lebenserwartung Adipöser geringer als die Normalgewichtiger, vor allem bei Menschen unter 50 Jahren (Berrington de Gonzalez et al., 2010). Mehr noch, eine Steigerung des Körpergewichtes scheint mit einer Erhöhung der Mortalität im Sinne einer Dosis-Wirkungs-Beziehung einherzugehen (Adams et al., 2006).

### *1.3.3.1 Vermehrt vorkommendes Fettgewebe wirkt proatherogen*

Die Zunahme von Fettgewebe löst Prozesse aus, die auf der einen Seite die Ausbildung kardiovaskulärer Risikofaktoren zur Folge haben und auf der anderen Seite auch direkt die Atherogenese und Plaqueprogression stimulieren. Heute weiß man, dass das OPN einige dieser Vorgänge selbst vermittelt und andere verstärkt (vgl. Absatz 1.3.4 auf Seite 18). Zum besseren Verständnis des hier untersuchten Sachverhaltes wird auf diese proatherogenen Mechanismen im Folgenden und in Abbildung 2 auf Seite 15 genauer eingegangen.



**Abbildung 2: Graphische Darstellung der Auswirkungen der Adipositas und der Wirkbeteiligungen des OPN in der Kaskade der Atherogenese** Eine Fettgewebsvermehrung führt gleichermaßen zu Insulinresistenz, vermehrt vorkommenden freien Fettsäuren (FFA), der Ausschüttung weiterer Adipokine und einer lokalen Fettgewebsentzündung. Die Insulin-vermittelten Stoffwechselwirkungen sind reduziert, das sympathische Nervensystem und das Renin-Angiotensin-System (RAAS) dagegen stimuliert. DM, aHT, Fettstoffwechselstörungen, und ein konsekutives metabolisches Syndrom mit nicht-alkoholischer Fettleber (NAFLD) entstehen. Zudem liegen eine systemische Inflammation und ein prothrombotischer Status vor. Diese Faktoren begünstigen die Entstehung der Atherosklerose und den Progress in eine klinisch manifeste kardiovaskuläre Erkrankung. Das Osteopontin (OPN, rot dargestellt) ist an vielen aufgelisteten Prozessen nachweislich beteiligt. Genaue molekulare Mechanismen sind aktuell Gegenstand der Forschung. ↓ = abnehmend, ↑ = ansteigend.

Als zentraler Mechanismus der proatherogenen Wirkung des Fettgewebes wurde eine Reduktion der metabolischen Effekte des Insulins nach Bindung an den Insulinrezeptor herausgestellt, die **Insulinresistenz** (IR) (Lopes et al., 2016). Eine konsekutive Hyperglykämie führt im Pankreas zu einer vermehrten Ausschüttung von Insulin und zu einer  $\beta$ -Zell-Hyperplasie, sodass eine Hyperinsulinämie entsteht. Diese kann die Insulinresistenz über eine Down-Regulation der Insulinrezeptoren im Sinne eines Circulus vitiosus noch verstärken. Eine verminderte Glukosetoleranz und ein DM sind die Folge (Abdullah et al., 2010, Janssen and Janssen, 2011).

Auch vermehrt vorkommende **zirkulierende freie Fettsäuren** (FFA), ob nun alimentär oder aus dem Fettgewebe freigesetzt, bewirken eine Insulinresistenz. Über eine gleichzeitige Induktion von Lipolyse und Lipogenese steigt die Konzentration von Triglyceriden (TG) und FFA im Blut weiter an. Deren Anreicherung wird sowohl im Skelettmuskel als auch in der Leber beobachtet. Eine nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) ist die Folge. Die High-Density-Lipoproteine (HDL) werden in der Leber ihrer Struktur verändert und vermehrt aus dem Blutstrom eliminiert. Gleichzeitig entstehen dort die small dense - LDL-Partikel, die besonders langsam metabolisiert werden. Sie begünstigen die Entstehung der Atherosklerose, da sie zum einen toxisch auf Endothelzellen wirken und zum anderen die endotheliale Basalmembran passieren und an der Extrazellulärmatrix binden können, sodass deren Abbau und Abtransport erschwert sind (Janssen and Janssen, 2011, Klop et al., 2013).

Weiterhin liegen der Insulinresistenz eine gewisse genetische Prädisposition und verschiedene aus dem Fettgewebe sezernierte Botenstoffe, die **Adipokine**, zugrunde. Über sie werden zentrale und metabolische Prozesse wie Appetit und Sättigung, körperliche Aktivität, Energieumsatz, Adipogenese und Fettverteilung, Insulinsensitivität und -sekretion und die Entzündung reguliert (Blüher, 2014). Letztere ist besonders hervorzuheben. Proinflammatorische Adipo- bzw. Zytokine wie z.B. Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interleukin (IL) 1 und 6 sowie das Monozyten-Chemoattrahierende Protein 1 (MCP-1), aber auch Chemerin und Progranulin wirken vorwiegend auto- und parakrin. Lokal entsteht ein entzündliches Milieu mit vermehrter Vaskularisation. Eine weitere Zunahme der Fettgewebsdepots wird begünstigt. Gleichzeitig verstärken die Entzündungsmediatoren die Insulinresistenz über eine Modifikation der Signaltransduktion am Insulinrezeptor. Gelangen die inflammatorischen Botenstoffe in den Blutkreislauf, wird zusätzlich eine systemische „**low grade**“-**Inflammation** messbar, abgebildet durch eine Erhöhung von C-reaktivem Protein (CRP) und Interleukin 6 im Blut. Die systemische Entzündung begünstigt wiederum die Entstehung der Atherosklerose (Schafer and Konstantinides, 2011). Neben proinflammatorischen vermitteln Fibrinogen und der Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI) auch prothrombotische Effekte, sodass bei Adipösen häufiger Beeinträchtigungen der Blutgerinnung und der Fibrinolyse beobachtet werden, die in der komplizierten Plaque besonders bedeutsam sind (Mertens and Van Gaal, 2002).

Liegt eine Insulinresistenz vor, kommt es im Verlauf zu einem Anstieg des Blutdruckes. Die normalerweise vasodilatatorische Wirkung des Insulins geht verloren. Dagegen persistieren eine gesteigerte Natriumrückresorption in der Niere und die Aktivierung des sympathischen Nervensystems. Additiv wurden eine Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems, eine reduzierte Ausschüttung von Stickstoffmonoxid und eine gesteigerte Sekretion von Endothelin 1 beobachtet (Janssen and Janssen, 2011, Bluher, 2014).

### *1.3.3.2 Abdominelle und viszerale Adipositas*

Besonders eng korreliert in verschiedenen Untersuchungen die viszerale bzw. intraabdominelle Fettmasse mit der Entstehung und dem Vorliegen von kardiovaskulären Risikofaktoren und CVD. Als mögliche Mechanismen werden eine vermehrte Expression proinflammatorischer Mediatoren wie z.B. IL 6, Chemerin und Progranulin sowie eine stärkere Makrophageninfiltration im Vergleich zum subkutanen Fettgewebe diskutiert. Darüber hinaus können die im viszeralen Fettgewebe sezernierten Adipokine direkt in den Portalkreislauf drainieren. Sie stimulieren dann in der Leber die Produktion von CRP, PAI und Fibrinogen (Schafer and Konstantinides, 2011). Außerdem sind additive Effekte von Katecholaminen auf die Lipolyse in viszeralem stärker als in subkutanem Fettgewebe nachweisbar (Lopes et al., 2016).

Während die Erfassung des Körperfettanteils vom gesamten Körper durch viele verschiedene Methoden wie z.B. die Hautfaltendickenmessung (Calipometrie), die bioelektrische Impedanzanalyse, das hydrostatische Wiegen bzw. die Luftverdrängungsplethysmographie, Ultraschall- oder radiologische Verfahren (dual energy x-ray absorptiometry = DEXA) möglich ist, kann die Messung der viszeralen Fettmasse nur durch eine Schnittbildgebung erfolgen. Als besonders präzise Methode wird hier die Magnetresonanztomographie (MRT) genannt (Despres et al., 2001). Da die Verfügbarkeit dieses Verfahrens jedoch begrenzt ist, wird im klinischen Alltag für die Risikoprädiktion von CVD auf die Erhebung anthropometrischer Daten zurückgegriffen. Dabei wird die abdominelle bzw. zentrale Adipositas beschrieben durch einen erhöhten Taillenumfang (waist circumference = WC). Obwohl dieser sowohl subkutanes als auch viszerales Fettgewebe abbildet, korrelierte seine Zunahme gut mit steigenden Messwerten für die viszerale Fettmasse (Pouliot et al., 1994).

Für den Taillenumfang konnte in verschiedenen Studien ein Vorteil gegenüber dem BMI bei der Vorhersage von CVD ermittelt werden. Diese Ergebnisse werden durch die Beobachtung noch gestützt, dass vor allem das viszerale Fett im Alter ebenso ansteigt wie die Prävalenz der CVD (Leitzmann et al., 2011). Für die europäische Bevölkerung wurde daher in den ESC-Guidelines für die Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen ein Taillenumfang von 94 cm bei Männern und von 80 cm bei Frauen als Grenze festgelegt, ab wann kein weiteres Gewicht mehr zugenommen werden sollte.

Analog hierzu sollte ab einem Taillenumfang von 102 cm bei Männern und 88 cm bei Frauen aktiv Gewicht reduziert werden (Piepoli et al., 2016).

Ein Vorteil gegenüber dem BMI wurde auch für den Taillenumfang im Verhältnis zum Hüftumfang (waist to hip-ratio = WHR) und für den Taillenumfang im Verhältnis zur Körperhöhe (waist to height-ratio = WHtR) beschrieben (Canoy et al., 2007, Shields et al., 2012). Insbesondere der WHtR wurde in den vergangenen Jahren zunehmend Beachtung geschenkt. Sie ist stark assoziiert mit verschiedenen Krankheitsbildern wie beispielsweise DM oder chronischen Nierenerkrankungen. Nicht nur für jüngere Menschen, sondern auch für über 65-Jährige konnte die WHtR dem Taillenumfang und der WHR als überlegen herausgestellt werden (Ashwell et al., 2012, Correa et al., 2016).

### 1.3.4 Osteopontin bei Adipositas

Sowohl bei Entzündungsprozessen des Fettgewebes als auch bei der konsekutiven Ausbildung der Insulinresistenz konnte eine regulatorische Beteiligung des OPN gezeigt werden. Beispielhaft war die lokale OPN-Expression im Fettgewebe adipöser Mäuse 40- bis 80-fach erhöht im Vergleich zu normalen Tieren. Hier scheinen vor allem Makrophagen das OPN zu exprimieren (Kiefer et al., 2008). Bei OPN-defizienten Mäusen oder nach Gabe von Antikörpern gegen OPN waren diese Effekte deutlich herabgesetzt. Die Sekretion proinflammatorischer Zytokine wie IL 6, TNF- $\alpha$ , MCP-1 und PAI war sowohl lokal als auch systemisch wesentlich reduziert, und auch die Glukosetoleranz und die Insulinresistenz waren gebessert (Lancha et al., 2014, Kahles et al., 2014). Allerdings waren die Aussagen zu zirkulierenden OPN-Spiegeln zwischen normalgewichtigen und adipösen Tieren nicht konsistent (Kiefer et al., 2008, Bertola et al., 2009).

Beim Menschen wurden erhöhte OPN-Konzentrationen sowohl lokalisiert im Fettgewebe als auch zirkulierend im Blut adipöser Patienten im Vergleich zu Normalgewichtigen gemessen (Ahmad et al., 2013). Genauso reduzierte umgekehrt eine Gewichtsabnahme das Serum-OPN (You et al., 2013). Stellte man nun aber die Gesamt-Körperfettmasse als kontinuierliches Maß dar, waren die Ergebnisse hinsichtlich eines Zusammenhanges zum zirkulierenden OPN widersprüchlich (You et al., 2013, Gomez-Ambrosi et al., 2007). Auch konnte das lokal im Fettgewebe exprimierte nicht mit dem systemisch gemessenen OPN korreliert werden (Kiefer et al., 2008). Weiterhin konnte bislang kein Zusammenhang zwischen dem OPN-Spiegel im Blut und dem abdominellen Fettgewebe, abgebildet durch den Taillenumfang, gesehen werden (Wendelin-Saarenhovi et al., 2011, Kadoglou et al., 2008), und ob das Ausmaß der kardiovaskulär so bedeutsamen viszeralen Fettmasse mit der Höhe des zirkulierenden OPN assoziiert ist, wurde bisher nicht untersucht.

## 1.3.5 Metabolisches Syndrom und nicht-alkoholische Fettlebererkrankung als Folgeveränderungen der Adipositas

### 1.3.5.1 *Metabolisches Syndrom*

Die zentrale Adipositas stellt einen wichtigen Bestandteil einer Konstellation metabolischer Veränderungen dar, die ein erhöhtes Risiko für CVD bzw. einen DM mit sich bringen und als metabolisches Syndrom (metS) bezeichnet werden. Als gemeinsamer pathogenetischer Prozess der Einzelkomponenten wurde in den letzten Jahren die Insulinresistenz identifiziert (Lopes et al., 2016).

Parallel zum Auftreten der Adipositas steigt auch die Prävalenz des metS. In den USA liegt heute schon bei 35% bis 40% der Erwachsenen ein metS vor, in Deutschland bei ungefähr 20% (Moebus et al., 2008). Insbesondere bei Kindern tritt das metS nicht nur häufiger, sondern auch früher auf. Außerdem wird eine Häufung bei Älteren und Frauen beobachtet (Janssen and Janssen, 2011). Allerdings variieren die Angaben der Prävalenz zwischen vergleichbaren Studienkollektiven je nach zugrunde liegender Definition. Im Jahr 2009 veröffentlichten daher verschiedene Fachgesellschaften (American Heart Association (AHA), International Diabetes Federation (IDF), National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI), World Heart Federation (WHF), International Atherosclerosis Society (IAS), International Association for the Study of Obesity (IASO)) abgestimmte, sogenannte „harmonized“ Kriterien für das metS, die in zukünftigen Studien Anwendung finden sollten (Alberti et al., 2009). Hiernach liegt ein metS vor, wenn 3 der 5 in Tabelle 2 auf Seite 19 dargestellten Diagnosekriterien erfüllt sind.

**Tabelle 2: Diagnosekriterien für das metabolische Syndrom in Europa, modifiziert nach Alberti et al.** Für das Vorliegen eines metabolischen Syndroms müssen 3 von 5 Kriterien erfüllt sein. Grenzwerte für den Taillenumfang sind an die europäische Bevölkerung als Bezugsland angepasst. Für eine Person, die eine medikamentöse Therapie mit Fibraten oder Nikotinsäurederivaten aufweist, wird sowohl eine Erhöhung der Triglyceride als auch eine Erniedrigung des HDL-Cholesterins angenommen (Alberti et al., 2009).

Kriterium	Grenzwert
erhöhter Taillenumfang für die europäische Bevölkerung	Männer $\geq 94$ cm Frauen $\geq 80$ cm
erhöhte Triglyceride oder medikamentöse Therapie erhöhter Triglyceride	$\geq 150$ mg/dl bzw. 1,7 mmol/l
reduziertes HDL-Cholesterin oder medikamentöse Therapie erniedrigter HDL-Werte	Männer $< 40$ mg/dl bzw. 1,0 mmol/l Frauen $< 50$ mg/dl bzw. 1,3 mmol/l
erhöhte Blutdruckwerte oder medikamentöse antihypertensive Therapie	systolisch $\geq 130$ mmHg diastolisch $\geq 85$ mmHg
erhöhte Nüchtern glukose oder medikamentöse antidiabetische Therapie	$\geq 100$ mg/dl

Bei Diagnosestellung des metS besteht ein zweifach erhöhtes Risiko für die klinische Manifestation einer CVD innerhalb der nächsten 5-10 Jahre und ein fünffach erhöhtes Risiko für die Ausbildung eines DM (Alberti et al., 2009).

### 1.3.5.2 Nicht-alkoholische Fettlebererkrankung

Als hepatische Komponente des metS wird die NAFLD angesehen (Lopes et al., 2016). Sie liegt vor, wenn eine hepatische Steatose durch eine Bildgebung oder histologisch gesichert wurde und keine Gründe für eine sekundäre Leberzellverfettung wie z.B. exzessiver Alkoholkonsum, eine Virushepatitis oder die Einnahme von Medikamenten wie Amiodaron oder Steroide bestehen. Die NAFLD umfasst sowohl die einfache Fettleber (*nonalcoholic fatty liver*, NAFL) ohne entzündliche Veränderungen als auch die nicht-alkoholische Steatohepatitis (NASH), die durch entzündliche Reaktionen der Hepatozyten mit Ballonierung und Nekrapoptose gekennzeichnet ist. Bei letzterer kann bereits eine Fibrose nachweisbar sein. Für alle NAFLD-Patienten besteht eine erhöhte Gesamtmortalität im Vergleich zu gematchten Kontrollen, wobei kardiovaskuläre Erkrankungen die häufigste Todesursache darstellen (Chalasani et al., 2012).

5-20% der Patienten mit NAFL entwickeln im Verlauf eine NASH, bei 10-20% geht diese wiederum in eine höhergradige Fibrose über. Im weiteren Verlauf kann aus der NAFLD eine Leberzirrhose entstehen, die NASH-Zirrhose. Dies geschieht bei < 5 % der NASH-Patienten. Liegt sie vor, entsteht ein hepatozelluläres Karzinom mit einer Inzidenz von 2% pro Jahr (Weiss et al., 2014).

Die Prävalenz der NAFLD in Europa variiert in verschiedenen Studien zwischen 26% und 33%. In Europa und den USA ist sie die häufigste chronische Lebererkrankung. Männliches Geschlecht, zunehmendes Alter und eine hispanoamerikanische Herkunft werden unter den NAFLD-Patienten vermehrt beobachtet. Liegt ein DM vor, werden noch deutlich höhere Prävalenzen von 42,6% bis 69,5% berichtet (Blachier et al., 2013). Die höchste Prävalenz mit bis zu 90% findet sich bei Patienten mit Adipositas und einem BMI  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup> (Chalasani et al., 2012).

Bereits beschriebene Mechanismen des Überangebotes von FFA führen zur Akkumulation von Triglyceriden in der Leber (Steatose, vgl. Absatz 1.3.3.1 auf Seite 14). Zudem stellt die Insulinresistenz den „central hit“ in der „multiple parallel hits“-Theorie dar, der die Hepatozyten empfindlich macht für verschiedene pathogene Prozesse (Abenavoli et al., 2016). FFA generieren in der Leber hochreaktive Sauerstoffspezies, die über eine Peroxidation der Membranlipide sowie über eine Schädigung der Mitochondrien und der DNA eine Apoptose bzw. Nekrose der Hepatozyten herbeiführen. Gleichzeitig stimulieren FFA auch die Bildung von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- $\alpha$  und IL 1, sodass das Vollbild der Steatohepatitis nachweisbar ist. Kupffersche Sternzellen werden zur Fibrogenese angeregt, und eine Fibrosierung der Leber ist die Folge (Weiss et al., 2014).

Eine Erhöhung leberspezifischer Enzyme wie die Aspartat-Aminotransferase (AST), die Alanin-Aminotransferase (ALT) und die  $\gamma$ -Glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT) weisen auf das Vorliegen einer NAFLD hin, aber auch normale Blutwerte schließen fibrotische Veränderungen bis hin zur Zirrhose nicht aus.

Andere Laborparameter wie das Ferritin, die Transferinsättigung, eine Vitamin-D-Defizienz und das zirkulierende Cytokeratin-18 liegen ebenfalls nur bei einem gewissen Prozentsatz der NAFLD-Patienten vor, sind aber zum Teil mit der Schwere der Erkrankung assoziiert (Angulo et al., 2014, Weiss et al., 2014, Targher et al., 2007, Canbay et al., 2014). Sie finden Anwendung in verschiedenen Scoring-Systemen, die Hochrisikopatienten der NAFLD identifizieren sollen (Chalasan et al., 2012).

Das Standardverfahren zur Diagnosestellung ist die Leberbiopsie, da sich eine NASH und die damit verbundene Entzündungsreaktion formal nur histologisch sichern lassen. Als Fettleber wird dabei ein Organ bezeichnet, dessen Fettanteil 5% des Lebergewichtes übersteigt. Dieses invasive Verfahren birgt jedoch die Möglichkeit von Komplikationen wie beispielsweise Blutungen oder Infektionen. Nichtinvasiv detektieren das MRT und computertomographische Verfahren die NAFLD besonders genau, sind aber in ihrer Verfügbarkeit eingeschränkt bzw. weisen bei zweitgenanntem eine zum Teil erhebliche Strahlenbelastung auf. Ein weiteres nichtinvasives Verfahren, die Elastographie, misst die Lebersteifigkeit, ist aber bei Adipösen nur eingeschränkt anwendbar. Als Standardverfahren gilt daher die Sonographie. Hier werden Sensitivitäten zwischen 60 und 94% berichtet, die Spezifitäten variieren ebenfalls zwischen 66 und 97%. Bei geringerer Steatose nimmt die Genauigkeit weiter ab, sodass der positiv prädiktive Wert für ebendiese Patienten nur bei 67% liegt (Weiss et al., 2014).

### 1.3.6 Osteopontin bei nicht-alkoholischer Fettlebererkrankung

Liegt eine Adipositas vor, so ist auch die lokale OPN-Expression in der Leber wesentlich gesteigert. Diese korreliert zudem mit den dortigen Triglycerid-Vorkommen (Bertola et al., 2009). Daher wird dem OPN eine Rolle bei der Entstehung der NAFLD zugeschrieben. Untersuchungen an fettreich ernährten OPN-defizienten Mäusen und Mäusen, die mit Antikörpern gegen OPN behandelt wurden, bestätigen diese Beobachtungen. Hier wurde sowohl eine verminderte Makrophageninfiltration der Leber als auch eine reduzierte Entzündungsreaktion beobachtet. Außerdem wurden weniger Triglyceride und Glukose synthetisiert, sodass die Steatose nicht so stark ausfiel. Die Insulinsensitivität blieb ebenfalls erhalten (Kiefer et al., 2010). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass das OPN die Progression der Fibrose bei NASH-Mäusen stimulierte (Syn et al., 2011).

Auch am Menschen konnte eine erhöhte lokale OPN-Expression in der Leber morbid Adipöser im Vergleich zu Normalgewichtigen gemessen werden (Bertola et al., 2009). Darüber hinaus waren zirkulierende Serum-OPN-Werte bei Patienten mit NAFLD erhöht im Vergleich zu Patienten ohne NAFLD. Allerdings konnte das Ausmaß der NAFLD bisher nicht reproduzierbar durch die Höhe des zirkulierenden OPN abgebildet werden. Insbesondere, wenn noch keine wesentliche Fibrose vorlag, waren die Ergebnisse diesbezüglich widersprüchlich (Yilmaz et al., 2013, Fouad et al., 2015).

## 1.4 OSTEOPONTIN IN POPULATIONSBASIERTEN STUDIEN

Die vorab beschriebenen klinischen und Beobachtungsstudien zu lokal exprimiertem oder im Blut zirkulierendem OPN sind in der Regel an ausgesuchten Patientengruppen durchgeführt worden und wiesen zum Teil relevante Selektionskriterien auf, welche die Verallgemeinerung der Ergebnisse oftmals einschränkten. So wurden in einigen Studien nur Männer (Venotarvi et al., 2013) und in anderen nur Frauen untersucht (You et al., 2013). Einige Arbeiten schlossen nur bestimmte Altersgruppen ein (Ahmad et al., 2013), und wiederum andere Untersuchungen definierten bestimmte Erkrankungen als Ausschlusskriterien (Okyay et al., 2011).

Populationsbasierte Studien vermeiden eine Vorselektion der Probanden aufgrund bestimmter Merkmale oder Erkrankungen. Sie beruhen in der Regel auf repräsentativen Stichproben aus der Allgemeinbevölkerung. Somit liefern diese Untersuchungen im Zusammenhang mit dem zirkulierenden OPN wertvolle Informationen unter anderem darüber, wie OPN-Konzentrationen im Blut in der Allgemeinbevölkerung verteilt sind, und welche Faktoren seine Höhe beeinflussen, also seine möglichen Determinanten darstellen. Diese Erkenntnisse sind bei der Einschätzung der diagnostischen und prognostischen Wertigkeit neuer Risikomarker wie z.B. dem OPN im Blut von großer Bedeutung.

Weiterhin ist die Atherogenese ein langfristiger Prozess, und insbesondere subklinische Merkmale lassen sich gut an einer Stichprobe aus der Allgemeinbevölkerung untersuchen. Viele der bisherigen Studien haben erhöhte zirkulierende OPN-Konzentrationen bei fortgeschrittenen Herz-Kreislauf-Erkrankungen nachgewiesen (vgl. Absatz 1.2.2 auf Seite 10). Deutlich weniger konsistent waren Ergebnisse von Studien, die das Plasma- bzw. Serum-OPN mit kardiovaskulären Risikofaktoren oder relativ frühen kardiometabolischen Veränderungen in Beziehung setzten (vgl. Absatz 1.3.2 auf Seite 13, Absatz 1.3.4 auf Seite 18 und Absatz 1.3.6 auf Seite 21). Populationsbasierte Untersuchungen sollten hier Aufschluss bringen. Jedoch existieren bisher nur wenige Arbeiten zu diesem Themenbereich, und diese konnten die in experimentellen und klinischen Studien beobachteten Zusammenhänge im Kontext der Atherosklerose bisher nur in geringem Umfang bestätigen (Arnlov et al., 2006, Wendelin-Saarenhovi et al., 2011).

## 1.5 FRAGESTELLUNG

Die vorliegende Arbeit untersucht in einer gut charakterisierten Stichprobe aus der Allgemeinbevölkerung (n=416) im Querschnittsdesign, mit welchen kardiovaskulären Risikofaktoren, Lebensstil- und soziodemographischen Faktoren und mit welchen kardiometabolischen Parametern zirkulierende OPN-Konzentrationen assoziiert sind. Eigens für diese Untersuchung wurde das OPN im Plasma bestimmt. Weiterhin stehen Daten der ersten Nachbeobachtung der PopGen-Kontrollkohorte zur Verfügung, die aus Fragebögen, anthropometrischen Messungen, sonographischen Untersuchungen, der Auswertung von Bioproben und einem Ganzkörper-MRT generiert wurden.

Durch retrospektive Datenanalysen sollen folgende Fragestellungen beantwortet werden:

1. Wie sieht die Verteilung des Plasma-OPN in der Studienpopulation aus?
2. Welche kardiovaskulären und kardiometabolischen Risikofaktoren sind mit der Höhe des Plasma-OPN-Spiegels assoziiert, stellen also möglicherweise dessen Determinanten dar? Bestätigen die so gewonnenen Erkenntnisse die bisher detektierten Zusammenhänge diesbezüglich, oder lassen sich einige womöglich widerlegen? Erstmalig untersucht wird an dieser Stelle die Beziehung zwischen dem Plasma-OPN und der Rauchintensität bzw. einer kardioprotektiven mediterranen Ernährungsweise.
3. Welche Assoziation besteht zwischen der Höhe des Plasma-OPN-Spiegels und den kardiometabolischen Parametern Leberfettgehalt, abdominelles subkutanes und abdominelles viszerales Fettvolumen? Am Menschen stellt insbesondere der Zusammenhang zwischen dem Volumen des viszeralen Fettgewebes und dem Plasma-OPN eine bisher nicht untersuchte Fragestellung dar.
4. Welche Prävalenz weist das metabolische Syndrom nach neuer vereinheitlichter Definition in der älteren deutschen Bevölkerung auf, und ist die Höhe des Plasma-OPN mit dem Vorliegen eines metabolischen Syndroms assoziiert?

Die vorliegende Promotion soll so dazu beitragen, das Plasma-OPN hinsichtlich seiner Anwendbarkeit als Biomarker für kardiovaskuläre Risikofaktoren und Erkrankungen besser einordnen zu können. Aktuell ist weitere Aufklärung hinsichtlich seiner Determinanten nötig. Außerdem ist seine Rolle als Biomarker bei der Adipositas und deren Folgeerkrankungen noch nicht hinreichend untersucht. Durch Klärung der o.g. Sachverhalte könnte in Zukunft möglicherweise das Vorliegen einer NAFLD ebenso wie einer besonders proatherogenen viszeralen Adipositas durch Messung des Plasma-OPN angezeigt werden, ohne aufwendige oder komplikationsreiche Verfahren einsetzen zu müssen.

## 2 PROBANDEN UND METHODEN

### 2.1 BIOBANK POPGEN

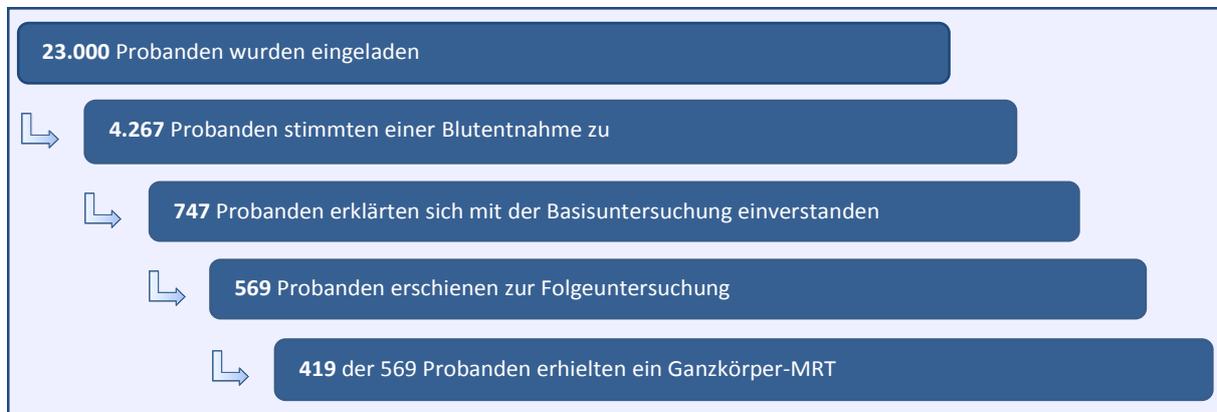
Die Gruppe der Probanden, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurde, entstammt einer Kontrollkohorte der Biobank PopGen. Jene umfangreiche Biomaterial- und Datenbank wurde 2003 im Rahmen des Nationalen Genomforschungsnetzes als populationsbasierte DNA-Sammlung für eine Vielzahl von Krankheiten an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (CAU) und dem Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (UK SH), Campus Kiel, angelegt. Ziele waren unter anderem die Identifizierung genetischer Risikofaktoren und die Validierung bereits identifizierter Krankheitsgene im Fall-Kontroll-Design (Krawczak et al., 2006, Nothlings and Krawczak, 2012). Hierzu wurden Fallsammlungen mit entsprechenden Patienten aufgebaut, und DNA wurde asserviert (vgl. Tabelle 3 auf Seite 24, Stand 2012).

**Tabelle 3: Überblick über ausgewählte Substudien in der Biobank PopGen bis 2012 (Nothlings and Krawczak, 2012)**

Erkrankung	Zahl der in die Studie eingeschlossenen Personen
Apoplexie	2800
Atopie	3650
Autoimmundermatosen	250
bipolare affektive Störung	330
chronisch-entzündliche Darmerkrankungen	30.000
kolorektales Karzinom	2750
dilatative Kardiomyopathie	690
essentieller Tremor	1500
Gallensteine	3200
koronare Herzerkrankung	3000
metabolisches Syndrom	1500
Morbus Parkinson	750
nicht-/ alkoholische Steatohepatitis	450
Periodontitis	2230
primär sklerosierende Cholangitis	790
Psoriasis	1890
Sarkoidose	7830
Varikosis	4450
zerebrale Anfallsleiden bei Kindern	430
Langlebigkeit/Kontrollen	4380
populationsbasierte Kontrollen ohne Langzeitverfolgung	3500
populationsbasierte Kontrollen mit Langzeitverfolgung	747
Kontrollen – Blutspender mit Langzeitverfolgung	570

Parallel zu den Fallsammlungen wurde eine Kontrollkohorte geschaffen. In Zusammenarbeit mit den Einwohnermeldeämtern der Stadt Kiel wurde eine repräsentative Stichprobe der Normalbevölkerung gezogen. Die zufällig ausgewählten Personen wurden eingeladen, eine Blutprobe abzugeben. Insgesamt willigten 4.267 von 23.000 angeschriebenen Personen ein (Response-Anteil 18,6%). Personen dieser Gruppe zwischen 49 und 75 Jahren wurden gebeten, an einer weiterführenden Untersuchung mit detaillierter Phänotypisierung und Erfassung klinischer Parameter teilzunehmen (Basiserhebung). 747 Personen stimmten zu (Response-Anteil 17,5%). Von ihnen standen 569

Probanden für eine erneute Untersuchung nach ca. 5 Jahren zur Verfügung (erste Nachbeobachtung, Follow-Up). Bei 419 von letzteren wurde auch ein Ganzkörper-MRT durchgeführt. Diese Probanden bildeten die in der vorliegenden Arbeit untersuchte Studiengruppe (vgl. Abbildung 3 auf Seite 25).



**Abbildung 3: Entstehung der Probandengruppe, deren Daten in dieser Untersuchung ausgewertet wurden**

Alle mit der Studie in Verbindung stehenden Rekrutierungsmaßnahmen, Untersuchungsmethoden und Datenmanagementprozeduren entsprachen den Grundsätzen der guten wissenschaftlichen Praxis und wurden durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität zu Kiel geprüft und genehmigt (Aktenzeichen A 156/03, Erweiterungsantrag vom 05.07.2010 mit dem Titel „PopGen-Kontrollkohorte mit Langzeitverfolgung“, Votum vom 29.07.2010 und Erweiterungsantrag vom 26.08.2016 mit dem Titel „Zusammenhänge zwischen zirkulierendem Plasma-Osteopontin und kardiovaskulären Risikofaktoren bzw. subklinischen Parametern“, Votum vom 21.09.2016).

## 2.2 BASISERHEBUNG (2005-2006)

Die vorliegende Analyse bezieht sich im Wesentlichen auf die erste Nachuntersuchung. Dennoch entstammen einige Daten der Basiserhebung (vgl. Tabelle 4 auf Seite 26). Daher erfolgt an dieser Stelle eine zusammenfassende Beschreibung dieser ersten Phänotypisierung der Probanden.

Von 2005 bis 2006 wurden alle 747 für die Basiserhebung ausgewählten Probanden zu einer Untersuchung ins Studienzentrum am UK SH, Campus Kiel eingeladen. Jeder Teilnehmer wurde gebeten, einen Fragebogen zu beantworten. Darüber hinaus fanden ein Arztgespräch, eine körperliche Untersuchung, eine Atemkraftmessung mittels Peak-Flow-Meter, eine Handkraftmessung mittels Dynamometer, eine rektale Untersuchung und eine Sonographie des Abdomens statt.

Ebenso wurden jedem Studienteilnehmer 33,2 ml Venenblut entnommen, von denen ein Teil in das Zentrallabor des UK SH versandt und ein anderer für spätere Analysen bei -20°C bzw. -80°C tiefgefroren wurde.

Schließlich wurde bei jedem Probanden ein Oberflächen-Elektrokardiogramm nach standardisiertem Schema abgeleitet (liegende Position, Extremitäten- und Brustwandableitungen, Schreibgeschwindigkeit 50 mm/s, Frequenzfilter 50 Hertz, Auslenkung 10 mm/mV), das im weiteren Verlauf durch Dr. Matthias Lutz, Oberarzt in der Abteilung für Kardiologie, Angiologie und internistische Intensivmedizin des UK SH, ausgewertet wurde. Betrachtet wurden Lagetyp, Erregungsausbreitungs- und -rückbildungszeiten sowie Zeichen eines abgelaufenen Myokardinfarktes und andere Auffälligkeiten.

**Tabelle 4: Übersicht über die für diese Untersuchung relevanten Daten aus der Basiserhebung**

Fragebogen	Frage	eingehende Antwort
Frage 1	Wurde bei Ihnen jemals eine Krebserkrankung festgestellt?	ja (außer Hautkrebs)
Frage 2	Ist bei Ihnen eine Erkrankung des Nervensystems durch einen Arzt festgestellt worden? Wenn ja, welche Erkrankung des Nervensystems wurde festgestellt?	ja Schlaganfall
Untersuchungsbogen	Frage	eingehende Antwort
Frage 3	Besteht ein Diabetes mellitus Typ 2? Nehmen Sie orale Antidiabetika oder Insulin ein?	ja, nein, fehlende Angabe ja
EKG	Frage	eingehende Antwort
	Sind Zeichen eines abgelaufenen Myokardinfarktes im EKG vorhanden?	ja
Venenblutentnahme	Laborparameter	Einheit
EDTA	glykosyliertes Hämoglobin (HbA1c)	%
Lithium-Heparinat	Nüchternplasmaglukose	mg/dl

## 2.3 ERSTE NACHBEOBACHTUNG (2010-2012)

Von 2010 bis 2012 wurden die Probanden erneut ins Studienzentrum eingeladen. 569 der 747 Studienteilnehmer erschienen (Response-Anteil 76%). Auch hier wurde zunächst um das Beantworten eines Fragebogens gebeten. Eine ärztliche Untersuchung, ein Oberflächen-Elektrokardiogramm, eine orientierende Sonographie der Leber und der Gallenwege und eine Venenblutentnahme fanden wie bereits zum Zeitpunkt der Basiserhebung statt. Zusätzlich wurde ein Ernährungs- und Bewegungsfragebogen eingesetzt (in Zusammenarbeit mit dem Deutschen Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke (DIfE)), und es erfolgten die sonographische Bestimmung der abdominalen Fettdicken und ein Ganzkörper-MRT, sofern das möglich war. Da fast ausschließlich Daten der ersten Nachbeobachtung in die hier vorliegende Querschnittsanalyse eingehen, wird diese im Folgenden genauer beschrieben.

### 2.3.1 Fragebogen PopGen

Eine Auflistung der in dieser Untersuchung ausgewerteten Fragen und Antwortmöglichkeiten enthält Tabelle 19 auf Seite 94 im Anhang. Ein erster Fragenpunkt zielte auf die Erfassung **soziodemographischer Faktoren** ab. Dabei stand der jeweilige Schulabschluss im Vordergrund.

Weiterhin wurde erfragt, ob bei den Studienteilnehmern bestimmte **Erkrankungen** vorlagen. Für diese Arbeit interessierten insbesondere Erkrankungen des Herzkreislaufsystems (erlittener Myokardinfarkt oder Schlaganfall) und Stoffwechselerkrankungen (DM, metS), deren Risikofaktoren (aHT, Dyslipidämien) sowie Lebererkrankungen (Hepatitis, Zirrhose, Hämochromatose, autoimmune Lebererkrankung) oder eine Tumorerkrankung. Dabei wurde die Tumorentität „Hautkrebs“ nicht berücksichtigt, da für einige Probanden nicht erinnerbar war, ob es sich um eine manifeste Form des Hautkrebses oder um eventuelle Vorstufen, suspektae Läsionen oder gar gutartige oder entzündliche Veränderungen handelte. Dieses Vorgehen entsprach dem anderer epidemiologischer Studien.

Der Fragebogen der ersten Nachbeobachtung erfasste dabei oft nur neu aufgetretene Veränderungen seit der Basiserhebung 2005/2006. Zur Ermittlung der Prävalenz interessierender Erkrankungen mussten daher trotz des Querschnittsdesigns Informationen aus der Basiserhebung hinzugezogen werden (vgl. Absatz 2.3.8 auf Seite 35 und Tabelle 4 auf Seite 26).

Für den DM und den aHT wurde neben dem Vorliegen der Erkrankung auch nach dessen spezifischer **Therapie** gefragt. So wurden die Einnahme blutdrucksenkender Medikamente oder eine antidiabetische Medikation bzw. Diät erfasst.

Das **Rauchverhalten** wurde entsprechend der Ultrakurzversion zur Erfassung des Aktivrauchens aus der Originalarbeit von Latza et al. mit dem Titel „Rauchen als möglicher Confounder in epidemiologischen Studien: Standardisierung der Erhebung, Quantifizierung und Analyse“ abgefragt (Latza et al., 2005). Zunächst sollten sich die Probanden zu einer der folgenden Gruppen zuordnen: Nichtraucher (nie bzw. weniger als 3 Monate in ihrem Leben geraucht), Ex-Raucher und Raucher. Bei früherem oder anhaltendem Zigarettenkonsum wurde die Anzahl der konsumierten Zigaretten, Zigarren oder Pfeifen pro Tag dokumentiert. Für Zigarren und Pfeifen erfolgte eine Umrechnung in Zigarettenäquivalente. Da eine Zigarette im Durchschnitt 1g, eine Pfeife 3g und Zigarre 4g Nikotin enthält, wurde das arithmetische Mittel von Pfeifen und Zigarren gebildet ( $\frac{3+4}{2} = \frac{7}{2} = 3,5$ ). Mit diesem Faktor wurde die Gesamtzahl der konsumierten Pfeifen und Zigarren multipliziert. Anschließend wurde die Rauchdauer in Jahren erfragt. Alternativ wurde diese erfasst durch die Angabe von Beginn und Ende des Nikotinkonsums (jeweiliges Alter oder zugeordnete Jahreszahlen). Im Anschluss wurde die kumulative Rauchdosis (Rauchintensität) in Packungsjahren (*pack years, py*) ermittelt, also die Anzahl der Jahre, in denen durchschnittlich 20 Zigaretten/-äquivalente pro Tag (entspricht einer Zigarettenpackung) geraucht wurden:

$$py = \frac{\text{konsumierte Zigaretten bzw. -äquivalente pro Tag}}{20 \text{ Zigaretten}} * \text{Dauer der Nikotinexposition in Jahren.}$$

### 2.3.2 Ernährungsfragebogen und körperliche Aktivität

In Kooperation mit dem DIfE wurden die Studienteilnehmer außerdem mittels standardisiertem **Ernährungsfragebogen** zu ihren Essgewohnheiten in den letzten 12 Monaten befragt. Dieser stand den Probanden entweder als Papierausdruck oder als *online*-Version zur Verfügung (<https://nugo.dife.de/efbo/>).

Der angewandte Verzehrshäufigkeitsfragebogen (food frequency questionnaire = FFQ) umfasste 112 Unterpunkte. Für jeden von ihnen wurden vom DIfE auf der Basis des Bundeslebensmittelschlüssels (Version II.3) Makro- und Mikronährstoffgehalte abgeschätzt und zur Verfügung gestellt, sodass für jeden Probanden die durchschnittliche Einnahme jeder einzelnen Ernährungskomponente wie z.B. essentielle Aminosäuren, kurz-, mittel- oder langkettige Fettsäuren, gesättigte bzw. einfach- oder mehrfach ungesättigte Fettsäuren oder Mono-, Di- und Polysaccharide in Milligramm bzw. Gramm pro Tag bestimmt werden konnte. Insbesondere die Angabe der täglichen Alkoholmenge in Gramm floss direkt in die hier vorliegende Analyse ein.

Auf der Basis dieser Angaben wurde der **modifizierte mediterrane Ernährungsindex** nach Trichopoulou et al. berechnet, welcher den Grad der Adhärenz zu einer mediterranen Ernährungsweise beschreibt. Er besteht aus neun Komponenten, von denen sieben als vorteilhaft gelten. Für jene wurde eine Einnahme über dem geschlechtsspezifischen Median mit einem Punkt bewertet: Einnahme von Gemüse, Hülsenfrüchten, Obst und Nüssen, Cerealien, Fisch und Meeresfrüchten. Ebenso wurde die täglich eingenommene Fettmenge berücksichtigt, die durch einen Quotienten aus der Summe einfach und mehrfach ungesättigter Fettsäuren zu gesättigten Fettsäuren abgebildet ist. Darüber hinaus gilt ein moderater täglicher Alkoholkonsum als vorteilhaft, also eine Menge zwischen 10 und 50 Gramm bei Männern bzw. 5 und 25 Gramm bei Frauen. Als eher schädlich werden die Einnahme von Fleisch und Fleischprodukten sowie von Milchprodukten angesehen, weshalb die Probanden bei diesen beiden Items einen Punkt bekamen, wenn die tägliche Einnahmemenge unter dem sexspezifischen Median lag. Für jeden Probanden wurde aus den 9 genannten Komponenten ein Score-Wert zwischen 0 und 9 berechnet, wobei hohe Punktwerte eine gute Adhärenz zu mediterraner Ernährung bedeuteten (Trichopoulou et al., 2005).

Der Ernährungsfragebogen des DIfE beinhaltete auch einen Fragenkatalog zur **körperlichen Aktivität**. Die Probanden gaben hier die durchschnittliche Zeit (in Stunden) an, die sie wöchentlich mit Gehen, Radfahren, anderem Sport, Gartenarbeit, Hausarbeit, Heimwerken, Fernsehen und Schlafen verbrachten. Additives tägliches Treppensteigen (in Etagen pro Tag) wurde nach folgender Formel in eine wöchentliche Dauer transferiert, wobei eine durchschnittliche Anzahl von 20 Treppenstufen pro Etage und eine Geschwindigkeit von 72 Stufen pro Minute angenommen wurden:

$$\text{wöchentliche Dauer des Treppensteigens} = \frac{20 \text{ Stufen} \times \text{Anzahl der Etagen}}{72 \text{ Stufen pro Minute} \times 60 \text{ Minuten}} \times 7 \text{ Tage.}$$

Nach Ainsworth et al. wurde die Dauer jeder dieser Aktivitäten anschließend multipliziert mit seinem korrespondierenden sogenannten *metabolic equivalent intensity level*, also folgenden Faktoren: Gehen = 3,0; Radfahren = 6,8; Gartenarbeit = 3,8; übriger Sport = 6,0; Hausarbeit = 3,3; Heimwerken = 4,5 und Treppensteigen = 8 (Ainsworth et al., 2011). Durch Summation aller Werte erhielt man nun für jeden Probanden die wöchentliche körperliche Aktivität in der Einheit *metabolic equivalent task hours per week* (meth/w).

### 2.3.3 Erfassung anthropometrischer Daten

Die Erfassung von Körperhöhe, Körpergewicht, Taillen- und Hüftumfang des Probanden erfolgte nach standardisiertem Schema durch eines von drei Mitgliedern des für die Kontrollkohorte verantwortlichen Studienteams. Dabei wurde die **Körperhöhe** ohne Schuhe mittels Messstab in Zentimetern (cm) auf 1 cm genau gemessen, wobei Kopf, Schultern und Fersen die Wand berührten. Das **Körpergewicht** wurde durch eine Personenwaage in leichter Sommerkleidung ohne Schuhe erfasst. Eine Angabe erfolgte in Kilogramm (kg) mit einer Messgenauigkeit von 0,1 kg, und 2 kg für die Kleidung wurden subtrahiert. Der **Taillenumfang** (WC) wurde mit einem nicht dehnbaren Maßband am Mittelpunkt aus unterem Rippenbogenrand und Spina iliaca anterior superior auf nackter Haut gemessen und in cm mit einer Messgenauigkeit von 0,1 cm angegeben. Ebenso auf nackter Haut und mit demselben Maßband erfolgte auf Höhe des Trochanter majors beidseits die Messung des **Hüftumfanges** in cm. Auch hier betrug die Messgenauigkeit 0,1 cm.

Für jeden Studienteilnehmer wurde nun der **BMI** bestimmt. Dieser stand zum einen als kontinuierliche Variable zur Verfügung. Zum anderen wurde jeder Proband einer BMI-Klasse gemäß Definition der WHO zugeordnet. So konnten diejenigen Probanden identifiziert werden, die als adipös eingestuft werden mussten (vgl. Absatz 1.3.2 auf Seite 13). Zusätzlich wurde der Taillenumfang auf die Körperhöhe bezogen (**WHtR**, vgl. Absatz 1.3.3.2 auf Seite 17).

### 2.3.4 Messung der Blutdruckwerte

Auch die Blutdruckmessung erfolgte standardisiert und nach mindestens fünf Minuten Ruhe im Sitzen am linken oder am rechten Oberarm. Anwendung fanden eine passende Blutdruckmanschette und ein Quecksilbermanometer, sodass **systemischer** und **diastolischer Blutdruckwert** in Millimetern Quecksilbersäule (mmHg) angegeben wurden. Die Messung wurde zweimal durchgeführt, und die Messwerte wurden arithmetisch gemittelt.

### 2.3.5 Sonographie des Abdomens

Durch eines der drei Mitglieder des Studienteams wurde weiterhin eine orientierende Sonographie der Leber und der Gallenwege durchgeführt. Hierzu wurden das Sonographiergerät Logiq 400 cl (General Electric Healthcare, Bedford UK) und eine konvexe 3,5 Megahertz(MHz)-Messsonde verwendet. Alle Mitarbeiter waren in das Gerät eingewiesen und für die erforderlichen Untersuchungen geschult. Zunächst wurde bei dieser Untersuchung eine Aussage darüber getroffen, ob die **Leber strukturverdichtet** sei oder nicht. Anschließend wurden **sonographische Messungen des abdominellen Fettgewebes** durchgeführt. Der Proband lag mit entkleidetem Oberkörper in Rückenlage auf der Untersuchungsfläche. Mit einem Edding-Stift wurden eine waagerechte Orientierungslinie exakt mittig zwischen unterem Rippenbogen und dem höchstgelegenen Punkt des Beckenkamms und eine senkrechte Linie direkt durch Brustbein, Xiphoid und Nabel auf den Probanden gezeichnet. Der Schnittpunkt beider Linien bildete den ersten Auflagepunkt für den Schallkopf in der Transversalebene. Anschließend atmete der Patient aus und hielt die Luft an. Das Bild wurde fixiert, und es wurde die Dicke des subkutanen abdominellen Fettgewebes (**scAT**; Distanz zwischen Haut und Oberfläche der Linea alba) gemessen. Nach Drehen in die Sagittalebene wurde die Dicke des intraabdominellen Fettgewebes (**iaAT**; Distanz zwischen Unterfläche der Linea alba und Lendenwirbelkörper) gemessen. Nun wurde der Schallkopf direkt unterhalb des Xiphoids in der Mittellinie in der Transversalebene aufgesetzt, und die Bestimmung der Dicke des präperitonealen Fettgewebes (**ppAT**; Distanz zwischen Unterfläche der Linea alba und Peritoneum) erfolgte. Jede Messung wurde direkt senkrecht, doppelt am selben Bild und in zwei verschiedenen Bildern an derselben Stelle durchgeführt, sodass jeweils vier Messwerte je Distanz entstanden. Die Strecken wurden in Millimetern angegeben und arithmetisch gemittelt.

### 2.3.6 Sammlung von Bioproben

Den nüchtern zur Untersuchung erschienenen Probanden wurden weiterhin 48,8 ml Venenblut entnommen. Ein Teil des Probenmaterials wurde in das Zentrallabor des UK SH versandt (vgl. Absatz 2.3.6.1 auf Seite 30). Darüber hinaus wurden zwei große (9ml) und ein mittleres (5,5 ml) EDTA-Röhrchen, ein Serumröhrchen (9 ml) und drei PaxGene-Röhrchen (2,7 ml) für weitere Analysen aufbewahrt. Die Plasma- und Serumproben wurden dabei zentrifugiert und anschließend aliquotiert. Die Lagerung der Bioproben erfolgte tiefgefroren bei -80°C.

#### 2.3.6.1 Bestimmungen im Zentrallabor

In das Zentrallabor des UK SH wurde ein kleines Ethylendiamintetraacetat-(EDTA-) Röhrchen (2,7 ml) zur Bestimmung eines kleinen Blutbildes versandt. Zusätzlich wurde der Anteil des glykosylierten Hämoglobin (HbA1c; %) bestimmt.

Ein zweites Röhrchen, ein Lithium-Heparinat-Röhrchen (5,5 ml), wurde zur Erfassung von Serumkreatinin (mg/dl), geschätzter glomerulärer Filtrationsrate (GFR MDRD; ml/min), Phosphat (mmol/l) , Nüchternplasmaglukose (mg/dl), Gesamtcholesterin (mg/dl), HDL-Cholesterin (mg/dl), LDL-Cholesterin (mg/dl), Triglyceride (mg/dl), AST (U/l), ALT (U/l),  $\gamma$ -GT (U/l), Cholinesterase (KU/l) und CRP (mg/l) verschickt.

Die Bestimmung der angeforderten Werte erfolgte sofort. Durch Multiplikation mit Umrechnungsfaktoren wurden einige Laborparameter in der vorliegenden Arbeit von der im Zentrallabor gemessenen (mg/dl) in eine besser mit anderen Studien vergleichbare Einheit (mmol/l) transferiert: Gesamtcholesterin = 0,0259, HDL-Cholesterin = 0,0259, LDL-Cholesterin = 0,0259, Triglyceride = 0,0114.

### 2.3.6.2 Bestimmung des Plasma-Osteopontin

Das OPN wurde aus dem Blutplasma von 416 der 419 Probanden gemessen. Die Proben waren zuvor nicht aufgetaut worden. Die Bestimmung erfolgte im Labor der Biobank PopGen unter der Leitung von Dr. rer. nat. Gunnar Jacobs.

Anwendung fand das Human Osteopontin Assay Kit (L) der Firma Immuno-Biological-Laboratories Co., Ltd aus Japan (Produktnummer: 27158). Dem zugrunde liegt ein Sandwich-Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) - Verfahren, dessen Coating-Antikörper auf den Platten eine Verbindung mit dem N-terminalen Ende des im Plasma zirkulierenden OPN eingeht. Anschließend bindet der Detektions- bzw. Labeled-Antikörper an der Thrombinspaltstelle des bisher ungespaltenen OPN-Moleküls, und ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex entsteht. Am Labeled-Antikörper befindet sich eine Meerrettichperoxidase, die einen Farbumschlag des Chromogens Tetramethylbenzidin ins Blau bewirkt. Die Messung und Auswertung erfolgten nach den Vorgaben des Herstellers (IBL, 2006). Die Bestimmung der optischen Dichten wurde bei 450 nm an einem Plattenlesegerät der Firma TECAN (Infinite 200 PRO) durchgeführt. Einzig entgegen der Empfehlung des Herstellers und aus Kapazitätsgründen wurden die 416 Proben nur einfach bestimmt. Die Standardwerte wurden wiederum als Duplikate gemessen. Hieraus wurden die Standardkurven, die Intra-Assay-Variabilität und Inter-Assay-Variabilität bestimmt.

### 2.3.7 Ganzkörper-MRT

Als letzte Untersuchung zum Zeitpunkt der ersten Nachbeobachtung wurde ein Ganzkörper-MRT durchgeführt. Durch seine gute Weichteildarstellung ermöglichte es, wie eingangs dargestellt, eine präzise Quantifizierung des Leberfettgehaltes und der abdominalen Fettvolumina (vgl. Absatz 1.3.3.2 auf Seite 17 und Absatz 1.3.5.2 auf Seite 20).

Zum besseren Verständnis der Bilddatenauswertung folgt an dieser Stelle eine kurze Einführung in die Funktionsweise des MRT: Die MR-Tomographie beruht auf den physikalischen Prinzipien der Kernspinresonanz. Durch einen supraleitenden Magneten im MR-Gerät wird ein starkes Magnetfeld erzeugt, das die Eigendrehimpulse der Wasserstoffatome (Spins) in Längsrichtung anordnet. Ein Hochfrequenzimpuls aus Radiowellen (Anregungsimpuls) stört diese Anordnung, sodass senkrecht zum äußeren ein Transversalmagnetfeld entsteht. Da das äußere Magnetfeld aber weiterhin anliegt, richten sich die Spins wieder longitudinal aus (T1-Relaxation), und Energie in Form von Wärme wird an die Umgebung abgegeben. Gewebe mit schnellem Wärmetransfer (z.B. Fettgewebe) erscheinen daher in der T1-Wichtung hyperintens. Der Rückgang der Transversalmagnetisierung wird als T2-Relaxation bezeichnet, und Gewebe, die diese lange aufrecht erhalten können (z.B. Wasser), erscheinen in T2-gewichteten Bildern hyperintens. Eine Folge mehrerer Anregungsimpulse wird als Pulssequenz bezeichnet, die Zeit zwischen zwei Anregungen heißt Repetitionszeit (*time to repeat*, TR) und die Zeit zwischen Anregung und Signalaufnahme ist die Echozeit (*time to echo*; TE). Der Winkel, mit dem der Hochfrequenzimpuls auf das Magnetfeld trifft, wird als *flip angle* bezeichnet. Eine Reduktion von Bildartefakten wird durch angeleitete Atemmanöver mit Sistieren des Atmens während der Bildentstehungssequenz erreicht.

Die Durchführung des MRT erfolgte in Zusammenarbeit mit der Abteilung für Radiologie des UK SH, welche ein 1,5-Tesla-Gerät der Firma Siemens Medical Solutions (Magnetom Avanto) zur Verfügung stellte. Die Protokollbildung wurde begleitet durch Dr. med. Jan Borggreffe aus ebendieser Abteilung.

**Tabelle 5: MR-Studienprotokoll:** Einstellungsparameter: TR = time to repeat, TE = time to echo, Turbofaktor = Anzahl der ausgelesenen Echos pro TR nach Anregung durch zusätzliche 180°-Hochfrequenzimpulse, alternative Angabe: Matrix 128x80 Pixel und Bildbereich: 275x440 mm, Sequenzen: FLASH = Fast Low Angle SHot, IP-OoP = In-Phase-Out-Of-Phase, HASTE = Half fourier-Acquired Single shot Turbo spin Echo

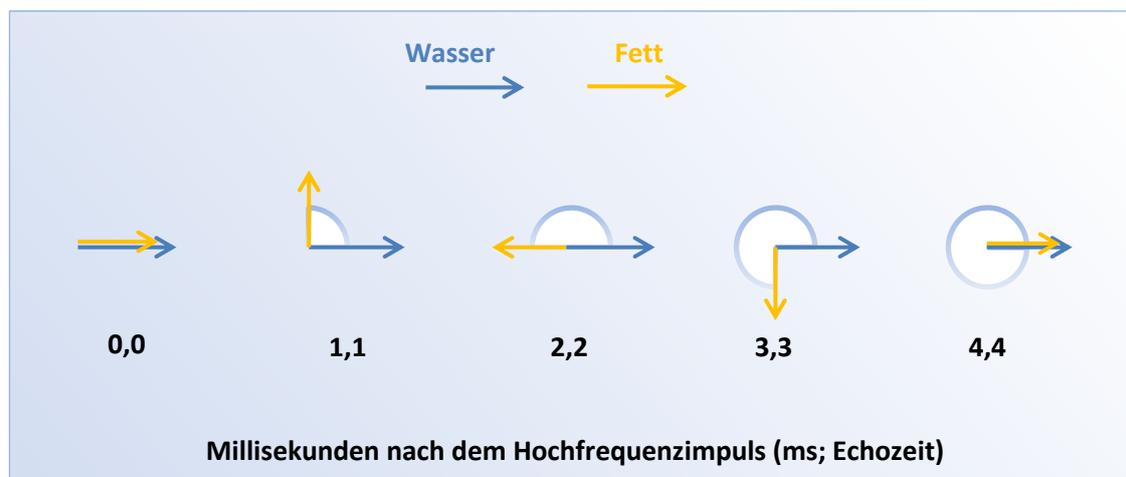
Sequenz	Wichtung	TR (ms)	TE (ms)	flip angle (°)	Voxelgröße (mm <sup>3</sup> )	Schichtdicke (mm)	Schichtabstand (mm)	Turbofaktor
ganzer Körper in FLASH	T1	157	4	70	3,9x2x8	8	2	-
Leber in IP-OoP in FLASH	T1	10,4	4,76 (IP) 7,14 (OoP)	10	alternative Angabe	alternative Angabe	alternative Angabe	-
Herz in HASTE	T2	700	24	160	3,9x2x8	8	2	106

Voraussetzungen waren das Einverständnis des Probanden und fehlende Kontraindikationen (Metallimplantate, Platzangst). Diese waren für 419 der 569 Studienteilnehmer (74%) erfüllt. Eine MRT-Untersuchung dauerte circa 15 Minuten, und Komplikationen oder der Abbruch einer begonnenen Untersuchung traten nicht auf.

Zur Darstellung der Körperfettvolumina wurde zunächst eine T1-gewichtete transversalgeschichtete Ganzkörperaufnahme von den Handgelenken bis zu den Knöcheln beidseits durchgeführt. Die gewählten Einstellungen sind in Tabelle 5 auf Seite 32 ersichtlich.

Nun erfolgte eine spezielle T1-gewichtete Gradientenecho-Sequenz zur Darstellung des Leberfettgehaltes (vgl. Tabelle 5 auf Seite 32). Anwendung fand eine Methode, die darauf beruht, dass Protonen in Wasser und Fett unterschiedliche Frequenzen zur Entstehung magnetischer Resonanz aufweisen. Bei der sogenannten In-Phase-Out-of-Phase-Darstellung (IP-OoP), die auch *chemical shift imaging* (CSI) genannt wird, werden MR-Bildpaare mit gleicher Repetitions-, aber unterschiedlicher Echozeit erstellt. Die IP-Bilder resultieren aus additiven Effekten von Wasser und Fett im selben Voxel, während die OoP-Bilder subtraktive Effekte im selben Voxel aufweisen (vgl. Abbildung 4 auf Seite 33). Somit verlieren Gewebe, die mikroskopische Fettdepots enthalten, in der OoP-Darstellung ihr Signal (= relativer Signalintensitätsverlust; RSID). Die Anwendbarkeit dieser MR-Sequenz wurde sowohl für die Darstellung von in der Leber gespeichertem Fett als auch von anderen Fettdepots innerhalb parenchymatöser Organe beschrieben wie z.B. in Nebennierenrindenadenomen, die im Gegensatz zu Karzinomen oder Metastasen typischerweise Fett enthalten (Borra et al., 2009, Savci et al., 2006).

Eine letzte T2-gewichtete Sequenz des Herzens wurde in der vorliegenden Untersuchung nicht ausgewertet und daher nicht weiter ausgeführt.



**Abbildung 4 In-Phase-Out-of-Phase-Darstellung:** schematische Darstellung des physikalischen Prinzips beim *chemical shift imaging*; MR-Bildpaare mit unterschiedlichen Echozeiten bei gleicher Repetitionsfrequenz führen dazu, dass fettreiche Areale zu bestimmten Echozeiten ihr Signal verlieren; modifiziert nach Elster et al. (Elster, 2017)

### 2.3.7.1 Bestimmung der abdominellen Fettvolumina

Die Bestimmung der Volumina des viszeralen abdominellen (VAT), des subkutanen abdominellen (SAAT) und des subkutanen Stammfettes (STRAT) erfolgte durch Prof. Jan Kassubek und PD Dr. rer. nat. Hans-Peter Müller der Universität Ulm. Die MR-Rohdaten wurden in die dort entwickelte Automatic Tissue Labeling Analysis Software (ATLAS) eingespeist. Alle Querschnittsdarstellungen wurden zu einem kontinuierlichen dreidimensionalen Datensatz vereint, sodass der gesamte Körperabschnitt analysierbar war.

Zur Homogenisierung der Intensitäten der verschiedenen Abschnitte wurde ein Diffusionsfilter eingesetzt. Kleinere Artefakte wurden manuell korrigiert. So stand ein optimierter Datensatz für weitere Auswerteschritte zur Verfügung.

Im Anschluss kam der Adapted Rendering Tissue Intensity Segmentation (ARTIS) - Algorithmus zur Anwendung, der zusammenhängende Voxel mit gleicher und vorher festgelegter Intensität innerhalb eines prädefinierten anatomischen Bereiches als Fettgewebe markierte. Nach der Vorlage von Machann et al. umfasste die Messregion für das SAAT das Subkutangewebe von der Leberspitze bis zu den Femurköpfen beidseits, das VAT wurde in derselben Messregion erfasst, allerdings nicht subkutan, sondern intraabdominell, d.h. innerhalb der abdominalen Muskulatur. Für das STRAT wurde das Subkutangewebe von den Humerusköpfen bis zu den Femurköpfen gemessen (Machann et al., 2005). Die Datensätze wurden manuell nachbearbeitet, indem Leberfett und Fett innerhalb der Darmschlingen aus den Berechnungen ausgeschlossen und kleinere Artefakte (z.B. durch Stents oder Hüftimplantate) korrigiert wurden. So erhielt man eine Angabe des Fettgewebes in Voxel.

Die Multiplikation der Voxel mit der Voxelgröße ( $3,9 \times 2 \times 8 \text{ mm}^3$ ) ergab das Volumen, das in Kubikdezimetern angegeben wurde. Messungen von 27 artefaktreichen MR-Darstellungen wurden aus den Analysen ausgeschlossen.

Dass diese Methode stabile Ergebnisse produziert, wurde bereits publiziert (Muller et al., 2011). Dennoch wurden in unserem Untersuchungskollektiv für 38 Probanden die Volumina des SAAT und VAT zusätzlich durch die Anwendung der Segmentierungssoftware slice-O-matic der Firma TomoVision aus Montreal in Canada (Version 4.2) bestimmt. Die so erhobenen Fettvolumina korrelierten gut mit den Fettmessungen aus Ulm sowohl für das SAAT (Korrelationskoeffizient nach Bravais-Pearsson  $r_p=0,996$ ;  $p < 0,001$ ) als auch für das VAT ( $r_p=0,996$ ;  $p < 0,001$ ) (Ruttgers et al., 2015). Daher wurden die Bestimmungen der VAT-, SAAT- und STRAT-Volumina an der hier untersuchten Probandengruppe auch für andere Fragestellungen verwendet (Fischer et al., 2015b, Fischer et al., 2015a, Ruttgers et al., 2015).

### 2.3.7.2 Bestimmung des Leberfettgehaltes

Die Messung des **Leberfettgehaltes** wurde durch Frau Dr. Manja Koch, Mitarbeiterin des Institutes für Epidemiologie der CAU, durchgeführt und kürzlich in Beziehung gesetzt zu spezifischen Ernährungsmustern (Koch et al., 2014).

Hierbei wurde das Analyseprogramm ImageJ (Version 1.45s) verwendet (Schneider et al., 2012). Zunächst wurden drei kreisförmige *regions of interest* (ROI) mit einem Durchmesser von jeweils 10 mm im Leberparenchym festgelegt. Dabei wurde darauf geachtet, dass Bereiche ausgeschlossen

wurden, die entweder in der IP oder in der OoP Gefäße oder Artefakte enthielten. Die erste Region befand sich im unteren rechten Leberlappen unterhalb der Pfortader (Segment 5 oder 6), eine zweite im oberen rechten Leberlappen auf Höhe der Pfortader (Segment 7 oder 8) und eine dritte im linken Leberlappen oberhalb der Pfortader (Segment 2 oder 4a).

Anschließend wurden die Signalintensitäten jedes festgelegten Bereiches in der IP und OoP ermittelt. Danach wurde der relative Signalintensitätsverlust (RSID) innerhalb der jeweils definierten Region berechnet nach folgender Formel (Taouli et al., 2009):

$$RSID = 100 * \left( \frac{\text{Signalintensität IP} - \text{Signalintensität OoP}}{\text{Signalintensität IP}} \right).$$

Auf diese Weise bildete der relative Signalintensitätsverlust den Fettgehalt der Leber als kontinuierlichen Parameter ab: je höher der RSID-Wert, desto stärker die Leberzellverfettung. Messungen von 18 artefaktreichen MR-Darstellungen wurden aus den Analysen ausgeschlossen.

Die Validierung der so gewonnenen Daten zum Leberfettgehalt erfolgte durch einen Vergleich mit der derzeitigen Standardbestimmung von Leberfett im MRT, der MR-Spektroskopie. Hierzu wurden bei 40 Probanden derselben Kohorte zusätzlich zum Studienprotokoll im rechten dorsalen Leberlappen MR-Spektren unterschiedlicher Echozeiten erfasst und ausgewertet. Der auf diese Weise bestimmte Fettgehalt der Leber korrelierte gut mit dem jeweiligen RSID (Korrelationskoeffizient nach Spearman  $r_s=0,609$ ;  $p<0,001$ ), sodass bei der Bestimmung des RSID von einer validen Methode ausgegangen werden konnte (Koch et al., 2014).

Schließlich erfolgte, wie bereits bei Koch et al. beschrieben, eine dichotome Einteilung der Probanden in eine Gruppe hohen (RSID-Wert  $\geq 3$ ) und eine normalen Fettgehaltes (RSID-Wert  $< 3$ ) (Koch et al., 2014).

### 2.3.8 Definitionen weiterer kategorialer Variablen

Ein **aHT** wurde einem Probanden zugeschrieben, wenn zum Zeitpunkt der ersten Nachbeobachtung im Studienzentrum ein gemittelter Blutdruckwert  $\geq 140$ mmHg systolisch oder  $\geq 90$ mmHg diastolisch gemessen wurde. Die Grenzwerte basierten auf den Empfehlungen der Leitlinie der ESC (Mancia et al., 2013). Durch alleinige Betrachtung der Blutdruckmesswerte wären allerdings diejenigen Probanden nicht erfasst worden, die durch eine adäquate Therapie mit Antihypertensiva Normalwerte aufwiesen. Daher wurden auch solche Personen als Hypertoniker klassifiziert, die im Interview der ersten Nachbeobachtung die Frage bezüglich der Einnahme blutdrucksenkender Medikamente bejahten (vgl. Tabelle 19 auf Seite 94).

Das Vorliegen eines **DM** wurde bei einem Studienteilnehmer angenommen, wenn der HbA1c  $\geq 6,5\%$  oder der Nüchternplasmaglukosewert  $\geq 126$  mg/dl betrug. Diese Grenzwerte entstammen der nationalen Versorgungsleitlinie „Therapie des Typ-2-Diabetes“ der Deutschen Diabetesgesellschaft (DDG), die auf den Empfehlungen der American Diabetes Association (ADA) beruht (AWMF, 2014). Da eine einmalige Feststellung dieser Messparameter zur Diagnosestellung eines DM genügt, wurden die Laborwerte sowohl der Basiserhebung als auch der ersten Nachbeobachtung betrachtet. Analog zum aHT wurden weiterhin Informationen aus Fragebögen herangezogen, um Probanden zu erfassen, die durch eine adäquate Therapie normale Laborparameter aufwiesen. Dabei wurde sowohl in der Basiserhebung als auch in der ersten Nachbeobachtung nach dem Vorliegen einer diabetischen Stoffwechselstörung und nach der entsprechenden Therapie gefragt. Der genaue Wortlaut der Fragen ist in Tabelle 19 auf Seite 94 aufgeführt. Zu beachten ist, dass bei Studienteilnehmern, die zum Vorliegen eines DM keine Angabe gemacht hatten, dennoch ein solcher angenommen wurde, wenn eine Therapie mit oralen Antidiabetika oder Insulin angegeben wurde.

Zu den Probanden mit einer bereits **prävalenten kardiovaskulären Erkrankung** wurden diejenigen Teilnehmer gezählt, die im Fragebogen der Basiserhebung oder der ersten Nachbeobachtung Angaben zu einem erlittenen **Schlaganfall** gemacht hatten. Die entsprechenden Fragen finden sich in der Tabelle 19 auf Seite 94. Ebenfalls in diese Variable zählte ein **Myokardinfarkt** in der Vorgeschichte. Für den Zeitraum von der Basiserhebung bis zur ersten Nachbeobachtung wurde ein Proband in diese Gruppe gezählt, wenn er Fragen diesbezüglich bejaht hatte (vgl. Tabelle 19 auf Seite 94). Anzumerken ist, dass für die Zeit vor der Basiserhebung ein erlittener Myokardinfarkt nur dann detektiert wurde, wenn der Kardiologe Dr. Lutz in einem dort abgeleiteten Oberflächen-EKG Zeichen eines abgelaufenen Infarktes erkennen konnte. Diese waren im Wesentlichen ST-Streckenveränderungen und auffällige Q-Zacken. Waren keine dieser Anzeichen vorhanden, wurde auch kein Myokardinfarkt vermutet. Probanden, die an den übrigen kardiovaskulären Erkrankungen litten, konnten durch die in den Fragebögen gestellten Fragen nicht sicher abgegrenzt werden und blieben daher in der vorliegenden Untersuchung unberücksichtigt.

Schließlich wurde für jeden Probanden bestimmt, ob er an einem **metS** leide. Angewandt wurde weitestgehend die Definition von Alberti et al., die bereits in Absatz 1.3.5 auf Seite 19 beschrieben wurde (Alberti et al., 2009). Lediglich die Einnahme einer lipidsenkenden Therapie wurde hier nicht berücksichtigt, da Angaben der Studienteilnehmer diesbezüglich nicht zur Verfügung standen.

## 2.4 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die statistische Auswertung wurde unterstützt durch Frau Dr. Manja Koch und Frau Dr. Romina Di Giuseppe, Mitarbeiterinnen des Institutes für Epidemiologie der CAU. Zur Anwendung kam die Software der Firma Statistical Analysis System (SAS) Institute Inc. in den Versionen 9.2 und 9.3. Das Signifikanzniveau betrug für alle Analysen 0,05, und für sämtliche statistische Verfahren wurde vorab geprüft, ob notwendige Voraussetzungen erfüllt waren. Einen Analyseplan zeigt Abbildung 5 auf Seite 41.

### 2.4.1 Deskriptive Analysen

In der **Basischarakteristik** ist die Verteilung aller in dieser Untersuchung relevanten Merkmale aufgeführt - sowohl auf die gesamte Studiengruppe als auch getrennt auf Männer und Frauen. Dabei wurden sämtliche metrischen Variablen hinsichtlich ihrer Normalverteilung geprüft. Dies erfolgte visuell unter Berücksichtigung von Schiefe und Wölbung. Ergänzend wurde mithilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests und des Shapiro-Wilk-Tests geprüft, ob eine Gauß-Verteilung vorlag. Für normal distribuierte Variablen wurde der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Die Beschreibung der übrigen kontinuierlichen Merkmale erfolgte als Median (Quartil 1, also 25. Perzentil, und Quartil 3, also 75. Perzentil). Nominale Variablen wurden als absolute Anzahl der Probanden (n) und deren Anteil an der jeweiligen Gruppe (%) angegeben.

Da für Folgeanalysen eine Normalverteilung bestimmter Parameter, nämlich der abhängigen Variablen in den Regressionsmodellen, eine notwendige Voraussetzung war, erfolgte eine Transformation folgender Variablen durch Bildung des dekadischen Logarithmus: RSID, ppAT, SAAT, STRAT und VAT. Deren Verteilung konnte anschließend als normal angesehen werden.

Im nächsten Schritt wurde die **Verteilung des Plasma-OPN** innerhalb der Studienpopulation betrachtet. Nach Ausschluss von Ausreißern (Werte außerhalb des Bereiches von Mittelwert  $\pm$  vierfache Standardabweichung) wurde auch das Plasma-OPN auf das Vorliegen einer Normalverteilung geprüft. Diese lag zunächst nicht vor, sodass hier ebenfalls eine Transformation der Plasma-OPN-Werte mittels Bildung des dekadischen Logarithmus erfolgen musste.

### 2.4.2 Korrelate des Plasma-Osteopontin

Nun wurden durch drei verschiedene Methoden mögliche Einflussgrößen auf das zirkulierende Plasma-OPN als Zielmerkmal untersucht. Zum einen wurden so unabhängige Determinanten des Plasma-OPN identifiziert. Zum anderen könnten diese eventuelle Störgrößen (= Confounder) bei der Analyse der Zusammenhänge zwischen den Fettmessungen und dem Plasma-OPN darstellen.

1. Alle Probanden wurden hinsichtlich des Plasma-OPN in **geschlechtsspezifische Tertile** stratifiziert. Danach wurde die Verteilung der innerhalb der Studienpopulation erhobenen Merkmale auf die Tertile betrachtet. Für nominale Variablen wurden signifikante Unterschiede durch einen Trend-Test berechnet. Hier kam für dichotome Merkmale der Cochran-Armitage-Trend-Test zur Anwendung, während für nominale Merkmale mit mehr als 2 Kategorien der  $\chi^2$ -Test eingesetzt wurde. Metrische Variablen wurden hinsichtlich statistisch signifikanter Unterschiede mittels multipler linearer Regression untersucht, wobei die Plasma-OPN-Tertile die abhängige Variable darstellten. Die Regressionsmodelle waren adjustiert für Alter und Geschlecht.
2. **Korrelationsanalysen** sollten den Zusammenhang das Plasma-OPN als kontinuierliche Größe mit den übrigen metrischen Variablen dieser Untersuchung erfassen. Sie erbrachten den jeweiligen Korrelationskoeffizienten als Maß für die Stärke einer Korrelation zweier Variablen und deren Richtung. Für zwei normalverteilte Variablen (logarithmiertes Plasma-OPN mit Alter, systolischem und diastolischem Blutdruckwert, HDL-Cholesterin, scAT und iaAT) wurde der Korrelationskoeffizient nach Bravais-Pearson ( $r_P$ ) berechnet. In seine Bestimmung ging das arithmetische Mittel dieser Parameter ein, und lineare Zusammenhänge wurden untersucht. Analog wurde für das Plasma-OPN mit den nicht normalverteilten metrischen Variablen der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman ( $r_S$ ) ermittelt. Seine Grundlage bildeten Ränge, sodass auch nicht transformierte Messwerte herangezogen und nichtlineare monotone Zusammenhänge abgebildet werden konnten. Weiterhin wurden sämtliche metrische Variablen untereinander korreliert, um eine gegenseitige Beeinflussung (Multikollinearität) zweier Variablen zu erfassen. Durch Weglassen eines der beiden Merkmale wurden nachfolgend störende Effekte bei der Modellbildung reduziert.
3. Die bisher als mögliche Einflussfaktoren auf das Plasma-OPN identifizierten Merkmale wurden in einem nächsten Schritt als unabhängige Variablen in ein multiples lineares Regressionsmodell aufgenommen. Ebenso wurden kategorielle Merkmale hinzugefügt, deren Exposition einen Effekt auf das Plasma-OPN haben könnte. Das logarithmierte Plasma-OPN wurde als abhängige Variable festgelegt. Nach Berechnung der Methode der kleinsten Quadrate erhielt man die partiellen Regressionskoeffizienten  $\beta$ , die beschrieben, um wie viele Einheiten sich das logarithmierte Plasma-OPN im Durchschnitt verändert, wenn die jeweilige Einflussvariable um eine Einheit verändert wird, während die anderen Merkmale konstant gehalten werden (=Adjustierung). Für das gesamte Modell wurde nun ein Test durchgeführt, der prüfte, ob ein signifikanter linearer Zusammenhang zwischen der abhängigen und mindestens einer unabhängigen Variable bestand, der F-Test.

Nun fand das Verfahren der **Rückwärtselimination** bzw. Rückwärtsselektion Anwendung. Ziel war es, das Modell so weit zu verkleinern, dass mit möglichst wenigen Determinanten die Variabilität in der Verteilung des logarithmierten Plasma-OPN innerhalb der Studienpopulation gut erklärt war. Für die Ausschluss-Schwelle  $\alpha$  wurde der Wert 0,1 festgelegt. Niedrigere Werte würden dazu führen, dass Variablen zu schnell ausgeschlossen würden und somit wichtige Beiträge verloren gingen, während ein zu hoher Wert dazu führen könnte, dass das Modell zu kompliziert wird. Das Quadrat der Residuen ( $R^2$ ) und noch besser das für die Anzahl der übriggebliebenen Variablen adjustierte Quadrat der Residuen (adjustiertes  $R^2$ ) beschrieben im Sinne eines Güteparameters, welcher Prozentsatz der Variabilität des Plasma-OPN durch die Kovariaten erklärt war. Anschließend wurde der für jede unabhängige Variable ermittelte  $\beta$ -Wert mittels zweiseitigem t-Test erneut auf seinen Betrag  $\neq 0$  geprüft. Ein p-Wert unterhalb der Ausschluss-Schwelle bedeutete dabei, dass eine Variable einen signifikanten Beitrag zur Bestimmung des logarithmierten Plasma-OPN leistete, wenn die anderen Merkmale nicht veränderbar waren.

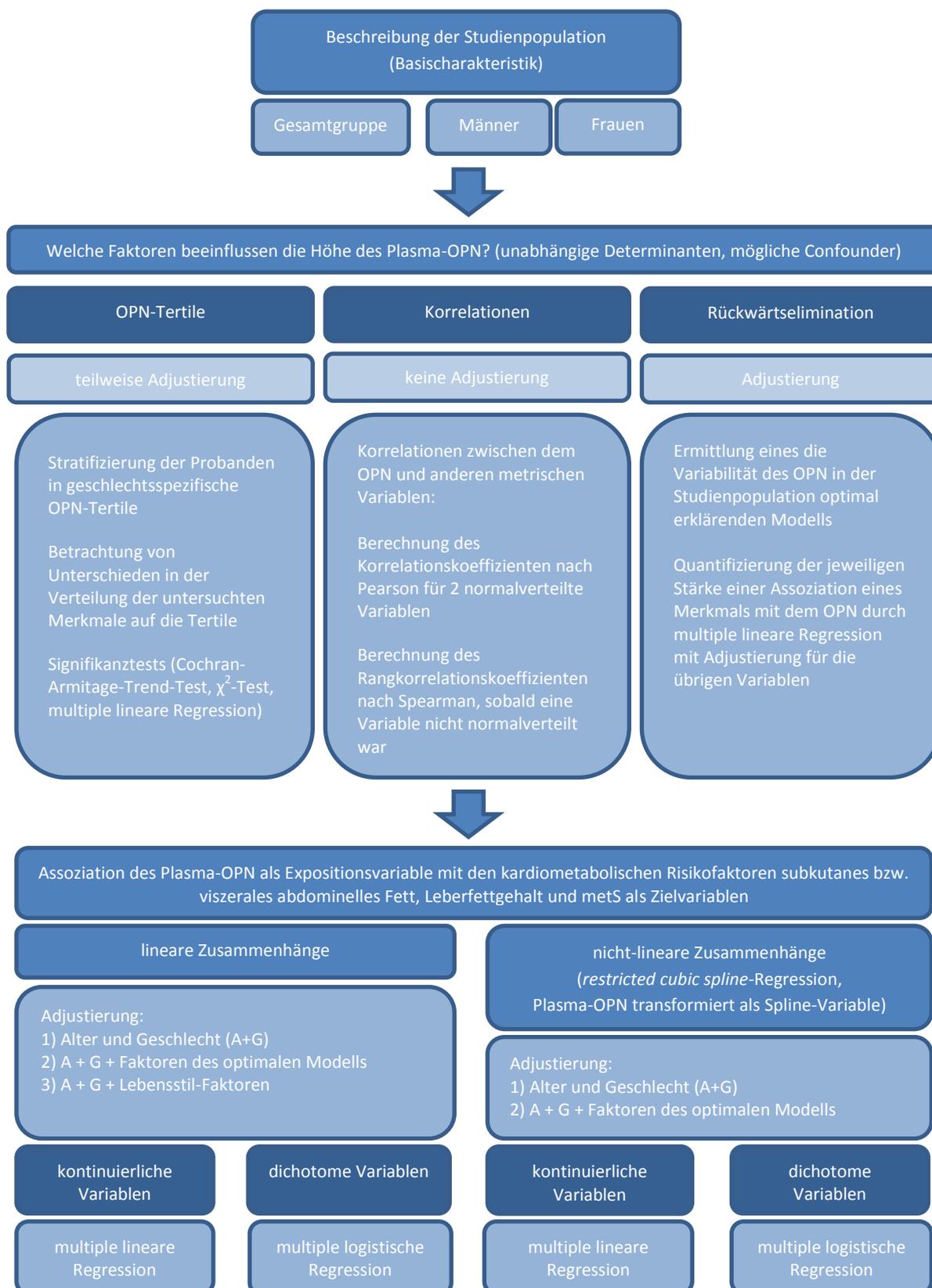
Die Variable mit dem jeweils höchsten p-Wert wurde isoliert und ausgeschlossen, sobald der p-Wert über der Ausschluss-Schwelle lag. Anschließend wurde ein neues Modell mit n-1 Variablen berechnet. Der Vorgang wiederholte sich so oft, bis ein Modell entstanden war, in dem alle berechneten p-Werte unterhalb der Ausschluss-Schwelle lagen. Die Merkmale im endgültigen Modell stellten von den anderen Parametern unabhängige Determinanten des Plasma-OPN dar, wenn ihr p-Wert unterhalb des oben genannten Signifikanzniveaus blieb.

### 2.4.3 Assoziationen des Plasma-Osteopontin mit kardiometabolischen Risikofaktoren

Der Zusammenhang des Plasma-OPN als Expositionsvariable (unabhängige Variable) mit den abhängigen bzw. Zielvariablen der subklinischen kardiometabolischen Parameter (abdominelle Fettdicken (sonographisch) bzw. -volumina (im MRT), Leberfettgehalt und metabolisches Syndrom) wurde schließlich in folgenden Analysen ermittelt:

1. In **multiplen linearen Regressionsmodellen** wurde die Assoziation des Plasma-OPN mit den einzelnen kontinuierlichen Zielvariablen untersucht. Die Stärke des Zusammenhanges wurde wieder durch den Regressionskoeffizienten  $\beta$  beschrieben. Dabei wurde in drei Modellen für verschiedene Störfaktoren adjustiert (vgl. Tabelle 15 auf Seite 55). Für das jeweilige gesamte Modell wurde wie in den Voranalysen der F-Test durchgeführt, und mittels zweiseitigem t-Test wurden die für das Plasma-OPN ermittelten partiellen Regressionskoeffizienten auf statistische Signifikanz geprüft. Ebenso wurde auch hier das für die Anzahl der Variablen im Modell adjustierte  $R^2$  angegeben, um so die einzelnen Ergebnisse untereinander vergleichbar zu machen.

2. Für die Ermittlung einer Assoziation zwischen dem Plasma-OPN und den dichotomen Variablen einer starken Leberzellverfettung bzw. eines metS kam die **multiple logistische Regression** zur Anwendung. Anders als bei der linearen Regression wurde bei diesem Auswerteverfahren eine Chance berechnet, ein Merkmal aufzuweisen, verglichen mit der Chance, dieses nicht zu haben, wenn das logarithmierte Plasma-OPN um eine Einheit anstieg, während die anderen Variablen konstant gehalten wurden. Dieses Chancenverhältnis wird als Odds Ratio (OR) bezeichnet und ist beschrieben durch die Exponentialfunktion  $e^{\beta}$ , wobei  $\beta$  wieder den jeweiligen geschätzten, nun aber logistischen Regressionskoeffizienten darstellt. Eine Adjustierung erfolgte wie bereits in der linearen Regression, sodass auch hier 3 Modelle analysiert wurden (vgl. Tabelle 15 auf Seite 55). Für die so ermittelten Odds Ratios wurde anhand der WALD-Teststatistik ein 95%-Konfidenzintervall berechnet. Eine statistische Signifikanz der ermittelten Ergebnisse wurde angezeigt, wenn das 95%-Konfidenzintervall die 1 nicht mit einschloss.
  
3. Schließlich wurde angenommen, dass der Zusammenhang zwischen dem Plasma-OPN und den abhängigen Variablen so nicht-linear wäre, dass er nicht sinnvoll in einer linearen Form zusammengefasst werden kann. Zur Testung dieser Hypothese wurde die **restricted cubic spline-Regression** angewandt. Bei jenem Verfahren der kontinuierlichen kubischen Spline-Interpolation wurde das Plasma-OPN als Spline-Variable definiert. Im Sinne einer Transformation der unabhängigen Variablen wurde der jeweilige Datensatz für die Untersuchung des Zusammenhanges zwischen dem Plasma-OPN und einer abhängigen Variablen durch 3 Knoten (10., 50. und 90. Perzentil) in 4 Teilbereiche gegliedert. Für jeden einzelnen dieser Teilbereiche wurden Polynomfunktionen dritten Grades ermittelt, die am besten an die jeweilige Datenmenge angepasst waren. Nach Zusammenführung der Einzelfunktionen erhielt man eine kontinuierliche, weiche Kurve, die zur Adjustierung für mögliche Einflussfaktoren auf den untersuchten Zusammenhang in lineare ebenso wie logistische Regressionsmodelle aufgenommen werden konnte (Croxford, 2016). Multiple lineare (abhängige metrische Variablen: abdominelle Fettdicken bzw. -volumina, Leberfettgehalt) und multiple logistische Regressionsmodelle (abhängige binäre Variablen: Leberfettgehalt, metS) wurden erneut berechnet. Adjustiert wurde für Variablen des Modell 1 und des Modell 2 (vgl. Tabelle 15 auf Seite 55), und man erhielt eine Aussage über die Gesamt-Assoziation und die nicht-lineare Assoziation. Deren statistische Signifikanz wurde mittels WALD-Statistik geprüft.



**Abbildung 5: Analyseplan** Dargestellt ist der Ablauf der statistischen Auswertung in der hier vorliegenden Untersuchung. Nach der Erstellung einer Basischarakteristik sollte zunächst untersucht werden, welche Parameter das Plasma-OPN beeinflussen und mögliche Confounder der Folgeanalysen darstellen. Als zweites Ziel der Untersuchung wurden Assoziationen des Plasma-OPN mit den kardiometabolischen Risikofaktoren abdominelles Fett (sonographisch und im MRT bestimmt), Leberfettgehalt und metabolisches Syndrom analysiert (metS). Dabei wurde der Effekt vorher identifizierter Confounder in Regressionsmodellen berücksichtigt, d.h. für diese Faktoren wurde adjustiert.

## 3 ERGEBNISSE

### 3.1 DESKRIPTIVE ANALYSEN

An der ersten Nachbeobachtung von 2010 bis 2012 nahmen insgesamt 569 Probanden teil. Bei 419 von ihnen wurde ein Ganzkörper-MRT durchgeführt, und bei 416 dieser 419 Probanden konnte auch das Plasma-OPN bestimmt werden. Weitere 3 Probanden wurden aus den Analysen ausgeschlossen, da die Messwerte des Plasma-OPN außerhalb des vorher definierten Wertebereiches lagen (vgl. Absatz 3.1.2 auf Seite 46). Auf diese Weise standen Daten von 413 Probanden zur Verfügung. Fehlten Angaben in den Fragebögen, oder konnte z.B. ein MRT aufgrund von Artefakten nicht ausgewertet werden, so reduzierte sich für einzelne Analysen die Gruppengröße.

#### 3.1.1 Basischarakteristik

Wesentliche anthropometrische Daten, Angaben über Alter und Geschlecht, soziodemographische und Lebensstilfaktoren, Laborparameter, relevante Vorerkrankungen sowie weitere kardiovaskuläre und kardiometabolische Risikofaktoren sind in Tabelle 6 auf Seite 44f. dargestellt.

Die zu untersuchende Gesamtgruppe bestand aus 238 Männern (57,63%) und 175 Frauen (42,37%) im Alter von 53 bis 82 Jahren. Das mittlere Alter betrug zum Zeitpunkt der Folgeuntersuchung 67,24 ( $\pm 7,46$ ) Jahre. Dabei waren die Frauen mit 67,99 ( $\pm 7,34$ ) Jahren im Durchschnitt nur minimal älter als die Männer mit 66,70 ( $\pm 7,52$ ) Jahren.

Betrachtet man die **anthropometrischen Daten** der Studienpopulation, so wurde sowohl für alle Probanden als auch für Frauen und Männer getrennt ein Medianwert für den BMI ermittelt, der nach der WHO-Definition im Bereich des Übergewichtes lag ( $26,81 \text{ kg/m}^2$ ). Anders gesehen waren 68,5% der Probanden übergewichtig, und immerhin fast ein Viertel aller Probanden musste gemäß WHO-Definition als adipös eingestuft werden (vgl. Absatz 1.3.3 auf Seite 13). Auch der Median für den Taillenumfang (WC) beider Geschlechter lag in dem Bereich, in dem gemäß aktueller Leitlinie kein weiteres Gewicht mehr zugenommen werden sollte (vgl. Absatz 1.3.3.2 auf Seite 17). Dabei wiesen Männer - nicht anders als erwartet - einen größeren Betrag für den Taillenumfang auf als Frauen. Bezog man den Taillenumfang auf die Körperhöhe (WHtR), so konnte wiederum in allen Gruppen derselbe Median mit einem Betrag von 0,57 ermittelt werden.

In der Übersicht der **Lebensstilfaktoren** fiel zunächst die Raucheranamnese ins Auge. Nur 8,31% aller Probanden waren aktive Raucher. Der Anteil der Frauen entsprach hier ungefähr dem der Männer. Dagegen wurde die besonders große Gruppe derer, die niemals in ihrem Leben geraucht hatten, maßgeblich durch die Frauen gebildet (108 von 185 Probanden). Gegensätzlich dazu bildeten die Männer mit 142 von insgesamt 190 Probanden den größten Anteil derjenigen, die früher einmal

geraucht hatten, heute aber kein Nikotin mehr konsumieren. Folglich ergab sich nur eine mediane Rauchdauer von 5 Jahren, und der Median zwischen den Frauen und den Männern unterschied sich stark (Median<sub>Männer</sub> = 13,50 (0,00-28,50), Median<sub>Frauen</sub> = 0,00 (0,00-11,00)). Ebenso betrug die Rauchintensität im Median nur 1,5 Packungsjahre mit einem deutlich höheren Betrag für die Männer im Vergleich zu den Frauen (Median<sub>Männer</sub> = 7,94 (0,00-30,00), Median<sub>Frauen</sub> = 0,00 (0,00-6,225)).

Geschlechtsspezifische Unterschiede bestanden auch bei der täglich konsumierten Alkoholmenge, die in der gesamten Population im Median 8,49 g betrug. Sie wurde vorwiegend durch die Verhaltensweise der Männer geprägt, deren Median mit 12,55 g deutlich höher war als der der Frauen mit 4,18 g. In beiden Gruppen überstieg der mediane Alkoholkonsum nicht die Grenzwerte des moderaten Alkoholkonsums (vgl. Absatz 2.3.2 auf Seite 28). Weiterhin waren Frauen körperlich aktiver als Männer. Dagegen unterschied sich die Ernährungsweise nicht wesentlich zwischen beiden Geschlechtern. Ein Score-Wert von im Median 4 für den modifizierten mediterranen Ernährungsindex zeigte für die gesamte Gruppe eine eher geringe Adhärenz zu einer mediterranen Ernährungsweise an.

Hinsichtlich **prävalenter Erkrankungen** bestand der größte Unterschied zwischen Männern und Frauen erwartungsgemäß bei dem Merkmal stattgehabter Myokardinfarkt (25 männliche vs. 4 weibliche Probanden). Insgesamt waren Manifestationsereignisse einer kardiovaskulären Erkrankung mit 7,06% für den Myokardinfarkt und 5,33% für den Schlaganfall jedoch selten berichtet worden. Dagegen war die Prävalenz eines DM mit 15,74% auffallend hoch. Dieser wurde bei Männern mit 18,9% noch etwas häufiger festgestellt als bei Frauen (11,43%). Ebenso auffällig in unserer Untersuchung war auch die Erhebung des aHT. Hier betrug der Median der systolischen Messwerte sowohl in der Gesamtgruppe als auch in den geschlechtsspezifischen Erhebungen bereits 140 mmHg und entsprach somit dem Grenzwert für das Vorliegen eines arteriellen Hypertonus nach ESC (vgl. Absatz 2.3.8 auf Seite 35). Weiterhin gaben 41,89% der Probanden an, sie würden Antihypertensiva einnehmen. Der Anteil der Hypertoniker machte daher in der Gesamtgruppe mit 305 Probanden bemerkenswerte 73,85% aus. Eine hohe Prävalenz von DM und aHT bedingten ebenso wie der überhöhte Taillenumfang das vermehrte Vorkommen eines metabolischen Syndroms in unserer Studienpopulation von 60,05% der Gesamtpopulation.

Bei der Betrachtung der gemessenen **Laborparameter** fiel eine Überschreitung des Medians über den Referenzbereich für die Triglyceride in allen Gruppen auf. Auch das Gesamtcholesterin war grenzgradig erhöht. Hier wiesen vor allem die Frauen überhöhte Messwerte auf. Die Lagemaße der übrigen Laborparameter befanden sich innerhalb des Referenzbereiches. Darüber hinaus war erwartungsgemäß das HDL-Cholesterin mit im Mittel 1,92 mmol/l bei den Frauen etwas höher als bei

den Männern mit 1,53 mmol/l, und bezüglich der Lebersyntheseparameter ALT, AST und  $\gamma$ -GT war ein gegensätzlicher Zusammenhang ersichtlich.

Weiterhin zeigten die **sonographischen Daten** mit 58,98% einen sehr hohen Anteil derer Probanden auf, die eine Leberstrukturverdichtung aufwiesen. Männer waren etwas häufiger betroffen. Die sonographisch bestimmten Fettdicken unterschieden sich dagegen nur intraabdominell wesentlich. Hier wurde bei den Männern mit im Mittel 62,19 mm eine etwas dickere Fettschicht gemessen als bei den Frauen mit im Mittel 47,69 mm.

Schließlich fiel auch bei der Betrachtung der **MR-Messdaten** sogleich auf, dass die Probanden, die eine Leberverfettung aufwiesen, einen Anteil von 49,62% an der Gesamtpopulation hielten. Bei dieser Messung bestand allerdings kein wesentlicher Unterschied zwischen Männern und Frauen. Darüber hinaus wurde hier ein größeres subkutanes Fettvolumen für die Frauen gemessen, während die Männer etwas mehr viszerales Fettgewebe aufwiesen.

**Tabelle 6: Basischarakteristik:** zur Definition der Variablen „an Hypertonus leidend“ und „an Diabetes erkrankt“ vgl. Absatz 2.3.8 auf Seite 35; die Variable „Krebserkrankungen“ enthält keine Probanden mit Hautkrebs (vgl. Absatz 2.3.1 auf Seite 26); Referenzbereich der Laborparameter: HbA1c < 6%; ALT < 35 U/l; AST < 35 U/l;  $\gamma$ GT < 43 U/l; CRP < 5 mg/l; Triglyceride < 0,89 mmol/l; HDL-Cholesterin 0,80-2,36 mmol/l; LDL-Cholesterin < 4,14 mmol/l; Gesamtcholesterin < 5,96 mmol/l.

	Gesamtgruppe (n = 413)	Männer (n = 238)	Frauen (n = 175)
<b>Alter (a)</b>	67,24 (7,46)	66,70 (7,52)	67,99 (7,34)
<i>anthropometrische Daten:</i>			
<b>Body mass index (kg/m<sup>2</sup>)</b>	26,81 (24,26-29,76)	26,82 (24,86 – 29,38)	26,81 (23,38 – 30,10)
<b>Body mass index - Klassen</b>			
<18,5; untergewichtig	6 (1,45%)	1 (0,42%)	5 (2,86%)
18,5 - <25; normalgewichtig	124 (30,02%)	61 (25,63%)	63 (36,00%)
25 - <30; übergewichtig	186 (45,04%)	125 (52,52%)	61 (34,86%)
≥30; adipös	97 (23,49%)	51 (21,43%)	46 (26,29%)
<b>Taillenumfang (cm)</b>	97,2 (89,1-105,1)	101,1 (94,5-108,2)	91,4 (82,5-99,7)
<b>Ratio Taillenumfang/Körperhöhe</b>	0,57 (0,52-0,62)	0,57 (0,54-0,61)	0,57 (0,51- 0,63)
<i>Lifestyle-Faktoren:</i>			
<b>Schulbildung</b>			
- Volks-/Hauptschule	149 (36,17%)	73 (30,80%)	76 (43,43%)
- mittlere Reife, Realschule	140 (33,98%)	69 (29,11%)	71 (40,57%)
- Abitur, Fachhochschul-/ Hochschulreife	123 (29,85%) (n = 412)	95 (40,08%) (n=237)	28 (16,00%) (n=175)
<b>Raucherstatus</b>			
- nie bzw. <3 Monate	185 (45,23%)	77 (32,63%)	108 (62,43%)
- früher	190 (46,45%)	142 (60,17%)	48 (27,75%)
- anhaltend	34 (8,31%) (n=409)	17 (7,2%) (n=236)	17 (9,83%) (n=173)
<b>Rauchintensität (pack years = py)</b>	1,50 (0-20,125) (n=392)	7,94 (0,00-30,00) (n=228)	0,00 (0,00-6,225) (n=164)
<b>Rauchdauer (a)</b>	5,00 (0,00-25,00) (n=392)	13,50 (0,00-28,50) (n=228)	0,00 (0,00-11,00) (n=164)
<b>täglicher Alkoholkonsum (g)</b>	8,49 (2,31-17,43)	12,55 (5,28-21,70)	4,18 (1,47-10,23)
<b>modifizierter mediterraner Ernährungsindex = mMDS (Punkte)</b>	4 (3-6)	4 (3-6)	4 (3-5)
<b>körperliche Aktivität (metabolic equivalent task hours per week = meth/w)</b>	96,79 (63,26-136,93)	85,27 (59,37-126,07)	107,12 (75,18-155,98)

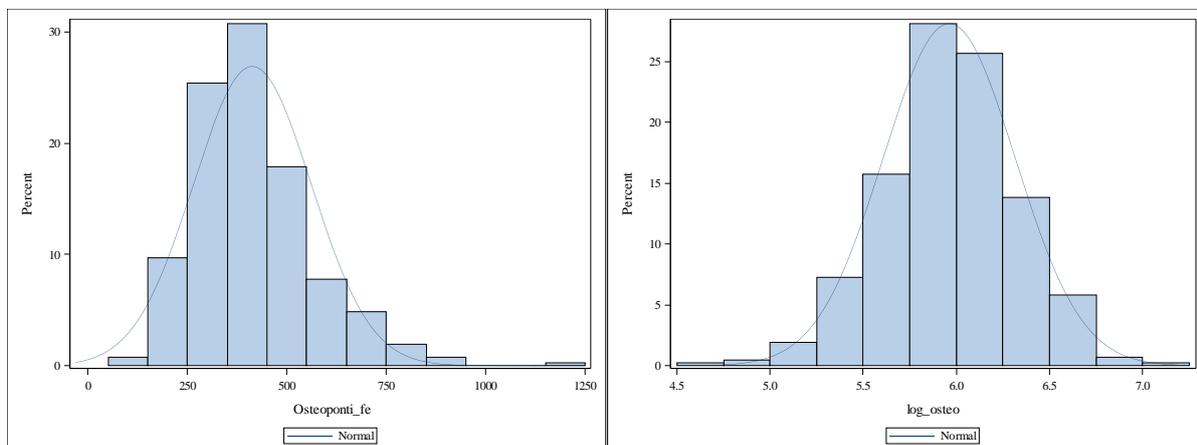
	Gesamtgruppe (n = 413)	Männer (n = 238)	Frauen (n = 175)
<i>prävalente Erkrankungen:</i>			
<b>a) Diabetes mellitus</b>			
<b>glykosyliertes Hämoglobin = HbA1c (%)</b>	5,7 (5,5-6,0) (n=410)	5,7 (5,5-6,0) (n=235)	5,8 (5,5-6,0) (n=175)
<b>an Diabetes erkrankt</b>	65 (15,74%)	45 (18,91%)	20 (11,43%)
<b>b) art. Hypertonus</b>			
<b>Blutdruck systolisch (mmHg)</b>	140,71 (18,92)	142,34 (19,16)	138,50 (18,42)
<b>Blutdruck diastolisch (mmHg)</b>	85,21 (8,55)	86,05 (8,53)	84,07 (8,47)
<b>Einnahme von Antihypertensiva an Hypertonus leidend</b>	173 (41,89%) 305 (73,85%)	94 (39,50%) 179 (75,21%)	79 (45,14%) 126 (72%)
<b>c) kardiovaskuläre Erkrankungen</b>			
<b>Z. n. Myokardinfarkt</b>	29 (7,06%) (n=411)	25 (10,55%) (n=237)	4 (2,30%) (n=174)
<b>Z. n. Schlaganfall</b>	22 (5,33%)	10 (4,20%)	12 (6,86%)
<b>Kombination aus Z. n. Myokardinfarkt und Z. n. Schlaganfall</b>	47 (11,44%) (n=411)	32 (13,50%) (n=237)	15 (8,62%) (n=174)
<b>d) übrige Erkrankungen</b>			
<b>Krebserkrankung</b>	54 (13,08%)	30 (12,61%)	24 (13,71%)
<b>vorbestehende Lebererkrankung</b>	27 (6,57%) (n=411)	17 (7,14%) (n=238)	10 (5,78%) (n=173)
<b>e) metabolisches Syndrom</b>			
<b>Osteopontin (ng/ml)</b>	386,05 (308,43-491,74)	394,19 (325,34-500,39)	380,52 (297,00-481,28)
- logarithmiert	5,96 (0,35)	5,97 (0,37)	5,94 (0,34)
<b>ALT (U/l)</b>	22 (17-30)	25 (19-33)	19 (16-26)
<b>AST (U/l)</b>	27 (22-30)	27,5 (23-31)	25 (22-29)
<b>γ-GT (U/l)</b>	27 (19-38)	30 (23-44)	21 (16-32)
<b>CRP (mg/l)</b>	1,40 (0,45-2,80) (n=412)	1,30 (0,45-2,60) (n=237)	1,50 (0,45-3,00) (n=175)
<b>Triglyceride (mmol/l)</b>	1,24 (0,91-1,69)	1,34 (0,99-1,76)	1,15 (0,87-1,50)
<b>HDL-Cholesterin (mmol/l)</b>	1,69 (0,47)	1,53 (0,39)	1,92 (0,48)
<b>LDL-Cholesterin (mmol/l)</b>	3,44 (2,80-3,99)	3,42 (2,72-3,94)	3,47 (2,80-4,07)
<b>Gesamt-Cholesterin (mmol/l)</b>	5,85 (5,20-6,63)	5,70 (5,02-6,37)	6,06 (5,34-6,92)
<i>sonographische Messungen:</i>			
<b>Fettleber im Ultraschall</b>	243 (58,98%) (n=412)	152 (64,14%) (n=237)	91 (52,00%) (n=175)
<b>sonographische Fettdicken (mm)</b>			
1. subkutan abdominell (scAT)	16,54 (5,57) (n=411)	16,82 (5,45) (n=237)	16,15 (5,72) (n=174)
2. intraabdominell (iaAT)	56,00 (18,54) (n=408)	62,19 (17,33) (n=234)	47,69 (16,82) (n=174)
3. präperitoneal (ppAT)	9,90 (6,46-13,60) - logarithmiert 2,20 (0,56) (n=412)	10,30 (7,20-13,85) (n=238)	9,20 (5,63-13,20) (n=174)
<i>MRT-Messungen:</i>			
<b>Leberfettgehalt (RSID)</b>	20,06 (15,84-26,38) - logarithmiert 3,02 (0,45) (n=395)	19,95 (15,65-25,70) 2,99 (0,45) (n=224)	20,27 (16,27-27,20) 3,06 (0,45) (n=171)
<b>Erhöhung der Signalintensität in der Leber (RSID ≥3)</b>	196 (49,62%) (n=395)	110 (49,11%) (n=224)	86 (50,29%) (n=171)
<b>Fettvolumenmessungen (dm<sup>3</sup>)</b>			
1. subkutanes abdominelles Fett (SAAT) - logarithmiert	6,01 (4,62-8,23) 1,81 (0,49)	5,60 (4,39-7,22) 1,72 (0,43)	7,58 (5,08-9,95) 1,95 (0,53)
2. subkutanes Stammfett (STRAT) - logarithmiert	8,90 (6,80-12,13) 2,19 (0,46)	8,20 (6,47-10,26) 2,10 (0,41)	10,88 (7,77-13,59) 2,32 (0,49)
3. viszerales abdominelles Fett (VAT) - logarithmiert	4,02 (2,68-5,64) 1,32 (0,58) (n=386)	4,80 (3,69-6,46) 1,54 (0,50) (n=228)	2,81 (1,98-4,15) 1,00 (0,54) (n=158)

### 3.1.2 Verteilung des Plasma-Osteopontin

Nach Elimination von Ausreißern umfasste der Wertebereich der gemessenen Osteopontinspiegel 99,11 ng/ml bis 1209,45 ng/ml. Die Intra-Assay-Variabilität betrug 2,4%, und die Inter-Assay-Variabilität lag zwischen 3,2% und 4,3%. Die aus den Standardkurven ermittelten Werte entsprachen denen der Herstellerfirma.

Der linke Graph der Abbildung 6 auf Seite 46 stellt die Verteilungskurve des Plasma-Osteopontin in der Studienpopulation dar. Es zeigte sich eine nach rechts schiefe und linksgipfelige Kurve (Schiefe = 1,08, Wölbung = 2,34). Der Kolmogorov-Smirnov-Test ( $p < 0,01$ ) und auch der Shapiro-Wilk-Test ( $p < 0,0001$ ) lehnten die  $H_0$ -Hypothese der Normalverteilung ab. Daher wurde die erhobene Datenmenge durch den Median (386,05 ng/ml), die Quartilen 1 (308,43 ng/ml) und 3 (491,74 ng/ml) und somit einen Interquartilsabstand von 183,31 ng/ml beschrieben.

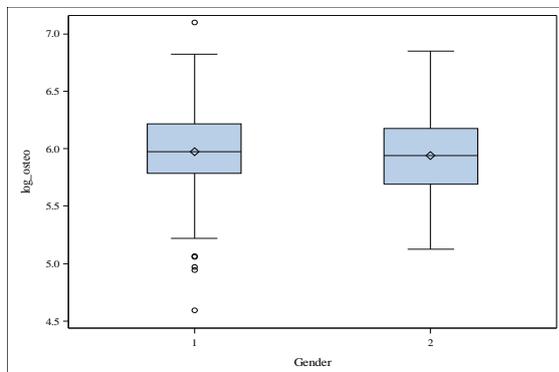
Nach logarithmischer Transformation wurde eine Normalverteilung hergestellt (vgl. rechter Graph der Abbildung 6 auf Seite 46; Beträge der Lagemaße: Mittelwert 5,96; Standardabweichung 0,35; Minimum 4,60; Maximum 7,10). Diese Aussage bestätigten sowohl die visuelle Betrachtung als auch eine Schiefe von -0,16, eine Wölbung von 0,37, der Kolmogorov-Smirnov-Test ( $p = 0,13$ ) und der Shapiro-Wilk-Test ( $p = 0,61$ ). Daher wurde in vielen Folgeberechnungen die neue Variable des `log_osteo` angewendet.



**Abbildung 6: Distribution des Plasma-OPN vor (links) und nach logarithmischer Transformation (rechts)** Auf der Abszisse sind die Messwerte für das Plasma-OPN aufgetragen, während die Ordinate die Prozentangaben der Studienteilnehmer enthält, die die jeweiligen Messwerte aufwiesen. Linksseitig ist die Verteilung der absoluten Messwerte des Plasma-OPN (`Osteoponti_fe`) innerhalb der Studienpopulation dargestellt. Der Graph ist rechtsschief und linksgipfelig, eine Normalverteilung kann nicht angenommen werden. Rechtsseitig sind die durch Bildung eines dekadischen Logarithmus transformierten Messwerte (`log_osteo`) aufgetragen. Die Verteilung kann als normal angenommen werden.

Eine nach Geschlechtern getrennte Darstellung der gemessenen und logarithmisch transformierten OPN-Werte zeigt Abbildung 7 auf Seite 47. Dieser Box-and-Whisker-Plot stellt für die Männer erwartungsgemäß sowohl einen etwas höheren Betrag für den Median als auch für Quartil 1 und 3

dar. Außerdem lässt diese Abbildung ein leicht höheres Minimum bei Männern erkennen, während das Maximum bei beiden Geschlechtern denselben Betrag markiert. Eine statistische Signifikanz dieses Zusammenhanges konnte jedoch nicht gezeigt werden, was ein p-Wert von 0,12 anzeigte.



**Abbildung 7: Geschlechtsspezifische Darstellung der logarithmierten OPN-Messwerte** Abszisse: 1=Männer, 2=Frauen; Ordinate: logarithmisch transformierte Werte des Plasma-OPN (log\_osteo).

## 3.2 KORRELATE DES PLASMA-OSTEOPONTIN

Im Folgenden sollte analysiert werden, welche in dieser Studie erhobenen Merkmale statistisch signifikant mit dem Plasma-OPN assoziiert sind. Diese Untersuchung sollte zum einen Hinweise darauf geben, welche Faktoren Einfluss auf die Verteilung des Plasma-OPN innerhalb der Studienpopulation haben. Zum anderen wurden durch diese Auswertung mögliche Confounder identifiziert, die bei der Untersuchung der Zusammenhänge zwischen dem OPN und den kardiometabolischen Parametern (u.a. Fettmessungen) in das statistische Modell mit aufgenommen werden sollten.

### 3.2.1 Verteilung der Merkmale auf Osteopontin-Tertile

Tabelle 7 auf Seite 48 stellt die Verteilung der erhobenen kardiovaskulären und kardiometabolischen Parameter auf die geschlechtsspezifischen OPN-Tertile dar. Die dort und im Folgenden angegebenen p-Werte ( $p_{\text{Trend}}$ ) entstammen den jeweiligen Signifikanz-Tests (vgl. Absatz 2.4.2 auf Seite 37).

Personen mit höherem Plasma-OPN waren statistisch signifikant älter als Probanden mit niedrigeren OPN-Messwerten ( $p=0,0402$ ). Außerdem wiesen Teilnehmer des dritten Tertils einen etwas niedrigeren BMI ( $p=0,0812$ ) und Taillenumfang ( $p=0,1407$ ) auf, waren seltener adipös ( $p=0,0597$ ), körperlich aktiver ( $p=0,0212$ ) und nahmen weniger Alkohol zu sich ( $p=0,0410$ ). Auch die Triglyceride waren im Median etwas niedriger ( $p=0,003$ ). Die Zahl der an DM erkrankten Personen nahm über die Tertile ab ( $p=0,0293$ ), und ein inverser Trend zeigte sich auch für die Lebersignalintensität ( $p=0,0070$ ) bzw. das SAAT ( $p=0,0566$ ) und STRAT ( $p=0,0698$ ). Probanden mit hohen OPN-Spiegeln wiesen niedrigere Beträge für die abdominellen und Leberfettmessungen auf. Gleichsam gaben Teilnehmer

des ersten Tertils häufiger eine vorbestehende Lebererkrankung an als Teilnehmer im zweiten oder dritten Tertil ( $p=0,2097$ ). Dagegen nahmen die mediane Rauchdauer und auch die Anzahl der Probanden mit erlittenem Myokardinfarkt über die Tertile zu. Im Hinblick auf alle anderen hier erhobenen Faktoren ließen sich keine wesentlichen Trends erkennen.

**Tabelle 7: Übersicht über die Verteilung der Merkmale auf die OPN-Tertile** Tertil 1 enthält Probanden mit niedrigen OPN-Messwerten, während Tertil 3 Personen mit hohen OPN-Beträgen beinhaltet; zur Definition der Variablen „an Hypertonus leidend“ und „an Diabetes erkrankt“ vgl. Absatz 2.3.8 auf Seite 35; die Variable „Kreislauferkrankungen“ enthält keine Probanden mit Hautkrebs (vgl. Absatz 2.3.1 auf Seite 26); zur Berechnung der p-Werte vgl. Absatz 2.4.2 auf Seite 37.

	Tertil 1 (n = 137)	Tertil 2 (n = 138)	Tertil 3 (n = 138)	p-Wert (p <sub>Trend</sub> )
<b>Osteopontin (ng/ml)</b>	268,46 (235,64-308,33)	385,93 (366,85-422,23)	544,24 (491,74-620,08)	-
- logarithmiert	5,57 (0,21)	5,97 (0,08)	6,34 (0,18)	-
<i>allgemeine Daten:</i>				
<b>Alter (a)</b>	66,34 (7,08)	67,33 (7,29)	68,06 (7,94)	<b>0,0402</b>
<b>Geschlecht</b>				0,1295
männlich	72 (52,55%)	81 (58,70%)	85 (61,59%)	
weiblich	65 (47,45%)	57 (41,30%)	53 (38,41%)	
<i>anthropometrische Daten:</i>				
<b>Body mass index (kg/m<sup>2</sup>)</b>	26,57 (24,50-30,67)	27,04 (24,74-29,62)	26,75 (23,80-29,28)	0,0812
<b>Body mass index - Klassen</b>				0,1387
<18,5; untergewichtig	1 (0,73%)	4 (2,90%)	1 (0,72%)	
18,5 - <25; normalgewichtig	40 (29,20%)	35 (25,36%)	49 (35,51%)	0,2524
25 - <30; übergewichtig	56 (40,88%)	69 (50,00%)	61 (44,20%)	0,5813
≥30; adipös	40 (29,20%)	30 (21,74%)	27 (19,57%)	0,0597
<b>Taillenumfang (cm)</b>	97,50 (89,0-105,4)	96,95 (90,60-104,80)	96,20 (88,0-105,0)	0,1407
<b>Ratio Taillenumfang/Körperhöhe</b>	0,57 (0,53-0,63)	0,57 (0,52-0,62)	0,57 (0,52- 0,60)	0,0505
<i>Lifestyle-Faktoren:</i>				
<b>Schulbildung</b>				0,8138
- Volks-/Hauptschule	50 (36,50%)	54 (39,42%)	45 (32,61%)	0,5008
- mittlere Reife, Realschule	45 (32,85%)	44 (32,12%)	51 (36,96%)	0,4708
- Abitur, Fachhochschul-/ Hochschulreife	42 (30,66%) (n = 137)	39 (28,47%) (n=137)	42 (30,43%) (n=138)	0,9687
<b>Raucherstatus</b>				0,5746
- nie bzw. <3 Monate	59 (43,38%)	65 (47,45%)	61 (44,85%)	0,8075
- früher	69 (50,74%)	58 (42,34%)	63 (46,32%)	0,4657
- anhaltend	8 (5,88%) (n=136)	14 (10,22%) (n=137)	12 (8,82%) (n=136)	0,3797
<b>Rauchintensität (pack years)</b>	1,75 (0-20,25) (n=133)	0,00 (0-19,20) (n=133)	2,75 (0-21,50) (n=126)	0,9846
<b>Rauchdauer (a)</b>	0,00 (0,00-20,00) (n=133)	2,00 (0,00-28,00) (n=133)	5,00 (0,00-25,00) (n=126)	0,9736
<b>täglicher Alkoholkonsum (g) modifizierter mediterraner Ernährungsindex (Punkte)</b>	8,31 (1,96-19,26) 4 (3-5)	9,41 (2,95-16,56) 5 (3-6)	8,06 (2,05-15,57) 4 (3-5)	<b>0,0410</b> 0,6756
<b>körperliche Aktivität (metabolic equivalent task hours/week =meth/w)</b>	104,86 (67,50-150,92)	98,66 (62,53-136,72)	88,84 (6202-125,40)	<b>0,0212</b>
<i>prävalente Erkrankungen:</i>				
<b>a) Diabetes mellitus glykosyliertes Hämoglobin = HbA1c (%)</b>	5,8 (5,5-6,1) (n=410)	5,7 (5,5-6,0) (n=235)	5,7 (5,5-6,0) (n=175)	0,1093
<b>an Diabetes erkrankt</b>	30 (21,90%)	18 (13,04%)	17 (12,32%)	<b>0,0293</b>
<b>b) art. Hypertonus</b>				
<b>Blutdruck systolisch (mmHg)</b>	141,03 (17,16)	139,43 (18,49)	141,67 (20,97)	0,8534
<b>Blutdruck diastolisch (mmHg)</b>	85,44 (8,30)	84,38 (8,25)	85,82 (9,08)	0,7330
<b>Einnahme von Antihypertensiva</b>	58 (42,34%)	58 (42,03%)	57 (41,30%)	0,8623
<b>an Hypertonus leidend</b>	109 (79,56%)	94 (68,12%)	102 (73,91%)	0,2883

	Tertil 1 (n = 137)	Tertil 2 (n = 138)	Tertil 3 (n = 138)	p-Wert
<b>c) kardiovaskuläre Erkrankungen</b>				
<b>Z. n. Myokardinfarkt</b>	6 (4,41%) (n=136)	10 (7,25%) (n=138)	13 (9,49%) (n=137)	0,1015
<b>Z. n. Schlaganfall</b>	9 (6,57%)	5 (3,62%)	8 (5,80%)	0,7773
<b>Kombination aus Z. n. Myokardinfarkt und Z. n. Schlaganfall</b>	15 (11,03%) (n=136)	15 (10,87%) (n=138)	17 (12,41%) (n=137)	0,7199
<b>d) übrige Erkrankungen</b>				
<b>Krebserkrankung</b>	16 (11,68%)	19 (13,77%)	19 (13,77%)	0,6078
<b>vorbestehende Lebererkrankung</b>	12 (8,89%) (n=135)	7 (5,07%) (n=138)	8 (5,80%) (n=138)	0,2097
<b>e) metabolisches Syndrom</b>	85 (62,04%)	81 (58,27%)	82 (59,85%)	0,7124
<i>Laborparameter:</i>				
<b>ALT (U/l)</b>	23 (18-31)	22 (16-30)	21 (17-29)	0,6872
<b>AST (U/l)</b>	27 (22-31)	26 (22-30)	27 (23-30)	0,4507
<b>γ-GT (U/l)</b>	27 (19-41)	27 (19-39)	26 (20-34)	0,2581
<b>CRP (mg/l)</b>	1,30 (0,45-2,80) (n=137)	1,50 (0,45-2,90) (n=137)	1,40 (0,45-2,20) (n=138)	0,1768
<b>Triglyceride (mmol/l)</b>	1,32 (0,95-1,86)	1,26 (0,95-1,69)	1,19 (0,89-1,50)	<b>0,0027</b>
<b>HDL-Cholesterin (mmol/l)</b>	1,73 (0,49)	1,66 (0,43)	1,69 (0,49)	0,9277
<b>LDL-Cholesterin (mmol/l)</b>	3,52 (2,72-4,04)	3,43 (2,80-3,96)	3,41 (2,85-3,96)	0,7302
<b>Gesamt-Cholesterin (mmol/l)</b>	6,03 (5,28-6,73)	5,78 (5,12-6,60)	5,80 (5,10-6,50)	0,3439
<i>sonographische Messungen:</i>				
<b>Fettleber im Ultraschall</b>	81 (59,56%) (n=136)	86 (62,32%) (n=138)	76 (55,07%) (n=138)	0,4478
<b>sonographische Fettdicken (mm)</b>				
1. subkutan abdominell (scAT)	16,58 (5,53) (n=136)	16,89 (5,55) (n=138)	16,13 (6,65) (n=137)	0,1655
2. intraabdominell (iaAT)	55,92 (19,57) (n=135)	57,03 (17,52) (n=137)	55,06 (18,58) (n=136)	0,4355
3. präperitoneal (ppAT)	10,43 (7,15-13,80)	9,71 (6,60-13,90)	9,25 (5,93-12,75)	0,1252
- logarithmiert	2,26 (0,49) (n=137)	2,22 (0,59) (n=138)	2,13 (0,60) (n=137)	<b>0,0407</b>
<i>MRT-Messungen:</i>				
<b>Leberfettgehalt (RSID)</b>	20,67 (16,97-29,30)	19,83 (15,77-24,91)	19,55 (14,61-24,11)	<b>0,0070</b>
- logarithmiert	3,10 (0,44) (n=128)	3,02 (0,48) (n=134)	2,94 (0,41) (n=133)	
<b>Erhöhung der Signalintensität in der Leber (RSID ≥3)</b>	68 (53,13%) (n=128)	69 (51,49%) (n=134)	59 (44,36%) (n=133)	0,1552
<b>MR-Fettvolumenmessungen (dm<sup>3</sup>)</b>				
1. subkutanes abdominelles Fett (SAAT) - logarithmiert	6,32 (4,81-8,87) 1,89 (0,47)	5,95 (4,62-8,60) 1,80 (0,48)	5,83 (4,39-7,84) 1,75 (0,50)	0,0566 <b>0,0253</b>
2. subkutanes Stammfett (STRAT) - logarithmiert	9,10 (7,24-12,32) 2,26 (0,44)	9,13 (6,71-12,34) 2,18 (0,45)	8,38 (6,49-11,39) 2,13 (0,47)	0,0698 <b>0,0289</b>
3. viszerale abdominelles Fett (VAT) - logarithmiert	4,13 (2,58-5,64) 1,34 (0,59) (n=130)	4,15 (2,86-5,25) 1,33 (0,54) (n=127)	3,87 (2,49-5,82) 1,29 (0,60) (n=129)	0,1384 0,1050

Insgesamt ließ die Auswertung der Verteilung der Merkmale auf die Plasma-OPN-Tertile bereits einige Zusammenhänge beobachten. Der Einfluss des Geschlechtes wurde berücksichtigt durch die Bildung geschlechtsspezifischer Tertile und auch durch die Adjustierung der Regressionsmodelle für Alter und Geschlecht. Weiteren möglichen Einflussfaktoren wurde jedoch bisher nicht Rechnung getragen. Folgeanalysen schlossen sich daher an.

## 3.2.2 Korrelationen

### 3.2.2.1 Korrelationsanalyse nach Bravais-Pearson

Tabelle 8 auf Seite 50 stellt die Korrelationskoeffizienten nach Bravais-Pearson für das logarithmierte Plasma-OPN mit allen anderen normalverteilten metrischen Variablen dar. Einzig statistisch signifikant und invers korrelierten hier die transformierten Messwerte des Leberfettgehaltes und der subkutanen MR-Fettmessungen mit dem logarithmierten Plasma-OPN. Ein positiver Trend wurde zudem zwischen dem zunehmenden Alter und steigenden OPN-Messwerten festgestellt.

**Tabelle 8: Korrelationskoeffizient nach Bravais-Pearson für das logarithmierte Plasma-OPN**

normalverteilte metrische Variablen	Korrelationskoeffizient $r_p$ nach Bravais-Pearson	p-Wert
Alter (a)	0,07388	0,1339
systolischer Blutdruckwert (mmHg)	-0,00186	0,9700
diastolischer Blutdruckwert (mmHg)	-0,02051	0,6777
HDL-Cholesterin (mmol/l)	-0,03274	0,5070
scAT (mm)	-0,02602	0,5989
iaAT (mm)	-0,02084	0,6746
logarithmiertes ppAT	-0,07465	0,1308
logarithmiertes RSID	<b>-0,13607</b>	<b>0,0068</b>
logarithmiertes SAAT	<b>-0,11743</b>	<b>0,0210</b>
logarithmiertes STRAT	<b>-0,10843</b>	<b>0,0332</b>
logarithmiertes VAT	-0,04858	0,3412

### 3.2.2.2 Rangkorrelationsanalyse nach Spearman

Die Korrelation der nicht normalverteilten metrischen Variablen dieser Untersuchung mit dem Plasma-OPN erfolgte durch die Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman ( $r_s$ ), da dieser ein Maß für sämtliche monotonen - auch nichtlinearen - Zusammenhänge darstellt. Tabelle 9 auf Seite 51 enthält die Ergebnisse dieses Analyseverfahrens.

Ersichtlich ist, dass auch hier der Leberfettgehalt statistisch signifikant mit dem Plasma-OPN korrelierte. Ein negatives Vorzeichen des Korrelationskoeffizienten zeigte dabei erneut einen inversen Zusammenhang an. Außerdem korrelierten in diesem Auswerteverfahren die Triglyceridmesswerte signifikant und invers mit dem Plasma-OPN.

Weiterhin ließen sich aus dieser Berechnung wieder einige Trends erfassen. So schien das Plasma-OPN erneut anzusteigen, wenn das Alter anstieg. Dagegen wurden geringere Beträge für das Plasma-OPN gemessen, wenn der BMI oder die körperliche Aktivität höher waren. Inverse Trends wurden außerdem für das Plasma-OPN mit den abdominellen Fettmessungen beobachtet, und auch der HbA1c schien invers mit dem hier untersuchten Biomarker in Verbindung zu stehen.

Tabelle 9: Korrelationskoeffizient nach Spearman für das Plasma-OPN

metrische Variable	Korrelationskoeffizient nach Spearman	p-Wert
Alter (a)	0,09290	0,0593
Taillenumfang (cm)	-0,03458	0,4835
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	-0,06120	0,2146
Ratio Taillenumfang/Hüftumfang	-0,05432	0,2707
Rauchintensität (pack years)	0,01511	0,7656
Rauchdauer (a)	0,01982	0,6956
täglicher Alkoholgenuss (g)	-0,04461	0,3659
körperliche Aktivität (meth/w)	-0,07290	0,1391
modifizierter mediterraner Ernährungsindex	-0,04906	0,3200
glykosyliertes Hämoglobin =HbA1c (%)	-0,08886	0,0723
systolischer Blutdruckwert (mmHg)	-0,02612	0,5966
diastolischer Blutdruckwert (mmHg)	-0,01423	0,7731
Triglyceride (mmol/l)	-0,13726	<b>0,0052</b>
Gesamtcholesterin (mmol/l)	-0,05037	0,3071
LDL-Cholesterin (mmol/l)	-0,00163	0,9737
HDL-Cholesterin (mmol/l)	-0,02255	0,6478
ALT (U/l)	-0,06977	0,1570
AST (U/l)	-0,07519	0,1271
γ-GT (U/l)	-0,04265	0,3873
CRP (mg/l)	0,03533	0,4745
scAT (mm)	-0,03406	0,4911
iaAT (mm)	0,00205	0,9670
ppAT (mm)	-0,07581	0,1244
SAAT (dm <sup>3</sup> )	-0,08598	0,0916
STRAT (dm <sup>3</sup> )	-0,08390	0,0998
VAT (dm <sup>3</sup> )	-0,02401	0,6381
RSID	-0,12203	<b>0,0152</b>

### 3.2.2.3 Prüfung auf Multikollinearität

Korrelationsanalysen aller metrischen Variablen untereinander schlossen sich an. So wurden die in dieser Untersuchung betrachteten Variablen auf Multikollinearität und somit eine mögliche gegenseitige Beeinflussung geprüft.

Für normalverteilte metrische Variablen wurden wieder die Korrelationskoeffizienten nach Bravais-Pearson bestimmt. Eine Multikollinearität bestand erwartet für den Zusammenhang zwischen dem systolischen und dem diastolischen Blutdruckwert ( $r_p=0,68846$ ,  $p<0,0001$ ). Ebenso gut und gut erklärbar über dasselbe gemessene Fettkompartiment korrelierten das logarithmierte VAT und das iaAT ( $r_p=0,75086$ ,  $p<0,0001$ ). Schließlich zeigte sich dieser Sachverhalt zwischen dem SAAT und dem STRAT ( $r_p=0,99255$ ,  $p<0,0001$ ), was durch das Vermessen des abdominellen Subkutangewebes in beiden Variablen begründet ist.

Für alle nicht normalverteilten Variablen erfolgte die Bestimmung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman. Erwartungsgemäß wurde ein starker Zusammenhang zwischen Rauchdauer und Rauchintensität beobachtet ( $r_s=0,94587$ ,  $p<0,0001$ ). Ebenfalls nicht anders als erwartet korrelierten das Gesamtcholesterin und das LDL-Cholesterin gut miteinander ( $r_s=0,90546$ ,  $p<0,0001$ ), die übrigen Blutfettwert-Variablenpaare wiesen aber keine besonders hohen Beträge für  $r_s$  auf.

Außerdem bestand eine starke Korrelation zwischen dem Taillenumfang (WC) und dem BMI ( $r_s=0,82379$ ,  $p<0,0001$ ), dem BMI und der WHtR ( $r_s=0,89580$ ,  $p<0,0001$ ) sowie dem Taillenumfang und der WHtR ( $r_s=0,87606$ ,  $p<0,0001$ ). Darüber hinaus korrelierten die BMI-Werte gut mit dem SAAT ( $r_s=0,80530$ ,  $p<0,0001$ ), STRAT ( $r_s=0,81361$ ,  $p<0,0001$ ) und VAT ( $r_s=0,69596$ ,  $p<0,0001$ ). Daher konnten Zusammenhänge auch zwischen dem Taillenumfang und dem SAAT ( $r_s=0,63562$ ,  $p<0,0001$ ), STRAT ( $r_s=0,63903$ ,  $p<0,0001$ ) und VAT ( $r_s=0,84568$ ,  $p<0,0001$ ) sowie zwischen der WHtR und dem SAAT ( $r_s=0,75408$ ,  $p<0,0001$ ), STRAT ( $r_s=0,76922$ ,  $p<0,0001$ ) und VAT ( $r_s=0,70771$ ,  $p<0,0001$ ) beobachtet werden. Bemerkenswerterweise korrelierten in unserer Untersuchung der BMI und die WHtR besser mit dem subkutanen Fett und der Taillenumfang besser mit dem viszeralen Fett.

Ein besonders starker Zusammenhang bestand zusätzlich zwischen dem SAAT und dem STRAT ( $r_s=0,99093$ ,  $p<0,0001$ ), was durch das gemeinsame Fettkompartiment des Subkutangewebes gut erklärt werden kann. VAT wies dagegen weder mit SAAT noch mit STRAT einen besonders hohen Betrag für den Korrelationskoeffizienten auf. Bei den sonographischen Fettdickenbestimmungen bestanden bis auf die Variablenpaare Taillenumfang / iaAT ( $r_s=0,70867$ ,  $p<0,0001$ ) und VAT / iaAT ( $r_s=0,81007$ ,  $p<0,0001$ ) keine so starken Zusammenhänge wie bei den MR-Daten, ihr p-Wert beschrieb dennoch eine statistische Signifikanz. Zur besseren Übersicht stellt die Tabelle 10 auf Seite 52 die letztgenannten Zusammenhänge zwischen den anthropometrischen Merkmalen und den Körperfettmessungen noch einmal aufgelistet dar.

**Tabelle 10: Darstellung der Korrelation ( $r_s$ ) der anthropometrischen und Körperfettvariablen untereinander ( $p < 0,0001$ )**

	BMI	WC	WHtR	SAAT	STRAT	VAT	scAT	iaAT	ppAT
BMI	<b>1</b>	0,82379	0,89580	0,80530	0,81361	0,69596	0,41779	0,55921	0,45824
WC	0,82379	<b>1</b>	0,87606	0,63562	0,63903	0,84568	0,39592	0,70867	0,47035
WHtR	0,89580	0,87606	<b>1</b>	0,75408	0,76922	0,70771	0,39008	0,60162	0,42995
SAAT	0,80530	0,63562	0,75408	<b>1</b>	0,99093	0,48556	0,55271	0,33578	0,49374
STRAT	0,81361	0,63903	0,76922	0,99093	<b>1</b>	0,49177	0,53851	0,34548	0,48650
VAT	0,69596	0,84568	0,70771	0,48556	0,49177	<b>1</b>	0,31483	0,81007	0,48328
scAT	0,41779	0,39592	0,39008	0,55271	0,53851	0,31483	<b>1</b>	0,22825	0,40112
iaAT	0,55921	0,70867	0,60162	0,33578	0,34548	0,81007	0,22825	<b>1</b>	0,37926
ppAT	0,45824	0,47035	0,42995	0,49374	0,48650	0,48328	0,40112	0,37926	<b>1</b>

### 3.2.3 Rückwärtseliminationsverfahren

Nun wurden alle bisher identifizierten und weitere mögliche Einflussfaktoren auf das Plasma-OPN in ein multiples lineares Regressionsmodell aufgenommen. Zu jenen gehörten Alter und Geschlecht, für die bereits ein Trend beobachtet wurde. Als anthropometrisches Maß wurde zunächst der BMI gewählt. Darüber hinaus wurden verschiedene Lebensstil-Faktoren eingeschlossen: aktive und Ex-

Raucher, Rauchintensität, Schulbildungsformen (mittlere Reife und Abitur), die täglich konsumierte Alkoholmenge und die körperliche Aktivität. Weiterhin umfasste das Modell den HbA1c, den systolischen Blutdruckwert und die Angabe von Antihypertensiva. Schließlich fanden die Laborparameter HDL-Cholesterin, Triglyceride und CRP sowie der Leberfettgehalt Einzug in dieses Modell, das insgesamt 17 Variablen enthielt. Ein vollständiger Datensatz konnte für 372 der 413 Probanden ausgewertet werden. Nach Berechnung der multiplen linearen Regression betrug das  $R^2$  0,0876, d.h. 8,76% der Variabilität des logarithmierten Plasma-OPN wurde durch die in diesem Modell eingeschlossenen Merkmale bedingt. Der p-Wert des F-Tests betrug 0,0108.

Die Prozedur der Rückwärtselimination fand statt (vgl. Absatz 2.4.2 auf Seite 37). Tabelle 11 auf Seite 53 zeigt die Reihenfolge der eliminierten Variablen, deren jeweiligen p-Wert und das anschließend verbleibende  $R^2$ . Tabelle 12 auf Seite 53 stellt das optimierte Modell für die Vorhersage des logarithmierten Plasma-OPN nach Abschluss dieses Verfahrens dar. Das endgültige Modell wies einen p-Wert von 0,0003 mittels F-Test und ein  $R^2$  von 0,0759 (respective 7,59%) auf. Für jeden partiellen Regressionskoeffizienten wurde in diesem Modell zusätzlich ein Standardfehler geschätzt.

**Tabelle 11: Rückwärtseliminationsschritte Modell 1**

Schritt	ausgeschlossene Variable	p-Wert	verbleibendes $R^2$
1	Schulbildung: Abitur	0,9928	0,0876
2	Einnahme von Antihypertensiva	0,9171	0,0876
3	aktive Raucher	0,7705	0,0874
4	systolischer Blutdruckwert	0,7382	0,0871
5	Schulbildung: mittlere Reife	0,7039	0,0867
6	Geschlecht	0,6851	0,0863
7	HbA1c	0,4467	0,0848
8	tägliche Alkoholmenge	0,2206	0,0810
9	CRP	0,1571	<b>0,0759</b>

**Tabelle 12: Optimiertes Regressionsmodell 1 für die Zielvariable logarithmiertes Plasma-OPN**

Variable	$\beta$	Standardfehler	p-Wert
Alter	0,00400	0,00234	0,0884
Ex-Raucher	-0,08441	0,03970	<b>0,0341</b>
Rauchintensität	0,00142	0,00075	0,0588
BMI	-0,00910	0,00470	0,0535
Leberfettgehalt	-0,07352	0,04284	0,0870
HDL-Cholesterin	-0,09826	0,04627	<b>0,0344</b>
Triglyceride	-0,05669	0,02334	<b>0,0156</b>
körperliche Aktivität	-0,00053	0,00030	0,0770

Aus dieser Berechnung wurde erneut ersichtlich, dass ein inverser und statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den Triglyceriden und dem logarithmierten Plasma-OPN besteht. Dieser war unabhängig von sämtlichen im Modell befindlichen Parametern. Außerdem wurden das HDL-Cholesterin (invers) und der beendete Nikotinkonsum (invers) als unabhängige Determinanten des logarithmierten Plasma-OPN herausgearbeitet.

Dieselbe Modellrechnung erfolgte noch einmal, indem der BMI durch die Ratio Taillenumfang zu Körperhöhe ersetzt wurde, die etwas besser die abdominelle Adipositas beschreibt (vgl. Absatz 1.3.3.2 auf Seite 17). Auch hier standen für 372 der 413 Probanden sämtliche erforderlichen Daten zur Verfügung. Nach multipler linearer Regression des vollständigen Modells wies das  $R^2$  jedoch einen etwas reduzierten Betrag von 0,0780 auf. In der Folge erklärte das endgültige Modell auch nur 5,98% der Variabilität des Plasma-OPN. Die Ratio Taillenumfang zu Körperhöhe wurde eliminiert, und nur 6 der 17 Parameter verblieben im endgültigen Modell. Daher wurde nicht dieses, sondern das zuerst vorgestellte Modell für die weiteren Auswertungen angewandt. Eliminationsschritte und optimiertes Modell sind in Tabelle 13 auf Seite 54 und Tabelle 14 auf Seite 54 ersichtlich.

Der inverse Zusammenhang zwischen dem Plasma-OPN und den Triglyceriden bzw. dem Ex-Raucher-Status bestätigte sich. Außerdem wurde der im Modell 1 beschriebene Trend der Erniedrigung des Plasma-OPN bei Erhöhung der Lebersignalintensität statistisch signifikant.

**Tabelle 13: Rückwärtseliminationsschritte Modell 2**

Schritt	ausgeschlossene Variable	p-Wert	verbleibendes $R^2$
1	systolischer Blutdruckwert	0,9774	0,0780
2	aktive Raucher	0,9639	0,0780
3	Ratio Taillenumfang/Körperhöhe	0,8442	0,0779
4	Schulbildung: Abitur	0,7540	0,0776
5	Schulbildung: mittlere Reife	0,7847	0,0775
6	Einnahme von Antihypertensiva	0,6441	0,0769
7	Geschlecht	0,4646	0,0755
8	HbA1c	0,3311	0,0731
9	CRP	0,2447	0,0696
10	tägliche Alkoholmenge	0,2575	0,0663
11	Alter	0,1121	0,0598

**Tabelle 14: Optimiertes Regressionsmodell 2 für die Zielvariable logarithmiertes Plasma-OPN**

Variable	$\beta$	Standard Error	p-Wert
Ex-Raucher	-0,09121	0,03982	<b>0,0341</b>
Rauchintensität	0,00144	0,00075	0,0563
Leberfettgehalt	-0,09790	0,04125	<b>0,0181</b>
HDL-Cholesterin	-0,07533	0,04475	0,0932
Triglyceride	-0,05816	0,02347	<b>0,0137</b>
körperliche Aktivität	-0,00051	0,00030	0,0946

### 3.3 ASSOZIATIONEN DES PLASMA-OSTEOPONTIN MIT KARDIOMETABOLISCHEN RISIKOFAKTOREN

Die Analyse der Zusammenhänge zwischen dem zirkulierenden OPN im Blutplasma als unabhängige Variable und den kardiometabolischen Parametern Leberfettgehalt und abdominelle Fettdicken bzw. –volumina als abhängige Variablen erfolgte für die kontinuierlichen Parameter RSID, SAAT, STRAT, VAT, ppAT, iaAT und scAT mit Hilfe der linearen Regression. Assoziationen des Plasma-OPN mit kategoriellen Merkmalen (erhöhter Leberfettgehalt, metabolisches Syndrom) wurden durch die

logistische Regression untersucht. Die Überprüfung auf nicht-lineare Zusammenhänge erfolgte in *restricted cubic spline*-Analysen.

In drei verschiedenen Modellen wurde für alle bisher als wesentlich erfassten möglichen Störfaktoren (Confounder) adjustiert (vgl. Tabelle 15 auf Seite 55). Dabei umfasste das Modell 1 einzig Alter und Geschlecht zusätzlich zum Plasma-OPN und der abhängigen Variablen. Das Modell 2 beinhaltete darüber hinaus die auf das Plasma-OPN Einfluss nehmenden Parameter, die aus der Rückwärtselimination identifiziert worden waren. Das Modell 3 setzte sich schließlich aus diversen Lebensstilfaktoren zusammen, da auf der einen Seite einige von ihnen mit dem Plasma-OPN assoziiert waren und auf der anderen Seite kardiometabolische Faktoren von der Lebensweise der Probanden möglicherweise beeinträchtigt waren.

**Tabelle 15: Übersicht über die unabhängigen Variablen der multivariaten Regressionsmodelle, für die in den verschiedenen Modellen adjustiert wurde** Abhängige Variablen sind die kardiometabolischen Parameter Leberfettgehalt, abdominelle Fettdicken bzw. –volumina und das metabolische Syndrom.

Modell 1	Modell 2	Modell 3
	Faktoren der Rückwärtselimination	modifizierbare Lebensstilfaktoren
(logarithmiertes) Plasma-OPN	(logarithmiertes) Plasma-OPN	(logarithmiertes) Plasma-OPN
Alter Geschlecht	Alter Geschlecht	Alter Geschlecht
	Raucherstatus (Ex-, aktive Raucher) Rauchintensität (pack years) körperliche Aktivität	Raucherstatus (Ex-, aktive Raucher) Rauchintensität (pack years) körperliche Aktivität
	HDL-Cholesterin Triglyceride (TG) Leberfettgehalt (RSID) Body Mass Index (BMI)	tägliche Alkoholmenge Schulabschlüsse (mittlere Reife, Abitur)

### 3.3.1 Assoziationen mit den abdominalen Fettmessungen

Die Ergebnisse der multiplen linearen Regressionsmodelle, die Zusammenhänge zwischen dem Plasma-OPN als unabhängige Variable und den Zielvariablen der abdominalen Fettdicken bzw. –volumina untersuchten, zeigt Tabelle 16 auf Seite 56 auf.

Zu erkennen ist, dass die sonographisch bestimmten Fettdicken in keiner der durchgeführten Analysen statistisch signifikant mit dem Plasma-OPN assoziiert waren. Diese Ergebnisse sind kongruent zu den Erkenntnissen aus den Korrelationsanalysen und den OPN-Tertilen.

Für die mittels Ganzkörper-MRT ermittelten Fettvolumina konnten statistisch signifikante lineare Assoziationen für das logarithmierte Plasma-OPN mit dem logarithmierten SAAT und dem

logarithmierten STRAT im ersten und dritten Modell herausgearbeitet werden. Die Regressionskoeffizienten waren negativ, was einen inversen Zusammenhang anzeigte. Beispielsweise bedeutete für das SAAT ein  $\beta$  von -0,15328 in Modell 1, dass in unserer Studienpopulation eine Zunahme des logarithmierten Plasma-OPN um eine Einheit mit einer Abnahme des logarithmierten SAAT um 0,15328 Einheiten einherging, wenn die weiteren im Modell erfassten Merkmale (Alter, Geschlecht) konstant gehalten wurden. Im Modell 3 zeigte ein adjustiertes  $R^2$  von 0,1319 für das SAAT bzw. 0,1390 für das STRAT an, dass 13,19% bzw. 13,90% der Variabilität des logarithmierten SAAT bzw. STRAT durch das logarithmierte Plasma-OPN und die anderen im Modell erfassten Parameter erklärt wurde.

Eine mögliche Erklärung dafür, dass das Modell 2 kein statistisch signifikantes Ergebnis erbrachte, bot die Multikollinearität, denn das zweite Modell enthielt den Parameter des BMI, der, wie vorab beschrieben, besonders gut mit den subkutanen abdominellen Fettvolumina korrelierte und somit möglicherweise die Modellbildung störte (vgl. Absatz 3.2.2.3 auf Seite 51).

**Tabelle 16: Ergebnisse der multiplen linearen Regression für das Plasma-OPN als Einflussvariable auf die abdominellen Fettmessungen** n beschreibt die Anzahl der Probanden, für die ein vollständiger Datensatz analysiert werden konnte; adjustiert für Faktoren der Modelle 1, 2 und 3; Angabe von partiellen Regressionskoeffizienten ( $\beta$ ), Standardfehler-Werten (SE), p-Werten (vgl. Absatz 2.4.3 auf Seite 39) und adjustiertem  $R^2$  für das logarithmierte Plasma-OPN; für die p-Wert-Berechnungen vgl. Absatz 2.4.3 auf Seite 39

abhängige Variable	Modell 1				Modell 2				Modell 3			
	n	$\beta$	SE	adj. $R^2$	n	$\beta$	SE	adj. $R^2$	n	$\beta$	SE	adj. $R^2$
scAT	411	$\beta$	-0,46743		375	$\beta$	-0,00088		391	$\beta$	-0,56601	
		SE	0,78138			SE	0,77959			SE	0,81143	
		p-Wert	0,5500			p-Wert	0,9991			p-Wert	0,4859	
		adj. $R^2$	-0,0029			adj. $R^2$	0,1846			adj. $R^2$	0,0262	
iaAT	408	$\beta$	-2,62490		373	$\beta$	1,78022		388	$\beta$	-2,36132	
		SE	2,38537			SE	2,00136			SE	2,45569	
		p-Wert	0,2718			p-Wert	0,3743			p-Wert	0,3369	
		adj. $R^2$	0,1594			adj. $R^2$	0,4843			adj. $R^2$	0,1868	
ppAT (logarithmiert)	412	$\beta$	-0,11851		376	$\beta$	-0,04200		392	$\beta$	-0,10760	
		SE	0,07805			SE	0,07647			SE	0,08101	
		p-Wert	0,1297			p-Wert	0,5832			p-Wert	0,1849	
		adj. $R^2$	0,0159			adj. $R^2$	0,2263			adj. $R^2$	0,0458	
SAAT (logarithmiert)	386	$\beta$	-0,15328		352	$\beta$	-0,02307		367	$\beta$	-0,16194	
		SE	0,06751			SE	0,03773			SE	0,06728	
		p-Wert	<b>0,0237</b>			p-Wert	0,5413			p-Wert	<b>0,0166</b>	
		adj. $R^2$	0,0601			adj. $R^2$	0,7404			adj. $R^2$	0,1319	
STRAT (logarithmiert)	386	$\beta$	-0,13308		352	$\beta$	-0,01296		367	$\beta$	-0,14152	
		SE	0,06312			SE	0,03421			SE	0,06262	
		p-Wert	<b>0,0356</b>			p-Wert	0,7051			p-Wert	<b>0,0244</b>	
		adj. $R^2$	0,0620			adj. $R^2$	0,7551			adj. $R^2$	0,1390	
VAT (logarithmiert)	386	$\beta$	-0,11582		352	$\beta$	0,04530		367	$\beta$	-0,11328	
		SE	0,07299			SE	0,05049			SE	0,07230	
		p-Wert	0,1134			p-Wert	0,3702			p-Wert	0,1181	
		adj. $R^2$	0,2189			adj. $R^2$	0,6739			adj. $R^2$	0,2892	

Da inverse Zusammenhänge nicht den erwarteten Ergebnissen entsprachen, wurde angenommen, dass die Assoziationen möglicherweise durch lineare Analysen nicht adäquat beschrieben wurden.

Daher folgten Auswertungen, die auf lineare sowie nicht-lineare Zusammenhänge untersuchten, die *restricted cubic spline*-Regressionen. Hier persistierten die zuvor beobachteten Assoziationen nicht. Auch die Tests auf Nicht-Linearität zeigten keine signifikanten Ergebnisse auf (vgl. Tabelle 20 auf Seite 96 und Tabelle 21 auf Seite 97). In der vorliegenden Studienpopulation war folglich nicht von einem Zusammenhang zwischen den abdominellen Fettmessungen und dem Plasma-OPN auszugehen.

### 3.3.2 Assoziationen mit dem Leberfettgehalt

Tabelle 17 auf Seite 57 gibt eine Übersicht über die Ergebnisse der linearen und logistischen Untersuchung der Zusammenhänge zwischen dem Biomarker Plasma-OPN und dem Leberfettgehalt. Sie enthält also sowohl die Betrachtungen der kontinuierlichen Variable des Leberfettgehaltes (RSID) als auch die des binären Merkmals (Leberfettgehalt  $\geq 3$  erfüllt oder nicht, RSID-Kategorie).

**Tabelle 17: Ergebnisse der multiplen linearen und multiplen logistischen Regression für das Plasma-OPN als Einflussvariable auf den Leberfettgehalt** n beschreibt die Anzahl der Probanden, für die ein vollständiger Datensatz analysiert wurde; adjustiert für Faktoren der Modelle 1, 2 und 3 (vgl. Tabelle 15 auf Seite 55); multiple lineare Regression: Angabe von partiellen Regressionskoeffizienten ( $\beta$ ), Standardfehler-Werten (SE), p-Werten und adjustiertem  $R^2$  für das logarithmierte Plasma-OPN; multiple logistische Regression: Angabe von Odds Ratios (OR), 95%-Konfidenzintervallen (95%KI) und p-Werten für das logarithmierte Plasma-OPN; für die p-Wert-Berechnungen vgl. Absatz 2.4.3 auf Seite 39.

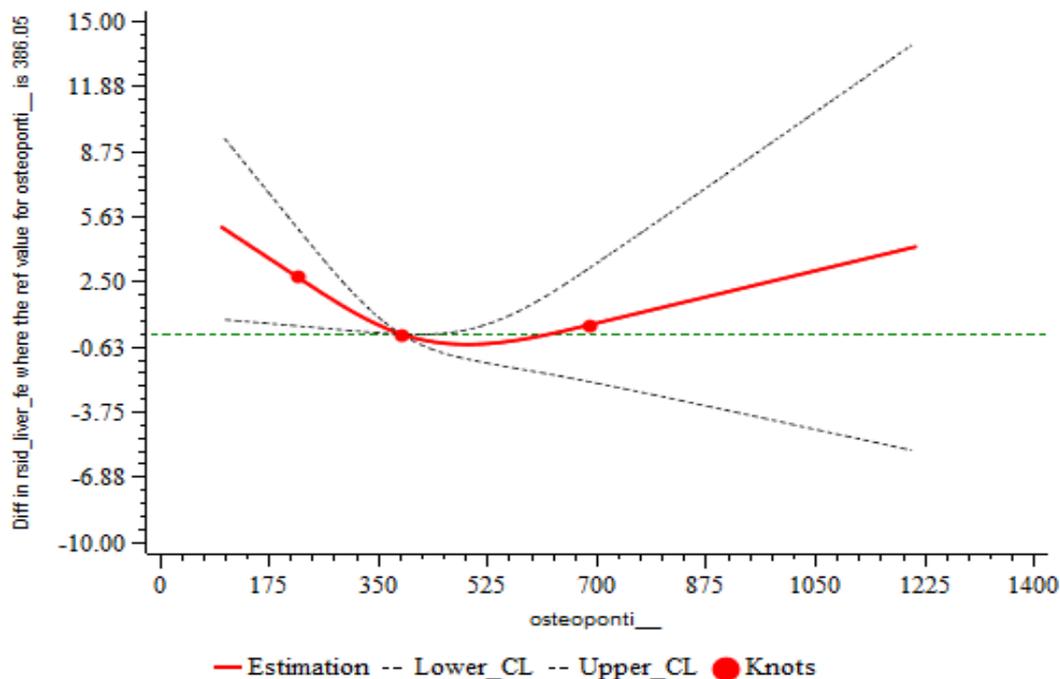
abhängige Variable	n	Modell 1		Modell 2		Modell 3			
		n		n		n			
<i>multiple lineare Regression</i>									
RSID (logarithmiert)	395	$\beta$	-0,17219	376	$\beta$	-0,11190	376	$\beta$	-0,17311
		SE	0,06463		SE	0,06305		SE	0,06655
		p-Wert	<b>0,0080</b>		p-Wert	0,0768		p-Wert	<b>0,0097</b>
		adj. $R^2$	0,0167		adj. $R^2$	0,1646		adj. $R^2$	0,0416
<i>multiple logistische Regression</i>									
RSID-Kategorie	395	OR	0,757	376	OR	0,806	376	OR	0,680
		95%KI	0,427-1,341		95%KI	0,423-1,537		95%KI	0,369-1,255
		p-Wert	0,3398		p-Wert	0,5230		p-Wert	0,2175

Aus der multiplen linearen Regression ging hervor, dass das logarithmierte Plasma-OPN statistisch signifikant mit dem Leberfettgehalt assoziiert war, wenn für Faktoren der Modelle 1 und 3 adjustiert wurde. Im Modell 2 wurde das Signifikanzniveau gerade eben verfehlt ( $p=0,0768$ ), am ehesten wieder begründet durch die Multikollinearität, die in diesem Falle bedingt war durch die gute Korrelation des Leberfettgehaltes nicht nur mit dem BMI ( $r_s=0,36$ ,  $p\text{-Wert}<0,0001$ ), sondern auch mit den Triglyceriden ( $r_s=0,30$ ,  $p\text{-Wert}<0,0001$ ). Negative Regressionskoeffizienten zeigten auch hier eine inverse Beziehung an. Die Berechnungen bestätigten die Beobachtungen aus der Verteilung des Leberfettgehaltes über die Tertile und auch aus den Korrelationsanalysen. Das adjustierte  $R^2$  wies jedoch mit 0,0167 bzw. 0,0416 nur geringe Beträge auf, was auf nicht sehr gut angepasste Modelle hindeutete.

Für die kategorielle Darstellung des Leberfettgehaltes ergaben sich wie zuvor in der Betrachtung über die Tertile keine statistisch signifikanten Assoziationen mit dem Plasma-OPN. Zwar wiesen die ermittelten Odds Ratios der hier angewandten multiplen logistischen Regression einen Betrag unter 1 auf, einem inversen Zusammenhang entsprechend, aber die 95%-Konfidenzintervalle umschlossen die 1, sodass eine statistische Signifikanz nicht nachgewiesen werden konnte.

Da inverse Zusammenhänge erneut nicht den erwarteten Ergebnissen entsprachen, wurden analog zu den abdominellen Fettmessungen wieder *restricted cubic spline*-Regressionen berechnet (vgl. Tabelle 22 und Tabelle 23 auf Seite 98).

Während für die kategorielle Variable des Leberfettgehaltes auch bei dieser Auswertemethode kein wesentlicher Zusammenhang erkennbar war, konnte die Form der Assoziation zwischen dem Plasma-OPN und dem Leberfettgehalt als kontinuierlichem Parameter auf diese Weise näher spezifiziert werden (vgl. Abbildung 8 auf Seite 58).



**Abbildung 8: Graphische Darstellung der Assoziation des Plasma-OPN mit dem Leberfettgehalt, ermittelt durch die *restricted cubic spline*-Analyse im multivariaten Modell (Modell 2):** Auf der Abszisse ist das Plasma-OPN (osteoponti\_fe) als Expositionsvariable dargestellt. Auf der Ordinate ist die Zielvariable, der Leberfettgehalt (rsid\_liver\_fe) aufgetragen, wobei zur besseren Darstellung der Dosisabhängigkeit der Assoziation für einen Probanden nicht der absolute Wert, sondern der Abstand des ermittelten Leberfettgehaltes von dem für den Median des Plasma-OPN ermittelten Wert des Leberfettgehaltes aufgetragen ist. Zusätzlich sind die 3 Knoten (10., 50. und 90. Perzentil) und die 4 Abschnitte der Kurve dargestellt sowie die 95%-Konfidenzintervalle (CL) abgebildet. Die grüne Linie markiert den Nullwert der Ordinate. p-Wert *overall association* = 0,0717, p-Wert *non-linearity* = 0,0578.

Trug man in einem Diagramm das Plasma-OPN als Spline-Variable auf der Abszisse und den Leberfettgehalt (dargestellt als Abstand des tatsächlichen Messwertes von dem Messwert für den Leberfettgehalt, der dem medianen Plasma-OPN zugeordnet wurde) auf der Ordinate auf, so zeigte sich graphisch eine J-förmige Kurve. Höhere und auch besonders niedrige Plasma-OPN-Werte standen in unserer Studienpopulation in Beziehung zu einem höheren Leberfettgehalt. Nach Adjustierung für alle in der vorliegenden Untersuchung identifizierten Störfaktoren (Modell 2) war dieser Zusammenhang annähernd statistisch signifikant, was ein p-Wert von 0,0578 für das Vorliegen eines nichtlinearen Zusammenhanges (WALD *p for non-linearity*) anzeigte. Auch die Gesamtassoziation war grenzgradig statistisch signifikant (WALD *p for overall association* = 0,0717). Anzunehmen ist, dass zum einen wieder die oben beschriebene Multikollinearität das multivariate Modell gestört hatte und zum anderen die statistische Signifikanz gerade eben verfehlt wurde durch die reduzierte Anzahl der vollständigen Datensätze ( $n = 376$ ). Die Konsistenz der Assoziation über sämtliche Analysemethoden legte dennoch einen bestehenden Zusammenhang zwischen dem Plasma-OPN und dem Leberfettgehalt nahe, der gemäß letztem Analyseschritt am ehesten als j-förmig anzusehen war.

### 3.3.3 Assoziationen mit dem metabolischen Syndrom

Die Untersuchung eines Zusammenhanges zwischen dem Plasma-OPN und dem Vorliegen eines metS fand auf eine leicht modifizierte Weise statt. Ausgehend von der Annahme, dass das Vorliegen eines metS durch einen bestimmten Lebensstil bedingt ist, wurde hier zunächst für Faktoren des dritten Modells adjustiert.

Zudem sollte an dieser Stelle herausgearbeitet werden, welche Einzelkomponente des metS den größten Beitrag zu einer möglichen Assoziation des Plasma-OPN mit dem metS lieferte. Daher wurde für jeden Bestandteil der Definition des metS (=abhängige Variable) der jeweilige Effekt des logarithmierten Plasma-OPN untersucht. Dies geschah, indem logistische Regressionsmodelle erstellt wurden, die zusätzlich zu den gerade beschriebenen noch für alle übrigen Komponenten des metS adjustiert waren (vgl. Absatz 1.3.5.1 auf Seite 19).

Wie in Tabelle 18 auf Seite 60 ersichtlich, konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem logarithmierten Plasma-OPN und dem Vorliegen eines metS ersehen werden. Die OR betrug zwar 0,794, aber das 95%-Konfidenzintervall umfasste die 1.

Die Auswertung der Einzelkomponenten des metS bestätigte wieder die bereits über die Tertile, in den Korrelationen und im Verfahren der Rückwärtselimination beobachteten inversen Zusammenhänge zwischen den Triglyceriden und dem logarithmierten Plasma-OPN. Eine OR von

0,262 beschrieb dabei die auf ein Viertel reduzierte Chance, erhöhte Triglyceride aufzuweisen, wenn das logarithmierte Plasma-OPN um eine Einheit höher war. Dieses Ergebnis war statistisch signifikant. Dieselbe inverse und statistisch signifikante Assoziation konnte für das logarithmierte Plasma-OPN mit der Nüchtern-Plasmaglukose ermittelt werden. Sie stützte vorherige Beobachtungen aus den geschlechtsspezifischen Tertilen (abnehmender Trend für die Anzahl an DM Erkrankter mit steigendem Tertil) und Korrelationen (grenzgradig signifikant invers für den HbA1c).

**Tabelle 18: Ergebnisse der multiplen logistischen Regression für das Plasma-OPN als Einflussvariable auf das Vorliegen eines metabolischen Syndroms (metS)** adjustiert für Faktoren des Modells 3 sowie für alle Einzelkomponenten des metS; Angabe von Odds Ratios (OR), 95%-Konfidenzintervallen (95%KI) und p-Werten für das logarithmierte Plasma-OPN, für die p-Wert-Berechnungen vgl. Absatz 2.4.3 auf Seite 39.

	metabolisches Syndrom	überhöhter Taillenumfang	überhöhte Triglyceride	überhöhtes HDL-Cholesterin	überhöhter Blutdruck	überhöhte Nüchtern-plasma-glukose
OR	0,794	2,242	<b>0,262</b>	2,428	0,562	<b>0,463</b>
95%KI	0,399-1,581	0,748-6,720	0,120-0,570	0,557-10,593	0,251-1,256	0,221-0,969
p-Wert	0,5116	0,1493	<b>0,0007</b>	0,2378	0,1599	<b>0,0410</b>

Abschließend fand auch für das Vorliegen eines metS die Untersuchung auf einen nicht-linearen Zusammenhang zum Plasma-OPN statt. Wie bei jeder *restricted cubic spline*-Regression wurde wieder für die Faktoren des ersten und zweiten Modells adjustiert. Doch auch aus diesen Analysen ergab sich keine statistisch signifikante Assoziation zwischen dem Plasma-OPN und dem Vorliegen eines metS. Die Ergebnisse der Berechnungen enthält Tabelle 23 auf Seite 98.

### 3.4 ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

Als unabhängige Determinanten des Plasma-OPN innerhalb der analysierten Studienpopulation wurden das HDL-Cholesterin, die Triglyceride und der beendete Nikotinkonsum herausgearbeitet. Diese Parameter waren invers mit dem hier untersuchten Biomarker assoziiert, und die Zusammenhänge bestanden trotz Adjustierung für diverse weitere durch diese Studie identifizierte Einflussfaktoren auf das Plasma-OPN.

Bei der Untersuchung der Beziehung zwischen dem Plasma-OPN und den kardiometabolischen Risikofaktoren konnte einzig ein konstanter und über verschiedene Auswertungen persistierender Zusammenhang zwischen dem Leberfettgehalt und dem hier analysierten Biomarker festgestellt werden. Dieser stellte sich graphisch j-förmig dar, und hohe sowie besonders niedrige OPN-Spiegel waren annähernd signifikant mit einem erhöhten Leberfettgehalt assoziiert.

## 4 DISKUSSION

### 4.1 ZUSAMMENSETZUNG DER STUDIENPOPULATION – VERGLEICH MIT ANDEREN POPULATIONSBASIERTEN UNTERSUCHUNGEN IN DEUTSCHLAND

Zunächst wurde die Häufigkeit kardiovaskulärer und kardiometabolischer Risikofaktoren in der vorliegenden Studienpopulation mit anderen bevölkerungsbasierten Stichproben aus Deutschland verglichen. Als Referenz wurden vornehmlich Daten entsprechender Altersgruppen der Studie zur Gesundheit Erwachsener (DEGS1) des Robert-Koch-Institutes herangezogen (Erhebung von 2008 bis 2011, Altersbereich 50-79 Jahre).

Hierbei zeigten sich ähnliche Prävalenzen von Übergewicht und Adipositas in beiden Studien. Die Mediane bzw. Mittelwerte für den BMI, das Gesamtcholesterin und das HDL-Cholesterin waren im wesentlichen vergleichbar (BMI: Median  $_{PopGen}$  26,81 kg/m<sup>2</sup> vs. Median  $_{DEGS1}$  zwischen 26,3 und 29,3 kg/m<sup>2</sup>; Gesamtcholesterin: Median  $_{PopGen}$  5,85 mmol/l vs. Mittelwert  $_{DEGS1}$  5,56 mmol/l; HDL-Cholesterin: Frauen: Median  $_{PopGen}$  1,92 mmol/l vs. Mittelwert  $_{DEGS1}$  1,62 mmol/l, Männer: Median  $_{PopGen}$  1,53 mmol/l vs. Mittelwert  $_{DEGS1}$  1,3 mmol/l) (Mensink et al., 2013). Triglyceride und das LDL-Cholesterin wurden in der DEGS1 nicht ausgewertet, da 46% der Probanden zum Zeitpunkt der Blutentnahme nicht nüchtern waren (Scheidt-Nave et al., 2013).

Weiterhin wurden ein DM und ein erlittener Myokardinfarkt oder Schlaganfall innerhalb der PopGen-Kontrollkohorte ähnlich oft berichtet wie in der DEGS1 über alle relevanten Altersgruppen gemittelt (vgl. Abbildung 9 auf Seite 61).

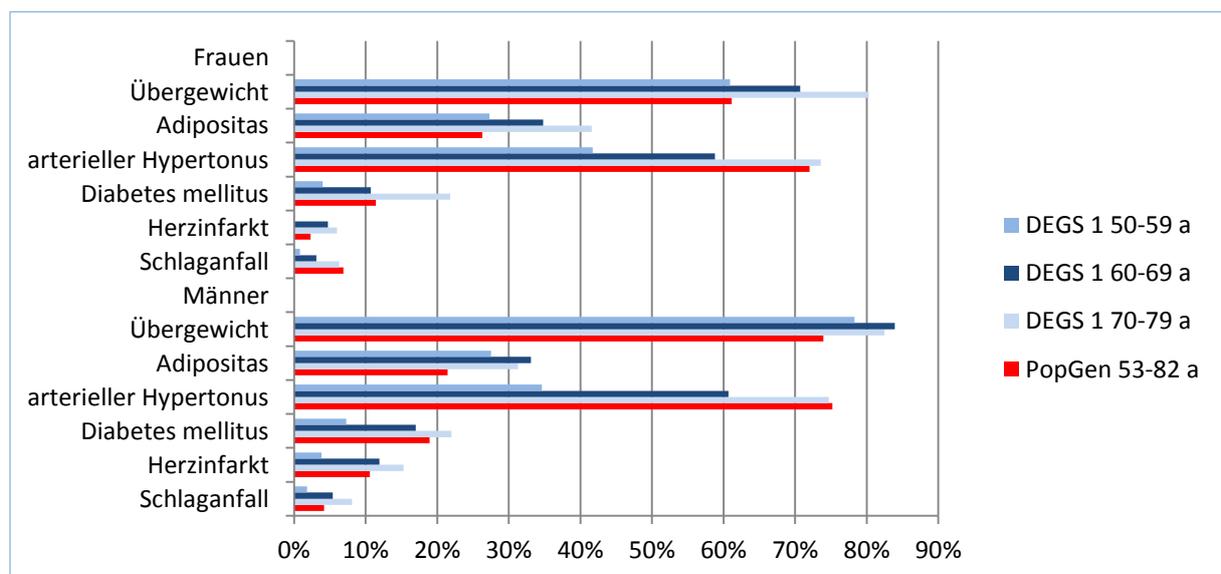


Abbildung 9: Vergleichende Darstellung der Prävalenz verschiedener kardiovaskulärer Risikofaktoren und CVD zwischen der PopGen-Kontrollkohorte und einzelnen Altersgruppen der Studie zur Gesundheit Erwachsener (DEGS1) des Robert-Koch-Institutes a = Jahre (Heidemann et al., 2013, Busch et al., 2013, Gosswald et al., 2013, Mensink et al., 2013, Neuhauser et al., 2013, Lampert et al., 2013)

Wesentliche Unterschiede bestanden in der Prävalenz eines aHT und einer Leberzellverfettung sowie im Rauchverhalten.

Während 73,85% der Probanden der PopGen-Kontrollkohorte einen aHT aufwiesen, wurde ein vergleichbarer Anteil nur unter den 70-79-Jährigen in der DEGS 1 beobachtet. Jüngere Personen der DEGS1 litten wesentlich seltener an einem aHT. Mit 140/85 mmHg im Median wurde zudem der Blutdruck innerhalb der vorliegenden Studienpopulation um ca. 10 mmHg höher gemessen als in der DEGS1 (Neuhauser et al., 2013). Ursächlich für diese Diskrepanz ist möglicherweise die Mittelung des ersten und zweiten Blutdruckwertes in der PopGen-Kohorte, während in der DEGS1-Erhebung der Mittelwert der zweiten und dritten Messung erfasst wurde. So fiel eine anfängliche Aufregung der hier untersuchten Probanden stärker ins Gewicht. Dafür spricht, dass nur 41,89% der Personen Antihypertensiva einnahmen, obwohl 73,85% aller Studienteilnehmer ein aHT zugeordnet wurde.

Auffallend hoch war in der Studienpopulation auch der Anteil der Probanden, die sonographisch eine Leberstrukturverdichtung und im MRT eine Steatose aufwiesen. Er betrug 58,98% respective 49,62%. Für die deutsche Bevölkerung wurde hingegen eine Prävalenz für die NAFLD von durchschnittlich 30% berichtet (Blachier et al., 2013). Allerdings wurden innerhalb der PopGen-Kohorte aufgrund des populationsbasierten Ansatzes Probanden mit sekundärer Steatose nicht ausgeschlossen. Außerdem steigt die Prävalenz der NAFLD mit zunehmendem Alter und männlichem Geschlecht an. Während die 30%-Angabe für die gesamte erwachsene deutsche Bevölkerung gilt, sind für die ältere und vornehmlich männliche Studienpopulation höhere Prozentwerte anzunehmen (Weiss et al., 2014).

Schließlich war der Anteil der aktiven Raucher in der PopGen-Kontrollkohorte vergleichsweise gering (8,31%<sub>PopGen</sub> vs. 7,1 bis maximal 25,6%<sub>DEGS1</sub>), während der Anteil der Ex-Raucher und derjenigen, die niemals geraucht hatten, in der hier untersuchten Studiengruppe weit größer war als in der DEGS1 (Lampert et al., 2013). An dieser Stelle kommt möglicherweise der Selection Bias zum Tragen. Denkbar wäre, dass insbesondere Personen der Einladung zur Studienteilnahme folgten, die ein hohes Gesundheitsbewusstsein aufwiesen. Eine solche Verzerrung könnte auch für weitere Lebensstilfaktoren angenommen werden.

Zusammenfassend unterschied sich die vorliegende Studienpopulation nur wenig von der Normalbevölkerung selben Alters, sodass die hier gewonnenen Erkenntnisse auf die deutsche Bevölkerung zwischen ungefähr 50 und 80 Jahren übertragbar sind. Weitere Verzerrungen durch die Probandenselektion (eingeschränkte Mobilität, sodass ein Erscheinen in der Studienzentrale nicht möglich war; Ausschluss von Probanden ohne MRT und somit von Personen mit Herzschrittmachern oder Defibrillatoren bei Herzerkrankungen und Endoprothesen bzw. Metallimplantaten bei Osteoporose) kamen nicht wesentlich zum Tragen, mussten aber bei der Datenauswertung berücksichtigt werden.

## 4.2 VERTEILUNG DES PLASMA-OSTEOPONTIN

Die OPN-Messwerte waren rechtsschief und linksgipfelig verteilt, d.h. niedrigere OPN-Werte wurden etwas häufiger gemessen als höhere OPN-Werte. Diese Verteilung entsprach der vieler Biomarker und wurde in Untersuchungen, in denen das gleiche ELISA-Verfahren wie hier Anwendung fand, genauso beobachtet (Minoretti et al., 2006, Rosenberg et al., 2008). Der Wertebereich der OPN-Messungen konnte als normal angenommen werden. Das stellte ein Vergleich mit kardial gesunden Kontrollprobanden von  $58 \pm 12$  Jahren heraus, unter denen ein nahezu identischer Median berichtet wurde ( $\text{Median}_{\text{PopGen}} = 386,05 \text{ ng/ml}$  ( $308,43\text{-}491,74 \text{ ng/ml}$ ) vs.  $\text{Median}_{\text{Rosenberg et al.}} = 382 \text{ ng/ml}$  ( $257\text{-}540 \text{ ng/ml}$ ) (Rosenberg et al., 2008)).

Wurde ein ELISA-Verfahren einer anderen Firma herangezogen, war das OPN oft gleichermaßen rechtsschief verteilt. Dabei spielte es keine Rolle, ob das OPN im Plasma oder im Serum bestimmt wurde. Weitere Analysen machten in solchen Fällen stets eine Transformation der Messwerte notwendig, wie es auch in dieser Arbeit geschah (Abdalrhim et al., 2016, Barchetta et al., 2016). Aufgrund der unterschiedlichen Bestimmungsverfahren sind die OPN-Werte in ihrer Höhe nicht untereinander vergleichbar. In der Folge existieren bisher keine allgemeingültigen Normal- oder Grenzwerte für das zirkulierende OPN. Dieser Fakt wird voraussichtlich bestehen bleiben, solange keines der kommerziell erwerblichen ELISA-Verfahren als den anderen überlegen herausgestellt wird.

## 4.3 KORRELATE DES PLASMA-OSTEOPONTIN

Die vorliegende Untersuchung identifizierte das HDL-Cholesterin, die Triglyceride und den beendeten Nikotinkonsum als unabhängige Korrelate des Plasma-OPN. Dabei war der hier analysierte Biomarker invers mit allen drei Merkmalen assoziiert.

### 4.3.1 Ergebnisse vorangegangener Assoziationsstudien

Zum Vergleich stehen für diese Fragestellung bislang nur zwei andere **populationsbasierte Untersuchungen** zur Verfügung:

Eine ähnlich große Studie aus Framingham konnte lediglich statistisch signifikante Zusammenhänge des Plasma-OPN mit dem Alter und dem Geschlecht feststellen. Keine Assoziationen bestanden zwischen dem zirkulierenden OPN und dem systolischen sowie diastolischen Blutdruckwert, der Ratio Gesamt-/HDL-Cholesterin, einem aktiven Nikotinkonsum, dem Vorliegen eines DM oder prävalenter kardiovaskulärer Erkrankungen, dem BMI und der Herzfrequenz. Das mittlere Alter der Probanden betrug  $58 \pm 10$  Jahre, und 49% der Teilnehmer waren Frauen. Anwendung zur Auswertung fanden die Bildung geschlechtsspezifischer Quartile und die multiple lineare Regression (Arnlov et al., 2006).

In der aktuell größten populationsbasierten Arbeit zu diesem Thema, der Young Finns Study, wurden Daten von 1815 Probanden zwischen 30 und 45 Jahren nach dem Geschlecht getrennt ausgewertet. Folgende kardiovaskuläre Risikofaktoren wurden betrachtet: Alter, BMI, Taillenumfang, systolischer und diastolischer Blutdruckwert, Gesamt-, LDL- und HDL-Cholesterin, Triglyceride, Glukose, Insulin Adiponektin, CRP, Kreatinin, GFR, körperliche Aktivität, Nikotin- und Alkoholkonsum. Für die Männer wurden außerdem das *sex-hormone binding globulin* (SHBG) und das Testosteron bestimmt, während bei den Frauen die Einnahme oraler Kontrazeptiva erfasst wurde. Die statistischen Auswertungen entsprachen denen der hier vorliegenden Arbeit. Auch auf nicht-lineare Zusammenhänge wurde dort untersucht.

Als statistisch signifikante Korrelate des zirkulierenden OPN wurden für Frauen das CRP, das Gesamtcholesterin (invers), das Insulin (invers), die körperliche Aktivität, der diastolische Blutdruckwert und das Adiponektin (invers) identifiziert. Für die Männer stellten das CRP, das Gesamtcholesterin (invers), das *sex-hormone binding globulin* (SHBG), das Alter (invers) und der Alkoholkonsum (invers) unabhängige Determinanten des zirkulierenden OPN dar. Vergleichbar zur vorliegenden Arbeit (7,59%) erklärten diese Merkmale bei den Frauen 6,7% und bei den Männern 6,9% der Variabilität des zirkulierenden OPN (Wendelin-Saarenhovi et al., 2011).

Die geringen Beträge für das Modell-R<sup>2</sup> in den unterschiedlichen Studien deuten darauf hin, dass noch andere, bisher nicht berücksichtigte Faktoren Einfluss auf die Höhe des im Blut zirkulierenden OPN haben müssen.

Weitaus mehr als in populationsbasierten Studien wurden Korrelate des zirkulierenden OPN in **klinischen Kohorten**, also an Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen oder Risikofaktoren untersucht.

Die mit 3567 Patienten bisher größte publizierte Studie zum zirkulierenden OPN stellt der PEACE-Trial dar. In dieser Arbeit wurde an Patienten mit stabiler KHK der Therapieeffekt des ACE-Hemmers Trandolapril untersucht, und das Plasma-OPN wurde in der Placebogruppe betrachtet. In ihrem Alter entsprachen die Patienten denen der PopGen-Kontrollkohorte. Signifikante Assoziationen des zirkulierenden OPN wurden mit dem Alter und dem männlichen Geschlecht beobachtet. Auch Patienten mit anderen CVD und solche, die aktiv rauchten, wiesen höhere OPN-Spiegel auf als Personen ohne diese Merkmale. Darüber hinaus wurden ein prävalenter DM, die GFR (invers) und eine Betablocker- sowie Statintherapie (invers) als unabhängige Determinanten des OPN im Blut identifiziert. Erhöhte Plasma-OPN-Werte waren schließlich mit dem vermehrten Vorkommen von kardiovaskulären Todesfällen, Myokardinfarkten und Hospitalisationen assoziiert.

Auch diverse andere klinische Studien untersuchten in multivariaten Modellen Assoziationen mit dem zirkulierenden OPN. Insgesamt fiel jedoch eine große Variabilität der berichteten Ergebnisse der Untersuchungen auf, die Zusammenhänge zwischen dem zirkulierenden OPN und kardiovaskulären Merkmalen betrachteten. Nur für wenige Parameter konnten bislang konstante Assoziationen berichtet werden. Denkbar ist, dass bisher unbekannte Faktoren die Analysen stören (Confounding) bzw. die Zusammenhänge im Sinne einer Effekt-Modifikation verstärken oder abschwächen.

#### 4.3.2 Assoziationen einzelner Variablen mit dem zirkulierenden Osteopontin

Insbesondere für das **Alter** ist studienübergreifend eine positive Assoziation zum OPN im Blut beschrieben (Arnlov et al., 2006, Abdalrhim et al., 2016). Auch innerhalb der PopGen-Kohorte war dieser Zusammenhang signifikant bei der Betrachtung der OPN-Tertile mit Adjustierung für das Geschlecht ( $p = 0,0402$ ). Mögliche Erklärungen für erhöhte OPN-Blutkonzentrationen bei Älteren wären beispielsweise vermehrt vorkommende atherosklerotische Läsionen und zunehmende osteoporotische Veränderungen mit Erhöhung des Knochenbaus (Arnlov et al., 2006). Die vorliegende Analyse unterstützt insbesondere ersteren Sachverhalt, da im dritten OPN-Tertil neben dem Alter auch die Prävalenz kardiovaskulärer Ereignisse wie ein stattgehabter Myokardinfarkt oder Schlaganfall höher war als im ersten OPN-Tertil. Im multivariaten Regressionsmodell stellte sich diese Assoziation jedoch als grenzgradig nicht signifikant heraus ( $p = 0,0884$ ), möglicherweise dem Fakt geschuldet, dass ein vollständiger Datensatz nur für 372 der 413 Probanden zur Verfügung stand.

Weiterhin wurde immer wieder eine signifikante Assoziation mit dem **männlichen Geschlecht** berichtet (Wendelin-Saarenhovi et al., 2011, Abdalrhim et al., 2016). Kongruent dazu wurden in der PopGen-Kontrollkohorte im Median etwas höhere Plasma-OPN-Werte bei Männern als bei Frauen gemessen. Als möglicherweise ursächlich wird eine Östrogen-induzierte Hemmung der OPN-Expression aus glatten Muskelzellen diskutiert (Arnlov et al., 2006).

Außerdem wurde in einigen Studien ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem zirkulierenden OPN und dem **CRP** als Marker einer systemischen Inflammation beschrieben (Wendelin-Saarenhovi et al., 2011, Bjerre et al., 2013). Auch in der vorliegenden Arbeit wurde ein positiver Trend beobachtet. Die statistische Signifikanz blieb aber aus, was an dem kleineren Studienkollektiv im Vergleich zu den oben genannten Untersuchungen gelegen haben könnte ( $n_{\text{Young Finns Study}}=1815$ ;  $n_{\text{Bjerre et al.}}=730$ ). Andere Untersuchungen, die ebenso trotz gleichsinnigem Trend zwischen dem Plasma-OPN und dem CRP eine fehlende statistische Signifikanz der Beziehung berichteten, wiesen analog hierzu ebenfalls kleinere Teilnehmerzahlen auf ( $n_{\text{Moriyama et al.}}=136$ ,  $n_{\text{Kato et al.}}=130$ ) (Moriyama et al., 2010, Kato et al., 2009).

Weiterhin wurde in vielen Untersuchungen ebenso wie hier vorliegend eine inverse Assoziation des zirkulierenden OPN mit dem **HDL-Cholesterin** beobachtet (Kadoglou et al., 2008). Eine mögliche Erklärung wäre die Stimulation der Insulinresistenz durch das OPN, welches im Fettgewebe stärker exprimiert wird, je ausgeprägter die Adipositas vorliegt (vgl. Absatz 1.3.4 auf Seite 18). In der Folge führe der bei Adipositas und Insulinresistenz beobachtete Umbau des HDL-Cholesterins in eine schneller aus dem Blutstrom eliminierbare Form zu einem Absinken der zirkulierenden HDL-Cholesterin-Konzentration (vgl. Absatz 1.3.3.1 auf Seite 14).

In der vorliegenden Arbeit konnte zudem gezeigt werden, dass Probanden, die früher einmal geraucht hatten, im Vergleich zu den übrigen Teilnehmern ein signifikant niedrigeres Plasma-OPN aufwiesen ( $p = 0,0341$  im multivariaten Regressionsmodell). Hier könnte der Effekt zum Tragen kommen, dass diejenigen Probanden, die ihren Nikotinkonsum aktiv eingestellt hatten, nun ein höheres Gesundheitsbewusstsein aufwiesen als solche, die niemals geraucht hatten oder aktuell noch Nikotin genießen. Diese These unterstützend, konnten auch andere Lebensstilmodifikatoren mit dem Plasma-OPN in kardioprotektiver Richtung in Verbindung gebracht werden (siehe nachfolgende Erläuterungen).

Die Rauchintensität, die in der vorliegenden Arbeit erstmals untersucht wurde, war positiv assoziiert mit der OPN-Konzentration im Blut, ein Zusammenhang, der sich als annähernd statistisch signifikant herausstellte ( $p = 0,0588$  im multivariaten Regressionsmodell). Außerdem nahm die mediane Dauer des Nikotinkonsums numerisch über die Tertile zu. Dass der aktive **Nikotinkonsum** positiv mit dem zirkulierenden OPN assoziiert ist, wurde kürzlich auch im PEACE-Trial beschrieben (Abdalrhim et al., 2016). Diese Beobachtungen bestätigen die Untersuchungsergebnisse von Bishop et al., die zum einen eine erhöhte mRNA-Expression von OPN in Endothelzellen nachweisen konnte, die mit Zigarettenrauchextrakt exponiert wurden, und zum anderen wurden erniedrigte OPN-Serumspiegel nach Nikotinstopp bei Probanden gemessen, die zuvor täglich 20 Zigaretten konsumiert hatten. Eine mögliche Begründung war, dass die Nikotinexposition zu oxidativem Stress mit nachfolgender Entzündungsreaktion und konsekutiver Erhöhung des OPN führe (Bishop et al., 2012).

Weiterhin nahm die **Menge konsumierten Alkohols** nach Adjustierung für Alter und Geschlecht mit steigendem OPN-Tertil signifikant ab ( $p = 0,0410$ ). Im Median wurden 8,49 g Alkohol täglich konsumiert (Range 2,31 g bis 17,43 g). Diese Menge entspricht etwa einem Glas Wein (100 ml). Als moderat wird unter Männern eine täglich konsumierte Menge von 10 bis 50 g und unter Frauen von 5 bis 25 g angesehen (Trichopoulou et al., 2005). Somit konnte der hier berichtete Alkoholkonsum in den meisten Fällen als moderat eingeschätzt werden. Während exzessiver Alkoholgenuss mit erhöhter Morbidität und Mortalität einhergeht, wurde ein moderater Alkoholgenuss als protektiv

kardiovaskulären Erkrankungen gegenüber herausgestellt (Piepoli et al., 2016). Zugrundeliegende Mechanismen sind ein Absinken des systolischen und diastolischen Blutdruckwertes. Ebenso wurden Arrhythmien, Kardiomyopathien und der plötzliche Herztod seltener beobachtet. Eine verminderte OPN-Konzentration könnte durch eine Reduktion der OPN-Expression infolge weniger auf die Endothelzellen wirkenden Scherstressses bei moderatem Alkoholkonsum erklärt werden. Während diese inverse Assoziation in der Young Finns Study auch nach multivariater Regression unter den Männern bestehen blieb, konnte aber weder für die finnischen Frauen noch in der PopGen-Kontrollkohorte nach Adjustierung für mögliche Störfaktoren eine signifikante Beziehung bestätigt werden (Wendelin-Saarenhovi et al., 2011).

Ebenso verhielt es sich mit dem Lebensstilfaktor der wöchentlichen **körperlichen Aktivität**. Über die OPN-Tertile konnte statistisch signifikant ein inverser Trend beobachtet werden, d.h. höhere Biomarker-Spiegel waren tendenziell mit geringerer körperlicher Aktivität assoziiert, wenn für das Alter und das Geschlecht adjustiert wurde ( $p = 0,0212$ ). Analog zu diesen Ergebnissen zeigte eine Untersuchung an 181 männlichen und 71 weiblichen Patienten mit KHK erniedrigte Plasma-OPN-Level, wenn die wöchentliche körperliche Aktivität höher war (Sponder et al., 2016). Eine Studie von You et al. beschrieb darüber hinaus, dass bei 23 College-Studentinnen durch Gewichtsreduktion mittels Steigerung der körperlichen Aktivität eine signifikante Senkung des Serum-OPN beobachtet werden konnte (You et al., 2013). Als mögliche Begründung senkt regelmäßige körperliche Aktivität das Körpergewicht und die systolischen bzw. diastolischen Blutdruckwerte. Zudem werden das Lipidprofil und ein bestehender DM verbessert (Piepoli et al., 2016). Ähnlich wie bei dem Nikotinkonsum wäre so eine Verminderung des Scherstressses auf die Endothelien denkbar als ursächlicher Mechanismus verminderter OPN-Spiegel. Außerdem führe möglicherweise die Reduktion des Körpergewichtes und somit des Fettgewebes zu einer verminderten dortigen OPN-Expression. In der Folge träten eine Insulinresistenz und ein DM seltener auf (vgl. Absatz 1.3.4 auf Seite 18). Doch wie bei den anderen Lebensstilfaktoren persistierte auch dieser statistisch signifikante Zusammenhang in unserer Untersuchung gerade eben nicht nach Adjustierung für mögliche Störfaktoren ( $p = 0,0770$ ). In der Young Finns Study wurde für Frauen sogar eine positive Assoziation berichtet, und die körperliche Aktivität wurde als unabhängige Determinante identifiziert. Dort wurde als mögliche Begründung durch die vermehrte Aktivität eine Erhöhung des Knochenstoffwechsels diskutiert, an dem das OPN beteiligt ist (Wendelin-Saarenhovi et al., 2011).

Pathogenetisch wäre weiterhin eine positive Assoziation des Plasma-OPN mit dem **BMI** oder dem **Taillenumfang (WC)** zu erwarten. Beides ließ sich jedoch innerhalb der vorliegenden Studiengruppe nicht bestätigen. Während für den Zusammenhang des zirkulierenden OPN mit dem Taillenumfang auch alle vorhergehenden Studien bisher keine statistisch signifikante Aussage berichten konnten

(Wendelin-Saarenhovi et al., 2011, Kadoglou et al., 2008), wurde das Plasma-OPN bei 20 Übergewichtigen signifikant höher gemessen als bei 16 normalgewichtigen Probanden zwischen 26 und 46 Jahren. In der Gruppe von 24 adipösen Freiwilligen war das Plasma-OPN am höchsten. Dieselbe Arbeit stellte den BMI nach schrittweisen Regressionsanalysen als unabhängige Determinante des Plasma-OPN heraus (Ahmad et al., 2013). Auch andere Studien zeigten erhöhte zirkulierende OPN-Werte bei Adipösen im Verhältnis zu normalgewichtigen Probanden, unterschieden durch den BMI (Gomez-Ambrosi et al., 2007, Kiefer et al., 2008, Catalan et al., 2015). Dagegen erbrachten Korrelationsanalysen des BMI als kontinuierliches Maß mit dem zirkulierenden OPN in einigen Studien signifikant positive Korrelationskoeffizienten (Kadoglou et al., 2008, Abdel-Azeez and Al-Zaky, 2010), während andere Arbeiten nichtsignifikante Ergebnisse (Catalan et al., 2016) und wie in der Popgen-Kontrollkohorte sogar inverse Korrelationskoeffizienten aufzeigten (Duggan et al., 2014). Auch ließ sich nach multivariater Adjustierung die Assoziation zwischen dem BMI und dem zirkulierenden OPN in mehreren zum Teil auch größeren Untersuchungen (n=302; n=79) nicht reproduzieren (Yilmaz et al., 2013, Catalan et al., 2016). Außerdem ging ein Absinken des BMI nach bariatrischer Chirurgie mit einer 1,8-fachen Steigerung des zirkulierenden OPN nach einem Jahr einher (Bertola et al., 2009). Ein inverser Zusammenhang wurde darüber hinaus bei normalgewichtigen Kindern im Wachstum beobachtet. Dieser persistierte auch nach Adjustierung für Alter, Geschlecht und weitere Störfaktoren (Schreier et al., 2016). Als mögliche Erklärung für die inverse Assoziation des BMI mit dem zirkulierenden OPN wird ein gesteigerter Knochenumbau diskutiert, der sowohl postmenopausal durch das verminderte Östrogen als auch nach bariatrischer Chirurgie und im Wachstum beobachtet wurde. Nicht mit dem BMI (nicht bestimmt), aber mit dem Körpergewicht wurde schließlich auch im PEACE-Trial eine signifikant inverse Assoziation beobachtet (Abdalrhim et al., 2016).

Negative Korrelationskoeffizienten wurden in der vorliegenden Arbeit auch aus Analysen zwischen den übrigen **Blutlipiden** und dem Plasma-OPN ermittelt, obwohl Studien an Adipösen signifikant positive Korrelationen mit den Triglyceriden, dem Gesamt- und dem LDL-Cholesterin erbracht hatten (Gomez-Ambrosi et al., 2007). In der PopGen-Kontrollkohorte waren die Triglyceride sogar die stärkste unabhängige Determinante des Plasma-OPN. Diese gegenläufigen Assoziationen des OPN mit den Blutlipiden konnten auch in der populationsbasierten Arbeit von Wendelin-Saarenhovi et al. und bei adipösen sowie normalgewichtigen Kindern beobachtet werden (Wendelin-Saarenhovi et al., 2011, Kurata et al., 2006, Schreier et al., 2016). Außerdem berichteten Kadoglou et al., die zunächst einen positiven Zusammenhang beobachtet hatten, dass dieser nicht persistierte, nachdem für das Alter adjustiert worden war (Kadoglou et al., 2008). Diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass zugrundeliegende Mechanismen noch nicht gut verstanden sind (Wendelin-Saarenhovi et al., 2011).

Eine große Variation der berichteten Ergebnisse bestand weiterhin für Zusammenhänge zwischen dem zirkulierenden OPN und Parametern des **DM**. Signifikant erhöhte OPN-Spiegel wurden bei adipösen Diabetikern und Patienten mit diabetischer Nephropathie im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden gemessen (Yan et al., 2010, Catalan et al., 2015). Dagegen war das Vorliegen eines DM im PEACE-Trial auch nach Adjustierung für diverse Kovariaten invers assoziiert mit der Höhe des Plasma-OPN (Abdalrhim et al., 2016). Derselbe gegenläufige Zusammenhang wurde in der vorliegenden Arbeit beobachtet. Probanden im ersten OPN-Tertil wiesen statistisch signifikant häufiger einen DM auf als solche im zweiten oder dritten Tertil ( $p = 0,0293$ ). Parallel dazu korrelierte der HbA1c invers mit dem Plasma-OPN, wenn auch nur grenzwertig statistisch signifikant ( $p=0,0723$ ). Vorliegend durchgeführte multivariate Analysen zeigten aber schließlich keinen signifikanten Zusammenhang des HbA1c mit dem Plasma-OPN auf. Auch hier ist die Beteiligung des OPN offensichtlich noch nicht ausreichend verstanden. Dieser Fakt wird durch die Beobachtung noch gestützt, dass bei Kindern eine inverse Assoziation des Serum-OPN mit der hepatischen Insulinresistenz beobachtet wurde, obwohl das OPN nachweislich an der Entstehung der Insulinresistenz beteiligt ist (Schreier et al., 2016).

Nicht mit dem Plasma-OPN assoziiert waren ein vorliegender **aHT**, der systolische und der diastolische Blutdruckwert. Da hinsichtlich dieser Merkmale lediglich im PEACE-Trial und bei den Frauen der Young Finns Study statistisch signifikante Korrelationen berichtet werden konnten, ist anzunehmen, dass sehr hohe Fallzahlen zur Detektion notwendig sind und damit der Einfluss begrenzt ist (Abdalrhim et al., 2016, Wendelin-Saarenhovi et al., 2011).

Weiterhin zeigten sich in unserer Stichprobe keine Assoziationen des Plasma-OPN mit den Leberfunktionsparametern **ALT**, **AST** und  **$\gamma$ -GT**, obwohl solche bereits berichtet wurden (für weitere Ausführungen vgl. Absatz 4.4.2 auf Seite 72) (Gomez-Ambrosi et al., 2007, Yilmaz et al., 2013). Auch konnte kein Zusammenhang zwischen dem hier untersuchten Biomarker und dem **sozioökonomischen Status** bzw. der **mediterranen Ernährungsweise** ermittelt werden. Denkbar als Erklärung für letzteres wäre, dass zwar einzelne Nahrungsbestandteile die OPN-Ausschüttung stimulieren, andere diese aber inhibieren, sodass die zusammenfassende Beschreibung eines Ernährungsmusters diese Einzeleinflüsse ausgleichen würde. Pathophysiologisch wäre zu vermuten, dass durch Konsum von z.B. viel nativem Olivenöl das zirkulierende OPN abgesenkt werden könnte. Vermittelt würde dieser Mechanismus über ein Absinken der Triglyceride, während das HDL-Cholesterin gesteigert wird (Schwingshackl and Hoffmann, 2012). Über ein vermindertes Vorkommen von Triglyceriden könnten möglicherweise die Ausbildung der Insulinresistenz und somit auch die Sekretion der Adipokine und die chronische lokale Inflammation verlangsamt werden. Die Effekte einzelner Nahrungsbestandteile auf das zirkulierende OPN sind aber bislang nicht untersucht bzw. publiziert.

Insgesamt unterstützt die vorliegende Arbeit Erkenntnisse zu einigen wesentlichen Einflussfaktoren auf das Plasma-OPN. Zu ihnen gehören das zunehmende Alter, das männliche Geschlecht, ein reduziertes HDL-Cholesterin und das Vorliegen einer kardiovaskulären Erkrankung. Darüber hinaus hängt die Höhe des zirkulierenden OPN möglicherweise von einigen Lebensstilfaktoren wie dem Alkohol- und Nikotinkonsum sowie der körperlichen Aktivität ab. Insbesondere letztgenannte Zusammenhänge persistierten aber nicht im multivariaten Regressionsmodell, was möglicherweise durch die reduzierte Probandenzahl erklärbar war, für die ein vollständiger Datensatz bereit stand. Einzig unabhängige Determinanten des Plasma-OPN waren das HDL-Cholesterin, der eingestellte Nikotinkonsum und die Triglyceride.

## 4.4 ASSOZIATIONEN DES PLASMA-OSTEOPONTIN MIT KARDIOMETABOLISCHEN RISIKOFAKTOREN

### 4.4.1 Assoziationen mit den abdominellen Fettmessungen

Wie eingangs dargestellt, konnte für das OPN im Mausmodell eine 40- bis 80-fach erhöhte **lokale Expression im Fettgewebe** nachgewiesen werden, wenn die Tiere durch eine fettreiche Ernährung adipös waren (Kiefer et al., 2008). Dass das OPN auch im menschlichen Fettgewebe vermehrt exprimiert wird, wenn die Probanden adipös sind, wurde von Gomez-Ambrosi et al. erstmals beschrieben und von Kiefer et al. bestätigt (Gomez-Ambrosi et al., 2007, Kiefer et al., 2008). Bei morbid Adipösen ( $\text{BMI} \geq 40 \text{ kg/m}^2$ ) war im Vergleich zu Normalgewichtigen die OPN-Expression im Omentum um  $7,1 \pm 2$ -fach und subkutan um  $3,3 \pm 1,5$ -fach erhöht. Die Expression von OPN mRNA im Omentum korrelierte dabei positiv sowohl mit dem BMI und dem Körperfettanteil als auch mit dem Taillenumfang (Kiefer et al., 2008). Auch Bertola et al. fanden eine erhöhte OPN-Expression im viszeralen und subkutanen Fettgewebe morbid Adipöser im Vergleich zu Normalgewichtigen. Zwischen dem viszeralen und dem subkutanen Fettgewebe bestand dabei aber kein signifikanter Unterschied in der Expression der OPN mRNA (Bertola et al., 2009). Als wesentliche Quelle der OPN-Expression wurden Makrophagen identifiziert, aber auch auf der Oberfläche von Adipozyten wurde das OPN nachgewiesen (Kiefer et al., 2008).

Man kann also davon ausgehen, dass durch eine Vermehrung des Fettgewebes dort lokal die OPN-Konzentration erhöht ist. Das OPN wirkt an dieser Stelle zunächst auto- und parakrin wie die übrigen Adipokine und vermittelt neben der Inflammation auch die Entstehung der Insulinresistenz (Catalan et al., 2015). Über eine Aktivierung der Matrix-Metalloproteinasen 2 und 9 wird zudem das Remodeling der Extrazellulärmatrix und so eine Expansion des Fettgewebes induziert (Gomez-Ambrosi et al., 2007). Eine Untersuchung an OPN-defizienten Mäusen konnte im Fettgewebe eine

verminderte Inflammation, reduzierten oxidativen Stress und eine geringere Fibrose im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen darstellen, wenn die Tiere fettreich ernährt wurden (Lancha et al., 2014).

Diese Ergebnisse lassen bei Vorliegen einer Adipositas auch erhöhte **im Blut zirkulierende OPN-Konzentrationen** im Sinne eines Biomarkers vermuten. Insbesondere das viszerale Fettgewebe wäre durch die Nähe zur Pfortader in der Lage, das lokal produzierte OPN in das Blutgefäßsystem abzugeben. Eine Vermehrung des viszeralen Fettgewebes müsste demnach mit noch etwas höheren zirkulierenden OPN-Spiegeln einhergehen als eine Vermehrung des subkutanen Fettgewebes.

Diesbezüglich sind die Ergebnisse in der internationalen Fachliteratur jedoch widersprüchlich. Eine Arbeit am Tiermodell wies signifikant höhere Serum-OPN-Spiegel bei 10 fettreich ernährten Mäusen im Vergleich zu 8 fettarm ernährten Tieren nach. Parallel dazu waren Gewicht, Triglyceride, Plasmaglukose und Insulin erhöht messbar (Bertola et al., 2009). Dem gegenüber stehen Ergebnisse einer Untersuchung an 5 fettreich und 5 fettarm ernährten Mäusen über 20 Wochen. Hier wurden erniedrigte Plasma-OPN-Konzentrationen in der Gruppe der fettreich ernährten Tiere gemessen (Kiefer et al., 2008).

Die erste Studie, in der das zirkulierende Plasma-OPN am Menschen mit dem Fettgewebe in Verbindung gebracht wurde, wurde 2007 von Gomez-Ambrosi et al. veröffentlicht. In einer Untersuchung an 77 freiwilligen erwachsenen Probanden wurden signifikant höhere Plasma-OPN-Spiegel bei Übergewichtigen und Adipösen im Vergleich zu Normalgewichtigen gemessen. Allerdings wurde kein Unterschied in der Höhe des Plasma-OPN zwischen Übergewichtigen und Adipösen beobachtet. Zudem wurde ein positiver Zusammenhang zwischen dem Plasma-OPN und dem Körperfettanteil berichtet, der mittels Body Composition Analysis (BodPod) ermittelt wurde ( $r_p=0,45$ ;  $p<0,0001$ ). Die Höhe des Plasma-OPN wäre demnach positiv mit der Gesamtmenge an Körperfett assoziiert (Gomez-Ambrosi et al., 2007).

Wie bereits in Absatz 4.3.2 auf Seite 65 ausgeführt, zeigten auch andere Arbeiten erhöhte zirkulierende OPN-Werte bei Adipösen im Vergleich zu Normalgewichtigen, unterschieden durch den BMI. In einigen Studien gelang es darüber hinaus, in unadjustierten Korrelationsanalysen den BMI als kontinuierlichen Parameter mit dem OPN im Blut in positiver Richtung in Verbindung zu bringen, und eine Arbeit konnte den BMI im multivariaten Regressionsmodell als unabhängige Determinante des Plasma-OPN herausstellen. Dem gegenüber stehen allerdings erfolglose Reproduktionsversuche dieser signifikanten Ergebnisse und die Beobachtungen inverser Korrelationen bzw. Assoziationen zwischen dem Plasma-OPN und dem BMI als stetigem Maß für die Gesamtmenge an Körperfett. Außerdem konnte ein Zusammenhang zwischen dem zirkulierenden OPN und dem Taillenumfang, der die abdominelle Adipositas abbildet, bisher nicht gesehen werden.

Ähnlich verhielt es sich in unserer Studienpopulation. Auch hier konnte weder für den BMI noch für den Taillenumfang oder die Ratio Taillenumfang/Körperhöhe eine statistisch signifikante Assoziation mit dem Plasma-OPN beobachtet werden. Für alle Parameter bestanden negative Korrelations- und Regressionskoeffizienten.

Parallel dazu zeigten die sonographisch bzw. MR-morphologisch determinierten subkutanen abdominellen Fettdicken bzw. –volumina gegenläufige Trends im Zusammenhang mit dem hier analysierten Biomarker. Statistisch signifikant erniedrigt waren das SAAT und STRAT bei Probanden mit erhöhten zirkulierenden OPN-Spiegeln in einigen Auswertungen. Allerdings persistierten diese signifikanten Assoziationen nicht nach Adjustierung für identifizierte Störfaktoren (Triglyceride, HDL-Cholesterin) oder Anwendung der *restricted cubic spline*-Regression. Auch waren die Zusammenhänge als schwach zu bewerten, was kleine Beträge für die Regressionskoeffizienten und adjustierten  $R^2$  in den Modellen anzeigten.

Für die kardiometabolischen Parameter, die das besonders proatherogene viszerale Fettgewebe abbildeten (iaAT, ppAT, VAT), konnten weder statistisch signifikante Beziehungen zum Plasma-OPN noch Trends detektiert werden.

Möglich ist, dass das OPN, das lokal im Fettgewebe bei Adipösen nachgewiesenermaßen vermehrt exprimiert wird, nicht wesentlich in das Blutgefäßsystem gelangt. Das zirkulierende OPN wäre demnach nicht geeignet, das Ausmaß der abdominellen und im Besonderen der viszeralen Adipositas abzubilden. Diese These stützt ein Versuch, zirkulierende OPN-Konzentrationen mit der lokalen omentalen oder subkutanen Expression der OPN mRNA zu korrelieren, in dem keine signifikanten Ergebnisse ermittelt werden konnten (Kiefer et al., 2008). Zudem wurde an übergewichtigen Probanden die Höhe des Serum-OPN aus Venen, die vor dem Fettgewebe lokalisiert waren, mit dem Serumspiegel aus nachgeschalteten Venen verglichen. Auch hier konnte kein signifikanter Unterschied gesehen werden (Bertola et al., 2009).

#### 4.4.2 Assoziationen mit dem Leberfettgehalt

In der Leber wurde ebenfalls eine vermehrte **lokale Expression** des OPN festgestellt, wenn Mäuse fettreich ernährt wurden. Zudem wurden eine reduzierte Steatose und eine verbesserte Insulinsensitivität bei OPN-defizienten Tieren beobachtet (Kiefer et al., 2011). Schließlich war eine Fibrosierung der Leber bei OPN-Defizienz vermindert (Syn et al., 2011).

Bei morbid adipösen Patienten vor bariatrischer Chirurgie war die OPN mRNA-Expression in der Leber ebenfalls höher als bei normalgewichtigen Kontrollprobanden. In dieser Arbeit konnte

außerdem ein direkter Zusammenhang zwischen dem Grad der Steatose bzw. den in der Leber akkumulierten Triglyceriden und dem lokal exprimierten OPN gesehen werden (Bertola et al., 2009).

Es kann also auch in der Leber von einem lokal vermehrten Vorkommen von OPN bei Adipositas bzw. Vorliegen einer NAFLD ausgegangen werden. Erhöhte **im Blut zirkulierende OPN-Spiegel** wären ausgehend vom Kapillarorgan der verfetteten Leber folglich noch eher zu vermuten als bei vermehrt vorkommendem viszeralem Fettgewebe.

Erwartungsgemäß stellten Fouad et al. bei 25 NAFLD-Patienten signifikant höhere OPN-Serumwerte als bei 20 Kontrollprobanden ohne NAFLD vergleichbaren Alters fest. Die Steatose wurde dabei sonographisch detektiert. Darüber, wie ausgeprägt die NAFLD vorlag, wurde aber keine Aussage getroffen (Fouad et al., 2015). Signifikant höhere Serum-OPN-Spiegel wiesen auch 179 Patienten mit histologisch gesicherter NAFLD im Vergleich zu 123 Kontrollprobanden ohne NAFLD auf. Entgegen der Beobachtungen aus dem Tiermodell variierten diese aber nicht innerhalb des histologischen Spektrums (NAFL, NASH und NASH-Fibrose) (Yilmaz et al., 2013). Dass die Höhe des Serum-OPN nicht mit dem Grad der bioptisch gesicherten Steatose korrelierte, konnte weiterhin bei 52 morbid Adipösen gesehen werden (Bertola et al., 2009). Dagegen waren fortgeschrittene Veränderungen der Leber wie eine Fibrosierung und das HCC mit erhöhten OPN-Werten assoziiert, sodass das zirkulierende OPN als potentieller Marker dieser pathologischen Prozesse gilt (Wen et al., 2016).

Wie in Absatz 1.3.5.2 auf Seite 20 dargestellt, werden bei Vorliegen einer NAFLD oftmals auch leberspezifische Enzyme erhöht gemessen. In diesem Zusammenhang zeigte eine Untersuchung an Normalgewichtigen, Übergewichtigen und Adipösen eine statistisch signifikante positive Korrelation zwischen dem Plasma-OPN und den Enzymen ALT, AST und  $\gamma$ -GT (Gomez-Ambrosi et al., 2007). Lag eine NAFLD histologisch gesichert vor, bestand dieselbe positive Korrelation zwischen dem Serum-OPN und der AST bzw. ALT (Yilmaz et al., 2013). In einer anderen Untersuchung an Patienten mit NAFLD konnte diese jedoch nicht beobachtet werden (Fouad et al., 2015). Auch bei 20 Normalgewichtigen, 24 Adipösen ohne und 25 Adipösen mit einem DM konnte keine Korrelation des Serum-OPN mit der ALT und der AST beobachtet werden (Catalan et al., 2015). Eine mögliche Erklärung für die Variabilität der Ergebnisse bietet das Wissen darüber, dass bei Vorliegen einer NAFLD die leberspezifischen Enzyme nicht zwingend erhöht sein müssen.

Innerhalb der PopGen-Kontrollkohorte korrelierten weder die ALT oder AST noch die  $\gamma$ -GT statistisch signifikant mit dem Plasma-OPN. Zudem war der mittels MR erfasste Leberfettgehalt, der die Steatose repräsentiert, nicht wie erwartet positiv, sondern invers assoziiert mit dem Plasma-OPN. Vorstellbar wäre, dass der Gehalt des Leberfettes abnimmt, je stärker die Leber fibrotisch bzw. zirrhotisch umgebaut und so verkleinert wird. Dafür spräche, dass das OPN maßgeblich beteiligt ist

am Progress einer Lebererkrankung. Hier stimuliert es insbesondere den Fibrosierungsprozess (Wen et al., 2016). Allerdings weiß man heute, dass ein hoher Fettgehalt auch dann noch in einer Leber mit NAFLD nachweisbar ist, wenn eine schon weit fortgeschrittene Fibrose vorliegt.

In der *restricted cubic spline*-Analyse stellte sich die Beziehung zwischen dem Plasma-OPN und dem Leberfettgehalt schließlich als j-förmig heraus. Hohe OPN-Werte waren annähernd signifikant mit einem hohen Steatoseausmaß der Leber assoziiert. Durch die Feststellung eines erhöhten Plasma-OPN-Wertes könnten demnach Patienten mit hohem Leberfettgehalt identifiziert werden. Da bei progredienter Leberzellverfettung auch fortgeschrittene fibrotische Veränderungen anzunehmen sind, spiegelt das Plasma-OPN hier möglicherweise nicht nur die Steatose, sondern auch Remodeling-Prozesse wider, die durch ihr Fortschreiten prognostisch bedeutsam werden.

Allerdings gingen auch besonders niedrige Plasma-OPN-Werte mit einem hohen Steatoseausmaß einher. Eine denkbare Erklärung wäre, dass Probanden, die adipös waren, auch zum Teil Folgeerkrankungen wie aHT, Dyslipidämien und DM aufwiesen. Zu deren Therapie eingenommene Medikamente sind in der Lage, das zirkulierende OPN zu senken. Beispielsweise wurden inverse Assoziationen mit systemischen OPN-Spiegeln für Betablocker, Angiotensin Convertin Enzyme (ACE)-Inhibitoren und HMG-CoA-Reduktaseinhibitoren (Statine) beobachtet (Abdalrhim et al., 2016). Auch für Angiotensinrezeptorblocker (ARB) ist ein solcher Zusammenhang beschrieben, während die Einnahme von Diuretika mit hohen zirkulierenden OPN-Werten verbunden war (Sainger et al., 2013). Ein aktives Absenken der Serum-OPN-Konzentration wurde durch die Einnahme von Statinen bewirkt. Dieser Effekt war noch ausgeprägter bei erhöhter Dosis des dort verabreichten Atorvastatin (Kadoglou et al., 2010). Auch durch die Gabe des Angiotensinrezeptorblockers Valsartan wurde eine Reduktion der Plasma-OPN-Spiegel erreicht (Kurata et al., 2011).

In der PopGen-Kohorte wurde die Einnahme dieser Medikamente im Detail nicht erhoben. Allerdings waren im ersten Tertil wesentlich mehr Probanden adipös als im zweiten oder dritten Tertil. Zudem war die Anzahl der Teilnehmer mit einem arteriellen Hypertonus mit 109 Probanden im ersten Tertil etwas höher als die derjenigen im Tertil 2 (94 Probanden) oder Tertil 3 (102 Probanden). Auch Diabetiker wurden im ersten Tertil am häufigsten beobachtet. Diese Beobachtungen machen die Einnahme einer OPN-senkenden Medikation insbesondere im ersten Tertil wahrscheinlich und erklären so möglicherweise einen niedrigen Biomarkerspiegel in diesem Tertil, obwohl bei vorliegender Adipositas und deren Folgeerkrankungen ein hoher Leberfettgehalt angenommen werden musste.

### 4.4.3 Assoziationen mit dem metabolischen Syndrom

In der hier untersuchten Stichprobe lag bei 238 Probanden (60,05%) ein metS vor. Vergleichende Zahlen, denen dieselben „harmonisierten“ Definitionskriterien zugrunde lagen, sind für Deutschland bisher nicht publiziert.

Wurden frühere Definitionen angewandt, konnte innerhalb des „German Metabolic Cardiovascular Risk“- Projektes (GEMCAS) für die gesamte deutsche Bevölkerung ab 18 Jahren eine Prävalenz des metS von 19,8% (Kriterien der American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute =AHA/NHLBI) respective 30,7% (Kriterien der International Diabetes Federation = IDF) ermittelt werden (Moebus et al., 2008). Eine steigende Prävalenz des metS mit zunehmendem Alter wurde zudem in der Study of Health in Pomerania (SHIP) beobachtet. In der Gruppe der über 70-Jährigen lag bereits bei 39 bis 45% der Probanden ein metS vor. Anwendung fanden die für nicht nüchtern gemessene Laborparameter modifizierten Kriterien der AHA/NHLBI (Schipf et al., 2010).

Generell variiert die Prävalenz des metS je nach angewandter Definition, sodass ein Vergleich der ermittelten Werte schwierig möglich ist. Dennoch wurde ein metS in der vorliegenden Studienpopulation vergleichsweise vielen Probanden zugeordnet. Im Hinblick auf die angewandten Kriterien führten am häufigsten ein aHT, eine erhöhte Nüchternplasmaglukose und ein großer Taillenumfang zur Diagnosestellung des metS. Der aHT wies innerhalb der Studienpopulation ebenfalls eine auffallend hohe Prävalenz auf (vgl. Absatz 4.1 auf Seite 61). Hierdurch ist möglicherweise eine Häufung des metS innerhalb der PopGen-Kontrollkohorte mitbedingt.

Innerhalb der untersuchten Probandengruppe war das metS nicht mit einer Erhöhung des Plasma-OPN assoziiert, obwohl in einer anderen Arbeit an adipösen Psoriasis-Patienten ein solcher Zusammenhang beobachtet worden war (Kadry et al., 2013). Als ursächlich wäre auch hier die fehlende Freisetzung des OPN aus dem Fettgewebe denkbar. Zwar wiesen 307 Probanden einen überhöhten Taillenumfang auf, aber es konnte sowohl hier als auch in anderen Untersuchungen keine Assoziation des Plasma-OPN mit dem Taillenumfang gesehen werden. Bei vielen dieser Personen kann dennoch eine vermehrte lokale Expression des OPN mit Fettgewebsentzündung, Insulinresistenz und konsekutiver Hyperglykämie angenommen werden. So wurde in der vorliegenden Untersuchung bei 298 Personen eine Nüchternplasmaglukose über 100 mg/dl festgestellt. Das Plasma-OPN zeigte dieses dysmetabolische Profil folglich nicht an. Dasselbe Ergebnis ermittelte eine Studie an 179 Patienten mit histologisch gesicherter NAFLD. Auch dort war das Vorliegen eines metS nicht mit der Höhe des zirkulierenden OPN assoziiert (Yilmaz et al., 2013).

Die Auswertungen des metS deuten darauf hin, dass das zirkulierende OPN nicht sehr gut geeignet ist, präklinische kardiometabolische Veränderungen zu detektieren, wie sie der Definition des metS zugrunde liegen. Gleiches wurde für präklinische vaskuläre atherosklerotische Läsionen herausgearbeitet (Wendelin-Saarenhovi et al., 2011).

Dennoch hilft diese Negativ-Aussage der fehlenden Assoziation des zirkulierenden OPN mit subklinischen Veränderungen in der Beurteilung der Anwendbarkeit des zirkulierenden OPN bei bereits gut herausgearbeiteten Fragestellungen. So ist es z.B. möglich, das OPN im Blut zur Diagnostik, Therapiesteuerung und Prognoseabschätzung bei Patienten mit chronischer, nicht atherosklerotisch bedingter Herzinsuffizienz (Rosenberg et al., 2008) oder bei verschiedenen Tumorerkrankungen wie dem metastasierten Mammakarzinom oder dem nichtkleinzelligen Bronchialkarzinom (Shevde and Samant, 2014) anzuwenden, ohne dabei ein dysmetabolisches Risikoprofil oder vaskuläre Läsionen mitberücksichtigen zu müssen, von denen bisher keine Kenntnis bestand. Der Einsatz des Biomarkers OPN wird für ebendiese Situationen durch die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung erleichtert.

## 4.5 METHODISCHE ASPEKTE

### 4.5.1 Studiendesign

Die vorliegende Arbeit gehört zu den epidemiologischen Studien, die die Verteilung von Krankheiten, deren Vorstufen und Folgen untersuchen und darüber hinaus Faktoren identifizieren, die diese Verteilung beeinflussen. Aus den gewonnenen Erkenntnissen können Maßnahmen zur Krankheitsprävention abgeleitet und deren Wirksamkeit evaluiert werden (Kreienbrock et al., 2012).

Sie beruht auf einer Stichprobe aus der norddeutschen Allgemeinbevölkerung. In Absatz 4.1 auf Seite 61 konnte gezeigt werden, dass die Verteilung wesentlicher kardiovaskulärer und kardiometabolischer Risikofaktoren wie z.B. des BMI oder des Vorliegens eines DM sowie einer prävalenten CVD mit anderen Studien in Deutschland vergleichbar waren. Ausnahmen bildeten lediglich ein vermehrt vorkommender aHT und ein vergleichsweise geringerer Nikotinkonsum. Der populationsbasierte Ansatz, der eine Vorselektion der Probanden aufgrund bestimmter Merkmale oder Erkrankungen vermeidet, führte aber möglicherweise trotzdem zu Verzerrungen der zu untersuchenden Zusammenhänge. So konnte das Plasma-OPN bei einigen Probanden durch verschiedene Erkrankungen bedingt erhöht vorliegen (vgl. Absatz 1.1.2 auf Seite 9). Gleichzeitig war durch die vorab beschriebene Einnahme von Medikamenten gegen einen aHT, einen DM und verschiedene Fettstoffwechselstörungen eine Senkung des Biomarkerspiegels im Blut denkbar (vgl. Absatz 4.4.2 auf Seite 72).

Die Daten der vorliegenden Untersuchung wurden fast ausschließlich zu einem Zeitpunkt, der ersten Nachbeobachtung, erhoben. Daher wird diese Studie den Querschnittsuntersuchungen zugeordnet, die keine Aussagen zur Kausalität der beobachteten Assoziationen erlauben. Die Auswertung der Datenmengen erfolgte retrospektiv. Es wurden Zusammenhänge beobachtet und so Hypothesen generiert, die es in Zukunft mit Hilfe von analytischen Verfahren zu überprüfen gilt.

#### 4.5.2 Datenerhebung

Die Datenerhebung folgte standardisierten Arbeitsanweisungen. Die Bestimmung der Laborparameter im Zentrallabor des UK SH, das täglich Qualitätsprüfungen durchführt, erfolgte für jeden Probanden sofort nach der Probenentnahme. Zudem wurden die Messungen von Körpergewicht, Körpergröße, Taillenumfang, Blutdruck und von den abdominellen Fettdicken gemäß Standard Operating Procedure (SOP) durchgeführt. Hierbei wurden immer dieselben Messgeräte in derselben räumlichen Umgebung angewendet, was vergleichbare Ergebnisse vermuten lässt. Einzig die Durchführung der Messungen durch drei verschiedene Mitarbeiter machte eine Verzerrung möglich.

Die MR-Messungen wurden jeweils nur durch eine einzige Person durchgeführt. Einschränkungen der Bildqualität führten zum Ausschluss aus den Analysen. Außerdem fand ein Abgleich der Messwerte mit einem Alternativ-Verfahren statt, und hohe Übereinstimmungen bestanden (vgl. Absatz 2.3.7.1 auf Seite 33 und Absatz 2.3.7.2 auf Seite 34). Schließlich korrelierten die abdominellen Fettwerte mit den anthropometrischen Messungen BMI, Taillenumfang und WHtR. Folglich sind die MR-Auswertungen als reliabel zu bewerten.

Als zuverlässig sind auch die OPN-Messungen anzusehen. Eine Intra-Assay-Variabilität von circa 2,4% auf jeder Platte und die Inter-Assay-Variabilität von 3,2 bis 4,3% entsprachen denen anderer Untersuchungen, die die ELISA-Kits der Firma IBL mit identischer Code-Nummer verwendet hatten (Intra-Assay-Variabilität < 5%, Inter-Assay-Variabilität 8-10 %). Zudem lagen die hier ermittelten OPN-Messungen im Wertebereich der vorbeschriebenen Studien, in denen das gleiche Messverfahren eingesetzt wurde (Rosenberg et al., 2008, Minoretti et al., 2006).

Etwas kritischer zu sehen sind hingegen die Auswertungen der Fragebögen. Sämtliche Lebensstilerhebungen (mediterrane Ernährungsweise, körperliche Aktivität, Nikotinkonsum, Alkoholkonsum, Schulbildung) basierten auf Selbstangaben der Probanden und unterlagen so möglicherweise dem Under- bzw. Overreporting Bias. Bei den angewandten Fragebögen handelte es sich aber um validierte Instrumente, sodass erwartete systematische Fehler als gering einzuschätzen waren.

Ebenso wurden Krebserkrankungen, Lebererkrankungen, ein DM, dessen Therapie, ein Schlaganfall, ein Herzinfarkt und die Einnahme von Antihypertensiva einzig von den Probanden berichtet. Folglich konnte ein gewisser Fehler durch die nur aus Fragebögen verfügbaren Informationen nicht ausgeschlossen werden. Möglicherweise entstand so eine Verzerrung bei den Zuordnungen der Probanden zu einem aHT, DM, metS oder einer CVD. Es ist jedoch unwahrscheinlich, dass diese Ungenauigkeiten die Assoziationsuntersuchungen zum OPN beeinflussten, weil davon auszugehen ist, dass die jeweiligen OPN-Spiegel der Probanden ihre Selbstangaben nicht bestimmten. Das Vorliegen einer differentiellen Missklassifikation war somit nicht anzunehmen. Hätte man die Selbstangaben der Probanden dagegen nicht berücksichtigt, wäre beispielsweise ein medikamentös gut eingestellter Hypertoniker oder Diabetiker durch die alleinige Messung der Blutdruckwerte bzw. des HbA1c nicht als solcher identifiziert worden. Ein stattgehabter Myokardinfarkt war dennoch möglicherweise unterrepräsentiert, da bis zum Zeitpunkt der Basiserhebung lediglich Probanden erfasst wurden, die im Oberflächen-EKG myokardiale Ischämiezeichen aufwiesen.

### 4.5.3 Datenauswertung

Die statistischen Analysen waren aufwendig. Sie wurden gewissenhaft und unter Berücksichtigung der notwendigen Annahmen durchgeführt. So wurden immer genügend hohe Probandenzahlen in die Berechnungen aufgenommen. Der Korrelationskoeffizient nach Bravais-Pearson wurde nur ermittelt, wenn beide Variablen normalverteilt waren. Außerdem wurde darauf geachtet, dass die abhängige Variable in den Modellen normalverteilt war. Traf das nicht zu, fanden logarithmische Transformationen statt. Bei der Modellbildung wurde zudem auf die Multikollinearität geachtet. Besonders hervorzuheben ist, dass mehrere Methoden zur Identifikation von Störfaktoren angewendet wurden. Mögliche Confounder wurden in den Modellrechnungen berücksichtigt, sodass Assoziationen unabhängig von diesen Störgrößen betrachtet werden konnten. Ebenfalls zu betonen ist, dass nicht nur lineare Zusammenhänge untersucht wurden. Erst durch die Anwendung der *restricted cubic spline*-Analysen wurde der wahre Zusammenhang des Plasma-OPN mit dem Leberfettgehalt deutlich. Einzig anzumerken ist, dass keine Korrektur für multiples Testen erfolgte. Bei einem Signifikanzniveau von 0,05 ist es daher möglich, dass ein statistisch signifikantes Ergebnis bei jedem 20. Test angezeigt wurde, obwohl es nicht vorlag (Fehler 1. Art,  $\alpha$ -Fehler).

## 4.6 AUSBLICK

Die vorliegende Arbeit stellte Assoziationen des Plasma-OPN mit kardiovaskulären Risikofaktoren heraus. Einige wie z.B. das Alter waren bereits gut bekannt und wurden hier bestätigt. Anderen kommt durch die Ergebnisse der durchgeführten Analysen eine etwas größere Bedeutung zu als bisher. Hier wären vor allem die Lebensstilfaktoren körperliche Aktivität sowie Nikotin- und Alkoholkonsum zu nennen. Die statistische Signifikanz jener Beobachtungen wurde nach Adjustierung für mögliche Störfaktoren gerade eben verfehlt, sodass möglicherweise ein größerer Stichprobenumfang Klarheit über das Vorhandensein und die Stärke der Assoziationen der modifizierbaren Lebensstilfaktoren mit dem Plasma-OPN geben könnte.

Körperliche Aktivität, Nikotin- und Alkoholkonsum sind gut beeinflussbar. Über Maßnahmen der Lebensstilmodifikation könnte möglicherweise ein Absenken des zirkulierenden OPN erreicht werden. Für eine vorübergehende Steigerung der körperlichen Aktivität und den kurzfristigen Nikotinstopp konnte dies bereits nachgewiesen werden (You et al., 2013, Bishop et al., 2012). Welche Effekte so im Hinblick auf die Entstehung und den Progress einer Atherosklerose vermittelt werden, die Auswirkungen langfristiger Lebensstilveränderungen auf das zirkulierende OPN und deren Potenz bei der kardiovaskulären Risikoprävention sollten in Zukunft herausgestellt werden.

Darüber hinaus bestätigte die vorliegende Untersuchung die Beobachtung, dass das im Fettgewebe exprimierte OPN nicht wesentlich ins Blut zu gelangen scheint. Dennoch vermittelt es vermutlich eine Inflammationsreaktion bzw. die Atherosklerose über eine vermehrte Sekretion von IL 6, MCP-1 und PAI ins Blut. Bei OPN-defizienten fettreich ernährten Mäusen waren die Plasmalevel dieser Zytokine signifikant reduziert (Nomiyama et al., 2007). Inwiefern die Menge des im Fettgewebe exprimierten OPN mit zirkulierenden Zytokinkonzentrationen korreliert, gilt es in Zukunft zu prüfen. Denkbar wäre, dass z.B. Serum-IL 6-Spiegel oder andere Zytokine im Blut die lokale Expression des OPN im Fettgewebe anzeigen und so Risikopatienten für die Ausbildung einer Insulinresistenz identifizieren. Gleiches wäre für die Steatose zu überlegen. Möglicherweise korreliert die lokale OPN-Expression in der Leber besser mit anderen Mediatoren im Blut als mit dem Plasma-OPN. Durch Klärung dieses Sachverhaltes könnten diejenigen NAFLD-Patienten noch besser identifiziert werden, die im Verlauf ihrer Lebererkrankung einen Progress aufweisen.

Das Plasma- bzw. Serum-OPN erfüllt viele der Eigenschaften für einen optimalen Biomarker. Es ist einfach bestimmbar, und seine Bestimmung ist gut reproduzierbar. Zudem ist es für einige vor allem fortgeschrittene Erkrankungen prognostisch bedeutsam, und eine Änderung des OPN-Spiegels konnte bereits durch Therapien wie Lebensstilveränderungen, spezifische Antikörper oder Medikamente erreicht werden. Allerdings bedingt die Multifunktionalität des OPN, dass es nicht

besonders spezifisch ist. Vielerlei Veränderungen führen zu einem Ansteigen des zirkulierenden OPN, was seinen Einsatz auch als kardiovaskulären Biomarker schwierig macht.

Im Fokus der Forschung am OPN werden daher in Zukunft seine Isoformen, Spaltprodukte und anderen posttranslationalen Modifikationen stehen. Mit dem Ziel, die Spezifität des OPN zu erhöhen, werden möglicherweise in den nächsten Jahren einzelne Varianten des OPN einer bestimmten Veränderung zugeordnet.

In diesem Zusammenhang konnte bei Adipösen bereits gezeigt werden, dass das OPN-b im Fettgewebe vermehrt exprimiert wird, während bei Normalgewichtigen vor allem das OPN-a vorkommt. Gemutmaß wurde, dass das OPN-b im Vergleich zum OPN-a eine vermehrte Stimulation der Makrophagen bewirkt (Kiefer et al., 2008). In Zukunft gilt es daher, zu prüfen, ob das zirkulierende OPN-b 1. besser mit dessen Expression im Fettgewebe korreliert, als es beim Plasma-OPN der Fall war, 2. das zirkulierende OPN-b mit der Menge an viszeralem Fettgewebe assoziiert ist und 3. durch die Bestimmung des zirkulierenden OPN-b Personen identifiziert werden können, die im Verlauf kardiovaskuläre Erkrankungen ausbilden.

Außerdem wurde bereits beobachtet, dass nach der Spaltung des OPN durch Thrombin ein proinflammatorisch besonders potentes N-terminales und ein gegensinnig wirkendes C-terminales Fragment entstehen (Wolak, 2014). Ob die alleinige Bestimmung des N-terminalen Fragmentes im Blut möglicherweise diejenigen Hochrisikopatienten anzeigt, die Folgeveränderungen der „low grade“-Inflammation der Adipositas davontragen, stellt sicherlich auch einen interessanten zukünftigen Forschungsansatz dar.

Schließlich ist insbesondere im Hinblick auf zukünftige therapeutische Ansätze von Interesse, ob das OPN, und hier möglicherweise das C-terminale Fragment, neben pathologischen auch physiologische bzw. kardioprotektive Funktionen aufweist.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Atherosklerose als Hauptgenese kardiovaskulärer Erkrankungen ist heute verantwortlich für die meisten Todesfälle weltweit. Als ursächlich gilt unter anderem die steigende Prävalenz von Übergewicht und Adipositas. Über Mechanismen der Insulinresistenz, Adipokinsekretion und eine chronische „low-grade“-Inflammation entstehen weitere kardiovaskuläre Risikofaktoren wie Dyslipidämien, arterieller Hypertonus, Diabetes mellitus, das Vorliegen eines metabolischen Syndroms und die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD). Atherosklerotische Läsionen bilden sich aus, werden instabil und führen zu kardiovaskulären Erkrankungen (CVD).

Ein Protein, das sowohl in atherosklerotischen Läsionen als auch im Fettgewebe und bei der NAFLD vorkommt, ist das Osteopontin (OPN). Dieses saure Glykoprotein aktiviert vorrangig Makrophagen, vermittelt aber auch über andere Mechanismen inflammatorische und Remodeling-Prozesse. Außerdem wirkt es Mineralisationsvorgängen entgegen, vermittelt die Ausbildung einer Insulinresistenz, führt zu einer Expansion des Fettgewebes und stimuliert in der Leber die Fibrosierung. Erhöhte Blutkonzentrationen wurden bei Patienten mit verschiedenen CVD gemessen, und dem OPN kommt hier bereits eine prognostische Bedeutung zu. Bei subklinischen atherosklerotischen Läsionen waren die Zusammenhänge nicht so eindeutig. Auch bei der Adipositas und der konsekutiven NAFLD sind die Ergebnisse zu zirkulierenden OPN-Spiegeln widersprüchlich, obwohl eine erhöhte lokale Expression der OPN mRNA sowohl im Fettgewebe als auch in der Leber nachgewiesen werden konnte. Außerdem existiert bisher keine Betrachtung der Assoziation zwischen dem zirkulierenden OPN und dem abdominalen und insbesondere viszeralen Fettgewebe.

An 416 Probanden der PopGen-Kontrollkohorte, einer Stichprobe aus der Allgemeinbevölkerung, wurde daher das Plasma-OPN mittels Sandwich-ELISA-Verfahren bestimmt. Zudem wurden Daten aus Fragebögen, anthropometrischen Messungen und Laboruntersuchungen ausgewertet. Sonographisch wurden abdominale Fettdicken und eine Leberverfettung festgestellt, und die Auswertung von Ganzkörper-MRTs erbrachte abdominale Fettvolumina sowie den Leberfettgehalt.

Der erste Teil der statistischen Auswertung stellte Zusammenhänge zwischen verschiedenen kardiovaskulären Risikofaktoren und dem Plasma-OPN heraus. Hier wurde zum einen die Verteilung der Merkmale auf OPN-Tertile betrachtet. Zum zweiten wurden der Korrelationskoeffizient nach Bravais-Pearson für normalverteilte und der Korrelationskoeffizient nach Spearman für nicht-normalverteilte Merkmale ermittelt. In einem dritten Schritt wurde ein Rückwärtseliminationsmodell mit dem OPN als Zielvariable erstellt, das alle vorher identifizierten Merkmale enthielt. Über die multiple lineare Regression mit multivariater Adjustierung wurden unabhängige Determinanten des Plasma-OPN ermittelt. Diese stellten eventuelle Störfaktoren der Folgeanalysen dar.

Während die Verteilung einiger Merkmale auf die OPN-Tertile auch nach Adjustierung für Alter und Geschlecht noch statistisch signifikante Trends aufwies (positiv: Alter; invers: wöchentliche körperliche Aktivität, täglicher Alkoholkonsum, Vorliegen eines Diabetes mellitus, Triglyceride), persistierten diese Assoziationen meist nicht in den multivariaten Modellen. Als unabhängige Korrelate des Plasma-OPN konnten einzig das HDL-Cholesterin, die Triglyceride und ein beendeter Nikotinkonsum herausgestellt werden. Prinzipiell wurde in der vorliegenden Arbeit dennoch dieselbe Richtung zuvor in der Literatur vielfach beschriebener Zusammenhänge beobachtet (z.B. Alter, Geschlecht und CRP), und in Voruntersuchungen nicht signifikante Assoziationen erreichten auch hier nicht das Signifikanzniveau (z.B. Taillenumfang). Für eine erstmals betrachtete mediterrane Ernährungsweise fand sich schließlich keine Assoziation mit dem Plasma-OPN.

Der zweite Teil der Arbeit beinhaltete die Analyse von Zusammenhängen des Plasma-OPN mit kardiometabolischen Parametern (subkutanes und viszerales abdominelles Fettgewebe, Leberfettgehalt, metabolisches Syndrom). Dabei wurde in linearen und nicht-linearen tri- und multivariaten Regressionsmodellen für mögliche Störfaktoren adjustiert. Keine wesentliche Assoziation bestand für das Plasma-OPN mit dem metabolischen Syndrom und dem hier erstmals untersuchten und besonders proatherogenen viszeralen Fettgewebe. Ein inverser Zusammenhang mit dem subkutanen Fettgewebe persistierte zudem nicht nach Adjustierung für unabhängige Determinanten des Plasma-OPN. Diese Ergebnisse sind kongruent zu anderen Analysen. Anzunehmen ist, dass das lokal im Fettgewebe exprimierte OPN nicht wesentlich ins Blut abgegeben wird. Das Plasma-OPN zeigt so am ehesten auch nicht diejenigen Hochrisikopatienten an, die in Zukunft eine Insulinresistenz und andere kardiovaskuläre Risikofaktoren ausbilden. Dagegen wurde eine inverse Beziehung zwischen dem Plasma-OPN und dem Leberfettgehalt beobachtet, die sich in einer Untersuchungsmethode auf nicht-lineare Zusammenhänge, der *restricted cubic spline*-Regression, als j-förmig herausstellte. Hohe Plasma-OPN-Werte zeigten annähernd statistisch signifikant einen hohen Leberfettgehalt an. Dass auch besonders niedrige Biomarkerlevel mit einem erhöhten Leberfettgehalt einhergingen, war möglicherweise durch die Einnahme von Medikamenten erklärt, die das Plasma-OPN senkten.

Die hier vorliegende retrospektive Querschnittsstudie stellt Hypothesen auf, die es in Zukunft mit Hilfe größerer Studien und analytischer Verfahren zu überprüfen gilt. Eine besondere Bedeutung sollte dabei den Lebensstilmodifikationen zukommen. Zudem muss untersucht werden, inwiefern einzelne Isoformen des OPN oder deren Spaltprodukte in ihrer zirkulierenden Form die Spezifität dieses Biomarkers erhöhen, mit der Expression des OPN im Fettgewebe oder in der Leber korrelieren und so besser präklinische Veränderungen der Atherosklerose anzeigen als das Plasma-OPN.

## 6 VERZEICHNISSE

### 6.1 LITERATURVERZEICHNIS

- ABDALRHIM, A. D., MARROUSH, T. S., AUSTIN, E. E., GERSH, B. J., SOLAK, N., RIZVI, S. A., BAILEY, K. R. & KULLO, I. J. 2016. PLASMA OSTEOPONTIN LEVELS AND ADVERSE CARDIOVASCULAR OUTCOMES IN THE PEACE TRIAL. *PLOS ONE*, 11, e0156965.
- ABDEL-AZEEZ, H. A. & AL-ZAKY, M. 2010. PLASMA OSTEOPONTIN AS A PREDICTOR OF CORONARY ARTERY DISEASE: ASSOCIATION WITH ECHOCARDIOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF ATHEROSCLEROSIS. *J CLIN LAB ANAL*, 24, 201-6.
- ABDULLAH, A., PEETERS, A., DE COURTEN, M. & STOELWINDER, J. 2010. THE MAGNITUDE OF ASSOCIATION BETWEEN OVERWEIGHT AND OBESITY AND THE RISK OF DIABETES: A META-ANALYSIS OF PROSPECTIVE COHORT STUDIES. *DIABETES RES CLIN PRACT*, 89, 309-19.
- ABENAVOLI, L., MILIC, N., DI RENZO, L., PREVEDEN, T., MEDIC-STOJANOSKA, M. & DE LORENZO, A. 2016. METABOLIC ASPECTS OF ADULT PATIENTS WITH NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE. *WORLD J GASTROENTEROL*, 22, 7006-16.
- ADAMS, K. F., SCHATZKIN, A., HARRIS, T. B., KIPNIS, V., MOUW, T., BALLARD-BARBASH, R., HOLLENBECK, A. & LEITZMANN, M. F. 2006. OVERWEIGHT, OBESITY, AND MORTALITY IN A LARGE PROSPECTIVE COHORT OF PERSONS 50 TO 71 YEARS OLD. *N ENGL J MED*, 355, 763-78.
- AHMAD, R., AL-MASS, A., AL-GHAWAS, D., SHAREIF, N., ZGHOUL, N., MELHEM, M., HASAN, A., AL-GHIMLAS, F., DERMIME, S. & BEHBEHANI, K. 2013. INTERACTION OF OSTEOPONTIN WITH IL-18 IN OBESE INDIVIDUALS: IMPLICATIONS FOR INSULIN RESISTANCE. *PLOS ONE*, 8, e63944.
- AINSWORTH, B. E., HASKELL, W. L., HERRMANN, S. D., MECKES, N., BASSETT, D. R., JR., TUDOR-LOCKE, C., GREER, J. L., VEZINA, J., WHITT-GLOVER, M. C. & LEON, A. S. 2011. 2011 COMPENDIUM OF PHYSICAL ACTIVITIES: A SECOND UPDATE OF CODES AND MET VALUES. *MED SCI SPORTS EXERC*, 43, 1575-81.
- ALBERTI, K. G., ECKEL, R. H., GRUNDY, S. M., ZIMMET, P. Z., CLEEMAN, J. I., DONATO, K. A., FRUCHART, J. C., JAMES, W. P., LORIA, C. M. & SMITH, S. C., JR. 2009. HARMONIZING THE METABOLIC SYNDROME: A JOINT INTERIM STATEMENT OF THE INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION TASK FORCE ON EPIDEMIOLOGY AND PREVENTION; NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE; AMERICAN HEART ASSOCIATION; WORLD HEART FEDERATION; INTERNATIONAL ATHEROSCLEROSIS SOCIETY; AND INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF OBESITY. *CIRCULATION*, 120, 1640-5.
- ANGULO, P., GEORGE, J., DAY, C. P., VANNI, E., RUSSELL, L., DE LA CRUZ, A. C., LIAQUAT, H., MEZZABOTTA, L., LEE, E. & BUGIANESI, E. 2014. SERUM FERRITIN LEVELS LACK DIAGNOSTIC ACCURACY FOR LIVER FIBROSIS IN PATIENTS WITH NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE. *CLIN GASTROENTEROL HEPATOL*, 12, 1163-1169 e1.
- ARNLOV, J., EVANS, J. C., BENJAMIN, E. J., LARSON, M. G., LEVY, D., SUTHERLAND, P., SIWIK, D. A., WANG, T. J., COLUCCI, W. S. & VASAN, R. S. 2006. CLINICAL AND ECHOCARDIOGRAPHIC CORRELATES OF PLASMA OSTEOPONTIN IN THE COMMUNITY: THE FRAMINGHAM HEART STUDY. *HEART*, 92, 1514-5.
- ASHWELL, M., GUNN, P. & GIBSON, S. 2012. WAIST-TO-HEIGHT RATIO IS A BETTER SCREENING TOOL THAN WAIST CIRCUMFERENCE AND BMI FOR ADULT CARDIOMETABOLIC RISK FACTORS: SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS. *OBES REV*, 13, 275-86.
- AWMF, B. K. 2014. *NATIONALE VERSORGUNGSLEITLINIE THERAPIE DES TYP-2-DIABETES - LANGFASSUNG* [ONLINE]. BUNDESÄRZTEKAMMER, KASSENÄRZTLICHE BUNDESVEREINIGUNG, ARBEITSGEMEINSCHAFT DER WISSENSCHAFTLICHEN MEDIZINISCHEN FACHGESELLSCHAFTEN. AVAILABLE: [HTTP://WWW.VERSORGUNGSLEITLINIEN.DE/THEMEN/DIABETES2/DM2\\_THERAPIE](http://www.versorgungsleitlinien.de/themen/diabetes2/dm2_therapie) [ACCESSED NOV. 2016].
- BARCHETTA, I., ALESSANDRI, C., BERTOCCINI, L., CIMINI, F. A., TAVERNITI, L., DI FRANCO, M., FRAIOLI, A., BARONI, M. G. & CAVALLO, M. G. 2016. INCREASED CIRCULATING OSTEOPONTIN LEVELS IN ADULT PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS AND ASSOCIATION WITH DYSMETABOLIC PROFILE. *EUR J ENDOCRINOL*, 174, 187-92.

- BERRINGTON DE GONZALEZ, A., HARTGE, P., CERHAN, J. R., FLINT, A. J., HANNAN, L., MACINNIS, R. J., MOORE, S. C., TOBIAS, G. S., ANTON-CULVER, H., FREEMAN, L. B., BEESON, W. L., CLIPP, S. L., ENGLISH, D. R., FOLSOM, A. R., FREEDMAN, D. M., GILES, G., HAKANSSON, N., HENDERSON, K. D., HOFFMAN-BOLTON, J., HOPPIN, J. A., KOENIG, K. L., LEE, I. M., LINET, M. S., PARK, Y., POCOBELLI, G., SCHATZKIN, A., SESSO, H. D., WEIDERPASS, E., WILLCOX, B. J., WOLK, A., ZELENIUCH-JACQUOTTE, A., WILLETT, W. C. & THUN, M. J. 2010. BODY-MASS INDEX AND MORTALITY AMONG 1.46 MILLION WHITE ADULTS. *N ENGL J MED*, 363, 2211-9.
- BERTOLA, A., DEVEAUX, V., BONNAFOUS, S., ROUSSEAU, D., ANTY, R., WAKKACH, A., DAHMAN, M., TORDJMAN, J., CLEMENT, K., MCQUAID, S. E., FRAYN, K. N., HUET, P. M., GUGENHEIM, J., LOTERSZTAJN, S., LE MARCHAND-BRUSTEL, Y., TRAN, A. & GUAL, P. 2009. ELEVATED EXPRESSION OF OSTEOPONTIN MAY BE RELATED TO ADIPOSE TISSUE MACROPHAGE ACCUMULATION AND LIVER STEATOSIS IN MORBID OBESITY. *DIABETES*, 58, 125-33.
- BISHOP, E., THEOPHILUS, E. H. & FEARON, I. M. 2012. IN VITRO AND CLINICAL STUDIES EXAMINING THE EXPRESSION OF OSTEOPONTIN IN CIGARETTE SMOKE-EXPOSED ENDOTHELIAL CELLS AND CIGARETTE SMOKERS. *BMC CARDIOVASC DISORD*, 12, 75.
- BJERRE, M., PEDERSEN, S. H., MOGELVANG, R., LINDBERG, S., JENSEN, J. S., GALATIUS, S. & FLYVBJERG, A. 2013. HIGH OSTEOPONTIN LEVELS PREDICT LONG-TERM OUTCOME AFTER STEMI AND PRIMARY PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION. *EUR J PREV CARDIOL*, 20, 922-9.
- BLACHIER, M., LELEU, H., PECK-RADOSAVLJEVIC, M., VALLA, D. C. & ROUDOT-THORAVAL, F. 2013. THE BURDEN OF LIVER DISEASE IN EUROPE: A REVIEW OF AVAILABLE EPIDEMIOLOGICAL DATA. *J HEPATOL*, 58, 593-608.
- BLUHER, M. 2014. [ADIPOSE TISSUE--AN ENDOCRINE ORGAN]. *INTERNIST (BERL)*, 55, 687-97; QUIZ 698.
- BORRA, R. J., SALO, S., DEAN, K., LAUTAMAKI, R., NUUTILA, P., KOMU, M. & PARKKOLA, R. 2009. NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE: RAPID EVALUATION OF LIVER FAT CONTENT WITH IN-PHASE AND OUT-OF-PHASE MR IMAGING. *RADIOLOGY*, 250, 130-6.
- BRENDLER, C., LIEBERS, F. & LATZA, U. 2013. [OCCUPATION- AND AGE-RELATED DIFFERENCES IN WORK ABSENCE DUE TO FREQUENT CARDIOVASCULAR DISEASES USING ESSENTIAL HYPERTENSION AND ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION AS EXAMPLES]. *BUNDESGESUNDHEITSBLATT GESUNDHEITSFORSCHUNG GESUNDHEITSSCHUTZ*, 56, 381-90.
- BRUEMMER, D., COLLINS, A. R., NOH, G., WANG, W., TERRITO, M., ARIAS-MAGALLONA, S., FISHBEIN, M. C., BLASCHKE, F., KINTSCHER, U., GRAF, K., LAW, R. E. & HSUEH, W. A. 2003. ANGIOTENSIN II-ACCELERATED ATHEROSCLEROSIS AND ANEURYSM FORMATION IS ATTENUATED IN OSTEOPONTIN-DEFICIENT MICE. *J CLIN INVEST*, 112, 1318-31.
- BUNDESAMT, S. 2010. KRANKHEITSKOSTEN. WIESBADEN: STATISTISCHES BUNDESAMT.
- BUNDESAMT, S. 2015. TODESURSACHEN IN DEUTSCHLAND. 12. AVAILABLE: [HTTPS://WWW.DESTATIS.DE/DE/PUBLIKATIONEN/THEMATISCH/GESUNDHEIT/TODESURSACHEN/TODESURSACHEN\\_2120400147004.PDF;JSESSIONID=BB6BD4B44C86789AB5C091F38B89DECB.CAE3?\\_\\_BLOB=PUBLICATIONFILE](https://www.destatis.de/DE/PUBLIKATIONEN/THEMATISCH/GESUNDHEIT/TODESURSACHEN/TODESURSACHEN_2120400147004.PDF;JSESSIONID=BB6BD4B44C86789AB5C091F38B89DECB.CAE3?__BLOB=PUBLICATIONFILE) [ACCESSED 15.12.2015].
- BUSCH, M. A., SCHIENKIEWITZ, A., NOWOSSADECK, E. & GOSSWALD, A. 2013. [PREVALENCE OF STROKE IN ADULTS AGED 40 TO 79 YEARS IN GERMANY: RESULTS OF THE GERMAN HEALTH INTERVIEW AND EXAMINATION SURVEY FOR ADULTS (DEGS1)]. *BUNDESGESUNDHEITSBLATT GESUNDHEITSFORSCHUNG GESUNDHEITSSCHUTZ*, 56, 656-60.
- CANBAY, A., FELDSTEIN, A., KRONENBERGER, B., SCHULZE-OSTHOFF, K. & BANTEL, H. 2014. [CYTOKERATIN 18 AS MARKER FOR NON-INVASIVE DIAGNOSIS AND PROGNOSIS OF ACUTE AND CHRONIC LIVER DISEASES]. *Z GASTROENTEROL*, 52, 290-5.
- CANOY, D., BOEKHOLDT, S. M., WAREHAM, N., LUBEN, R., WELCH, A., BINGHAM, S., BUCHAN, I., DAY, N. & KHAW, K. T. 2007. BODY FAT DISTRIBUTION AND RISK OF CORONARY HEART DISEASE IN MEN AND WOMEN IN THE EUROPEAN PROSPECTIVE INVESTIGATION INTO CANCER AND NUTRITION IN NORFOLK COHORT: A POPULATION-BASED PROSPECTIVE STUDY. *CIRCULATION*, 116, 2933-43.

- CANTO, J. G., KIEFFE, C. I., ROGERS, W. J., PETERSON, E. D., FREDERICK, P. D., FRENCH, W. J., GIBSON, C. M., POLLACK, C. V., JR., ORNATO, J. P., ZALENSKI, R. J., PENNEY, J., TIEFENBRUNN, A. J. & GREENLAND, P. 2011. NUMBER OF CORONARY HEART DISEASE RISK FACTORS AND MORTALITY IN PATIENTS WITH FIRST MYOCARDIAL INFARCTION. *JAMA*, 306, 2120-7.
- CARBONE, F., VUILLEUMIER, N., BURGER, F., ROVERSI, G., TAMBORINO, C., CASETTA, I., SERACENI, S., TRENTINI, A., PADRONI, M., DALLEGRI, F., MACH, F., FAINARDI, E. & MONTECUCCO, F. 2015. SERUM OSTEOPOINTIN LEVELS ARE UPREGULATED AND PREDICT DISABILITY AFTER AN ISCHAEMIC STROKE. *EUR J CLIN INVEST*, 45, 579-86.
- CATALAN, V., GOMEZ-AMBROSI, J., RODRIGUEZ, A., RAMIREZ, B., IZAGUIRRE, M., HERNANDEZ-LIZOAIN, J. L., BAIXAULI, J., MARTI, P., VALENTI, V., MONCADA, R., SILVA, C., SALVADOR, J. & FRUHBECK, G. 2016. INCREASED OBESITY-ASSOCIATED CIRCULATING LEVELS OF THE EXTRACELLULAR MATRIX PROTEINS OSTEOPOINTIN, CHITINASE-3 LIKE-1 AND TENASCIN C ARE ASSOCIATED WITH COLON CANCER. *PLOS ONE*, 11, e0162189.
- CATALAN, V., GOMEZ-AMBROSI, J., RODRIGUEZ, A., RAMIREZ, B., VALENTI, V., MONCADA, R., SILVA, C., SALVADOR, J. & FRUHBECK, G. 2015. PERIPHERAL MONONUCLEAR BLOOD CELLS CONTRIBUTE TO THE OBESITY-ASSOCIATED INFLAMMATORY STATE INDEPENDENTLY OF GLYCEMIC STATUS: INVOLVEMENT OF THE NOVEL PROINFLAMMATORY ADIPOKINES CHERMERIN, CHITINASE-3-LIKE PROTEIN 1, LIPOCALIN-2 AND OSTEOPOINTIN. *GENES NUTR*, 10, 460.
- CHALASANI, N., YOUNOSSI, Z., LAVINE, J. E., DIEHL, A. M., BRUNT, E. M., CUSI, K., CHARLTON, M. & SANYAL, A. J. 2012. THE DIAGNOSIS AND MANAGEMENT OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE: PRACTICE GUIDELINE BY THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES, AMERICAN COLLEGE OF GASTROENTEROLOGY, AND THE AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION. *HEPATOLOGY*, 55, 2005-23.
- CHIBA, S., OKAMOTO, H., KON, S., KIMURA, C., MURAKAMI, M., INOBE, M., MATSUI, Y., SUGAWARA, T., SHIMIZU, T., UEDE, T. & KITABATAKE, A. 2002. DEVELOPMENT OF ATHEROSCLEROSIS IN OSTEOPOINTIN TRANSGENIC MICE. *HEART VESSELS*, 16, 111-7.
- CORREA, M. M., THUME, E., DE OLIVEIRA, E. R. & TOMASI, E. 2016. PERFORMANCE OF THE WAIST-TO-HEIGHT RATIO IN IDENTIFYING OBESITY AND PREDICTING NON-COMMUNICABLE DISEASES IN THE ELDERLY POPULATION: A SYSTEMATIC LITERATURE REVIEW. *ARCH GERONTOL GERIATR*, 65, 174-82.
- CROXFORD, R. 2016. *RESTRICTED CUBIC SPLINE REGRESSION: A BRIEF INTRODUCTION* [ONLINE]. GLOBAL FORUM 2016: SAS. AVAILABLE: [HTTP://SUPPORT.SAS.COM/RESOURCES/PAPERS/PROCEEDINGS16/5621-2016.PDF](http://support.sas.com/resources/papers/proceedings16/5621-2016.pdf) [ACCESSED 26.11.2017 2017].
- DAG 2014. INTERDISZIPLINÄRE LEITLINIE DER QUALITÄT S3 ZUR "PRÄVENTION UND THERAPIE DER ADIPOSITAS". 2.
- DESPRES, J. P., LEMIEUX, I. & PRUD'HOMME, D. 2001. TREATMENT OF OBESITY: NEED TO FOCUS ON HIGH RISK ABDOMINALLY OBESE PATIENTS. *BMJ*, 322, 716-20.
- DUGGAN, C., XIAO, L., WANG, C. Y. & MCTIERNAN, A. 2014. EFFECT OF A 12-MONTH EXERCISE INTERVENTION ON SERUM BIOMARKERS OF ANGIOGENESIS IN POSTMENOPAUSAL WOMEN: A RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL. *CANCER EPIDEMIOL BIOMARKERS PREV*, 23, 648-57.
- ELSTER, A. 2017. *IN-PHASE V OUT-OF-PHASE - WHAT IS MEANT BY IN-PHASE VS OUT-OF-PHASE IMAGING?* [ONLINE]. AVAILABLE: [HTTP://MRI-Q.COM/IN-PHASEOUT-OF-PHASE.HTML](http://mri-q.com/in-phaseout-of-phase.html) [ACCESSED 21.JUNI 2017].
- FISCHER, K., MOEWES, D., KOCH, M., MULLER, H. P., JACOBS, G., KASSUBEK, J., LIEB, W. & NOTHLINGS, U. 2015A. MRI-DETERMINED TOTAL VOLUMES OF VISCERAL AND SUBCUTANEOUS ABDOMINAL AND TRUNK ADIPOSE TISSUE ARE DIFFERENTIALLY AND SEX-DEPENDENTLY ASSOCIATED WITH PATTERNS OF ESTIMATED USUAL NUTRIENT INTAKE IN A NORTHERN GERMAN POPULATION. *AM J CLIN NUTR*, 101, 794-807.
- FISCHER, K., RUTTGERS, D., MULLER, H. P., JACOBS, G., KASSUBEK, J., LIEB, W. & NOTHLINGS, U. 2015B. ASSOCIATION OF HABITUAL PATTERNS AND TYPES OF PHYSICAL ACTIVITY AND INACTIVITY WITH MRI-DETERMINED TOTAL VOLUMES OF VISCERAL AND SUBCUTANEOUS ABDOMINAL ADIPOSE TISSUE IN A GENERAL WHITE POPULATION. *PLOS ONE*, 10, e0143925.
- FLEGAL, K. M., CARROLL, M. D., OGDEN, C. L. & JOHNSON, C. L. 2002. PREVALENCE AND TRENDS IN OBESITY AMONG US ADULTS, 1999-2000. *JAMA*, 288, 1723-7.
- FLEGAL, K. M., KRUSZON-MORAN, D., CARROLL, M. D., FRYAR, C. D. & OGDEN, C. L. 2016. TRENDS IN OBESITY AMONG ADULTS IN THE UNITED STATES, 2005 TO 2014. *JAMA*, 315, 2284-91.

- FOUAD, S. A., MOHAMED, N. A., FAWZY, M. W. & MOUSTAFA, D. A. 2015. PLASMA OSTEOPONTIN LEVEL IN CHRONIC LIVER DISEASE AND HEPATOCELLULAR CARCINOMA. *HEPAT MON*, 15, e30753.
- FRANZEN, A. & HEINEGARD, D. 1985. ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF TWO SIALOPROTEINS PRESENT ONLY IN BONE CALCIFIED MATRIX. *BIOCHEM J*, 232, 715-24.
- GOLLEDGE, J., MULLER, J., SHEPHARD, N., CLANCY, P., SMALLWOOD, L., MORAN, C., DEAR, A. E., PALMER, L. J. & NORMAN, P. E. 2007. ASSOCIATION BETWEEN OSTEOPONTIN AND HUMAN ABDOMINAL AORTIC ANEURYSM. *ARTERIOSCLER THROMB VASC BIOL*, 27, 655-60.
- GOMEZ-AMBROSI, J., CATALAN, V., RAMIREZ, B., RODRIGUEZ, A., COLINA, I., SILVA, C., ROTELLAR, F., MUGUETA, C., GIL, M. J., CIENFUEGOS, J. A., SALVADOR, J. & FRUHBECK, G. 2007. PLASMA OSTEOPONTIN LEVELS AND EXPRESSION IN ADIPOSE TISSUE ARE INCREASED IN OBESITY. *J CLIN ENDOCRINOL METAB*, 92, 3719-27.
- GOSSWALD, A., SCHIENKIEWITZ, A., NOWOSSADECK, E. & BUSCH, M. A. 2013. [PREVALENCE OF MYOCARDIAL INFARCTION AND CORONARY HEART DISEASE IN ADULTS AGED 40-79 YEARS IN GERMANY: RESULTS OF THE GERMAN HEALTH INTERVIEW AND EXAMINATION SURVEY FOR ADULTS (DEGS1)]. *BUNDESGESUNDHEITSBLATT GESUNDHEITSFORSCHUNG GESUNDHEITSSCHUTZ*, 56, 650-5.
- GREENLAND, P., KNOLL, M. D., STAMLER, J., NEATON, J. D., DYER, A. R., GARSIDE, D. B. & WILSON, P. W. 2003. MAJOR RISK FACTORS AS ANTECEDENTS OF FATAL AND NONFATAL CORONARY HEART DISEASE EVENTS. *JAMA*, 290, 891-7.
- HAG, A. M., PEDERSEN, S. F., CHRISTOFFERSEN, C., BINDERUP, T., JENSEN, M. M., JORGENSEN, J. T., SKOVGAARD, D., RIPA, R. S. & KJAER, A. 2012. (18)F-FDG PET IMAGING OF MURINE ATHEROSCLEROSIS: ASSOCIATION WITH GENE EXPRESSION OF KEY MOLECULAR MARKERS. *PLOS ONE*, 7, e50908.
- HEIDEMANN, C., DU, Y., SCHUBERT, I., RATHMANN, W. & SCHEIDT-NAVE, C. 2013. [PREVALENCE AND TEMPORAL TREND OF KNOWN DIABETES MELLITUS: RESULTS OF THE GERMAN HEALTH INTERVIEW AND EXAMINATION SURVEY FOR ADULTS (DEGS1)]. *BUNDESGESUNDHEITSBLATT GESUNDHEITSFORSCHUNG GESUNDHEITSSCHUTZ*, 56, 668-77.
- HIROTA, S., IMAKITA, M., KOHRI, K., ITO, A., MORII, E., ADACHI, S., KIM, H. M., KITAMURA, Y., YUTANI, C. & NOMURA, S. 1993. EXPRESSION OF OSTEOPONTIN MESSENGER RNA BY MACROPHAGES IN ATHEROSCLEROTIC PLAQUES. A POSSIBLE ASSOCIATION WITH CALCIFICATION. *AM J PATHOL*, 143, 1003-8.
- IBL. 2006. *HUMAN OSTEOPONTIN ELISA - ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF HUMAN OSTEOPONTIN IN URINE, EDTA PLASMA AND CELL CULTURE SUPERNATANT - JP 27158* [ONLINE]. JAPAN: IMMUNO-BIOLOGICAL LABORATORIES INTERNATIONAL GMBH. AVAILABLE: [HTTP://WWW.IBL-INTERNATIONAL.COM/MEDIA/CATALOG/PRODUCT/J/P/JP27158\\_IFU\\_EN\\_OSTEOPONTIN\\_EIA\\_V2008\\_10\\_01\\_SYM2.PDF](http://www.ibl-international.com/media/catalog/product/J/P/JP27158_IFU_EN_OSTEOPONTIN_EIA_V2008_10_01_SYM2.PDF) [ACCESSED 11/2014].
- JAEHDE, U., HEINZOW, B. 2017. *BIOMARKER* [ONLINE]. ONLINE: PSYCHREMBEL ONLINE. AVAILABLE: [HTTPS://WWW.PSYCHREMBEL.DE/BIOMARKER/H0H6S/DOC/](https://www.psychrembel.de/biomarker/H0H6S/DOC/) [ACCESSED 06.01.2018 2018].
- JANSSEN, O. E. & JANSSEN, O. H. 2011. *DAS METABOLISCHE SYNDROM. HARRISONS KARDIOLOGIE*. GERMANY: ABW WISSENSCHAFTSVERLAG GMBH.
- KADOGLOU, N. P., GERASIMIDIS, T., GOLEMATI, S., KAPELOUZOU, A., KARAYANNACOS, P. E. & LIAPIS, C. D. 2008. THE RELATIONSHIP BETWEEN SERUM LEVELS OF VASCULAR CALCIFICATION INHIBITORS AND CAROTID PLAQUE VULNERABILITY. *J VASC SURG*, 47, 55-62.
- KADOGLOU, N. P., SAILER, N., MOUMTZOUGLOU, A., KAPELOUZOU, A., GERASIMIDIS, T. & LIAPIS, C. D. 2010. AGGRESSIVE LIPID-LOWERING IS MORE EFFECTIVE THAN MODERATE LIPID-LOWERING TREATMENT IN CAROTID PLAQUE STABILIZATION. *J VASC SURG*, 51, 114-21.
- KADRY, D., HEGAZY, R. A. & RASHED, L. 2013. OSTEOPONTIN AND ADIPONECTIN: HOW FAR ARE THEY RELATED IN THE COMPLEXITY OF PSORIASIS? *ARCH DERMATOL RES*, 305, 939-44.
- KAHLES, F., FINDEISEN, H. M. & BRUEMMER, D. 2014. OSTEOPONTIN: A NOVEL REGULATOR AT THE CROSS ROADS OF INFLAMMATION, OBESITY AND DIABETES. *MOL METAB*, 3, 384-93.
- KANNEL, W. B., DAWBER, T. R., KAGAN, A., REVOTSKIE, N. & STOKES, J., 3RD 1961. FACTORS OF RISK IN THE DEVELOPMENT OF CORONARY HEART DISEASE--SIX YEAR FOLLOW-UP EXPERIENCE. THE FRAMINGHAM STUDY. *ANN INTERN MED*, 55, 33-50.

- KATO, R., MOMIYAMA, Y., OHMORI, R., TANAKA, N., TANIGUCHI, H., ARAKAWA, K., NAKAMURA, H. & OHSUZU, F. 2009. PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF PLASMA OSTEOPONTIN LEVELS IN PATIENTS UNDERGOING PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION. *CIRC J*, 73, 152-7.
- KHOT, U. N., KHOT, M. B., BAJZER, C. T., SAPP, S. K., OHMAN, E. M., BRENER, S. J., ELLIS, S. G., LINCOFF, A. M. & TOPOL, E. J. 2003. PREVALENCE OF CONVENTIONAL RISK FACTORS IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE. *JAMA*, 290, 898-904.
- KIEFER, F. W., NESCHEN, S., PFAU, B., LEGERER, B., NEUHOFER, A., KAHLE, M., HRABE DE ANGELIS, M., SCHLEDERER, M., MAIR, M., KENNER, L., PLUTZKY, J., ZEYDA, M. & STULNIG, T. M. 2011. OSTEOPONTIN DEFICIENCY PROTECTS AGAINST OBESITY-INDUCED HEPATIC STEATOSIS AND ATTENUATES GLUCOSE PRODUCTION IN MICE. *DIABETOLOGIA*, 54, 2132-42.
- KIEFER, F. W., ZEYDA, M., GOLLINGER, K., PFAU, B., NEUHOFER, A., WEICHHART, T., SAEMANN, M. D., GEYEREGGER, R., SCHLEDERER, M., KENNER, L. & STULNIG, T. M. 2010. NEUTRALIZATION OF OSTEOPONTIN INHIBITS OBESITY-INDUCED INFLAMMATION AND INSULIN RESISTANCE. *DIABETES*, 59, 935-46.
- KIEFER, F. W., ZEYDA, M., TODORIC, J., HUBER, J., GEYEREGGER, R., WEICHHART, T., ASZMANN, O., LUDVIK, B., SILBERHUMER, G. R., PRAGER, G. & STULNIG, T. M. 2008. OSTEOPONTIN EXPRESSION IN HUMAN AND MURINE OBESITY: EXTENSIVE LOCAL UP-REGULATION IN ADIPOSE TISSUE BUT MINIMAL SYSTEMIC ALTERATIONS. *ENDOCRINOLOGY*, 149, 1350-7.
- KLOP, B., ELTE, J. W. & CABEZAS, M. C. 2013. DYSLIPIDEMIA IN OBESITY: MECHANISMS AND POTENTIAL TARGETS. *NUTRIENTS*, 5, 1218-40.
- KOCH, M., BORGGREFE, J., BARBARESCO, J., GROTH, G., JACOBS, G., SIEGERT, S., LIEB, W., MULLER, M. J., BOSY-WESTPHAL, A., HELLER, M. & NOTHLINGS, U. 2014. DIETARY PATTERNS ASSOCIATED WITH MAGNETIC RESONANCE IMAGING-DETERMINED LIVER FAT CONTENT IN A GENERAL POPULATION STUDY. *AM J CLIN NUTR*, 99, 369-77.
- KOSHIKAWA, M., AIZAWA, K., KASAI, H., IZAWA, A., TOMITA, T., KUMAZAKI, S., TSUTSUI, H., KOYAMA, J., SHIMODAIRA, S., TAKAHASHI, M. & IKEDA, U. 2009. ELEVATED OSTEOPONTIN LEVELS IN PATIENTS WITH PERIPHERAL ARTERIAL DISEASE. *ANGIOLOGY*, 60, 42-5.
- KRAWCZAK, M., NIKOLAUS, S., VON EBERSTEIN, H., CROUCHER, P. J., EL MOKHTARI, N. E. & SCHREIBER, S. 2006. POPGEN: POPULATION-BASED RECRUITMENT OF PATIENTS AND CONTROLS FOR THE ANALYSIS OF COMPLEX GENOTYPE-PHENOTYPE RELATIONSHIPS. *COMMUNITY GENET*, 9, 55-61.
- KREIENBROCK, L., PIGEOT, I. & AHRENS, W. 2012. *EPIDEMIOLOGISCHE METHODEN*, DEUTSCHLAND, SPRINGER SPEKTRUM.
- KRÖGER, K. 2011. PATHOGENESE, PRÄVENTION UND BEHANDLUNG DER ATHEROSKLEROSE. *HARRISONS KARDIOLOGIE*. DEUTSCHLAND: ABW WISSENSCHAFTSVERLAG.
- KURATA, M., OKURA, T., IRITA, J., ENOMOTO, D., NAGAO, T., JOTOKU, M., MIYOSHI, K., DESILVA, V. R. & HIGAKI, J. 2011. ANGIOTENSIN II RECEPTOR BLOCKADE WITH VALSARTAN DECREASES PLASMA OSTEOPONTIN LEVELS IN PATIENTS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION. *J HUM HYPERTENS*, 25, 334-9.
- KURATA, M., OKURA, T., WATANABE, S., FUKUOKA, T. & HIGAKI, J. 2006. OSTEOPONTIN AND CAROTID ATHEROSCLEROSIS IN PATIENTS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION. *CLIN SCI (LOND)*, 111, 319-24.
- LAMPERT, T., VON DER LIPPE, E. & MUTERS, S. 2013. [PREVALENCE OF SMOKING IN THE ADULT POPULATION OF GERMANY: RESULTS OF THE GERMAN HEALTH INTERVIEW AND EXAMINATION SURVEY FOR ADULTS (DEGS1)]. *BUNDESGESUNDHEITSBLATT GESUNDHEITSFORSCHUNG GESUNDHEITSSCHUTZ*, 56, 802-8.
- LANCHA, A., RODRIGUEZ, A., CATALAN, V., BECERRIL, S., SAINZ, N., RAMIREZ, B., BURRELL, M. A., SALVADOR, J., FRUHBECK, G. & GOMEZ-AMBROSI, J. 2014. OSTEOPONTIN DELETION PREVENTS THE DEVELOPMENT OF OBESITY AND HEPATIC STEATOSIS VIA IMPAIRED ADIPOSE TISSUE MATRIX REMODELING AND REDUCED INFLAMMATION AND FIBROSIS IN ADIPOSE TISSUE AND LIVER IN MICE. *PLOS ONE*, 9, e98398.
- LATZA, U., HOFFMANN, W., TERSCHUREN, C., CHANG-CLAUDE, J., KREUZER, M., SCHAFFRATH ROSARIO, A., KROPP, S., STANG, A., AHRENS, W., LAMPERT, T. & STRAIF, K. 2005. [SMOKING AS POTENTIAL CONFOUNDER IN GERMAN EPIDEMIOLOGICAL STUDIES: STANDARDIZATION OF ASSESSMENT, QUANTIFICATION, AND ANALYSIS]. *GESUNDHEITSWESEN*, 67, 795-802.
- LEITZMANN, M. F., MOORE, S. C., KOSTER, A., HARRIS, T. B., PARK, Y., HOLLENBECK, A. & SCHATZKIN, A. 2011. WAIST CIRCUMFERENCE AS COMPARED WITH BODY-MASS INDEX IN PREDICTING MORTALITY FROM SPECIFIC CAUSES. *PLOS ONE*, 6, e18582.

- LIAW, L., LOMBARDI, D. M., ALMEIDA, M. M., SCHWARTZ, S. M., DEBLOIS, D. & GIACHELLI, C. M. 1997. NEUTRALIZING ANTIBODIES DIRECTED AGAINST OSTEOPONTIN INHIBIT RAT CAROTID NEOINTIMAL THICKENING AFTER ENDOTHELIAL DENUDEATION. *ARTERIOSCLER THROMB VASC BIOL*, 17, 188-93.
- LIBBY, P., RIDKER, P. M. & HANSSON, G. K. 2009. INFLAMMATION IN ATHEROSCLEROSIS: FROM PATHOPHYSIOLOGY TO PRACTICE. *J AM COLL CARDIOL*, 54, 2129-38.
- LIU, J., REN, Y., KANG, L. & ZHANG, L. 2014. OXIDIZED LOW-DENSITY LIPOPROTEIN INCREASES THE PROLIFERATION AND MIGRATION OF HUMAN CORONARY ARTERY SMOOTH MUSCLE CELLS THROUGH THE UPREGULATION OF OSTEOPONTIN. *INT J MOL MED*, 33, 1341-7.
- LOPES, H. F., CORREA-GIANNELLA, M. L., CONSOLIM-COLOMBO, F. M. & EGAN, B. M. 2016. VISCERAL ADIPOSITY SYNDROME. *DIABETOL METAB SYNDR*, 8, 40.
- MACHANN, J., THAMER, C., SCHNOEDT, B., HAAP, M., HARING, H. U., CLAUSSEN, C. D., STUMVOLL, M., FRITSCHKE, A. & SCHICK, F. 2005. STANDARDIZED ASSESSMENT OF WHOLE BODY ADIPOSE TISSUE TOPOGRAPHY BY MRI. *J MAGN RESON IMAGING*, 21, 455-62.
- MANCIA, G., FAGARD, R., NARKIEWICZ, K., REDON, J., ZANCHETTI, A., BOHM, M., CHRISTIAENS, T., CIFKOVA, R., DE BACKER, G., DOMINCZAK, A., GALDERISI, M., GROBBEE, D. E., JAARMA, T., KIRCHHOF, P., KJELDSSEN, S. E., LAURENT, S., MANOLIS, A. J., NILSSON, P. M., RUILOPE, L. M., SCHMIEDER, R. E., SIRNES, P. A., SLEIGHT, P., VIIGIMAA, M., WAEBER, B. & ZANNAD, F. 2013. 2013 ESH/ESC GUIDELINES FOR THE MANAGEMENT OF ARTERIAL HYPERTENSION: THE TASK FORCE FOR THE MANAGEMENT OF ARTERIAL HYPERTENSION OF THE EUROPEAN SOCIETY OF HYPERTENSION (ESH) AND OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY (ESC). *J HYPERTENS*, 31, 1281-357.
- MAZZONE, A., PARRI, M. S., GIANNESI, D., RAVANI, M., VAGHETTI, M., ALTIERI, P., CASALINO, L., MALTINTI, M., BALBI, M., BARSOTTI, A. & BERTI, S. 2011. OSTEOPONTIN PLASMA LEVELS AND ACCELERATED ATHEROSCLEROSIS IN PATIENTS WITH CAD UNDERGOING PCI: A PROSPECTIVE CLINICAL STUDY. *CORON ARTERY DIS*, 22, 179-87.
- MENSINK, G. B., SCHIENKIEWITZ, A., HAFTENBERGER, M., LAMPERT, T., ZIESE, T. & SCHEIDT-NAVE, C. 2013. [OVERWEIGHT AND OBESITY IN GERMANY: RESULTS OF THE GERMAN HEALTH INTERVIEW AND EXAMINATION SURVEY FOR ADULTS (DEGS1)]. *BUNDESGESUNDHEITSBLATT GESUNDHEITSFORSCHUNG GESUNDHEITSSCHUTZ*, 56, 786-94.
- MERTENS, I. & VAN GAAL, L. F. 2002. OBESITY, HAEMOSTASIS AND THE FIBRINOLYTIC SYSTEM. *OBES REV*, 3, 85-101.
- MINORETTI, P., FALCONE, C., CALCAGNINO, M., EMANUELE, E., BUZZI, M. P., COEN, E. & GEROLDI, D. 2006. PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF PLASMA OSTEOPONTIN LEVELS IN PATIENTS WITH CHRONIC STABLE ANGINA. *EUR HEART J*, 27, 802-7.
- MOEBUS, S., HANISCH, J., BRAMLAGE, P., LOSCH, C., HAUNER, H., WASEM, J. & JOCKEL, K. H. 2008. REGIONAL DIFFERENCES IN THE PREVALENCE OF THE METABOLIC SYNDROME IN PRIMARY CARE PRACTICES IN GERMANY. *DTSCH ARZTEBL INT*, 105, 207-13.
- MOMIYAMA, Y., OHMORI, R., FAYAD, Z. A., KIHARA, T., TANAKA, N., KATO, R., TANIGUCHI, H., NAGATA, M., NAKAMURA, H. & OHSUZU, F. 2010. ASSOCIATIONS BETWEEN PLASMA OSTEOPONTIN LEVELS AND THE SEVERITIES OF CORONARY AND AORTIC ATHEROSCLEROSIS. *ATHEROSCLEROSIS*, 210, 668-70.
- MUELLER, M., GIANNITSIS, E. & KATUS, H. A. 2014. [ESSENTIAL CARDIAC BIOMARKERS IN MYOCARDIAL INFARCTION AND HEART FAILURE]. *HERZ*, 39, 727-39; QUIZ 740-1.
- MULLER, H. P., RAUDIES, F., UNRATH, A., NEUMANN, H., LUDOLPH, A. C. & KASSUBEK, J. 2011. QUANTIFICATION OF HUMAN BODY FAT TISSUE PERCENTAGE BY MRI. *NMR BIOMED*, 24, 17-24.
- MURRAY, C. J. & LOPEZ, A. D. 1997. ALTERNATIVE PROJECTIONS OF MORTALITY AND DISABILITY BY CAUSE 1990-2020: GLOBAL BURDEN OF DISEASE STUDY. *LANCET*, 349, 1498-504.
- NEUHAUSER, H., THAMM, M. & ELLERT, U. 2013. [BLOOD PRESSURE IN GERMANY 2008-2011: RESULTS OF THE GERMAN HEALTH INTERVIEW AND EXAMINATION SURVEY FOR ADULTS (DEGS1)]. *BUNDESGESUNDHEITSBLATT GESUNDHEITSFORSCHUNG GESUNDHEITSSCHUTZ*, 56, 795-801.
- NOMIYAMA, T., PEREZ-TILVE, D., OGAWA, D., GIZARD, F., ZHAO, Y., HEYWOOD, E. B., JONES, K. L., KAWAMORI, R., CASSIS, L. A., TSCHOP, M. H. & BRUEMMER, D. 2007. OSTEOPONTIN MEDIATES OBESITY-INDUCED ADIPOSE TISSUE MACROPHAGE INFILTRATION AND INSULIN RESISTANCE IN MICE. *J CLIN INVEST*, 117, 2877-88.

- NOTHLINGS, U. & KRAWCZAK, M. 2012. [PopGen. A POPULATION-BASED BIOBANK WITH PROSPECTIVE FOLLOW-UP OF A CONTROL GROUP]. *BUNDESGESUNDHEITSBLATT GESUNDHEITSFORSCHUNG GESUNDHEITSSCHUTZ*, 55, 831-5.
- OHMORI, R., MOMIYAMA, Y., TANIGUCHI, H., TAKAHASHI, R., KUSUHARA, M., NAKAMURA, H. & OHSUZU, F. 2003. PLASMA OSTEOPONTIN LEVELS ARE ASSOCIATED WITH THE PRESENCE AND EXTENT OF CORONARY ARTERY DISEASE. *ATHEROSCLEROSIS*, 170, 333-7.
- OKYAY, K., TAVIL, Y., SAHINARSLAN, A., TACOY, G., TURFAN, M., SEN, N., GURBAHAR, O., BOYACI, B., YALCIN, R., DEMIRKAN, D. & CENGEL, A. 2011. PLASMA OSTEOPONTIN LEVELS IN PREDICTION OF PROGNOSIS IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION. *ACTA CARDIOL*, 66, 197-202.
- PIEPOLI, M. F., HOES, A. W., AGEWALL, S., ALBUS, C., BROTONS, C., CATAPANO, A. L., COONEY, M. T., CORRA, U., COSYNS, B., DEATON, C., GRAHAM, I., HALL, M. S., HOBBS, F. D., LOCHEN, M. L., LOLLGEN, H., MARQUES-VIDAL, P., PERK, J., PRESCOTT, E., REDON, J., RICHTER, D. J., SATTAR, N., SMULDERS, Y., TIBERI, M., VAN DER WORP, H. B., VAN DIS, I. & VERSCHUREN, W. M. 2016. 2016 EUROPEAN GUIDELINES ON CARDIOVASCULAR DISEASE PREVENTION IN CLINICAL PRACTICE: THE SIXTH JOINT TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND OTHER SOCIETIES ON CARDIOVASCULAR DISEASE PREVENTION IN CLINICAL PRACTICE (CONSTITUTED BY REPRESENTATIVES OF 10 SOCIETIES AND BY INVITED EXPERTS) DEVELOPED WITH THE SPECIAL CONTRIBUTION OF THE EUROPEAN ASSOCIATION FOR CARDIOVASCULAR PREVENTION & REHABILITATION (EACPR). *EUR HEART J*, 37, 2315-81.
- POULIOT, M. C., DESPRES, J. P., LEMIEUX, S., MOORJANI, S., BOUCHARD, C., TREMBLAY, A., NADEAU, A. & LUPIEN, P. J. 1994. WAIST CIRCUMFERENCE AND ABDOMINAL SAGITTAL DIAMETER: BEST SIMPLE ANTHROPOMETRIC INDEXES OF ABDOMINAL VISCERAL ADIPOSE TISSUE ACCUMULATION AND RELATED CARDIOVASCULAR RISK IN MEN AND WOMEN. *AM J CARDIOL*, 73, 460-8.
- RENEHAN, A. G., TYSON, M., EGGER, M., HELLER, R. F. & ZWAHLEN, M. 2008. BODY-MASS INDEX AND INCIDENCE OF CANCER: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS OF PROSPECTIVE OBSERVATIONAL STUDIES. *LANCET*, 371, 569-78.
- ROSENBERG, M., ZUGCK, C., NELLES, M., JUENGER, C., FRANK, D., REMPPIS, A., GIANNITSIS, E., KATUS, H. A. & FREY, N. 2008. OSTEOPONTIN, A NEW PROGNOSTIC BIOMARKER IN PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE. *CIRC HEART FAIL*, 1, 43-9.
- ROSS, R. 1993. THE PATHOGENESIS OF ATHEROSCLEROSIS: A PERSPECTIVE FOR THE 1990s. *NATURE*, 362, 801-9.
- ROSS, R. & GLOMSET, J. A. 1976. THE PATHOGENESIS OF ATHEROSCLEROSIS (SECOND OF TWO PARTS). *N ENGL J MED*, 295, 420-5.
- RUTTIGERS, D., FISCHER, K., KOCH, M., LIEB, W., MULLER, H. P., JACOBS, G., KASSUBEK, J. & NOTHLINGS, U. 2015. ASSOCIATION OF FOOD CONSUMPTION WITH TOTAL VOLUMES OF VISCERAL AND SUBCUTANEOUS ABDOMINAL ADIPOSE TISSUE IN A NORTHERN GERMAN POPULATION. *BR J NUTR*, 114, 1929-40.
- SAINGER, R., GRAU, J. B., BRANCHETTI, E., POGGIO, P., LAI, E., KOKA, E., VERNICK, W. J., GORMAN, R. C., BAVARIA, J. E. & FERRARI, G. 2013. COMPARISON OF TRANSESOPHAGEAL ECHOCARDIOGRAPHIC ANALYSIS AND CIRCULATING BIOMARKER EXPRESSION PROFILE IN CALCIFIC AORTIC VALVE DISEASE. *J HEART VALVE DIS*, 22, 156-65.
- SAVCI, G., YAZICI, Z., SAHIN, N., AKGOZ, S. & TUNCEL, E. 2006. VALUE OF CHEMICAL SHIFT SUBTRACTION MRI IN CHARACTERIZATION OF ADRENAL MASSES. *AJR AM J ROENTGENOL*, 186, 130-5.
- SCATENA, M., LIAW, L. & GIACHELLI, C. M. 2007. OSTEOPONTIN: A MULTIFUNCTIONAL MOLECULE REGULATING CHRONIC INFLAMMATION AND VASCULAR DISEASE. *ARTERIOSCLER THROMB VASC BIOL*, 27, 2302-9.
- SCHAFER, K. & KONSTANTINIDES, S. V. 2011. UPDATE ON THE CARDIOVASCULAR RISK IN OBESITY: ENDOCRINE AND PARACRINE ROLE OF THE ADIPOSE TISSUE. *HELLENIC J CARDIOL*, 52, 327-36.
- SCHEIDT-NAVE, C., DU, Y., KNOPF, H., SCHIENKIEWITZ, A., ZIESE, T., NOWOSSADECK, E., GOSSWALD, A. & BUSCH, M. A. 2013. [PREVALENCE OF DYSLIPIDEMIA AMONG ADULTS IN GERMANY: RESULTS OF THE GERMAN HEALTH INTERVIEW AND EXAMINATION SURVEY FOR ADULTS (DEGS 1)]. *BUNDESGESUNDHEITSBLATT GESUNDHEITSFORSCHUNG GESUNDHEITSSCHUTZ*, 56, 661-7.
- SCHIENKIEWITZ, A., MENSINK, G. B. & SCHEIDT-NAVE, C. 2012. COMORBIDITY OF OVERWEIGHT AND OBESITY IN A NATIONALLY REPRESENTATIVE SAMPLE OF GERMAN ADULTS AGED 18-79 YEARS. *BMC PUBLIC HEALTH*, 12, 658.

- SCHIPF, S., ALTE, D., VÖLZKE, H., FRIEDRICH, N., HARING, R., LOHMANN, T., RATHMANN, W., NAUCK, M., FELIX, S. B., HOFFMANN, W., JOHN, U. & WALLASCHOFSKI, H. 2010. PRÄVALENZ DES METABOLISCHEN SYNDROMS IN DEUTSCHLAND: ERGEBNISSE DER STUDY OF HEALTH IN POMERANIA (SHIP). *DIABETOLOGIE UND STOFFWECHSEL*, 5, 161-168.
- SCHNEIDER, C. A., RASBAND, W. S. & ELICEIRI, K. W. 2012. NIH IMAGE TO IMAGEJ: 25 YEARS OF IMAGE ANALYSIS. *NAT METHODS*, 9, 671-5.
- SCHREIER, M., SCHWARTZE, J. T., LANDGRAF, K., SCHEUERMANN, K., ERBS, S., HERBERTH, G., POSPISILIK, J. A., KRATZSCH, J., KIESS, W. & KORNER, A. 2016. OSTEOPONTIN IS BMI-INDEPENDENTLY RELATED TO EARLY ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN CHILDREN. *J CLIN ENDOCRINOL METAB*, JC20162238.
- SCHWINGSHACKL, L. & HOFFMANN, G. 2012. MONOUNSATURATED FATTY ACIDS AND RISK OF CARDIOVASCULAR DISEASE: SYNOPSIS OF THE EVIDENCE AVAILABLE FROM SYSTEMATIC REVIEWS AND META-ANALYSES. *NUTRIENTS*, 4, 1989-2007.
- SHAO, J. S., SIERRA, O. L., COHEN, R., MECHAM, R. P., KOVACS, A., WANG, J., DISTELHORST, K., BEHRMANN, A., HALSTEAD, L. R. & TOWLER, D. A. 2011. VASCULAR CALCIFICATION AND AORTIC FIBROSIS: A BIFUNCTIONAL ROLE FOR OSTEOPONTIN IN DIABETIC ARTERIOSCLEROSIS. *ARTERIOSCLER THROMB VASC BIOL*, 31, 1821-33.
- SHEVDE, L. A. & SAMANT, R. S. 2014. ROLE OF OSTEOPONTIN IN THE PATHOPHYSIOLOGY OF CANCER. *MATRIX BIOL*, 37, 131-41.
- SHIELDS, M., TREMBLAY, M. S., CONNOR GORBER, S. & JANSSEN, I. 2012. ABDOMINAL OBESITY AND CARDIOVASCULAR DISEASE RISK FACTORS WITHIN BODY MASS INDEX CATEGORIES. *HEALTH REP*, 23, 7-15.
- SPONDER, M., FRITZER-SZEKERES, M., MARCULESCU, R., LITSCHAUER, B. & STRAMETZ-JURANEK, J. 2016. PHYSICAL INACTIVITY INCREASES ENDOSTATIN AND OSTEOPONTIN IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE. *HEART VESSELS*, 31, 1603-8.
- STEITZ, S. A., SPEER, M. Y., MCKEE, M. D., LIAW, L., ALMEIDA, M., YANG, H. & GIACHELLI, C. M. 2002. OSTEOPONTIN INHIBITS MINERAL DEPOSITION AND PROMOTES REGRESSION OF ECTOPIC CALCIFICATION. *AM J PATHOL*, 161, 2035-46.
- SYN, W. K., CHOI, S. S., LIASKOU, E., KARACA, G. F., AGBOOLA, K. M., OO, Y. H., MI, Z., PEREIRA, T. A., ZDANOWICZ, M., MALLADI, P., CHEN, Y., MOYLAN, C., JUNG, Y., BHATTACHARYA, S. D., TEABERRY, V., OMENETTI, A., ABDELMALEK, M. F., GUY, C. D., ADAMS, D. H., KUO, P. C., MICHELOTTI, G. A., WHITINGTON, P. F. & DIEHL, A. M. 2011. OSTEOPONTIN IS INDUCED BY HEDGEHOG PATHWAY ACTIVATION AND PROMOTES FIBROSIS PROGRESSION IN NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS. *HEPATOLOGY*, 53, 106-15.
- TAOULI, B., EHMAN, R. L. & REEDER, S. B. 2009. ADVANCED MRI METHODS FOR ASSESSMENT OF CHRONIC LIVER DISEASE. *AJR AM J ROENTGENOL*, 193, 14-27.
- TARGHER, G., BERTOLINI, L., SCALA, L., CIGOLINI, M., ZENARI, L., FALEZZA, G. & ARCARO, G. 2007. ASSOCIATIONS BETWEEN SERUM 25-HYDROXYVITAMIN D3 CONCENTRATIONS AND LIVER HISTOLOGY IN PATIENTS WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE. *NUTR METAB CARDIOVASC Dis*, 17, 517-24.
- TRICHOPOULOU, A., ORFANOS, P., NORAT, T., BUENO-DE-MESQUITA, B., OCKE, M. C., PEETERS, P. H., VAN DER SCHOUW, Y. T., BOEING, H., HOFFMANN, K., BOFFETTA, P., NAGEL, G., MASALA, G., KROGH, V., PANICO, S., TUMINO, R., VINEIS, P., BAMIA, C., NASKA, A., BENETOU, V., FERRARI, P., SLIMANI, N., PERA, G., MARTINEZ-GARCIA, C., NAVARRO, C., RODRIGUEZ-BARRANCO, M., DORRONSORO, M., SPENCER, E. A., KEY, T. J., BINGHAM, S., KHAW, K. T., KESSE, E., CLAVEL-CHAPELON, F., BOUTRON-ROUAULT, M. C., BERGLUND, G., WIRFALT, E., HALLMANS, G., JOHANSSON, I., TJONNELAND, A., OLSEN, A., OVERVAD, K., HUNDBORG, H. H., RIBOLI, E. & TRICHOPOULOS, D. 2005. MODIFIED MEDITERRANEAN DIET AND SURVIVAL: EPIC-ELDERLY PROSPECTIVE COHORT STUDY. *BMJ*, 330, 991.
- VENOJARVI, M., KORKMAZ, A., WASENIUS, N., MANDEROOS, S., HEINONEN, O. J., LINDHOLM, H., AUNOLA, S., ERIKSSON, J. G. & ATALAY, M. 2013. 12 WEEKS' AEROBIC AND RESISTANCE TRAINING WITHOUT DIETARY INTERVENTION DID NOT INFLUENCE OXIDATIVE STRESS BUT AEROBIC TRAINING DECREASED ATHEROGENIC INDEX IN MIDDLE-AGED MEN WITH IMPAIRED GLUCOSE REGULATION. *FOOD CHEM TOXICOL*, 61, 127-35.

- VOLLERT, J. O., MÖCKEL, M. & DIETZ, R. 2011. EPIDEMIOLOGIE KARDIOVASKULÄRER ERKRANKUNGEN. *HARRISONS KARDIOLOGIE*. DEUTSCHLAND: ABW WISSENSCHAFTSVERLAG GMBH.
- WADA, T., MCKEE, M. D., STEITZ, S. & GIACHELLI, C. M. 1999. CALCIFICATION OF VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELL CULTURES: INHIBITION BY OSTEOPONTIN. *CIRC RES*, 84, 166-78.
- WEISS, J., RAU, M. & GEIER, A. 2014. NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE: EPIDEMIOLOGY, CLINICAL COURSE, INVESTIGATION, AND TREATMENT. *DTSCH ARZTEBL INT*, 111, 447-52.
- WEN, Y., JEONG, S., XIA, Q. & KONG, X. 2016. ROLE OF OSTEOPONTIN IN LIVER DISEASES. *INT J BIOL SCI*, 12, 1121-8.
- WENDELIN-SAARENHOVI, M., OIKONEN, M., LOO, B. M., JUONALA, M., KAHONEN, M., VIKARI, J. S. & RAITAKARI, O. T. 2011. PLASMA OSTEOPONTIN IS NOT ASSOCIATED WITH VASCULAR MARKERS OF SUBCLINICAL ATHEROSCLEROSIS IN A POPULATION OF YOUNG ADULTS WITHOUT SYMPTOMS OF CARDIOVASCULAR DISEASE. THE CARDIOVASCULAR RISK IN YOUNG FINNS STUDY. *SCAND J CLIN LAB INVEST*, 71, 683-9.
- WHO 1958. CLASSIFICATION OF ATHEROSCLEROTIC LESIONS; REPORT OF A STUDY GROUP. *WORLD HEALTH ORGAN TECH REP SER*, 57, 1-20.
- WHO 2000. OBESITY: PREVENTING AND MANAGING THE GLOBAL EPIDEMIC. REPORT OF A WHO CONSULTATION. *WORLD HEALTH ORGAN TECH REP SER*, 894, I-XII, 1-253.
- WHO 2004. WHO PUBLISHES DEFINITIVE ATLAS ON GLOBAL HEART DISEASE AND STROKE EPIDEMIC. *INDIAN J MED SCI*, 58, 405-6.
- WOLAK, T. 2014. OSTEOPONTIN - A MULTI-MODAL MARKER AND MEDIATOR IN ATHEROSCLEROTIC VASCULAR DISEASE. *ATHEROSCLEROSIS*, 236, 327-37.
- WOLAK, T., SION-VARDI, N., NOVACK, V., GREENBERG, G., SZENDRO, G., TARNOVSKI, T., NOV, O., SHELEF, I., PARAN, E. & RUDICH, A. 2013. N-TERMINAL RATHER THAN FULL-LENGTH OSTEOPONTIN OR ITS C-TERMINAL FRAGMENT IS ASSOCIATED WITH CAROTID-PLAQUE INFLAMMATION IN HYPERTENSIVE PATIENTS. *AM J HYPERTENS*, 26, 326-33.
- YAN, X., SANO, M., LU, L., WANG, W., ZHANG, Q., ZHANG, R., WANG, L., CHEN, Q., FUKUDA, K. & SHEN, W. 2010. PLASMA CONCENTRATIONS OF OSTEOPONTIN, BUT NOT THROMBIN-CLEAVED OSTEOPONTIN, ARE ASSOCIATED WITH THE PRESENCE AND SEVERITY OF NEPHROPATHY AND CORONARY ARTERY DISEASE IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS. *CARDIOVASC DIABETOL*, 9, 70.
- YILMAZ, Y., OZTURK, O., ALAHDAB, Y. O., SENATES, E., COLAK, Y., DOGANAY, H. L., COSKUNPINAR, E., OLTULU, Y. M., EREN, F., ATUG, O., TUNCER, I. & IMERYUZ, N. 2013. SERUM OSTEOPONTIN LEVELS AS A PREDICTOR OF PORTAL INFLAMMATION IN PATIENTS WITH NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE. *DIG LIVER DIS*, 45, 58-62.
- YOU, J. S., JI, H. I., CHANG, K. J., YOO, M. C., YANG, H. I., JEONG, I. K. & KIM, K. S. 2013. SERUM OSTEOPONTIN CONCENTRATION IS DECREASED BY EXERCISE-INDUCED FAT LOSS BUT IS NOT CORRELATED WITH BODY FAT PERCENTAGE IN OBESE HUMANS. *MOL MED REP*, 8, 579-84.

## 6.2 TABELLENVERZEICHNIS

TABELLE 1: KARDIOVASKULÄRE RISIKOFAKTOREN GEMÄß EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY (ESC) .....	13
TABELLE 2: DIAGNOSEKRITERIEN FÜR DAS METABOLISCHE SYNDROM IN EUROPA, MODIFIZIERT NACH ALBERTI ET AL.....	19
TABELLE 3: ÜBERBLICK ÜBER AUSGEWÄHLTE SUBSTUDIEN IN DER BIOBANK POPGEN BIS 2012 .....	24
TABELLE 4: ÜBERSICHT ÜBER DIE FÜR DIESE UNTERSUCHUNG RELEVANTEN DATEN AUS DER BASISERHEBUNG.....	26
TABELLE 5: MR-STUDIENPROTOKOLL.....	32
TABELLE 6: BASISCHARAKTERISTIK .....	44
TABELLE 7: ÜBERSICHT ÜBER DIE VERTEILUNG DER MERKMALE AUF DIE OPN-TERTILE .....	48
TABELLE 8: KORRELATIONSKOEFFIZIENT NACH BRAVAIS-PEARSON FÜR DAS LOGARITHMIERTE PLASMA-OPN .....	50
TABELLE 9: KORRELATIONSKOEFFIZIENT NACH SPEARMAN FÜR DAS PLASMA-OPN .....	51
TABELLE 10: DARSTELLUNG DER KORRELATION ( $r_s$ ) DER ANTHROPOMETRISCHEN UND KÖRPERFETTVARIABLEN UNTEREINANDER.....	52
TABELLE 11: RÜCKWÄRTSELIMINATIONSSCHRITTE MODELL 1 .....	53
TABELLE 12: OPTIMIERTES REGRESSIONSMODELL 1 FÜR DIE ZIELVARIABLE LOGARITHMIERTES PLASMA-OPN .....	53
TABELLE 13: RÜCKWÄRTSELIMINATIONSSCHRITTE MODELL 2 .....	54
TABELLE 14: OPTIMIERTES REGRESSIONSMODELL 2 FÜR DIE ZIELVARIABLE LOGARITHMIERTES PLASMA-OPN .....	54
TABELLE 15: ÜBERSICHT ÜBER DIE UNABHÄNGIGEN VARIABLEN DER MULTIVARIATEN REGRESSIONSMODELLE, FÜR DIE IN DEN VERSCHIEDENEN MODELLEN ADJUSTIERT WURDE .....	55
TABELLE 16: ERGEBNISSE DER MULTIPLEN LINEAREN REGRESSION FÜR DAS PLASMA-OPN ALS EINFLUSSVARIABLE AUF DIE ABDOMINELLEN FETTMESSUNGEN.....	56
TABELLE 17: ERGEBNISSE DER MULTIPLEN LINEAREN UND MULTIPLEN LOGISTISCHEN REGRESSION FÜR DAS PLASMA-OPN ALS EINFLUSSVARIABLE AUF DEN LEBERFETTGEHALT .....	57
TABELLE 18: ERGEBNISSE DER MULTIPLEN LOGISTISCHEN REGRESSION FÜR DAS PLASMA-OPN ALS EINFLUSSVARIABLE AUF DAS VORLIEGEN EINES METABOLISCHEN SYNDROMS (METS) .....	60
TABELLE 19: ÜBERSICHT ÜBER DIE SELBSTANGABEN DER PROBANDEN .....	94
TABELLE 20: ÜBERSICHT ÜBER DIE ERGEBNISSE DER <i>RESTRICTED CUBIC SPLINE</i> -ANALYSEN FÜR DIE SONOGRAPHISCHEN FETTMESSUNGEN (MULTIPLE LINEARE REGRESSION). .....	96
TABELLE 21: ÜBERSICHT ÜBER DIE ERGEBNISSE DER <i>RESTRICTED CUBIC SPLINE</i> -ANALYSEN FÜR DIE MR-MORPHOLOGISCHEN ABDOMINELLEN FETTMESSUNGEN (MULTIPLE LINEARE REGRESSION) .....	97
TABELLE 22: ÜBERSICHT ÜBER DIE ERGEBNISSE DER <i>RESTRICTED CUBIC SPLINE</i> -ANALYSEN FÜR DIE MR-MORPHOLOGISCHEN LEBERFETTMESSUNGEN (MULTIPLE LINEARE REGRESSION) .....	98
TABELLE 23: ÜBERSICHT ÜBER DIE ERGEBNISSE DER <i>RESTRICTED CUBIC SPLINE</i> -ANALYSEN FÜR KATEGORIELLE VARIABLEN (MULTIPLE LOGISTISCHE REGRESSION) .....	98

## 6.3 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

ABBILDUNG 1: OPN-STRUKTUR. ....	8
ABBILDUNG 2: GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER AUSWIRKUNGEN DER ADIPOSITAS UND DER WIRKBETEILIGUNGEN DES OPN IN DER KASKADE DER ATHEROGENESE. ....	15
ABBILDUNG 3: ENTSTEHUNG DER PROBANDENGRUPPE, DEREN DATEN IN DIESER UNTERSUCHUNG AUSGEWERTET WURDEN .....	25
ABBILDUNG 4 IN-PHASE-OUT-OF-PHASE-DARSTELLUNG .....	33
ABBILDUNG 6: ANALYSEPLAN. ....	41
ABBILDUNG 6: DISTRIBUTION DES PLASMA-OPN VOR (LINKS) UND NACH LOGARITHMISCHER TRANSFORMATION (RECHTS) .....	46
ABBILDUNG 7: GESCHLECHTSSPEZIFISCHE DARSTELLUNG DER LOGARITHMIERTEN OPN-MESSWERTE. ....	47
ABBILDUNG 8: GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER ASSOZIATION DES PLASMA-OPN MIT DEM LEBERFETTGEHALT, ERMITTELT DURCH DIE <i>RESTRICTED CUBIC SPLINE</i> -ANALYSE IM MULTIVARIATEN MODELL (MODELL 2) .....	58
ABBILDUNG 9: VERGLEICHENDE DARSTELLUNG DER PRÄVALENZ VERSCHIEDENER KARDIOVASKULÄRER RISIKOFAKTOREN UND CVD ZWISCHEN DER POPGEN-KONTROLLKOHORTE UND EINZELNEN ALTERSGRUPPEN DER STUDIE ZUR GESUNDHEIT ERWACHSENER (DEGS1) DES ROBERT-KOCH-INSTITUTES .....	61

## 7 ANHANG

**Tabelle 19: Übersicht über die Selbstangaben der Probanden:** Dargestellt sind die für diese Untersuchung relevanten Fragen aus den Fragebögen der Basiserhebung und der ersten Nachbeobachtung mit den jeweiligen Antwortmöglichkeiten. Als „positiv“ sind dabei Antworten bezeichnet, mit denen ein Proband zu der jeweiligen Kategorie gezählt wurde.

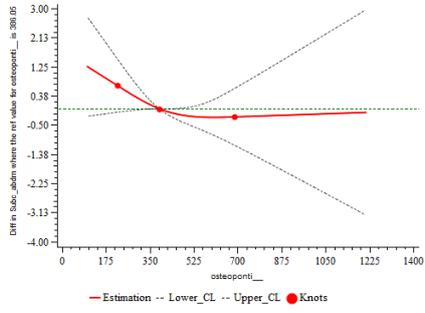
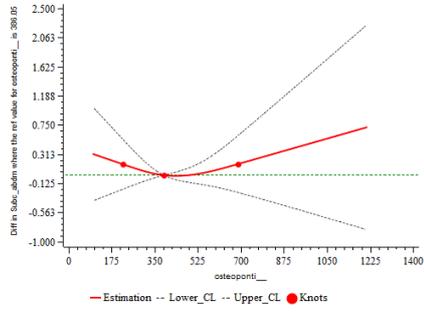
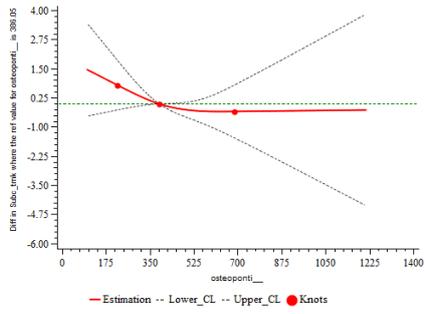
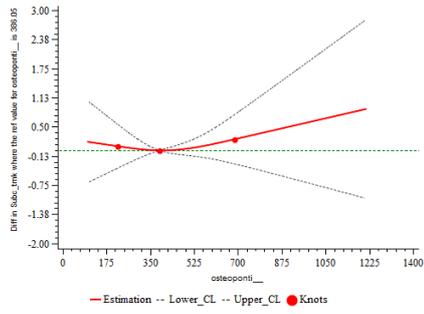
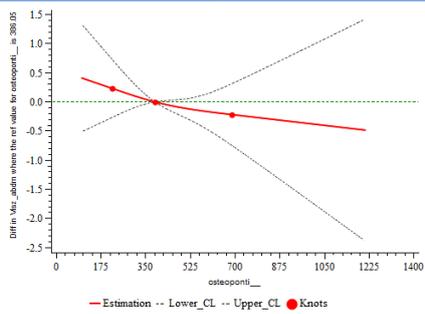
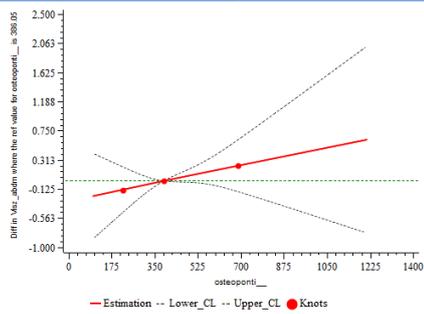
Hypertonus		
erste Nachbeobachtung: Fragen	Antwortmöglichkeiten	positiv
* Nehmen Sie aufgrund von erhöhtem Blutdruck Medikamente ein?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein keine Angabe	- ja
Diabetes mellitus		
Basiserhebung: Fragen	Antwortmöglichkeiten	positiv
* Liegt bei Ihnen ein Diabetes Typ II vor?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein keine Angabe	- ja - keine Angabe, wenn eine Therapie mit oralen Antidiabetika oder Insulin bestand
* Nehmen Sie orale Antidiabetika ein?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein keine Angabe	- ja
* Nehmen Sie Insulin ein?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein keine Angabe	- ja
erste Nachbeobachtung: Fragen	Antwortmöglichkeiten	positiv
* Ist bei Ihnen nach dem Zeitpunkt der Basiserhebung von einem Arzt eine Zuckerkrankheit/Diabetes mellitus diagnostiziert worden?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein keine Angabe	- ja
* Wenn ja, wann wurde die Zuckerkrankheit/Diabetes mellitus festgestellt?	Jahr der Diagnosestellung: □□□□ Alter bei Diagnosestellung: □□	- wenn für das Jahr bzw. Alter eine Angabe gemacht wurde
* Wenn ja, welcher Diabetes-Typ wurde festgestellt?	<input type="checkbox"/> „jugendlicher Diabetes“ (Typ 1) <input type="checkbox"/> „Altersdiabetes“ (Typ 2) <input type="checkbox"/> sonstiger Diabetes (Diabetes nach Bauchspeicheldrüsenentzündung, Schwangerschaftsdiabetes) <input type="checkbox"/> weiß ich nicht	- „Altersdiabetes“ (Typ 2) - weiß ich nicht, wenn eine Therapie mit Spritzen oder Tabletten angegeben wurde
* Wenn ja, wird die Zuckerkrankheit/Diabetes mellitus behandelt?	<input type="checkbox"/> ja, mit Diät <input type="checkbox"/> ja, mit Spritzen (Insulin) <input type="checkbox"/> ja, mit Tabletten <input type="checkbox"/> nein, wird nicht behandelt	- jede bejahte Antwort
vorbestehende kardiovaskuläre Erkrankung		
Basiserhebung: Fragen	Antwortmöglichkeiten	positiv
* Ist bei Ihnen eine Erkrankung des Nervensystems durch einen Arzt festgestellt worden?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein keine Angabe	- ja, wenn in der Folgefrage der Schlaganfall angegeben wurde
* Wenn ja, welche Erkrankung des Nervensystems wurde festgestellt?	<input type="checkbox"/> Migräne <input type="checkbox"/> Krampfleiden (Epilepsie) <input type="checkbox"/> Schüttellähmung (M. Parkinson) <input type="checkbox"/> Zittern (essentieller Tremor) <input type="checkbox"/> Schlaganfall <input type="checkbox"/> sonstige	- Schlaganfall
erste Nachbeobachtung: Fragen	Antwortmöglichkeiten	positiv
* Ist bei Ihnen nach der Basisuntersuchung von einem Arzt ein Schlaganfall diagnostiziert worden?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein keine Angabe	- ja - keine Angabe, wenn in der Folgefrage für das Jahr bzw. Alter eine Angabe gemacht wurde
* Wenn ja, wann wurde der Schlaganfall festgestellt?	Jahr des Schlaganfalls: □□□□ Alter beim Schlaganfall: □□	- wenn für das Jahr bzw. Alter eine Angabe gemacht wurde
* Ist bei Ihnen nach der Basisuntersuchung von einem Arzt ein Herzinfarkt diagnostiziert worden?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein keine Angabe	- ja - keine Angabe, wenn in der Folgefrage für das Jahr bzw. Alter eine Angabe gemacht wurde

* Wenn ja, wann trat der erste Herzinfarkt auf?	Jahr des Myokardinfarktes: □□□□ Alter beim Myokardinfarkt: □□	- wenn für das Jahr bzw. Alter eine Angabe gemacht wurde
* Und wieviele Herzinfarkte hatten Sie?	Anzahl: □□	- zwischen 1 und 10
<b>Schulbildung</b>		
<b>erste Nachbeobachtung: Fragen</b>	<b>Antwortmöglichkeiten</b>	<b>positiv</b>
* Welchen höchsten allgemeinbildenden Schulabschluss haben Sie?	<input type="checkbox"/> Volks-/Hauptschulabschluss <input type="checkbox"/> Realschulabschluss/mittlere Reife <input type="checkbox"/> Fachhochschulreife <input type="checkbox"/> Hochschulreife/Abitur <input type="checkbox"/> Ich habe keinen Schulabschluss.	- weitere Zuordnung zu 3 Gruppen: 1. Volks-/Hauptschulabschluss + kein Schulabschluss 2. mittlere Reife 3. Fachhochschulreife + Abitur
<b>Raucheranamnese</b>		
<b>erste Nachbeobachtung: Fragen</b>	<b>Antwortmöglichkeiten</b>	<b>positiv</b>
* Was trifft auf Sie zu?	<input type="checkbox"/> Ich habe nie geraucht. <input type="checkbox"/> Ich habe weniger als 3 Monate geraucht. <input type="checkbox"/> Ich rauche gegenwärtig nicht, habe aber früher geraucht. Wann haben Sie aufgehört? Jahr □□□□ oder Alter □□ Wieviele Zigaretten pro Tag? □□ Wieviele Zigarren/Pfeifen pro Tag? □□ Wieviele Jahre haben Sie insgesamt geraucht? □□ <input type="checkbox"/> Ich rauche gegenwärtig. Wieviele Zigaretten pro Tag? □□ Wieviele Zigarren/Pfeifen pro Tag? □□ Seit wann rauchen Sie? Jahr □□□□ oder Alter □□	- Einteilung in 3 Kategorien: 1. Nichtraucher 2. Ex-Raucher 3. gegenwärtige Raucher - Erfassung von Rauchdauer in Jahren und Rauchintensität in Packungsjahren (pack years)
<b>bestehende Lebererkrankung</b>		
<b>erste Nachbeobachtung: Fragen</b>	<b>Antwortmöglichkeiten</b>	<b>positiv</b>
* Ist bei Ihnen jemals von einem Arzt eine Lebererkrankung diagnostiziert worden?	<input type="checkbox"/> ja                      keine Angabe <input type="checkbox"/> nein	- ja - keine Angabe, wenn in der Folgefrage eine der aufgeführten Lebererkrankungen angegeben wurde
* Wenn ja, welche und wann wurde die Lebererkrankung festgestellt?	<input type="checkbox"/> infektiöse Hepatitis: A, B, C, D <input type="checkbox"/> Leberzirrhose <input type="checkbox"/> Hämochromatose <input type="checkbox"/> autoimmune Lebererkrankung <input type="checkbox"/> andere Jahr der Diagnosestellung: □□□□ oder Alter bei Diagnosestellung: □□	- eine Form wurden angegeben - wenn für das Jahr oder das Alter eine Angabe gemacht wurde
<b>bestehende Tumorerkrankung</b>		
<b>Basiserhebung: Fragen</b>	<b>Antwortmöglichkeiten</b>	<b>positiv</b>
* Wurde bei Ihnen jemals eine Krebserkrankung festgestellt?	<input type="checkbox"/> ja                      keine Angabe <input type="checkbox"/> nein	- ja, außer wenn in der Folgefrage Hautkrebs angegeben wurde
* Wenn ja, welche Krebserkrankung wurde festgestellt?	<input type="checkbox"/> Brustkrebs <input type="checkbox"/> Magenkrebs <input type="checkbox"/> Lungenkrebs <input type="checkbox"/> Hautkrebs <input type="checkbox"/> Prostatakrebs <input type="checkbox"/> Blutkrebs <input type="checkbox"/> Darmkrebs <input type="checkbox"/> sonstige	- alle außer Hautkrebs
* Wann wurde Ihre Krebserkrankung erstmals festgestellt?	Jahr der Diagnosestellung: □□□□ oder Alter bei Diagnosestellung: □□	
<b>erste Nachbeobachtung: Fragen</b>	<b>Antwortmöglichkeiten</b>	<b>positiv</b>
* Ist bei Ihnen nach der Basiserhebung von einem Arzt eine Krebserkrankung diagnostiziert worden?	<input type="checkbox"/> ja                      keine Angabe <input type="checkbox"/> nein	ja, außer wenn in der Folgefrage Hautkrebs angegeben wurde
* Wenn ja, welche Krebserkrankung wurde festgestellt und wann wurde diese festgestellt? (Mehrere Angaben sind möglich. Die Angabe erfolgt mit dem Jahr der Diagnosestellung oder dem Alter bei Diagnosestellung.)	<input type="checkbox"/> Brustkrebs <input type="checkbox"/> Eierstockkrebs <input type="checkbox"/> Prostatakrebs <input type="checkbox"/> Gebärmutterkrebs <input type="checkbox"/> Darmkrebs <input type="checkbox"/> Hautkrebs <input type="checkbox"/> Lungenkrebs <input type="checkbox"/> Blutkrebs <input type="checkbox"/> Magenkrebs <input type="checkbox"/> sonstige <input type="checkbox"/> Leberkrebs	- alle außer Hautkrebs

**Tabelle 20: Übersicht über die Ergebnisse der restricted cubic spline-Analysen für die sonographischen Fettmessungen (multiple lineare Regression)** Angegeben sind die abhängigen Variablen (linke Spalte), die Anzahl jeweils vollständig ausgewerteter Datensätze (n), die graphischen Darstellungen der Assoziationen (für Erläuterungen zu den Abbildungen vgl. Abbildung 8 auf Seite 58) und die WALD p-Werte für das Vorliegen einer Gesamtassoziation (*p for overall association*) sowie einer nicht-linearen Assoziation (*p for non-linearity*) sowohl für das Modell 1 als auch für das Modell 2 (vgl. Tabelle 15 auf Seite 55).

	n	Modell 1	n	Modell 2		
scAT	411		375			
		<b>p for overall association</b>		<b>p for non-linearity</b>	<b>p for overall association</b>	<b>p for non-linearity</b>
		0,5538		0,3269	0,9605	0,8098
iaAT	408		373			
		<b>p for overall association</b>		<b>p for non-linearity</b>	<b>p for overall association</b>	<b>p for non-linearity</b>
		0,5866		0,9610	0,6256	0,7548
ppAT	412		376			
		<b>p for overall association</b>		<b>p for non-linearity</b>	<b>p for overall association</b>	<b>p for non-linearity</b>
		0,4630		0,9056	0,9264	0,7127

**Tabelle 21: Übersicht über die Ergebnisse der *restricted cubic spline*-Analysen für die MR-morphologischen abdominalen Fettmessungen (multiple lineare Regression)** Angegeben sind die abhängigen Variablen (linke Spalte), die Anzahl jeweils vollständig ausgewerteter Datensätze (n), die graphischen Darstellungen der Assoziationen (für Erläuterungen zu den Abbildungen vgl. Abbildung 8 auf Seite 58) und die WALD p-Werte für das Vorliegen einer Gesamtassoziation (*p for overall association*) sowie einer nicht-linearen Assoziation (*p for non-linearity*) sowohl für das Modell 1 als auch für das Modell 2 (vgl. Tabelle 15 auf Seite 55).

	n	Modell 1	n	Modell 2		
SAAT	386		352			
		$p$ for overall association		$p$ for non-linearity	$p$ for overall association	$p$ for non-linearity
		0,1537		0,2780	0,5784	0,2981
STRAT	386		352			
		$p$ for overall association		$p$ for non-linearity	$p$ for overall association	$p$ for non-linearity
		0,2285		0,3620	0,6613	0,4682
VAT	386		352			
		$p$ for overall association		$p$ for non-linearity	$p$ for overall association	$p$ for non-linearity
		0,3965		0,7295	0,3001	0,9813

**Tabelle 22: Übersicht über die Ergebnisse der *restricted cubic spline*-Analysen für die MR-morphologischen Leberfettmessungen (multiple lineare Regression)** Angegeben sind die abhängigen Variablen (linke Spalte), die Anzahl jeweils vollständig ausgewerteter Datensätze (n), die graphischen Darstellungen der Assoziationen (für Erläuterungen zu den Abbildungen vgl. Abbildung 8 auf Seite 58) und die WALD p-Werte für das Vorliegen einer Gesamtassoziation (*p for overall association*) sowie einer nicht-linearen Assoziation (*p for non-linearity*) sowohl für das Modell 1 als auch für das Modell 2 (vgl. Tabelle 15 auf Seite 55).

	n	Modell 1	n	Modell 2		
RSID	395		376			
		$p$ for overall association		$p$ for non-linearity	$p$ for overall association	$p$ for non-linearity
		0,0140		0,0904	0,0717	0,0584

**Tabelle 23: Übersicht über die Ergebnisse der *restricted cubic spline*-Analysen für kategorielle Variablen (multiple logistische Regression)** Angegeben sind die abhängigen Variablen (linke Spalte), die Anzahl jeweils vollständig ausgewerteter Datensätze (n), die graphischen Darstellungen der Assoziationen (für Erläuterungen zu den Abbildungen vgl. Abbildung 8 auf Seite 58) und die WALD p-Werte für das Vorliegen einer Gesamtassoziation (*p for overall association*) sowie einer nicht-linearen Assoziation (*p for non-linearity*) sowohl für das Modell 1 als auch für das Modell 2 (vgl. Tabelle 15 auf Seite 55).

	n	Modell 1	n	Modell 2		
RSID- Kategorie	395		376			
		$p$ for overall association		$p$ for non-linearity	$p$ for overall association	$p$ for non-linearity
		0,5685		0,4569	0,7369	0,5614
metS	413		392			
		$p$ for overall association		$p$ for non-linearity	$p$ for overall association	$p$ for non-linearity
		0,3953		0,6387	0,4420	0,3404

## 8 DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt **Prof. Dr. Norbert Frey**, dem Direktor der Klinik für Kardiologie, Angiologie und Intensivmedizin des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel. Er ermöglichte mir die Bearbeitung des für mich sehr interessanten Themas und unterstützte das Projekt mit viel Ausdauer und nicht zuletzt finanziell durch die Bereitstellung der Plasma-OPN-Analysematerialien.

Ebenso danken möchte ich meinem Betreuer **Dr. Matthias Lutz**. Er stellte die Verbindung zum Institut für Epidemiologie her und analysierte die 416 Oberflächen-Elektrokardiogramme hinsichtlich erkennbarer Infarktzeichen. Außerdem ermutigte er mich immer wieder, das Projekt voranzutreiben, erklärte mir Methoden der Recherche und brachte hilfreiche Korrekturvorschläge mit ein.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich auch bei **Prof. Dr. Wolfgang Lieb**, dem Direktor des Institutes für Epidemiologie. Er führte mich an die wissenschaftlichen Methoden der Epidemiologie heran, erklärte mir Vorgehensweisen der PopGen-Datenerhebung, unterstützte mich bei der Interpretation der Ergebnisse und lehrte mich auch wesentliche Grundlagen des wissenschaftlichen Schreibens. Die Posterpräsentation wäre ohne sein Zutun ebenfalls nicht derart gelungen. Dabei investierte er viel Zeit in mein Projekt und trug so maßgeblich zum Erfolg dieser Arbeit bei.

Außerdem stellte mir Prof. Lieb zwei Mitarbeiterinnen aus seinem Institut, **Dr. Manja Koch** und **Dr. Romina Di Giuseppe**, zur Seite, die mich bei der statistischen Auswertung unterstützten. Auch ihnen möchte ich sehr für ihre Geduld danken. Sie überprüften die Programmierung von SAS, beantworteten ausgiebig Fragen zu statistischen Methoden und standen auch für inhaltliche Belange die PopGen-Kohorte betreffend zur Verfügung. Insbesondere Dr. Manja Koch, die sämtliche MRT-Untersuchungen hinsichtlich des Leberfettgehaltes analysierte, war wesentlich am Erfolg meines Promotionsprojektes beteiligt.

Auch **Dr. Gunnar Jacobs**, dem Leiter der Biobank PopGen, gilt mein besonderer Dank. Er ermöglichte die Plasma-OPN-Bestimmung in seinem Labor, und zusammen mit seinem Mitarbeiter **Lukas Tittmann** stellte er auch die übrigen Daten zusammen, die ich zur Auswertung benötigte. Bedanken möchte ich mich zudem bei den übrigen Mitarbeitern der PopGen-Studie, die die Daten erhoben und aufbereitet haben. Ebenso danke ich den Probanden für ihre freiwillige Teilnahme an der Studie.

Besonders dankbar bin ich schließlich meinen Eltern **Bernd und Christina Frühauf** und meinem Ehemann **Dr. Matthias Ritter** für ihre grenzenlose Unterstützung während dieser aufreibenden Zeit. Nur durch die mir ermöglichte medizinische Ausbildung, die unermüdliche Ermunterung zur Fertigstellung dieser Arbeit, diskutierende Gespräche, inhaltliche und rhetorische Korrekturen sowie viele Stunden der Kinderbetreuung konnte dieses Projekt gelingen.